



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES DES ORGANISMES ET ÉCOLOGIE

Effet de la quantité de lipides et de l'apport d'antioxydants à modes d'action différents sur la croissance, l'état de peroxydation et la teneur lipidique chez la perche (*Perca fluviatilis*, L.)

Henrotte, Emilie

Award date:
2004

[Link to publication](#)

General rights

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

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

Take down policy

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



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

Faculté des Sciences

**EFFET DE LA QUANTITE DE LIPIDES ET DE L'APPORT D'ANTIOXYDANTS A MODES
D'ACTION DIFFERENTS SUR LA CROISSANCE, L'ETAT DE PEROXYDATION ET LA TENEUR
LIPIDIQUE CHEZ LA PERCHE (*PERCA FLUVIATILIS*, L.)**

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

Emilie Henrotte
Août 2004

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

Effet de la quantité de lipides et de l'apport d'antioxydants à modes d'action différents sur la croissance, l'état de peroxydation et la teneur lipidique chez la perche (*Perca fluviatilis* L.)

HENROTTE Emilie

Résumé

Les objectifs de ce travail sont d'une part d'évaluer les implications des apports de lipides sur la croissance et la teneur lipidique de la perche *Perca fluviatilis* L., et d'autre part d'évaluer les effets de l'addition d'antioxydants sur l'utilisation des lipides. Quatre régimes ont été administrés en triplicats durant 86 jours ; R13 et R19 contenant 13 et 19 % de lipides respectivement, et deux autres régimes à même teneur lipidique (19 %), l'un avec de l'astaxanthine (R19A), l'autre avec de la vitamine E (R19E) . Les meilleures performances de croissance à 23 °C ont été observées pour le R19A ($140,1 \pm 0,4$ %) et les moins bonnes pour le R19 ($100,7 \pm 10,0$ %). De plus fortes teneurs en lipides alimentaires entraînent des dépôts lipidiques corporels plus importants, essentiellement au niveau du tissu adipeux périspinal (ILS de 5,6), alors que le contenu lipidique hépatique et musculaire reste faible, $5,3 \pm 0,97$ % et $0,98 \pm 0,21$ % respectivement. L'habilité de la perche à l'épargne des protéines est limitée. Les taux de TBARS présents dans le foie et dans le muscle dorsal sont plus élevés pour le R19 et le R19E, avec $39,1 \pm 1,0$ nmoles de malonaldéhyde.g⁻¹ de moyenne pour le foie et $23,4 \pm 0,3$ pour le muscle, alors que le R19A présente des valeurs semblables au R13 ($16,5 \pm 0,3$ et $16,4 \pm 0,7$). L'activité de la G6PDH est négativement corrélée aux teneurs en lipides alimentaires tandis que l'activité de la ME l'est positivement. Leur ordre de grandeur est de 740 et de 80 mUI/mg de protéines solubles respectivement. Aucun effet des antioxydants n'a été relevé sur les activités de ces deux enzymes lipogéniques. En conclusion, l'augmentation des apports lipidiques et l'amélioration de leur utilisation via l'ajout d'astaxanthine peuvent augmenter considérablement la croissance chez la perche, en augmentant l'efficacité alimentaire et en réduisant la peroxydation des tissus.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Août 2004

Promoteurs : P. Kestemont

Au terme de ce travail et de ces quatre années d'études, je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur, le professeur Patrick Kestemont, pour m'avoir accueillie au sein de son unité de recherche et pour le temps qu'il m'a consacré tout au long de ce mémoire.

Je remercie Gersande Blanchard, tutrice de ce travail, qui a toujours su être disponible pour répondre à mes questions, et ce même avec « son heureux événement »...

Merci à Mesdames G. Blanchard et M. Leclerc-Smekens, à Messieurs R. Paquay et D. Rousselet, membres du jury de lire ce travail et de prendre part à sa critique.

Merci à tous ceux qui m'ont aidé tout au long de ce mémoire : André Evrard, qui a su m'initier à l'art d'entretenir un circuit fermé et qui, avec Thierry Mayenne, ont toujours été disponibles pour répondre à une question ou donner un coup de main. Mes remerciements vont à Robert, Dimi et Sylvain pour les dissections malgré leur emploi du temps parfois chargé.

Ma reconnaissance va aussi à Virginie, Neïla et Laetitia pour leur sympathie et pour m'avoir tolérée sept longs mois sur leur territoire... Merci les filles ! je n'oublie pas les autres membres de l'URBO, qui nous ont toujours accueillis et donné de précieux conseils.

Je pense aussi à Gene, Delphine et son 52 (...), Hélène, John, Benja, Dimi, Jérôme, pour ces deux dernières années passées en leur compagnie, mais aussi pour les grands moments passés en classe, en stage, en soirées et en temps de midi toujours enrichissants ! Je n'oublie pas les autres bio de tous horizons, merci à Antoine, le cellulaire, pour son amitié.

Je désire encore remercier de tout cœur Sylvain, sans qui ma licence n'aurait pas été aussi agréable à passer et qui a su partager avec moi ses multiples passions, en allant des koï aux écrevisses, en passant par les motos.

Et enfin, mes derniers remerciements s'adressent à ma famille, mes parents, mes frères et ma grand-mère, pour la confiance et le soutien qu'ils m'ont témoignés durant ces années d'études.

Introduction générale	1
Première partie : synthèse bibliographique	3
1. Métabolisme lipidique.....	3
1.1. généralités sur les lipides.....	3
1.1.1. Les graisses.....	4
1.1.2. Les phosphoglycérolipides.....	4
1.1.3. Autres familles de lipides.....	4
1.2. Intérêt des lipides dans la nutrition des poissons.....	4
1.3. Biosynthèse et dépôts lipidiques chez les téléostéens.....	6
1.3.1. Les acides gras.....	6
1.3.1.1. Rôle des acides gras essentiels.....	7
1.3.1.2. La β -oxydation.....	8
1.3.2. Digestibilité, transport et stockage des lipides.....	9
1.3.2.1. Digestibilité des lipides.....	9
1.3.2.2. Transport des lipides.....	10
1.3.2.3. Stockage lipidique.....	10
1.3.3. Lipogenèse et contrôle enzymatique.....	11
1.3.3.1. Synthèse <i>de novo</i> des acides gras.....	12
1.3.3.2. Elongation/désaturation.....	14
2. Les antioxydants.....	15
2.1. La peroxydation.....	15
2.2. Nature et fonction des antioxydants.....	16
2.2.1. cas de l'astaxanthine.....	16
2.2.2. cas de la vitamine E.....	16
3. Besoins nutritionnels et métabolisme lipidique chez la perche.....	17
Deuxième partie : matériel et méthodes	21
1. Matériel biologique.....	21
2. Conditions expérimentales.....	22
3. Les régimes expérimentaux.....	22
4. Mesure des paramètres biologiques.....	23
4.1. La croissance (G).....	23
4.2. Le taux de croissance spécifique (SGR).....	23
4.3. Le taux de mortalité (M).....	24
4.4. L'efficacité alimentaire (EA).....	24
4.5. Le taux de conversion alimentaire (FCR).....	24
4.6. Le taux d'efficacité protéique (PER).....	24
4.7. La valeur de production protéique (PPV).....	25
4.8. IHS, IGS et ILS.....	25

5. Dosage du contenu lipidique du foie, des muscles et des poissons entiers.....	25
6. Dosage du contenu protéique des poissons entiers.....	25
7. Détermination de la peroxydation des lipides.....	26
8. Dosage des enzymes de la lipogenèse.....	26
9. Analyse des résultats.....	27
Troisième partie : résultats.....	28
1. Description des paramètres zootechniques.....	28
1.1. Croissance et mortalité.....	29
1.2. Prise alimentaire.....	30
1.3. Efficacité alimentaire (EA) et taux de conversion alimentaire (FCR).....	32
1.4. Les indices corporels.....	32
2. Résultats analytiques.....	33
2.1. Dosage des lipides totaux.....	33
2.2. Dosage des protéines totales.....	34
2.3. Dosage des substances réagissant aux thiobarbituriques (TBARS).....	34
2.2.1. Dosage des TBARS au niveau des aliments.....	35
2.2.2. Dosage des TBARS au niveau du foie et du muscle.....	35
2.4. Dosage des enzymes de la lipogenèse.....	36
Quatrième partie : discussion.....	38
Cinquième partie : conclusions et perspectives.....	48
Références bibliographiques.....	50
Annexes	

Liste des espèces citées :

- Anguille américaine** *Anguilla rostrata* Lesueur, 1817
Anguille européenne *Anguilla anguilla* Linneaus, 1758
Ayu *Plecoglossus altivelus* Temminck & Schlegel, 1846
Bar *Dicentrarchus labrax* Linneaus, 1758
Carpe commune *Cyprinus carpio* Linneaus, 1758
Dorade *Sparus aurata* Linneaus, 1758
Dorade japonaise *Pagrus major* Temminck & Schlegel, 1843
Eglefin *Melanogrammus aeglefinus* Linneaus, 1758
Esturgeon *Acipenser sturio* Linneaus, 1758
Flétan *Hippoglossus hippoglossus* Linneaus, 1758
Fugu *Sphoeroides maculatus* Bloch & Schneider, 1801
Hareng *Clupea harengus* Linneaus, 1758
Maquereau *Scomber scombrus* Linneaus, 1758
Mérou *Epinephelus* sp. Linneaus, 1758
Morue *Gadus morhua* Linneaus, 1758
Ombre chevalier *Salvelinus alpinus* Linneaus, 1758
Ombrine *Umbrina* sp. Valenciennes, 1843
Perchaude *Perca flavescens* Mitchill, 1814
Perche *Perca fluviatilis* Linneaus, 1758
Piracanjuba *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850
Poisson chat *Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818
Poisson-lait *Chanos chanos* Forsskal, 1775
Saumon argenté *Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792
Saumon de l'Atlantique *Salmo salar* Linneaus, 1758
Saumon du Pacifique *Oncorhynchus* sp. Walbaum, 1792
Sériole *Seriola* sp. Bloch, 1793
Sole *Solea solea* Linneaus, 1758
Thon *Thunnus thynnus* Linneaus, 1758
Tilapia bleu *Oreochromis aureus* Steindachner, 1864
Tilapia du nil *Oreochromis niloticus* Linneaus, 1758
Truite *Salmo trutta* Linneaus, 1758
Truite arc-en ciel *Oncorhynchus mykiss* Richardson, 1836
Turbot *Psetta maxima*, *Scophthalmus maximus* Linneaus, 1758

Liste des abréviations utilisées dans le texte

ACL = ATP citrate lyase
ADN = acide désoxyribonucléique
AG = acide gras
AGE = acide gras essentiel
AGI = acide gras insaturé
AGLPI = acide gras long polyinsaturé
AGMI = acide gras monoinsaturé
AGS = acide gras saturé
ARA = acide arachidonique
ARN = acide ribonucléique
ATP = adénosine triphosphate
BF = biomasse finale
BHA = butylhydroxyanisole
BHT = butylhydroxytoluène
Bi = biomasse initiale
Bm = biomasse des morts
°C = degré Celsius
cm = centimètre
CMC = carboxyméthylcellulose
CoA = coenzyme A
CUDA = coefficient d'utilisation digestive apparent
DAO = dérivé actif de l'oxygène
DHA = acide docosahexaénoïque
DO = densité optique
EA = efficacité alimentaire
EPA = acide eicosapentaénoïque
FAS = fatty acid synthase (acide gras synthase)
FCR = taux de conversion alimentaire
Fig = figure
g = gramme
G = gain de masse corporel
G6PDH = glucose 6-phosphate déshydrogénase
GPX = glutathion peroxydase
GSH = glutathion réduit
h = heure
HDL = high density lipoprotein
IGS = indice gonadosomatique
IHS = indice hépatosomatique
ILS = indice liposomatique
IVS = indice viscérosomatique
j = jour
kg = kilogramme
Kj = kilojoule
l = litre
LDL = low density lipoprotein
LSD = Least Significant Difference
M = taux de mortalité
ME = malic enzyme (enzyme malique)

MF = matière fraîche
mg = milligramme
min = minute
ml = millilitre
mm = millimètre
MS = matière sèche
NADH = nicotinamide dinucléotide
NADPH = nicotinamide dinucléotide phosphate
Nf = nombre final de poissons
Ni = nombre initial de poissons
nm = nanomètre
nmoles = nanomoles
PER = taux d'efficacité protéique
Pf = poids final
Pfo = poids du foie
Pg = poids des gonades
Pi = poids initial
PL = phosphoglycérolipide
ppm = part par million
PPV = valeur de production protéique
Prf = protéines contenues finalement par poisson
Pri = protéines contenues initialement par poisson
Pt = poids total
Pv = poids des graisses périviscérales
R13 = régime contenant 13 % de lipides
R19 = régime contenant 19 % de lipides
R19A = régime contenant 19 % de lipides additionné d'astaxanthine
R19E = régime contenant 19 % de lipides additionné de vitamine E
Rd = ration distribuée
RdPC = ration protéique consommée
rpm = rotations par minute
SGR = taux de croissance spécifique
TAG = triacylglycérol
TBARS = substance réagissant aux thiobarbituriques
TCA = acide trichloroacétate
UI = unité internationale
 μ l = microlitre
vit E = vitamine E
VLDL = very low density lipoprotein

Liste des tableaux :

Tableau 1.1.1. Teneur optimale d'incorporation de matières grasses chez quelques espèces (d'après Corraze, 1999)

Tableau 1.1.2. Principaux acides gras présents dans les lipides des poissons

Tableau 1.1.3. Teneur en lipides dans le muscle et le foie de différentes espèces de poissons (% de matière fraîche). D'après Cowey et Sargent (1972), Henderson et Tocher (1987) in Corraze (1999)

Tableau 1.1.4. Effet des lipides alimentaires sur la composition lipidique corporelle de différents poissons d'élevage

Tableau 1.1.5. Activité spécifique (mUI/mg de protéines solubles) des enzymes lipogéniques hépatiques de plusieurs espèces de poissons et de quelques vertébrés terrestres (d'après Dias, 1999)

Tableau 1.2.1. Liste non-exhaustive d'expériences faisant intervenir la vitamine E dans l'aliment des poissons

Tableau 1.3.1. Composition en acides gras dans le foie (F), les viscères (V) et le muscle (M) des poissons nourris par différents types de lipides (% AG totaux)

Tableau 2.1. Composition des 4 régimes expérimentaux (quantités en g pour 1 Kg d'aliment)

Tableau 3.1. Influence des régimes alimentaires testés sur les principaux paramètres zootechniques de l'élevage des juvéniles de perche

Tableau 3.2. Effet des régimes alimentaires sur l'activité d'enzymes lipogéniques du foie chez la perche

Liste des figures :

Fig.1.1.1. Définition des AG saturés et insaturés (d'après Moussard, 2002)

Fig.1.1.2. Composition en AG du foie chez le turbot selon la nature des lipides alimentaires, apportés sous forme d'huile de poisson, de lin ou de soja (d'après Regost *et al.*, 2003)

Fig.1.1.3. Transport de l'acyl-carnitine

Fig.1.1.4. Un cycle de β -oxydation

Fig.1.1.5. Absorption des lipides de la lumière de l'intestin vers l'espace interstitiel à travers les cellules absorbantes (d'après Marieb, 1993)

Fig.1.1.6. Voie de synthèse lipidique *de novo*. TCA : acide tricarboxylique; DHAP : dihydroxyacétone phosphate; IDH : isocitrate déshydrogénase; 1 : triose phosphate isomérase; 2 : glycerol 3-phosphate déshydrogénase; 3 : ATP citrate liase; 4 : malate déshydrogénase; 5 : enzyme malique; 6 : acetyl-CoA carboxylase; 7 : acide gras synthétase; 8 : acyl-CoA synthétase; 9 : glycérol 3-phosphate acyltransférase; 10 : phosphatidate phosphohydrolase; 11 : diacylglycérol acyltransférase. (d'après Henderson et Sargent, 1986 in Halver, 1989)

Fig.1.1.7. Schéma des principales voies de bioconversion des AG

Fig.1. 2.1. Peroxydation lipidique : voie de synthèse du malondialdéhyde à partir des acides gras polyinsaturés (d'après Lefèvre *et al.*, 1998)

Fig. 1.2.2. Molécule d'astaxanthine

Fig. 1.2.3. Représentation schématique de la localisation possible des molécules d'astaxanthine possédant un lien hydrogène inter- et intramoléculaire dans la double membrane (d'après Goto *et al.*, 2001)

Fig. 1.2.3. Représentation schématique de la localisation possible des molécules d'astaxanthine possédant un lien hydrogène inter- et intramoléculaire dans la double membrane (d'après Goto *et al.*, 2001)

Fig. 1.2.4. molécule de vitamine E ou α -tocophérol (d'après Allain, 2002)

Fig. 1.2.5. Action antiradicalaire de la vitamine E (d'après Allain, 2002)

Fig. 1.2.6. Recyclage du tocophérol par l'acide ascorbique (d'après Grasset, 1994)

Fig.2.1. Distribution de *Perca fluviatilis*

Fig.2.2. *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758

Fig.3.1.1. Influence des différents régimes alimentaires sur le gain de masse corporelle de juvéniles de perche

Fig.3.1.2. Evolution de la prise alimentaire au fil des semaines, exprimée en moyenne par bassin et par jour

Fig.1.1.3. Evolution de la prise alimentaire quotidienne des différents réplicats au seins des quatre régimes testés

Fig.3.1.4. Influence des différents régimes sur l'EA et le FCR de juvéniles de perches

Fig.3.1.5. Influence des différents régimes sur l'IHS, l'IGS et l'ILS

Fig.3.2.1. Contenu lipidique des juvéniles de perche en début d'expérience (PI) et en fin d'expérience, des foies et muscles en fonction des régimes administrés

Fig.3.2.2. Contenu protéique des juvéniles de perche en début d'expérience (PI) et en fin d'expérience en fonction des régimes administrés

Fig.3.2.3. Taux de TBARS présents dans les différents régimes testés

Fig.3.2.4. Taux de TBARS musculaires et hépatiques en fonction des différents régimes testés

Fig 3.2.5. Activités des enzymes lipogéniques hépatiques chez la perche en UI ou mUI par g de foie exprimées en fonction des différents régimes

Première partie:
synthèse bibliographique

Introduction générale

1. Présentation générale et objectifs de l'étude

Avant le XX^e siècle, la production piscicole reposait sur des aliments naturels et ne nécessitait donc pas d'aliments "composés". Mais suite à l'élevage de poissons carnivores en bassins, l'alimentation des poissons d'élevage est devenue dépendante des aliments apportés par l'homme. Dans les années 50, les "granulés humides de l'Oregon" ont fait leur apparition sur le marché mais on s'est vite rendu compte des inconvénients accompagnant de tels aliments (mauvaise conservation des granulés, consistance peu adéquate...). Aussi ont-ils été remplacés par des granulés secs. Dès lors, l'étude des besoins nutritionnels à différents stades de développement de l'espèce à élever s'est imposée dans le but d'optimiser son potentiel de production (Corraze, 1999).

Les poissons carnivores sont connus pour utiliser massivement les protéines d'origine alimentaire pour couvrir leurs besoins énergétiques. Cela entraîne le rejet de déchets azotés polluants (excrétés à 85 % sous forme d'ammoniaque). Or, récemment, il y a une attention particulière qui est portée sur les contraintes environnementales du développement de l'aquaculture, et les poissons présentent de meilleures performances de croissances dans des conditions environnementales optimales (Peres et Oliva-Teles, 1999). Les protéines alimentaires sont essentiellement apportées sous forme de farine de poisson qui est une matière première coûteuse par rapport à d'autres sources énergétiques et riche en phosphore, source supplémentaire de pollution. Les quantités de farine de poisson disponibles pour couvrir la demande croissante de l'industrie de l'aquaculture ne suffisent plus (Hemre, 2003), des quotas de pêche ayant été imposés afin de limiter l'exploitation des ressources halieutiques. L'objectif pour un développement durable de la culture de poisson serait d'augmenter l'apport d'énergie digestible non protéique, principalement sous forme de lipides ou de glucides digestibles afin de maximiser la rétention des nutriments et minimiser leur perte (Corraze *et al.*, 1999).

L'utilisation de lipides comme source d'énergie non protéique permet l'utilisation des protéines pour la croissance, plutôt que comme fourniture d'énergie, c'est ce qu'on appelle l'épargne protéique, elle augmente le taux de conversion alimentaire et diminue la quantité de produits azotés excrétés par l'organisme (Vergara *et al.*, 1999). Ces aliments dits de "haute énergie" peuvent engendrer une augmentation des dépôts lipidiques corporels dans des tissus différents selon les espèces: le foie, le tissu adipeux périveriscéral et sous-cutané dans certains cas et le muscle (Bell *et al.*, 1997). Il existe de nombreux facteurs favorisant ce stockage, tels la taille, l'état physiologique (maturation sexuelle), le bagage génétique, l'environnement (température, pH, salinité) et des facteurs nutritionnels tels la prise alimentaire, la quantité d'énergie ingérée, la quantité d'énergie digestible et la nature des lipides alimentaires (Robin *et al.*, 2003). Suite à une augmentation des lipides alimentaires, des troubles peuvent apparaître chez certaines espèces (ex: *Perca fluviatilis*, *Scophthalmus maximus*, *Sparus aurata*), tandis qu'ils n'ont aucune incidence négative chez d'autres (ex: *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus alpinus*). On peut énumérer des problèmes tels que des retards de croissance, une réduction de la résistance des poissons face aux conditions de culture intensive, une augmentation de la mortalité, un excès de dépôts lipidiques, des infiltrations et accumulations de graisses dans le tissu hépatique promouvant l'apparition de stéatoses... Ces perturbations pourraient traduire un dysfonctionnement du métabolisme lipidique provoqué par le dépassement des capacités de stockage du foie. Une autre hypothèse concernant l'apparition de ces troubles est fournie par le phénomène de peroxydation des lipides alimentaires (Watanabe, 1982; Suárez *et al.*, 1996; Kestemont *et al.*, 2001; Blanchard

et al., 2004), se manifestant d'autant plus que les quantités d'acides gras poly-insaturés sont élevées et que les doses d'antioxydants sont faibles. Vu le nombre restreint d'études s'intéressant à la perche, il est nécessaire d'approfondir les recherches visant à mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le métabolisme lipidique afin d'apporter les quantités de lipides et les antioxydants optimaux.

D'un point de vue nutritionnel, le poisson est considéré comme un aliment moins gras que la viande et riche en acides gras polyinsaturés de la série n-3, ce qui lui confère des propriétés diététiques intéressantes vu ses effets protecteurs vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires (Corraze *et al.*, 1999; Bulliyya, 2000; Regost *et al.*, 2001_b). Il est donc important de préserver la qualité de cette ressource en limitant les dommages occasionnés par des régimes trop riches en lipides, mal équilibrés en acides gras ou délétères en antioxydants.

Ce travail s'inscrit dans une thèse visant à améliorer les conditions d'élevage de la perche, poisson connaissant un intérêt croissant dans le domaine de l'aquaculture (Kestemont et Mélard, 2000). Les expériences réalisées précédemment ont porté sur:

- ✓ la caractérisation de foie de perches issues du milieu naturel, tout au long d'un cycle annuel de reproduction (Blanchard *et al.*, 2003)
- ✓ l'identification de facteurs zootechniques et nutritionnels influençant majoritairement le stockage de lipides en conditions intensives d'élevage
- ✓ la détermination des capacités d'utilisation d'huiles d'origine animale et végétale ainsi que les performances d'élongation et de désaturation des acides gras
- ✓ l'évaluation des effets engendrés par l'apport de différents antioxydants sur le métabolisme lipidique

Cette étude va nous permettre entre autre d'approfondir la problématique antioxydants. Les principaux objectifs seront :

- d'évaluer les implications délétères ou non des apports lipidiques sur le métabolisme lipidique de la perche,
- d'améliorer l'utilisation des lipides chez la perche en élevage, grâce à l'apport en antioxydants à différents modes d'action.

Les résultats que nous obtiendrons pourront être comparés au référentiel basé sur la perche en milieu naturel établi en début de thèse (Blanchard *et al.*, 2004).

2. Structure de l'étude

Ce travail se décompose en cinq parties. La première partie est une synthèse bibliographique reprenant les connaissances actuelles sur le métabolisme lipidique chez les téléostéens, et plus particulièrement chez la perche, sur la peroxydation des lipides et les mécanismes limitant ses effets. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes intervenant au cours de cette expérience, depuis le nourrissage en bassin jusqu'aux analyses en laboratoire. La troisième partie exposera les résultats obtenus suivis d'une discussion de ceux-ci dans la quatrième partie. Enfin, nous présenterons une conclusion générale et envisagerons les perspectives qu'elle nous inspirera.

1. Métabolisme lipidique

La teneur en lipides d'un tissu est une caractéristique dynamique, résultante d'équilibre entre dépôt de triglycérides alimentaires, la synthèse endogène d'acides gras à partir de précurseurs carbonés puis leur estérification en triglycérides, la mobilisation de ces triglycérides (lipolyse), et l'oxydation des acides gras (Gondret, 1999). Les voies biochimiques et métaboliques sont globalement comparables à celles des mammifères, en notant que chez les poissons, le site principal de lipogenèse est le foie, le tissu adipeux périviscéral étant essentiellement un site de stockage (Corraze *et al.*, 1999).

1.1. Généralités sur les lipides

La diversité structurale des lipides s'oppose à une définition chimique comme celle des glucides, des protéines ou des acides nucléiques qui ont chacun une homogénéité structurale. Cependant, les lipides ont des points communs: ils sont peu ou pas solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. Les lipides sont:

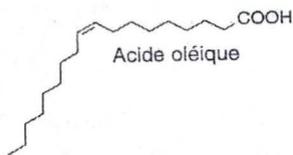
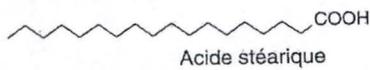
- soit hydrophobes, s'ils ne contiennent que des groupements non polaires. L'absence d'atomes polarisants (O et N en particulier) empêchent ces molécules d'établir des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau,
- soit amphiphiles (ou amphipathiques), s'ils contiennent à la fois des groupements polaires et non polaires (Moussard, 2002).

Parmi les lipides, on peut citer deux familles importantes: les graisses (ou triacylglycérols) et les phosphoglycérides (ou phospholipides).

Les acides gras (AG) possèdent une chaîne carbonée plus ou moins longue: les plus importants contiennent entre 12 et 22 atomes de carbone. A une extrémité de l'AG se trouve une « tête » constituée d'un groupement carboxyl (d'où le nom d'acide) attaché à une « chaîne » hydrocarbonée aliphatique. Ce sont les liaisons C-H non polaires de la queue d'un AG qui expliquent l'insolubilité des graisses dans l'eau, les molécules d'eau effectuant des liaisons hydrogènes entre elles en repoussant les graisses (figure 1.1.1).

Il existe des dénominations abrégées des AG en fonction du nombre d'atomes de carbone, de doubles liaisons, et de la position de celles-ci dans la chaîne hydrocarbonée; ainsi, l'acide linoléique C18:2 (n-6) indique chez les nutritionnistes que cet acide possède 18 atomes de carbone, 2 doubles liaisons dont la première est positionnée entre le 6^o et le 7^o atome de carbone à partir du groupement méthyl. Notons que les biochimistes, eux, positionnent les doubles liaisons en partant du groupement carboxyl et mentionnent la position de chaque double liaison. Ainsi, pour eux, ce même acide sera abrégé en 18:2 Δ 9,12.

Le point de fusion des acides gras augmente avec la longueur de la chaîne, et, à longueur égale, diminue avec le nombre de doubles liaisons (les coudes formés par les doubles liaisons éloignent les molécules les unes des autres). La solubilité dans l'eau est d'autant plus faible que la chaîne est plus longue et les doubles liaisons sont plus nombreuses.



AG saturés : (AGS) s'il n'existe pas de liaisons doubles entre les atomes de carbone constituant la queue hydrocarbonée (car la chaîne est alors saturée en hydrogènes). La molécule est à la fois souple (totale liberté de rotation autour de chaque liaison C-C) et étirée (conformation la plus stable).

Ex : 18:0 = ac. stéarique

AG insaturés : (AGI) s'il existe une ou plusieurs liaisons doubles formées par l'élimination d'atomes d'hydrogènes de la chaîne.

⇒ AG monoinsaturés (AGMI : une double liaison)

ex : 18:1 (n-9) = ac. oléique

⇒ AG polyinsaturés (AGPI : plusieurs doubles liaisons)

ex : 18:3 (n-3) = ac. linoléique

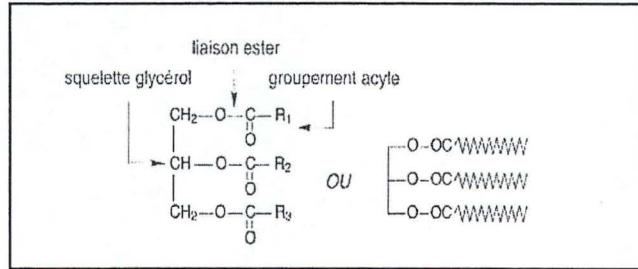
Quand la chaîne hydrocarbonée possède au moins 20 atomes de carbones, on parle d'AG polyinsaturé à longue chaîne (AGLPI)

ex : 20:5 (n-3) = ac. éicosapentaénoïque (EPA)

Fig.1.1.1. Définition des AG saturés et insaturés (d'après Moussard, 2002)

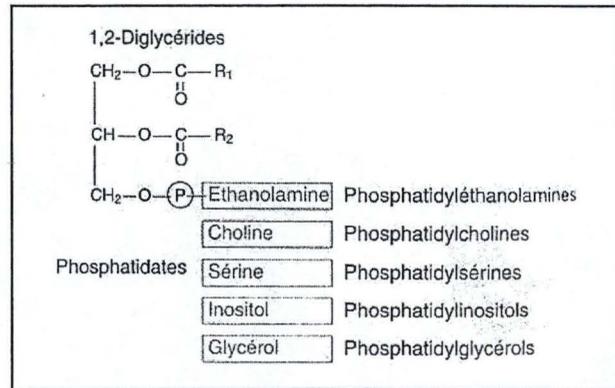
1.1.1. Les graisses

Ce sont des macromolécules formées d'une petite molécule de glycérol liée avec trois AG d'où leur autre appellation « triacylglycérols » (TAG). La fonction principale des graisses est l'accumulation d'énergie (Vernont *et al.*, 1999). Ainsi, un gramme de graisse fournit 39,7 KJ.



1.1.2. Les phosphoglycérolipides (PL)

Ils ressemblent aux graisses sur un plan structural, à la différence qu'ils possèdent deux AG au lieu de trois. Le troisième atome de carbone du glycérol est lié à un groupement phosphate. De petites molécules, habituellement chargées ou polaires, peuvent se lier à ce groupement phosphate pour former différents phosphoglycérolipides. Un gramme de PL fournit environ 33KJ.



Ce sont les composants majeurs des membranes biologiques. Les trois PL les plus courants sont : le phosphatidyl-éthanolamine, le phosphatidyl-sérine et le phosphatidyl-choline.

1.1.3. Autres familles de lipides

Les stéroïdes, les cérides (esters d'un acide gras et d'un alcool à longue chaîne aliphatique), les sphingolipides (esters de sphingosine et d'un AG), les isoprénoïdes (polymères d'isoprènes), les terpènes,...

1.2. Intérêt des lipides dans la nutrition des poissons

En dehors de la couverture des besoins en acides gras essentiels (AGE), les lipides sont des composés fournissant de l'énergie. De plus, ce sont des composés digestibles à 95 %, on peut dès lors admettre que la valeur énergétique (en terme d'énergie digestible) de 1 g de lipides alimentaires avoisine 37-38 KJ, ce qui représente 2,5 fois celle des glucides, qui fournissent peu d'énergie digestible chez les poissons contrairement aux autres êtres vivants, et 1,8 fois celle des protéines (Corraze, 1999). Enfin, les lipides sont également essentiels comme

vecteurs lors de l'absorption intestinale des vitamines liposolubles et des pigments caroténoïdes (Harper, 2002).

Chez les poissons, une portion importante des protéines est utilisée pour la production d'énergie au détriment de la croissance. Les besoins en protéines et en lipides sont par ailleurs très élevés chez les poissons par rapport aux autres vertébrés (Gélineau *et al.*, 2001).

L'utilisation de lipides comme source d'énergie non protéique permet l'utilisation des protéines pour la croissance, plutôt que comme source d'énergie, c'est ce qu'on appelle l'épargne protéique, elle améliore le taux de conversion alimentaire et diminue la quantité de produits azotés excrétés par l'organisme (Vergara *et al.*, 1999). Ceci possède donc de nombreuses conséquences pour le pisciculteur, et notamment une amélioration de la croissance des individus, une meilleure résistance aux pathologies, une qualité organoleptique supérieure et une diminution des rejets azotés liés au catabolisme protéique, responsables de l'eutrophisation des milieux aquatiques (85 % des déchets sont excrétés sous forme de NH₃ (Corraze *et al.*, 1999)). Or, récemment, il y a une attention particulière qui est portée sur les contraintes environnementales du développement de l'aquaculture (Peres *et* Oliva-Teles, 1999).

Tableau 1.1.1. Teneur optimale d'incorporation de matières grasses chez quelques espèces (d'après Corraze, 1999)

Espèces	Teneur en lipides (%)
Truite	18-20
Carpe	<18
Tilapia	<10
Dorade	12-15
Dorade japonaise	10
Turbot	<15
Bar	12-15
Sériole	11
Ombrine	7-11
Bar tropical	13-18
Fugu	<6
Poisson-lait	7-10
Mérou	13-14
Sole	5

Chez les salmonidés, on estime qu'une teneur en lipides de 15 à 20 % permet d'abaisser la teneur en protéines de 48 à 35 % sans altérer les performances zootechniques (Corraze, 1999). Actuellement, il existe des données concernant le niveau d'apport lipidique optimal pour plusieurs espèces; elles sont représentées au tableau 1.1.1.

Il existe cependant des aspects négatifs liés à une consommation excessive de lipides chez le poisson. Il faut noter que chez certaines espèces telles que la perche *Perca fluviatilis* (Kestemont *et al.*, 2001), le bar *Dicentrarchus labrax* (Dias *et al.*, 1998; Peres *et* Oliva-Teles, 1999), le turbot *Scophthalmus maximus* (Stéphan *et al.*, 1995; Regost *et al.*, 2001, 2003), la dorade royale *Sparus auratus* (Guinea *et* Fernandez, 1997; Tocher *et al.*, 2002), l'administration de régimes à hautes teneurs en lipides peut provoquer des effets néfastes tels une diminution de la croissance et des capacités immunes du poisson, une mortalité accrue, une accumulation de graisse au niveau des tissus hépatiques pouvant générer des stéatoses. Ces dernières se décrivent comme une altération du foie se produisant lorsque la prise alimentaire en lipides est supérieure à la capacité de stockage hépatique. D'un point de vue

histologique, ces perturbations sont caractérisées par des infiltrations importantes de gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes, des migrations nucléaires induites par la multiplication des vacuoles lipidiques dans les hépatocytes, une diminution du nombre de peroxyosomes, du réticulum endoplasmique rugueux et des mitochondries (Spisni *et al.*, 1998; Blanchard *et al.*, 2004). De plus, les acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 apportés aux régimes sont extrêmement labiles face à l'oxydation. Les produits de la peroxydation des lipides peuvent réagir avec des composés tels que les protéines, les vitamines,... ou les produits de l'oxydation peuvent être toxiques (Halver, 2002).

Un aliment destiné au turbot ne doit pas contenir plus de 11 % de lipides, sinon la croissance sera négativement affectée. Cette espèce, dont la chair est très pauvre en lipides, métabolise mal les lipides et l'épargne protéique ne se fait pas. Il apparaît donc que la stratégie de domestication, en ce qui concerne la nutrition, se fera différemment pour ce groupe d'espèce, ayant une faible capacité d'utilisation des lipides, et un autre groupe d'espèces, comprenant le bar, la truite ou le saumon pouvant tolérer une alimentation très riche en lipides (Regost *et al.*, 2001_b).

1.3. Biosynthèse et dépôts lipidiques chez les téléostéens

1.3.1. Les acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques (-COOH) à longue chaîne aliphatique. On distingue les acides gras saturés et insaturés. Le métabolisme des AG comprend le catabolisme (ou β -oxydation) en acétyl-coenzyme A, la synthèse à partir de l'acétyl-CoA et les réactions d'élongation et/ou de désaturation. Les principaux AG présents dans les lipides des poissons sont représentés au tableau 1.1.2.

Tableau 1.1.2. Principaux acides gras présents dans les lipides des poissons

	16:0	acide palmitique
	18:0	acide stéarique
	18:1 (n-9)	acide oléique
	18:2 (n-6)	acide linoléique
	20:4 (n-6)	acide arachidonique
	18:3 (n-3)	acide linoléique
	20:5 (n-3)	acide eicosapentaénoïque (EPA)
	22:6 (n-3)	acide docosahexaénoïque (DHA)

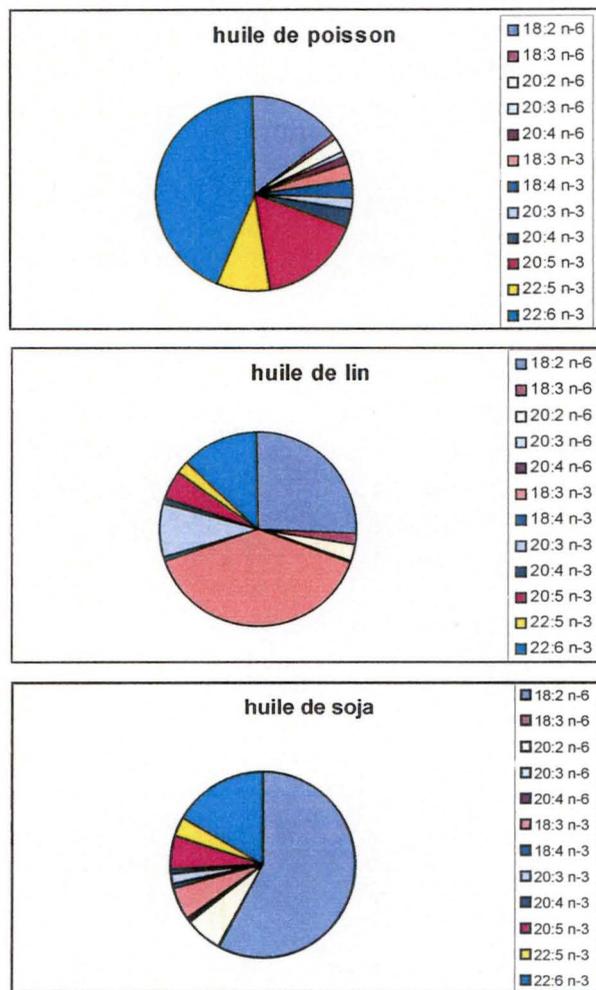


Fig1.1.2. Composition en AG du foie chez le turbot selon la nature des lipides alimentaires, apportés sous forme d'huile de poisson, de lin ou de soja (d'après Regost *et al.*, 2003)

1.3.1.1. Rôle des acides gras essentiels (AGE)

Les acides gras sont intimement liés aux mécanismes physiologiques et biochimiques essentiels et sont donc nécessaires au bon fonctionnement des écosystèmes. Les AG non biosynthétisés efficacement par les animaux sont dits des AGE. Les organismes aquatiques ont été et continuent d'être notre principale source d'AGE facilement accessible (Arts *et al.*, 2001). Les animaux, et donc les poissons, peuvent convertir une forme de AGPI en une autre par élongation et désaturation, mais très peu peuvent en synthétiser *de novo* (Brett et Müller-Navarra, 1997).

Les AG ont un triple rôle (Moussard, 2002) :

- structural : ils entrent dans la composition des phospholipides et des glycolipides membranaires,
- fonctionnel : leurs dérivés sont des messagers (diacylglycérols) et des modulateurs (prostaglandines et leucotriènes) cellulaires,
- énergétique : grâce à la β -oxydation, ils sont source d'énergie dans la plupart des tissus.

La nécessité des acides gras longs polyinsaturés (AGLPI) a d'abord été reconnue en 1930 ; les acide linoléique et linoléique sont des AGE requis pour une croissance normale et pour la normalité des fonctions de tous les tissus. Toutes les doubles liaisons doivent être dans une configuration *cis*, la présence de doubles liaisons en position *trans* causant la perte de l'activité des AGE. Aucun de ces deux acides ne peut être synthétisé par l'organisme et ils doivent donc être obtenus par l'alimentation (Bulliyya, 2000).

Deux séries d'AG sont essentielles tant aux poissons qu'aux mammifères, il s'agit des AG des séries n-3 et n-6. Alors que les AG de la série n-6 sont considérés comme essentiels chez les mammifères, une des caractéristiques principales des huiles de poissons est leur faible teneur en AG de la série n-6 et les hauts niveaux en AG de type n-3. La structure n-3 permet un meilleur degré d'insaturation que n-6 ou n-9. Ceci nous permet de comprendre la théorie affirmant que les poissons d'eau froide ont des besoins en AG n-3 élevés, alors que les besoins en AGE de certaines espèces d'eau chaude peuvent être satisfaits par un mélange d'AG n-3 et n-6 (Watanabe, 1982 ; Halver, 2002).

Chez les poissons d'eau douce, les AGPI des séries n-3 et n-6 sont tous les deux importants d'un point de vue nutritionnel et l'acide linoléique 18:2 (n-6) et linoléique 18:3 (n-3) satisfont les besoins en AGE. Par contre, les besoins en AGE des poissons marins sont moins bien définis. Les AGPI de type n-3 sont considérés comme essentiels pour les espèces marines mais les besoins en AG n-6 sont moins certains (Bell *et al.*, 1986 ; Sargent *et al.*, 1999). Ces poissons ne semblent pas posséder la capacité de synthèse du C20:5 (n-3) (EPA) à partir des composés à 18 carbones, contrairement aux téléostéens d'eau douce. Les hauts teneurs en AGPI n-3 des poissons marins sont attribuées à la composition lipidique du plancton qu'ils consomment (Steffens, 1997). Ainsi, les diatomées sont caractérisées par de hauts teneurs en EPA, tout comme les dinophycées qui présentent aussi de hauts niveaux en 22:6 (n-3) (DHA) (Pohl et Zurheide, 1979 in Leveille, 1997). En ce qui concerne le zooplancton, les rotifères sont riches en acide arachidonique (ARA), EPA et DHA (Lubzens *et al.*, 1985). Les systèmes enzymatiques nécessaires à la synthèse de DHA à partir de l'EPA sont plus efficaces chez les copépodes que chez les cladocères. Donc, la composition en AG différera entre ces deux groupes (Farkas *et al.*, 1981 in Leveille, 1997). En revanche, en eau douce, les AG présents dans les algues unicellulaires sont essentiellement des acides linoléiques et linoléiques alors

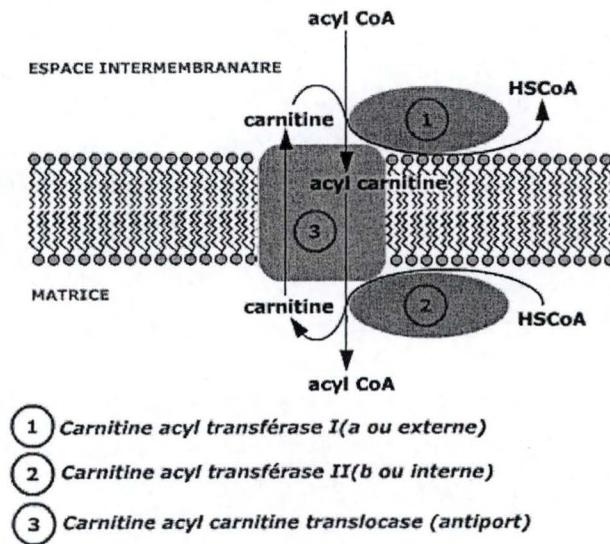


Fig.1.1.3. Transport de l'acyl-carnitine

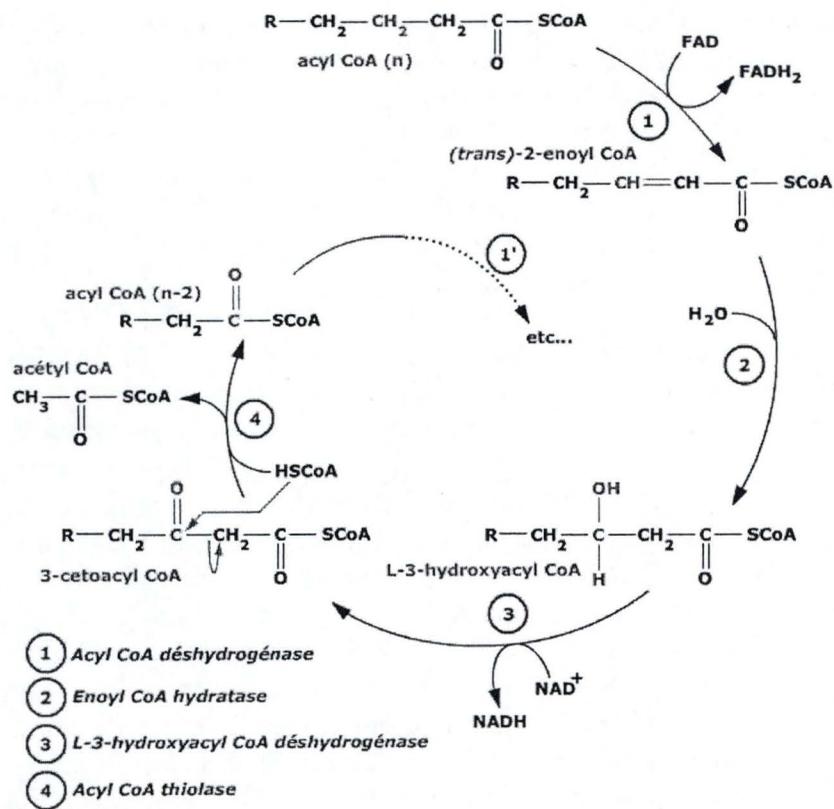


Fig.1.1.4. Un cycle de β -oxydation

qu'au niveau des invertébrés aquatiques on trouvera essentiellement des ARA et EPA (Sargent *et al.*, 1989).

Il est intéressant de remarquer que la composition corporelle en AG est fortement corrélée à la composition en AG des aliments (Corraze, 1999). Par exemple, selon une étude de Regost *et al.* (2003), le turbot présente des compositions corporelles en AG différentes selon qu'il soit nourri avec de l'huile de poisson, de l'huile de lin ou de soja. Les poissons nourris avec de l'huile de soja voient leurs teneurs en acides linoléiques augmenter et en EPA et DHA diminuer. Avec l'huile de lin, les concentrations en acides linoléiques augmentent et on observe une diminution des EPA et DHA. Les teneurs de ces deux derniers AG restent élevées chez les poissons nourris avec l'huile de poisson (figure 1.1.2). De plus amples informations à ce sujet seront développées au point 1.3.2.

1.3.1.2. La β -oxydation

Les acides gras captés par la cellule proviennent premièrement de l'hydrolyse des triglycérides constitutifs des lipoprotéines par la lipoprotéine lipase plasmatique, et deuxièmement par hydrolyse des triglycérides du tissu adipeux par la triglycéride lipase. Les enzymes catalysant la β -oxydation sont principalement mitochondriales. La première étape de leur oxydation est semblable quelque soit le devenir de l'AG considéré. Il s'agit de la formation d'un complexe AG Coenzyme A ou acyl-CoA permettant la solubilisation en phase aqueuse de l'AG. Cette première étape nécessite toujours l'hydrolyse de 2 ATP quelle que soit la longueur de la chaîne carbonée. Pour les AG à 12 carbones et plus, l'enzyme est l'acyl-Coenzyme A synthase. Elle est présente dans la membrane des peroxysomes hépatiques (fourniture de l'énergie pour la formation de peroxydes), dans le réticulum endoplasmique (formation d'acyl-CoA pour le stockage des AG) et dans la membrane externe des mitochondries (fourniture de l'énergie via la β -oxydation). Le passage de l'acyl-CoA de la membrane externe (impermeable au CoA et à tous ses dérivés) à la membrane interne de la mitochondrie où a lieu l'oxydation des AG nécessite le transfert du groupement acyl du CoA sur la carnitine puis, au niveau de la matrice interne, le transfert du groupement acyl de la carnitine sur le CoA. Deux carnitine-palmityl transférases, l'une externe et l'autre interne, contrôlent ce cycle (figure 1.1.3). Les AG comportant de 4 à 10 atomes sont suffisamment solubles dans l'eau et diffusent rapidement à travers les membranes y compris la membrane interne des mitochondries. L'acyl-CoA ainsi parvenu jusqu'à la matrice mitochondriale peut entrer dans la voie d'oxydation. Il s'agit d'un processus répétitif (hélice de Lynen) conduisant à un raccourcissement progressif de la chaîne carbonée par unité de 2 carbones : par une séquence récurrente de 4 réactions (déshydrogénation, hydratation, déshydrogénation et clivage entre les atomes de carbone α et β du groupement acyl), la molécule d'acide gras à n atomes de carbone est débitée en $n/2$ molécules d'acétyl-CoA (figure 1.1.4). L'acétyl-CoA issu de la β -oxydation peut être complètement oxydé en CO_2 et H_2O par le cycle de l'acide citrique et les oxydations phosphorylantes ou peut être précurseur de molécules d'intérêt biologique (cholestérol, isoprénoïdes...).

La β -oxydation dans les peroxysomes diffère de celle des mitochondries en plusieurs points : tout d'abord, la carnitine n'est pas impliquée dans le passage transmembranaire des acides gras, deuxièmement, l'oxydation est catalysée par une acyl-CoA oxydase avec formation de H_2O_2 , et finalement, il n'est pas possible de régénérer le NAD^+ à partir du NADH .

Les poissons utilisent les acides gras monoinsaturés (AGMI) comme source principale d'énergie et retiennent les AG avec des chaînes n-3 et n-6 plus longues et hautement insaturées (ARA, EPA, DHA) pour leurs principales fonctions physiologiques. Les acides linoléiques et linoléiques sont probablement utilisés comme source d'énergie plutôt que comme précurseurs d'EPA/DHA à cause du manque d'enzyme désaturase $\Delta 5$ chez la plupart des poissons (Halver, 2002).

1.3.2. Digestibilité, transport et stockage des lipides

Les aspects concernant le métabolisme lipidique, comprenant les processus de transports et de dépôts des lipides, apparaissent très différents chez le poisson par rapport aux vertébrés homéothermes (Sheridan, 1988).

1.3.2.1. Digestibilité des lipides

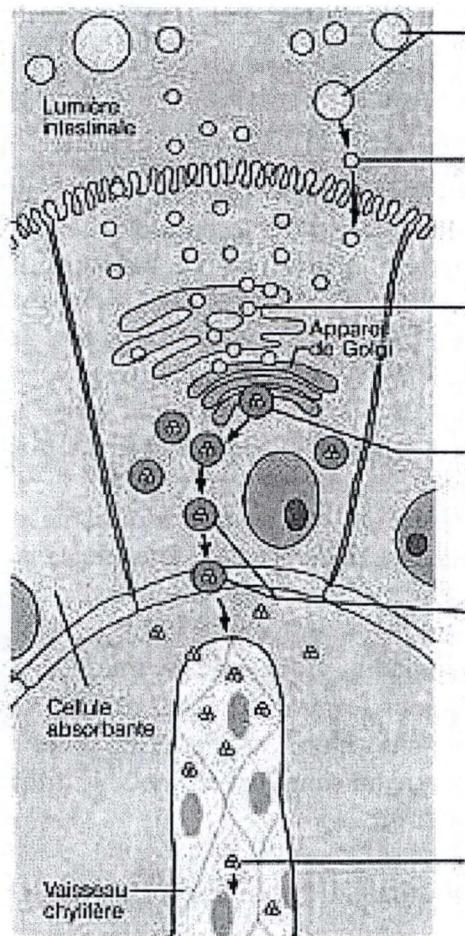
Les lipides, et particulièrement les AGPI, sont relativement bien digérés, sauf si, du fait de leur point de fusion élevé, ils sont solides à la température où vit le poisson. Leur CUDa (le coefficient d'utilisation digestive apparent, coefficient quantifiant la digestibilité) paraît meilleur si le taux d'incorporation est élevé, à condition que les AG soient bien protégés des phénomènes d'oxydation (Corraze, 1999). La truite *Salmo trutta* digère très mal les acides gras saturés (AGS) alors que le gain de poids du poisson chat *Ictalurus punctatus* reste inchangé qu'il soit nourri avec des régimes contenant de la graisse de boeuf ou de l'huile de menhaden. Cela peut être expliqué par le fait que ce dernier est une espèce d'eau plus chaude que la truite, facilitant la digestion des AGS (Cowey et Sargent, 1977).

Le processus global de la digestion des lipides et de leur absorption s'effectue en quatre phases distinctes liées respectivement aux fonctions du pancréas, du foie, de la muqueuse intestinale et du système lymphatique. Du point de vue physiologique, ces phases comprennent 1) la lipolyse des TAG en AG et en β -monoglycérides; 2) la solubilisation micellaire avec les acides biliaires; 3) la captation par la cellule de la muqueuse, puis la réestérification des β -monoglycérides avec les AG pour former des TAG et la formation de chylomicrons en présence de cholestérol, d'esters de cholestérol, de PL et de protéines; 4) le transport des chylomicrons dans le système lymphatique ou sanguin en vue de l'utilisation des graisses (Selkurt, 1971 ; Thomson *et al.*, 2000).

Le site principal de la digestion des TAG est l'intestin. La digestion des graisses nécessite différentes sécrétions et enzymes (Marieb, 1993):

- la bile est synthétisée par le foie et est stockée dans la vésicule biliaire. Elle facilite la digestion en décomposant les graisses en AG, qui peuvent alors être absorbés par l'intestin,
- les lipases sont des enzymes facilitant la digestion des graisses en libérant, à l'aide de collipases, les AG constitutifs des TAG. Elles sont sécrétées par le pancréas.

Les AG à chaînes courtes (2 à 10 atomes de carbone) et le glycérol sont absorbés tels quels par les villosités de la muqueuse intestinale. La digestion des triacylglycérols d'AG à longue chaîne (au moins 12 atomes de carbone) ne peut pas se passer de sels biliaires, ni pour l'activité de la lipase pancréatique, ni pour la formation de micelles, agrégats de particules portant des charges négatives (Rawn, 1990). Les composés entrant dans la formation des micelles sont des AG, mais aussi des phospholipides (alimentaires ou biliaires), cholestérol et acides biliaires. Les divers composés lipidiques ainsi que d'autres composés liposolubles (vitamines du groupe A, caroténoïdes) diffusent au travers de la double couche lipidique après



Acides gras et monoglycérides associés aux micelles dans la lumière intestinale

1. Les acides gras et les monoglycérides produits par la digestion des lipides quittent les micelles pour entrer dans la cellule absorbante

2. Les acides gras sont utilisés pour la synthèse des triglycérides dans le réticulum endoplasmique lisse

3. Les gouttelettes de graisses sont associées aux protéines pour former les chylomicrons (dans l'appareil de Golgi)

4. Les chylomicrons des vacuoles migrent vers la membrane basale où ils sont expulsés de la cellule absorbante et entrent dans le vaisseau chylifère (capillaire lymphatique)

5. La lymphe des vaisseaux chylifères transporte les chylomicrons hors de l'intestin

Fig.1.1.5. Absorption des lipides de la lumière de l'intestin vers l'espace interstitiel à travers les cellules absorbantes (d'après Marieb, 1993)

désagrégation de la micelle (Corraze, 1999). Une fois les micelles prêtes à être captées par la muqueuse, deux faits importants se produisent dans la cellule muqueuse: les AG sont d'abord fixés de nouveau aux monoglycérides par réestérification, et les TAG ainsi produits sont ensuite combinés avec de petites quantités de cholestérol et recouverts de PL et de protéines pour former une classe particulière de lipoprotéines appelées chylomicrons. Ces particules quittent l'entérocyte par exocytose au niveau du chylifère central et gagnent les divers organes via les vaisseaux sanguins ou lymphatiques (Thomson *et al.*, 2000). Ce processus d'absorption est représenté à la figure 1.1.5.

1.3.2.2. Transport des lipides

Le foie capte les acides gras et les estérifie en triglycérides. Il lie les triglycérides avec le cholestérol, les phospholipides et une apoprotéine, ce qui donne une lipoprotéine. Diverses lipoprotéines (VLDL = very low density lipoprotein, LDL = low density lipoprotein ou HDL = high density lipoprotein) assurent le transport des lipides dans le sang où elles sont utilisées ou mises en réserve dans différents tissus. A côté du transport lipidique par les lipoprotéines, une faible portion d'AG est véhiculée sous la forme d'un complexe avec l'albumine (Fauconneau *et al.*, 1990; Corraze, 1999; Thomson *et al.*, 2000).

1.3.2.3. Stockage lipidique

Chez les poissons, les dépôts lipidiques augmentent régulièrement au cours de l'ontogenèse. Il n'existe donc pas *sensus stricto* une phase d'engraissement comme c'est le cas pour les animaux domestiques terrestres (Fauconneau *et al.*, 1990). Ils sont le résultat de plusieurs processus métaboliques: stockage de lipides alimentaires, synthèse *de novo* d'AG et lipogenèse à partir des substrats alimentaires, lipolyse et utilisation des lipides à des fins énergétiques (Corraze *et al.*, 1999).

Alors que chez les vertébrés supérieurs, les lipides corporels sont stockés en grande majorité dans les tissus adipeux, chez les téléostéens il existe une large gamme de tissus de stockage. Il s'agit principalement des tissus adipeux sous-cutanés et mésentériques, du foie et des muscles (Sheridan, 1988). Le foie et le muscle sont en fait considérés comme des sites de dépôt lipidique secondaires et adaptés pour le stockage à court-terme (Gélineau *et al.*, 2001). La localisation des lipides corporels diffère d'une espèce à l'autre et va permettre d'établir une classification des poissons en différentes catégories (tableau 1.1.3). On distingue ainsi les poissons "gras" comme le hareng et le maquereau, qui ont des teneurs en lipides musculaires supérieures à 10 %, et des poissons "maigres", comme la morue, dont la chair renferme moins de 2 % de lipides, ces derniers étant stockés dans le foie. Entre ces deux catégories existent des poissons "intermédiaires" qui stockent les lipides dans le muscle (2,5-6 %) et dans d'autres sites comme le tissu adipeux périveriscéral pour les salmonidés (Corraze, 1999). D'après Xu *et al.* (2002), la perche commune accumule les graisses principalement au niveau des viscères et en second lieu au niveau du foie.

Les poissons d'élevage sont généralement plus gras que les poissons sauvages. Il semble que cette différence soit liée à l'alimentation plus abondante et aussi plus énergétique des poissons d'élevage (Corraze *et al.*, 1999). Chez de nombreuses espèces, les régimes à forte teneur en lipides conduisent à des modifications de la composition corporelle: on observe un accroissement des quantités de lipides corporels, accompagné d'une diminution de la teneur en eau sans qu'il y ait de variation de la teneur en protéines (Watanabe, 1982 ; Dias, 1999). Le tableau 1.1.4 présente les effets des lipides alimentaires sur la composition corporelle de différents poissons.

Tableau 1.1.3. Teneur en lipides dans le muscle et le foie de différentes espèces de poissons (% de matière fraîche). D'après Cowey et Sargent (1972), Henderson et Tocher (1987) in Corraze (1999)

Espèce	Muscle	Foie
Eglefin	0,3	50-75
Morue	0,4	50-75
Thon	4	4-28
Flétan	5	4-28
Ayu	1-5,4	3-9
Saumon de l'atlantique	4-10	10
Saumon argenté	2,5-4,6	4-6
Truite	2,5-5,7	3,5-6
Carpe	1,5-12,5	4,8-8,8
Maquereau	13	8
Hareng	11	2
Anguille	22	-

Tableau 1.1.4. Effet des lipides alimentaires sur la composition lipidique corporelle de différents poissons d'élevage.

Espèces	Apports (lipides)	résultats	références
<i>Sparus aurata</i>	15, 22 et 28 %	Augmentation significative du contenu lipidique corporel total. Un excès de lipides peut entraîner des anomalies au niveau de l'hépatocyte.	Vergara <i>et al.</i> , 1999 Caballero <i>et al.</i> , 1999
<i>Dicentrarchus labrax</i>	12, 18, 24 et 30 %	Le contenu lipidique du foie est significativement plus élevé pour 24 % de lipides, la concentration lipidique du muscle reste inchangée.	Peres et Oliva-Teles, 1999
<i>Psetta maxima</i>	10, 15, 20 et 25 %	Une augmentation de la teneur en lipides alimentaires entraîne une augmentation de celle du poisson. La concentration en lipides musculaires reste basse.	Regost <i>et al.</i> 2001
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	15, 20, 25 ou 30 %	Le contenu lipidique corporel final est positivement corrélé aux niveaux lipidiques alimentaires.	Gélineau <i>et al.</i> , 2001 Chaiyapechara <i>et al.</i> , 2003
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Combinaison d'huile de poisson, d'huile végétale et animale	Impact de la source lipidique sur le transport et/ou le métabolisme des lipides.	Caballero <i>et al.</i> , 2002
<i>Perca fluviatilis</i>	6, 12 et 18 %	Augmentation des teneurs en lipides du foie, des viscères et du muscle pour 12 et 18 %.	Kestemont <i>et al.</i> , 2001

1.3.3. Lipogénèse et contrôle enzymatique

La lipogénèse est la synthèse des triglycérides et des AG qui les constituent. Elle met en jeu deux processus biochimiques majeurs: l'hydrolyse par la lipoprotéine-lipase des lipides transportés dans les lipoprotéines (chylomicrons et VLDL) permettant ainsi la captation par le foie des AG libérés, et la synthèse endogène d'AG (lipogénèse *de novo*) (Gondret, 1999).

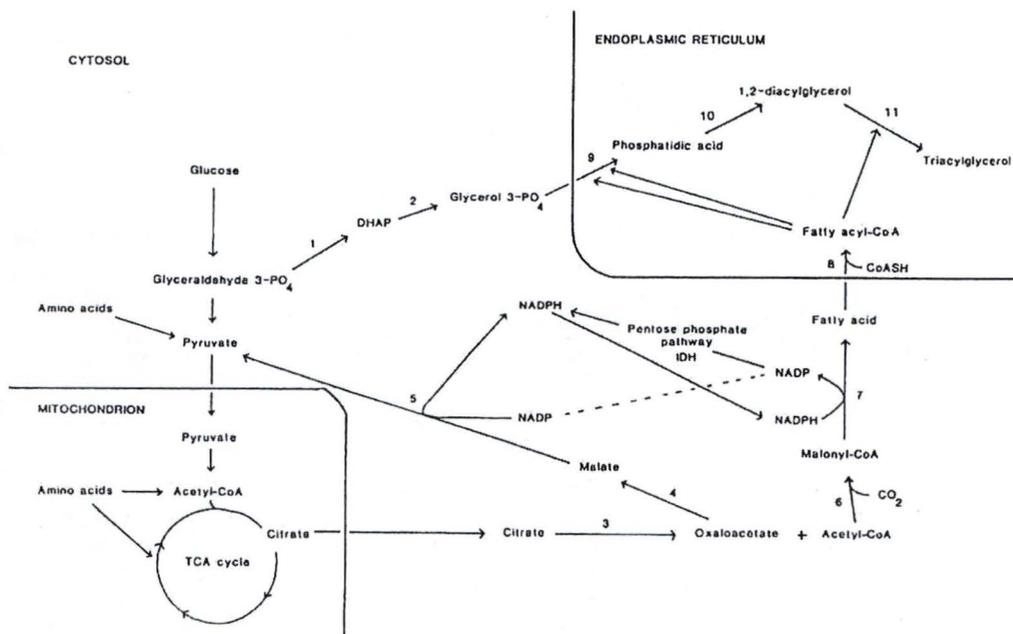


Fig.1.1.6. Voie de synthèse lipidique *de novo*. TCA : acide tricarboxylique; DHAP : dihydroxyacétone phosphate; IDH : isocitrate déshydrogénase; 1 : triose phosphate isomérase; 2 : glycerol 3-phosphate déshydrogénase; 3 : ATP citrate liase; 4 : malate déshydrogénase; 5 : enzyme malique; 6 : acetyl-CoA carboxylase; 7 : acide gras synthétase; 8 : acyl-CoA synthétase; 9 : glycérol 3-phosphate acyltransférase; 10 : phosphatidate phosphohydrolase; 11 : diacylglycérol acyltransférase. (d'après Henderson et Sargent, 1986 in Halver, 1989)

Chez les poissons, le foie est le site principal de lipogenèse, le tissu adipeux périviscéral ayant essentiellement un rôle de stockage (Léger *et al.*, 1980). La synthèse des AG à partir de l'acétyl-CoA n'est pas possible par simple réversibilité des mécanismes de β -oxydation. Trois mécanismes distincts se complètent (Moussard, 2002):

- la synthèse cytosolique à partir de l'acétyl CoA jusqu'au palmitoyl-CoA (C16);
- l'élongation mitochondriale allongeant au delà de C16 les AG préformés dans le cytosol;
- l'élongation et la désaturation microsomaux formant les AGI.

1.3.3.1. Synthèse *de novo* des acides gras

Aucun mécanisme n'existe pour le stockage direct à long-terme d'un excès de protéines ou d'hydrates de carbone d'origine alimentaire. Les animaux doivent donc être capables de transformer un surplus énergétique non lipidique en lipides. Comme le régime alimentaire des poissons carnivores contient peu d'hydrates de carbone mais des quantités importantes de protéines et de graisses, la prise alimentaire limitée de glucides, un précurseur lipogénique, en même temps que l'abondance de lipides, un dépresseur lipogénique, impliqueraient une capacité seulement modérée de synthèse *de novo* des AG (Dias, 1999).

Les voies de synthèse des AG à partir de précurseurs non lipidiques chez les téléostéens sont comparables à celles des mammifères. Bien que le glucose soit utilisé comme source de carbone pour la synthèse des AG chez les autres animaux, le cas des poissons est tout autre. En effet, leur régime alimentaire riche en protéines leur fournit des acides aminés (AA) en masse qui serviront de source principale de carbone pour la biosynthèse des AG. Ces composés carbonés sont transformés en pyruvate et pénètrent alors dans la mitochondrie où ils sont transformés sous l'action d'une pyruvate déshydrogénase en acétyl-CoA (figure 1.1.6). Pour traverser la membrane mitochondriale, l'acétyl-CoA se combine à l'oxaloacétate pour former du citrate capable de passer cette membrane. A partir de l'acétyl-CoA, régénéré par l'action de l'ATP citrate lyase, la biosynthèse *de novo* des AG est effectuée en présence de deux systèmes enzymatiques séquentiels du cytosol : l'acétyl-CoA carboxylase et le complexe enzymatique synthétase des AG (Gnoni et Muci, 1990; Rawn, 1990; Henderson, 1996). Ces AG seront ensuite incorporés par réaction d'estérification dans les PL et les TAG.

L'estimation des activités des enzymes de la lipogenèse permet une mesure du potentiel de synthèse et non une mesure réelle. Le plus souvent, les enzymes étudiées sont l'acétyl-CoA carboxylase, enzyme clé de la lipogenèse et/ou l'AG synthase (FAS), l'enzyme malique (ME) et la glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Ces deux dernières enzymes ne sont pas directement impliquées dans la lipogenèse, mais elles fournissent le NADPH, cofacteur indispensable et souvent limitant dans la synthèse des AG (Mourot *et al.*, 1999).

Trois enzymes seront étudiées dans le cadre de ce travail : la glucose 6-phosphate déshydrogénase, l'enzyme malique et l'acide gras synthase. La G6PDH est une enzyme du cytoplasme présente dans toutes les cellules, sauf dans les muscles. Elle catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Les hydrogènes servent à réduire le coenzyme NADP^+ en NADPH. C'est l'enzyme catalysant l'étape d'engagement du glucose 6-phosphate dans la voie des pentoses pour la production du NADPH et constitue donc l'enzyme clé de la voie des pentoses. La ME oxyde le malate en réduisant le coenzyme NADP^+ en NADPH et produit du pyruvate qui entre dans la mitochondrie. L'acide gras synthase, chez les animaux, est une multienzyme, formée de deux sous-unités, catalysant six réactions ou transferts : on distingue une activité de transacétylase, de transmalonylase, une réaction de condensation, deux réductions et une déshydratation. La FAS libère dans le cytoplasme des palmitoyl-CoA, quelquefois des stéaryls-CoA (Raisonnier, 2004).

En fonction des changements alimentaires, l'hépatocyte doit intégrer les différents signaux pour fournir le niveau optimal de production d'enzymes lipogéniques pour répondre aux besoins de l'organisme (Dias, 1999). Selon Carrington (1995), les lipides alimentaires jouent un rôle majeur sur les fonctions du foie, en régulant l'abondance et l'activité de certaines protéines contrôlant la transcription de gènes spécifiques. Alors que les AG saturés (AGS) et monoinsaturés (AGMI) alimentaires ne possèdent pas d'effet sur la lipogenèse hépatique, les AGPI répriment fortement la synthèse des AG. Ainsi les effets des AGPI sur trois enzymes du foie ont été étudiés: sur l'AG synthétase (une enzyme clé pour la synthèse du palmitate), la pyruvate kinase (une enzyme clé impliquée dans le métabolisme du glucose) et la protéine S14 (une protéine moins bien comprise, impliquée elle aussi dans la lipogenèse). Les mécanismes sont encore peu connus mais interviendraient à l'étape prétraductionnelle (transcription, stabilité de l'ARN messager) (Couet, 1994). Par exemple, les facteurs auxiliaires HNF4 de la région du promoteur du gène de la pyruvate kinase sont les sites d'inhibition de la lipogenèse par les AGPI (Carrington, 1995). Ainsi, chez le bar *Dicentrarchus labrax*, les activités de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), de l'enzyme malique (ME), de l'ATP citrate liase (ACL) et de l'AG synthétase (FAS) diminuent quand les teneurs en lipides alimentaires augmentent (Dias *et al.*, 1998).

Tableau 1.1.5. Activité spécifique (mUI/mg de protéines solubles) des enzymes lipogéniques hépatiques de plusieurs espèces de poissons et de quelques vertébrés terrestres (d'après Dias, 1999). Note: cette table donne un aperçu des données existant sur les enzymes lipogéniques chez le poisson. Elle ne doit pas être utilisée à des fins de comparaisons entre les espèces, étant donné que les conditions expérimentales et nutritionnelles des différentes études sont très variables.

Espèces	G6PDH	ME	FAS	Source
Truite arc-en-ciel	168-255 56-107 50-120 710-2000 250-322	101-152 16-34 12-18 21-35	 0,01-0,05 0,01-0,02	Barroso <i>et al.</i> , 1994 Walzem <i>et al.</i> , 1991 Jürss <i>et al.</i> , 1986 Dias, 1999 Dias, 1999
Saumon de l'Atlantique	63-120	200-305		Arnesen <i>et al.</i> , 1993
Saumon du Pacifique	138-184	66-87	9,5-20,3	Lin <i>et al.</i> , 1977
Poisson chat	38-462	2-154	1,5-4,1	Likimani et Wilson, 1982
Tilapia	54-114	11-33		Lin et Shiao, 1995
Esturgeon	37-176	43-321		Hung <i>et al.</i> , 1989
Anguille américaine	11-36			Aster et Moon, 1981
Anguille Européenne	149-296 330	18-34 64	3,7-19,2 0,5	Abraham <i>et al.</i> , 1984 Gnoni et Muci, 1990
Carpe	249	147		Segner et Böhm, 1994
Bar	570-920 180-470 352-547	13-42 15-52 3-30	0,47-0,73 0,20-0,26 0,37-1,74	Dias, 1999 Dias, 1999 Dias, 1999
Dorade	32-49	3-6	0,02-0,04	Corraze <i>et al.</i> , 1998
Perche européenne	531-647 678-801	71-83 65-93	0,01	Blanchard, non publ. Ce mémoire
Rat	25,8	28,2	8,7	Iritani <i>et al.</i> , 1984
Poulet	6,2	189	19,5	Iritani <i>et al.</i> , 1984
Grenouille	51,5	25,0	2,01	Iritani <i>et al.</i> , 1984

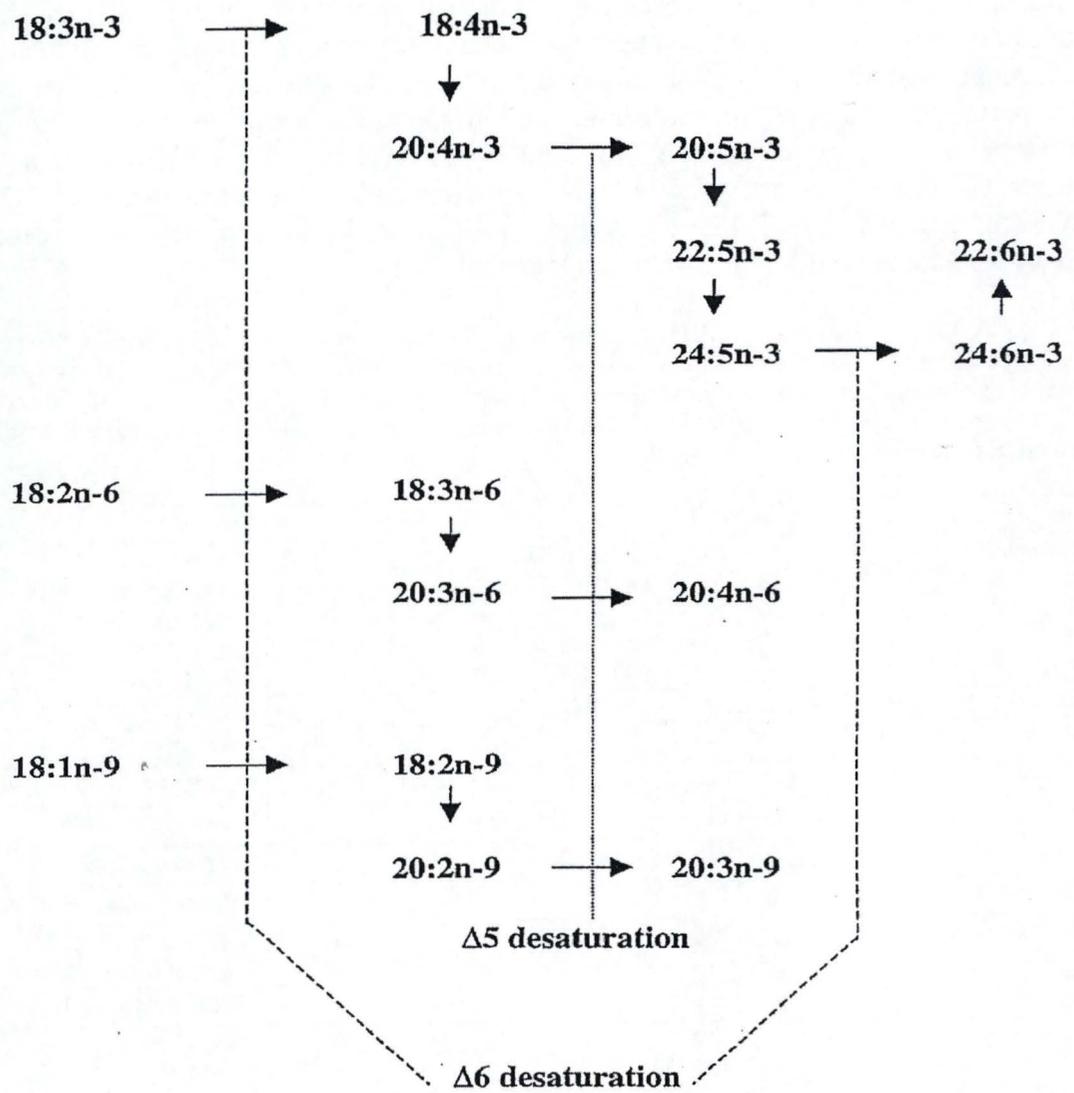


Fig.1.1.7. Schéma des principales voies de bioconversion des AG (Halver, 2002)

Chez le piracanjuba *Brycon orbignyanus*, de Borba *et al.* (2003) ont observé une inhibition de l'activité de FAS suite à l'augmentation du taux de lipides alimentaires, alors que l'activité de G6PDH ne diffère pas entre les traitements. Le tableau 1.1.5 reprend l'activité spécifique de certaines enzymes de la lipogenèse chez différentes espèces de poissons et de vertébrés terrestres.

On peut d'ores et déjà déplorer qu'il n'existe pas plus de références bibliographiques sur le sujet concernant la perche, car une bonne connaissance de ces phénomènes semble devoir être nécessaire si l'on souhaite en maîtriser les conséquences.

1.3.3.2. Elongation / désaturation

Alors que l'alimentation apporte à la fois des AGS, AGMI et AGPI, la biosynthèse ne produit que des AGS. Les poissons sont incapables de synthétiser les acides linoléiques et linoléiques, ils peuvent synthétiser le 18:1 (n-9), comme pratiquement tous les animaux, mais ne possèdent pas la $\Delta 12$ désaturase, enzyme désaturant le 18:1 (n-9) en 18:2 (n-6) et la $\Delta 15$ désaturase qui peut convertir le 18:2 (n-6) en 18:3 (n-3), ces deux enzymes étant spécifiques au monde végétal (Henderson, 1996). Ils sont par contre capables de désaturer et allonger les AG des séries n-9, n-6, n-3 (figure 1.1.7), à partir de précurseurs, grâce aux enzymes $\Delta 9$, $\Delta 6$ et $\Delta 5$ désaturases (Halver, 2002). Un problème particulier existe concernant l'insertion de la dernière double liaison ($\Delta 4$) pour la formation du 22:6 (n-3), qui ne se passe pas directement par une $\Delta 4$ désaturase agissant sur un précurseur 22:5 (n-3). A la place, il y a élongation de la chaîne de 22:5 (n-3) en 24:5 (n-3) converti par une $\Delta 6$ désaturase en 24:6 (n-3), qui est alors converti, suite à une réaction de raccourcissement de la chaîne dans les peroxysomes, en 22:6 (n-3), l'un des AG les plus fréquents dans les lipides de poissons (Halver, 2002).

Alors que les étapes de désaturation ont tendance à être lentes, les étapes d'élongation procèdent rapidement (Steffens, 1997). La quasi incapacité de bioconversion des AG C18 observée chez les poissons marins par rapport aux poissons d'eau douce est due à l'absence ou à l'activité très faible de certaines enzymes impliquées dans ces réactions, en particulier la $\Delta 5$ désaturase. Ces différences interspécifiques entraînent de grandes différences de besoins en AGE (Corraze, 1999; Xu *et al.*, 2002). La faible activité de la $\Delta 5$ désaturase des poissons marins reflète l'abondance d'EPA et de DHA dans la chaîne trophique marine (Bell *et al.*, 1997).

Bell *et al.* (2000) ont montré que la conversion d'AG en AGLPI peut être stimulée par une déficience en antioxydants liposolubles. Ainsi, chez le rat, la vitamine E joue un rôle régulateur dans la chaîne de transport d'électron microsomiale du complexe désaturase; une déficience en vitamine E entraîne une augmentation d'AGLPI dans les membranes des mitochondries et des microsomes. L'apport lipidique alimentaire conditionne également l'activité des désaturases: la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) nourrie avec un régime pauvre en AGE (huile d'olive) présente une augmentation de l'activité de la $\Delta 6$ désaturase avec formation de DHA (Buzzi *et al.*, 1996). Il est important de noter que les taux relatifs de la $\Delta 6$ et $\Delta 5$ désaturases sont équilibrés chez les animaux. Leur activité peut être modifiée par des changements de régime ou hormonaux (Brenner, 1981).

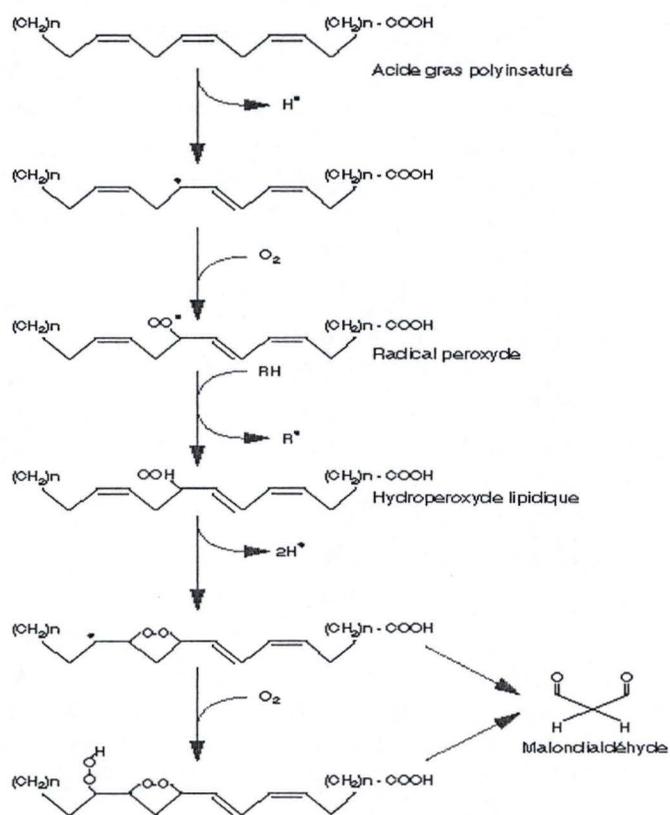


Fig.1. 2.1. Peroxydation lipidique : voie de synthèse du malondialdéhyde à partir des acides gras polyinsaturés (d'après Lefèvre *et al.*, 1998)

2. Les antioxydants

2.1. La peroxydation

Certaines formes d'oxygène hautement réactives peuvent causer à l'organisme des dommages étendus et contribuer par là au vieillissement. Les dérivés actifs de l'oxygène (DAO) sont pour la plupart des radicaux libres. Un radical libre est défini comme une espèce chimique possédant un électron libre lui conférant une instabilité et une capacité à réagir avec de nombreuses molécules. Le rôle de ces DAO est vital dans la destruction des microbes pathogènes par les phagocytes mais leur principale caractéristique concernant la santé est le pouvoir de s'attaquer à différents constituants intracellulaires et extracellulaires. Les DAO sont normalement contrôlés par des systèmes de défense complexes : certains systèmes enzymatiques (les super-oxydes dismutases, la glutathion peroxydase et la catalase) réduisent au minimum les dégâts infligés à des composants cellulaires tels que l'ADN, les protéines et les lipides (Gurr, 2000).

Au contact de l'oxygène, les acides gras insaturés et tout spécialement les plus insaturés d'entre eux (AGLPI n-6 et n-3), sont facilement altérés par des réactions désignées sous le nom de peroxydation qui comprend trois grandes phases : l'initiation (arrachage d'un électron au niveau d'une double liaison et formation d'un radical instable), propagation (avec formation en chaîne d'une série de radicaux libres se comportant tantôt comme réducteurs tantôt comme oxydants), et enfin arrêt de la réaction avec formation de composés terminaux tels que les aldéhydes et les cétones (figure 1.2.1) (Corraze, 1999).

Les dommages incontrôlables des AGLPI membranaires et l'accumulation de leurs produits terminaux oxydés peuvent avoir des conséquences délétères pour le fonctionnement des cellules et des organes. Les huiles de poissons sont riches en AGPI n-3, et sont donc fort sensibles à la peroxydation des lipides (Stéphan *et al.*, 1995 ; Mourente *et al.*, 1999). Plusieurs études ont montré qu'une augmentation de lipides de la série n-3 dans les régimes induisait une augmentation de la peroxydation des lipides tissulaires *in vivo* (Murai et Andrews, 1975; Tocher *et al.*, 2002), *in vitro* (Suárez *et al.*, 1996) et *post mortem* (Stéphan *et al.*, 1995; Scaife *et al.*, 2000).

Les antioxydants sont des substances s'oxydant facilement et protégeant de ce fait les autres composés sensibles à l'oxydation. Ils sont plus spécialement utilisés en vue de briser ou tout au moins ralentir la chaîne de réaction de peroxydation. Celle-ci est ralentie par plusieurs types de molécules qui freinent les réactions en chaîne par des mécanismes variés. Les systèmes NADH/NADPH, glutathion réduit (GSH), groupe protéine sulphydryl, acide urique et les enzymes capturant les radicaux libres comme la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (GPX) sont des composés antioxydants endogènes. Quant aux composés antioxydants exogènes, on retrouve les vitamines E et C, les caroténoïdes et autres composés de synthèse. Des interactions peuvent survenir entre ces molécules afin d'épargner ou remplacer l'une ou l'autre de celles-ci (Tocher *et al.*, 2002). Un aspect de ces interactions est l'intervention précoce de la vitamine C lors de la formation initiale du radical superoxyde, et son intervention en second rang, après celle de la vitamine E, après que les lipides membranaires aient subi une attaque radicalaire. Un autre exemple correspond aux inversions du rôle des protéines et des lipides. Les premières sont susceptibles d'être protégées par la captation des radicaux libres par les AGPI membranaires, régénérés ensuite par la vitamine E,

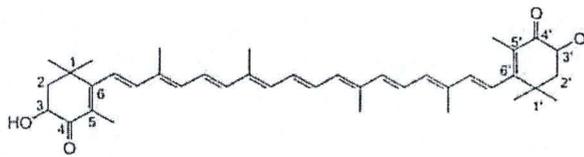


Fig. 1.2.2. Molécule d'astaxanthine

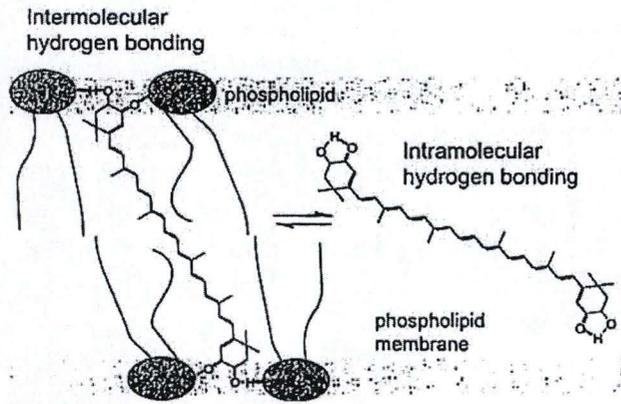


Fig. 1.2.3. Représentation schématique de la localisation possible des molécules d'astaxanthine possédant un lien hydrogène inter- et intramoléculaire dans la double membrane (d'après Goto et al., 2001)

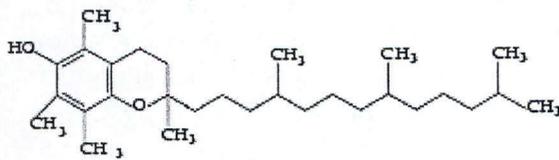


Fig. 1.2.4. molécule de vitamine E ou α -tocophérol (d'après Allain, 2002)

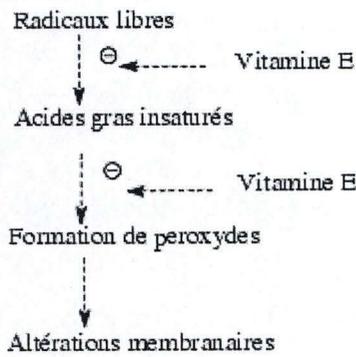


Fig. 1.2.5. Action antiradicalaire de la vitamine E (d'après Allain, 2002)

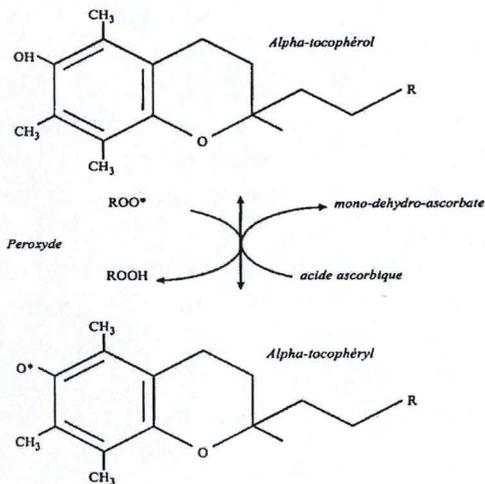


Fig. 1.2.6. Recyclage du tocophérol par l'acide ascorbique (d'après Grasset, 1994)

2.2. Nature et fonction des antioxydants

2.2.1. Cas de l'astaxanthine

Les caroténoïdes sont des molécules à 40 atomes de carbone. Leur structure hautement polyinsaturée et la présence de cycles terminaux leur confèrent la capacité de recevoir un radical libre sans trop perdre de leur stabilité. Ils ont donc un effet antioxydant notable (Dionne, 2002). Ces pigments liposolubles provenant de plantes, algues et de certaines espèces bactériennes, comprennent plus de 700 composés aux teintes rouge, orange et jaune. Comme la plupart des animaux sont incapables de synthétiser ces caroténoïdes de manière endogène, ils doivent les accumuler de manière trophique (Goto *et al.*, 2001).

L'astaxanthine (3,3'-dihydroxyl 4,4'-dioxo- β -carotène) est le pigment caroténoïde principal trouvé dans les animaux aquatiques et possède une activité antioxydante jusqu'à 10 fois supérieure à celle du β -carotène, canthaxanthine, lutéine, lycopène, tunaxanthine et zéaxanthine. Elle est 550 fois plus puissante que la vitamine E (Maher, 2000). L'astaxanthine protège la double couche lipidique en surface et à l'intérieur des membranes cellulaires (figure 1.2.2 et 1.2.3).

Il semblerait que l'efficacité préventive des caroténoïdes contre la peroxydation des lipides soit fonction de la réactivité chimique de l'antioxydant face aux radicaux peroxy et fonction de la position et de l'orientation du caroténoïde dans la membrane (Woodall *et al.*, 1997).

Chez le saumon Atlantique (*Salmo salar*), l'astaxanthine, d'origine planctonique, se localise au niveau des muscles, des ovaires et de la peau. Cet antioxydant est rajouté à leur alimentation en élevage afin de conserver leurs propriétés organoleptiques. Les caroténoïdes sont associés à une meilleure qualité des œufs et une meilleure survie larvaire chez les salmonidés (Bell *et al.*, 2000, Goto *et al.*, 2001). L'astaxanthine améliorerait la réponse immunitaire. Le risque d'effets nocifs pouvant survenir à la suite de consommation d'aliments contenant des taux autorisés d'astaxanthine est faible pour les consommateurs en bonne santé. Une ingestion importante d'astaxanthine mène à un dépôt de pigments sur la rétine pouvant causer des troubles de la vue. Cette situation est réversible en éliminant l'exposition à de hauts taux d'astaxanthine (Maher, 2000). Il faut noter qu'il existe des normes limitant la teneur en astaxanthine dans les aliments : la concentration maximale à ne pas dépasser est de 100 ppm.

2.2.2. Cas de la vitamine E

Le terme de vitamine E désigne, en fait, une famille de substances dont la plus active biologiquement est l' α -tocophérol (figure 1.2.4). Les tocophérols sont au nombre de 4 (α , β , γ et δ -tocophérols). Ils jouent le rôle d'antioxydants naturels ce qui explique pourquoi les huiles végétales résistent bien au phénomène de rancissement (Couet, 1994). Les tocophérols, en absence d'oxygène, sont stables à la chaleur et à la lumière, mais, en présence d'oxygène, malgré leurs propriétés antioxydantes, ils s'oxydent pour former une quinone. La vitamine E stabilise *in vivo* et *in vitro* les acides gras insaturés et les protège contre le rancissement. Le rancissement comporte la formation de radicaux qui, en présence d'oxygène, donnent des peroxydes selon une réaction en chaîne. La vitamine E s'oppose à la peroxydation des AG en peroxydes en transférant son hydrogène phénolique à un radical libre peroxy provenant d'un AGPI peroxydé (figure 1.2.5). Le noyau chromane, oxydé sur le groupe OH, est transformé en α -tocophérol radical, peu réactif car relativement stable, et qui est de plus régénéré en tocophérol par l'acide ascorbique (figure 1.2.6). Ensuite, les radicaux de vitamine C sont à

leur tour régénérés grâce au glutathion (GSH), une des enzymes antioxydantes du système de défense endogène.

Les effets engendrés par l'apport de vitamine E alimentaires ont été étudiés chez de nombreuses espèces de poissons. Une liste non-exhaustive des résultats obtenus est présentée au tableau 1.2.1.

Tableau 1.2.1. Liste non-exhaustive d'expériences faisant intervenir la vitamine E dans l'aliment des poissons

Espèces	Expériences	Résultats	Références
<i>Sparus aurata</i>	Ajout de 20, 70 et 230 mg α -tocophérol.kg ⁻¹ d'aliment	Les niveaux de vit E présents dans les tissus reflètent ceux des aliments. Meilleure protection et taux plus élevés de vit E dans le foie que dans les muscles.	Stéphan <i>et al.</i> , 1995
<i>Sparus aurata</i>	Huiles oxydées avec ou sans ajout de vit E (200 mg.kg ⁻¹ d'aliment)	Le contenu en vit E du foie reflète le contenu en vit E du régime. L'huile oxydée affecte les enzymes antioxydantes du foie et la vit E abroge partiellement ces effets.	Mourente <i>et al.</i> , 2002
<i>Scophthalmus maximus</i>	Ajout de vit E et C : 500/100, 1000/100, 100/1000, 100/100 mg.kg ⁻¹	Des taux élevés de vit E diminuent les concentrations en vit C dans les muscles. L'augmentation des teneurs en vit E dans les régimes prévient la détérioration de la couleur et l'oxydation des lipides des filets de turbot stockés dans la glace.	Ruff <i>et al.</i> , 2003
<i>Scophthalmus maximus</i> , <i>Hippoglossus hippoglossus</i> , <i>Sparus aurata</i>	Ajout croissant de vit E	Une diminution du contenu en vit E dans le régime entraîne sa diminution dans les tissus, et parallèlement une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes du foie et des niveaux de lipides peroxydés.	Tocher <i>et al.</i> , 2002
<i>Oreochromis niloticus</i> X <i>O. aureus</i>	Ajout de 0, 50, 100, 200, 450 et 700 mg d' α -tocophérol.kg ⁻¹ d'aliment	L'augmentation de la dose de vit E dans les régimes élève la capacité antioxydative des tissus contre la peroxydation des lipides	Huang <i>et al.</i> , 2003
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Ajout soit de 100 ppm d' α -tocophérol, soit 100 ppm BHT, soit 1.4 g d'extrait de romarin.kg ⁻¹ d'aliment	Vit E est l'antioxydant utilisé le plus efficace, comme le montrent les hauts pourcentage d'AGPI, les faibles valeurs des substances réactives aux thiobarbituriques (TBARS) et les analyses des niveaux individuels d'AG à différentes doses d'irradiation (2 et 3 kGy)	Sant'Ana <i>et Mancini-Filho</i> , 2000
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	15 ou 30% de lipide avec 300 ou 1500 mg α -tocophérol.kg ⁻¹	Passer de 300 à 1500 mg vit E.kg ⁻¹ permet de réduire l'arôme « fishy » dans les filets des truites nourries avec 30% de lipides.	Chaiyapechara <i>et al.</i> , 2003
<i>Salmo salar</i>	Ajout de 184, 573 et 865 mg α -tocophérol.kg ⁻¹ d'aliment	L'augmentation de vit E dans les muscles améliore la stabilité oxydative des filets pendant un stockage au congélateur à long-terme.	Scaife <i>et al.</i> , 2000
<i>Ictalurus punctatus</i>	Ajout de 0, 25 et 100 mg α -tocophérol.kg ⁻¹ d'aliment avec 0 ou 125 mg.kg ⁻¹ d'éthoxyquine	Meilleurs résultats pour 25 mg vit E.kg ⁻¹ et 125 mg.kg ⁻¹ d'éthoxyquine, ou 100 mg vit E.kg ⁻¹	Murai <i>et Andrews</i> , 1975

3) Besoins nutritionnels et métabolisme lipidique chez la perche

Sur le plan zootechnique, les premiers essais conduits en laboratoire ont rapidement démontré les aptitudes de la perche commune à l'élevage en milieu confiné: acceptation du confinement

et d'une alimentation à base de granulés, comportement social grégaire, comportement alimentaire opportuniste...(Craig, 2000; Brown et Barrows, 2002).

On peut distinguer trois grandes périodes alimentaires dans la vie d'une perche d'élevage (Livertoux, 1995) :

- la jeune perche avant sevrage nécessitant une alimentation naturelle vivante et de petite taille,
- la perche sevrée, en cours de grossissement, à laquelle on distribuera un aliment artificiel (industriel),
- la perche qui servira de reproducteur et qu'on nourrira de petits poissons de fourrage.

Il faut commencer par dire qu'il n'existe pas encore « d'aliment-perche », comme il existe par exemple des « aliments-truites ». Les recherches sont encore en cours pour déjà définir la composition que devrait avoir cet aliment, mais aussi étudier sa texture, sa granulométrie, sa présentation,...

La dynamique des lipides totaux et des AG durant l'embryogenèse et les premiers stades de développement suggèrent que le DHA, et dans une moindre mesure l'EPA, jouent un rôle majeur pendant les premières étapes de la vie de la perche commune et qu'ils doivent être présents à des niveaux suffisants dans le régime des larves pour permettre la croissance (Abi-Ayad *et al.*, 2000).

Les premiers travaux concernant les besoins nutritionnels de la perche ont montré que le taux protéique optimal pour un aliment perche est proche de 40 % (Fiogbé *et al.*, 1996). Des expériences antérieures avec la perchaude (*Perca flavescens*), espèce voisine de la perche européenne, ont montré qu'un régime relativement pauvre en lipides et avec des concentrations élevées en protéines (36 %) semblait bénéfique à la croissance de ce poisson (Brown *et al.*, 1996). Entre 1996 et 1997, des essais d'utilisation d'aliments expérimentaux à base de farines de poissons et de mélanges de farines végétales additionnés de lipides bruts, comme l'huile de menhaden, ont été réalisés. Globalement, ces aliments semi-purifiés sont mal utilisés chez la perche malgré leur richesse en caséine-arginine comme source de protéines (Kestemont *et al.*, 1997). L'oxydation des lipides expliquerait les effets négatifs des teneurs élevées des lipides alimentaires sur la croissance.

Des essais de composition d'aliments expérimentaux ont permis d'établir que le taux optimal de lipides à apporter pour obtenir de bonnes performances de croissance était de 12 % avec éthoxyquine (Kestemont *et al.*, 2001), et que des modifications cytologiques et histologiques étaient observées au niveau du foie pour des teneurs en lipides alimentaires élevées (18%), ce qui traduirait les premiers signes de dysfonctionnement hépatique et une sensibilité à la peroxydation des lipides.

Suite à cette étude, des niveaux variables de lipides (12, 15 et 19%) ont été testés (Xu *et al.*, 2002). D'autre part, considérant l'importance des substances antioxydantes chez la perche, ils ont comparé l'efficacité de différentes substances antioxydantes (éthoxyquine, vitamine E et BHA) additionnées à différents aliments expérimentaux sur la croissance et l'état histologique

du foie. Ainsi, le taux de 19 % de lipides alimentaires donne les meilleures performances de croissance et d'utilisation alimentaire tandis qu'une augmentation au-delà de ce taux pourrait induire des dépôts importants de lipides dans le foie. Concernant les antioxydants, une préférence semble se marquer pour la vitamine E et le BHA. L'élongation et la désaturation de l'acide linoléique en ARA a été observée au niveau du muscle du poisson, et cette même conversion a aussi été observée dans le foie quand les perches étaient nourries avec des régimes comprenant 19% de lipides. La bioconversion relativement basse de l'AG 18 carbone n-6 en ARA comparée à l'efficacité de bioconversion de l'AG n-3 EPA en DHA suggère qu'un effet inhibiteur peut exister entre les processus métaboliques des AG n-3 et n-6 chez la perche, et il est probable que la conversion de l'acide linoléique en ARA est supprimée par la présence d'AGPI tels l'EPA et le DHA dans les régimes.

A la lumière de ces conclusions, une nouvelle expérience a été mise en place par Xu et Kestemont (2002) afin d'évaluer les effets de diverses sources de lipides (huile de coco, huile d'olive, huile de Safran, huile de lin et huile de foie de morue), sur la croissance et le métabolisme lipidique chez la perche, l'huile de foie de morue servant de contrôle pour l'expérimentation. Comme attendu, c'est cette dernière qui a donné les meilleures performances de croissance. Les résultats concernant la composition en AG dans les tissus sont représentés au tableau 1.3.1. Il en ressort qu'au point de vue biochimique, la perche possède une réelle capacité d'élongation et de désaturation de l'EPA en DHA, mais a une capacité limitée de convertir les acides linoléiques et linoléiques en EPA et ARA. Les niveaux relativement élevés d'AGPI dans les lipides musculaires des poissons nourris avec une ration sans lipides sont probablement le résultat d'une utilisation préférentielle d'AG à courtes ou à moyennes chaînes comme source d'énergie pour le métabolisme basal, plutôt qu'une augmentation absolue des teneurs en AGPI.

Tableau 1.3.1. Composition en acides gras dans le foie (F), les viscères (V) et le muscle (M) des poissons nourris par différents types de lipides (% AG totaux)

	Huile de coco			Huile d'olive			Huile de safran			Huile de lin			Huile de foie de morue		
	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M
14:0	2,6	6,2	1,2	1,6	5,6	0,7	2,1	4,8	0,7	3,5	6,2	0,9	1,9	5,6	1,3
16:0	14,5	10,5	20,3	18,9	11,5	20,3	17,0	11,2	20,3	21,5	11,0	20,3	14,8	14,5	21,3
16:1 (n-7)	7,5	8,0	3,1	8,1	10,6	3,5	8,9	7,2	3,0	13,7	8,7	3,6	9,0	13,5	4,1
18:0	1,9	1,1	1,1	3,0	0,8	3,5	2,6	0,9	4,1	2,5	1,0	3,9	2,7	1,0	3,6
18:1 (n-9)	15,0	22,6	10,7	24,8	31,3	14,1	16,2	22,8	10,5	23,5	24,4	10,9	15,1	25,0	11,9
18:2 (n-6)	3,2	4,0	2,4	2,9	4,4	3,3	22,1	19,5	8,9	2,4	4,8	4,3	3,8	4,4	2,1
18:3 (n-3)	0,5	0,9	0,4	0,3	0,9	0,3	0,3	1,0	0,2	0,6	1,5	1,7	3,4	1,3	0,5
20:4 (n-6)	0,3	0,5	2,5	1,8	0,3	2,2	0,8	0,3	2,0	0,8	0,4	1,9	1,2	0,3	1,7
20:5 (n-3)	4,4	2,8	9,1	2,1	2,6	7,8	1,9	2,7	6,4	2,3	3,3	6,4	2,8	5,1	7,8
22:5 (n-3)	0,6	0,8	0,4	0,3	1,4	0,3	0,4	0,7	0,3	0,7	1,5	0,9	0,9	0,9	1,4
22:6 (n-3)	32,0	16,6	34,3	27,8	13,5	35,5	16,8	13,0	35,6	21,0	15,7	37,5	32,5	12,4	33,6

Une expérience similaire a été conduite sur la perchaude (Brown *et al.*, 2003) avec comme sources lipidiques testées de l'huile de menhaden, de soja, de noix de coco, du suif et un mélange d'huile de menhaden et de soja. Les données sur les gains de poids obtenus suggèrent que cette espèce nécessite à la fois des AG n-3 et n-6 dans son alimentation.

En conclusion, si les aliments pour salmonidés conviennent bien pour la perche sur le plan protéique, il n'en est pas de même sur le plan lipidique. En effet, beaucoup de poissons dits "d'eaux fraîches" ont des tolérances limitées vis-à-vis des apports massifs de lipides comparativement aux poissons dits "d'eaux froides". Il est donc nécessaire d'approfondir les

recherches concernant le métabolisme des lipides chez la perche afin d'apporter les quantités de lipides et les antioxydants optimaux.

**Deuxième partie:
matériel et méthodes**

L'étude consiste à déterminer l'effet des quantités de lipides et d'antioxydants apportés à l'alimentation de la perche (*Perca fluviatilis*). A cette fin, nous analyserons l'activité d'enzymes hépatiques impliquées dans la lipogenèse, le contenu en lipides et en protéines et l'état de peroxydation du foie et des muscles de juvéniles de perche.

L'expérimentation proprement dite a commencé le 17 février (le lendemain de la mise en charge) et a pris fin le 13 mai 2004. Les poissons ont été soumis à une période d'acclimatation de quinze jours avant la mise en charge, durant laquelle ils ont été nourris avec un régime référentiel exempt d'antioxydant afin de les adapter progressivement aux régimes expérimentaux.

1. Matériel biologique

Les juvéniles de perche employés dans le cadre de cette étude ont été fournis par la station de Tihange (CERER pisciculture).

360 poissons ont été sélectionnés et répartis à raison de 30 poissons par bassin. La biomasse moyenne initiale était de 1374 ± 25 g par bassin et le poids moyen individuel était de 46 ± 5 g. A l'origine, les poissons de la famille des Percidés se retrouvent dans les régions à climat tempéré de l'hémisphère nord (Craig, 2000). En Europe, deux espèces constituent un intérêt en aquaculture: la perche et le sandre (*Stizostedion lucioperca*) (figure 2.1 et 2.2).

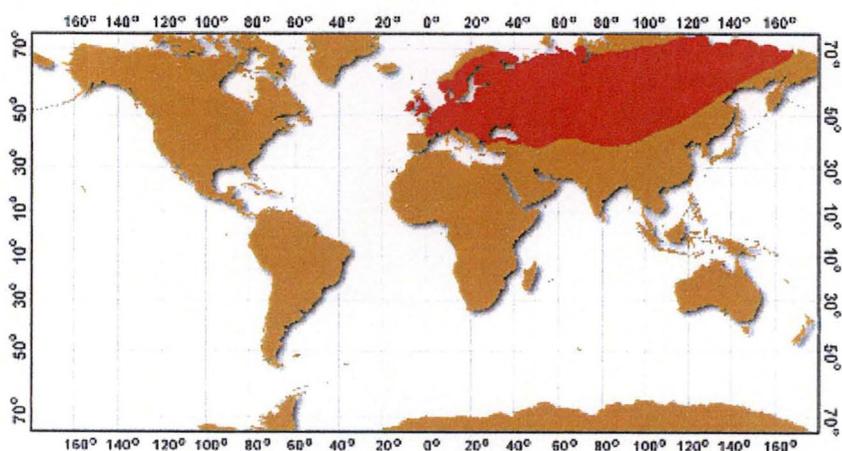


Fig.2.1. Distribution de *Perca fluviatilis*



Fig.2.2. *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758

C'est une espèce de poisson au corps ovale, allant du gris bleu au vert sur le dos, plus clair dessous et munie de 6 à 9 bandes sombres donnant à ses flancs un aspect rayé. La perche possède deux nageoires dorsales, la première ornée d'une tache noire à sa partie postérieure et d'un rayon épineux dans sa partie antérieure, deux nageoires pectorales et pelviennes et une nageoire anale, les ventrales et l'anale étant rougeâtres. Sa taille varie de 20 à 50 cm et son poids de 0,2 à rarement plus de 1,5 kg. Cette espèce est également caractérisée par un dimorphisme sexuel en faveur des femelles.

On retrouve la perche fluviatile dans les étangs et lacs, aussi bien que les rivières et fleuves. A chaque étape de sa vie, c'est un prédateur; vis-à-vis des invertébrés dans un premier temps, vis-à-vis des poissons et des invertébrés par la suite. La maturité sexuelle se déroule entre la troisième et la quatrième année (Craig, 2000).

2. Conditions expérimentales

Les juvéniles ont été stockés dans un dispositif en circuit fermé au sein des infrastructures de l'URBO. Le circuit fermé est constitué de 12 bassins en polyester d'une contenance utile de 100 l chacun, est alimenté en eau et équipé de systèmes de filtration mécanique et biologique ainsi que d'un UV germicide. L'aération est assurée au niveau du filtre et des bassins individuellement. Un réfrigérateur est installé dans la même salle pour le stockage d'une partie des aliments expérimentaux, le reste se trouvant dans un congélateur à -20°C .

Le suivi des paramètres physicochimiques a été effectué durant toute la période expérimentale de manière à assurer les conditions d'élevage optimales pour la perche.

Un contrôle quotidien de la température et de la concentration en oxygène dissous ont permis de déterminer que la température moyenne au cours de l'expérience était de $22,7 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, la concentration moyenne en oxygène dissous étant de $6,5 \pm 0,5 \text{ mg.l}^{-1}$.

Les nitrites (NO_2^-) et les ions ammonium (NH_4^+) ont été contrôlés deux fois par semaine. La moyenne obtenue au cours de l'expérience est de $0,145 \pm 0,075 \text{ mg.l}^{-1}$ et de $0,50 \pm 0,22 \text{ mg.l}^{-1}$ respectivement. Si les taux devenaient critiques, le renouvellement de l'eau était augmenté jusqu'à stabilisation des paramètres.

Les poissons morts ont été prélevés et pesés quotidiennement. Les bassins ont été régulièrement siphonnés, le nettoyage complet étant réalisé tous les quinze jours.

Les poissons ont été nourris *ad libitum* en deux passages, trois fois par jour (9h00, 13h00 et 17h00) excepté le dimanche. La ration distribuée quotidiennement a été pesée (en g).

3. Les régimes expérimentaux

Les 4 régimes isoénergétiques ($16,8 \text{ MJ.Kg}^{-1}$) ont été élaborés au sein de l'URBO. Ils contenaient chacun 49 % de protéines et 13 ou 19 % de lipides. Les régimes à 19 % de lipides contenaient ou non des antioxydants (vitamine E ou astaxanthine) afin d'étudier l'effet antioxydatif.

Les pâtes obtenues en mélangeant les ingrédients dans un mixeur (KENWOOD Major electronic) après avoir ajouté de l'eau afin de leur donner une consistance, ont été passées dans une machine hacheuse (BERKEL) d'où elles sont ressorties sous la forme de boudins fins (1,5 mm de diamètre). Après séchage dans une pièce ventilée pendant 48 heures, les boudins ont été concassés en granulés de 0,5 à 1 cm de long. Les régimes fabriqués ont été stockés à -20°C en permanence. La composition des différents régimes est détaillée dans le tableau 2.1.

Avec: R13: aliment contenant 13 % de lipides
 R19: aliment contenant 19 % de lipides
 R19A: aliment contenant 19 % de lipides additionné d'astaxanthine
 R19E: aliment contenant 19 % de lipides additionné de vitamine E

Tableau 2.1. Composition des 4 régimes expérimentaux (quantités en g pour 1 Kg d'aliment)

Régimes	R13	R19	R19A	R19E
Farine de morue	500	500	500	500
Huile de Menhaden	130	190	190	190
Amidon	315	100	100	100
Attractants(a)	10	10	10	10
CMC	20	20	20	20
Prémix vitaminé(b)	5	5	5	5
Prémix minéral(c)	20	20	20	20
α-cellulose	0	155	155	155
BHT + BHA(d)	0,2	0,2	0,2	0,2
Antioxydants(e)	/	/	1	0,3

(a) attractants = 2,5 g bétaïne + 2,5 g glycine + 2,5 g proline + 2,5 g alanine. (b) la composition du prémix vitaminé est montrée en annexe I. (c) la composition du prémix minéral est montrée en annexe I. (d) 100 ppm de BHT + 100 ppm de BHA. (e) 100 ppm d'astaxanthine à 10 % d'activité = 1 g.Kg⁻¹ et 300 ppm de vitamine E. CMC = carboxyméthylcellulose

4. Mesure des paramètres biologiques

Les contrôles et prélèvements effectués en début et fin d'expérience ainsi que le suivi quotidien de la prise alimentaire ont permis de mesurer certains paramètres biologiques à savoir: la croissance, le taux de croissance spécifique, le taux de mortalité, l'efficacité alimentaire, le taux de conversion alimentaire, le taux d'efficacité protéique, la valeur de production protéique et les indices hépato-somatique (HIS), gonado-somatique (IGS) et lipo-somatique (ILS).

4.1. Le gain de masse (G)

Il s'agit du gain de poids en pourcentage par jour selon la formule suivante:

$$G (\%) = \frac{100 \times (P_f - P_i)}{P_i}$$

P_f = poids moyen final (g)

P_i = poids moyen initial (g)

4.2. Le taux de croissance spécifique (SGR)

Les poids individuels pris en début et en fin d'expérience ont permis d'estimer le taux de croissance spécifique (specific growth rate = SGR) en pourcentage par jour.

$$SGR (\%.j^{-1}) = \frac{(\ln P_f - \ln P_i) \times 100}{\Delta t}$$

P_f = poids moyen final (g)
 P_i = poids moyen initial (g)

4.3. Le taux de mortalité (M)

Il se calcule simplement selon la formule suivante:

$$M (\%) = \frac{100 \times (N_i - N_f)}{N_i}$$

N_i = nombre initial de poissons

N_f = nombre final de poissons

4.4. L'efficacité alimentaire (EA)

Elle est calculée en fonction de la ration totale distribuée, des biomasses initiales et finales ainsi que de la biomasse des morts.

$$EA = \frac{(B_f + B_m - B_i)}{R_d}$$

B_f = biomasse finale (g)

B_m = biomasse des morts (g)

B_i = biomasse initiale (g)

R_d = quantité totale d'aliment distribué (g)

4.5. Le taux de conversion alimentaire (FCR)

Il s'agit du rapport entre la quantité de nourriture consommée (distribuée) et le gain de poids des poissons, cela permet de mesurer l'efficacité d'utilisation des aliments selon la formule suivante:

$$FCR = R_d / (B_f - B_i)$$

B_f = biomasse finale (g)

B_i = biomasse initiale (g)

R_d = quantité totale d'aliment distribué (g)

4.6. Le taux d'efficacité protéique (PER = protein efficiency ratio)

Le PER indique le gain de poids par unité de protéines consommées, ce qui indique si la source protéique de l'aliment répond bien aux exigences de l'espèce. L'indice se calcule comme suit:

$$PER = \frac{(P_f - P_i)}{R_dPC}$$

P_f = poids moyen final (g)

P_i = poids moyen initial (g)

R_dPC = ration protéique consommée (g)

4.7. La valeur de production protéique (PPV)

On appelle également ce critère “efficacité d'utilisation protéique”. Il indique le gain de protéines corporelles par unité de protéines consommées (en %) selon la formule:

$$\text{PPV}(\%) = \frac{100 \times (\text{Prf} - \text{Pri})}{\text{RdPC}}$$

Pri = protéines contenues initialement par poisson (g)

Prf = protéines contenues finalement par poisson (g)

RdPC = ration protéique consommée (g)

4.8. L'indice hépato-somatique (IHS), gonado-somatique (IGS) et lipo-somatique (ILS)

Seules les femelles ont été prises en compte pour le calcul de ces critères, ainsi que pour les analyses en laboratoire ultérieures. Ceci permet d'éliminer une variabilité qui pourrait être liée au sexe.

Ces différents indices ont été déterminés (en pourcentage) à partir du poids individuel, du poids du foie, des gonades (uniquement de femelles) et des graisses périviscérales des poissons. Ils ont été calculés à partir de trois poissons par bassin.

$$\text{IHS}(\%) = (\text{Pfo/Pt}) \times 100$$

$$\text{IGS}(\%) = (\text{Pg/Pt}) \times 100$$

$$\text{ILS}(\%) = (\text{Pv/Pt}) \times 100$$

Pfo = poids du foie (g)

Pg = poids des gonades (g)

Pv = poids des graisses périviscérales (g)

Pt = poids total (g)

5. Dosage du contenu lipidique du foie, des muscles et des poissons entiers

Les poissons en entiers (pris en début et en fin d'expérience), le foie et les muscles ont été homogénéisés et les lipides totaux ont été mesurés sur matière fraîche par la méthode de Folch *et al.* (1957) (Annexe II), avec remplacement du chloroforme par du dichlorométhane, moins toxique que le premier. Les foies et les muscles de 3 individus par bassin ont été conservés à -20°C, de même que 3 poissons pris au hasard. Les échantillons ont été broyés à 11000 rpm avec un Ultra-Turax X 1030 D.

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

$$\frac{\text{Poids de l'huile (g)} \times 100}{\text{Poids de la chair (g)}}$$

6. Dosage du contenu protéique des poissons entiers

Cinq poissons ont été prélevés en début d'expérience et trois par bassin en fin d'expérience. Ils ont été congelés à -20°C puis homogénéisés à l'aide d'un mixeur. Les protéines totales ont été mesurée sur matière sèche par un traitement de l'échantillon au Digesdahl à 440°C (Annexe III). Les minéralisats obtenus sont lus au spectrophotomètre à 460 nm, suite à l'ajout

de TKN, de KOH, de stabilisateur minéral et de réactif de Nessler. Le calcul du pourcentage en azote total se réalise selon la formule suivante :

$$\text{Azote total (mg.kg}^{-1}\text{)} = (75 \times (A-4)) / (B \times C)$$

Où A = mg.l⁻¹ TKN

B = poids (g) de l'échantillon

C = volume (ml) de minéralisat prélevé

$$\text{Teneur protéique} = \text{azote total} \times 6,25$$

7. Détermination de la peroxydation des lipides

Une des voies possibles afin d'évaluer l'effet des différents antioxydants sur le métabolisme lipidique du foie de la perche est l'estimation des concentrations en substances peroxydées au niveau du foie et du muscle. Des échantillons composés des foies de 3 individus par bassin ont été plongés dans l'azote liquide et ensuite stockés à -80°C.

La réaction du dosage du malonaldéhyde, produit secondaire de la peroxydation des lipides, repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malonaldéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), d'un pigment absorbant à 532 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol. Le résultat du dosage du malonaldéhyde par le TBA est donc la somme du malonaldéhyde préexistant lié ou non aux molécules biologiques, des peroxydes lipidiques, des produits d'auto-oxydation des AG et autres substances qui donnent naissance soit à du malonaldéhyde, soit à des molécules réagissant avec le TBA en milieu acide et à chaud. C'est pourquoi à la notion initiale de dosage du malonadéhyde s'est substituée la notion de "substances réagissant avec le TBA" (Thiobabitoric acid reactive substances ou TBARS) (Lefèvre *et al.*, 1998).

Les TBARS ont été dosées suivant la méthode de Salih *et al.* (1987) (Annexe IV).

Le broyage des morceaux de foie et des muscles a été fait à 11000 rpm, à l'aide d'un Ultra-Turax X 1030 D. Après réaction, l'absorption a été mesurée à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre DU 640 BECKMAN.

La formule utilisée pour le calcul de la quantité de malonaldéhyde est la suivante:

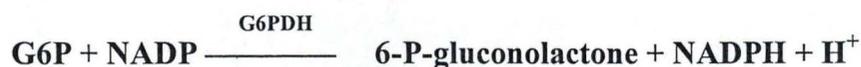
$$C \text{ (nmoles de MA/g)} = DO \times 10^4 \times (\text{pesée})^{-1} \times \text{volume TCA} \times 0.641 \times \text{dilution (1/2)}$$

Où DO = densité optique

Pesée = poids de la chair

8. Dosage des enzymes de la lipogenèse

Les enzymes de la lipogenèse mesurées la plupart du temps sont : la glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PDH) (selon Bautista *et al.*, 1988) et l'enzyme malique (ME) (selon Ochoa, 1955), qui sont les deux enzymes génératrices de NADPH nécessaire au fonctionnement de l'AG synthase (FAS), et puis la FAS (selon Hsu *et al.*, 1969), étape finale de la lipogenèse et donc indicateur des AG synthétisés (Annexe V). Les foies de 3 individus par bassin ont été gardés à -80°C après dissection. Une étape de broyage et d'extraction des foies précède les dosages proprement dits. Lors des dosages de la G6PDH et de la ME, c'est en fait la formation du NADPH qui est mesurée au spectrophotomètre à 340 nm de par les réactions suivantes :



Le dosage de la FAS nécessite premièrement une préincubation de 30 minutes dans un tampon à 4°C suivie de l'étape de réaction de 10 minutes à 30°C en présence de C14. C'est le palmitate radioactif qui est mesuré grâce à un lecteur à scintillation. La formation du palmitate se déroule selon la réaction suivante :



Le contenu en protéines solubles des homogénats de foie a été déterminé par la méthode de Bradford.

Les unités d'activité enzymatiques, définies comme les µmoles de substrat converties en produit par minute et à température du dosage, sont exprimées par g de foie, par mg de protéines solubles (ou activité spécifique) ou calculées par 100 g de poisson, en vue de prendre en compte les possibles variations de l'IHS.

9. Traitements statistiques des données

Les données brutes ont été encodées dans le logiciel Excel (Microsoft). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel Statistica, par la méthode de l'analyse de la variance à un critère (ANOVA I). Un seuil de probabilité significatif de 5% a été utilisé. L'homogénéité des variances a été vérifiée par le test de Bartlett. Afin de déterminer quels régimes différaient entre eux, les tests LSD et HSD de Tuckey ont été employés (annexes VI à X).

Troisième partie: résultats

Les tous premiers travaux visant à établir la pratique de la periculture ont été menés sur le continent américain, avec une très proche cousine autochtone de la perche : la perchaude, *Perca flavescens* (Brown *et al.*, 1996, 2003). Leurs résultats encourageant ont récemment amené les européens à entamer pour leur part les procédures de recherche et les essais d'élevage sur *Perca fluviatilis* même.

1. Description des paramètres zootechniques

Avant toute chose, rappelons que quatre régimes ont été testés dans le cadre de ce mémoire sur la perche. Les régimes à 13 et 19 % de lipides sans antioxydant (R13 et R19) visaient à évaluer les implications délétères ou non des apports de lipides sur le métabolisme lipidique de cette espèce. Ensuite, pour une même teneur en lipides (19 %), deux autres régimes ont été testés, l'un avec de l'astaxanthine (R19A), l'autre avec de la vitamine E (R19E), ceci afin de réduire les phénomènes de peroxydation chez la perche en élevage.

Le tableau 3.1 reprend les principaux paramètres zootechniques pris en compte durant l'expérience. Les valeurs indiquées représentent la moyenne de trois observations réalisées (trois bassins) pour chaque régime expérimental. Ces valeurs sont complétées par un écart-type précisant la variation existant au sein d'un même régime.

Tableau 3.1. Influence des régimes alimentaires testés sur les principaux paramètres zootechniques de l'élevage des juvéniles de perche

Paramètres	Régime 13	Régime 19	Régime 19A	Régime 19E
Nombre initial	30	30	30	30
Nombre final	29,3 ± 0,6	28,3 ± 1,5	29,0 ± 10,0	29,5 ± 0,7
Mortalité (%)	2,22 ± 1,92	5,56 ± 5,09	5,55 ± 3,85	1,11 ± 1,92
Biomasse initiale (g)	1382 ± 40	1377 ± 27	1381 ± 25	1365 ± 6
Biomasse finale (g)	3135 _{ab} ± 417	2606 _b ± 60	3205 _a ± 51	3034 _{ab} ± 266
Biomasse finale + morts (g)	3192 ± 406	2742 ± 183	3291 ± 45	3064 ± 223
Poids initial (g)	46,1 ± 1,4	45,9 ± 0,9	46,1 ± 0,8	45,5 ± 0,2
Poids final (g)	99,6 ± 13,5	92,2 ± 6,4	110,5 ± 3,1	102,8 ± 42,8
G (%)	115,9 _{ab} ± 22,9	100,7 _b ± 10,0	140,1 _a ± 0,4	125,8 _{ab} ± 15,5
SGR (%.jour ⁻¹)	0,90 _{ab} ± 0,01	0,84 _b ± 0,04	1,03 _a ± 0,00	0,96 _{ab} ± 0,01
IHS (%)	1,20 ± 0,10	1,23 ± 0,05	1,23 ± 0,17	1,23 ± 0,05
IGS (%)	1,89 ± 0,24	2,23 ± 0,52	2,42 ± 0,22	2,24 ± 0,07
ILS (%)	5,19 ± 1,04	6,20 ± 1,48	5,83 ± 1,70	4,75 ± 0,97
Ingéré (g)	2237 ± 352	1747 ± 193	2150 ± 3	1911 ± 76
EA	0,80 ± 0,07	0,78 ± 0,01	0,89 ± 0,00	0,86 ± 0,01
FCR	1,29 ± 0,15	1,42 ± 0,13	1,18 ± 0,02	1,16 ± 0,14

G = gain de masse, SGR = taux de croissance spécifique, IHS = indice hépatosomatique, IGS = indice gonadosomatique, ILS = indice liposomatique, EA = efficacité alimentaire, FCR = taux de conversion alimentaire. Les régimes qui partagent au moins une lettre (a,b) ne sont pas significativement différents.

D'un point de vue aspect général externe, ce sont les poissons nourris avec de l'aliment contenant l'astaxanthine qui sont les plus « attrayants ». En effet, ils présentent les mêmes caractéristiques que les poissons sauvages : des couleurs plus vives, notamment au niveau des nageoires devenues rouge-orange dès les premières semaines de nourrissage. Les poissons du régime à 13 % des lipides ont tendance à présenter des couleurs plus sombres, tirant sur le bleu, tandis que les perches nourries avec les régimes R19 et R19E sont plus pâles et moins « attrayantes » que les autres.

1.1. Croissance et mortalité

Les biomasses ainsi que les poids moyens des poissons étaient homogènes au départ de l'expérience. Il s'est avéré que les poissons ont doublé de poids au cours de l'expérience, du moins dans les 10 premiers bassins. En effet, les deux derniers bassins ont fait preuve d'une faible prise alimentaire moyenne, et donc d'une faible croissance, cela sans doute dû au stress causé par la présence du compresseur d'air à proximité de ceux-ci. C'est pourquoi, dans nos analyses, nous n'avons pas tenu compte des bassins 11 (régime 19A) et 12 (régime 19E) car leurs valeurs de prise alimentaire étaient très nettement inférieures à celles des deux autres bassins du même traitement. Ainsi, par exemple, le gain de poids moyen des deux premiers bassins du R19A est de 140,1 %, tandis que celui du troisième bassin (bassin 11) est de 68,6 %.

Une différence significative ($p < 0,05$) a pu être mise en évidence, selon le test LSD, entre le gain de masse corporelle des poissons nourris avec le régime 19 et ceux nourris avec le régime 19A. C'est ce dernier qui assure dans ce domaine les meilleures performances, les poissons passant d'un poids initial moyen de $45,6 \pm 0,9$ g à $110,5 \pm 3,1$ g en 86 jours, soit une croissance de $140,1 \pm 0,4$ % (figure 3.1.1).

De façon similaire à ce qui a été observé avec le gain de masse corporelle, le SGR (specific growth rate) est significativement corrélé au régime. L'ajout d'astaxanthine à l'aliment améliore le taux de croissance spécifique, variant de $0,84 \pm 0,04$ %. jour^{-1} pour l'aliment à 19 % de lipides sans antioxydant, à $1,03$ %. jour^{-1} pour l'aliment à 19 % de lipides ajouté d'astaxanthine.

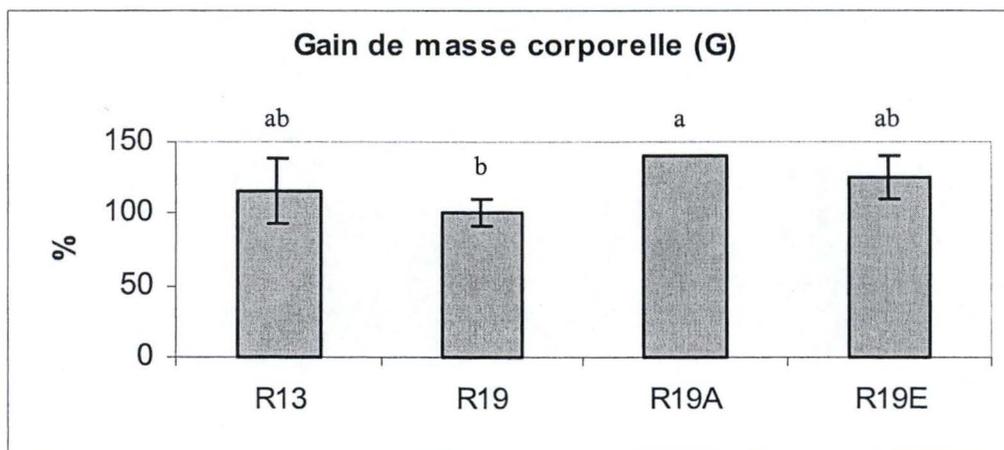


Fig.3.1.1. Influence des différents régimes alimentaires sur le gain de masse corporelle de juvéniles de perche. Les régimes qui partagent au moins une lettre (a,b) ne sont pas significativement différents.

Les résultats de mortalité obtenus au cours de cette expérience ne diffèrent pas de ceux obtenus dans des expériences similaires. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence en fonction des régimes. Les poissons décédés étaient chétifs ou ont trouvé la mort en sautant hors du bassin lorsque celui-ci était mal recouvert. Les mortalités ont été observées à partir de la neuvième semaine de nourrissage.

1.2. Prise alimentaire

La distribution d'aliments expérimentaux s'est déroulée sur une période de 86 jours, préalablement, une période d'acclimatation de 15 jours a été respectée, durant laquelle un régime exempt d'antioxydants a été distribué, cela afin d'habituer le poisson aux conditions de l'expérience (formulation des aliments, taille des granulés, mode d'administration *ad libitum*,...). Pour rappel, les poissons ont été nourris à satiété quotidiennement (excepté le dimanche) à raison de trois distributions en deux passages par jour. Les poissons ne semblaient pas faire de distinction entre la taille des granulés lors du premier passage de nourriture. Par contre, lors du deuxième passage quelques minutes plus tard, ils n'acceptaient généralement que les granulés de petite taille ($\pm 0,5$ cm). C'est pourquoi, afin d'éviter toute perte d'aliment faussant les résultats, les granulés étaient soigneusement concassés avant d'être distribués avec parcimonie au deuxième passage.

La prise alimentaire totale par bassin durant la période expérimentale varie entre 1747 g pour les poissons du régime R19 et 2237 g pour ceux du régime R13, soit une moyenne quotidienne variant entre respectivement 25 et 31 g d'aliment par bassin. La prise alimentaire est donc plus élevée dans le régime comprenant le moins de lipides et, par conséquent, le plus de glucides. Les aliments contenant de l'astaxanthine semblent plus attractifs pour les poissons que les autres régimes à même teneur en lipides.

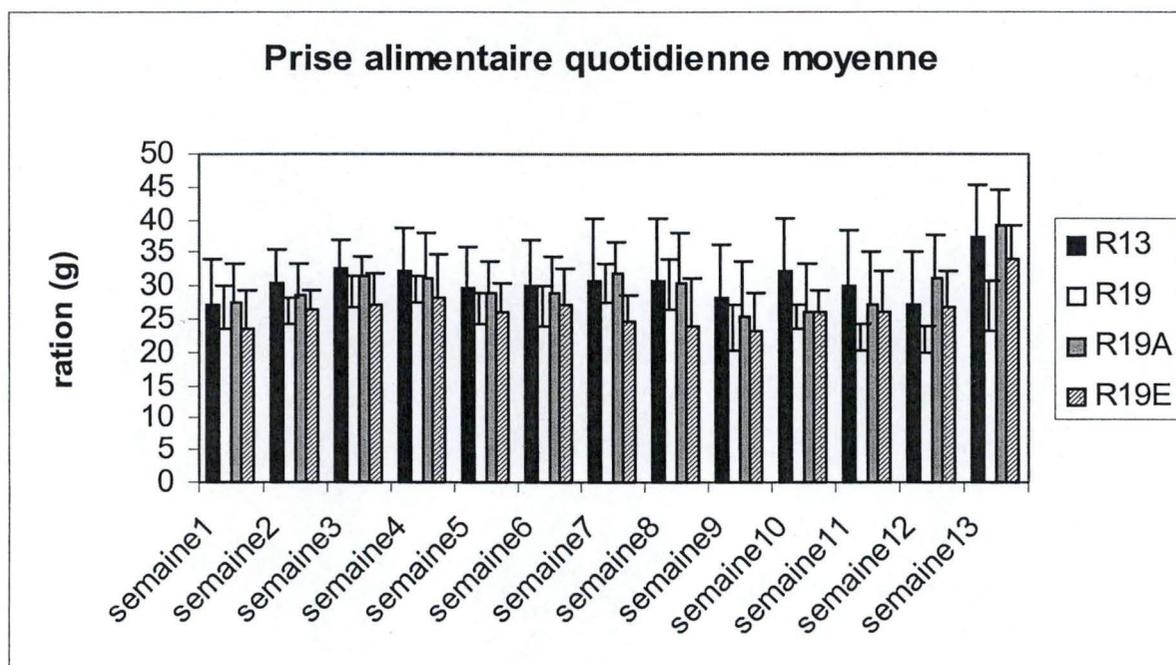


Fig.3.1.2. Evolution de la prise alimentaire au fil des semaines, exprimée en moyenne par bassin et par jour.

La variabilité d'ingestion en fonction du temps des quatre régimes est représentée à la figure 3.1.2. Cette figure indique clairement que la consommation hebdomadaire n'est pas constante, et sans augmentation au cours du temps. Cependant, d'une façon générale, les écarts entre les régimes n'ont pas montré de grandes évolutions entre le début et la fin de l'expérimentation; même si le régime à 13 % de lipides s'est démarqué des autres les premières semaines, l'écart ne s'est pas creusé entre celui-ci et les autres régimes. La variabilité se marque et entre les régimes, et entre les réplicats, comme illustré à la figure 3.1.3, où les poissons des bassins 11 et 12 montrent bien une faible prise alimentaire. Les pics observés correspondent aux lundis et sont dus au jeun du dimanche.

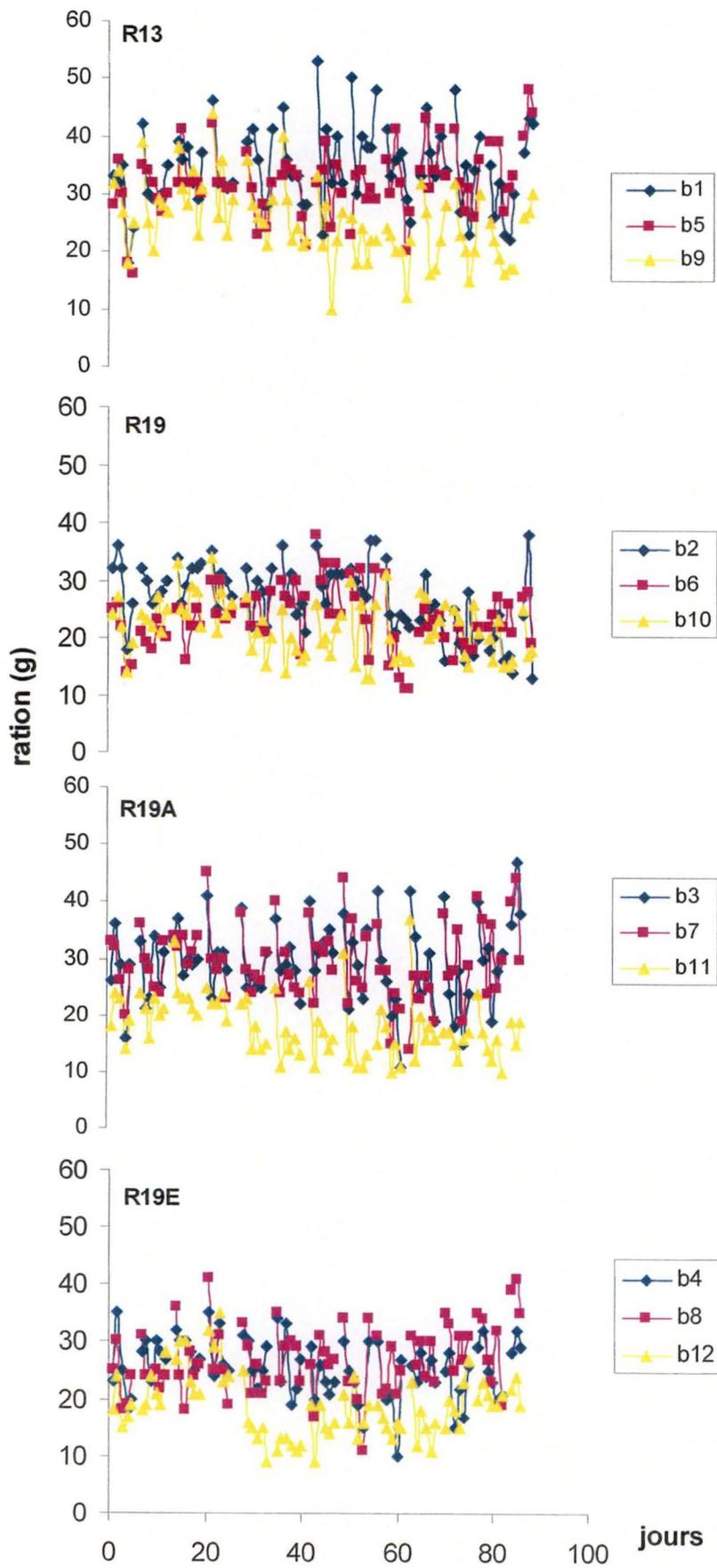


Fig.1.1.3. Evolution de la prise alimentaire quotidienne des différents réplicats au seins des quatre régimes testés.

1.3. Efficacité alimentaire (EA) et taux de conversion alimentaire (FCR)

Notons que le FCR est l'inverse de l'EA, sans tenir compte de la biomasse des morts. Cependant, l'efficacité alimentaire est un critère plus logique et plus commode que ce premier.

Nous n'avons pas pu montrer de différence significative pour l'EA et le FCR en fonction des régimes. L'EA est de 0,84 en moyenne avec des valeurs maximales pour le R19A (0,89), enregistrant donc la meilleure performance d'efficacité alimentaire. Le régime R19 a un FCR plus élevé, suivi par le R13. La représentation sous forme d'histogramme de ces deux facteurs se trouve à la figure 3.1.4.

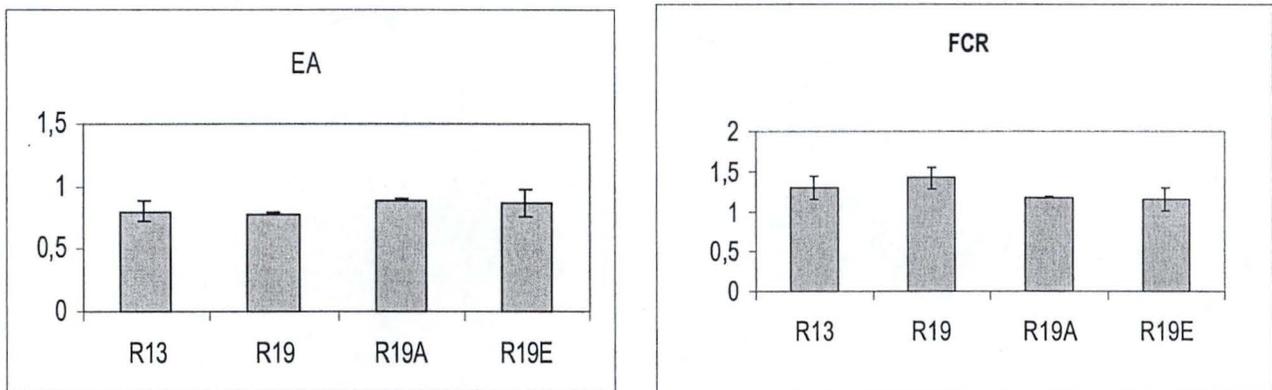


Fig.3.1.4. Influence des différents régimes sur l'EA et le FCR de juvéniles de perches.

1.4. Les indices corporels

La figure 3.1.5 illustre les valeurs des indices hépato-somatiques (IHS), gonado-somatiques (IGS) et lipo-somatiques (ILS) obtenus en fonction des différents traitements.

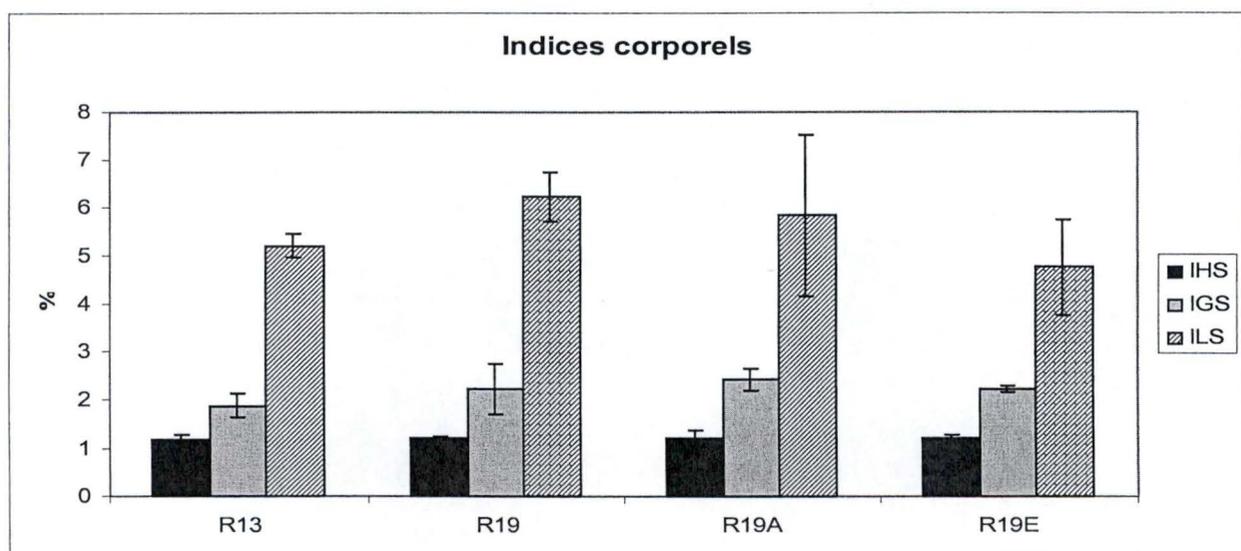


Fig.3.1.5. Influence des différents régimes sur l'IHS, l'IGS et l'ILS.

Les régimes ne semblent pas différer entre eux au niveau de ces indices, en particulier au niveau de l'IHS. Rappelons que seules les femelles ont été prises en compte pour le calcul de ces indices, il en va de même pour les analyses en laboratoire ultérieures, afin d'éliminer une variabilité qui pourrait être liée au sexe. Ceci explique pourquoi l'IGS ne présente pas de grandes variations d'écart-types. De plus, les valeurs d'IGS sont relativement faibles, indiquant que les femelles ne présentent pas un état de maturation gonadale.

2. Résultats analytiques

2.1. Dosage des lipides totaux

La figure 3.2.1 présente les concentrations en lipides totaux au niveau des poissons entiers, des foies et des muscles.

Même si aucune différence significative n'a pu être montrée par un test ANOVA, nous observons toutefois une corrélation entre les teneurs en lipides alimentaires (13 ou 19 %) et les concentrations lipidiques corporelles au niveau des poissons entiers. En effet, on passe de 6,8 % pour le régime à 13 % à une moyenne de $8,5 \pm 0,7$ % pour les trois régimes à 19 %. On observe le même phénomène au niveau du muscle dorsal, où on obtient 0,70 % et $1,05 \pm 0,01$ % respectivement. La perche est un poisson maigre, étant donné que son muscle renferme moins de 2 % de lipides. Les poissons présentent de bonnes valeurs quant à la quantité de lipides hépatiques, elles sont similaires à ce qu'on peut retrouver chez les perches sauvage. Les foies les plus gras se retrouvent chez des poissons nourris avec le régime à 13 % de lipides.

La teneur en lipides des poissons entiers a significativement augmenté ($p < 0,05$) au cours de l'expérience par rapport aux prélèvements initiaux.

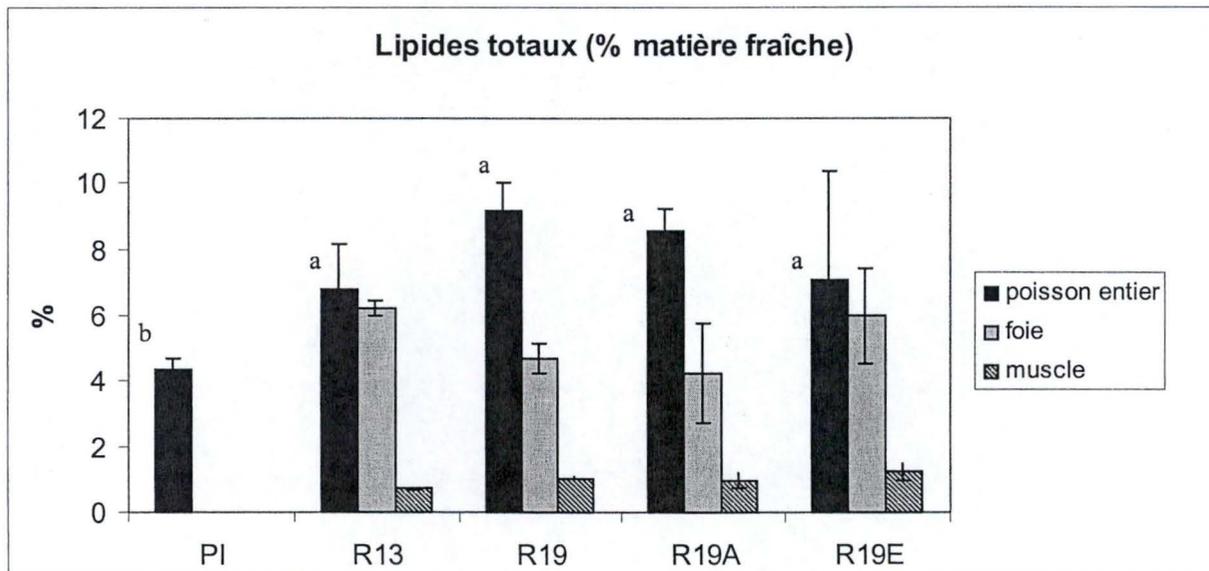


Fig.3.2.1. Contenu lipidique des juvéniles de perche en entier en début d'expérience (PI) et en fin d'expérience, des foies et muscles en fonction des régimes administrés. Les régimes qui partagent au moins une lettre (a,b) ne sont pas significativement différents.

2.2. Dosage des protéines totales

Les données sur les teneurs en protéines corporelles totales de poissons ont été évaluées en début et en fin d'expérience (figure 3.2.2). A partir de ces résultats et de la ration protéique consommée, le PER et le PPV ont été calculés (tableau 3.2).

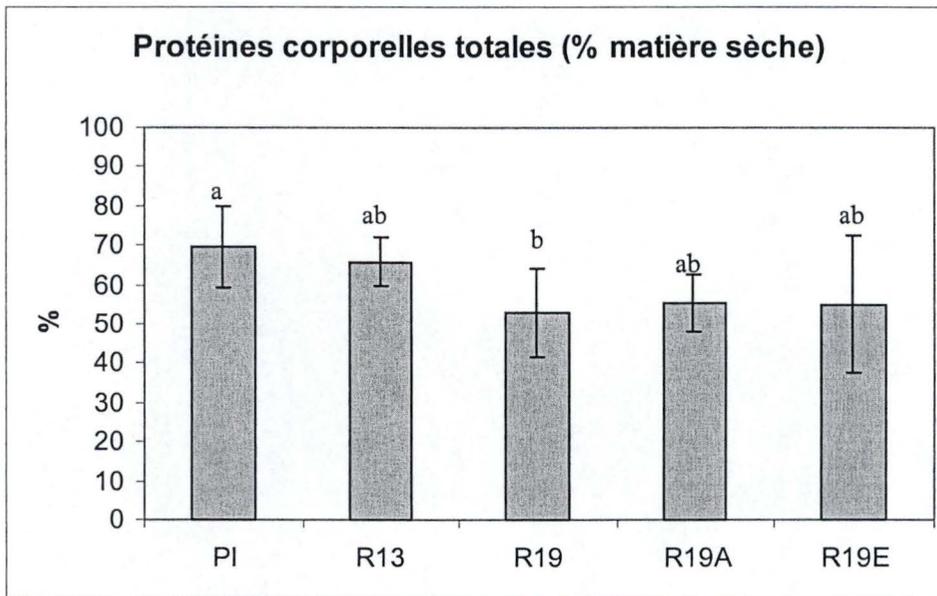


Fig.3.2.2. Contenu protéique des juvéniles de perche en début d'expérience (PI) et en fin d'expérience en fonction des régimes administrés. Les régimes qui partagent au moins une lettre (a,b) ne sont pas significativement différents.

Le contenu protéique des carcasses de perches en fin d'expérience varie entre 52,8 % en moyenne pour le régime R19 et 65,9 % pour le régime R13. La teneur protéique initiale est plus élevée qu'en fin d'expérience, de façon significative pour le R19. Par contre, nous n'avons pas pu montrer de différence significative pour la composition en protéines des poissons soumis aux différents régimes. La teneur protéique en matière fraîche est de 12,8 % pour les prélèvements initiaux et de $10,8 \pm 0,4$ % en moyenne pour les quatre régimes testés.

Le test ANOVA sur le gain de poids par unité de protéines consommées, où taux d'efficacité protéique (PER), montre qu'il existe une différence significative entre les régimes administrés ($P < 0,05$). Le test LSD indique que cette différence se marque en faveur du R19A par rapport aux trois autres régimes.

Tableau 3.2. Taux d'efficacité protéique et valeurs de production protéique en fonction des différents régimes alimentaires.

	R13	R19	R19A	R19E
PER	$1,60_b \pm 0,23$	$1,53_b \pm 0,21$	$2,55_a \pm 0,55$	$1,58_b \pm 0,32$
PPV (%)	$17,57 \pm 10,23$	$13,00 \pm 4,39$	$17,77 \pm 7,96$	$14,26 \pm 0,13$

Les régimes qui partagent au moins une lettre (a,b) ne sont pas significativement différents.

Les valeurs de PPV sont faibles, et il n'existe aucune différence significative entre le R13 et le R19, ni entre le R19 et les deux régimes avec antioxydants.

2.3. Dosage des substances réagissant aux thiobarbituriques (TBARS)

2.3.1. Dosage des TBARS au niveau des aliments

Le régime R19 montre des valeurs supérieures à celles du régime R13, sans différence significative toutefois. Nous remarquons qu'au sein de nos régimes, les aliments à 19 % de lipides additionnés des antioxydants testés (astaxanthine et vitamine E) présentent des taux en TBARS inférieurs à ceux des régimes à 13 et 19 % de lipides dépourvus d'antioxydants.

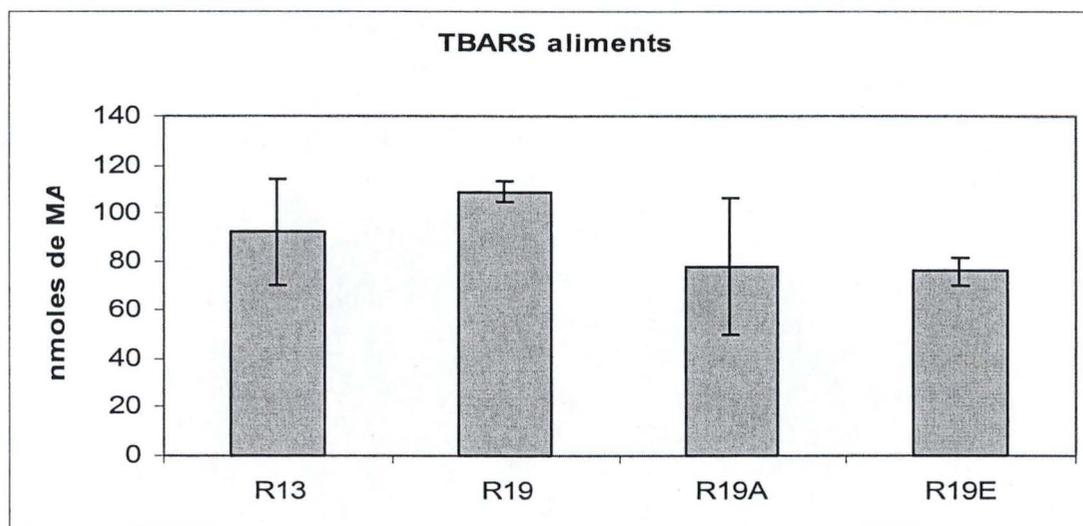


Fig.3.2.3. Taux de TBARS présents dans les différents régimes testés.

2.3.2. Dosage des TBARS au niveau du foie et du muscle dorsal

Les TBARS ont également été dosés au niveau du muscle dorsal et du foie des poissons en fonction des régimes (figure 3.2.4).

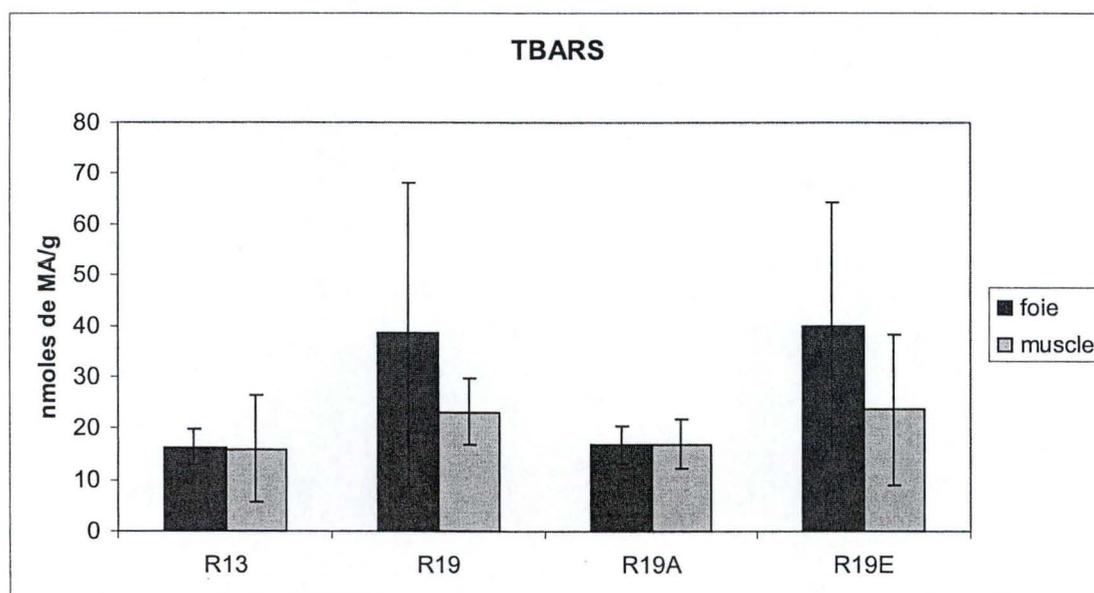


Fig.3.2.4. Taux de TBARS musculaires et hépatiques en fonction des différents régimes testés.

En général, le foie présente de plus grandes concentrations en TBARS que le muscle. Apparemment, la vitamine E a protégé moins efficacement les poissons que l'astaxanthine, car les résultats des régimes R19 et R19E sont similaires tandis que pour le régime R19A, nous observons de plus faibles taux de TBARS, tant au niveau du foie que du muscle. L'aliment à 13% de lipides, bien que dépourvu d'antioxydant, n'entraîne pas de phénomène de peroxydation aussi marqué que le R19 mais présente des valeurs semblables au R19A.

La variabilité étant très importante au sein des régimes, et plus particulièrement pour le R19 et le R19E, aucune différence significative n'a pu être décelée.

2.4. Dosage des enzymes de la lipogénèse

Les données relatives à l'activité des deux enzymes étudiées chez la perche sont reportées au tableau 3.2 en UI par mg de protéines solubles ou par 100 g de poisson tandis que les valeurs en UI par g de foie sont montrées à la figure 3.2.5.

Tableau 3.2. Effet des régimes alimentaires sur l'activité d'enzymes lipogéniques du foie chez la perche.

Traitements	R13	R19	R19A	R19E
G6PDH				
UI/mg protéine	0,68 ± 0,14	0,70 ± 0,13	0,80 ± 0,12	0,71 ± 0,14
UI/100 g poisson	44,17 ± 5,33	34,78 ± 4,94	40,39 ± 5,06	34,65 ± 5,15
ME				
UI/mg protéine	0,065 ± 0,021	0,083 ± 0,006	0,082 ± 0,018	0,093 ± 0,011
UI/100 g poisson	4,12 ± 0,75	4,16 ± 0,20	4,12 ± 0,80	4,57 ± 0,99

G6PDH = glucose-6-phosphate déshydrogénase

ME = enzyme malique

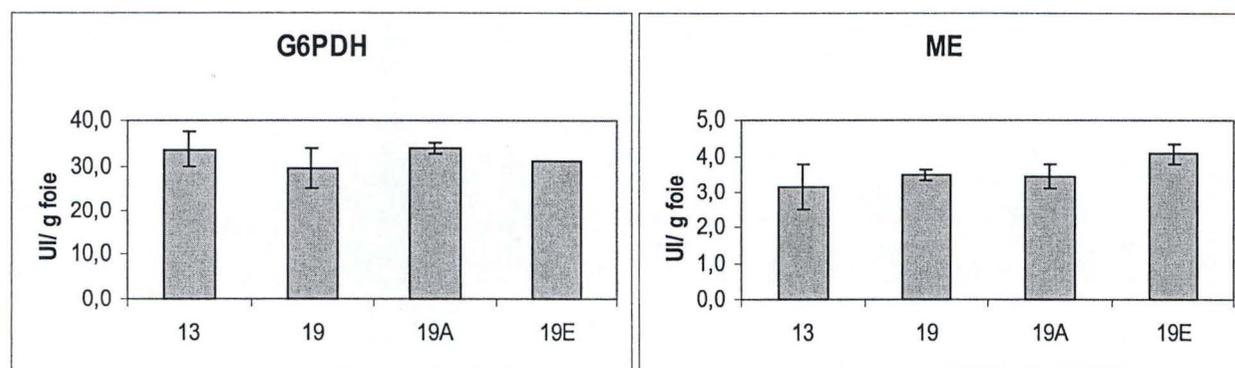


Fig 3.2.5. Activités des enzymes lipogéniques hépatiques chez la perche en UI par g de foie exprimées en fonction des différents régimes.

La G6PDH et la ME semblent être des enzymes sujettes à une régulation par les différents régimes alimentaires.

Le régime à 13 % de lipides présente des valeurs d'activités plus importantes de la G6PDH exprimée en UI.100 g⁻¹ de poisson par rapport aux autres régimes expérimentaux, il existe particulièrement une différence entre le R13 qui présente une moyenne de 44,17 ± 5,33 UI.100 g⁻¹ poisson et le R19E, avec seulement 34,65 ± 5,15 UI.100 g⁻¹ poisson. On observe le même résultat quand l'activité de cette enzyme est exprimée en UI.g⁻¹ de foie, avec une

différence entre le R13 et le R19E à la limite de la signification ($p = 0,051$) mais cela ne se vérifie pas une fois que l'unité utilisée est en $UI.mg^{-1}$ protéines (ou activité spécifique).

En ce qui concerne l'activité de l'enzyme malique, on observe de nouveau une différence entre le régime à 13 % de lipides et celui à 19 % contenant de la vitamine E. Dans ce cas là, c'est le R19E qui présente des valeurs d'activité supérieures à tous les autres régimes quand elles sont exprimées en activité spécifique et $UI.100 g^{-1}$ poisson.

L'ordre de grandeur de l'activité de la ME est 8 à 10 fois plus faible par rapport à celle de la G6PDH

En raison de problèmes de manipulation, les résultats des analyses concernant l'AG synthase (FAS) ne sont pas présentés dans le cadre de ce travail.

L'étude de la composition en acides gras des individus prélevés et les micrographies de foie de perches nous renseigneront davantage sur les effets de nos régimes sur le métabolisme lipidique et l'état du foie des poissons.

**Quatrième partie:
discussion**

Durant les 86 jours qu'a duré notre expérience, les conditions d'élevage ont été maintenues optimales pour la croissance de la perche. La mortalité a été faible dans tous les groupes, indépendamment du traitement. Cela n'a pas toujours été le cas lors d'expériences précédentes sur la perche. Par exemple, Kestemont *et al.* (1997) avaient des taux de mortalité variant de 16 à 60 % pour des teneurs en lipides alimentaires comprises entre 4 et 24 %, avec un régime à base de caséine. En testant la fréquence de nourrissage chez des juvéniles, les taux de mortalité s'élevaient jusqu'à 20 %, et ce quelque soit la fréquence de nourrissage (rapport de la région wallonne : rapport annuel n°1, avril 1995-avril 1996).

Ingestion alimentaire

Les perches nourries avec le régime à 13 % de lipides sont celles qui ont consommé le plus d'aliments (par rapport aux perches nourries à 19 % de lipides) et ce depuis le début de l'expérience, soit 6712 g et une moyenne de 30 g d'aliments par bassin et par jour. Deux hypothèses peuvent être émises à ce sujet. Premièrement, la prise alimentaire plus importante pourrait être expliquée par le fait que les quatre régimes étant isoénergétiques, là où il y a moins de lipides, comme c'est le cas du R13, nous avons complété l'apport énergétique sous forme de glucides (amidon). Les poissons carnivores sont connus pour avoir une utilisation digestive des glucides plus faible que ceux qui, dans leur milieu naturel, ont une habitude alimentaire de type omnivore (Corraze *et al.*, 1999 ; Halver, 2002 ; Panserat et Kaushik, 2002). Donc, les perches soumises au R13 ont probablement consommé plus d'aliments pour couvrir leurs besoins énergétiques. Comme deuxième hypothèse, nous pouvons évoquer la présence de ballast dans les régimes à 19 % de lipides et pas dans ceux à 13 %. En effet, 1 g de lipide fournit plus d'énergie que 1 g de glucide. Pour les régimes à 19 % de lipides, nous devons ajouter un nutriment non énergétique pour obtenir 1 kg d'aliment : l' α -cellulose, que le poisson ne peut pas digérer. L' α -cellulose est une poudre très légère, et il faut en ajouter beaucoup à l'aliment pour bien obtenir 1 kg lors de sa fabrication. Il en résulte que pour un même poids et un même niveau énergétique, on obtient un volume plus important de granulés pour les régimes à 19 % de lipides par rapport à celui à 13 %, en d'autres mots, les granulés du R13 sont plus denses que ceux du R19. La paroi de l'estomac des poissons est pourvue de mécanorécepteurs qui conditionnent la prise alimentaire à court-terme suite à l'étirement de la paroi stomacale (Carter *et al.*, 2001). Contrairement aux cyprinidés, les poissons carnivores possèdent un pyllore empêchant l'évacuation gastrique. La distension de l'estomac stimule la sécrétion pancréatique par l'intermédiaire de fibres cholinergiques, qui provoquent une libération réflexe de gastrine, agissant au niveau du cerveau pour réguler l'ingestion alimentaire (Péres, 1997 in Houbart, 2003). La sensation de satiété procurée par le remplissage de l'estomac de la perche pourrait impliquer la consommation d'un même volume de granulé, mais différant au niveau du poids. Sur un plan quantitatif, les perches ont approximativement consommé le même nombre de granulés, mais ceux-ci possédaient des masses différentes en fonction de leurs teneurs en lipides. Ceci pourrait expliquer l'ingéré (en poids) plus important chez les perches nourries avec le R13.

Au sein des régimes comprenant 19 % de lipides, le R19A est le régime qui a été le plus consommé. On peut admettre que les granulés étaient dans ce cas plus attractifs pour les perches, de part leur coloration rose due à l'astaxanthine. En effet, des granulés colorés sur un fond gris clair (le bassin) est un stimulus plus fort chez le poisson qu'un aliment peu coloré sur un fond clair (Livertoux, 1995). L'attractivité de l'aliment pourrait être améliorée en ajoutant des colorants inertes qui n'influencent pas sa composition, considérant que la couleur de l'aliment joue un rôle dans la prise alimentaire chez le poisson.

La prise alimentaire en fonction du temps suit une augmentation au cours des quatre premières semaines de nourrissage, pour ensuite se stabiliser, malgré la croissance des poissons. Cette poussée de consommation pourrait s'expliquer par le fait qu'avant la mise en charge, les animaux n'étaient pas dans des conditions optimales d'alimentation, de part le nombre plus important de poissons par bassin et la qualité de l'eau moindre. Une fois les conditions requises en début d'expérience, les poissons ont pu s'alimenter à satiété. La prise alimentaire plus importante de la dernière semaine de nourrissage ne reflète pas un ingéré plus conséquent. La dernière semaine ne s'étalait que sur les trois premiers jours de la semaine, et les poissons se nourrissant toujours davantage le lundi, la moyenne a été tirée vers le haut, bien qu'en fait elle ne diffère pas des autres semaines pour ces trois jours. Un plus grand appétit le lundi se comprend mieux quand on sait que les poissons n'étaient pas nourris le dimanche. Ce jeûne était dû à des raisons logistiques, mais il n'altère en aucune manière la croissance des perches. Ainsi, une restriction alimentaire momentanée améliore la croissance de la morue, *Gadus morhua*. L'élevage de la morue engendre des coûts de production dont l'alimentation représente une part non négligeable : 40 %. Afin de limiter ces coûts, une méthode de sous-alimentation/renourrissage a été mise au point et montre des résultats encourageants (Jobling *et al.*, 1994). Elle procure une poussée de croissance rapide, appelée croissance compensatoire, d'autant plus élevée que les régimes distribués sont riches en lipides. Cette croissance compensatoire est accompagnée d'une augmentation de l'appétit et optimise la conversion des aliments. Donc, un jour de jeûne par semaine n'a pas de conséquence négative, mais pourrait, au contraire, être bénéfique à la croissance de la perche. L'utilisation d'un mode de nourrissage où la valeur des rations journalières de nourriture est soumise à des fluctuations permet, grâce à un phénomène de croissance compensatoire, d'améliorer la conversion de l'aliment chez la perche (rapport de la région wallone : rapport annuel n°1, avril 1995-avril 1996).

De nombreux facteurs tels que la quantité de nourriture distribuée, la façon de la distribuer, mais encore bien d'autres, interagissent de manière complexe sur la consommation alimentaire et la croissance (Houbart, 2003). Dans notre étude, la distribution des aliments s'est faite *ad libitum*, nous estimions donc le moment où les poissons cessaient de s'alimenter. Nous considérons que le poisson avait mangé à satiété quand les granulés n'étaient plus consommés au deuxième passage. Peut-être une certaine quantité d'aliments aurait encore été consommée si un troisième passage avait été effectué. De plus, les granulés du régime R13 étaient plus denses que ceux des régimes à 19 % de lipides et coulaient donc plus rapidement, tandis que les granulés du R19 pouvaient flotter à la surface de l'eau. Les granulés du R13 s'éclipsaient donc plus vite à la vue de la personne chargée de la distribution des aliments. Cependant, après le nourrissage, le fond du bassin était inspecté afin de voir si tous les granulés avaient été consommés, et cela était souvent le cas. La perche étant un poisson qui chasse à vue (Craig, 2000), il serait intéressant d'élaborer un aliment qui ne coule pas trop rapidement, sans pour autant rester à la surface de l'eau car tous les individus ne viennent pas chercher les granulés à la surface, sans doute par crainte de la personne distribuant l'aliment.

Croissance

Dans le milieu naturel, la fonction de croissance n'arrive qu'à la fin de la liste des priorités de répartition de l'énergie, c'est à dire qu'elle n'est qu'optionnelle, réalisée uniquement dans des conditions d'apports qualitativement et quantitativement optimums (Livertoux, 1995). Dans notre expérience, étant donné que la liberté de mouvement des poissons est limitée, que la température de l'eau (23°C) correspond à la température optimale d'élevage de la perche et

empêche le développement des gonades, tout est mis en place afin que le maximum d'énergie fournie par les aliments soit alloué à la croissance.

En 12 semaines de nourrissage, nous avons obtenu un gain de masse corporel variant de 100,7 % pour le R19 à 140,1 % pour le R19A. Le R13 fournit donc de meilleures performances de croissance que le régime à 19 si celui-ci n'est pas additionné d'antioxydant. Étant donné qu'au sein des régimes à hautes teneurs en lipides c'est le R19A qui a été le plus consommé, il est logique que ce soient les poissons ayant suivi ce traitement qui aient le plus grossi. Les régimes à 19 % de lipides avec antioxydants procurent les meilleures performances de croissance, ceci confirme ce qui a déjà été observé chez la perche : l'augmentation des apports lipidiques et l'amélioration de leur utilisation peuvent augmenter considérablement la croissance chez la perche (Xu *et al.*, 2002). Il en est également de même chez plusieurs espèces telles la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss* (Gélineau *et al.*, 2002), la truite fario, *Salmo trutta* (Regost *et al.*, 2001_a) ou la dorade, *Sparus aurata* (Caballero *et al.*, 1999 ; Vergara *et al.*, 1999).

Conversion alimentaire

L'efficacité alimentaire a été relativement élevée dans tous les régimes testés, avec une utilisation de l'aliment légèrement supérieure pour le régime avec astaxanthine, bien que cela ne soit pas significatif. Dans la présente étude, nous obtenons une moyenne de 0,83. Les résultats obtenus sont similaires à ceux observés par Mathis *et al.* (2003) où des régimes variant entre 12 et 22 % de lipides étaient testés, avec une corrélation positive entre l'ingéré lipidique et l'efficacité alimentaire, variant de 0,76 à 0,93. Les régimes à 19 % de lipides sont plus digestibles pour les poissons que ceux à 13 % de lipides. En effet, comme précédemment cité, le déficit énergétique de ce dernier est comblé par l'apport de glucides afin que les quatre régimes testés soient isoénergétiques. Or, les poissons carnivores sont connus pour avoir une utilisation digestive des glucides plus faibles que pour les lipides (Halver, 2002).

Les meilleures performances de croissance obtenues chez les poissons ayant reçu la ration R19A sont dues à une efficacité alimentaire plus élevée ($P < 0,05$).

Le FCR, qui ne tient pas compte de la biomasse des morts, est plus élevé pour le R19 par rapport au R13 et aux deux autres régimes avec antioxydants. Le régime à 19 % de lipides sans antioxydant est donc moins bien utilisé par les poissons, il faudra apporter plus d'aliments aux poissons avec ce régime pour obtenir la même croissance qu'un autre régime.

Lipides

Alors que chez les vertébrés supérieurs, les lipides corporels sont stockés en grande majorité dans les tissus adipeux, chez les téléostéens il existe une large gamme de tissus de stockage. Il s'agit principalement des tissus adipeux sous-cutanés et mésentériques, du foie et des muscles (Sheridan, 1988). En fonction de l'espèce et de l'âge, les dépôts lipidiques peuvent se localiser dans différents tissus et organes (Corraze, 1999) et affecter la qualité de la chair de manière différente. C'est l'ingestion d'énergie digestible qui conditionne le dépôt lipidique. Puisque les lipides sont les composés énergétiques majeurs d'un aliment, il existe une relation intime entre l'ingestion de lipides et les dépôts lipidiques corporels (Cowey, 1977). Dans notre expérience, l'état d'engraissement des poissons a été évalué par différents indices morphométriques (ILS, et indirectement IGS et IHS) ainsi que par le dosage des lipides totaux contenus dans les carcasses de poissons, dans le muscle et dans le foie. Notons que de

nombreux auteurs étudient l'IVS (ou indice viscérosomatique, c'est à dire le rapport du poids des viscères sur le poids corporel, le tout multiplié par 100) et non l'ILS. Ce rapport (IVS) prend donc en compte, non seulement les viscères, mais aussi les graisses périviscérales. Dans notre cas, nous ne nous sommes intéressés qu'aux graisses périviscérales.

Le référentiel lipidique établi sur base d'échantillonnages de perches sauvages de Meuse (Druart, 2002 ; Blanchard *et al.*, 2004) va nous permettre de comparer ces résultats avec les nôtres en ce qui concerne les lipides chez les femelles.

Les perches nourries en bassin sont plus grasses que les perches prélevées en Meuse. En effet, nous passons d'une moyenne de 0,81 % pour l'indice liposomatique (ILS) pour les perches de Meuse à 5,49 % en élevage, soit 6 fois plus de graisses périviscérales. Les poissons d'élevage sont généralement plus gras que les poissons sauvages, suite à une meilleure prise alimentaire et à une alimentation plus énergétique (Corraze *et al.*, 1999). De plus, aucune allocation énergétique n'est destinée au développement des gonades, qui dans le cas de la perche se fait majoritairement au détriment des graisses périviscérales (Blanchard *et al.*, 2004), ni à des comportements de fuite,...

Alors que les ILS varient fortement en bassin, les IHS des poissons domestiqués sont similaires à ceux retrouvés dans le milieu. La mesure du contenu lipidique du foie de perches expérimentales a donné des résultats similaires à ceux trouvés chez les perches sauvages, c'est-à-dire ± 5 %, et ce quel que soit le régime employé (Blanchard *et al.*, 2004). Cela signifie que les capacités de stockage du foie n'ont pas été dépassées, et que les surplus gras amenés par l'alimentation ont été stockés dans le tissu périviscéral du poisson. Nos résultats ne concordent pas avec ceux observés par le passé. Ainsi, Kestemont *et al.* (2001) obtenaient une moyenne de 9,1 % de lipides hépatiques, sans grande différence entre les régimes. Quant à Xu *et al.* (2002), ils ont trouvé jusqu'à 23,8 % de graisses hépatiques pour un régime à 19,3% de lipides, ce qui équivaut à près de 5 fois ce que nous obtenons pour une même teneur lipidique alimentaire. Au vu de nos résultats, il semble que le risque d'observer des stéatoses hépatiques soit très faible. Toutefois, nous ne pourrions constater leur absence qu'une fois analysées les micrographies de foie de perche.

L'augmentation des teneurs en lipides alimentaires entraîne une augmentation de l'IGS (1,89 % pour R13 contre 2,22% pour R19) ainsi que de l'IHS (1,20 % contre 1,23 % respectivement) mais les écarts sont tellement minimes qu'aucune différence significative ne peut être mise en évidence et qu'aucune conclusion ne peut être émise quant à un effet des teneurs en lipides alimentaires sur ces indices. Il ne convient pas de comparer les IGS obtenus à ceux du référentiel, la maturation n'étant pas similaire entre les deux cas. En effet, la température des bassins d'élevage est maintenue constante à 23°C. Or, dans le milieu naturel, ce n'est qu'à partir des mois de septembre-octobre, quand la température de l'eau diminue, qu'on observe réellement une croissance de la taille des gonades. L'élévation de la température vers le mois d'avril, faisant suite à une période d'au moins 160 jours pendant laquelle la température de l'eau est inférieure à 10°C (hiver), semble être un facteur déclenchant de la ponte, en accord avec les changements de photopériode (Migaud *et al.*, 2002). Donc, sans ce stimulus qu'est la variation de la température de l'eau, aucune modification notable des gonades ne peut être observée.

La teneur en lipides des poissons varie en fonction de l'âge et du stade physiologique. Généralement, elle augmente avec l'âge et la taille des animaux, alors que la teneur en protéines varie peu. De nombreux autres facteurs sont susceptibles d'influencer l'importance

des dépôts lipidiques. Parmi ceux-ci, l'alimentation joue un rôle prépondérant (Corraze, 1999). La différence significative existant entre les teneurs lipidiques des poissons en début et en fin d'expérience est donc expliquée par ces deux phénomènes : augmentation de la taille des individus et ingestion alimentaire plus importante.

Les différents compartiments corporels ne réagissent pas de la même façon aux dépôts lipidiques et l'importance des sites de stockage varie selon les espèces : chez les salmonidés, c'est principalement dans le tissu adipeux périsvécéral et, dans une moindre mesure, dans le muscle que s'accumulent les lipides, alors que chez les espèces marines, les lipides sont stockés plutôt dans le foie, le cas extrême étant la morue (Sheridan, 1988). Chez la perche, il a été montré que le lieu de stockage préférentiel des graisses se situe au niveau du tissu périsvécéral (Blanchard *et al.*, 2004) ce qui se confirme également dans nos résultats. Chez les poissons, le tissu adipeux périsvécéral possède essentiellement un rôle de stockage, alors que chez les mammifères, en plus de la fonction de réserve, il sert également de site de la lipogenèse (Halver, 2002). Paradoxalement à la tendance observée pour le contenu lipidique des poissons entiers et du muscle de perche, nous ne montrons pas de corrélation positive entre les teneurs en lipides hépatiques et celles des régimes ingérés. Au contraire, le régime à 13 % de lipides semble induire des foies plus gras que les poissons nourris avec un aliment à 19 % de lipides. Cela ne concorde pas avec les résultats obtenus lors d'une précédente expérience sur la perche, durant laquelle des régimes contenant différentes concentrations en lipides alimentaires influençaient significativement la composition lipidique des foies des perches (Xu *et al.*, 2002). Ces auteurs en avaient conclu que le site préférentiel de stockage des graisses chez la perche était le tissu adipeux périsvécéral, et dans certaines conditions d'alimentation et d'élevage le foie. Il faut toutefois préciser que de telles observations ont déjà été faites chez d'autres espèces, et notamment chez la truite fario *Oncorhynchus mykiss* (Regost *et al.*, 2001_a, 2003) et chez le turbot *Scophthalmus maximus* (Regost *et al.*, 2001_b). Nous pouvons expliquer ce résultat en regardant l'activité de la glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), enzyme intervenant lors de la synthèse des acides gras (AG) pour fournir du NADPH. En effet, elle présente des valeurs plus élevées pour le R13 que pour les trois autres régimes à 19 %. Une synthèse endogène d'AG plus importante engendre donc des foies plus gras. Il faut en plus préciser que les aliments avaient été protégés par l'ajout d'antioxydants (BHA et BHT), qui auraient alors réduit considérablement l'effet négatif escompté du régime à haute teneur en lipides sans antioxydant.

La perche apparaît comme possédant un faible contenu en graisse musculaire (< 1,3%), en accord avec les observations de Mathis (2003), et ressemble en cela au turbot qui ne présente que ± 1 % des lipides musculaires (Regost *et al.*, 2001_b), mais diffère d'autres espèces d'eau tempérée comme la truite arc-en-ciel avec ± 10 % de lipides musculaires (Gélineau *et al.*, 2002). C'est pourquoi la perche se situe dans la catégorie des poissons dits « maigres », c'est à dire des poissons dont la chair renferme moins de 2 % de lipides (Corraze, 1999).

Protéines

Chez de nombreuses espèces, les régimes à forte teneur en lipides conduisent à des modifications de la composition corporelle : on observe un accroissement des quantités de lipides corporels, accompagné d'une diminution de la teneur en eau sans qu'il y ait de variation de la teneur en protéines (Watanabe, 1982 ; Dias, 1999). Nous observons une moyenne de 65,9 % de protéines pour le R13 et de 54,4 % pour les trois régimes à 19 % de lipides (sur matière sèche). Cependant, les tests statistiques ne révèlent aucune différence significative. Il existe une tendance à observer une diminution des protéines corporelles

lorsque le pourcentage en lipides alimentaires augmente, mais lorsqu'on regarde la teneur en protéine des carcasses de perche exprimée en matière fraîche, les quatre régimes présentent les mêmes valeurs : 10,8 % de protéines en moyenne. Il n'existe donc pas de variation des teneurs en protéines corporelles, quel que soit le régime administré.

L'utilisation de lipides comme source d'énergie non protéique permet l'utilisation des protéines pour la croissance, plutôt que comme source d'énergie, c'est ce qu'on appelle l'épargne protéique, elle augmente le taux de conversion alimentaire et diminue la quantité de produits azotés excrétés par l'organisme (Vergara *et al.*, 1999). Cet effet d'épargne protéique par addition de lipides alimentaires a bien été démontré chez les salmonidés mais chez d'autres espèces également (Takeuchi *et al.*, 1978 in Watanabe, 1982). Ainsi, une augmentation de la quantité de lipides alimentaires chez la truite arc-en-ciel donne une meilleure rétention protéique, avec des valeurs de taux d'efficacité protéique maximales, et une meilleure prise de poids des poissons.

Le régime le plus efficace quand on regarde le gain de poids par unité de protéines consommées (PER) est le R19A (2,55), alors qu'il n'existe aucune différence significative entre le R13, le R19 et le R19E (1,57). La valeur la plus faible de PER est observée pour le régime à haute teneur en lipides sans antioxydant (R19). Une étude où trois régimes à teneurs en lipides différentes étaient testés (12, 16 et 22 %) a conclu que l'habileté de la perche à l'épargne des protéines était limitée (Mathis *et al.*, 2003). C'est également ce que nous observons dans notre étude, en effet, les valeurs de PPV demeurent faibles, indiquant que l'efficacité de l'utilisation des protéines est basse. En comparaison, on peut citer par exemple une moyenne de 30 % pour le PPV chez le poisson chat, *Clarias Gariepinus* (Fagbenro et Jauncey, 1995). Il est évident que le PPV est un critère plus précis d'évaluation des protéines alimentaires que le PER car il tient compte de la transformation des protéines alimentaires en protéines du corps, plutôt que de l'augmentation générale du poids du corps.

TBARS

Chez les espèces dites d'eau tempérée comme la perche (Kestemont *et al.*, 2001), le turbot, le bar (Peres et Oliva-Teles, 1999), la dorade, le sandre, les régimes à niveau énergétique élevé engendrent des conséquences néfastes contrairement aux autres espèces d'eau froide. En 1997, Kestemont *et al.* ont testés des aliments expérimentaux qui ont été mal utilisés chez la perche, surtout lorsque ces aliments étaient additionnés de lipides sous forme d'huile de menhaden dépourvue d'antioxydant : il s'en est suivi une consommation particulièrement faible entraînant un ralentissement de la croissance, une dégénérescence hépatique sévère de type cirrhose ou hépatite et une augmentation de la mortalité. Des résultats similaires ont été obtenus chez la perchaude par d'autres chercheurs aux USA (Brown *et al.*, 1996) qui ont montré par ailleurs que l'addition d'éthoxyquine (antioxydant) à des aliments avec des teneurs élevées d'huile de menhaden permet d'obtenir de meilleures performances de croissance. Il en a été conclu que la perche est sensible à la peroxydation des lipides (Kestemont *et al.*, 2001), tout comme la perchaude (Cartwright *et al.*, 1998 in Brown et Barrows, 2002), qui lui est biologiquement proche. C'est pourquoi l'ajout d'antioxydant à l'alimentation destinée à la perche lorsque les teneurs en lipides alimentaires sont importantes s'est révélé nécessaire.

En 2003, une expérience visant notamment à voir l'effet de différents types d'antioxydants sur l'état de peroxydation chez la perche commune a été menée (Djabelkhir, 2003). Il s'est avéré que les mauvais résultats obtenus au terme de cet essai résultaient d'une mauvaise protection des aliments face à l'oxydation. En effet, suite à de fortes teneurs en produits

peroxydés dans les granulés, les poissons présentaient une très faible prise alimentaire entraînant une faible croissance, excepté dans les régimes contenant de l'astaxanthine. C'est pourquoi, cette année, nous avons ajouté lors de la fabrication des aliments des antioxydants donneurs de protons : le BHA (butylhydroxyanisole) et le BHT (butylhydroxytoluène). Nous sommes passés d'une moyenne de 843 nmoles de malonaldéhyde.g⁻¹ pour 2003 à seulement 89 nmoles de malonaldéhyde.g⁻¹ cette année-ci, tous régimes confondus, soit dix fois moins qu'en 2003.

Au vu de nos résultats, le foie présente en général de plus grandes concentrations en TBARS que le muscle dorsal. Cela s'explique simplement par le fait que le foie est un organe plus gras que le muscle chez la perche, comme montré précédemment, et qu'il est donc plus sensible que ce dernier aux phénomènes de peroxydations.

Il a été démontré par plusieurs auteurs qu'un régime alimentaire plus riche en lipides entraîne une augmentation de la concentration en TBARS par rapport à un régime contenant moins de lipides (Watanabe, 1982 ; Chaiyapechara *et al.*, 2003). Dans notre expérience, nous avons observé au niveau du muscle dorsal, une augmentation perceptible de la concentration en TBARS entre le régime à 13 % de lipides (15,9 nmoles de malonaldéhyde.g⁻¹) et celui à 19 % de lipides (23,2 nmoles de malonaldéhyde.g⁻¹). Mais c'est surtout au niveau du foie que se marque cet effet, même si le test statistique ne révèle aucune différence significative. En effet, les niveaux de TBARS ont en moyenne plus que doublé. Cependant, lorsque l'on regarde les résultats obtenus pour le R19, même s'il présente des valeurs plus élevées que les autres régimes, ces valeurs restent dans des limites acceptables, tout comme ce qu'on a pu observer lors du dosage des lipides hépatiques. Cela est sans doute de nouveau expliqué par l'ajout de BHA et de BHT à tous les aliments afin de prévenir la peroxydation des aliments pendant leur stockage.

L'effet protecteur de l'astaxanthine se voit tant au niveau du foie que de la chair, alors qu'il n'en est pas de même pour la vitamine E. En effet, on observe des valeurs de TBARS similaires pour le R19 et le R19E. Le rôle protecteur de la vitamine E pour le foie a été montré pour plusieurs espèces d'eau douce (Shiau et Hsu, 2003 ; Huang *et al.*, 2003) et d'eau de mer (Stéphan *et al.*, 1995 ; Mourente *et al.*, 2002 ; Tocher *et al.*, 2002). Selon Allain (2002), la vitamine E, malgré son rôle antioxydatif, peut également stimuler les processus oxydatifs lorsqu'elle est surdosée. Les doses minimales et maximales étant très proches, l'estimation d'une dose correcte lors de l'intégration dans les aliments est délicate à effectuer. D'une expérience à l'autre et selon les espèces, les doses testées peuvent être fort différentes. De même, Anderson et Sunderland (2002) avancent que les micro-ingrédients tels que les vitamines sont facilement endommagés par les processus de fabrication des aliments. La valeur nutritionnelle des vitamines est affectée par leur stabilité et par l'efficacité de leur utilisation. Les vitamines et les caroténoïdes sont des composés organiques sensibles qui peuvent être dénaturés par la présence d'eau, d'oxygène, de chaleur, et d'autres facteurs. Les résultats obtenus par Anderson et Sunderland (2002) montrent que la vitamine E n'est pas stable dans le produit final, contrairement à l'astaxanthine. Après la fabrication de nos aliments, il a fallu les faire sécher deux jours dans une pièce ventilée, à proximité d'une fenêtre. Peut-être ce traitement a-t-il dénaturé la vitamine E présente dans les granulés. En effet, les tocophérols, en absence d'oxygène, sont stables à la chaleur et à la lumière, mais en présence d'oxygène, malgré leurs propriétés anti-oxydantes, ils s'oxydent pour former une quinone (Allain, 2002). On peut également supposer que suite à l'ajout de BHA et de BHT aux aliments, l'effet de la vitamine E ne se voit pas comme c'est le cas de l'astaxanthine, qui est 550 fois plus puissante que l' α -tocophérol (Maher, 2000). Notons que Xu *et al.* (2002),

dans une étude utilisant des aliments contenant déjà des antioxydants, n'ont pas connu ce type de problème d'oxydation.

Les poissons nourris avec les régimes R19 et R19E étaient plus pâles que les poissons des deux autres régimes. Or, les processus d'oxydation, en plus de diminuer la valeur nutritionnelle du poisson, peuvent modifier sa texture et sa couleur (Lie, 2001). L'astaxanthine fait partie des xanthophylles. Elle est probablement la plus polaire à cause de ses groupements alcools et cétones sur les deux cycles terminaux. Elle possède une valeur ORAC (oxydative radical absorbance capacity, test mesurant le potentiel antioxydant d'une substance) plus élevée que tous les autres caroténoïdes ; son effet antioxydant est donc plus puissant (Dionne, 2002). Des études montrent en effet que l'astaxanthine est beaucoup plus efficace que le β -carotène contre le radical libre oxygène singulet, qu'elle s'oppose à plusieurs autres radicaux libres délétères et qu'elle protège particulièrement bien les membranes cellulaires et mitochondriales du stress oxydatif (Miki, 1991). L'astaxanthine procure une protection face à l'oxydation des lipides corporels, des poissons en meilleure santé sont des poissons qui se nourriront mieux. En regardant les niveaux de malonaldéhydes dans le foie et le muscle dorsal des poissons nourris avec le R13 et le R19A, c'est à dire les deux régimes les plus consommés, il s'avère que ceux-ci ont tendance à être plus faibles que pour les deux autres régimes (R19 et R19E), moins consommés. Un régime à 19 % de lipides avec astaxanthine est donc recommandé pour obtenir une limitation des dommages engendrés par les phénomènes de peroxydation, les meilleures performances de croissance, une meilleure utilisation des protéines et enfin, un aspect plus engageant du poisson pour le consommateur lorsqu'il est vendu non fileté. En effet, selon Mathis (2003), l'adjonction de pigments dans l'aliment ne modifie pas la couleur de la chair mais influence très nettement l'aspect extérieur des poissons (nageoires et robe). Lors de test préalables avec des tests néophytes en dégustation de perche, l'aspect des produits issus de l'élevage intensif avait été préféré à celui des produits issus du milieu naturel.

Lipogenèse

Diverses études sur le métabolisme des poissons ont permis d'identifier les principales voies biochimiques et métaboliques impliquées dans la constitution des dépôts lipidiques. Elles sont globalement comparables à celles des mammifères (Corraze *et al.*, 1999). Toutefois, il faut signaler que chez le poisson, le foie est le site principal de lipogenèse, le tissu adipeux périsvical ayant essentiellement un rôle de stockage (Henderson, 1996).

Aucune donnée n'a encore été publiée sur les enzymes de la lipogenèse chez la perche. Les seuls résultats existants ont été obtenus par Blanchard en 2003 (cfr tableau 1.1.5) mais n'ont pas fait l'objet d'une publication. Les résultats obtenus au cours de notre étude ne présentent aucune différence significative entre les régimes, mais on peut déjà apercevoir certaines tendances. Pour pouvoir observer un effet significatif des traitements sur la lipogenèse chez la perche, il aurait fallu avoir de plus grandes différences entre les teneurs en lipides alimentaires. En effet, la régulation de l'activité des enzymes de la lipogenèse est moins efficace chez le poisson que chez les autres animaux. Des variations de la teneur en lipides alimentaires supérieures à 10 % sont nécessaires pour induire des changements notables de l'activité de ces enzymes (Corraze *et al.*, 1999 ; Gondret, 1999). De même, alors qu'il ne faut que quelques jours à un mammifère pour présenter une modification dans l'activité de ses enzymes lipogéniques suite à un changement de traitement alimentaire, il faudra plus de temps pour observer ce même phénomène chez un poisson : ainsi, chez le saumon coho (Lin *et al.*, 1977 in Dias, 1998), il a été démontré que 23 jours d'adaptation sont nécessaires pour

conduire à des variations d'activité des enzymes de la lipogenèse en réponse à des changements de régime alimentaire.

En comparant les résultats obtenus chez la perche en 2003 et en 2004, nous pouvons dire que la prise alimentaire influence positivement les activités enzymatiques. Par exemple, suite à une mauvaise protection des aliments en 2003, les perches ont consommé de faibles quantités d'aliments comprenant de la vitamine C, alors que les aliments avec astaxanthine étaient relativement bien consommés. Il s'est avéré que l'activité de l'enzyme malique était de $0,007 \text{ UI} \cdot \text{mg}^{-1}$ protéines dans la première situation, et de $0,083 \text{ UI} \cdot \text{mg}^{-1}$ protéines dans la deuxième. Dans notre étude, étant donné que l'ingéré alimentaire était suffisant et n'a pas montré de grandes variations entre les régimes, nous n'observons que l'effet positif de l'aliment sur l'activité générale des enzymes de la lipogenèse. Chez la truite arc-en-ciel, l'activité de plusieurs enzymes génératrices de NADPH, la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), l'enzyme malique (ME) et l'isocitrate déshydrogénase NADP-dépendante, sont également diminuées par une période de jeûne (Barroso *et al.*, 1998 in Barroso *et al.*, 1999).

Au sein des trois régimes à 19 % de lipides, aucune différence ne ressort en ce qui concerne les activités de la G6PDH et de la ME. Par contre, entre le R13 et les régimes à 19 % de lipides, certaines tendances se dessinent. Généralement, la teneur en lipides du régime n'influence pas l'activité de la G6PDH. Cependant, quand l'activité de la G6PDH est exprimée en $\text{UI} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de poisson, afin de s'affranchir des variations de l'indice hépatosomatique, nous notons une activité plus élevée avec R13 qu'avec R19, régime contenant moins de glucides. Chez la truite, l'activité de la G6PDH augmente avec l'ingéré glucidique et est négativement corrélée à l'ingéré lipidique (Dias, 1999 ; Gélinau *et al.*, 2002). Donc, plus un régime contiendra de glucides, plus la voie des pentoses phosphates sera utilisée pour fournir le NADPH nécessaire pour la synthèse *de novo* des AG. Par ailleurs, une expérience sur les rats a démontré que les AGS et les AGMI avaient peu d'influence sur la lipogenèse. Par contre, les AGPI ont un effet négatif sur la lipogenèse du rat, et cet effet se marque plus pour des AGPI n-3 que pour des AGPI n-6 (Gaíva *et al.*, 2003). Or, les huiles de poissons sont riches en AGPI n-3. Les poissons synthétisent peu d'AG *de novo* à partir de précurseurs non-lipidiques quand les lipides sont en quantité importante dans les aliments, et, réciproquement, le taux d'AG endogènes synthétisés augmente quand les aliments contiennent de très faibles teneurs en lipides (Henderson, 1996).

L'activité de l'enzyme malique, exprimée en $\text{UI} \cdot \text{g}^{-1}$ de foie montre une différence à la limite de la signification entre le R13 et le R19E ($p = 0,051$), $3,2 \pm 0,6 \text{ UI} \cdot \text{g}^{-1}$ de foie contre $4,1 \pm 0,3 \text{ UI} \cdot \text{g}^{-1}$ de foie respectivement. L'activité de la ME est donc positivement corrélée à l'ingéré lipidique contrairement à la G6PDH. Il en est de même pour l'activité spécifique de l'enzyme. Cette claire dissociation entre la ME et la G6PDH a aussi été reportée chez le rat, suggérant que ces enzymes sont dépendants de systèmes de régulation différents (Herzberg, 1991 in Dias, 1999). Par contre, chez certaines espèces de poissons, les activités de la ME et de la G6PDH diminuent généralement en concomitance lorsque la quantité de lipides dans les régimes augmente, comme chez le tilapia (Chou et Chiau, 1996) ou le bar (Dias, 1998, 1999).

L'ordre de grandeur des activités de la ME est beaucoup plus faible par rapport à celle de la G6PDH. Cela laisse supposer que chez la perche, le cycle des pentoses phosphates est la principale voie métabolique de production d'équivalents réducteurs (NADPH) nécessaires pour la synthèse *de novo* des AG, tout comme chez la truite, le turbot ou le bar (Corraze *et al.*, 1999 ; Dias *et al.*, 1998 ; Regost *et al.*, 2001_b).

Les poissons du régime à 13 % de lipides présentaient des foies en moyenne plus gras que ceux des régimes à 19 % de lipides (6,2 % contre 5,0 %). Ceci est expliqué par l'activité plus importante de la G6PDH des poissons nourris avec le R13 par rapport aux autres traitements. Le fait que l'activité de la ME est par contre inférieure pour le R13 n'a pas la même influence sur le contenu lipidique du foie étant donné qu'elle est près de huit fois inférieure à celle de la G6PDH.

Au vu de ces résultats, on peut conclure que la perche présente de grandes similitudes avec la truite arc-en-ciel (Dias, 1999) au niveau de son métabolisme lipogénique. En effet, chez la truite, les activités de la G6PDH et de la FAS diminuent quand la concentration en lipides alimentaires augmente. L'activité de la ME est positivement corrélée avec les teneurs en protéines alimentaires tandis qu'elle l'est négativement avec l'ingéré glucidique, et qu'elle est non affectée par la concentration en lipides alimentaires. Les valeurs observées pour la ME chez les deux espèces démontrent une dissociation de celle-ci des autres enzymes de la lipogénèse, laissant penser que la ME est sous le contrôle d'autres mécanismes de régulation. En ce qui concerne l'ordre de grandeur des activités de ses enzymes lipogéniques, la perche présente des valeurs semblables à celles de ses congénères d'eau fraîche, à savoir la truite, le bar (Dias, 1999) et dans une moindre mesure, le turbot (Regost *et al.*, 2001_b). La comparaison avec d'autres espèces ne peut se faire que si la technique employée pour déterminer les activités des enzymes est la même que celle utilisée dans le cadre de ce mémoire.

Cinquième partie:
conclusions et perspectives

Un des atouts de l'aquaculture est la possibilité de moduler la composition des poissons par une alimentation adaptée dans des conditions contrôlées. Ceci ouvre de nombreuses perspectives pour l'amélioration et la maîtrise de la qualité des produits aquatiques afin de satisfaire les exigences des consommateurs.

Chez la perche, les meilleures performances de croissance, d'efficacité alimentaire et protéique, associées avec de faibles concentrations de malonaldéhyde au niveau du foie et du muscle, sont obtenues pour un régime comprenant 19 % de lipides additionné d'astaxanthine (R19A). Une augmentation des teneurs en lipides alimentaires est associée à une augmentation des dépôts graisseux au niveau du tissu adipeux périviscéral essentiellement, alors que les teneurs en lipides hépatiques et musculaires restent relativement faibles. En conclusion, l'augmentation des apports lipidiques et l'amélioration de leur utilisation via l'ajout d'astaxanthine peuvent augmenter considérablement la croissance chez la perche, en augmentant l'efficacité alimentaire et en réduisant la peroxydation des tissus.

Aux prémices de l'étude des enzymes de la lipogenèse, ce mémoire nous fournit des résultats qu'il faudra approfondir dans le futur, notamment au niveau de l'étude de la FAS, enzyme que nous n'avons pas pu doser dans ce mémoire. Les conclusions que l'on peut dès lors tirer sont que les enzymes clés de la lipogenèse sont affectées par la quantité et la composition des régimes alimentaires distribués, du moins au niveau de la G6PD et de la ME. L'effet inhibiteur du niveau lipidique, et, par conséquent, l'effet stimulateur de la teneur en hydrates de carbone dans les régimes, déjà confirmés pour de nombreuses espèces d'animaux, se sont avérés également chez la perche en ce qui concerne la G6PD. Par contre, l'activité de la ME est positivement corrélée à l'ingéré lipidique, à moins que, comme chez la truite, ce ne soit pas la teneur croissante en lipides qui ait une influence sur son activité, mais la concentration décroissante en glucides des régimes à 19 % de lipides par rapport à celui à 13 %. Cette dissociation entre la ME et la G6PD laisse penser que ces enzymes sont dépendants de systèmes de régulation différents. Aucun effet des antioxydants n'a été relevé sur les activités de ces deux enzymes lipogéniques. Une étude plus poussée de ces mécanismes lipogéniques serait nécessaire pour une meilleure compréhension, en utilisant par exemple des teneurs en lipides, en glucides, voire en protéines différentes. Par ailleurs, de plus grandes différences entre les teneurs en lipides alimentaires sont requises si l'on désire observer un effet significatif des différents traitements sur la lipogenèse chez la perche.

D'une manière générale, afin de réduire les variations observées au sein des différents traitements, variation masquant probablement des différences significatives dans de nombreuses situations, le nombre d'individus prélevés par bassin de même que le nombre de bassins par traitement devraient idéalement être augmentés. De plus, une expérience s'étalant sur une période plus longue, et avec des prélèvements intermédiaires, serait souhaitable afin de mieux maîtriser les mécanismes impliqués dans les changements métaboliques chez la perche, notamment au niveau de la cinétique enzymatique de la lipogenèse. Enfin, le dosage de la vitamine E devrait être révisé, ainsi que celui du BHA et du BHT, afin d'observer plus distinctement les effets délétères des régimes à hautes teneurs en lipides sans antioxydant, et l'amélioration de la nutrition de la perche avec l'ajout de vitamine E.

La forte dépendance de l'aquaculture vis-à-vis des pêcheries industrielles marines comme suppléant d'huile ou de chair de poisson n'est pas une solution absolue. Pour les prochaines années, l'industrie alimentaire de l'aquaculture devra réduire l'utilisation de tels ingrédients, en utilisant des sources protéiques et lipidiques alternatives.

D'un point de vue nutritionnel, la perche est considérée comme un aliment riche en acides gras polyinsaturés de la série n-3, avec une large proportion de DHA, ce qui lui confère des propriétés diététiques intéressantes vu ses effets protecteurs vis-à-vis des maladies cardiovasculaires. La recherche en perciculture devrait aboutir un jour à l'élaboration d'un « aliment-perche », comme il existe par exemple des « aliments-truites », qui proposerait des formulations alimentaires améliorées permettant d'optimiser la croissance tout en préservant l'état sanitaire et nutritionnel des poissons, et en contrôlant l'aspect des produits finis.

**Références
bibliographiques**

- Abi-Ayad, S.-M. E.-A., Kestemont, P. & Mélard, C. Dynamics of total lipids and fatty acids during embryogenesis and larval development of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Fish physiology and biochemistry* **23**, 233-243 (2000).
- Allain, P. Vitamine E ou tocophérol. *Les médicaments 3ème édition* (2002).
- Anderson, J. & Sunderland, R. Effect of extruder moisture and dryer processing temperature on vitamin C and E and astaxanthin stability. *Aquaculture* **207**, 137-149 (2002).
- Arts, M. T., Ackman, R. G. & Holub, B. J. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**, 122-137 (2001).
- Aurousseau, A. B. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim.* **15**, 67-82 (2002).
- Barroso, J. B., Peragón, J., García-Salguero, L., de la Higuera, M. & Lupiáñez, J. A. Kinetic behavior and protein expression of hepatic NADPH-production systems during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **179**, 375-385 (1999).
- Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R. & Sargent, J. R. Depletion of α -tocopherol and astaxanthin in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism. *American society for nutritional sciences*, 1800-1808 (2000).
- Bell, J. G., Tocher, D. R., Farndale, B. M., Cox, D. I., McKinney, R. W. & Sargent, J. R. The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. *Lipids* **32**, 515-525 (1997).
- Bell, M. V., Henderson, R. J. & Sargent, J. R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comparative biochemistry and physiology* **83B**, 711-719 (1986).
- Blanchard G, D. X., Kestemont P. Seasonal variations in fatty acid composition and hepatic status of wild Eurasian perch *Perca fluviatilis* during a maturation cycle (sous presse). *journal of fish biology* (2004).
- Brenner, R. R. Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. *Prog. Lipid Res.* **20**, 41-47 (1981).
- Brett, M. T. & Müller-Navarra, D. C. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology* **38**, 483-499 (1997).
- Brown, P., Dabrowski, K. & Garling, D. Nutrition and feeding of yellow perch (*Perca flavescens*). *J. Appl. Ichthyol.* **12**, 171-174 (1996).
- Brown, P., Cartwright, D., Twibell, R. & Bharadwaj, A. Dietary lipid studies with yellow perch (*Perca flavescens*). in *Percis III: The third international percid fish symposium* (ed. Barry, T.P., Malison, J.A.) 23-24 (University of Wisconsin, Madison, USA, 2003).
- Brown, P. B. & Barrows, F. T. Percids. in *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture* (ed. Webster, C.D. & Lim, C.) 219-229 (2002).
- Bulliyya, G. Key role of dietary fats in coronary heart disease under progressive urbanization and nutritional transition. *Asia Pacific journal of clinical nutrition* **9**, 289 (2000).
- Buzzy, M., Henderson, R. J. & Sargent, J. R. The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. *Biochimica et biophysica acta* **1299**, 235-244 (1996).
- Caballero, M. J., López-Calero, G., Socorro, J., Roo, F. J., Izquierdo, M. S. & Fernández, A. J. Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* **179**, 277-290 (1999).
- Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. & Izquierdo, M. S. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid

- composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **214**, 253-271 (2002).
- Carrington, P. Fat controls. *Natural Science*, 18-20 (1995).
- Carter, C., Houlihan, D., Kiessling, A., Médale, F. & Jobling, M. Physiological effects of feeding. in *Food intake in fish* (eds. Houlihan, D., boujard, T. & Jobling, M.) 297-331 (Blackwell Science, Oxford, 2001).
- Chaiyapechara, S., Casten, M. T., Hardy, R. W. & Dong, F. M. Fish performance, fillet characteristics and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. *Aquaculture* **219**, 715-738 (2003).
- Chou, B.-S. & Shiau, S.-Y. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. *Aquaculture* **143**, 185-195 (1996).
- Corraze, G. Nutrition lipidique. in *Nutrition et alimentation des poissons et crustacés* (eds. Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. & Métailler, R.) 147-170 (INRA, Paris, 1999).
- Corraze, G., Larroquet, L. & Médale, F. Alimentation et dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel, effet de la température d'élevage. *INRA Prod. Anim.* **12**, 249-256 (1999).
- Couet, C. Les lipides. in *Enseignement de la nutrition* (ed. nutrition, Beaufrère, B., Boulier, A., Couet, C., Favier, A., Grasset, E., Jequier, E., Hercberg, S., Laville, M., Louis-Sylvestre, J., Riou, J-P., Schmitz, J.) 55-67 (Condé-sur-Noireau, 1994).
- Cowey, C. B. & Sargent, J. R. Lipid nutrition in fish (minireview). *Biochem. physiol.* **57B**, 269-273 (1977).
- Craig, J. F. *Percid fishes: systematics, ecology and exploitation* (Blackwell Sciences, Dunscore, Scotland, 2000).
- de Borba, M. R., Fracalossi, D. M., Pezzato, L. E., Menoyo, D. & Bautista, J. M. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. *Aquatic living resources* **16**, 362-369 (2003).
- Dias, J., Alvarez, M. J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J. M. & Kaushik, S. J. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **161**, 169-186 (1998).
- Dias, J. P. Thèse: Lipid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*), nutritional regulation of lipogenesis. 186 (Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Porto, 1999).
- Dionne, J.-Y. Les caroténoïdes. *Québec pharmacie* **49**, 800-804 (2002).
- Djabelkhir, S. Mémoire: Effets de l'apport de différents types d'antioxydants sur les performances de croissance, l'état de peroxydation et le contenu lipidique chez la perche commune (*Perca fluviatilis* L.). 37 (Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, Namur, 2003).
- Druart, X. Variations saisonnières de la composition lipidique et du statut hépatique chez la perche, *Perca fluviatilis* L., au cours d'un cycle annuel de reproduction en milieu naturel. 116 (Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, Namur, 2002).
- Fagbenro, O. & Jauncey, K. growth and protein utilisation by juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) fed dry diets containing co-dried lactic-acid-fermented fish-silage and protein feedstuffs. *Bioresource Technology* **51**, 29-35 (1995).
- Fauconneau, B., Corraze, G., Lebail, P. Y. & Vernier, J.-M. Les lipides de dépôt chez les poissons d'élevage: contrôle cellulaire, métabolique et hormonal. *INRA Prod. Anim.* **3**, 169-381 (1990).
- Fiogbé, E. D., Kestemont, P., Mélard, C. & Micha, J. C. The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* **144**, 239-249 (1996).

- Gaiva, M. H., Couto, R. C., Oyama, L. M., Couto, G. E. C., Silveira, V. L. F., Ribeiro, E. B. & Nascimento, C. M. O. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. *Nutrition* **19**, 144-149 (2003).
- Gélineau, A., Bolliet, V., Corraze, G. & Boujard, T. The combined effect of feeding time and dietary fat levels on feed intake, growth and body composition in rainbow trout. *Aquatic living resources* **15**, 225-230 (2002).
- Gélineau, A., Corraze, G., Boujard, T., Larroquet, L. & Kaushik, S. Relation between dietary lipid level and voluntary feed intake, growth, nutrient gain, lipid deposition and hepatic lipogenesis in rainbow trout. *Reprod. Nutr. Dev.* **41**, 487-503 (2001).
- Gnoni, G. V. & Muci, M. R. *De novo* fatty acid synthesis in eel-liver cytosol. *Comparative biochemistry and physiology* **95B**, 153-158 (1990).
- Gondret, F. La lipogenèse chez le lapin. Importance pour le contrôle de la teneur en lipides de la viande. *INRA Prod. Anim.* **12**, 301-309 (1999).
- Goto, S., Kogure, K., Abe, K., Kimata, Y., Kitahama, K., Yamashita, E. & Terada, H. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochimica et biophysica acta* **1512**, 251-258 (2001).
- Grasset, E. Les vitamines. in *Enseignement de la nutrition* (ed. nutrition, Beaufrère, B., Boulier, A., Couet, C., Favier, A., Grasset, E., Jequier, E., Hercberg, S., Laville, M., Louis-Sylvestre, J., Riou, J-P., Schmitz, J.) 135-153 (Condé-sur-Noireau, 1994).
- Guinea, J. & Fernandez, F. Effect of feeding frequency, feeding level and temperature on energy metabolism in *Sparus aurata*. *Aquaculture* **148**, 125-142 (1997).
- Gurr, M. *Vie saine*. 68 (2000).
- Halver. *The lipids*. 785 (Elsevier Science, 2002).
- Harper. La vitamine E. in *Biochimie* (eds. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. & Rodwel, V. W.) 647-650 (de Boeck, 2002).
- Hemre, G. I., Karlsen, O., Mangor-Jensen, A. & Rosenlund, G. Digestibility of dry matter, protein, starch and lipid by cod, *Gadus morhua*: comparison of sampling methods. *Aquaculture* **225**, 225-232 (2003).
- Henderson, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Arch. Anim. Nutr.* **49**, 5-22 (1996).
- Houbart, M. Thèse: Implication de facteurs alimentaires et physiologiques dans l'hétérogénéité de croissance chez la perche (*Perca fluviatilis*). in *Département de biologie* 247 (Facultés universitaires Notre-Dame de la Paix, 2003).
- Huang, C. H., Chang, R.-J., Huang, S.-L. & Chen, W. Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Comparative biochemistry and physiology* **134B**, 265-270 (2003).
- Jobling, M., Meloy, O. H., dos Santos, J. & Christiansen, R. The compensatory growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquaculture International* **2**, 75-90 (1994).
- Kestemont, P. & Mélard, C. Aquaculture. in *Percid fishes: systematics, ecology and exploitation* (ed. Craig, J. F.) 191-224 (Blackwell Science, Dunscore, Scotland, 2000).
- Kestemont, P., Vandeloise, E., Brown, P., Mélard, C. & Fontaine, P. Effects of casein-based diets containing different levels of lipids on survival, growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. in *Martinique 97: Island aquaculture and tropical aquaculture short communications and abstracts* (eds. Creswell, L. & Harache, Y.) 333-334 (European Aquaculture Society, 1997).
- Kestemont, P., Vandeloise, E., Mélard, C., Fontaine, P. & Brown, P. B. Growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis* fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin. *Aquaculture* **203**, 85-99 (2001).

- Kestemont, P. et al. Mise au point et développement d'une technologie d'élevage intensif des percidés en Région Wallone (rapport annuel n°1). 62 (1995-1996).
- Lefèvre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F., Bonnefont-Rousselot, D., Cristol, J.-P., Thérond, P. & Torreilles, J. Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage de substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Annales de biologie clinique* **56**, 305-319 (1998).
- Leger, C., Fremont, L. & Boudon, M. Fatty acid composition of lipids in the trout. Influence of dietary fatty acids on the triglyceride fatty acid desaturation in serum, adipose tissue, liver, white and red muscle. *Comparative biochemistry and physiology* **69B**, 99-105 (1980).
- Leveille, J.-C. Thèse: Flux de matière en milieu pélagique lacustre: utilisation des acides gras comme marqueurs organiques naturels du transfert dans la chaîne trophique phytoplancton-zooplancton-alevins d'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*). 227 (Université Blaise Pascal, 1997).
- Lie, O. Flesh quality - the role of nutrition. *Aquaculture research* **32**, 341-348 (2001).
- Livertoux, E. Thèse: La perche fluviatile (*Perca fluviatilis*): sa biologie, son élevage (synthèse bibliographique). 278 (Ecole nationale vétérinaire de Nantes, 1995).
- Lubzens, E., Marko, A. & Tietz, A. De novo synthesis of fatty acids in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* **47**, 27-37 (1985).
- Maher, T. J. Astaxanthin: continuing education module. *Natural Healing Track*, 1-8 (2000).
- Marieb. *Anatomie et physiologie humaines* (De Boeck, Canada, 1993).
- Mathis, N. Thèse: Influence des condition d'élevage et d'abattage sur les propriétés technologiques, physiques, organoleptiques et nutritionnelles de la perche (*Perca fluviatilis*). 122 (INPL, 2003).
- Mathis, N., Feidt, C. & Brun-Bellut, J. Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture* **217**, 453-464 (2003).
- Migaud, H., Fontaine, P., Sulisty, I., Kestemont, P. & Gardeur, J.-N. induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perce fluviatilis*: effects of rates of cooling and cooling durations on female gametogenesis and spawning. *Aquaculture* **205**, 253-267 (2002).
- Miki, W. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Appl. Chem.* **63**, 141-146 (1991).
- Mourente, G., Díaz-Salvago, E., Bell, J. G. & Tocher, D. R. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamine E. *Aquaculture* **214**, 343-361 (2002).
- Mourente, G., Tocher, D. R., Diaz, E., Grau, A. & Pastor, E. Relationships between antioxidants, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation products during early development in *dentex* eggs and larvae. *Aquaculture* **179**, 309-324 (1999).
- Mourot, J., FKouba, M. & Salvatori, G. Facteurs de variation de la lipogenèse dans les adipocytes et les tissus adipeux chez le porc. *INRA Prod. Anim.* **12**, 311-318 (1999).
- Moussard, C. *biochimie structurale et métabolique: médecine, pharmacie, sciences* (De Boeck, Bruxelles, 2002).
- Murai, T. & Andrews, J. W. Interactions of dietary α -Tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). 1416-1431 (1975).
- Panserat, S. & Kaushik, S. Régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique chez les poissons: ex de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), faible utilisatrice des glucides alimentaires. *INRA Prod. Anim.* **15**, 109-117 (2002).

- Peres, H. & Oliva-Teles, A. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **179**, 325-334 (1999).
- Raisonnier, A. Objectifs au cours de biochimie PCEM2: Biochimie métabolique et régulations C1. 151 (Université Pierre et Marie Curie, Paris, France, 2004).
- Rawn, J. D. *Traité de biochimie* (De Boeck, Bruxelles, 1990).
- Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Laroche, M. & Kaushik, S. Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation. *Aquaculture* **193**, 325-345 (2001a).
- Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Roselund, G. & Kaushik, S. J. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*): growth performance, flesh fatty acid profile and lipid metabolism. *Aquaculture* **217**, 465-482 (2003).
- Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J., Laroche, M. & Kaushik, S. J. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* **193**, 291-309 (2001b).
- Robin, J. H., Regost, C., Arzel, J. & Kaushik, S. J. Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. *Aquaculture* **225**, 283-293 (2003).
- Ruff, N., Fitzgerald, R. D., Cross, T. F., Hamre, K. & Kerry, J. P. The effect of dietary vitamine E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. *Aquaculture nutrition* **9**, 91-103 (2003).
- Sant'Ana, L. S. & Mancini-Filho, J. Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. *Food chemistry* **68**, 175-178 (2000).
- Sargent, J., Henderson, R. J. & Tocher, D. R. The lipids. in *Fish nutrition* (ed. Halver, J. E.) 153-218 (Academic press, inc, Seattle, Washington, 1989).
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D. & Estevez, A. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* **177**, 191-199 (1999).
- Scaife, Onibi, Murray, Fletcher & Houlihan. Influence of tocopherol acetate on the short- and long-term storage properties of fillets from Atlantic salmon *Salmo salar* fed a high lipid diet. *Aquaculture nutrition* **6**, 65-71 (2000).
- Sellkurt, E. E. *Physiology* (Little, Brown and company, Boston, 1971).
- Sheridan, M. A. lipid dynamics in fish: Aspects of absorption, transportation, deposition and mobilisation. *Comparative biochemistry and physiology* **90B**, 679-690 (1988).
- Shiau, S.-Y. & Hsu, C.-Y. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Aquaculture* **210**, 335-342 (2002).
- Spisni, E., Tugnoli, M., Ponticelli, A., Mordenti, T. & Tomasi, V. Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts. *Journal of fish diseases* **21**, 177-184 (1998).
- Steffens, W. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *aquaculture* **151**, 97-119 (1997).
- Stéphan, G., Guillaume, J. & Lamour, F. Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *aquaculture* **130**, 251-268 (1995).
- Suárez, A., Faus, M. J. & Gil, A. Dietary supplementation with long-chain polyunsaturated fatty acids increases susceptibility of weanling rat tissue lipids to in vitro lipid peroxidation. *Nutritional biochemistry* **7**, 252-260 (1996).
- Thomson, A. B. R., Paré, P. & Fedorak, R. N. Anatomie macroscopique de l'intestin grêle. in *principes fondamentaux de gastro-entérologie* 223-225 (2000).
- Tocher, D. R., Mourente, G., Van Der Eecken, A., Evjemo, J. O., Diaz, E., Bell, J. G., Geurden, I., Lavens, P. & Olsen, Y. Effects of dietary vitamin E on antioxidant

- defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture nutrition* **8**, 195-207 (2002).
- Vergara, J. M., López-Calero, G., Robaina, L., Caballero, M. J., Montero, D., Izquierdo, M. S. & Aksnes, A. Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality. *Aquaculture* **179**, 35-44 (1999).
- Vernon, R. G., Barber, M. C. & Travers, M. T. Développements récents dans les études de la lipogénèse chez l'homme et chez les animaux. *INRA Prod. Anim.* **12**, 319-327 (1999).
- Watanabe, T. Lipid nutrition in fish. *Comparative biochemistry and physiology* **73B**, 3-15 (1982).
- Woodall, A. A., Britton, G. & Jackson, M. J. Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxy radicals: relationship between carotenoid structure and protective ability. *Biochimica et biophysica acta* **1336**, 575-586 (1997).
- Xu, X. & Kestemont, P. Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. *Lipids* **37**, 297-304 (2002).

25 AOUT 2004

SECRETARIAT BIOLOGIE
F.U.N.D.P.
Rue de Bruxelles, 59
B 5000 NAMUR (Belgique)
Tél. 081 / 72 44 18 - Fax 081 / 72 44 20