

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES DES ORGANISMES ET ÉCOLOGIE

Effet d'un stress chronique (confinement) sur le phénomène de smoltification chez le saumon atlantique (*Salmo salar* L.)

Lambert, Benjamin

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.



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

Faculté des Sciences

**EFFET D'UN STRESS CHRONIQUE (CONFINEMENT) SUR LE PHENOMENE DE
SMOLTIFICATION CHEZ LE SAUMON ATLANTIQUE (*SALMO SALAR* L.)**

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

Benjamin LAMBERT

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 d'un stress chronique (confinement) sur le phénomène de smoltification chez le saumon atlantique (*Salmo salar* L.)

LAMBERT Benjamin

Résumé

Afin de caractériser l'effet d'un stresseur chronique sur la smoltification du saumon atlantique (*Salmo salar* Linnaeus.), souche irlandaise, nous avons placé du 17 février à début juin 2004, soixante poissons dans un bassin contenant 280 dm³ d'eau constituant la condition témoin et trente poissons dans deux bassins de 140 dm³ d'eau constituant la condition de confinement. Ces conditions de confinement ont été maintenues jusqu'en fin d'expérience.

La période d'échantillonnage s'est étalée du 1^{er} mars au 1^{er} juin à intervalles de 20 jours. Les indicateurs de smoltification que nous avons suivi sont l'activité de la Na⁺/K⁺ ATPase branchiale, le glycogène hépatique, le taux plasmatique de cortisol, la densité glomérulaire ainsi que le facteur de condition et le taux de croissance.

La Na⁺/K⁺ ATPase a montré avoir le 6 mai une activité 3 fois supérieure chez les poissons confinés (31.3 µmol/mg protéine/h) à celle des témoins (9.08 µmol/mg protéine/h); le glycogène hépatique quant à lui est resté, durant toute l'expérience, supérieur chez les confinés par rapport aux témoins; le cortisol est resté en concentration moins importante chez les confinés, excepté le 6 mai. Enfin, nous avons observé une stabilisation de la densité glomérulaire chez les confinés. Le SGR et le facteur de condition ne semblent pas avoir été affectés par le confinement. En conclusion, notre étude ne nous permet pas d'affirmer que le confinement ait un effet sur la smoltification du saumon atlantique (*Salmo salar* L.)

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Août 2004

Promoteur : J-C Micha.

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>

Effect of a chronic stressor (confinement) on the smoltification of atlantic salmon (*Salmo salar* L.)

LAMBERT Benjamin

Abstract

In order to characterize the effect of a chronic stressor on the smoltification of atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus.), Irish stock, we placed from the 17th February at the beginning of June 2004, sixty fish in a tank containing 280 dm³ constituting the pilot condition and thirty fish in two tanks of 140 dm³ constituting the condition of confinement. These conditions of confinement were maintained until the end of the experiment.

The period of sampling was spread out between the 1st March and 1st June with 20 days intervals. The indicators of smoltification which we used are the Na⁺/K⁺ ATPase gill activity, the hepatic glycogen, the plasmatic cortisol rate, the glomerular density as well as the factor of condition and the growth rate.

Na⁺/K⁺ ATPase activity showed to have, on 6th May, an activity 3 times higher in confined fish (31.3 µmol/mg protein/h) than that of the witnesses (9.08 µmol/mg protein/h); on the other hand, the hepatic glycogen remained, during all the experiment, superior at confined compared to the witnesses; cortisol remained in less important concentration when confined, except on 6th May. Lastly, we observed a stabilization of the glomerular density when confined. The SGR and the factor of condition do not seem affected by confinement. In conclusion, our study does not enable us to affirm that confinement has an effect on the smoltification of atlantic salmon (*Salmo salar* L.)

Dissertation in Biological Sciences

August 2004

Promotor : J-C Micha.

Au terme de ce mémoire...

Je profite de l'occasion qui m'est donnée pour remercier celles et ceux qui m'ont permis de mener à bien ce travail. Je rendrai également hommage à tous ceux qui ont fait de ces quatre années une épreuve inoubliable.

Je tiens à remercier dans un premier temps Mme Rita. Que le service nettoyage se rassure, j'entends ici mon institutrice de 1^{ère} primaire. On a trop souvent tendance à oublier cette personne qui nous a mis les mains à l'encrier. (A ne pas confondre avec les pieds à l'étrier, même si cet apprentissage n'en reste pas moins chevaleresque).

Au cours de ces quatre années, de nombreux sauts d'obstacles ont du être franchis et si aujourd'hui je peux user d'ironie c'est que j'ai bénéficié d'un entourage et d'un encadrement hors du commun.

Je remercierai le Professeur J-C Micha pour m'avoir accueilli au sein du labo. Merci à toi David de partager ta passion. J'envoie un grand merci également à Marie-Claire qui a résolu le problème de nom de code Na/K, à Martine ainsi qu'à Gérard. Enfin, je voudrais dire à une personne en particulier, combien elle m'a été précieuse, voire indispensable...Merci à toi Christelle... Je remercie également Daniel du département d'histologie pour son aide sincère.

Voici venu le temps de consacrer quelques maigres lignes à des personnes qui me sont chères.

Que les concernés écoutent...

Je commencerai par les regrettés moléculaires. (Mais pourquoi cette frontière moléculaire-urbo? Moi je suis pour la molécule !!) A vous mes amis : Le Djoule (Je peux t'emprunter génét ?), Yan (qui a parlé d'évangélion !!), Nico (le mélomane du tuba... bienn...), Philco (cela est juste et bon...), Réno (la fraise la plus recherchée de l'Arkansas ! pourtant il roule en 2CV !), porto, Ford mondéo. Heu non..., Yves (tu connais un singe à trois têtes ?), Richard (c'est une belle place !! tu gagnes combien ?), Johann, Jean-phi, Antoine. Je remercierai également la gente féminine, Aurélia (la mitochondrie ivoirienne dite Alexia), Alexia (dite Aurélia), Nihale (Ne dites pas Hanaa !), Conny, Yel.

Je remercie également les membres de la tribu de l'urbo. Un tout grand merci à toi Jérôme pour tes longs cheveux et pour les soirées inoubliables passées à ton kot ti ! un grand merci également à toi Gene pour la confiance que tu as en moi et pour ton coup de main glomérulaire. Merci à toi Sylvain pour ta passion des gens (tu penseras à me rembourser quand même !). Un grand merci aussi à toi Emilie (pour ceux que ça intéresse : mimile55@hotmail.com). Merci John pour l'animation du labo (oh ! un bouchon, j'ai encore cassé un truc ! Mais il est où Gérard ?), Toi aussi Dimi (rdv en expert, le professionnel). Je n'oublie pas Hélène (la solitaire de Przewalski) et Delphine (la tendre tiers)... Merci à Tous.

Et n'oublions jamais : « *On ne pêche pas les truites sans se mouiller les chausses* » (Don Quichotte).

Je tiens à remercier aussi les invités-surprises qui ont rendu ce séjour en labo mémorable. Je veux bien entendu parler de toi Neilä.... (Toujours des petits points de suspension !! Ça laisse le doute ; Il est libre dans 10 minutes) et de toi Gaël (Oui c'est moi qui ai la grosse pipette! mais c'est également une histoire de bouchons et d'acide!!)

Enfin et avant tout, Merci P'a, M'an, Soeurette et Toph... Vous êtes tout.

Tables des matières

<u>Introduction</u>	1
 <u>Chapitre 1 : Synthèse bibliographique</u>	
<u>1. Généralités et répartition</u>	2
<u>2. Cycle de vie de <i>Salmo salar</i></u>	3
2.1. Vie en eau douce	
2.2 Dévalaison et vie marine	
<u>3. La smoltification</u>	4
<u>3.1. Introduction</u>	4
3.1.1. Le problème de l'osmorégulation.....	4
<u>3.2. Modifications durant la smoltification</u>	5
3.2.1. Introduction	5
3.2.2. Modifications morphologiques.....	6
3.2.3. Modifications comportementales.....	6
3.2.4. Modifications physiologiques.....	7
3.2.4.1. Modifications neuroendocriniennes.....	7
3.2.4.1.1. Les hormones pituitaires.....	7
3.2.4.1.2. Les hormones thyroïdiennes.....	9
3.2.4.1.3. Les hormones interrénaliennes.....	10
3.2.4.1.4. D'autres systèmes endocrines.....	11
3.2.4.2. Les cellules à mucus et protéines.....	11
3.2.4.3. Modifications des organes.....	11
3.2.4.3.1. La branchie.....	11
3.2.4.3.2. Le rein.....	15
3.2.4.3.3. La vessie.....	15
3.2.4.3.4. L'intestin.....	16
<u>3.3. Influence environnementales</u>	16
3.3.1. La photopériode.....	16
3.3.2. La température.....	17
<u>4. Le homing</u>	17
4.1. Facteurs affectant la remontée.....	19
<u>5. Stress chronique et smoltification</u>	19

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

<u>1. Matériel biologique.....</u>	20
<u>2. Calcul du facteur de condition K.....</u>	20
<u>3. Dosage de l'activité Na⁺/K⁺ ATPase.....</u>	21
3.1. Prélèvement des branchies	
3.2. Homogénéisation	
3.3. Dosage de l'activité Na ⁺ /K ⁺ ATPasique	
3.4. Calcul de l'activité	
3.5. Dosage des protéines	
<u>4. Dosage du glycogène hépatique.....</u>	22
4.1. Prélèvement des foies	
4.2. Homogénéisation et neutralisation	
4.3. Principe et dosage	
<u>5. Dosage du cortisol plasmatique.....</u>	24
<u>6. Microscopie optique des reins.....</u>	24
6.1. Dissection du poisson et préparation à la coloration	
6.2. Coloration	
6.3. Analyse de la coupe histologique	
<u>7. Calcul du SGR.....</u>	26
<u>8. Analyse statistique.....</u>	26
8.1. L'ANOVA simple	
8.2. Test- <i>t</i> de Student	

Chapitre 3 : Résultats

3.1. Température.....	28
3.2. Poids et SGR.....	28
3.3. Facteur de condition.....	30
3.4. Densité glomérulaire.....	31
3.5. Cortisol.....	32
3.6. Activité Na ⁺ /K ⁺ ATPasique.....	33
3.7. Glycogène hépatique.....	34

<u>Chapitre 4 : Discussion.....</u>	37
-------------------------------------	----

<u>Chapitre 5 : Conclusions et perspectives.....</u>	42
--	----

<u>Chapitre 6 : Références bibliographiques.....</u>	44
--	----

Introduction

Introduction

Le sujet initial de ce mémoire, proposé dans le cadre du projet saumon 2000, était de comparer la smoltification de 3 souches de saumon atlantique (*Salmo salar* L.). Une souche de la Loire, une bretonne et une irlandaise. Nous n'avons malheureusement eu qu'une seule de ces souches, la souche irlandaise. Nous avons alors été contraint de recadrer l'objectif de ce mémoire : caractériser l'effet d'un stresser chronique, le confinement, sur différents indicateurs de smoltification chez le saumon atlantique *S. salar*, souche irlandaise.

L'étude de l'effet du confinement sur le saumon atlantique concerne de près l'aquaculture. De plus il est intéressant de bien connaître le phénomène de la smoltification car, une fois smolt, les saumons sont transférés en mer où ils croissent plus vite. D'où l'intérêt de la compréhension du confinement sur la smoltification.

Il existe trois phases de réponse à un stress :

1. Réponses primaires (système endocrinien) : Suite à la perception d'un agent stressant par le système nerveux central, des hormones spécifiques sont synthétisées et libérées dans le sang. La réponse au stresser se caractérise donc par le changement des concentrations plasmatiques de ces hormones.
2. Réponses secondaires (physiologiques et cellulaires) : Différentes modifications des paramètres physiologiques apparaissent : hyperglycémie, hyperlacticémie, diminution des réserves de glycogène des tissus et inhibition de la synthèse des protéines, par exemple.
3. Réponses tertiaires : Au niveau global de l'individu, on observe une diminution du taux de croissance, du succès reproducteur et de la résistance aux maladies.

Les questions abordées sont : Le stress de confinement subi par des saumons atlantiques en période de smoltification entraîne-t-il une amplification ou une réduction du processus de smoltification ? Le confinement accélère-t-il ou retarde-t-il la smoltification ? Pour tenter de répondre à ces questions, différents indicateurs de smoltification ont été suivis :

- Endocrinien : dosage du taux plasmatique de cortisol,
- Physiologiques : dosage de l'activité Na^+/K^+ ATPase et suivi de la concentration en glycogène hépatique,
- Histologique : suivi de la densité glomérulaire,
- Morphologique : calcul du facteur de condition.

Après une synthèse bibliographique présentant le saumon atlantique (description générale, cycles de vie, smoltification et homing) nous développerons les matériels et méthodes utilisés dans l'étude. Suivront les résultats obtenus et leur discussion ; nous terminerons par des conclusions et des perspectives.

Chapitre 1 :
Synthèse bibliographique

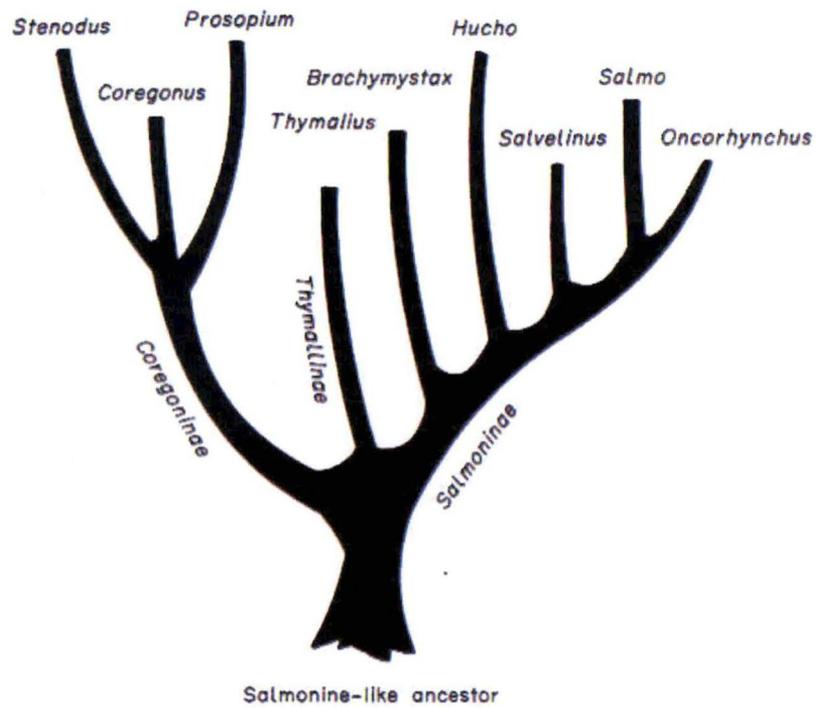


Figure 1. Relations phylogénétiques à l'intérieur de la famille des salmonidés (Mills, 1989)

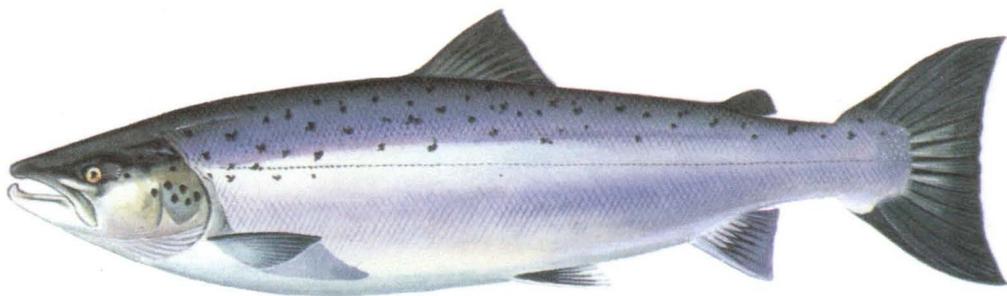


Figure 2. Saumon atlantique (*Salmo salar* Linnaeus 1758.) adulte (Ade, 1989)

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Généralités et répartition

Généralités

Le saumon atlantique (*Salmo salar* L.) fait partie de la classe des téléostéens, super ordre des Protocanthoptérygii, famille des Salmonidés. Cette famille comprend le genre *Salmo* propre aux saumons et truites atlantiques, le genre *Thymallus* (ombres), *Salvelinus* (ombles), *Coregonus* (corégones) et *Oncorhynchus* apparentés aux saumons et truites du pacifique (figure 1).

Diagnose de *Salmo salar* : épines dorsales : 3-4; rayons mous dorsaux: 9-15; épines anales: 3-4; rayons mous anaux: 7-11; vertèbres: 58-61; nageoire caudale: 19 rayons.

Les salmonidés constituent aujourd'hui une petite famille très homogène constituée d'environ vingt-cinq espèces se caractérisant toutes globalement par les traits suivants :

- Au niveau morphologique, elles possèdent une seconde nageoire dorsale, sans rayons osseux, appelée «adipeuse», une ligne latérale bien marquée et une fente branchiale qui se prolonge jusqu'à la gorge (figure 2).
- Au plan comportemental, ce sont des poissons actifs, exigeants sur la qualité de l'eau (température basse, excellente oxygénation...). Ils sont carnivores et prédateurs, se reproduisent et débutent leur cycle vital en eau douce et sont inféodés naturellement exclusivement à l'hémisphère nord (> 35° lat. N).

Le saumon atlantique juvénile est caractérisé par rapport aux autres salmonidés par un corps élancé et fusiforme, une tête plus petite et une mâchoire ne dépassant pas l'arrière de l'œil. La coloration du saumon est brun clair pour le dos et les flancs, et gris clair pour le dessous du corps. De nombreuses taches foncées et ovales s'alignent sur les flancs le long de la ligne latérale.

Le saumon atlantique (*Salmo salar*), comme en général tous les salmonidés, a une préférence pour les eaux froides (de 2 à 9°C) avec une vitesse de courant modérée (0.2 à 0.5 cm/s en moyenne), et bien oxygénées (> 6 mg/l). Le saumon est strictement carnivore et possède un régime varié. Durant sa migration de la rivière vers les estuaires, fjords et régions côtières, son régime alimentaire change et des preuves semblent affirmer que les post-smolts sélectionneraient davantage leurs proies dans le but d'optimiser leurs croissances (Andreassen *et al.*, 2001).

Répartition

Le saumon atlantique est présent dans les régions tempérées et arctiques de l'hémisphère Nord des deux côtés de l'océan Atlantique. En Europe, le saumon est présent du nord du Portugal au nord de la Norvège et de l'Islande. En Belgique, le saumon atlantique abondait autrefois dans le bassin mosan et principalement dans l'Ourthe, l'Amblève, la Vesdre et la Lesse (Philippart, 1985). Dès la moitié du 19^{ème} siècle, sa population régresse suite à la construction d'écluses, d'une pêche excessive ainsi que d'une pollution accrue par l'essor industriel. Le dernier saumon pêché en Meuse remonte à 1942 (Philippart, 1988).

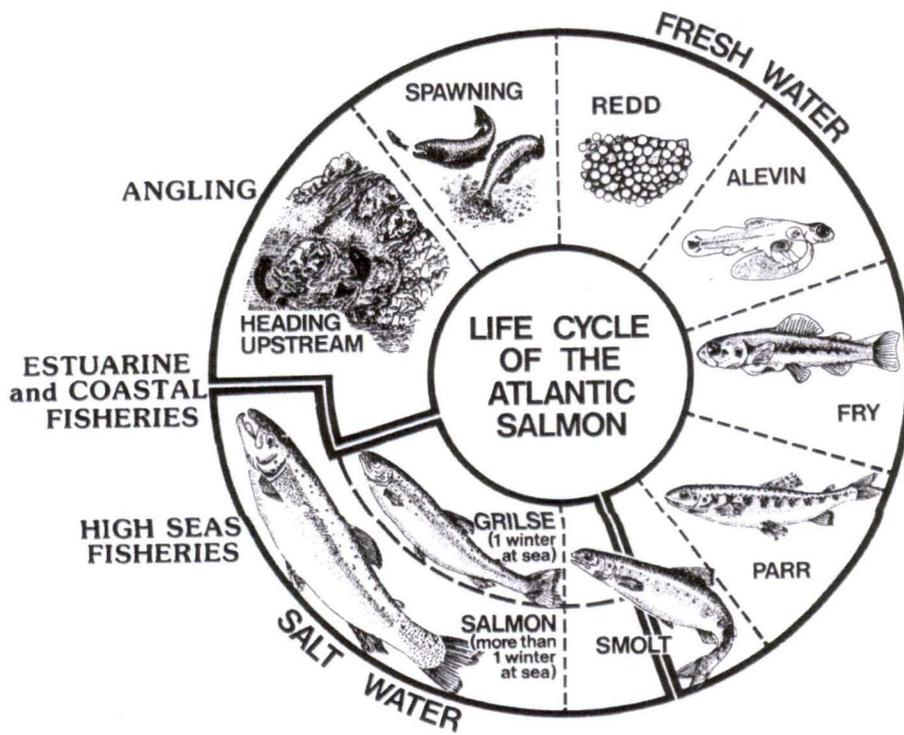


Figure 3 : Cycle de vie du saumon atlantique. (Mills, 1989)

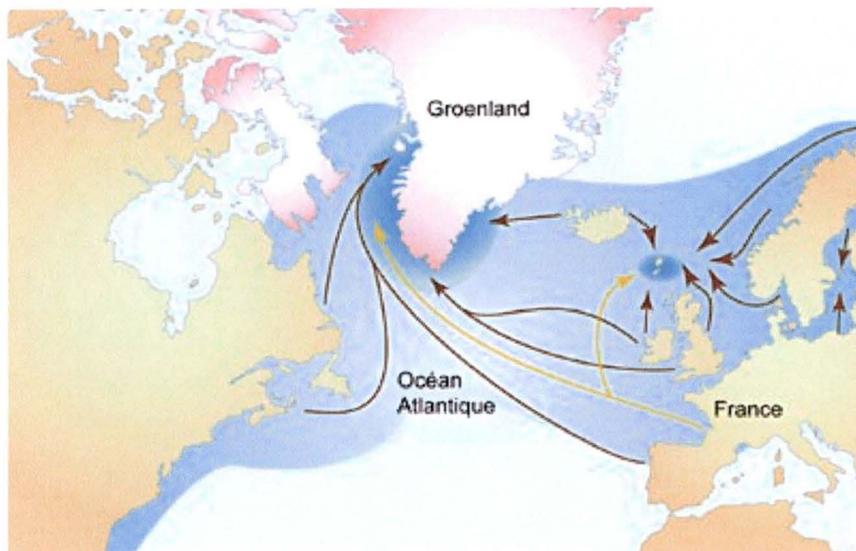


Figure 4. Aire de distribution et routes de migration du saumon atlantique (*Salmo salar*). (D'après Mills, 1989)

2. Cycle de vie de *Salmo salar*

2.1. Vie en eau douce

Le saumon atlantique est un poisson anadrome effectuant sa reproduction en eau douce. Le cycle du saumon se caractérise par deux phases : une phase de croissance en mer et une phase de reproduction et de croissance juvénile dans les cours d'eau froide, rapide et bien oxygénée (figure 3). En rivière, les oeufs fécondés à la fin de l'automne ont une taille moyenne de 5,7 mm. Ils sont enfouis dans des gravières dont la granulométrie est telle qu'elle permet le passage d'un flux d'eau suffisant pour assurer une bonne oxygénation (Mills, 1989). Le temps d'incubation varie de 70 à 160 jours et dépend de la température de l'eau et de la concentration en oxygène (Mills, 1989). Après éclosion, les alevins vivent sur leurs réserves propres (contenues dans la vésicule vitelline), dans les gravières. Ils sont alors dans un milieu protégé, sans courant, qui évite les pertes énergétiques dues à la nage. Il n'en sortent qu'en fin de résorption : c'est une des périodes les plus critiques de la vie de l'animal. La croissance est ensuite fonction de nombreux facteurs, et en particulier de la température, de la quantité de nourriture disponible, de facteurs physico-chimiques et du débit. Elle aboutit rapidement à une grande variabilité de taille parmi les tacons ou parrs, jeunes poissons d'eau douce.

Les tacons grandissent en rivières et mènent une vie strictement sédentaire. Ils établissent des territoires individuels dans des zones peu profondes et à écoulement rapides. Leur nourriture est composée d'invertébrés comme des larves de diptères, d'éphéméroptères ou de trichoptères.

Les plus gros tacons devenus smolts seront capables de migrer en mer dès le printemps suivant, alors que les autres passeront, pour la plupart d'entre eux, un an de plus en rivière (jusqu'au printemps suivant).

2.2. Dévalaison et vie marine

Au cours de leur croissance, les individus sont confrontés à des compétitions de plus en plus fortes pour la nourriture et l'espace et, selon Thorpe, l'atteinte du point d'équilibre entre l'avantage de vivre dans un environnement protégé et le manque de nourriture provoquerait la migration des poissons. D'après Davaine et Prouzet (1994), la fonction essentielle de la migration marine du saumon est de le faire accéder à des sources alimentaires abondantes et de qualité pour optimiser son potentiel de croissance. La période de dévalaison s'étale sur plusieurs semaines et se situe de mai à début juin. En début de période de migration, les smolts se déplacent de nuit mais plus tard dans la saison, ceux-ci choisissent de se déplacer durant le jour (Mills, 1989).

Après un bref temps d'adaptation en estuaire, les smolts gagnent en haute mer les zones d'engraissement. Ces zones océaniques où les saumons de provenances différentes se rassemblent en empruntant des itinéraires souvent mal connus, se situent au large du Groenland et des îles Féroé (Mills, 1989 ; Hoar, 1988). (figure 4)

La phase la plus délicate du cycle marin correspond aux premiers mois qui suivent le passage en mer. La survie des smolts, ainsi que la croissance future de l'adulte, sont largement déterminés par la quantité de nourriture disponible pendant les premiers mois en

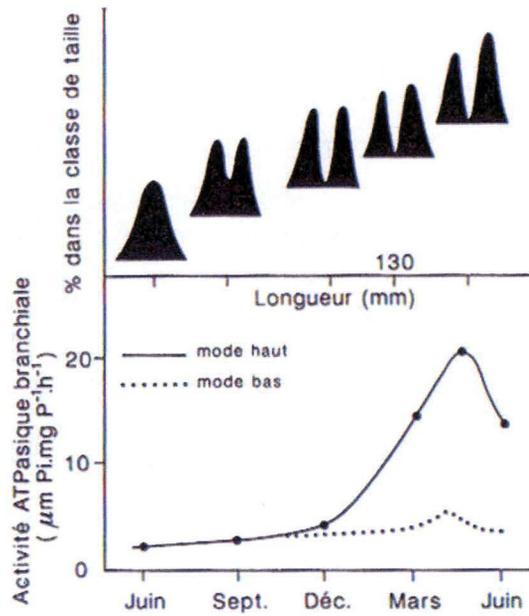


Figure 5. Relations smoltification-croissance. Seuls les individus du 'mode haut' quitteront la rivière et seront capables de s'adapter à l'eau salée au printemps suivant (D'après Bœuf *et al.*, 82).

mer. Ainsi, dès que leur taille le leur permet, à partir de 25 cm de longueur, ils deviennent piscivores. Selon Hoar, les poissons étant des animaux à sang froid, on peut s'attendre à ce que les conditions climatiques aient un effet important sur le taux de leur métabolisme. Par conséquent, la température de l'océan peut avoir de l'influence sur le contrôle de leurs enzymes, c'est-à-dire sur leur cadence de croissance, leur développement, leur vitesse de nage, leur maturation, etc.

Après 3-4 ans passés en mer, les saumons entament leur remontée vers leur rivière natale. C'est le phénomène de homing (cfr 4.).

3. La smoltification

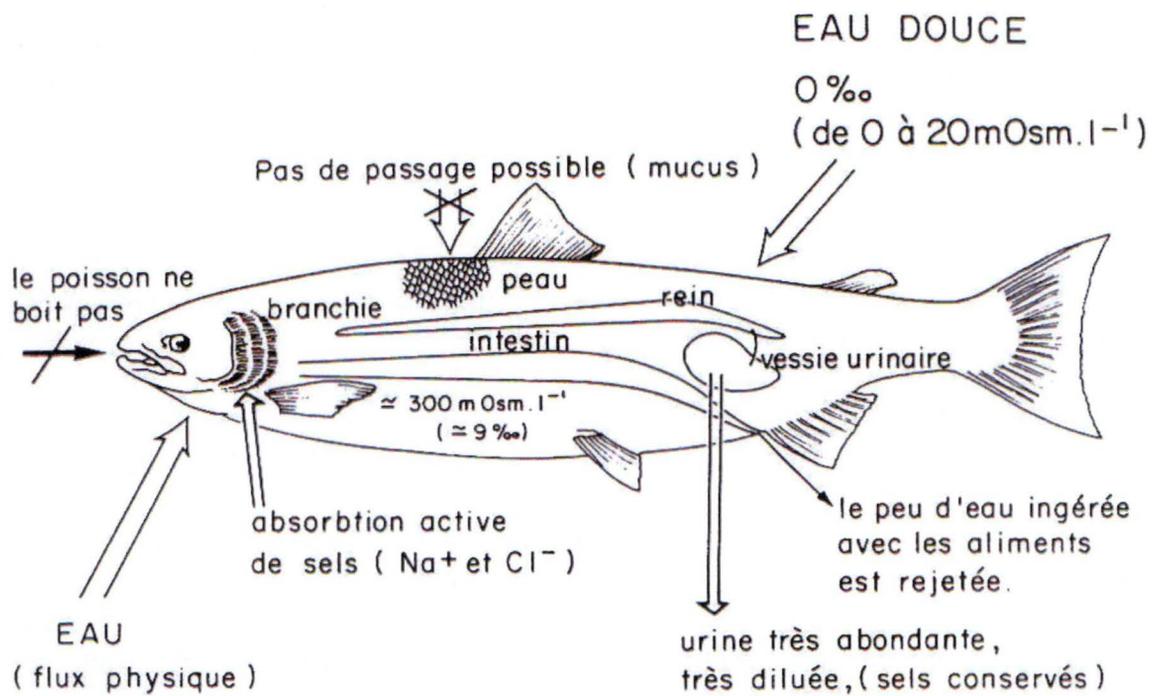
3.1. Introduction

La smoltification est définie comme un phénomène préprogrammé correspondant à un ensemble de profondes modifications aux plans cytologique, morphologique, physiologique, biochimique, hormonal et comportemental qui feront du tacon, petit poisson parfaitement adapté à l'eau douce, un smolt préadapté à l'eau salée et capable d'avoir une croissance très rapide en mer. Dans nos régions, elle se termine vers le mois d'avril (Gaignon, 1987). Ce phénomène correspond à une expression de fonctions, jusque là réprimées, rendue possible par une « maturité physiologique » synchronisée par des facteurs physiques de l'environnement, principalement la photopériode et la température (Bœuf, 1987).

La définition de l'état de smolt varie selon les auteurs. Selon Bœuf (1993), le smolt est un poisson sauvage qui est en migration active, juste avant d'atteindre l'estuaire de la rivière. Pour Higgins (1985), la définition de smolt ne peut être appliquée qu'à partir du moment où le poisson a perdu toutes les marques colorées du parr, que sa robe soit totalement argentée, et que ses nageoires s'obscurcissent. Le terme de « smolt » fut utilisé pour la première fois pour le saumon atlantique *S. salar* (Hoar, 1988). Les jeunes tacons sont incapables de s'adapter à l'eau salée et les mortalités sont très élevées si on pratique leur transfert direct en eau de mer. En outre, les survivants ne grandissent pas. Le smolt « vrai », au contraire, peut quasi instantanément s'adapter au milieu marin. Si l'on veut effectuer leur transfert en mer, pour l'aquaculture par exemple, on ne peut le faire qu'à un moment précis dans l'année (Bœuf, 1987).

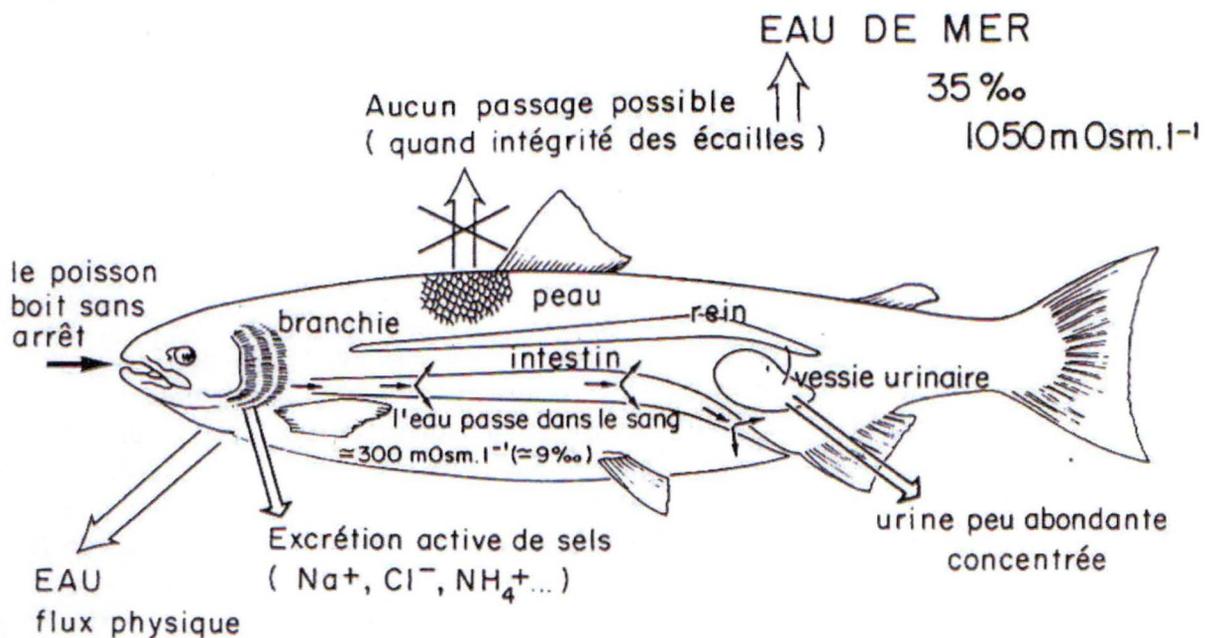
Chez le saumon atlantique, la bimodalité de croissance est bien connue depuis longtemps (Thorpe, 1977). Ce sont les individus les plus grands qui vont smoltifier le printemps suivant, les petits tacons appartenant au mode bas continueront leur croissance et effectueront la transformation parr-smolt l'année suivante (figure 5). Outre l'appartenance au mode bas ou au mode haut de la fratrie, le moment où le tacon va smoltifier et migrer dépend également de la région du globe. De manière générale, l'âge du smolt augmente au plus on se dirige vers le nord (Mills, 1989). En Norvège, il n'est pas rare de trouver des smolts âgés de 4 à 8 ans. En Europe centrale, l'âge du smolt fluctue de 1 à 4 ans (Bœuf, 1994). La taille correspondante se situe aux alentours de 12 cm (Wedemeyer *et al.*, 1980). En fin de smoltification, un état physiologique précis déclenche le comportement migratoire (Bœuf, 1994).

Il existe au sein du groupe *S. salar*, une souche qui a tendance à perdre le processus de smoltification. Ces saumons dits 'landlocked' sont contraints de rester toute leur vie en eau douce (Nilsen *et al.*, 2002). L'existence d'une telle souche s'explique par la fermeture des terres résultant de la dernière glaciation. Les landlocked sont adaptés à migrer de leur rivière natale non pas à la mer mais dans de grands lacs d'eau douce. La smoltification, qui pour ces



TRUITE : 0,344 ml. h⁻¹. 100g Pv

Figure 6. Les différents mécanismes impliqués pour assurer le maintien de l'homéostasie de la truite en eau douce. (Bœuf, 1987)



TRUITE : 0,035 ml. h⁻¹. 100g Pv

Figure 7. Les différents mécanismes impliqués pour assurer le maintien de l'homéostasie de la truite en eau de mer. (Bœuf, 1987)

saumons perd toute raison d'être, s'atténue au cours de l'évolution. Néanmoins, aujourd'hui, 9000 ans après l'isolement, des restes de smoltification permettent encore une adaptation à court terme de cette souche à l'eau de mer. Ces restes constituent une dépense énergétique inutile qui réduit leurs capacités physiologiques et leurs aptitudes générales.

3.1.1. Le problème de l'osmorégulation

Les poissons sont des animaux aquatiques au sens strict, c'est-à-dire qu'ils doivent tirer de l'eau l'oxygène indispensable à leurs besoins. La quantité d'oxygène dissoute dans l'eau est directement sous l'influence de facteurs physiques (température, salinité, pression...) et peut varier considérablement. Pour récupérer ce précieux oxygène, les poissons ont dû développer divers mécanismes adaptatifs. Parmi eux notons la branchie (Hugues, 1984). Cette membrane biologique (branchie) qui est le siège de flux d'eau et d'électrolytes (sels) est soumise aux lois de l'osmose. A travers une membrane biologique, un flux d'eau s'établit en fonction du gradient osmotique. Le milieu concentré exerce une force d'attraction pour les molécules d'eau : cette force est la pression osmotique (mesurée en milliosmoles/l).

Si une cellule est hypertonique par rapport au milieu, elle absorbe de l'eau, gonfle et éclate s'il n'y a pas régulation. A l'inverse, si elle est hypotonique, elle libère de l'eau et flétrit.

Plus de 90% de la pression osmotique du sang des poissons est fonction de la présence d'ions : sodium et chlorure. Les autres sels sont des protéines et acides aminés libres. (Bœuf, 1987).

Le saumon se trouve en eau douce dans un environnement hypoosmotique c'est-à-dire que son milieu intérieur (300 mosm/l) est beaucoup plus concentré en sels que le milieu extérieur dans lequel il baigne (de 0 à 20 mosm/l). Avec un tel gradient (de 280 à 300 mosm/l), une absence de régulation provoquerait la mort immédiate par surhydratation. (figure 6).

En eau de mer, le saumon se trouve dans un milieu hyperosmotique. La force développée par celui-ci est de l'ordre de 1050 mosm/l. Face à un milieu interne beaucoup moins concentré, le mouvement d'eau aura tendance à déshydrater le poisson. (figure 7)

L'intérêt de maintenir un milieu intérieur relativement constant en pression osmotique et concentration ionique est de permettre de conserver les conditions indispensables du fonctionnement cellulaire : les enzymes et systèmes enzymatiques divers pourront fonctionner de la même façon sans être affectés par des changements de milieu.

3.2. Modifications durant la smoltification

3.2.1. Introduction

Le développement neuronal et la réorganisation des circuits neuronaux dans le cerveau semblent constituer une étape importante durant la smoltification (Holmqvist, 1998). Ce sont les changements au niveau de la morphologie et de la chimie des circuits neuronaux et neuroendocrines qui dirigent les changements physiologiques et comportementaux qui s'observeront durant la transformation parr-smolt. Les hormones thyroïdiennes sont connues pour agir sur le développement cérébral des poissons. Les facteurs environnementaux (cf. point 3.3) ont pour rôle de synchroniser ces changements.

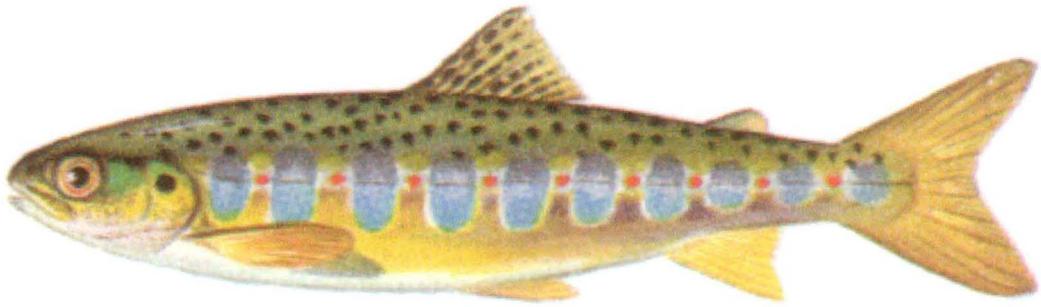


Figure 8. Parr de saumon atlantique (*Salmo salar*) (Ade, 1989)

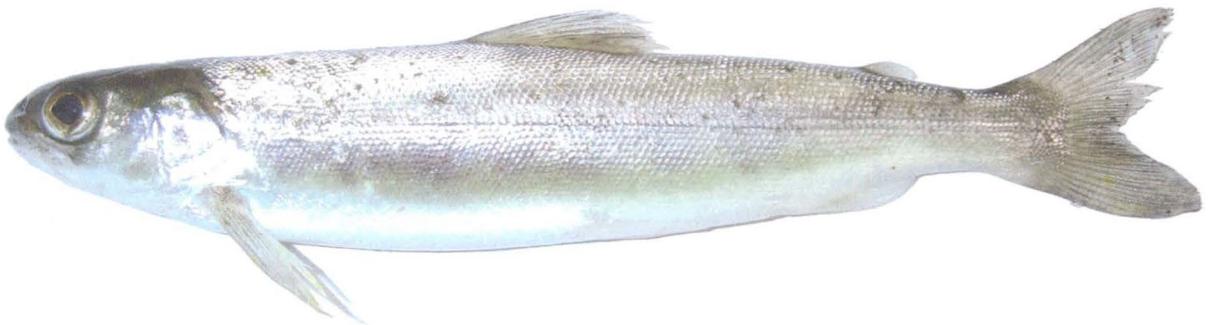


Figure 9. Smolt de saumon atlantique (*Salmo salar*) (photo B. Lambert)

3.2.2. Modifications morphologiques

Morphologiquement, le smolt se différencie du tacon par sa robe fortement argentée, son aspect affiné du corps, un pédoncule caudal, et l'apparition d'un liseré noir sur les nageoires, surtout la dorsale et la caudale. (Bœuf, 1994). (Figure 8 et 9).

Si le tacon est caractérisé par la présence d'une robe claire et une série de tâches foncées sur les flancs, lors de la smoltification, il apparaît un dépôt de purines (guanine et hypoxanthine) dans les couches superficielles du derme (Hoar, 1988) qui vont masquer les marques colorées du parr. Ce dépôt, sous dépendance de l'hormone thyroïdienne T4, confère à la robe une couleur argentée caractéristique des poissons pélagiques marins (Ura *et al.*, 1994 ; Bœuf, 1993). Cependant, comme l'a démontré Gorbman *et al* (1982), l'argenture n'est pas irréversible et il est dès lors osé d'établir un lien direct avec l'état physiologique. Un smolt est toujours argenté mais un saumon argenté n'est pas forcément un smolt.

La guanine est un sous-produit du métabolisme de l'azote stocké au lieu d'être dégradé. Le poisson fait l'économie énergétique de plusieurs oxydations enzymatiques qui transformeraient la guanine en un produit soluble comme l'acide allantoïque en la stockant dans ses tissus, durant cette phase particulièrement énergivore. De plus, elle servirait de réserve à la formation de GTP (guanosine triphosphate) utile lors de la synthèse protéique.

L'affinement du corps évalué par le facteur de condition (rapport du poids (gramme) sur la longueur (cm) au cube multiplié par 100) diminue au cours de la smoltification. Celui-ci passe de 1.25-1.40 pour un parr à 0.9-1.00 chez le smolt. La diminution de ce facteur signifie que le poisson s'allonge plus qu'il ne prend du poids. Bien que cet indice semble fiable, il doit être combiné avec d'autres critères physiologiques pour une meilleure évaluation de l'état de smoltification du saumon.

Cet affinement correspond à une forte utilisation des réserves lipidiques et protidiques. Sheridan *et al* observa (1983) une diminution importante de la concentration en cholestérol dans les muscles et le foie ainsi qu'une utilisation intensive de triacylglycérol durant la smoltification. La diminution de lipide durant la smoltification résulte de l'augmentation du taux lipolytique ainsi que de la diminution de la synthèse lipidique (Bœuf, 1993). Le smolt est caractérisé par une grande proportion d'acides gras longs polyinsaturés typiques des poissons marins.

3.2.3. Modifications comportementales

Le comportement va être également affecté lors de la smoltification. En eau douce, les saumons vivent et se nourrissent sur le fond. Ils ont également un comportement territorial très marqué. En fin de smoltification, le comportement agressif diminue et une tendance grégaire apparaît (Mills, 1989). Une réduction importante dans la capacité de nage a également été observée (Dickhoff, 1979).

Son appétit est stimulé et il s'agite constamment. Il devient sémi-pélagique, c'est-à-dire qu'il préfère vivre dans les eaux de profondeurs moyennes grâce, notamment, au gonflement de sa vessie natatoire. La sensibilité olfactive s'accroît. C'est à ce moment que va se faire l'imprégnation olfactive de la rivière natale (imprinting). Les odeurs mémorisées lui permettront de retrouver sa rivière d'origine et de s'y reproduire. C'est le phénomène de homing (Dittman et Quinn, 1996).

3.2.4. Modifications physiologiques

Les modifications physiologiques durant la smoltification sont nombreuses et il serait trop long de toutes les citer. Signalons néanmoins que durant la smoltification, les lipides corporels décroissent quantitativement et que des modifications qualitatives sont également observées (Hoar, 1988). L'activité $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasique augmente, les réserves de glycogène hépatique diminuent et la glycémie augmente (Bœuf, 1994). L'ultrastructure hépatique va également subir des modifications durant la smoltification. L'abondance mitochondriale va diminuer alors que la taille de celles-ci augmentera. Les hépatocytes de smolts apparaissent plus actifs que ceux des parrs (Robertson et Bradley, 1991). Notons également d'importants changements dans les concentrations plasmatiques en protéines, lactate et glucose (Virtanen, 1987).

D'une manière générale, le métabolisme, évalué à partir de la consommation d'oxygène, est activé. Le smolt a des besoins plus élevés que le tacon.

Mais les principales adaptations visent la tolérance à un environnement hyperosmotique. Ainsi, de nombreuses modifications biochimiques et morphologiques affectent les organes osmorégulateurs (intestins, reins, branchies). Notons, l'augmentation de l'absorption d'eau par les intestins, l'augmentation de l'excrétion urinaire ainsi que des modifications de nombre, de taille, de structure, de répartition et d'activité métabolique des cellules à chlorures (ionocytes), cellules responsables de l'osmorégulation au niveau des branchies (Pisam *et al*, 1988).

A noter également que de nombreuses fonctions physiologiques comme la respiration, la circulation, l'excrétion, l'osmorégulation et la croissance sont impliquées ou affectées durant la transformation parr-smolt (Bœuf, 1993).

3.2.4.1. Modifications neuroendocriniennes

Tous les changements associés à la smoltification sont sous dépendance du système nerveux et/ou du système endocrinien. Plusieurs glandes endocrines sont activées durant cette période incluant l'hypophyse, la thyroïde et les glandes interrénales. L'axe hypophyse-thyroïde semble être le système endocrine le plus directement impliqué dans le contrôle de la smoltification (Barron, 1986). Une montée subite d'hormones thyroïdiennes dans le plasma se produit au cours de la smoltification. Ceci influence divers tissus et d'autres systèmes endocrines. L'axe hypophyse-interrénale est quant à lui, impliqué dans le développement de la capacité régulatrice hypoosmotique.

La smoltification peut donc être associée à des changements dans les niveaux plasmatiques de constellation d'hormones, incluant l'insuline, l'hormone de croissance (GH), le facteur de croissance insulin-like (IGF), les hormones thyroïdiennes, le cortisol, et bien d'autres (figure 10). Sur la figure 11, on peut suivre l'influence de ces diverses hormones sur la régulation du métabolisme hydrominéral chez les Téléostéens.

3.2.4.1.1. Les hormones pituitaires

Ce système de contrôle central joue un rôle primordial dans la régulation des fonctions physiologiques qui interviennent dans la smoltification. A l'observation cytologique, il est

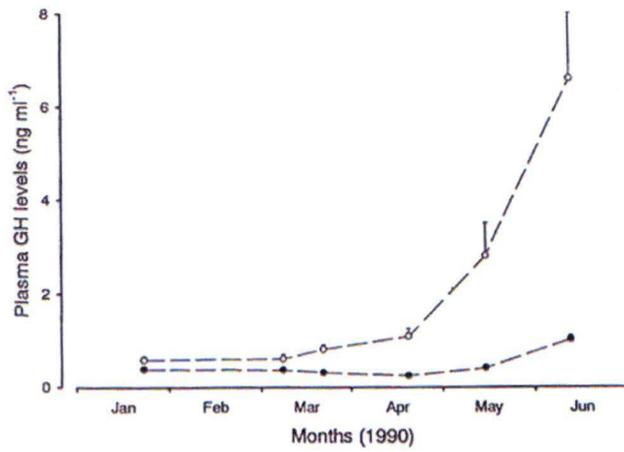


Figure 12. Niveaux de GH plasmatique en fonction de la photopériode. ○ : photopériode naturelle stimulée ● : lumière continue (Björnsson, 1995)

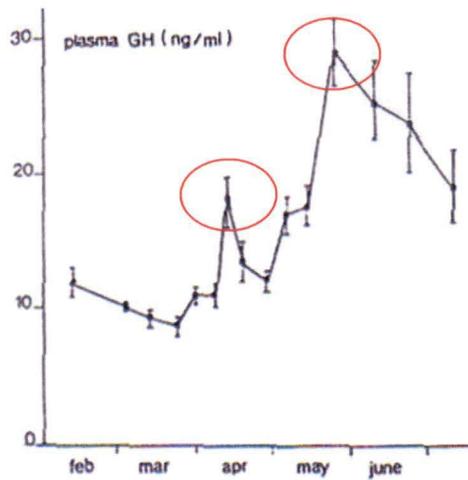


Figure 13. Changement dans les niveaux plasmatiques de GH au cours de la smoltification (Prunet *et al.*, 1989)

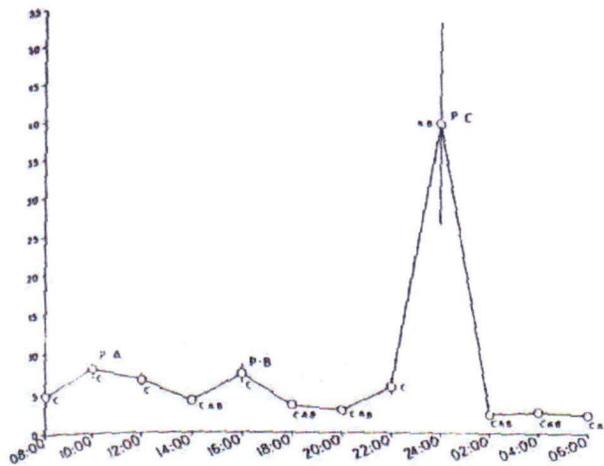


Figure 14. Variation journalière de la concentration plasmatique en GH. (Bates, 1989)

clair que l'hypophyse est fortement stimulée à ce moment et l'on sait que la smoltification est impossible chez un animal hypophysectomisé (Nishioka *et al.*, 1987 ; Bœuf, 1994).

L'hormone de croissance (GH)

En plus de son rôle essentiel dans la croissance chez tous les vertébrés, l'hormone de croissance est très active dans le contrôle de l'osmorégulation (Smith, 1956). Smith fut le premier à démontrer qu'une truite (*Salmo trutta*) traitée deux semaines avec de la GH supportait mieux le transfert en eau de mer que la truite contrôlée non traitée. Bœuf (1994) montre une adaptation précoce de six mois à l'eau de mer suite à un traitement à la GH. Il explique cette observation par une action stimulatrice de cette hormone sur l'activité ATPasique des microsomes de la branchie.

Les changements dans les niveaux plasmatiques de GH sont intimement liés aux changements de photopériode (figure 12). Ainsi, une augmentation naturelle de la photopériode entraîne une augmentation des niveaux de GH (Björnsson, 1998).

Cette augmentation de la sécrétion de GH durant la smoltification fut suggérée pour la première fois en 1982 par Nishioka *et al.*, sur base de résultats histologiques d'hypophyse. Son taux circulant augmente au cours de la smoltification préalablement à l'entrée du smolt en mer, passe par un maximum, et se maintient stable jusqu'au transfert en eau salée (Prunet *et al.*, 1989). Il est multiplié par huit durant la migration. Chez le saumon atlantique, l'augmentation du niveau plasmatique de GH coïncide avec l'augmentation de T3 (Prunet *et al.*, 1989). Cette concordance, explique Bœuf *et al.* (1989), est due à une possible influence de la GH sur la conversion T4-T3.

Plusieurs équipes ont mis en évidence l'émergence de deux pics de concentration de GH au cours de l'année. Le premier, à la mi-avril et le second, à la mi-mai. Dans les deux cas, ces pics coïncident avec un pic de T3 plasmatique et précèdent de une à deux semaines un pic de T4 (Prunet *et al.*, 1989) (figure 13). De plus, le second pic coïncide avec l'activité maximale de la Na⁺-K⁺ATPase branchiale. Signalons, d'autre part, qu'il existe une fluctuation journalière du taux plasmatique de GH (Bates, 1988) (figure 14).

Des études récentes, axées sur des post-smolt transférés en mer, ont montré que la concentration plasmatique en hormones de croissance était influencée par la température de l'eau de mer et par le temps d'exposition (Handeland, 2003).

La Thyroid stimulating hormone (TSH)

La TSH est une hormone qui active la glande thyroïde en contrôlant la synthèse des hormones thyroïdiennes. Une dégranulation des cellules delta suggère une augmentation de la production de TSH durant la smoltification (Fontaine, 1975). D'après Barron (1986), aucune preuve ne démontre l'augmentation de la sécrétion de TSH durant la smoltification.

En 1994, Bœuf fait état de jeunes tacons traités à la TSH montrant une préférence accrue pour l'eau salée. Et plus les modifications qui accompagnent la smoltification se produisent et plus l'animal est sensible et réceptif à la TSH.

Contrairement aux mammifères, la TSH favorise l'augmentation de la libération de T4 de la thyroïde de salmonidé sans augmenter la sécrétion de triiodothyronine (T3) (Specker et Schreck, 1984).

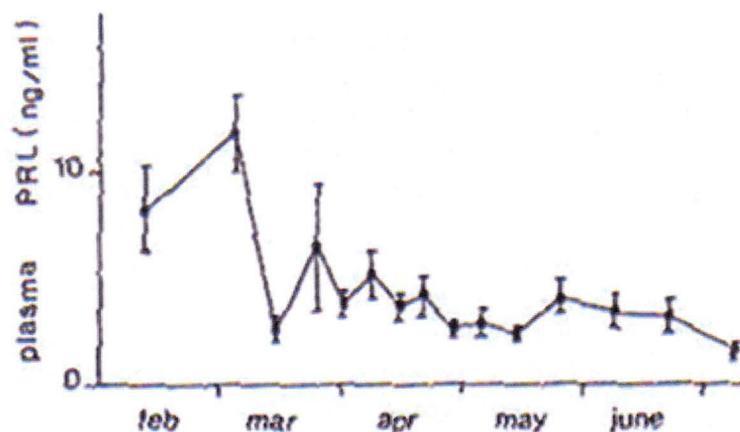


Figure 15. Evolution de la concentration plasmatique de prolactine (PRL) lors de la smoltification du saumon atlantique (Prunet *et al.*, 1989)

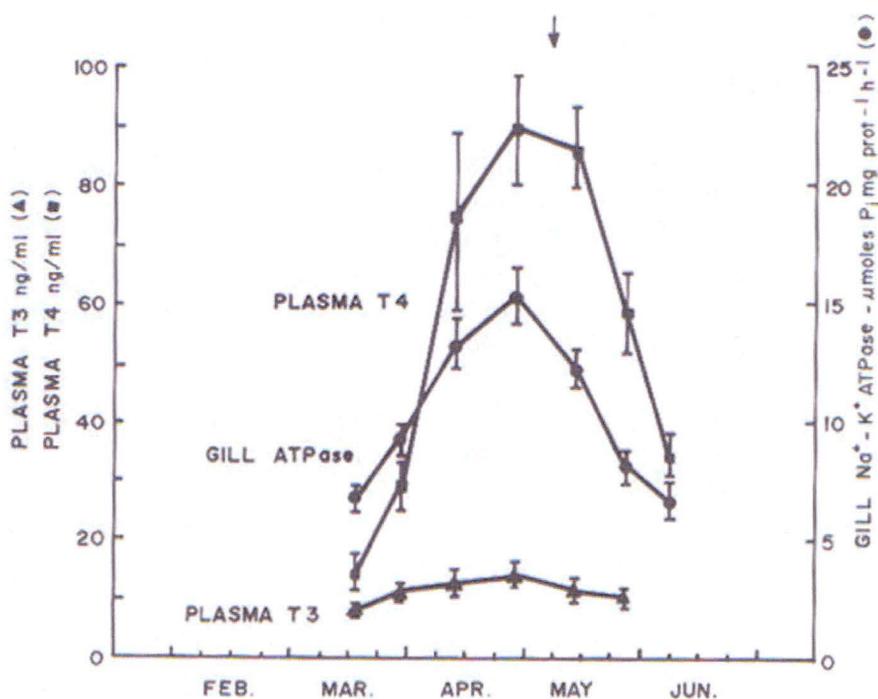


Figure 16. Relation entre l'activité Na⁺/K⁺ATPasique et les concentrations plasmatiques de T4 et T3 chez le saumon atlantique (*Salmo salar*) (Folmar et Dickhoff, 1981)

L' Adrenocorticotrophin hormone (ACTH)

En plus de son rôle activateur sur la sécrétion de cortisol, l'ACTH pourrait stimuler en partie l'activité ATPasique branchiale (Langdon *et al.*, 1984). Les cellules productrices d'ACTH montrent seulement de faibles modifications cytologiques indiquant une élévation de l'activité chez le smolt (Nishioka *et al.*, 1982). Young montra en 1986 que la production de cortisol par les interrénales se faisait en réponse à l'adrenocorticotrophin.

La prolactine (PRL)

La prolactine est bien connue chez les poissons comme ayant un rôle fondamental dans l'osmorégulation en eau douce. Les cellules productrices de prolactine apparaissent histologiquement comme étant beaucoup plus actives chez le smolt que chez le parr (Nishioka *et al.*, 1982). Agustsson et son équipe (2003) suggère que la PRL est très importante en eau douce car elle contrecarrerait les effets hypoosmorégulateurs de la GH et du cortisol, permettant au poisson de maintenir un équilibre osmotique durant le processus de smoltification. Chez le saumon atlantique ainsi que chez le saumon coho, la valeur maximale d'activité ATPasique branchiale s'observe quand le niveau de PRL est le plus bas (cfr figure 10). Le cortisol semblerait être un important régulateur des cellules à prolactine.

Le taux plasmatique de PRL diminue à partir du mois de mars et reste bas jusqu'en juin-juillet (Prunet *et al.*, 1989). (figure 15). Au contact de l'eau salée, le taux plasmatique chute fortement. Cette chute permet l'augmentation de l'activité ATPasique. Au contraire, leur transfert en eau douce provoque l'augmentation plasmatique de PRL. La prolactine agit également pour réduire la perméabilité branchiale à l'eau (Hoar, 1988).

3.2.4.1.2. Les hormones thyroïdiennes

L'implication de la thyroïde dans la smoltification fut suggérée pour la première fois par Hoar en 1939. Celui-ci a remarqué histologiquement une augmentation de l'activité des tissus thyroïdiens de saumon atlantique au moment de la smoltification. Le système glandulaire thyroïdien fonctionne comme chez l'homme avec la formation de thyroglobuline qui donne naissance à deux hormones iodées grâce à l'action de la TSH : la triiodothyronine ou T3 et la thyroxine ou T4. La thyroïde libère essentiellement de la T4 dans le sang et celle-ci apparaît comme une pro-hormone inactive qui sera désiodée au niveau périphérique en T3, considérée comme la molécule active pour les récepteurs (Bœuf, 1994).

Beaucoup d'expériences ont été menées sur le rôle possible des hormones thyroïdiennes dans l'acquisition d'une tolérance à l'eau de mer. Il en est ressorti que les hormones thyroïdiennes ne permettaient pas une telle adaptation (Bœuf *et al.*, 1989 ; Folmar et Dickhoff, 1980).

Durant la smoltification, la taille des cellules thyroïdiennes augmente et plusieurs changements ultrastructuraux se produisent. Notons l'élaboration du système de golgi et du réticulum endoplasmique ainsi que l'augmentation du nombre de vésicules sécrétrices. Ceci confirme une augmentation de l'activité sécrétrice thyroïdienne durant la smoltification (Nishioka *et al.*, 1982).

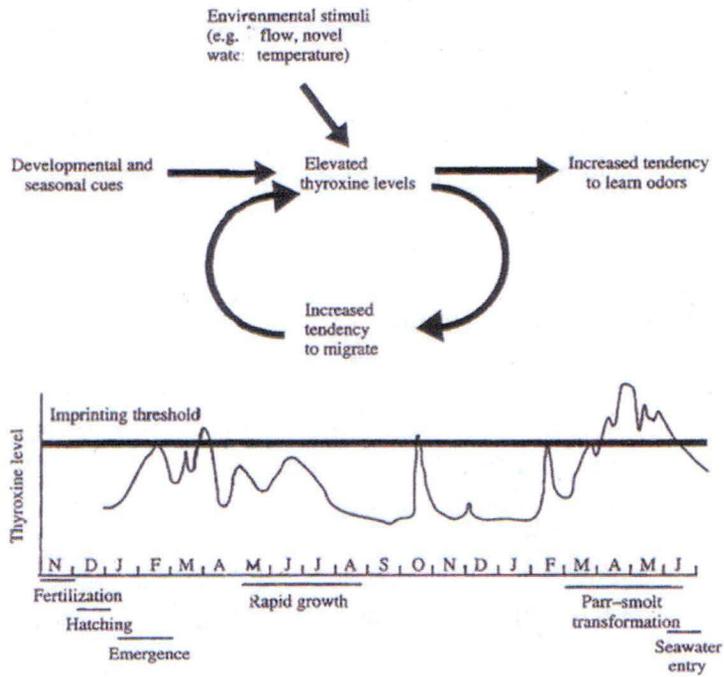


Figure 17. Relation entre le taux de thyroxine plasmatique et le phénomène de l'imprinting (Dittman et Quinn, 1996)

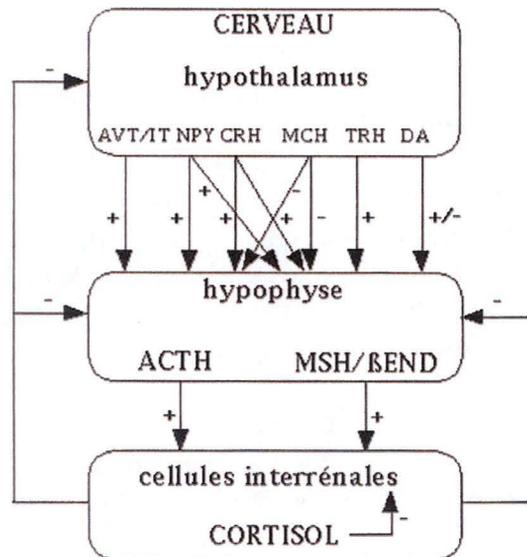


Figure 18. Actions stimulatrices (+) ou inhibitrices des messagers (neuro)endocriniens de l'axe cerveau-hypophyse-glande interrénale chez le poisson. (Wendelaar Bonga, 1997)

La thyroxine (T4)

Les niveaux plasmatiques de thyroxine sont fortement influencés par des stimuli environnementaux tels que la photopériode, le débit (Hoar, 1988) mais également le cycle lunaire (Grau *et al.*, 1982).

Dans les changements plasmatiques liés à la thyroïde, le pic de thyroxine se produisant en fin de smoltification, généralement 2 à 3 semaines avant le pic ATPasique, semble être le plus important (Prunet *et al.*, 1989) (cfr fig. 10). La T3 reste pour sa part relativement stable durant la période de migration. Bien que ce pic de thyroxine se produise durant une période de haute activité ATPasique branchiale (fig 16), Bœuf (1987) ne trouva pas de coïncidence avec le maximum d'adaptabilité à l'eau de mer.

Aujourd'hui, on peut affirmer que la variation de ces deux paramètres physiologiques ne signifie pas la même chose : l'activité ATPasique est un indicateur de la capacité à osmoréguler en mer alors que les hormones thyroïdiennes seraient plus impliquées dans le déclenchement de la migration (Bœuf, 1994). Ainsi, chez le saumon, les niveaux de T4 plasmatique passent d'une valeur de 17 ng/ml à 90 ng/ml durant la période migratoire. Il existe une relation entre la réduction de l'agressivité territoriale intraspécifique et le pic de T4 en fin de smoltification.

Outre son rôle dans la migration, la thyroxine semble avoir également une action sur l'activité générale, sur la croissance, l'argenteure, l'apparition de nouvelles formes d'hémoglobines, la mobilisation des lipides (Folmar et Dickhoff, 1980) et bien d'autres voies métaboliques. Cette hormone aurait aussi un effet sur l'imprégnation des caractéristiques olfactives dans le cadre du phénomène de homing (Dittman et Quinn, 1996). (fig 17).

Une étude très récente a montré que l'administration de thyroxine au début de la transformation parr-smolt, influençait les taux plasmatiques de mélatonine, hormone produite par l'organe pinéal contrôlant les mécanismes d'adaptation rythmique aux cycles saisonniers (Kulczykowska, 2003).

3.2.4.1.3. Les hormones interrénaliennes

A l'observation histologique, comme pour la thyroïde, de profondes modifications apparaissent dans cette glande durant la smoltification (Fontaine *et al.*, 1957 ; Specker, 1982). Chez beaucoup de téléostéens, un traitement *in vivo* au cortisol stimule les pompes ioniques des branchies, intestins, reins et vessie. La glande interrénale est l'équivalent des capsules surrénales des mammifères et produit surtout du cortisol sous l'action de l'ACTH. Le contrôle endocrinien de la production de cortisol est fort complexe. Comme le montre la figure 18, de nombreux facteurs hormonaux interviennent. Young montra en 1988, qu'un traitement à la GH pouvait sensibiliser davantage l'interrénale à l'ACTH et donc à produire du cortisol.

Le cortisol

Depuis longtemps, le cortisol est connu pour être l'hormone d'adaptation à l'eau de mer (Barron, 1986). Une forte augmentation de cortisol circulant se produit en fin de smoltification chez les salmonidés, après le pic de thyroxine, concomitant du maximum de l'activité ATPasique branchial (Specker, 1982)(fig 19). Un traitement au cortisol agit comme

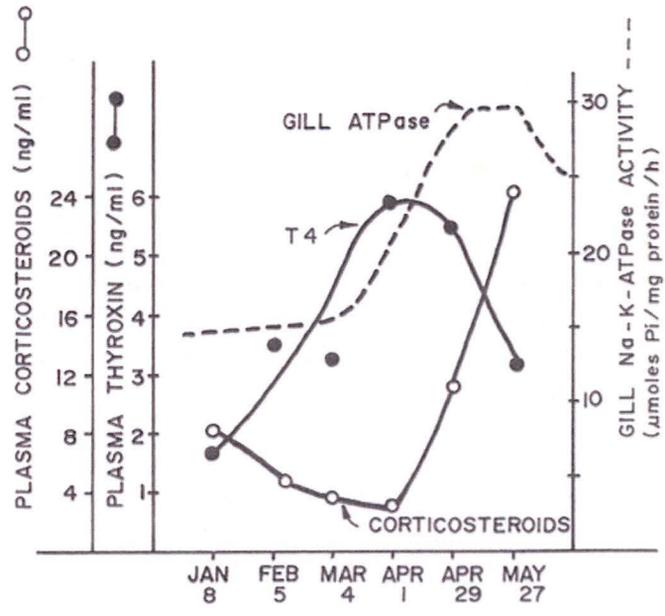


Figure 19. Concentrations plasmatiques de thyroxine et corticostéroïdes et l'activité Na^+/K^+ ATPase durant la smoltification (Specker, 1982)

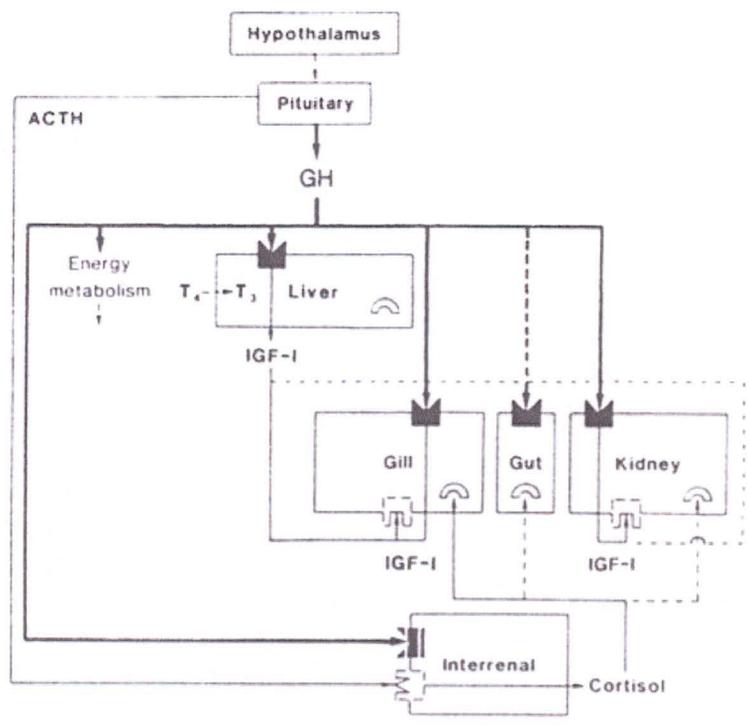


Figure 20. Représentation résumé de l'action de la GH durant l'acclimation d'un salmonidé à l'eau de mer (Sakamoto, 1993)

stimulateur de l'activité ATPasique branchiale et de l'activité des cellules à chlorure (Madsen, 1990). D'autre part, il a été montré que la réponse à un traitement au cortisol variait beaucoup selon les souches (Singer, 2003).

Récemment, on a montré qu'il existait une forte synergie entre le cortisol et la GH. En effet, ces deux hormones agissent notamment pour augmenter l'abondance du cotransporteur branchial $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ durant la smoltification (Pelis et McCormick, 2001). Une représentation résumée de l'action de la GH et du cortisol est présentée figure 20. La GH n'est pas le seul compagnon synergétique du cortisol. En effet, cette hormone agit également en synergie avec l'ACTH, la TSH, la T3 et la GH dans la réquisition énergétique dont a besoin le smolt vrai (Bœuf, 1994).

3.2.4.1.4. D'autres systèmes endocrines

L'adrénaline et la noradrénaline, catécholamines synthétisées par le tissu chromaffine, augmentent en fin de smoltification et stimulent l'interrénale.

L'uropyse, élaborant des urotensines des smolts, présente des signes histologiques nets d'hyperactivité (Bœuf, 1994).

L'insuline synthétisée par le pancréas endocrine est une hormone anabolique essentielle chez les salmonidés. Au début de la smoltification, elle joue un rôle dans la modification de l'activité métabolique (Plisetskaya *et al.*, 1988). Elle atteint un maximum fin février et puis retourne à son niveau le plus bas plusieurs semaines avant que les poissons n'aient atteint l'apparence de smolt.

3.2.4.2. Les cellules à mucus et protéines

L'épiderme des poissons contient beaucoup de cellules à mucus. Ce mucus, interface entre les poissons et leur environnement aquatique, est composé de diverses sécrétions biochimiques. Celles-ci sont impliquées dans la respiration, la résistance aux maladies et l'osmorégulation (Sheperd, 1994). La concentration en protéine soluble montre une augmentation tout au long de la smoltification (Fagan, 2003).

Au début de la smoltification, l'épiderme va perdre plus de 50% de ces cellules à mucus passant en moyenne de 660 cellules/mm² à 275 cellules/mm² d'épiderme en fin de smoltification (O'Byrne-Ring, 2003).

3.2.4.3. Modifications des organes osmorégulateurs

3.2.4.3.1. La branchie

La branchie est l'organe fondamental de la régulation du métabolisme hydrominéral. En mer, elle prend le relais du rein pour rejeter dans le milieu extérieur les ions monovalents (Bœuf, 1987).

Lors de la smoltification, cet organe évolue tant sur le plan morphologique que physiologique. Chez les téléostéens dont fait partie le saumon atlantique, il y a quatre paires d'arcs branchiaux. Chaque arc comporte un squelette cartilagineux interne et des septa externes logeant des fibres nerveuses et des vaisseaux sanguins. Le squelette cartilagineux soutient ainsi deux lamelles primaires ou filaments primaires secondaires disposés en V qui

elles-mêmes donnent naissance de façon perpendiculaire à des rangées de lamelles secondaires ou filaments secondaires.

C'est au niveau de l'épithélium branchial et de la membrane operculaire que se trouvent majoritairement les mécanismes d'osmorégulation des poissons (Devos, 1998), et plus particulièrement au niveau des cellules à chlorure ou ionocytes. De nombreux travaux ont montré que ces cellules effectuaient un travail actif d'excrétion ou d'absorption d'électrolytes, contre le gradient électrochimique, grâce à la présence de molécules « transporteuses » : les ATPase. Au cours de la smoltification, le nombre ainsi que l'activité intrinsèque de ces cellules augmentent fortement (Threadgold et Houston, 1961).

Au point de vue enzymatique, la branchie des téléostéens présente d'importantes modifications selon que le poisson est en eau douce ou en eau de mer. Le système enzymatique le plus intéressant est la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase. C'est en 1970 que Zaugg et McLain mirent en évidence pour la première fois l'augmentation d'activité de ce système au cours de la smoltification. Chez le saumon atlantique, l'activation se produit en fin d'hiver et début de printemps chez des animaux âgés de douze à quinze mois (Bœuf, 1987). Un pic est à noter durant la migration.

Absorption transépithéliale de chlorure

Traditionnellement, le mécanisme d'absorption branchiale des ions Cl^- est lié à un échangeur $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (et/ou OH^-) (Krogh, 1938). Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer le processus moléculaire de l'absorption. La première hypothèse est basée sur la présence d'un transporteur actif dans la membrane apicale des cellules à chlorures (de Renzis et Bornancin, 1984). En effet la conjonction d'une concentration plasmatique en ions Cl^- de loin supérieure à la concentration en Cl^- présent en eau douce et une différence négative du potentiel transépithélial nécessiteraient l'apport d'énergie pour transloquer les ions Cl^- vers l'espace intracellulaire branchial. De plus, l'utilisation de thiocyanate, inhibiteur d'ATPases anioniques, inhibe l'échange $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ chez *Carassius auratus* L. (de Reniz, 1975). Une deuxième hypothèse est la présence dans la membrane apicale des ionocytes d'un échangeur électroneutre $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (Perry et Randall, 1981). Le concept d'un échangeur $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ est toutefois basé sur des études indirectes. Par exemple, l'addition à l'eau d'un inhibiteur d'échangeur anionique comme l'acide 4-acetamino-4'-isothiocyanatostilbene-2-2'-disulphonic (SITS) réduit le taux d'absorption de Cl^- chez la truite arc-en-ciel tout en augmentant la rétention d' HCO_3^- ce qui entraîne un alcalose (Perry et Randall, 1981). On a pu également démontrer la relation spécifique entre la surface fractionnaire c'est-à-dire l'estimation de la surface apicale des cellules à chlorure (μm^2) observée en microscopie électronique à balayage par rapport à la surface de l'épithélium primaire (mm^2) et le taux d'absorption des ions Cl^- chez différentes espèces de poissons d'eau douce (Perry *et al.*, 1992). Des expériences visant à induire artificiellement l'augmentation de la surface des cellules à chlorure montrent une relation étroite entre cette augmentation de l'influx tant de Cl^- que de Na^+ . Ce type d'expérience indique également que les ionocytes sont un site important dans l'absorption de Cl^- et de Na^+ chez les poissons vivant en eau douce (Laurent et Perry, 1990). Enfin Sullivan et son équipe (1996), utilisant une méthode d'hybridation in situ, ont pu démontrer la présence d'ARNm codant pour les échangeurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ dans les branchies de la truite arc-en-ciel. Le signal d'hybridation se localiserait principalement au niveau des espaces interlamellaires, zones où les cellules à chlorure sont plus abondantes. Cependant, on ne sait toujours pas comment cet échangeur pourrait transloquer les ions Cl^- contre leur gradient électrochimique. Le passage des Cl^- de la cellule à chlorure vers le

compartiment sanguin à travers la membrane basolatérale ne semble pas non plus élucidé. On suspecte la présence de canaux à Cl^- comme dans la membrane basolatérale des cellules de la vessie de certains téléostéens (Chang et Loretz, 1991).

Absorption transépithéliale de sodium

Le modèle classique pour l'absorption du sodium en provenance du milieu dulçaquicole est basé depuis de nombreuses années sur la présence d'un échangeur Na^+/H^+ (NH_4^+). Ainsi l'addition à l'eau d'amiloride, inhibiteur spécifique du transport sodique, réduit fortement la prise de sodium par l'épithélium branchial de la truite arc-en-ciel (Wright et Wood, 1985 ; Perry et Randall, 1981). Il apparaît toutefois que dans le cas des poissons en eau douce une translocation active soit nécessaire. Les concentrations plasmatiques en sodium sont de loin supérieures aux concentrations mesurées en eau douce (Lin et Randall, 1995). Suite à ces résultats, Avella et Bornancin (1989) ont proposé que l'absorption de sodium soit réalisée par des canaux sodiques couplés indirectement à un transport électrogénique sortant de protons H^+ comme on peut le trouver au niveau de la peau de la grenouille. Cette proton ATPase transloque des ions hydrogène d'un côté à l'autre de la membrane apicale, ce qui génère une différence de potentiel permettant un flux entrant de sodium via des canaux sodiques présents dans cette membrane (Lin et Randall, 1995). La localisation de ces H^+ ATPases est controversée, bien que certains auteurs aient pu démontrer sa présence dans la région apicale et la membrane apicale tant des cellules à chlorure que des cellules pavimenteuses (Perry, 1997). Il semble malgré tout que le principal site d'absorption du sodium soit constitué par les cellules pavimenteuses (Laurent *et al.*, 1994; Lin *et al.*, 1994). Des expériences réalisées sur le poisson-chat (*Ictalurus nebulosus*) montrent que, lors d'une hypercapnie (augmentation de la pression de CO_2), la surface fractionnaire des cellules à chlorure et les flux de Cl^- diminuent drastiquement mais que, par contre, l'absorption et les flux de Na^+ ne semblent pas touchés par la presque disparition des ionocytes de l'épithélium primaire (Goss *et al.*, 1992). De plus, des microanalyses aux rayons X faite sur *Salmo trutta* révèlent que des changements environnementaux de la concentration en Na^+ influencent la concentration intracellulaire de sodium des cellules pavimenteuses sans affecter les cellules à chlorure (Morgan *et al.*, 1994). Les flux de sodium sont également sous la dépendance de la Na^+/K^+ ATPase.

En eau de mer, le rôle de la Na^+/K^+ ATPase n'est plus à démontrer. Cette protéine est une pompe électrogénique qui assure l'efflux de trois ions Na^+ contre l'influx de deux ions K^+ par un mécanisme de phosphorylation moyennant l'hydrolyse d'un ATP. Le complexe enzymatique est constitué de deux sous-unités polypeptidiques a et b. La sous-unité a (poids moléculaire: 100-122 kDa) contient les domaines catalytiques et les fonctions transportrices. La sous-unité b fortement glycosylée (poids moléculaire: \pm 55 kDa) stabilise la sous-unité a et est probablement responsable de la maturation et de la translocation de l'enzyme vers la membrane cellulaire (McCormick, 1995). La Na^+/K^+ ATPase, localisée dans la membrane basolatérale des cellules à chlorure, maintient une faible concentration en Na^+ et une forte charge négative dans la cellule. Le gradient de sodium est ainsi utilisé pour l'entrée de Cl^- du compartiment sanguin vers la cellule grâce au co-transport $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$; par la suite, les ions Cl^- quittent la cellule à chlorure par des canaux à chlorure apicaux. Le sodium est quant à lui transporté vers le milieu extérieur via l'espace paracellulaire en suivant le gradient électrique (Silva *et al.*, 1977). Dans ce modèle, la Na^+/K^+ ATPase génère des gradients électrochimiques qui permettent l'excrétion des ions Na^+ et Cl^- .

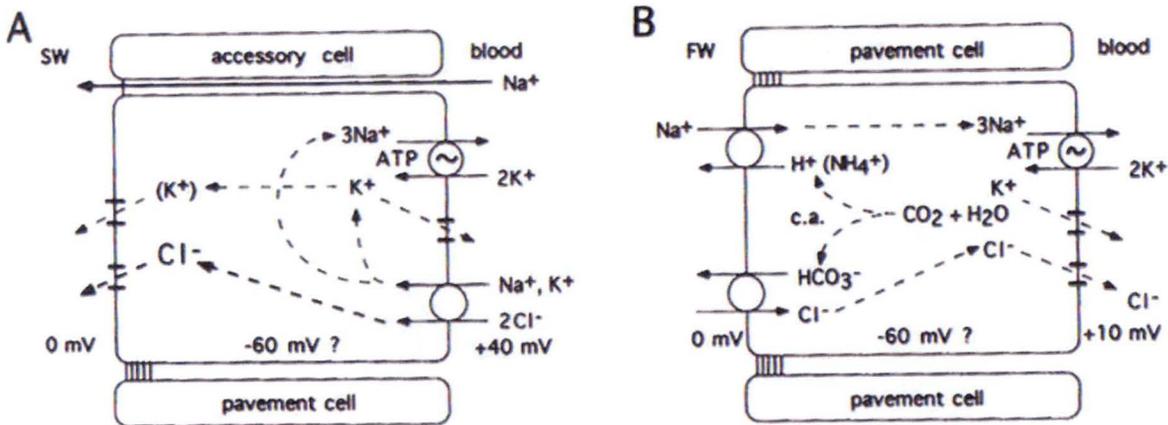


Fig 21. Représentation schématique des transports ioniques au niveau de la cellule à chlorure en eau de mer (A) et en eau douce (B) (Karnaky, 1998).

En eau douce, le rôle de la Na^+/K^+ ATPase semble plus difficile à discerner, ce rôle doit cependant être à l'inverse de ce qui se passe en eau de mer en relation avec l'absorption d'ions monovalents. Si on tient compte de la présence probable des échangeurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ et Na^+/H^+ , ainsi que de la présence de canaux à sodium couplés indirectement avec des H^+ ATPases apicales au niveau de la cellule à chlorure, la Na^+/K^+ ATPase transporterait l'excès intracellulaire de sodium vers le compartiment sanguin fournissant un gradient électrochimique pour le transport apical du sodium et le transport basolatéral des chlorures. A contrario, cette hypothèse tient difficilement si on postule que ce sont les cellules pavimenteuses qui sont le principal site de l'absorption transépithéliale de Na^+ , ces cellules présentant une faible activité Na^+/K^+ ATPasique. On peut cependant signaler que, si le transport spécifique du sodium par chaque cellule pavimenteuse est faible, la capacité totale de transport du sodium par ces cellules est grande en tenant compte de leur abondance (Perry, 1997). On peut ajouter également que l'on n'observe aucune augmentation de l'activité de la Na^+/K^+ ATPase chez le saumon atlantique placé dans une eau pauvre en ions (McCormick, 1995) alors que Perry et Laurent (1989) ont montré que les flux de Na^+ et de Cl^- ainsi que la surface fractionnaire des ionocytes de la truite arc-en-ciel placée dans des conditions similaires étaient fortement augmentés. La relation entre la Na^+/K^+ ATPase et la régulation ionique en eau douce nécessitent donc des éclaircissements. Cette enzyme joue en tout cas un rôle crucial pour les poissons qui migrent d'un environnement hypoosmotique à un milieu hyperosmotique. Chez le saumon atlantique, l'activité de la Na^+/K^+ ATPase augmente de 2 à 5 fois pendant la smoltification par rapport à un tacon (Figure 22) et est en corrélation avec le niveau de smoltification (Wedemeyer, 1980). Cette haute activité est à mettre en relation avec l'augmentation de surface du système tubulaire et surtout avec la capacité du smolt à s'adapter au milieu salé (Pisam *et al.* 1988).

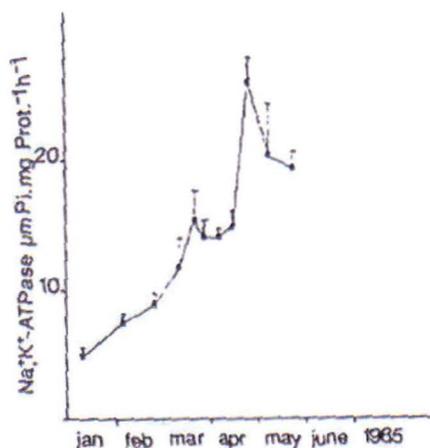


Fig 23 . Evolution de l'activité de la Na^+/K^+ ATPase lors de la smoltification du saumon atlantique (Prunet *et al.*, 1987).

3.2.4.3.2. Le rein

Peu d'études ont été réalisées sur les fonctions du rein durant la smoltification. Néanmoins, en eau douce, le poisson téléostéen émet une urine abondante (de 0.34 à 1 ml par heure pour 100 g de poids vif chez la truite arc-en-ciel) et diluée (5 à 12 millimoles de chlorures) alors qu'en eau de mer la quantité rejetée est faible (0.034 ml par heure pour 100g chez la truite) et relativement concentrée (200 millimoles de chlorures). Le poisson émet difficilement une urine beaucoup plus concentrée que celle du milieu intérieur et c'est pour cette raison que la branchie assure essentiellement la fonction d'excrétion active des ions en eau de mer.

De véritables modifications anatomiques et fonctionnelles se produisent dans le rein du smolt. Le nombre de glomérules rénaux diminue fortement, le taux de filtration glomérulaire baisse et l'excrétion rénale est plus faible (Bœuf, 1994). En eau douce, la filtration glomérulaire est élevée et la réabsorption tubulaire est basse. En eau de mer, par contre, la filtration est fortement réduite et la réabsorption est fortement accélérée (Hoar, 1988). Holmes et Stainer mirent en évidence en 1966, la réduction de presque 50% du flux urinaire de smolts *Salmo gairdneri* en comparaison avec les pré- et post-smolts. Les valeurs de pré- et post-smolts étant fort proches. Ils observèrent également que le taux de filtration glomérulaire (GFR) était 50% plus bas chez les smolts par rapport au pré- et post-smolts. Ces résultats suggèrent un changement dans le rein durant la phase de smoltification avant la migration.

Eddy et Talbot (1985) montrèrent que chez le saumon atlantique, ces mêmes mesures ne donnaient pas les mêmes résultats. En effet, ils observèrent une forte augmentation de la production d'urine de manière concomitante avec la mise en place de l'argenteure. Les valeurs pour les parrs et pré-smolts étant 50% plus basses que ceux des smolts.

3.2.4.3.3. La vessie

Chez beaucoup de téléostéens, la vessie urinaire est un organe essentiel dans l'osmorégulation (Hirano *et al.*, 1973). Dans une étude sur des saumons coho (*Oncorhynchus kisutch*) d'un an, adaptés à l'eau douce ou à l'eau salée, Loretz *et al.* (1982) ont rapporté une réduction de l'absorption en eau de mer. Cela suggère que l'absorption soit nécessaire chez

les salmonidés en eau douce pour contrer les pertes d'ions, mais en eau salée la réabsorption n'est pas nécessaire et peut même être nuisible. Chez les salmonidés, il semblerait que la vessie ne joue qu'un rôle minime dans le maintien de la balance ionique.

3.2.4.2.4. L'intestin

Chez les salmonidés, la partie du tube digestif active dans l'osmorégulation est l'intestin. En eau douce, le poisson ne boit pas d'eau et son intestin est quasi imperméable. En mer, l'absorption active d'eau, de la lumière intestinale vers le sang, se produit à partir de la pénétration de l'eau salée qui est ingérée en permanence par l'animal, afin de compenser la diffusion de l'eau vers l'extérieur, principalement à travers les branchies. L'intestin permet donc, dans un environnement hyperosmotique qu'est la mer, d'augmenter l'absorption des fluides (Collie et Bern, 1982). Durant la smoltification, les mouvements de l'eau au niveau intestinal s'établissent avant la fin de la migration. Ce mécanisme intervient après le pic de thyroxine plasmatique et avant le maximum d'activité ATPasique branchiale.

Ainsi, l'augmentation de l'absorption des fluides par l'intestin semble préadapter le jeune saumon à la vie en mer. Ce phénomène se déroule simultanément avec des modifications osmorégulatrices du rein et des branchies.

Le rôle de l'absorption de nutriment par l'intestin semble changer au cours de la smoltification. Une augmentation de l'influx de proline a été enregistrée et suggère que la demande nutritionnelle pour une forte croissance durant la smoltification est rendue possible par une augmentation de l'efficacité alimentaire (Hoar, 1988). Expérimentalement, le cortisol et la GH augmentent l'absorption intestinale de la proline et permettent de réguler ce processus durant la smoltification.

3.3. Influence environnementale

Si la smoltification se déclenche grâce à un profond rythme interne de l'animal (sous contrôle endocrine et nerveux), elle va être synchronisée grâce à divers facteurs abiotiques, principalement la température et la photopériode (Hoar, 1976 ; Wedemeyer *et al.*, 1980). D'autres facteurs moins importants ont néanmoins été signalés. Parmi eux notons le cycle lunaire (Grau *et al.*, 1982). La synchronisation d'un événement saisonnier avec les changements annuels de l'environnement permet à l'animal d'optimiser sa survie (Gwinner, 1981).

3.3.1. La photopériode

Très tôt, Hoar (1965) et Wagner (1974) ont montré que des modifications de la photopériode au cours de l'hiver déplaçaient la période de smoltification chez *Oncorhynchus mykiss*. Pour Hoar (1976), la photopériode serait le facteur principal, déclenchant les processus de la smoltification et de la migration de dévalaison en stimulant l'axe hypothalamo-hypophysaire. Il est dès lors possible, en jouant artificiellement avec la photopériode, de modifier le moment où se produira la transformation parr-smolt (McCormick *et al.*, 1987). Ceci confirme l'hypothèse de l'existence d'un rythme endogène.

De nombreuses études ont montré qu'une illumination continue appliquée au début de l'ontogenèse et maintenue pendant toute la période de croissance paralysait les changements

osmorégulateurs liés à la smoltification tandis qu'une augmentation de la longueur de la journée en hiver et au printemps stimulait la transformation (McCormick *et al.*, 1987).

Plus récemment, Björnsson et son équipe (1995), montrèrent un effet de la photopériode sur les facteurs endocriniens comme l'hormone de croissance (GH) impliquée dans la régulation de la transformation parr-smolt. Alors qu'une photopériode naturelle stimule les niveaux de GH plasmatique, une luminosité continue tend à réduire ces niveaux plasmatiques de GH.

Même si la photopériode est un des stimuli les plus importants, il n'en est pas pour autant irremplaçable (Solbakken *et al.*, 1994). En effet, Solbakken *et al.* a montré en accord avec d'autres recherches que si les salmonidés étaient privés de la photopériode, d'autres signaux de l'environnement pouvaient prendre une plus grande importance.

3.3.2. La température

La température de l'eau permet quant à elle de moduler la réponse physiologique du tacon à l'augmentation de la photopériode (Hoar, 1988). Une température minimale de 10 à 12°C est nécessaire pour que *Salmo salar* smoltifie et une augmentation de la température jusqu'à 15°C renforce la smoltification chez le saumon atlantique élevé en laboratoire. Il est toutefois à signaler que la migration des smolts en milieu naturel a eu lieu bien avant que la température n'atteigne et ne dépasse les 15°C (Wedemeyer *et al.*, 1980). Une température plus élevée avance de 6 à 8 semaines le pic d'activité ATPasique (Solbakken *et al.*, 1994). Néanmoins, des températures supérieures à 18°C inhibent les mécanismes en agissant directement sur l'activité enzymatique branchiale.

En général, les températures qui augmentent à la fin de l'hiver déclenchent le phénomène qui atteindra son maximum environ trois à quatre semaines après l'équinoxe, puis les températures, continuant à s'élever en fin de printemps, inhibent alors la smoltification et les animaux régressent en parrs s'ils n'ont pas eu la possibilité de migrer vers l'océan (Bœuf, 1987).

Dans les régions de haute latitude, la migration va intervenir très tard dans l'année (juin ou juillet), alors qu'elle peut démarrer dès février durant certains hivers cléments dans le sud. La température prévaut alors sur la durée d'éclairement. A l'inverse, en Bretagne, dans une plage thermique très favorable en hiver, le poisson apparaît plus synchronisé par la photopériode (Bœuf, 1994).

4. Homing

Comme tous les salmonidés migrateurs, le saumon atlantique se caractérise par un attachement au site originel de développement. Ce phénomène constitue un trait de comportement commun à de nombreux animaux, mais il apparaît assez remarquable chez cette espèce capable de retourner frayer dans le cours d'eau originel après un voyage océanique pouvant atteindre plusieurs milliers de kilomètres. C'est le phénomène de homing.

Lors de la remontée vers la rivière originelle, l'odorat des salmonidés est fortement sollicité. Ceci a été démontré pour la première fois par les travaux fondamentaux de Wisby et Hasler (1954). Parmi les nombreuses théories avancées pour expliquer la façon dont les saumons retrouvent leur chemin de retour, il en est deux principales qui ressortent et cependant se contredisent. La première repose sur l'existence de différences locales de sol et

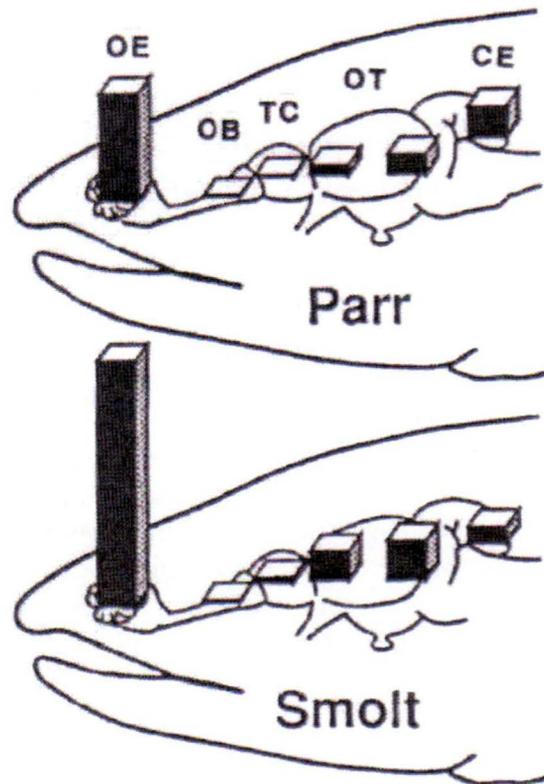


Figure 23. Comparaison des niveaux de récepteurs d'hormones thyroïdiennes de l'épithélium olfactif (OE), du bulbe olfactif (OB), du télencéphalon (TC), du tectum optique (OT) et du cerebellum (CB) chez le saumon masou (*Oncorhynchus masou masou* B.) (Ueda, 1998).

de végétation donnant à chaque rivière une odeur particulière dont les juvéniles s'imprègnent avant leur migration et que cette information sert de piste aux adultes pour retrouver leur rivière natale (Hasler *et al.*, 1978). Par contraste, l'hypothèse de Nordeng, qui est celle de la trace odorante due à la libération des phéromones, explique que la migration de retour des saumons est déclenchée et conduite par les traces odorantes que constituent les smolts apparentés au cours de dévalaisons. Le « home » est finalement reconnu par l'odeur de la population en place (Nordeng, 1977). En avançant ce genre d'hypothèse, Nordeng reconnaît à la génétique une influence sur les migrations de Salmonidés. Les deux hypothèses diffèrent en ce sens que dans la première les saumons doivent apprendre à reconnaître le bouquet de l'odeur locale, alors que dans la deuxième il s'agit d'une reconnaissance innée ou acquise de l'odeur de la parenté, dont la présence est nécessaire pour attirer les saumons de retour. De plus récentes recherches tendent à confirmer la première hypothèse (Foster et Schom, 1989 ; Baras, 1992).

Cooper et son équipe a montré en 1976, en utilisant de la morpholine, que les salmonidés s'imprègnent des caractéristiques chimiques de leur rivière lorsqu'ils sont au stade juvénile et qu'ils retrouvent cette piste chimique lorsqu'ils reviennent au stade adulte (Cooper *et al.*, 1976). Cet imprinting, impliquant une période critique d'apprentissage, est irréversible (Hess, 1973). Plus récemment, il a été proposé que le poisson s'imprègne très tôt dans son développement, dès que son système nerveux sensoriel devient opérationnel (Baras, 1992).

Hasler et Scholz (1983) démontrèrent que l'empreinte olfactive chez les salmonidés était fortement facilitée par une injection de TSH. De hautes concentrations plasmatiques d'hormones thyroïdiennes sont également connues pour faciliter la réponse aux stimuli visuel et olfactif (Hara *et al.*, 1966). Une étude récente portant sur les récepteurs d'hormones thyroïdiennes a montré qu'il existait des récepteurs spécifiques à la T3 au niveau de l'épithélium olfactif, du tectum optique et du cerebellum mais pas au niveau du bulbe olfactif. La valeur maximale d'attachement de la T3 à un de ces récepteurs se trouve au niveau de l'épithélium olfactif (Ueda, 1998) (fig 23). Cette valeur augmente durant la smoltification. Bien que les hormones thyroïdiennes soient fortement impliquées dans la régulation de nombreuses fonctions physiologiques durant la smoltification, leurs rôles au niveau du système olfactif ne sont pas encore clairs. De futures analyses moléculaires et biochimiques sur le système olfactif du saumon durant la smoltification doivent être réalisées pour clarifier le mécanisme d'empreinte chez le saumon.

Une question importante à laquelle il faut répondre est la suivante : Que savons nous sur l'origine des odeurs de l'environnement agissant comme substances attractives vers les rivières natales ? Les premiers travaux de Idler *et al.*, (1961) impliquaient que les odeurs organiques attiraient les poissons vers leurs rivières natales. Bodznick (1978), lui, a été le premier à démontrer que les saumons pouvaient reconnaître l'origine d'une eau d'après ses composants inorganiques. Il a prouvé que les alevins de Sockeye pouvaient déceler les concentrations en ions calcium inférieures à celles des eaux naturelles en général et que leur comportement exprimait cette différenciation. Il a donc suggéré qu'en plus des substances attractives organiques dont l'action est à court terme, les saumons reconnaissent des plans d'eau particuliers d'après des combinaisons de substances odorantes présentes, le calcium étant l'une de ces substances.

4.1. Facteurs affectant la remontée

Divers facteurs peuvent affecter la remontée du saumon. L'importance de chacun de ceux-ci changeant durant la remontée du poisson. Hayes trouva, en 1953, que des vents assez forts approchant les 32km/h poussaient les saumons à se concentrer dans l'estuaire de la rivière et éventuellement à la remonter. Il semblerait également que le cycle des marées intervient lors de la remontée. Les poissons se laisseraient emporter avec la marée montante.

En 1931, Menzies (*in* Mills, 1989) a montré que la température de l'eau était très importante également pour le mouvement des poissons et que jusqu'à une température de 5.5 °C, peu de mouvement de remontée était observé. Mills et Graesser (1981, *in* Mills, 1989) précisèrent qu'au-delà de 11°C, tout saut d'obstacle se trouvant sur la route du retour, ne se faisait pas. En 1973, Stewart observa que la migration de remontée des saumons était plus fréquente lorsque la température de l'air était plus basse que la température de la rivière.

Enfin notons que la migration de remontée est sans nul doute associée à une activité thyroïdienne chez le saumon (Fontaine, 1951 ; *in* Mills, 1989).

5. Stress chronique et smoltification

La physiologie des poissons peut être modifiée profondément par de nombreux facteurs biologiques, chimiques et physiques. Lorsque ces facteurs sont susceptibles de provoquer, au minimum, une réponse physiologique compensatoire ou stress chez le poisson, ils sont qualifiés de stressseurs. En fonction de l'intensité et de la durée d'exposition, on peut distinguer différents agents stressants. Les stressseurs chroniques et aigus.

Un important stressseur chronique, qui influe notamment sur la croissance, est le confinement. En effet, il a été observé que lorsque des lots de juvéniles d'*Oncorhynchus mykiss* élevés à même densité par unité de volume, étaient placés dans de grands volumes, ceux-ci présentaient de meilleures croissances que les lots placés dans de plus petits volumes. Ce phénomène de confinement apparaît également chez d'autres espèces comme le black-bass *Micropterus salmoides*, le colossoma *Piaractus brachypomus* et le tilapia *Oreochromis niloticus*. L'effet du confinement jouerait à travers des facteurs comportementaux et le stress.

Notre étude cherche à caractériser l'effet possible d'un stressseur chronique, tel le confinement, sur le phénomène de smoltification chez le saumon atlantique *Salmo salar*. Pickering *et al.* (1987) a montré sur *Salmo trutta*, qu'un confinement de 1 mois causait une élévation significative du taux plasmatique de cortisol mais supprimait les niveaux de testostérone plasmatique et de 11- ketotestostérone chez le mâle sexuellement mature. Ruane *et al.* (2001) montrèrent que des carpes (*Cyprinus carpio*) soumises à un confinement de 3h réagissaient par une rapide augmentation du taux plasmatique de cortisol. Ils ne remarquèrent aucun effet du confinement sur le taux hématocrite mais observèrent cependant une nette réduction dans les niveaux d'hémoglobines sanguins ainsi qu'une importante hypochlorémie.

De manière générale, la principale réponse hormonale à un stress qu'il soit aigu ou chronique, est l'élévation de cortisol plasmatique (Balm, Lambert & Wendelaar Bonga 1989). Chez les salmonidés, le cortisol est connu depuis longtemps comme étant l'hormone d'adaptation à l'eau de mer. Dès lors, une fluctuation de son taux plasmatique affectera très certainement sa smoltification. De plus, il a été montré (cf. point 3.2.4.1.3.) que le cortisol avait une action synergétique avec de nombreuses hormones comme la GH, l'ACTH, la T3 et la TSH.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

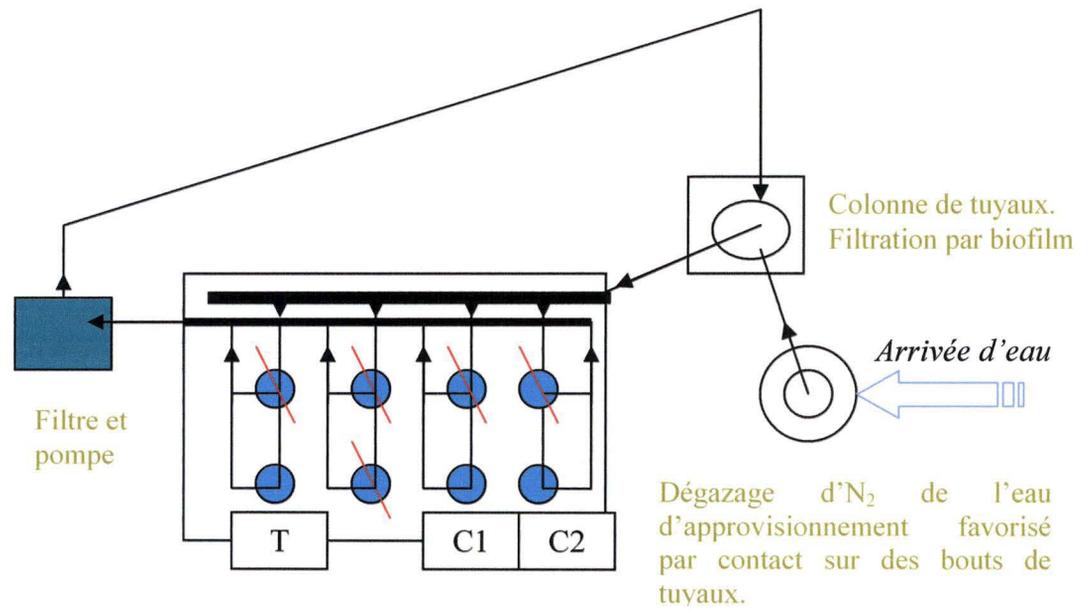


Figure 2.1. Système en circuit fermé de la pisciculture d'Haugimont.

T= Bassin témoin (280 dm³ ; 60 poissons)

C1 et C2 = Bassins de confinement (140 dm³ ; 30 poissons)

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

Les 120 saumoneaux utilisés dans cette expérience sont issus de la souche irlandaise River Cong. Ils ont été pêchés à Achouffe le 13 février par pêche électrique. Nous avons pour ce faire utilisé un martin pêcheur DEKA 3000 (ddp 400 volts, 110 impulsions/s). La longueur moyenne des poissons capturés est de 153 mm et le poids moyen de 38 g.

Les 120 tacons âgés de 2 ans sont ensuite répartis dans les bassins de la pisciculture d'Haugimont en bac témoin et bacs tests (fig. 2.1.). Le bassin témoin d'une hauteur d'eau de 28 cm accueille 60 poissons. Les deux bassins tests, d'une hauteur d'eau de 14 cm, accueillent quant à eux 30 poissons. De cette façon, la densité entre le bassin témoin et les bassins tests est la même. Seule la hauteur d'eau varie. Les volumes d'eau sont respectivement de 0.28 m³ et de 0.14 m³ pour le bassin témoin et les deux bassins tests.

L'eau des bassins provient d'un petit ruisseau dont les apports sont constants. Les poissons sont nourris tous les jours (ration maximale), matin et soir, excepté la veille des échantillonnages. L'aliment utilisé est le : Skretting® spécial salmonidé HP 1.7. Les poissons sont soumis à une photopériode naturelle et supposée identique dans tous les bassins. Le premier échantillonnage (prélèvement du rein, du foie, des branchies et d'un maximum de sang (~ 500µl)) a été réalisé le 1^{er} mars. Les suivants se sont ensuite espacés d'une petite vingtaine de jours. Cinq échantillonnages ont été effectués au total, le dernier ayant eu lieu le 1^{er} juin.

2. Calcul du facteur de condition K

Le facteur de condition est calculé par la formule suivante (Bœuf *et al.*, 1987) :

$$K = \frac{P}{L^3} \times 10^5$$

Où P = Poids du poisson en g,
et L_F = Longueur à la fourche du poisson en mm.

Ce facteur donne l'idée de l'affinement du poisson.

3. Dosage de l'activité Na^+/K^+ ATPasique branchiale

3.1. Prélèvement des branchies

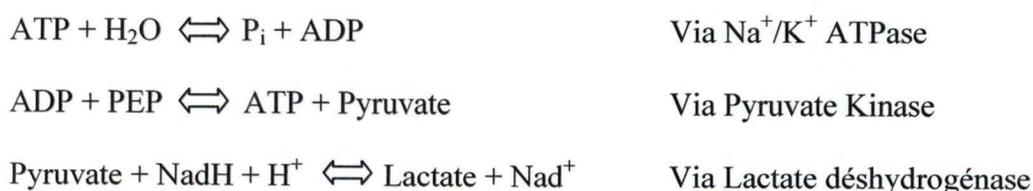
Sur chaque poisson, seule la 2^{ème} paire d'arcs branchiaux est prélevée, les 2 autres paires ayant plus fonction de respiration. Après avoir été rincés dans du tampon SEI (150 mM sucrose, 10 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 50 mM imidazole, pH 7.3), les arcs branchiaux sont directement placés dans la glace. Ils sont ensuite stockés, au retour de l'échantillonnage, à une température de -80°C jusqu'à analyse.

3.2. Homogénéisation

Les arcs branchiaux dégelés sont rincés dans une solution isotonique à 4°C composée de NaCl (125 mM), héparine (20 U/ml, Léo, Belgique), hydroxy-2-éthyl-4-pipérazinyl-1,2éthane-sulfonate (HEPES)/Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane (Tris) (20 mM, pH: 7,4), dithiothreitol (DTT, 0,1 mM). L'héparine sert à réduire la coagulation sanguine et le DTT à éviter l'oxydation lors du traitement des branchies. Les arcs branchiaux sont ensuite séchés sur papier buvard puis raclés avec une lame de verre de façon à arracher au cartilage les cellules branchiales et les cellules sanguines. La solution rougeâtre gélatineuse obtenue, diluée 5 fois dans la solution décrite ci-dessus, est homogénéisée pendant 15 secondes à l'aide d'un piston en téflon. La solution résultante (H0) est pesée puis directement placée au froid.

3.3. Dosage de l'activité Na^+/K^+ ATPasique

Pour pouvoir déterminer rapidement l'activité de la Na^+/K^+ ATPase, un dosage est réalisé sur un homogénat H0. Le dosage de l'activité Na^+/K^+ ATPasique est réalisé suivant une méthode indirecte de dosage décrite par Nørby (1988). La méthode est basée sur la relation proportionnelle entre l'activité de la Na^+/K^+ ATPase et l'hydrolyse du nicotinamide-adénine-dinucléotide (NADH) en NAD^+ .



Les cuvettes contiennent 2 ml d'un milieu d'incubation avec ou sans ouabaïne (5 mM). Le milieu d'incubation contient du MgCl_2 (5 mM), EGTA (0,25 mM), Tris-HCl (25 mM, pH: 7,4), NaCl (100 mM), KCl (25 mM), phosphoénol-pyruvate (1,5 mM), NADH (0,5 mM), ATP (5 mM) et une solution enzymatique de pyruvate kinase et de lactate déshydrogénase (8.37 unités PK/test ; 9.58 unités LDH/test). Après une incubation de 10 minutes à température ambiante, la réaction est initiée par l'addition de 10 μl d'H0. L'activité de la Na^+/K^+ ATPase est obtenue par la différence entre l'activité en l'absence et en présence d'ouabaïne. La lecture de l'activité se réalise à 25°C pendant 10 minutes à 340 nm sur un spectrophotomètre BECKMAN (DU 640). L'activité de la Na^+/K^+ ATPase est exprimée en $\mu\text{mol ADP}/\text{mg protéine}/\text{heure}$.

3.4. Calcul de l'activité

L'activité Na^+/K^+ ATPasique exprimée en Unité/g de tissu à partir des variations d'absorbance est obtenue par l'expression suivante :

$$\frac{\Delta\text{DOéch} \cdot \text{dilution} \cdot 2}{6.22 \cdot \text{temps} \cdot \text{volume H0}}$$

avec $\Delta\text{DOéch}$ = différence de variation d'absorbance au cours du temps de l'échantillon
6.22 = coefficient d'absorption du NADH

3.5. Dosage des protéines

La méthode utilisée est la technique de Bradford (1976). Le calcul de la teneur en protéines de l'échantillon est réalisé par comparaison à une courbe étalon avec BSA (Bovin Serum Albumin) (1mg/ml de tampon d'homogénéisation). La liaison de la protéine avec le bleu de Coomassie déplace l'absorption de 465 à 595 nm. Chaque échantillon est testé deux fois. A 5 μl d'échantillon sont ajoutés 2 ml de Biorad (Bio-Rad protein assay) dilués 5 fois. Après deux minutes d'incubation, la lecture d'absorbance est effectuée sur spectrophotomètre (Ultrospec 2100 pro) à une longueur d'onde de 595 nm. Le blanc de référence est constitué de 6 μl de tampon d'homogénéisation auxquels sont ajoutés 2 ml de Biorad dilué.

4. Dosage du glycogène hépatique

4.1. Prélèvement des foies

Le foie de chaque poisson est prélevé et après un rinçage dans du tampon SEI, il est mis dans un eppendorf afin de permettre son stockage à -20°C jusqu'à analyse.

4.2. Homogénéisation et neutralisation

L'homogénéisation des foies se réalise directement après leur décongélation. Ils sont pesés, dilués 6 fois dans du tampon HClO_4 (4%) puis broyés à l'aide d'un piston en téflon. L'homogénat est ensuite centrifugé à 10.000 g pendant 10 minutes, à l'aide d'une ultracentrifugeuse (Beckman L2-57B). Le surnageant résultant de cette opération est mis dans un eppendorf et stocké à -80°C . Après la décongélation, le surnageant est amené à pH neutre par ajout progressif de K_2CO_3 (5M).

4.3. Principe et dosage

Afin de doser le glycogène hépatique, deux types de solutions vont être préparés. Une première contenant de l'amyloglucosidase (45 ml NaAc, 400 μl d'amyloglucosidase) et une seconde contenant uniquement du tampon NaAc (60mM). Dans la première solution, l'amyloglucosidase va cliver tout le glycogène présent dans l'échantillon en glucose, cela nous donnera une concentration en glucose comprenant en plus du glucose intrinsèque, le glucose « néo-formé ». La seconde solution ne contenant pas d'amyloglucosidase, la valeur reflétera uniquement le glucose intrinsèque. Les deux concentrations de glucose obtenues sont alors soustraites et ainsi nous pouvons exprimer la concentration du glycogène seul.

Etalon glucose				
solution glucose (1,6mg/10ml)	0 µl	50 µl	100 µl	250 µl
ajout d'eau distillée	500 µl	450 µl	400 µl	250 µl
ajout de Na Ac (60mM)	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
ajout d'amyloglucosidase	\	\	\	\
30 min à 50°C				
solution oxydante	1 ml	1ml	1 ml	1 ml
30 min d'incubation				
Lecture (450 nm)				

Tableau 2.1. Mode opératoire pour l'établissement de l'étalon glucose.

Etalon glycogène			
étalon glyco. (1,6 mg/10ml)	0 µl	100 µl	250 µl
ajout d'eau distillée	500 µl	400 µl	250 µl
ajout de Na Ac (60 mM)	\	\	\
ajout d'amyloglucosidase	1 ml	1 ml	1 ml
30 min à 50°C			
solution oxydante	1 ml	1 ml	1 ml
30 min d'incubation			
Lecture (450nm)			

Tableau 2.2. Mode opératoire pour l'établissement de l'étalon glycogène.

	glucose	glycogène
Echantillons (µl)	10	10
ajout d'eau distillée (µl)	490	490
ajout de Na Ac	1 ml	\
ajout d'amylo.	\	1 ml
30 min a 50°C		
solution oxydante	1 ml	1 ml
30 min d'incubation		
Lecture (450nm)		

Tableau 2.3. Etapes suivies pour le dosage du glycogène hépatique sur nos échantillons.

Aux 10 µl d'échantillon seront ajoutés 490 µl d'eau distillée.

A ces 500 µl sera ajouté soit 1 ml d'amyloglucosidase, soit 1 ml de tampon NaAc selon le type de solution décrit en vis-à-vis.

Afin de calculer les concentrations des échantillons à partir des absorbances observées, des solutions étalons de concentrations connues sont réalisées. L'étalon glucose contenant 0, 50, 100 et 250 μ l d'une solution de glucose (tab. 2.1.) et l'étalon glycogène contenant les mêmes concentrations mais en glycogène (tab. 2.2.). Chaque solution étalon a été réalisée en duplicat. Il en ressortira une droite d'étalonnage de laquelle on dégagera une équation permettant le calcul des concentrations.

Le mode opératoire pour le dosage des échantillons est décrit au tableau 2.3.

Après une demi-heure d'incubation dans un bain d'eau à 50°C, les échantillons et les étalons sont laissés à refroidir jusqu'à température ambiante. Il sera ensuite ajouté 1 ml d'une solution contenant différentes oxydases (45 ml de Na(PO₄), 6.08 mg de peroxidase, 5.7 mg de glucose-oxydase, 9 mg de O-Dianisidine) permettant la coloration des échantillons. Solution à laisser incuber 30 minutes.

Une fois ce délai écoulé, la lecture d'absorbance est réalisée au spectrophotomètre (Beckman DU 640) à une longueur d'onde de 450 nm.

5. Dosage du cortisol plasmatique

Le sang est prélevé de l'artère caudale à l'aide d'une seringue de 1 ml héparinisée (héparine Leo 5000 I.E./U.I/ml). Après centrifugation à 3000 rpm pendant 15 minutes, le plasma est récupéré à l'aide d'une pipette pasteur et stocké à -80°C en vue de l'analyse ultérieure.

5.1. Dosage du cortisol

Le dosage du cortisol a été réalisé avec un kit de dosage Spectria [^{125}I].

Le dosage est basé sur le principe du radio immuno assay (RIA). Un échantillon d'une concentration inconnue d'hormone est ajouté à une solution contenant une concentration fixe de la même hormone marquée par un isotope radioactif dans ce cas, se sera l'iode ^{125}I . Cette préparation est alors incubée dans des tubes revêtus d'anticorps ("coated") reconnaissant spécifiquement le cortisol. D'autre part, la même expérience est réalisée avec des concentrations connues de l'hormone étudiée ce qui permettra de réaliser une courbe de calibration.

Chaque kit contient:

- Une série de tubes coatés avec des anticorps anti-cortisol polyclonaux de lapin.
- 55 ml d'une solution de traceur contenant du cortisol [^{125}I], du tampon Tris ainsi que du NaN_3 ($< 0.1\%$) donnant la couleur rouge. La radioactivité est inférieure à 250 kBq
- Des standards afin de permettre le calcul de la courbe de calibration. Ceux-ci contiennent 0, 20, 50, 150, 500, 1000 et 2000 nmol/l dans du sérum humain auquel est ajouté du NaN_3 et du Kathon comme conservateur.

Le calcul des concentrations se fait à l'aide de la formule donnée par la courbe de calibration en tenant compte du taux de fixation de l'anticorps.

6. Microscopie optique des reins

Les coupes et colorations ont été effectuées dans le département d'Histologie et d'Embryologie du Pr. M. Héryn.

6.1. Dissection du poisson et préparation de l'échantillon en vue de la coloration

Un morceau de la partie médiane du rein est prélevé sur chaque poisson. Cette opération est réalisée en prenant soin de ne pas couper d'autres organes qui laisseraient s'échapper des sécrétions pouvant abîmer le tissu.

1. Fixation

Après dissection, un morceau de quelques mm d'épaisseur est immédiatement plongé dans une solution de Bouin (acide picrique 75%, formol 20%, acide acétique glacial 5%) et fixé pendant minimum 24 h afin de permettre une bonne pénétration. Le Bouin, fixateur chimique, a pour rôle d'empêcher deux phénomènes : d'une part, l'autolyse des tissus, prenant place dès le prélèvement, et d'autre part la putréfaction se produisant plus tardivement. Le Bouin permet donc de garder un état le plus près possible du vivant.

2. Inclusion, enrobage et dégrossissage

L'étape d'inclusion a pour but d'insérer, dans l'entièreté du rein, de la paraffine. Celle-ci étant une substance hydrophobe, son insertion ne sera possible qu'après une déshydratation totale du tissu. Cette opération va être effectuée automatiquement par un appareil « Elliot Shandon » qui va faire passer les échantillons, placés dans des cassettes en plastique, dans 4 bains successifs d'une heure et trente minutes dans le méthanol absolu. Le méthanol étant un très mauvais solvant de la paraffine, les échantillons devront être ensuite immergés dans 4 bains successifs de Toluol. Enfin, il ne reste plus qu'à faire passer les échantillons dans 4 bains de paraffine liquide à 60°C.

Les échantillons sont ensuite enrobés dans de la paraffine à 58° C qui en se solidifiant donne un petit bloc facilement manipulable et dans lequel le tissu peut être conservé plusieurs semaines avant d'être coupé. Cette opération étant réalisée à l'aide d'un histocentre2 « HVL Shandon ».

Les échantillons sont ensuite dégrossis, par tranche de 25 µm, à l'aide d'un microtome Leica RM 2145.

3. Coupe et étalement

Le bloc de paraffine ainsi dégrossi est ensuite plongé une nuit dans un bain de Mollifex afin de ramollir les tissus. Enfin, une série de coupes sont réalisées à 6 µm. On sélectionne celle qui semble la plus intègre et on l'étales sur une lame Superfrost sur laquelle on a préalablement posé quelques gouttes d'eau gélatineuse filtrée sur filtre de 100 µm (1/3 de feuille de gélatine commerciale pour 200 ml d'eau à 96°C). Les lames sont ensuite posées quelques secondes sur une plaque chauffante à 48°C pour que la coupe s'étende bien sous l'effet de la chaleur.

6.2. Coloration

Le trichrome à froid (hémalum-phloxine-vert lumière) s'avère être la meilleure coloration pour mettre en évidence les glomérules rénaux. Cette coloration met en évidence les noyaux en bleu, le cytoplasme en rose et le tissu conjonctif en vert.

La coloration commence par le déparaffinage de l'échantillon dans deux bains successifs de toluol. Ensuite on réhydrate le tissu avec des bains de méthanol de plus en plus dilués. Vient après la coloration en tant que telle. Elle commence par le bleu Célestin, puis l'hémalum qui vont tous deux colorer le matériel nucléaire en bleu. Après différenciation dans l'alcool-HCl et rinçage à l'eau courante, on passe les lames dans un bain de solution rouge qui va colorer les cytoplasmes en rose. Enfin, le vert lumière finit la coloration en mettant en évidence le tissu conjonctif en vert. L'échantillon est déshydraté dans l'alcool isopropylique absolu, puis repassé dans le toluol afin de permettre au D.P.X d'adhérer à la lamelle que l'on colle à la lame.

6.3. Analyse de la coupe histologique

Le comptage des glomérules se fait manuellement à l'aide d'un microscope Zeiss au grossissement 40X. Une fois l'échantillon analysé 2 fois, l'estimation de la surface est réalisée sur du papier millimétré.

7. Calcul du SGR

Le taux spécifique de croissance a été calculé par la relation suivante (Ricker, 1979) :

$$\text{SGR} = (\text{Ln } W_2 - \text{Ln } W_1) / \text{Temps écoulé (jours)}$$

Où W_1 = poids moyen (g) au temps t_0

t_0 = début de l'expérience (17 février).

8. Analyse statistique

8.1. L'ANOVA simple

L'analyse de la variance à un critère de classification a pour but la comparaison des moyennes de nA populations, à partir d'échantillons aléatoires et indépendants prélevés dans chacune d'elles.

	SCE	dl	CM	Fobservé	F table
Total	SCET	N-1			dIF et dIR
factoriel	SCEF	na-1	SCEF/dIF	CMF/CMR	alpha 5%
résiduel	SCER	N-na	SCER/dIR		alpha 1%

- SCET =somme.carres.ecarts(individus de l'expérience)
- SCEF = n_i * somme.carres.ecarts(moyenne des échantillons)
- SCER =(n_i-1)*somme(toutes les variances)

Lorsque le F observé est supérieur ou égal au F des tables, il y a rejet de l'hypothèse nulle H_0 . Cela implique que l'on a réussi à mettre en évidence la présence d'au moins une moyenne différente des autres.

$$F \text{ obs} \geq F \text{ tables, } R_{H_0}$$

8.2. Test-t de Student

La réduction de Student est communément employée pour convertir une moyenne expérimentale en une valeur t observée selon l'application du Théorème de la limite centrale. Le test de Student est précédé par un test d'homogénéité des variances.

La réduction d'une variable X observée en variable t observée s'effectue comme suit:

$$t \text{ observé} = \frac{m_x - M_x}{\sqrt{\frac{\text{var}_x}{n}}}$$

Cette valeur de t observée tient compte de la taille de l'échantillon. La valeur observée est, ensuite comparée à une valeur seuil t . Cette valeur est obtenue pour un nombre de degré de liberté $(n-1)$ [avec n la taille de l'échantillon] et de telle manière que la probabilité de lui être inférieure vaut $(1-\alpha)$ [intervalle de confiance]: $t(n-1)_{1-\alpha}$. Lorsque la valeur observée (t observée) est plus grande que la valeur théorique ($t(1-\alpha)$), alors H_1 est respectée et H_0 est rejetée c'est à dire qu'il existe une différence.

Chapitre 3 : Résultats

Chapitre 3 : Résultats

3.1. Température

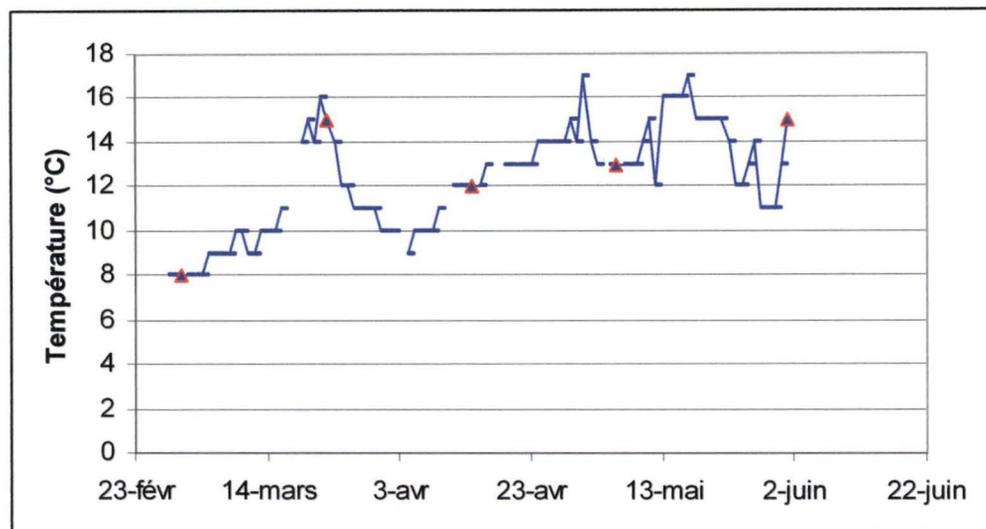


Figure 3.1. Evolution de la température de l'eau au cours de l'expérience.
 ▲ = date d'échantillonnage

Nous pouvons remarquer sur la figure 3.1 que la différence observée entre le 1^{er} et le 23 mars est relativement importante. La température étant de 8°C le 1^{er} mars et de 15°C le 23 mars. Au-delà de cette date, la température diminue jusqu'au 5 avril pour ensuite ré-augmenter de manière plus stable.

3.2. Poids et SGR (Specific Growth Rate)

Poids :

Nous pouvons remarquer sur la figure 3.2.1. que la masse reste stable tout au long de l'expérience. Chez les témoins, le poids moyen le 1^{er} mars est de 39.1 g (écart-type de 5.6) et de 37.8 g (écart-type de 5.26) le 1^{er} juin. L'évolution est quasi identique chez les confinés où l'on observe un poids moyen de 42.95 g (écart-type de 10.07) le 1^{er} mars et de 39.7 g le 1^{er} juin (écart-type de 9.03).

L'analyse ANOVA ($\alpha=5\%$) réalisée sur l'ensemble des données témoins et confinés ne montre aucune différence significative entre les deux conditions. La même analyse effectuée sur les deux bassins de confinement ne révèle, elle non plus, aucune différence significative. Les deux conditions ont ensuite été analysées, à chaque date, par le *t*-test de Student (0.05) et aucune différence significative n'a été montrée à aucune date. (Annexe 1.1)

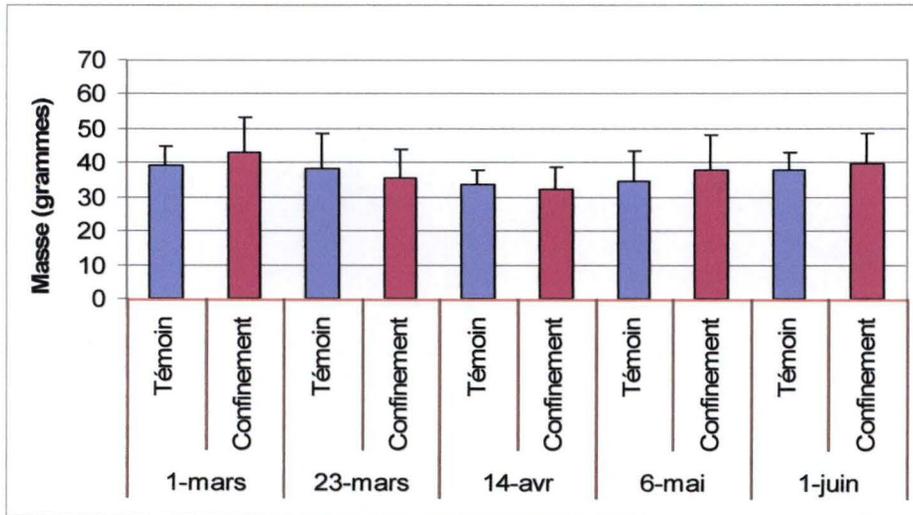


Figure 3.2.1. Evolution du poids de *S. salar* durant l'expérience.

SGR :

La figure 3.2.2. montre l'évolution du SGR (taux spécifique de croissance) tout au long de l'expérience.

Le taux spécifique de croissance reste relativement stable durant la smoltification. Il passe chez les témoins de 3.38 le 1^{er} mars à 3.59 le 1^{er} juin et chez les confinés de 3.48 à 3.64.

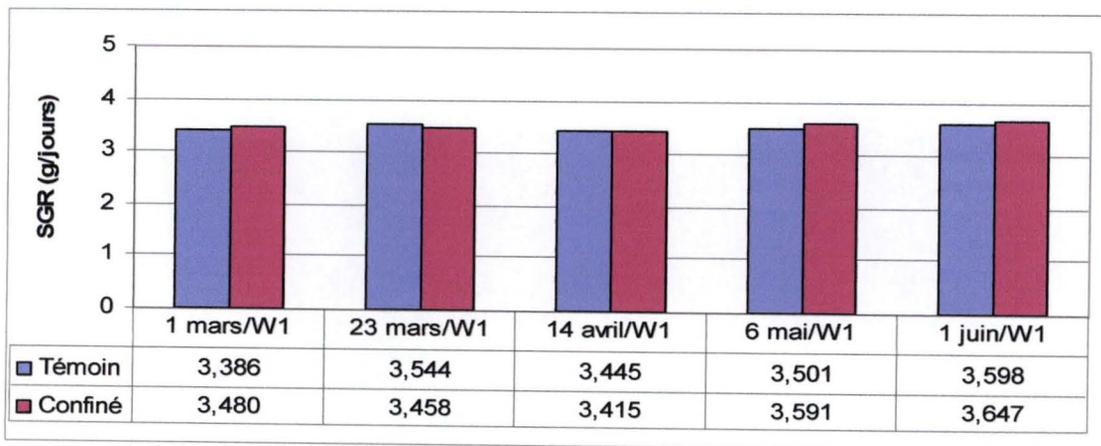


Figure 3.2.2. Evolution du SGR durant la smoltification chez les témoins et confinés du saumon atlantique *S. salar*.

3.3. Facteur de condition

Le facteur de condition est également un indicateur de smoltification. Bien que cet indicateur soit assez fiable, il doit être combiné avec d'autres critères physiologiques pour une bonne évaluation de l'état de smolt.

Le facteur de condition donne une indication sur l'affinement du poisson. La théorie renseigne des valeurs de 1.25-1.40 pour un parr et de 0.9-1.00 chez le smolt.

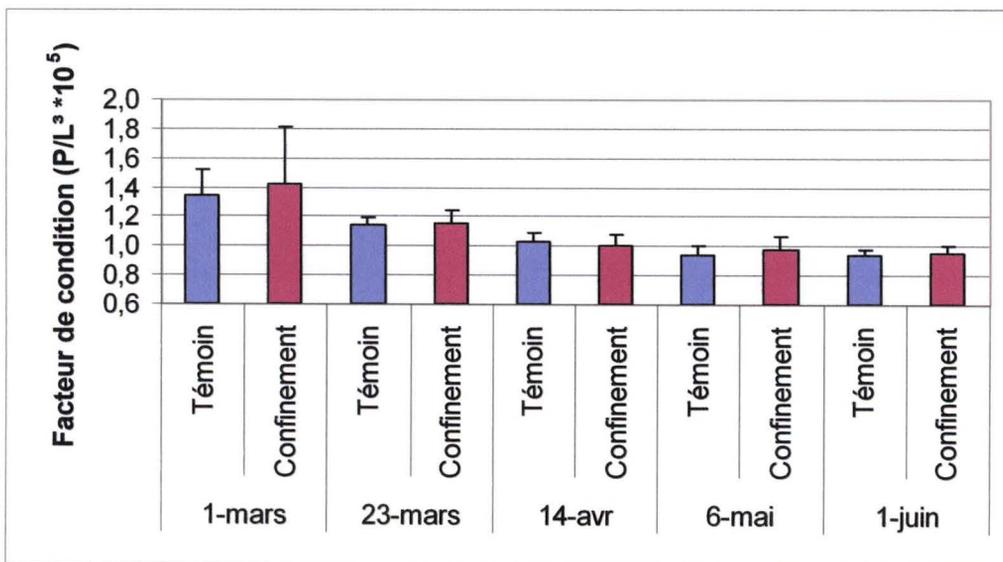


Figure 3.3. Evolution du facteur de condition au cours de la smoltification du saumon atlantique *S. salar*.

La figure 3.3. permet d'observer que chez *les témoins*, le facteur de condition passe de 1.35 (écart-type de 0.17) le 1^{er} mars à 0.94 (écart-type 0.045) le 1^{er} juin et chez *les confinés*, de 1.42 (écart-type de 0.38) à 0.96 (écart-type de 0.043).

L'ensemble des valeurs passées au crible statistique (ANOVA 5%) ne révèle aucune différence significative entre les deux conditions. La même analyse montre que les deux bassins de confinement ne diffèrent pas.

La valeur moyenne témoin de chaque date a ensuite été comparée à la valeur moyenne confinement de la même date, via le test-*t* de Student (0.05). Aucune différence significative n'a pu être révélée à aucune des dates. (Annexe 1.3)

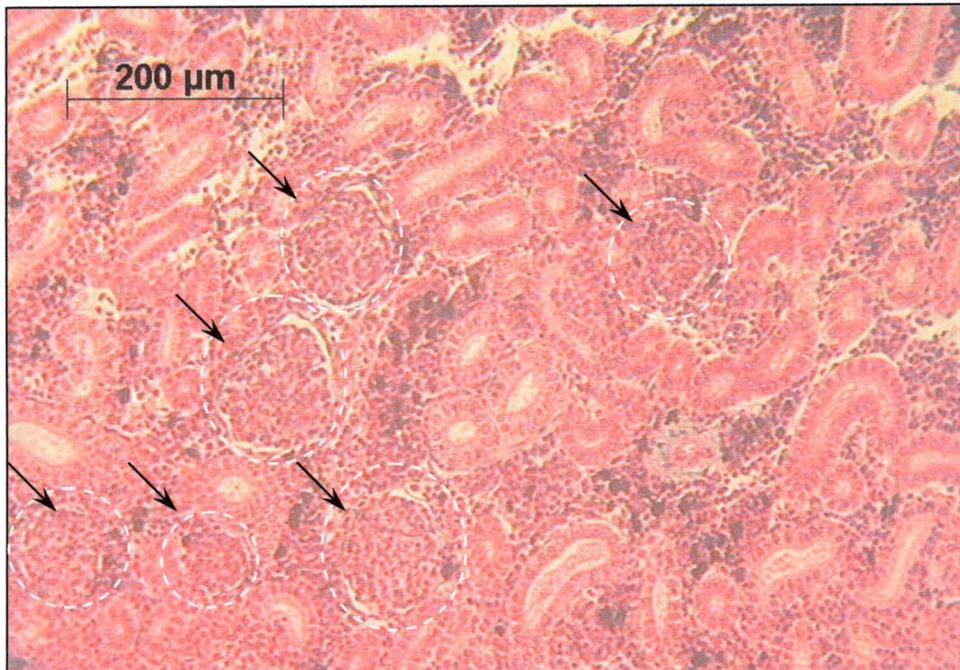


Figure 3.4.3. Densité glomérulaire témoin observée le 1^{er} mars chez le saumon atlantique *S. salar* (Coloration trichrome, photo Leitz Diaplan 10X. B.Lambert)

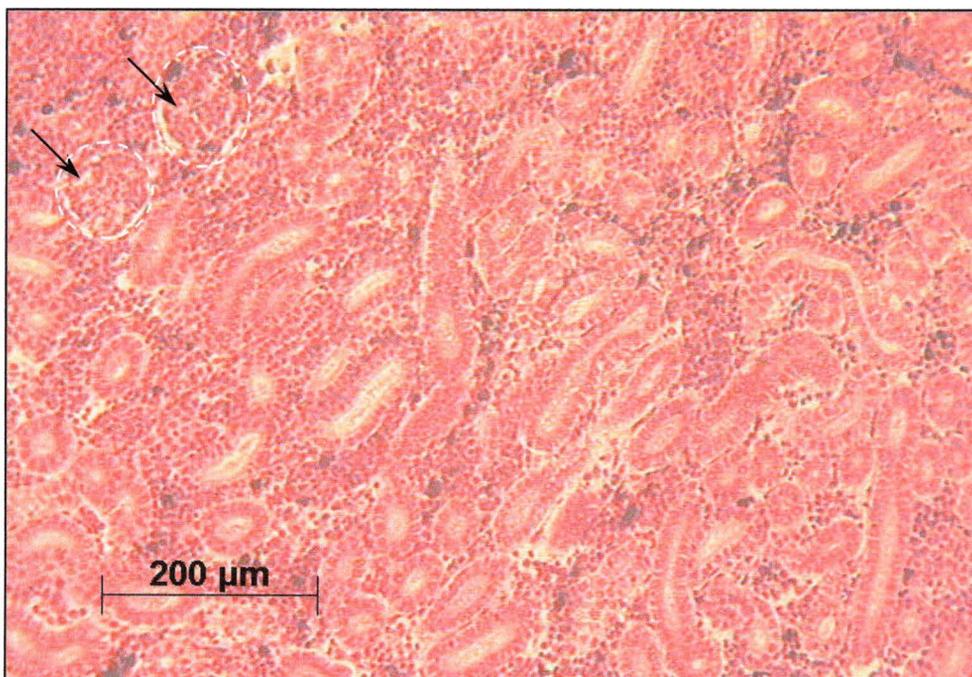


Figure 3.4.4. Densité glomérulaire témoin observée le 1^{er} juin chez le saumon atlantique *S. salar* (Coloration trichrome, photo Leitz Diaplan 10X. B.Lambert)

3.4. Densité glomérulaire

Le poisson téléostéen émet en eau douce une urine abondante et diluée (taux de filtration glomérulaire très élevé), alors qu'en eau de mer la quantité d'urine rejetée est faible et concentrée (diminution du taux de filtration).

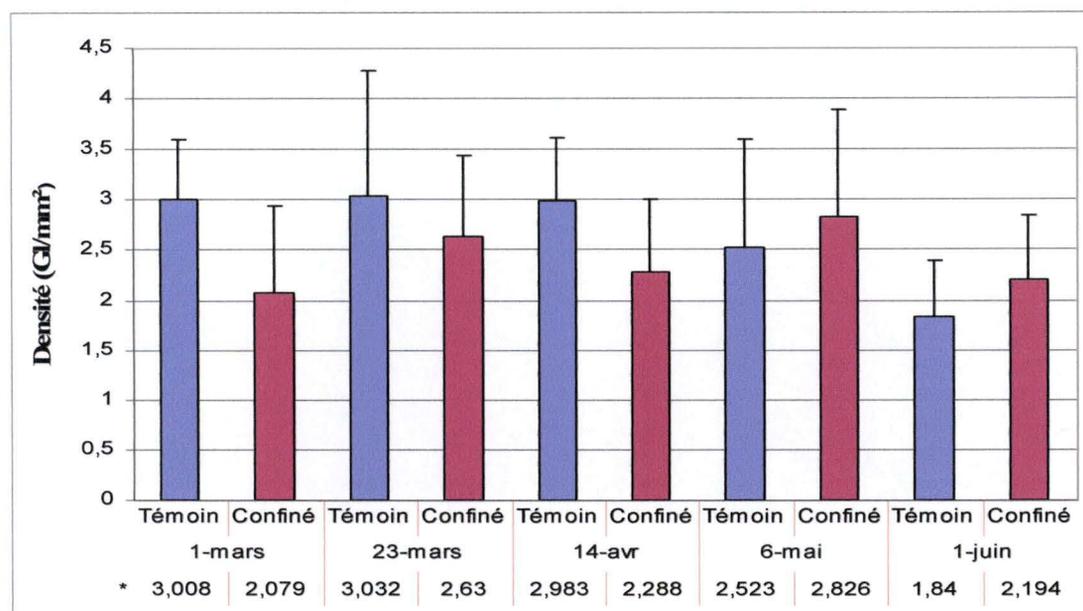


Figure 3.4.1 Evolution de la densité glomérulaire au cours de la smoltification du saumon atlantique *S. salar*.

La figure 3.4.1. montre chez les témoins une réduction significative (t -test 0.05) de la densité glomérulaire entre le 1^{er} mars et le 1^{er} juin passant d'une valeur de 3.008 Gl/mm² (écart-type de 0.59) à une valeur de 1.84 Gl/mm² (écart-type de 0.56). Cette différence est illustrée aux figures 3.4.3. et 3.4.4. L'évolution observée chez les confinés est beaucoup plus stable. De plus, nous pouvons remarquer que la valeur observée le 1^{er} juin est supérieure mais non significative (t -test 0.05) à la valeur observée le 1^{er} mars. Le test ANOVA ($\alpha=5\%$) réalisé sur l'ensemble des valeurs témoins et confinés ne permet pas de montrer une différence significative entre les deux conditions, les deux bassins de confinement ne diffèrent pas entre eux. La condition témoin comparée, à chaque date, à la condition confinée via un t -test (0.05) confirme l'absence d'une différence à l'exception du 1^{er} mars où il a pu être montré une différence significative entre les deux conditions. (Annexe 1.4)

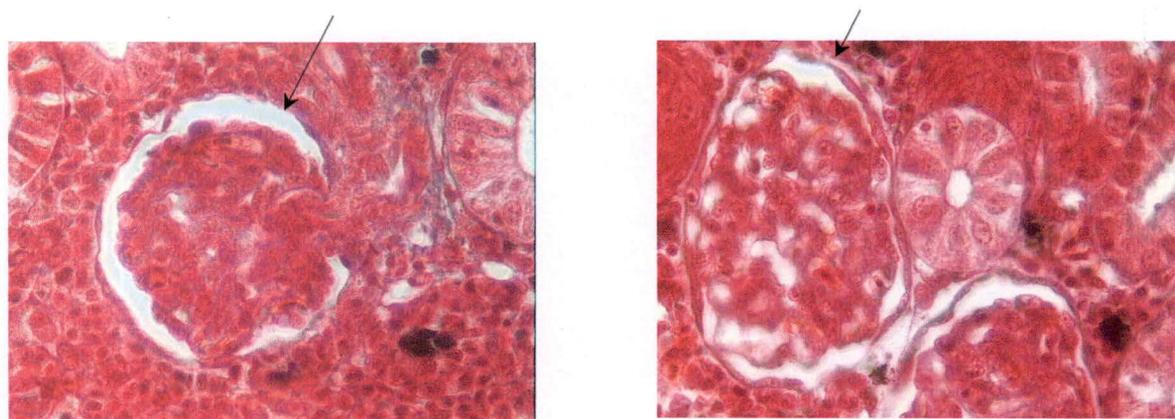


Figure 3.4.2 Glomérules rénaux du saumon atlantique *S. salar* (Coloration trichrome, photo Leitz Diaplan 40X. B.Lambert).

3.5. Cortisol

Depuis longtemps, le cortisol est connu pour être l'hormone d'adaptation à l'eau de mer (Barron, 1986). La littérature renseigne une augmentation importante en fin de smoltification, concomitant du maximum de l'activité ATPasique branchiale (Specker, 1982).

Cette augmentation de fin de transformation a bien été observée chez nos sujets (figure 3.5.). La concentration plasmatique passant, chez les témoins, de 25.87 ng/ml (écart-type de 24.89) le 1^{er} mars à 150.91 ng/ml (écart-type de 108.04) le 1^{er} juin et chez les confinés, de 19.03 ng/ml (écart-type de 19.35) à 118.24 ng/ml (écart-type de 64.72) le 1^{er} juin (soit un facteur 5.8 pour les témoins et un facteur de 6.2 pour les confinés). Nous avons obtenu, tout comme pour le glycogène, des valeurs anormales le 23 mars. Celles-ci ne sont dès lors pas rentrées dans notre analyse statistique.

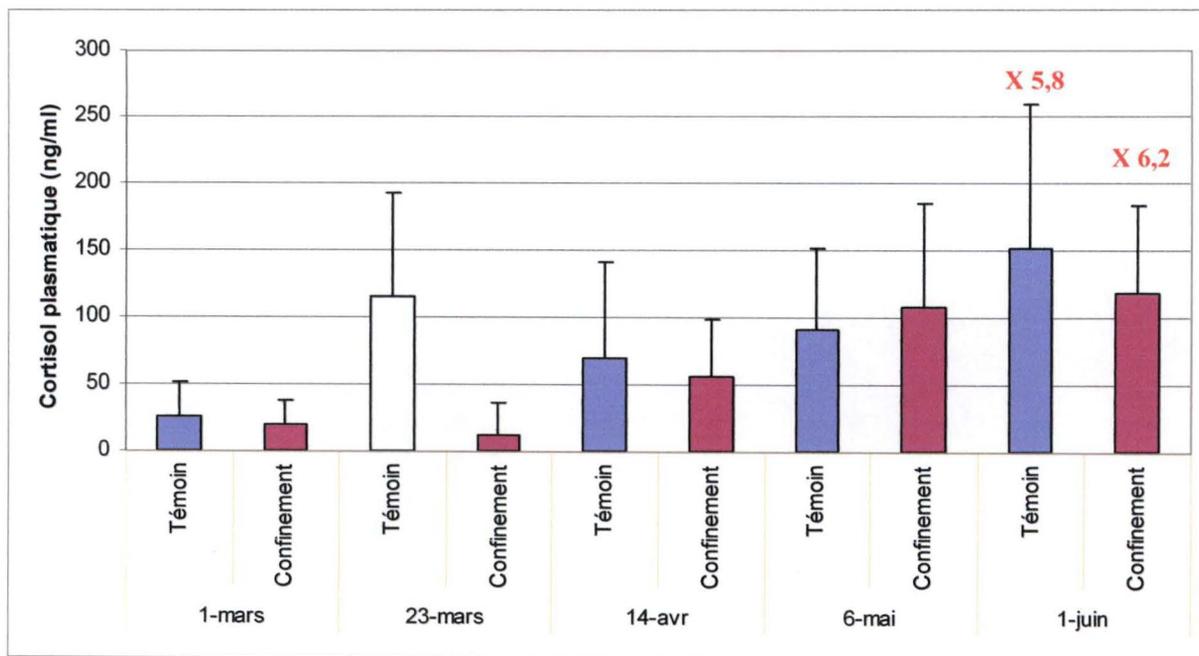


Figure 3.5. Evolution de la concentration plasmatique en cortisol au cours de la smoltification.

De manière générale, la concentration plasmatique chez les témoins est supérieure mais non significative à la concentration observée chez les confinés. Cette tendance est respectée à toutes les dates excepté le 6 mai où nous avons calculé une concentration de 90.90 ng/ml (écart-type de 60.88) chez les témoins et une concentration de 107.54 ng/ml (écart-type de 77.48) chez les confinés.

L'analyse statistique (ANOVA 5%) révèle qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux conditions. Les deux bassins de confinement ne diffèrent pas significativement entre eux. Enfin, le *t*-test de Student (0.05) utilisé pour comparer, à chaque date, les deux conditions, ne révèle aucune différence significative à aucune des date. (Annexe 1.5)

3.6. Activité Na^+/K^+ ATPasique

L'activité de la Na^+/K^+ ATPase fait partie des meilleurs indicateurs de smoltification. Ce système enzymatique est connu pour avoir un rôle essentiel dans l'osmorégulation en eau de mer. Son rôle en eau douce est plus difficile à cerner.

Son activité augmente au cours de la saison et le maximum est atteint chez le saumon atlantique entre la deuxième semaine d'avril et la première de mai. Si les saumons atlantiques (*Salmo salar*) sont conservés en eau douce après le moment naturel de la migration, le système régresse totalement. On parle d'état réversible du smolt en parr.

Sur les 100 valeurs d'activité calculées, 10 (4 des témoins et 6 des confinés) nous ont parues étranges. Nous avons choisi de faire une deuxième analyse en retirant ces valeurs du lot.

Données brutes non soustraites :

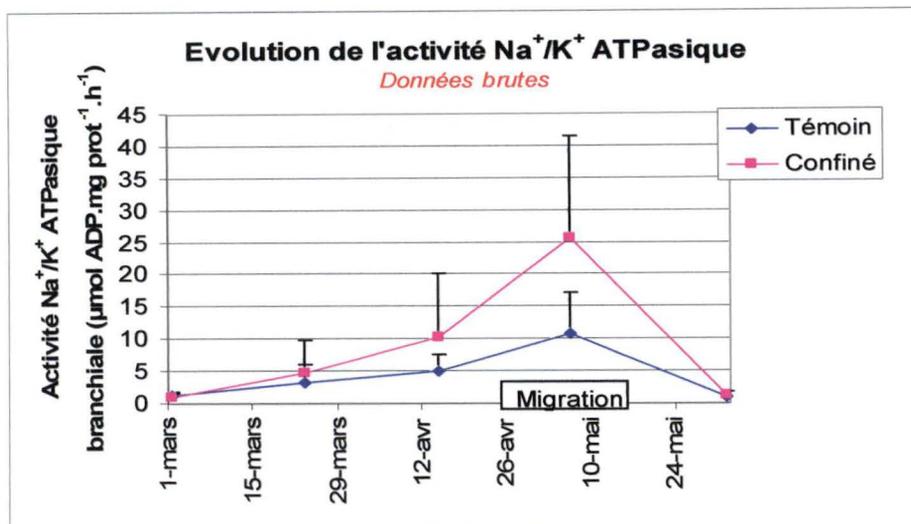


Figure 3.6.1 Evolution de l'activité Na^+/K^+ ATPasique au cours de la smoltification du saumon atlantique *S. salar* (Données brutes).

La figure 3.6.1. montre une augmentation de l'activité au cours de la saison. Si cette augmentation était prévisible, le moment exact du maximum l'était moins. Ainsi nous pouvons dire que le pic d'activité ATPasique se situe aux alentours du 6 mai. Au-delà de cette date, l'activité chute brutalement pour revenir à des valeurs faibles similaires à celle du 1^{er} mars.

L'évolution de l'activité pour *les témoins* est la suivante : L'activité moyenne du 1^{er} mars est de $1.14 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 0.52), elle va ensuite augmenter progressivement jusqu'à une valeur sommet le 6 mai de $10.8 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 6.1) et chute ensuite à une valeur de $1.03 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 0.64) le 1^{er} juin.

L'évolution de l'activité pour *les confinés* diffère. Le 1^{er} mars, l'activité moyenne est de $0.9 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 0.50), elle augmente ensuite fortement par rapport aux témoins pour atteindre un sommet, temporellement identique aux témoins, le 6 mai. L'activité y est, en effet, de $25.62 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 15.96). L'activité chute ensuite à une valeur de $1.35 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 0.42).

L'ANOVA ($\alpha=5\%$) simple montre une différence significative entre l'ensemble des valeurs témoins et l'ensemble des valeurs confinés. Elle confirme de plus qu'il n'y a aucune différence entre les deux bassins de confinement. (Annexe 1.6)

Données soustraites :

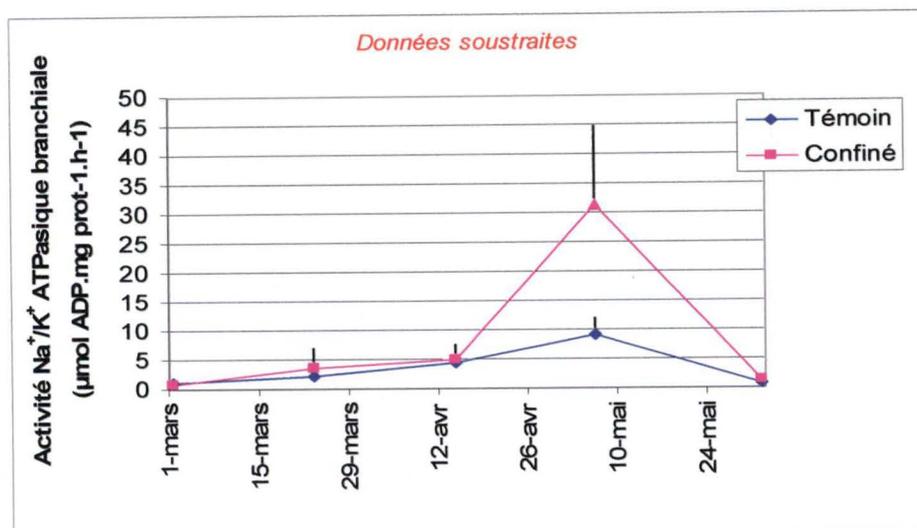


Figure 3.6.2. Evolution de l'activité Na^+/K^+ ATPasique au cours de la smoltification du saumon atlantique *S. salar* (Données soustraites).

Lorsqu'on supprime du lot les dix valeurs étranges (fig 3.6.2.), la différence entre les deux conditions n'apparaît, et de manière marquée, qu'au-delà du 14 avril. Le pic du 6 mai atteint ainsi une valeur de $31.3 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type 13.5) chez les confinés alors que chez les témoins, le maximum est de $9.08 \mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 2.95).

La forme générale du graphe est conservée. Seule une réduction de la différence entre bassins témoin et confinement est à remarquer, à l'exception du 6 mai.

La comparaison des deux conditions, traitée par le *t*-test de Student (0.05), ne montre aucune différence significative à aucune date, et ce, pour les données brutes et soustraites.

3.7. Glycogène hépatique

Au cours de la smoltification, les réserves de glycogène hépatique diminuent et le glucose augmente.

Les données du 23 mars nous paraissent étranges. La concentration de glucose ($12.4 \text{ mg}/\text{g}$ tissu) est en effet supérieure à celle du glycogène ($6.88 \text{ mg}/\text{g}$ tissu). Ceci n'ayant aucun sens physiologique, nous avons donc choisi de ne pas tenir compte des valeurs de cette date dans les analyses.

Evolution du rapport Glucose/Glycogène hépatique

Témoins :

Au début de l'expérience, le glycogène est supérieur au glucose et puis doucement, la tendance s'inverse pour avoir, en fin de smoltification (6 mai), une valeur de glucose (17.50 mg/g tissu) supérieure à celle de glycogène (13.07 mg/g tissu). Nous observons le 1^{er} juin que la valeur de glucose est revenue presque au même niveau que le glycogène. (fig 3.7.1.)

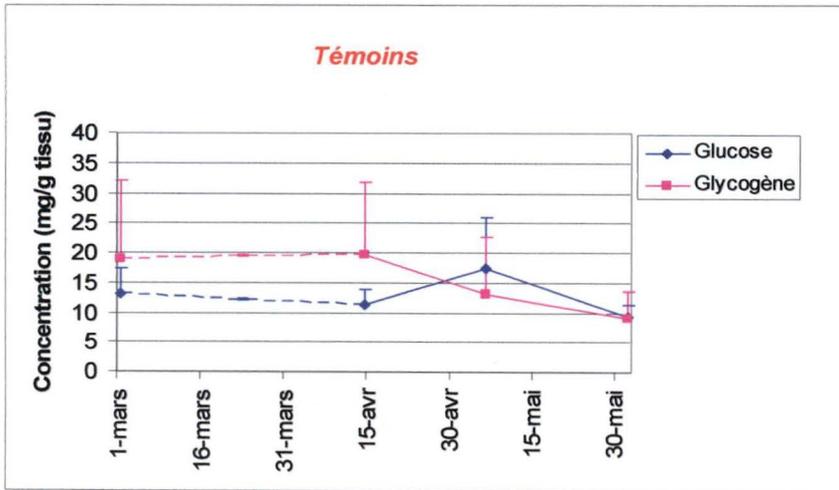


Figure 3.7.1 Evolution du rapport Glucose/Glycogène hépatique au cours de la smoltification chez les témoins de saumon atlantique *S.salar*.

Confinés :

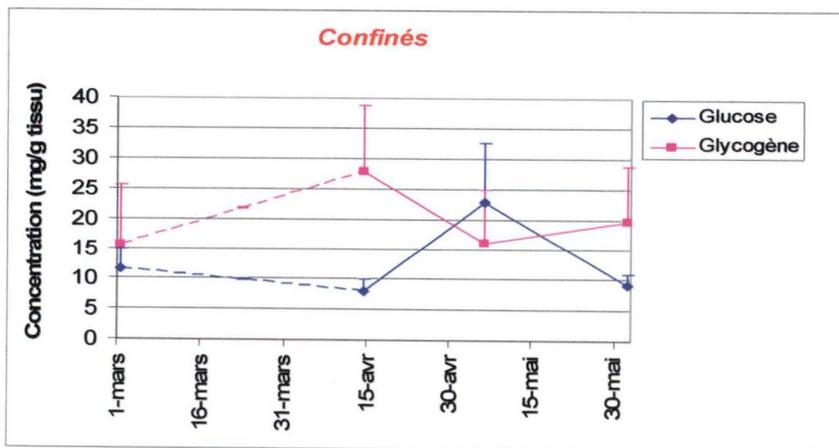


Figure 3.7.2 Evolution du rapport Glucose/Glycogène hépatique au cours de la smoltification chez les confinés de saumon atlantique *S.salar*.

En début d'expérience, la concentration en glycogène est supérieure à celle de glucose comme chez les témoins. A partir du 14 avril, la tendance s'inverse pour avoir en fin de smoltification (6 mai), une valeur de glucose (23.05 mg/g tissu) supérieure à celle de glycogène (16.08 mg/g tissu). Le 1^{er} juin, contrairement aux témoins, la valeur de glycogène a repris le dessus. (fig. 3.7.2.)

Evolution de la concentration en glycogène et en glucose

Nous observons sur la figure 3.7.3. que la diminution du glycogène attendue n'a lieu, et ce pour les deux conditions, qu'à partir du 14 avril. Si, chez les témoins, les réserves continuent de décroître au-delà du 6 mai, il n'en est rien chez les confinés où au contraire nous observons une légère augmentation. Un échantillonnage plus tardif nous aurait permis d'infirmer ou de confirmer cette tendance observée. La figure 3.7.4. présente l'évolution du glucose hépatique au cours de la smoltification chez le saumon atlantique (*S. salar*).

Le test ANOVA ($\alpha=5\%$) réalisé sur l'ensemble des données a révélé une différence significative entre les deux conditions. Aucune différence significative n'a pu être montrée, par ce même test, entre les deux bassins de confinement.

Le test-t de Student (0.05) destiné à comparer, à chaque date, la moyenne des deux conditions n'a quant à lui révélé aucune différence significative. (Annexe 1.7)

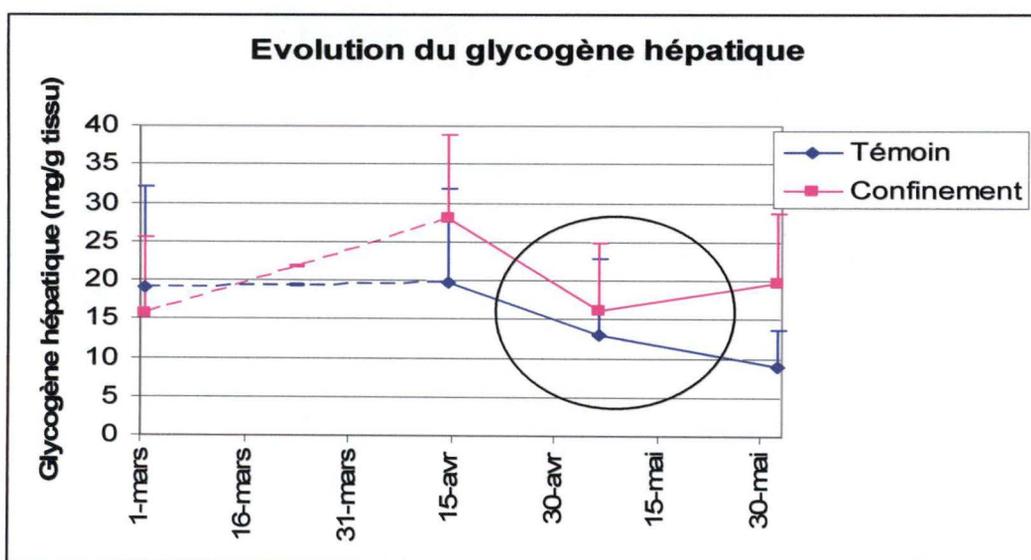


Figure 3.7.3. Evolution de la concentration en glycogène hépatique au cours de la smoltification du saumon atlantique *S. salar*.

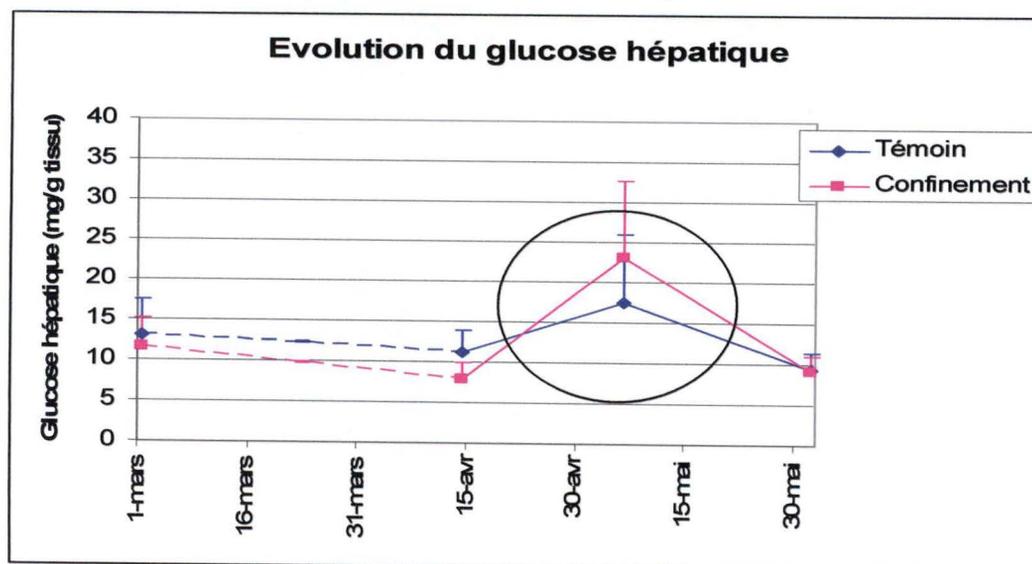


Figure 3.7.4. Evolution de la concentration en glucose hépatique au cours de la smoltification chez le saumon atlantique *S. salar*.

Chapitre 4 : Discussion

Chapitre 4 : Discussion

La problématique de ce mémoire est de mettre en évidence l'effet d'un stresser chronique sur le phénomène de smoltification chez le saumon atlantique (*Salmo salar*), souche irlandaise River Cong, via différents indicateurs :

- Endocrinien : dosage du taux plasmatique de cortisol,
- Physiologiques : dosage de l'activité Na^+/K^+ ATPasique et suivi de la concentration en glycogène hépatique,
- Histologique : suivi de la densité glomérulaire,
- Morphologique : calcul du facteur de condition.

Nous avons également pour objectif de caractériser au mieux la smoltification de la souche étudiée (R.Cong).

Il est important de rappeler à ce stade, qu'il existe deux modes de croissance au sein d'une fratrie. Les poissons appartenant au mode haut, développant les adaptations nécessaires à la vie en mer, et ceux du mode bas ne développant pas ces adaptations. Le traitement des données de longueur a permis de montrer que l'ensemble des poissons appartenait au même mode de croissance. Dans le cas contraire, l'interprétation des résultats aurait été plus complexe. En effet, Bœuf *et al.* (1987), a notamment montré que chez *Salmo salar* il existait une excellente corrélation entre le mode de croissance et l'activité Na^+/K^+ ATPasique. Les valeurs d'activité étant 5 à 6 fois plus faibles chez les individus appartenant au mode bas.

Presque la totalité des températures de l'eau mesurées (figure 3.1.) se trouve entre 10°C et 15°C. Plusieurs études cherchant à comprendre l'effet de la température sur la smoltification ont montré que 10°C est la température minimale pour que la smoltification puisse se développer et qu'à partir de 15°C, le phénomène de smoltification est renforcé. Nous avons observé fin mars des températures fort élevées avec un maximum de 16°C le 21 mars. L'effet probable de cette augmentation de température sera discuté ci dessous.

Cortisol

Le cortisol est l'hormone par excellence de l'adaptation en eau de mer. Son taux plasmatique augmente de manière importante au cours de la smoltification. De plus, cette hormone est essentielle dans la réponse à un stress qu'il soit aigu ou chronique. Il nous a donc semblé très intéressant de la suivre dans cette étude.

Nous avons observé une augmentation significative du taux plasmatique du cortisol au cours de la smoltification avec un maximum le 1^{er} juin et légèrement décalé par rapport à celui de la Na^+/K^+ ATPase. Celle-ci ayant un maximum d'activité le 6 mai. Cette comparaison du taux plasmatique en cortisol avec l'activité Na^+/K^+ ATPasique est d'autant plus intéressante que les récepteurs au cortisol sont majoritairement localisés au niveau des cellules branchiales (Uchida, 1998). Une étude cherchant à comprendre l'effet du cortisol sur les cellules branchiales de *Salmo gairdneri* (Laurent, 1990) montra que le principal effet de cette hormone consistait en la prolifération des ionocytes branchiaux.

Nous avons obtenu, le 23 mars, des concentrations plasmatiques en cortisol anormalement élevées chez les témoins. Le profil de température nous révèle qu'à cette même date une augmentation importante de la température s'est produite. Cependant, les valeurs calculées chez les confinés à cette même date étant relativement « normales », nous ne pensons pas qu'il puisse y avoir une relation directe. Le facteur provoquant cette concentration très élevée nous reste inconnu.

D'une manière générale, tout au long de l'expérience, les concentrations plasmatiques calculées chez les témoins sont légèrement, mais non significativement, inférieures à celle observées chez les confinés. Ces valeurs sont surprenantes étant donné que la condition de confinement est supposée plus stressante que la condition témoin. Néanmoins, nous observons le 6 mai, au moment du pic ATPasique, une concentration plasmatique chez les confinés (107.54 ng/ml) supérieure à celle observée chez les témoins (90.90 ng/ml).

Activité Na^+/K^+ ATPasique

Parmi l'ensemble des indicateurs qui ont été suivis dans cette étude, l'activité de la Na^+/K^+ ATPase constitue le plus fiable. Ce critère physiologique représente en effet, au travers de sa grande valeur d'indicateur de l'acquisition de l'euryhalinité, un indice intéressant de l'état de smolt. On peut également relier le niveau enzymatique initial, d'une part aux capacités d'osmorégulation à court terme après le transfert en eau de mer, d'autre part avec la survie et surtout la croissance en eau salée à long terme.

En eau douce, le rôle de ce système enzymatique est difficile à discerner. Ce rôle doit cependant être, à l'inverse de ce qui se passe en eau de mer, en relation avec l'absorption d'ions monovalents. En eau de mer, par contre, le rôle de la Na^+/K^+ ATPase n'est plus à démontrer. Elle génère des gradients électrochimiques permettant l'excrétion des ions Na^+ et Cl^- . Au cours de la smoltification, il est donc logique d'observer une augmentation de son activité.

Effectivement, nous avons observé chez nos sujets une augmentation significative de l'activité à partir du 1^{er} mars. Le maximum de son activité a été observé le 6 mai avec une valeur d'activité de 9.06 $\mu\text{mol ADP}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 2.95) chez les témoins et de 31.29 $\mu\text{mol ADP}/\text{mg prot}/\text{h}$ (écart-type de 13.51) chez les confinés.

L'analyse statistique (ANOVA $\alpha = 5\%$) a révélé une différence significative entre les deux conditions étudiées. Le test-*t* de Student (0.05) ne montre quant à lui aucune différence significative à aucune des dates. Néanmoins, il est intéressant de remarquer sur la figure 3.6.2. que les valeurs du confinement sont toujours légèrement supérieures aux valeurs témoins. Le 6 mai, par contre, la différence se marque beaucoup plus entre les deux conditions. C'est également à cette date que la concentration plasmatique en cortisol est plus importante chez les confinés. Notons que l'analyse des résultats a été effectuée pour l'ensemble des données soustraites de 10 valeurs anormales par rapport aux autres. Dans ces dix valeurs, deux correspondent à des poissons chez qui nous avons décelé une maladie. Un poisson en confinement au 1^{er} mars atteint d'une hydropisie et un poisson témoin du 6 mai chez qui nous avons observé une mycose.

En 1984, Langdon *et al.* montra sur *Salmo salar* qu'un traitement au cortisol provoquait une augmentation significative de l'activité Na^+/K^+ ATPasique. Des résultats semblables furent également obtenus sur *Salmo trutta trutta* (Madsen, 1990).

Cependant, un confinement beaucoup plus important engendrant des concentrations en cortisol significativement différentes entre les deux conditions nous auraient sans doute permis de mieux distinguer l'effet réel d'un confinement sur cette activité.

Selon nos données d'activité ATPasique, la souche irlandaise R.Cong serait une souche tardive. La migration hypothétique se situant vers la date du 6 mai. Le dosage de la thyroxine (T4), hormone thyroïdienne impliquée dans le déclenchement de la migration, nous aurait permis d'infirmer ou de confirmer cette hypothèse. Le pic de thyroxine étant simultané au pic ATPasique.

Il serait également intéressant de mettre en relation cette activité ATPasique tardive avec la performance de la souche c'est-à-dire son taux de retour. En effet, la chute rapide d'activité observée au-delà du 6 mai laisserait peu de temps au saumon pour arriver en mer.

Glycogène hépatique

Au cours de la smoltification, les réserves de glycogène hépatique diminuent et le glucose augmente. La diminution de la concentration en glycogène au niveau du foie durant cette période est à mettre en relation avec le pic d'adrénaline. Cette hormone agissant par augmentation du taux d'AMPc et activation de la phosphorylase sur la glycogénolyse (hydrolyse du glycogène en glucose dans le foie).

Chez nos sujets, nous avons effectivement observé une chute du glycogène au cours du temps. Il semblerait néanmoins que cette chute ne commence qu'à partir du 14 avril. Avant cette date, le glycogène est stable chez les témoins et en augmentation chez les confinés.

L'analyse statistique nous révèle une différence significative (ANOVA 0.05) entre les deux conditions étudiées. Le test de Student (0.05) ne révèle quant à lui aucune différence significative. De manière générale, les concentrations en glycogène sont plus importantes chez les confinés. Le dosage de l'adrénaline nous aurait sans doute permis d'expliquer cette différence observée.

A la date du 6 mai, la concentration en glucose est plus importante chez les confinés. Or, il est connu qu'en condition de stress, le cortisol sécrété par l'interréal provoque la néoglucogenèse au niveau du foie. Les données de glucose coïncidant avec celles du cortisol, il semblerait qu'un parallèle entre les deux indicateurs soit possible. Néanmoins, un autre phénomène peut expliquer l'augmentation de glucose au niveau du foie. L'adrénaline peut, en effet, par augmentation des AMPc et des phosphorylases activer la glycogénolyse. Dès lors, il serait osé de conclure que la concentration en glucose observée le 23 mars soit directement liée à la concentration en cortisol calculée à cette même date.

Nous avons décidé de ne pas tenir compte dans notre analyse des données du 23 mars. En effet, la concentration témoin moyenne en glucose est supérieure à celle de glycogène. Nous remarquons également qu'à cette même date, une valeur anormale de cortisol a été décelée chez les témoins.

Le rapport glucose/glycogène respecte la même logique au sein des deux conditions. La concentration en glycogène étant supérieure à celle du glucose du 1^{er} mars au 14 avril et inférieure au-delà de cette date.

Densité glomérulaire

En eau douce, le poisson téléostéen émet une urine abondante et diluée. Le taux de filtration est faible. En eau de mer, la quantité d'urine est plus faible mais plus concentrée. La filtration est moindre qu'en eau douce.

Chez les témoins, nous observons une diminution effective de la densité glomérulaire passant de 3.008 Gl/mm² le 1^{er} mars à 1.84 Gl/mm² le 1^{er} juin. Par contre les poissons soumis au confinement ne présentent pas une telle diminution. La tendance serait même à une stabilisation autour de 2.5 Gl/mm².

La figure 1.11 présente, page 7, un résumé du contrôle neuroendocrinien de l'osmorégulation. On peut y voir que le rein est influencé par de nombreux facteurs tels que le cortisol, l'urotensine, les catécholamines, la prolactine mais également l'arginine vaso-tensine et l'isotensine. Il est dès lors très compliqué de trouver une explication précise aux résultats observés. A première vue, il semblerait que la seule information importante qui ait été observée chez les confinés, soit une stabilisation de la densité glomérulaire autour d'une valeur moyenne de 2.5 Gl/mm². Ceci signifierait que le poisson a une filtration rénale stable durant la smoltification. Nous n'avons pas trouvé d'explication à cette observation qui nous paraît étonnante.

Une réflexion au sujet de ces résultats avec le professeur Flamion, spécialiste des reins du département de médecine, a apporté un élément qu'il est intéressant de signaler. Il est en effet connu chez les humains que, durant certaines maladies, les catécholamines (adrénaline et noradrénaline) agissent sur les récepteurs des cellules musculaires, des artérioles alimentant les glomérules, provoquant une vasoconstriction de ces artérioles. Le glomérule n'étant plus alimenté, plusieurs aspects morphologiques, notamment une diminution de l'espace de Bowmann, en seraient affectés et par conséquent la fonctionnalité même du glomérule. Dès lors, une « dégénérescence » serait observée. La forme du glomérule étant fortement modifiée, celui-ci n'apparaîtrait plus clairement sur les coupes histologiques. Même si un poisson ne peut être comparé à un humain, il serait néanmoins intéressant de suivre l'évolution de ces catécholamines, principalement l'adrénaline, suite à un stress de confinement important et ce durant la période de smoltification et de mettre en relation cette hormone avec l'évolution de la densité glomérulaire.

Facteur de condition

Cet indicateur donne une idée de l'affinement du poisson au cours de la smoltification. Les valeurs qui ont été observées sont en accord avec celles de la littérature. Ainsi, d'après cet indicateur, nous avons le 1^{er} mars exclusivement des parrs et le 1^{er} juin exclusivement des smolts. Cet affinement résulte d'une forte utilisation des réserves lipidiques et protidiques. L'analyse statistique n'a pu montrer de différence significative entre les deux conditions. Une évolution quasi identique a en effet été observée.

Chez les téléostéens, il a été montré que les hormones thyroïdiennes promouvait la mobilisation des lipides et influençait de manière générale le métabolisme des carbohydrates (Folmar et Dickhoff, 1980). Dès lors, si une différence significative avait été observée entre les deux conditions, une première tentative d'explication aurait pu être apportée par le suivi des hormones thyroïdiennes.

Poids et SGR

Nous avons observé durant toute l'expérience un poids relativement stable, et ce pour les deux conditions. Le poids moyen chez les témoins étant le 1^{er} mars de 39.1 g et le 1^{er} juin de 37.8 g. La valeur la plus basse a été observée le 14 avril avec un poids moyen de 33.4 g. Chez les confinés, le poids moyen le 1^{er} mars est de 42.95 g et le 1^{er} juin de 39.7 g. La valeur la plus basse est également observée le 14 avril avec un poids moyen de 32.43 g. Le SGR, évaluant le taux de croissance, suit également cette tendance à la stabilisation au sein des deux conditions.

Les poissons étant nourris avec une ration maximale, on s'attendrait à voir au cours du temps, une augmentation du poids moyen. Mais, cependant, n'oublions pas que notre étude se focalisait sur le phénomène de smoltification, à savoir un processus détournant une partie importante de l'énergie acquise par l'alimentation. D'autre part, il est connu qu'un stress peut provoquer la diminution du taux de la GH (growth hormone), et contribuer à la réduction de la croissance.

Effet du confinement

Si nous faisons la synthèse des analyses statistiques, nous remarquons que seulement deux indicateurs sur cinq sont différents entre les deux conditions. L'activité Na^+/K^+ ATPasique et le glycogène hépatique. Néanmoins, sur les deux analyses réalisées pour chaque indicateur, l'ANOVA simple (0.05) et le test-*t* de Student (0.05), seul l'ANOVA a décelé une différence significative.

Le suivi du cortisol plasmatique, hormone essentielle dans la réponse à un stress, nous a permis d'observer que les concentrations en cortisol étaient en moyenne, durant la smoltification, plus faibles chez les confinés que chez les témoins. Excepté à une date, le 6 mai. Dès lors, une hypothèse peut être énoncée. Celle selon laquelle un confinement de 4 mois, tel que défini dans cette expérience, subi durant la smoltification par *S. salar*, n'entraînerait pas d'augmentation significative du taux plasmatique en cortisol, excepté au moment où le poisson s'approcherait de l'état final de smolt.

Si nous avons mis en évidence chez tous les indicateurs une différence significative entre les deux conditions étudiées, nous aurions du, malgré tout, faire attention dans nos conclusions. La différence entre le bassin témoin et les deux bassins de confinement ne différant pas de manière drastique. Ainsi nous aurions pu accentuer encore plus la différence avec, par exemple, un rapport de volume de 10 entre les deux conditions. De plus, nous nous sommes limités dans cette étude à une seule condition de confinement. De ce fait, il aurait été intéressant, afin d'évaluer réellement l'effet du confinement, d'ajouter un bassin où seule la superficie aurait été modifiée par rapport à la condition témoin.

Chapitre 5 :

Conclusions et perspectives

Chapitre 5 : Conclusions et perspectives

Si la littérature scientifique regorge d'informations sur la smoltification du saumon atlantique (*Salmo salar* L.), nous n'avons, au contraire, trouvé aucune étude sur l'effet d'un stress chronique, tel que le confinement, sur la smoltification de *S. salar*. Dès lors, il en découle dans ce mémoire une tendance générale aux questions plus qu'aux affirmations.

La difficulté de cette étude est de comprendre la superposition d'un stress, à savoir le phénomène de smoltification, à un autre stress tel que le confinement.

Est-ce que le stress de confinement amplifie ou au contraire réduit le processus de smoltification ? Est-ce que le stress de confinement accélère ou retarde le phénomène de smoltification ? Ces questions resteront sans réponses. Néanmoins, cette étude apporte des observations qu'il serait intéressant de confirmer.

Parmi elles, notons l'activité Na^+/K^+ ATPasique. Nous avons en effet observé à la date du 6 mai, une activité 3 fois plus importante chez les confinés par rapport aux témoins. Cet indicateur semble également nous indiquer, de par son maximum observé le 6 mai, que la smoltification de la souche irlandaise serait tardive. Un autre indicateur qui lui, a donné des résultats étonnants, est la densité glomérulaire. Nous avons en effet observé une stabilisation de cette densité. Si ces résultats sont confirmés, c'est un chapitre entier qui s'ouvre pour la compréhension de cette observation.

Le dosage du glycogène hépatique nous a révélé une concentration plus importante chez les poissons confinés durant toute la smoltification. Nous remarquons également qu'à la date du 6 mai, la concentration moyenne en glucose hépatique est plus importante chez les confinés par rapport à celle observée chez les témoins. Le dosage du taux plasmatique de cortisol est un élément intéressant dans cette étude. Il semblerait que la concentration en glucose hépatique ainsi que l'activité ATPasique soient liées à la concentration en cortisol.

Si l'expérience était à refaire, différents facteurs pourraient être modifiés.

Il serait intéressant d'effectuer un ajustement sur les indicateurs à suivre et sur les conditions de confinement. Nous pourrions également ajouter une autre condition de confinement.

- Parmi l'ensemble des indicateurs qui ont été suivis dans cette expérience, il en est deux indispensables à savoir, le cortisol et l'activité Na^+/K^+ ATPasique. Le cortisol étant une hormone essentielle à la réponse à un stress et l'activité Na^+/K^+ ATPasique permettant d'évaluer l'état physiologique du poisson. Mieux encore que le dosage du taux plasmatique, le dosage des récepteurs à cette hormone aurait été plus intéressant. L'étude histologique par le suivi de la densité glomérulaire pourrait être, quant à elle, plus discutée. L'analyse des coupes n'est en effet pas toujours aisée.

De manière à confirmer le pic ATPasique, il serait intéressant de doser la thyroxine (T4). Cette hormone, impliquée dans le déclenchement du comportement migratoire, est en effet connue pour avoir un pic 2 à 3 semaines plus tardif à celui de la Na^+/K^+ ATPase.

- Il serait également intéressant d'accentuer la condition de confinement par rapport à celle du témoin. Nous pourrions imaginer un rapport de volume de 10 entre les deux conditions. Ceci entraînant chez les confinés une condition beaucoup plus stressante que la nôtre.

- Il serait également intéressant d'ajouter dans l'expérience une autre condition de confinement. En effet, dans notre expérience, nous avons en réalité uniquement modifié la hauteur d'eau. Nous pourrions donc imaginer ajouter un bassin dans lequel nous modifierions non plus la hauteur mais la superficie.
- De manière à garder exactement les mêmes conditions au cours du temps, il aurait sans doute été intéressant de remplacer, à chaque échantillonnage, les poissons prélevés.
- Nous pourrions également adapter l'expérience de telle sorte que les poissons prélevés sur l'ensemble de l'expérience aient subi une même durée de confinement.

Enfin, de manière à rendre l'expérience attrayante, il aurait été intéressant de disposer les poissons dans des bassins d'élevage circulaire. Ces bassins sont munis d'une pompe puissante générant un courant circulaire important. En début d'expérience, nous aurions observé les parrs concentrés à la sortie d'eau, luttant ardemment contre le courant. En fin d'expérience, par contre, nous aurions eu l'ensemble des poissons concentrés de l'autre côté, où le débit est minimum, les smolts se laissant aller avec le courant. Ceci constituerait donc un indicateur supplémentaire, aisé à observer, renseignant sur l'état de smoltification du poisson.

Chapitre 6 :
Références bibliographiques

Chapitre 6 : Références bibliographiques

Ade, R. (1989). The Trout and Salmon handbook. London.

Agustsson, T., Sundell, K., Sakamoto, T., Ando, M., Björnsson, B.T. (2003). Pituitary gene expression of somatolcatin, prolcatin, and growth hormone during Atlantic salmon parr-smolt transformation. *Aquaculture* **222**: 229-238.

Andreassen, P. M. R., Martinussen, M.B., Hvidsten, N.A. and Stefansson, S.O. (2001). Feeding and prey-selection of wild Atlantic salmon post-smolts. *Journal of Fish Biology* **58**(6): 1667-1679.

Avella, M. a. B., M. (1989). A new analysis of ammonia and sodium transport through the gills of the freshwater rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Biol.* **142**: 155-175.

Balm, P. H. M., Lambert, J.D.G., Wendelaar Bonga, S.E. (1989). Corticosteroid biosynthesis in the interrenal cells of the teleost fish, *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology* **76**: 53-62.

Barron, M. G. (1986). Endocrine control of smoltification in anadromous salmonids. *Journal of Endocrinology* **108**: 313-319.

Bates, D. J., Barrett, Bruce A., McKeown, Brian A. (1988). Daily variation in plasma growth hormone of juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Can.J.Zool* **67**: 1246-1248.

Björnsson, T. B., Stefansson, O.S., Hansen, T. (1995). Photoperiod regulation of plasma growth levels during parr-smolt transformation of Atlantic salmon: implications for hypoosmoregulatory ability and growth. *Gen.Comp.Endocrinol.* **100**: 73-82.

Bodznick, D. (1978). Calcium ion: an odorant for natural water discriminations and the migratory behavior of sockeye salmon. *J. Comp. Physiol.* **127**: 157-166.

Boeuf, G. (1987). Bases physiologiques de la salmoniculture (2ème partie): Le phénomène de la smoltification. *La pisciculture française* **88**: 5-21.

Boeuf, G. (1987). Bases physiologiques de la salmoniculture: osmorégulation et adaptation à l'eau de mer. *La pisciculture française* **87**: 28-40.

Boeuf, G. (1993). Salmonid smolting: a pre-adaptation to the oceanic environment, in *Fish Ecophysiology*, Chapman & Hall, London, New-York, Tokyo, Melbourne, Madras.

Boeuf, G. (1994). La phase de préadaptation à la vie en mer: la smoltification, in : *Le Saumon Atlantique*. Plouzané.

Boeuf, G., Uin, Linda M., Eagles, J.G. (1989). Plasma levels of free and bound thyroid hormones during parr-smolt transformation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Can.J.Zool* **67**: 1654-1658.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.

Chang, W. a. L., C.A. (1991). Identification of a stretch-activated monovalent cation channel from teleost urinary bladder cells. *J. Exp. Zool.* **259**: 304-315.

Collie, N. L. a. B., H.A. (1982). Changes in intestinal fluid transport associated with smoltification and seawater adaptation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *J. Fish. Biol* **21**: 337-348.

- Cooper, J. C., et al. (1976). Experimental confirmation of the olfactory hypothesis with homing, artificially imprinted coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* **33(4)**: 703-710.
- Davaine, P., Prouzet, P. (1994). La vie marine du saumon atlantique dans son aire géographique.
- de Renzis, G. (1975). The branchial chloride pump in the goldfish *Carassius auratus*: relationship between Cl-/HCO₃- and Cl-/Cl- exchanges and the effects of thiocyanate. *J. Exp. Biol.* **63**: 587-602.
- de Renzis, G., Bornancin, M. (1984). Ion transport and gill ATPases, in: *Fish Physiology*, Academic Press, San Diego.
- Devos, E. (1998). Impact du cadmium sur la morphologie et la physiologie des cellules à chlorure branchiales au cours du développement du saumon atlantique (*Salmo salar* L.). URBO. Namur, FUNDP.
- Dittman, A. H, Quinn, T.P. (1996). Homing in pacific salmon: Mechanisms and ecological basis. *The journal of experimental biology* **199**: 83-91.
- Eddy, F., B., Talbot, C. (1985). Urine production in smolting Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* **45**: 67-72.
- Fagan, M. S., O'Byrne-Ring, N.O., Ryan, R., Cotter, D., Whelan, K., Mac Evilly, U. (2003). A biochemical study of mucus lysozyme, proteins and plasma thyroxine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during smoltification. *Aquaculture* **222**: 287-300.
- Folmar, L. C., Dickhoff, W.W. (1980). The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids. *Aquaculture* **21**: 1-37.
- Fontaine, M. (1951). Remarques sur certains comportements du saumon. *Bulletin français de pisciculture* **160**: 85-88.
- Fontaine, M., et Olivereau, M. I. (1957). Interrénal antérieur et smoltification chez *Salmo salar* (L). *J. Physiol* (Paris) **49**: 174-176.
- Foster, J. R., Schom, C.B. (1989). Imprinting and homing of Atlantic salmon (*Salmo salar*) Kelts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci* **46**: 714-719.
- Gaignon, J.-L. (1987). L'élevage des juvéniles de saumon atlantique (*Salmo salar*). *La pisciculture française* **90**: 5-13.
- Gorbman, A., Dickhoff, W.W., Mighell, J.L., Prentice, E.F and Waknitz, F.W. (1982). Morphological indices of developmental progress in the parr smolt coho salmon. *Aquaculture* **28(1-2)**: 1-20.
- Goss, G. G., Laurent, P., and Perry, S.F. (1992). Evidence for a morphological component in acid-base regulation during environmental hypercapnia in the brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*). *Cell Tissue Res.* **268**: 539-552.
- Grau, G. E., Prunet, P., Gross, T., Nishioka, R.S and Bern, H.A (1982). Factors determining the occurrence of the surge in thyroid activity in salmon during smoltification. *Aquaculture* **28(1-2)**: 49-58.
- Gwinner, E. (1981). Annual rhythms: perspective in biological rhythms in, *Handbook of behavioural neurobiology*, Publishing corp., New-York.
- Handeland, S. O., Björnsson, B.Th., Arnesen, A.M., Stefansson, S.O. (2003). Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) of wild and farmed strains. *Aquaculture* **220**: 367-384.
- Hara, T. J., Gorbman, A., et Ueda, L. (1966). Influence of the thyroid upon optically evoked potentials in the optic tectum of the goldfish. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **122**: 471-475.

- Hasler, A. D., & Scholz, A.T. (1983). Olfactory imprinting and homing in salmon.
- Hasler, A. D., A.T.Scholz et R.M.Horrall. (1978). Olfactory imprinting and homing in salmon. *Am.Sci.* **66**: 347-355.
- Hayes, F. R. (1953). Artificial Freshets and Other Factors Controlling the Ascent and Population of Atlantic Salmon in the LaHave River, Nova Scotia. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin no. 99*.
- Hess, E. H. (1973). imprinting: early experience and the developmental psychobiology of attachment. *Am. Sci.* **66**: 347-355.
- Higgins, P. J. (1985). Metabolic differences between Atlantic salmon *Salmo salar* parr and smolts. *Aquaculture* **45 (1-4)**: 33-53.
- Hirano, T., Jonhson,D.W., Bern, H.A., et Utida,S. (1973). Studies of water and ion movement in the isolated bladder of selected freshwater, marine and euryhaline teleosts. *Comp.Biochem.Physiol* **45**: 529-540.
- Hoar, W. S. (1939). The thyroid gland of the Atlantic salmon. *J.Morphol* **65**: 257-295.
- Hoar, W. S. (1965). The endocrine system as a chemical link between the organism and its environment. *Trans. R. Soc. Can. Ser. IV* **3**: 175-200.
- Hoar, W. S. (1976). Smolt transformation: evolution, behavior and physiology. *J.Fish.Res.Board.Can.* **33**: 1234-1252.
- Hoar, W. S. (1988). The physiology of smolting salmonids, in: *Fish Physiology*. San Diego, Academic Press.
- Holmqvist, B., Goksoyr,A.,Oyan,A. (1998). Distributional expression of brain neuronal nitric oxide synthase mRNA during developmental life stages of Atlantic salmon. *Soc.Neurosc.*
- Idler, D. R. J. R. M., R.E.E.Jones, et N.Tomlinson. (1961). Olfactory perception in migrating salmon. II. Studies on a laboratory bio-assay for homestream water and mammalian repellent. *Can.J.Biochem.Physiol* **39**: 1575-1584.
- Karnaky, K. J. J. (1998). Osmotic and ionic regulation, in the physiology of fishes, CRC Press LLC.
- Krogh, A. (1938). The active absorption of ions in some freshwater animals. *Z. Vergl. Physiol.* **25**: 335-350.
- Kulczykowska, E., Sokolowska,E., Takvam,B., Stefansson,S., Ebbesson,L. (2004). Influence of exogenous thyroxine on plasma melatonin in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* **137**: 43-47.
- Langdon, J. S., Thorpe,J.E., Roberts,R.J. (1984). Effects of cortisol and ACTH on gill Na⁺/K⁺-ATPase, SDH and chloride cells in juvenile atlantic (*salmo salar* L.). *Comp.Biochem.Physiol* **77A, No 1**: 9-12.
- Laurent, P., Goss, G.G., and Perry, S.F. (1994). Proton pumps in fish gill pavement cells ?. *Arch. Int. physiol. Biochim. Biophys.* **102**: 77-79.
- Laurent, P. a. P., S.F. (1990). Effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in the freshwater trout, *Salmo gairdneri*. *Cell Tissue Res.* **259**: 429-442.
- Lin, H., Pfeiffer, D.C., Vogl, A.W., Pan, J., and Randall, D.J. (1994). Immunolocalization of H⁺-ATPase in the gill epithelia of rainbow trout. *J. Exp. Biol.* **195**: 169-183.
- Lin, H. a. R., D.J. (1995). Proton pumps in fish gills, in: *Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation*, Academic Press, San Diego.

- Loretz, C. A., Collie, N.L., Richman III, N.H., and Bern, H.A. (1982). Osmoregulation changes accompanying smoltification in coho salmon. *Aquaculture* **28**: 67-74.
- Madsen, S. S. (1990). The role of cortisol and growth hormone in seawater adaptation and development of hypoosmoregulatory mechanisms in sea trout parr (*Salmo trutta trutta*). *General and comparative endocrinology* **79**: 1-11.
- McCormick, S. D. (1995). Hormonal control of gill Na^+ , K^+ -ATPase and chloride cell function, in: *Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation.*, Academic Press, San Diego.
- McCormick, S. D., Saunders, R.L., Henderson, E.B., and Harmon, P.R. (1987). Photoperiod control of parr-smolt transformation in atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in salinity tolerance, gill Na^+ , K^+ -ATPase activity, and plasma thyroid hormones. *Can. J. Fish. Aquat. Sci* **44**: 1462-1468.
- Menzies, W., J.M. (1931). The salmon. Blackwood, Edinburgh.
- Mills, D. H. (1989). Ecology and management of Atlantic salmon. London, New-York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- Mills, D. H. e. G., N.W. (1981). The salmon, Rivers of Scotland. Cassell, London.
- Morgan, I. J., Potts, W.T.W., and Oates, K. (1994). Intracellular ion concentrations in branchial epithelial cells of brown trout (*Salmo trutta* L.) determined by x-ray microanalysis. *J. Exp. Biol.* **194**: 139-151.
- Nilsen, T. O., Ebbesson, Lars O.E., Stefansson, Sigurd O. (2002). Smolting in anadromous and landlocked strains of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **222**: 71-82.
- Nishioka, R. S., Bern, H.A., Lai, K.V, Nagahama, Y. and Grau, E.G. (1982). Changes in the endocrine organs of coho salmon during normal and abnormal smoltification-an electron microscopy study. *Aquaculture* **28**: 21-38.
- Nishioka, R. S., Richman, N.H., Young, G., Prunet, P., and Bern, H.A. (1987). Hypophysectomy of coho salmon and survival in freshwater and seawater. *Aquaculture* **28**: 21-38.
- Nørby, J. G. (1988). Coupled assay of Na^+ , K^+ -ATPase activity, in: Methods in enzymology, Biomembranes, Part P, ATP-driven pumps and related transport: the Na,K-pump. S. Fleischer and B. Fleischer, Academic Press, San Diego: pp: 116-119.
- Nordeng, H. (1977). A pheromone hypothesis for homeward migration in anadromous salmonids. *Oikos* **28**: 155-159.
- O'Byrne-Ring, N., Dowling, K., Cotter, D., Whelan, K. and MacEvilly, U. (2003). Changes in mucus cell numbers in the epidermis of the Atlantic salmon at the onset of smoltification. *Journal of Fish Biology* **63**(6): 1625.
- Pelis, R. M., McCormick, S.D. (2001). Effects of growth hormone and cortisol on Na^+ - K^+ -2Cl⁻ cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic salmon. *Gen.Comp.Endocrinol* **124**: 134-143.
- Perry, S. F. (1997). The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. *Annu. Rev. Physiol* **59**: 325-347.
- Perry, S. F., Goss, G.G., and Laurent, P. (1992). The interrelationships between gill chloride cell morphology and ionic uptake in four freshwater teleosts. *Can. J. Zool* **70**: 1775-1786.
- Perry, S. F. a. L., P. (1989). Adaptational responses of rainbow trout to lowered external NaCl concentration: contribution of the branchial chloride cell. *J. Exp. Biol.* **147**: 147-168.

- Perry, S. F. R. (1981). Effects of amiloride and SITS on branchial ion fluxes in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *D.J. J. Exp. Zool.* **215**: 225-228.
- Philippart, J.-C. (1985). Revertions-nous des saumons dans la meuse? *Cahiers éthologiques Appl.* **5**: 189-226.
- Philippart, J.-C. (1988). Le saumon. *Environnement* **4/88**: 1-16.
- Pickering, A., Pottinger TG, Carragher J, Sumpter JP. (1987). The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. *Gen Comp Endocrinol.* **68**(2): 249-59.
- Pisam, M., Prunet,P., Boeuf,G., and Rambourg,A. (1988). Ultrastructures features of chloride cells in the gill epithelium of the Atlantic salmon *Salmo salar*, and their modifications during smoltification. *Am.J.Anat* **183**: 235-244.
- Pisam, M., Prunet,P., Boeuf,G., and Rambourg,A. (1988). Ultrastructures features of chloride cells in the gill epithelium of the Atlantic salmon *Salmo salar*, and their modifications during smoltification. *Am.J.Anat* **183**: 235-244.
- Plisetskaya, E. M., Swanson,P., Bernard,M.G and Dickhoff,W.W. (1988). Insulin in Coho salmon (*Oncorhynchis kisutch*) during the parr to smolt transformation. *Aquaculture* **72**: 151-164.
- Prunet, P., Boeuf,G.,Bolton,Jonathan P.,Young,G. (1989). Smoltification and seawater adaptation in atlantic salmon (*Salmo salar*): Plasma prolactin,Growth hormone, and Thyroid Hormones. *General and comparative endocrinology* **74**: 355-364.
- Ricker, W. E. (1979). Growth rates and models. In: W.S.Hoar,D.J.Randall and J.R.Brett (Editors),Fish Physiology, Vol.8.Academic Press,New York, NY , pp. 213-236.
- Robertson, J. C. a. B., Terence M. (1991). Hepatic Ultrastructure changes associated with the parr-smolt transformation of atlantic salmon (*Salmo salar*). *The journal of experimental zoology* **260**: 135-148.
- Ruane, N. M., E. A. Huisman and J. Komen (2001). Plasma cortisol and metabolite level profiles in two isogenic strains of common carp during confinement. *Journal of Fish Biology* **59**(Issue 1): 1-12.
- Sheperd, K. L. (1994). Functions of fish mucus. *Rev. Fish.Biol.Fish* **4**: 401.
- Silva, P., Solomon, R., Spokes, K., and Epstein, F.H. (1977). Ouabaïn inhibition of gill Na⁺-K⁺ ATPase: relationship to active chloride transport. *J. Exp. Zool.* **199**: 419-426.
- Singer, T. D., Finstad,B., McCormick,S.D., Wiseman,S.B., Schulte,P.M., McKinley,S.R. (2003). Interactive effects of cortisol treatment and ambient seawater challenge on gill Na⁺/K⁺-ATPase and CFTR expression in two strains of Atlantic salmon smolts. *Aquaculture* **222**: 15-28.
- Smith, D. C. (1956). The roles of the endocrines organ in the salinity tolerance of trout. *Mem.Soc.Endocrinol* **5**: 83-101.
- Solbakken, V. A., Hansen,T. et Stefansson,S.O. (1994). Effects of photoperiod and temperature on growth and parr-smolt transformation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and subsequent performance in seawater. *Aquaculture* **121**: 13-27.
- Specker, J. L. (1982). Interrenal function and smoltification. *Aquaculture* **28**: 59-66.
- Stewart, L. (1973). Environmental engineering and monitoring in relation to salmon management. International atlantic salmon Foundation special publications **4,1**: 297-316.

- Sullivan, C. V., Fryer, J.N., and Perry, S.F. (1996). Localization of mRNA for proton pump (H⁺-ATPase) and Cl-/HCO₃- exchanger in rainbow trout gill. *Can. J. Zool.* **74**(11): 2095-2103.
- Thorpe, J. (1977). Bimodal distribution of length of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. under artificial rearing conditions. *J.Fish.Biol* **11**: 175-184.
- Threadgold, L. T., and Houston, A.H. (1961). An electron microscope study of the chloride secretory cell of *Salmo salar* L. with reference to plasma electrolyte regulation. *Nature* **190**: 612-614.
- Uchida, K., T,Kaneko.,M,Tagawa.,T.Hirano. (1998). Localization of cortisol receptor in Branchial Chloride Cells in Chum Salmon Fry. *General and comparative endocrinology* **109**: 175-185.
- Ura, K., Hara,A., and Yamauchi,K. (1994). Serum thyroid hormone,guanine and protein profiles during smoltification and after thyroxine treatment in the masu salmon,*Onchorhynchus masou*. *Comp.Biochem.Physiol* **38A**: 443-447.
- Virtanen, E. (1987). Correlations between energy metabolism,osmotic balance and external smolt indices in smolting young salmon,*Salmo salar* L. *Ann.Zool.Fennici* **24**: 71-78.
- Wagner, H. H. (1974). Photoperiod and temperature regulation of smolting in steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Zool.* **52**: 219-234.
- Wedemeyer, G. A., Saunders, R.L. and Clarke,W.C. (1980). Environmental factors affecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids. *Mar.Fish.Rev* **42**: 1-14.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological Reviews* **77**(3): 591-625.
- Wisby, W. J., Hasler, A.D. (1954). Effect of olfactory occlusion on migrating silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Bd Can.* **11**: 472-478.
- Wright, P. A., Wood., C.M. (1985). An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: effects of environmental pH change and sodium uptake blockade. *J. Exp. Biol.* **114**: 329-353.
- Young, G. (1988). Enhanced reponse of the interrenal of coho salmon to ACTH after growth hormone treatment in vivo and in vitro. *Gen.Comp.Endocrinol* **71**: 85-92.
- Zaugg, W. S., McLain., L.R (1970). Adenosine triphosphate activity in gills of salmonids: Seasonal variations and salt water influence in coho salmon, *Onchorynchus kisutch*. *Comp.Biochem.Physiol* **35**: 587-596.

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

25 AOUT 2004