



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE (INPL)**  
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Agroalimentaires  
ÉCOLE DOCTORALE : Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits,  
Environnement (RP2E)

**THESE**

Présentée pour l'obtention du grade de docteur de l'INPL  
Discipline : Sciences agronomiques

Par

**Marie-Dorothee CASTETS**

**Fonction de reproduction et régulation de la qualité  
chez la perche commune *Perca fluviatilis***

Soutenue publiquement le 14 Novembre 2011

**Membres du jury :**

- M. Jean Brun-Bellut – Université Henri Poincaré Nancy 1 (Président du jury – Examineur)
- M. Pascal Fontaine – Université Henri Poincaré Nancy 1 (Directeur de thèse)
- M. Alexis Fostier – Institut National de Recherche Agronomique de Rennes (Rapporteur)
- M. Marc Legendre – Institut de Recherche pour le Développement Montpellier (Rapporteur)
- M. Charles Mélard – Centre de Formation et de Recherches en Aquaculture (Examineur)
- M. Frédéric Silvestre – Université de Namur (Examineur)

Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR AFPA)  
Equipe Domestication en Aquaculture Continentale (DAC)  
Faculté des Sciences et Technologies - Université Henri Poincaré - Nancy 1  
Boulevard des Aiguillettes B.P. 239 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex



## Remerciements

Cette étude a été menée grâce au soutien financier du ministère de l'éducation nationale, des crédits incitatifs INRA-Phase, et de l'UR.AFPA (Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux).

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de mon jury, Marc Legendre, Charles Mélard, Alexis Fostier, Frédéric Silvestre et Jean Brun-Bellut qui ont accepté de juger ce travail.

Merci à Guido Rychen, directeur de l'UR.AFPA, d'avoir bien voulu m'accueillir dans son équipe.

Je tiens particulièrement à remercier Pascal Fontaine, mon directeur de thèse, qui m'a donné la chance de mener à bien ce sujet d'étude, en me guidant et m'encadrant, particulièrement dans les moments difficiles où tout pouvait sembler perdu. J'espère réussir un jour à développer votre force de caractère, et surtout, votre optimisme.

Un grand merci à Jean-Noël Gardeur, co-encadrant de mon travail. Merci particulièrement pour votre aide « statistique », et votre disponibilité.

Merci bien entendu à tous les membres de l'équipe Domestication en Aquaculture continentale. Yannick et Alain, qui ont veillé attentivement sur mes perches, par tous les temps, même les plus froids, et m'ont rendu de nombreux services. Fabrice pour les longues discussions scientifiques malgré son emploi du temps chargé. Marielle pour les coups de main lors des prélèvements, les croissants et les blagues de la pause café du matin. Bérénice, ma « coach », qui m'a apporté pourtant bien plus que le rôle qu'elle semble s'attribuer. Merci pour ta patience, je sais que je n'ai pas toujours été drôle. « Une étudiante en fin de thèse », je sais... Merci également à Jean-Brun Bellut, responsable de notre équipe, qui a accepté de participer à mon jury.

Merci aux membres de l'équipe MRCA qui ont toujours été disponibles pour moi. Marie-Antoinette, Claire, Pamela, Christine, qui m'ont permis de réaliser mes analyses biochimiques, et Catherine qui est toujours disponible.

Merci aux membres de l'équipe PB2P, particulièrement à Catherine Corbier pour son aide en protéomique, et Jean-Michel Girardet pour les dosages hormonaux.

Merci à Michel Marie qui m'a également aidé pour mes dosages.

Merci à tous les thésards de l'URAFPA, et tout particulièrement au soutien de Guillemette et Julie, qui ont partagé mon étage et mes râleries, particulièrement en fin de thèse ; Angélique pour ton aide et ta disponibilité lors des prélèvements de poissons, pour toutes les fois où tu m'as emmenée sur le terrain et surtout pour toute l'amitié, la gentillesse et l'écoute dont tu as fait preuve à mon égard ; Awatef, compagne de bureau et de galère, de manque d'organisation, tu verras, un jour, on arrivera à s'organiser et à ranger ! Agnès, et sa gentillesse, et surtout son aide et sa capacité à me faire penser aux choses auxquelles je ne pense jamais (paperasse, quand tu nous tiens ! ou pas...) ; Abdul, et sa capacité à faire une prise de sang de 1,5 mL sur les poissons les plus récalcitrants en un temps record,

un jour, je te battrais ! Merci aussi à Cécile, et au rire communicatif de Fayçal ; Merci à mon petit soleil tunisien, Imen, en tant que stagiaire et amie ; c'est agréable de pouvoir faire confiance à 100% lors des gros coups de bourre. Merci aux stagiaires qui m'ont aidé dans mon travail, en particulier Kevin qui m'a suivie pendant un mois printanier tous les matins avant le lever du soleil pour récupérer les pontes de perches capricieuses. Merci à Thibault et à Cindy, qui n'ont pas hésité à mettre la main à la pâte quand j'avais besoin d'aide, et me donner encore plus en dehors du labo.

Un grand merci à l'équipe URBE de Namur. Merci à Patric Kestemont de m'avoir accueilli dans son laboratoire. Merci à Frédéric Silvestre, qui m'a encadré durant quelques mois, m'a appris à « manipuler les protéines », avec patience. Merci Fred, de m'avoir mis dans le train le jour où le cœur de ma grand-mère a fatigué. Merci également aux « thésardes » URBE, qui m'ont fait apprécier particulièrement ce séjour belge : Jennifer, Virginie, Jessica, Marie-Aline, et Kathleen.

Merci également à l'équipe URBC, de m'avoir permis de réaliser une partie de l'analyse en 2D-DIGE, ainsi que l'identification. Tout particulièrement à Edouard Delaive et sa disponibilité, et Marc Dieu.

Merci à l'équipe du CEFRA de Liège qui m'a fourni les pontes de perches pour produire les géniteurs utilisés lors de mes expérimentations. Ainsi qu'à l'INRA de Thonon grâce auquel j'ai pu également avoir des pontes.

Merci au personnel du Muséum-Aquarium de Nancy.

D'un point de vue plus personnel, merci à tous ceux et celles qui m'ont soutenue durant ces 4 années, sans être directement impliqués dans ce travail. Merci aux copines du cheval, en particulier Phan et Angèle, mes amies, ainsi que Ludi, qui m'ont supportée jusqu'au bout. Adeline, à qui je pense et qui ne m'oublie pas malgré la distance. Merci à mes collocs, celles qui ont dû le plus subir mes humeurs... ma Bergamotte, ma Cyssi, petite Framboise, bien entendu ma Jade et ma Régates, sans lesquelles je n'aurais pas tenu le coup, je pense. Merci à mon cher ami québécois, Carol, soutien fidèle en sacrement, tabarnak !

Et bien entendu, merci à ma famille sans laquelle je ne serais jamais arrivée à ce niveau d'étude. Papa Castets et Maman Castets, qui ont toujours cru en moi, m'ont aidée et guidée toute ma vie. Tu vois, papa, cette perche qu'on m'a tendue, je l'ai bien saisie, et je ne l'ai pas lâchée ! Merci maman pour les coups de pieds aux fesses que tu m'as mis quand je parlais d'arrêter. Tu avais raison, ça vaut le coup de continuer coûte que coûte. Et enfin merci mes sœurs, ma Ninie, qui m'a montré l'exemple du sérieux et ma « Petite » qui m'a soutenue dans mon travail. Merci à mes grands-parents, je pense à vous.

Merci à toutes les perches de tout âge qui ont permis de faire avancer la recherche.

## **Fonction de reproduction et régulation de la qualité chez la perche commune, *Perca fluviatilis***

**Résumé :** L'amélioration des performances de reproduction des poissons d'élevage nécessite de déterminer les facteurs intrinsèques et extrinsèques influençant la qualité des gamètes d'une part, et de définir des paramètres fiables permettant de prédire les performances de reproduction d'autre part. Notre objectif est donc de comprendre le déterminisme multifactoriel de la reproduction chez la perche commune, *Perca fluviatilis*. Quatre facteurs nutritionnels (type d'aliment et taux de rationnement distribués lors des phases d'induction et de vernalisation) et 3 facteurs populationnels (poids initial, origine géographique, niveau de domestication) ont été testés. Une différence de réponse entre les sexes a été observée. Le type d'aliment distribué en vernalisation et le poids initial ont modifié l'état général des femelles. Les mâles ont plutôt été sensibles aux taux de rationnement et à l'origine géographique. L'étude des performances de reproduction a montré que le taux de ponte était sous l'influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué en induction et en vernalisation, tandis que l'origine géographique a modulé la date de ponte. La régulation des performances de reproduction est donc un mécanisme complexe sous l'influence simultanée de plusieurs facteurs. La seconde partie de ce travail concerne la recherche de marqueurs prédictifs de la qualité des ovules. Nous avons d'abord montré que peu de paramètres morpho-anatomiques des pontes ou ovules sont des prédicateurs fiables. Cependant, l'analyse protéomique a permis de mettre en évidence plusieurs protéines exprimées différemment selon la qualité des pontes, pouvant jouer le rôle de biomarqueurs de qualité des ovules.

**Mots clés :** *Perca fluviatilis*, facteurs populationnels, facteurs nutritionnels, analyse multifactorielle, qualité des ovocytes, analyse protéomique.

## **Reproductive function and control of the quality of Eurasian perch, *Perca fluviatilis***

**Abstract:** Improving fish reproduction in breeding conditions implies to understand intrinsic and extrinsic factors influencing gametes quality on the one hand and to define relevant parameters allowing the prediction of fish reproductive performance on the other hand. Our goal was thus to understand the multifactorial determinism of the common perch (*Perca fluviatilis*) reproduction. Four nutritional factors (type of food and rate of rationing used either during the induction or vernalization phases) and 3 populational factors (initial weight, geographic origin and domestication level of breeders) have been tested. Data show different responses between females and males. type of food during wintering phase and initial broodstock weigh modified female condition. Males have been sensitive to rationing during wintering phase as well as geographical origin. Data show also that spawning rate was under the influence of interaction between kind of food during wintering phase and induction whereas geographical origin modulated the spawning date. The regulation of the performance reproduction is also a complex mechanism influenced by several factors. The second part of this work consisted on the research of parameters potentially predictive of ova quality. Firstly, our work shows that morphometric parameters measured before the fertilization are poorly relevant to predict reproductive performance. However, the proteomic analysis of several spawn allowed us to highlight proteins differently expressed according to the spawn quality, such proteins could be ova quality biomarkers.

**Keywords:** *Perca fluviatilis*, populational factors, nutritional factors, multiparameter study, oocytes quality, proteomic analysis.

# Sommaire

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>10</b>
<b>PARTIE A : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>13</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>14</b>
<b>Chapitre I. Rôle des facteurs déterminants et contrôle environnemental du cycle de reproduction.....</b>	<b>15</b>
I.1. Description du cycle de reproduction des poissons .....	15
I.2. Facteurs déterminants de la reproduction chez les poissons des eaux douces tempérées .....	17
I.2.1. Induction du cycle chez les espèces du groupe 2.....	18
I.2.2. Vitellogenèse chez les espèces du groupe 2 .....	20
I.2.3. Maturation ovocytaire et ponte chez les espèces du groupe 2 .....	21
I.2.4. Programme photo-thermique pour l'obtention de pontes hors-saison.....	21
I.2. Cycle de reproduction et contrôle hormonal .....	22
<b>Chapitre II. Régulation des performances de reproduction .....</b>	<b>25</b>
II.1. Evaluation des performances de reproduction.....	25
II.1.1. Qualité des ovocytes.....	26
II.1.1.1. Composition biochimique d'un ovocyte .....	26
II.1.1.2. Phénomène de surmaturation .....	35
II.1.1.3. Estimation de la qualité des ovocytes .....	35
II.1.2. Qualité des spermatozoïdes.....	41
II.1.2.1. Constitution du sperme.....	41
II.1.2.2. Estimation de la qualité du sperme.....	43
II.1.3. Qualité des œufs fécondés .....	46
II.1.4. Qualité des larves .....	48
II.2. Facteurs modulateurs.....	50
II.2.1. Facteurs environnementaux .....	50
II.2.1.1. Réponse au stress des géniteurs .....	51
II.2.1.2. Effet du stress sur la reproduction .....	53
II.2.1.3. Différentes sources de stress .....	55
II.2.1. Facteurs nutritionnels .....	57
II.2.1. Taux d'alimentation et reproduction .....	58
II.2.2. Effet de la qualité de l'alimentation sur les performances de reproduction .....	59
II.2.3. Facteurs populationnels .....	64
II.2.3.1. Effet parental.....	64
II.2.3.2. Niveau de domestication.....	66
II.2.3.3. Origine géographique .....	69
II.2.3.4. Densité des géniteurs.....	70
<b>Conclusion.....</b>	<b>72</b>
<b>PARTIE B : ETUDE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>74</b>
<b>Problématique scientifique .....</b>	<b>75</b>
<b>Influence de facteurs nutritionnels sur les performances de reproduction de la perche commune .....</b>	<b>78</b>
I. Matériel et Méthodes .....	78
I.1. Facteurs potentiellement influents.....	78

I.2. Dispositif expérimental.....	80
I.3. Structures expérimentales .....	83
Elevage en conditions photo-thermiques contrôlées.....	83
I.4. Suivi de la qualité de l'eau.....	86
I.5. Production des géniteurs de perche .....	86
I.5.1. Origine des géniteurs .....	87
I.5.2. Incubation .....	87
I.5.3. Elevage larvaire.....	87
I.5.4. Grossissement .....	87
I.5.5. Expérimentation : phase d'acclimatation .....	89
I.6. Contrôle photo-thermique du cycle de reproduction .....	89
I.7. Alimentation des poissons .....	90
I.7.1. Aliments utilisés et rationnement .....	90
I.7.2. Suivi de la qualité de l'alimentation .....	91
I.8. Marquage, sexe et équilibrage des sexes dans les bassins expérimentaux.....	93
I.8.1. Marquage et sexage des poissons .....	93
I.8.2. Ré-allotement.....	94
I.9. Suivi de la qualité du cycle de reproduction .....	94
I.9.1. Suivi des géniteurs.....	94
I.9.2. Suivi des performances de reproduction .....	97
II. Résultats .....	102
II.1. Comparaison de la composition des aliments distribués.....	102
II.2. Etat morphologique et physiologique des géniteurs au cours du cycle de reproduction.....	104
II.2.1. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonales des femelles.....	104
II.2.2. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonale des mâles .....	112
II.3. Evolution des paramètres de reproduction au cours du cycle .....	117
II.3.1. Paramètres reproducteurs des femelles.....	117
II.3.2. Paramètres reproducteurs des mâles.....	121
II.4. Suivi de la mortalité durant l'expérimentation.....	123
II.5. Evaluation des performances de reproduction .....	124
II.6. Modélisation des effets observés sur l'état des géniteurs et les performances de reproduction .....	128
II.6.1. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des femelles .....	128
II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des mâles .....	129
II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les performances finales de reproduction .....	130
<b>Influence de facteurs populationnels sur les performances de reproduction de la perche commune .....</b>	<b>132</b>
I. Matériel et Méthodes.....	132
I.1. Facteurs potentiellement influents.....	132
I.2. Dispositif expérimental.....	134
I.3. Structures expérimentales et suivi de la qualité de l'eau .....	137
I.4. Production des géniteurs de perche .....	137
I.4.1. Origines des géniteurs .....	137
I.4.2. Incubation des pontes .....	138
I.4.3. Elevage larvaire et grossissement.....	138
I.4.4. Expérimentation : phase d'acclimatation.....	139
I.5. Contrôle photo-thermique du cycle de reproduction .....	140
I.6. Alimentation des poissons .....	140
I.7. Marquage et sexage des géniteurs dans les bassins expérimentaux.....	140
I.8. Suivi du cycle de reproduction.....	141
I.8.1. Suivi des géniteurs.....	141
I.8.2. Suivi de la qualité des pontes .....	142

I.9. Analyses Statistiques .....	142
II. Résultats .....	143
II.1. Etat physiologique des géniteurs au cours du cycle de reproduction.....	143
II.1.1. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonales des femelles.....	143
II.1.2. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonales des mâles.....	154
II.2. Evolution des paramètres de reproduction au cours du cycle .....	164
II.2.1. Paramètres reproducteurs des femelles.....	164
II.2.2. Paramètres reproducteurs des mâles.....	168
II.3. Mortalité des géniteurs au cours du cycle de reproduction .....	170
II.4. Evaluation des performances de reproduction .....	171
II.5. Modélisation des effets observés sur l'état des géniteurs et les performances de reproduction .....	176
II.6.1. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des femelles .....	176
II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des mâles .....	179
II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les performances de reproduction .....	181
<b>Etude de la qualité des pontes de perche et analyse du profil protéomique des ovocytes.....</b>	<b>182</b>
I. Matériel et Méthodes .....	182
I.1. Principe expérimental .....	182
I.3. Structures expérimentales .....	185
I.3.1. Elevage des géniteurs en conditions photo-thermiques naturelles – Site expérimental de la Bouzule .....	185
I.4. Origine des géniteurs .....	186
I.5. Contrôle photo-thermique du cycle de reproduction – Conditions naturelles .....	186
I.6. alimentation des géniteurs.....	187
I.7. Marquage et sexage dans les bassins expérimentaux.....	188
I.8. Suivi de la qualité des pontes .....	188
I.8.1. Obtention des ovocytes .....	188
I.8.2. Mesure des paramètres morpho-anatomiques sur les pontes et les ovocytes non fécondés .....	189
I.8.3. Suivi des œufs (après fécondation) et des larves .....	189
I.9. Détermination de différents groupes de qualité.....	190
I.9.1. Etude statistique des paramètres reproducteurs.....	190
I.9.2. Comparaison des moyennes intergroupes .....	192
I.10. Analyse du protéome des ovocytes de perche : 2D-DIGE .....	192
I.10.1. Extraction des protéines.....	193
I.10.2. Précipitation et rinçage des protéines.....	193
I.10.3. Dosage des protéines .....	193
I.10.4. Electrophorèse 2D – Coloration DIGE .....	194
I.10.5. Détermination des spots d'intérêt .....	198
I.10.6. Electrophorèse 2D – Coloration au ruthénium – Picking.....	198
II. Résultats .....	200
II.1. Classification des pontes .....	200
II.1.1. Caractérisation des axes de l'Analyse en Composantes Principales.....	200
II.1.2. Détermination de deux classes correspondant à deux qualités de ponte .....	202
II.2. Profil protéomique .....	206
II.2.1. Détermination des abondances relatives des protéines par l'analyse en 2D-DIGE .....	206
II.2.2. Identification des spots par spectrométrie de masse .....	210
II.2.3. Fonctions cellulaires impliquées dans la régulation de la qualité des pontes .....	211
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>214</b>
<b>Chapitre 1 : Facteurs modulateurs du cycle de reproduction.....</b>	<b>215</b>

I.1. Méthodologie .....	215
I.2. Régulation multifactorielle de la croissance, de la condition et des caractéristiques morpho-anatomiques des géniteurs.....	217
I.2.1 Mortalité .....	217
I.2.2. Condition et croissance pondérale des géniteurs .....	218
I.2.2.1. Femelles.....	218
I.2.2.2. Mâles .....	224
I.2.3. Développement gonadique des géniteurs.....	225
I.2.3.1. Femelles.....	225
I.2.3.2. Mâles .....	231
I.2.4. Cortisolémie des géniteurs .....	232
I.3. Régulation multifactorielle des performances de reproduction .....	234
I.3.1. Paramètres quantitatifs.....	235
I.3.2. Paramètres qualitatifs.....	237
Conclusions.....	238
Chapitre 2 : Indicateurs de la qualité de la reproduction .....	241
II.1. Indicateurs morphométriques.....	241
II.2. Indicateurs moléculaires.....	245
<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>251</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>254</b>

## Liste des abréviations

AAL : Acide aminés libres  
AG : acide gras  
AGPI : acide gras poly insaturé  
APS : Ammonium persulfate  
ARA : acide arachidonique  
BSA : Bovine Serum Albumine  
C : Cortisol  
DateP : Date de ponte  
DHA : Acide docohexéanoïque  
DTT: dithiothreitol  
E2 : Oestradiol  
EPA : acide eicosapentaénoïque  
FecAbs : Fécondité absolue  
Fec : Taux de fécondation  
FecR : Fécondité relative  
K1 : Facteur de condition 1  
K2 : Facteur de condition 2  
IG : Indice de gras  
IGS : Indice gonado-somatique  
IHS : Indice hépato-somatique  
IPG : Immobilized PH Gradients  
Po : Poids ovocytaire  
SDS : Sodium Dodecyl Sulfate  
T : Testostérone  
TCS : Taux de croissance spécifique  
Temed : N, N, N', N'-tétraméthyléthylènediamine  
To : Taille ovocytaire  
TxF : Taux de fragmentation  
TxPonte : Taux de ponte  
11kT : 11 kéto-testostérone

# INTRODUCTION GENERALE

Suite à l'effondrement des stocks marins de poissons, l'aquaculture s'est récemment fortement développée. En effet, de par l'augmentation de la population mondiale et de la consommation accrue en produits aquatiques, ce secteur présente le plus fort taux de croissance des secteurs agro-alimentaires depuis les années 70 (FAO, 2007). Soutenue par la recherche, la filière piscicole française tente de « développer une aquaculture durable, intégrée dans son environnement, capable de produire en qualité et quantité avec un impact minimal et des méthodes respectueuses du bien-être des poissons et socialement acceptable » (Chatain et Vandepute, 2009). C'est dans ce cadre que la domestication et la production de nouvelles espèces se développent progressivement afin de promouvoir la production d'espèces autochtones et de répondre à la demande des marchés locaux.

Parmi les candidats à la domestication figure la perche commune *Perca fluviatilis* L. 1758, qui est un poisson carnivore noble dont la chair fine est recherchée en Europe, et plus particulièrement en Europe du nord et dans les pays du pourtour alpin (France, Suisse, Italie). Elle est également consommée dans le Nord-Est de la France, sa consommation en Suisse atteint 4000 t de filet par an (Fontaine, 2004a). Son comportement grégaire et son acceptation d'aliments formulés la prédisposent à un élevage en monoculture intensif (Fontaine, 2004b). C'est ainsi que plusieurs sociétés en Europe se sont lancées dans la production de cette espèce en circuit fermé (SARL Lucas Perches, SARL Asialor...). Cependant, certains points de blocage persistent, et limitent le développement de la perche en Europe. Il s'agit notamment de la maîtrise du cycle de reproduction et de la production de larves de qualité.

Depuis une vingtaine d'années environ, l'équipe DAC (Domestication en Aquaculture Continentale) vise à domestiquer la perche commune. Dans ce cadre, deux fonctions ont été principalement étudiées : la reproduction et la croissance. L'étude de la reproduction, qui nous intéresse plus particulièrement, a consisté en l'analyse des facteurs environnementaux qui pilotent le cycle. Il a été montré que le cycle de reproduction était principalement induit par une diminution de la photopériode (Abdufatah, 2010). La cinétique de la baisse de température et le moment d'application de la baisse photopériodique sont des facteurs modulateurs de l'entrée en gonadogenèse des géniteurs (Wang *et al.*, 2006). Après une phase de vernalisation obligatoire, les pontes sont induites par une augmentation finale de photopériode et de température. L'équipe est ainsi parvenue à comprendre le déterminisme

environnemental du cycle de reproduction de la perche et à développer un programme photothermique fiable permettant d'obtenir des pontes hors saisons, avec des taux de ponte avoisinant 100%. Cependant, les pontes obtenues présentaient une qualité très variable et souvent médiocre (faibles taux de fécondation et d'éclosion).

**Ainsi, l'objectif de ce travail concerne l'étude de la régulation de la qualité de la reproduction chez la perche commune.**

La variation des performances de reproduction est un phénomène courant en aquaculture, mais également dans le milieu naturel. Ces variations de qualité sont initialement induites par un ensemble de facteurs qui agissent principalement sur les géniteurs, lors de la gamétogenèse. Ceux-ci sont classés en trois grands groupes : les facteurs environnementaux, les facteurs nutritionnels et les facteurs populationnels (Wang, 2006). Bien que diverses études sur de nombreux facteurs aient été menées au sein de chaque grand groupe, la régulation multifactorielle qui en résulte est assez peu connue pour le moment. La majorité des études concerne en effet un unique facteur, étudié séparément. Il en résulte que les interactions potentielles entre les différents facteurs connus sont généralement ignorées. Pourtant, l'étude de Wang (2006) sur l'ensemble du cycle de reproduction de la perche a mis en valeur l'effet de plusieurs interactions (amplitude de la baisse de température \* timing de décroissance de la photopériode; amplitude de la baisse de température \* manipulation des poissons...) sur la qualité du sperme des géniteurs mâles. Les interactions ne doivent donc pas être ignorées.

L'impact des facteurs modulateurs sur la reproduction reste ainsi mal connu, et ce travail propose de comprendre le déterminisme multifactoriel et de quantifier les effets de facteurs potentiellement influents sur les performances de reproduction.

Bien que les performances de reproduction doivent être appréhendées dans leur globalité (investissement des géniteurs, aptitude à produire beaucoup de gamètes et à survivre ; capacité des spermatozoïdes à féconder les ovocytes ; capacité des œufs fécondés à produire des larves viables), la qualité de l'ovocyte est particulièrement incriminée, étant donné qu'il est le gamète possédant la quasi-totalité du matériel indispensable pour produire un embryon viable (ARNs, protéines, réserves énergétiques...). La compréhension des mécanismes moléculaires qui seraient à l'origine des différences de qualité observées peut aider à la compréhension du déterminisme de la qualité des ovocytes.

Ce manuscrit est composé de la façon qui suit :

Une synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence les différents facteurs qui vont induire et moduler la qualité de la reproduction chez les poissons. L'étude des caractéristiques des gamètes et des paramètres de reproduction permet de comprendre comment estimer les performances de reproduction des poissons.

Une partie expérimentale a ensuite consisté en la réalisation de trois expérimentations. Deux premières expériences s'intéressent à l'influence de facteurs nutritionnels et populationnels sur les performances de reproduction de la perche commune ; une troisième étude concerne la qualité des pontes de perche et l'analyse du profil protéomique des ovocytes correspondants.

Enfin, une discussion synthétise l'ensemble des résultats obtenus et les discute.

## **PARTIE A : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## INTRODUCTION

Dans le milieu naturel, la reproduction des poissons est induite par un ou plusieurs stimuli, correspondant à des variations de facteurs dits déterminants ou signaux. Ces stimuli entraînent la synchronisation du cycle de reproduction des poissons, tout particulièrement en milieu tempéré où la reproduction est annuelle. Ce synchronisme permet d'une part que les géniteurs mâles et femelles soient prêts simultanément pendant la période de reproduction, et d'autre part que les larves soient produites lorsque les conditions environnementales sont les plus favorables à leur survie et leur croissance (Sumpter, 1990 ; Teletchea et Fontaine, 2010 ; Wang *et al.*, 2010). Selon les espèces, les facteurs signaux qui pilotent le cycle varient en fonction de la stratégie de vie des poissons : la photopériode (durée du jour) et la température pour les poissons de zones tempérées ; saison des pluies, disponibilité en nourriture, changement des courants, salinité... pour les poissons de zones tropicales (Bromage *et al.*, 2001 ; Taranger *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2010).

Il existe également un certain nombre de facteurs qui font varier la réponse des géniteurs lors du cycle ainsi que leurs performances de reproduction. Ce sont des facteurs dit modulateurs. Ces facteurs, au-delà d'un seuil spécifique, peuvent inhiber la reproduction. Pour cette raison, on parle également de facteurs permissifs.

Après avoir décrit le cycle de reproduction des poissons et identifié les facteurs déterminants de ce cycle, nous allons étudier les différentes méthodes d'évaluation des performances de reproduction, en nous intéressant particulièrement à la qualité des gamètes ; enfin, nous pourrions identifier les facteurs modulateurs susceptibles de modifier les performances de reproduction. Nous nous intéressons plus particulièrement aux femelles et aux ovocytes.

# CHAPITRE I. RÔLE DES FACTEURS DÉTERMINANTS ET CONTRÔLE ENVIRONNEMENTAL DU CYCLE DE REPRODUCTION

## I.1. DESCRIPTION DU CYCLE DE REPRODUCTION DES POISSONS

Les gamètes produits par les géniteurs femelles sont appelés ovocytes. Ces cellules haploïdes de grande taille sont obtenues à l'issue du processus d'ovogenèse, qui peut durer une année ou plus (Tyler et Sumpter, 1996). Au cours d'un cycle de reproduction, l'ovogenèse comprend 3 phases successives correspondant à des stades histologiques bien distincts pour les gonades :

### - Phase de croissance initiale :

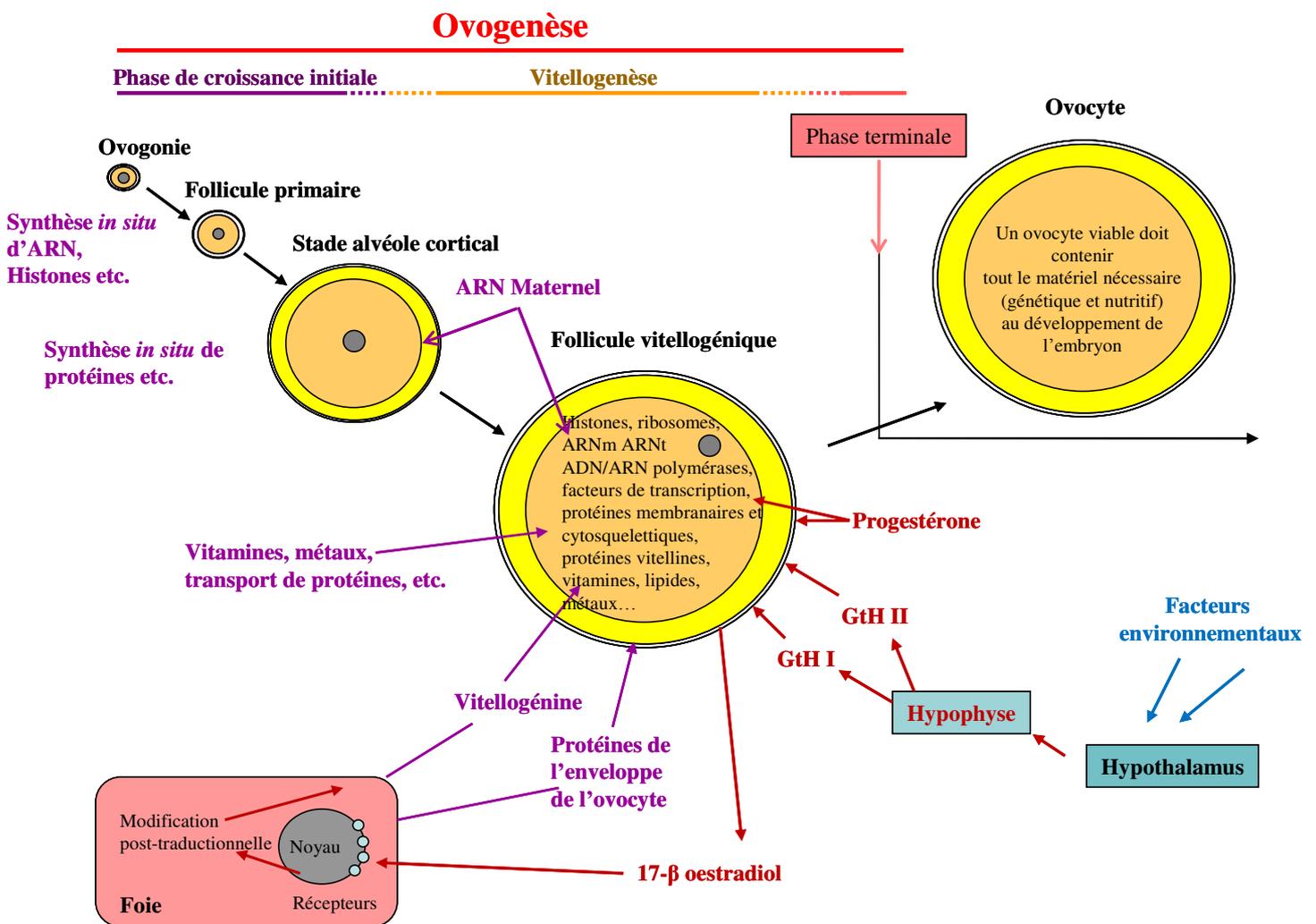
Elle dure du début de la gamétogenèse jusqu'à l'obtention d'ovocytes primaires dans les follicules primaires. Cela correspond à la multiplication par mitose des ovogonies, cellules souches présentes dans les follicules ovariens, qui se différencient ensuite en ovocytes primaires par méiose. Wang *et al.* (2010) définissent l'étape d'initiation comme étant la transition entre le stade de développement précoce de l'ovocyte (généralement l'ovocyte primaire) et le stade de croissance et développement ovocytaire (stade alvéole cortical), associé à de forts changements physiologique des cellules.

### - Vitellogenèse :

S'ensuit alors une phase de vitellogénèse au cours de laquelle s'accumule le vitellus, qui correspond à l'ensemble des réserves de l'ovocyte. Différentes molécules essentielles au développement embryonnaire seront incorporées (Figure 1) ; les vitellogénines, des lipoglycophosphoprotéines constituant majoritairement le vitellus, sont alors accumulées par l'ovocyte. Ce processus se déroule en deux étapes. La première étape correspond à la phase de vitellogenèse endogène, les vitellogénines, d'origine endogène (synthèse ovariennes et ovocytaires) s'accumulent sous forme de vésicules vitellines dans le cytoplasme de l'ovocyte (Rincharde *et al.*, 1996). La seconde concerne la phase de vitellogenèse exogène, au cours de laquelle les vitellogénines produites dans les cellules hépatiques de la femelle s'accumulent sous forme de globules vitellins.

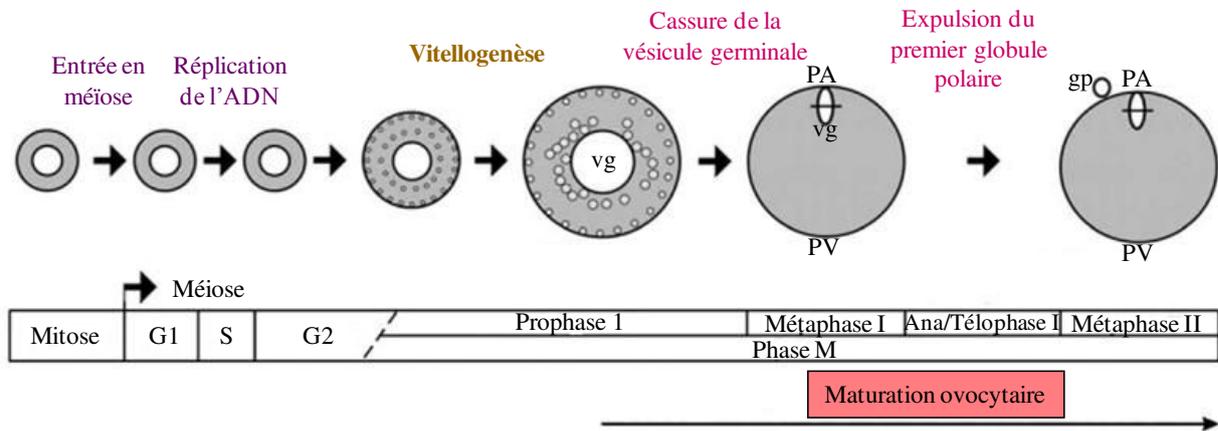
- **Phase terminale :**

La phase terminale de l'ovogenèse correspond à la maturation des ovocytes qui est suivie de l'ovulation, puis de l'oviposition. Lors de la maturation, le noyau (vésicule germinative) migre du centre de l'ovocyte vers le pôle animal, près du micropyle, pour permettre le processus de fécondation (Nagahama, 1983) (Figure 2) ; il y a alors rupture de la vésicule germinative. L'ovulation peut alors avoir lieu et l'ovocyte, maintenant secondaire, est expulsé dans la lumière ovarienne ou dans la cavité abdominale chez les salmonidés, avant la ponte. La fécondation par un spermatozoïde conduit à l'expulsion du 2<sup>ème</sup> globule polaire à la fin de la 2<sup>ième</sup> division cellulaire de la méiose.



**Figure 1 :** Déroulement de l'ovogenèse, de l'ovogenèse à la production d'un ovocyte viable. Schéma adapté de Brooks et al., 1997.

La majorité des études concernant les ovocytes de poissons utilise le terme « œufs » pour décrire différents stades. Dans ce travail, nous utiliserons les termes « ovocyte » lorsque nous parlerons des gamètes femelles avant fécondation (ovules) et « œuf » pour les ovules fécondés (zygote).



**Figure 2 :** Description schématique des étapes du développement ovocytaire et de la maturation finale des ovocytes. Adaptation d'après Lubzens *et al.*, 2010. vg : vésicule germinative ; PA pôle animal ; PV : pôle végétatif ; gp : globule polaire.

## I.2. FACTEURS DETERMINANTS DE LA REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS DES EAUX DOUCES TEMPEREES

A partir des données de la littérature, trois groupes de poissons des zones tempérées ont été déterminés, en fonction de l'importance relative des variations de la durée du jour (photophase) et de la température dans le contrôle environnemental de leur cycle de reproduction (Wang *et al.*, 2010) :

**Groupe 1 :** Ce groupe comprend l'ensemble des salmonidés : truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), saumon atlantique (*Salmo salar*), saumon royal (*Oncorhynchus tshawytscha*)... Le cycle reproducteur est principalement piloté par les variations de photopériode ; la température ne participe pas à la synchronisation du cycle de reproduction, mais joue un rôle modulateur (Bromage *et al.*, 2001). L'ovogenèse est alors sous le contrôle de la photopériode, jusqu'à la période de ponte, où les poissons ovulent spontanément, sans induction environnementale.

**Groupe 2 :** Ce groupe présente la plus grande diversité d'espèces, appartenant à plusieurs familles comme les percidés, les moronidés et les gadidés. Les trois phases du cycle sont pilotées par des stimuli photo-thermiques spécifiques. Cette fois, la température a un rôle déterminant.

**Groupe 3 :** Ce groupe comprend principalement les cyprinidés comme le gougeon (*Gobio gobio*), la tanche (*Tinca tinca*), le barbeau commun (*Barbus barbus*), la carpe commune (*Cyprinus carpio*) ou le poisson rouge (*Carassius auratus*). Ces poissons nécessitent une diminution de la température ou de la photophase pour induire le cycle de reproduction, mais pas nécessairement une diminution simultanée de ces deux facteurs, tel que dans le groupe 2. En effet, ces deux facteurs peuvent jouer le même rôle. Lors de la vitellogenèse, d'importantes variations de durée du jour et/ou température sont nécessaires. L'ovulation est spontanée, sans besoin de facteur environnemental déclencheur.

La perche commune appartient au groupe 2, son cycle dépend donc des variations de photopériode et de température. Nous allons donc nous intéresser plus particulièrement aux caractéristiques de ce groupe.

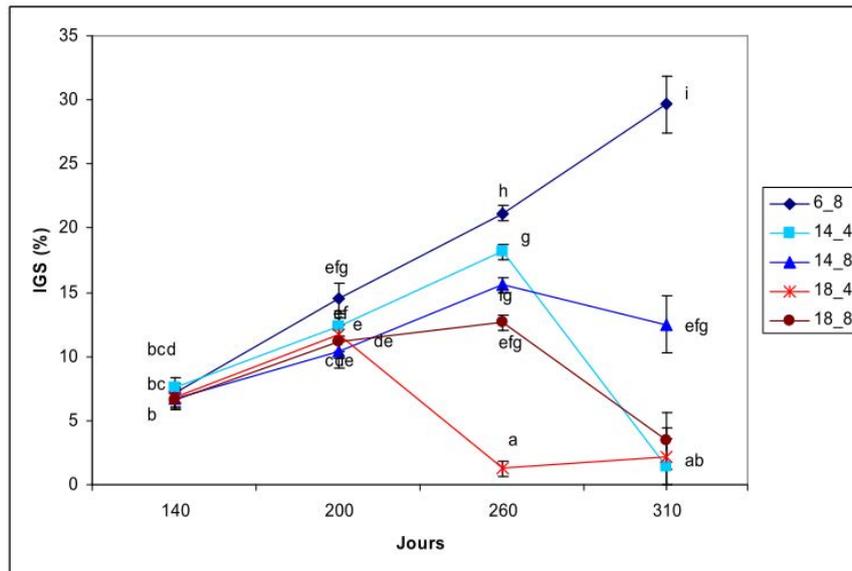
### **I.2.1. INDUCTION DU CYCLE CHEZ LES ESPECES DU GROUPE 2**

L'induction du cycle de reproduction est déclenchée par une baisse de la photophase et/ou de la température (Tableau 1). Pour la plupart des espèces de ce groupe, une réduction de la photophase ne suffit pas à l'initiation du cycle de reproduction (Wang *et al.*, 2010). Chez la perche, de premiers travaux ont montré l'importance d'une diminution concomitante de ces deux facteurs, avec un décalage d'un mois pour la température par rapport à la photopériode (Wang *et al.*, 2006, Abdulfatah *et al.*, 2007). Cependant, une étude plus récente montre qu'une baisse seule de la photopériode suffit à déclencher le cycle, la température ayant alors un rôle modulateur. L'amplitude de diminution de la photophase est également importante (Abdulfatah, 2010). Chez des femelles de perche ayant été élevées toute leur vie dans des conditions constantes de photopériode (12L:12O, soit 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité ; et 17L:7O), l'ovogenèse a été induite par une diminution de température, dans un cas (12L:12O) et non l'autre (17L:7O). Ceci suggère que la sensibilité des géniteurs femelles à la baisse de la durée du jour dépend des conditions photopériodiques initiales (Migaud *et al.*, 2002 ; Abdulfatah *et al.*, 2007).

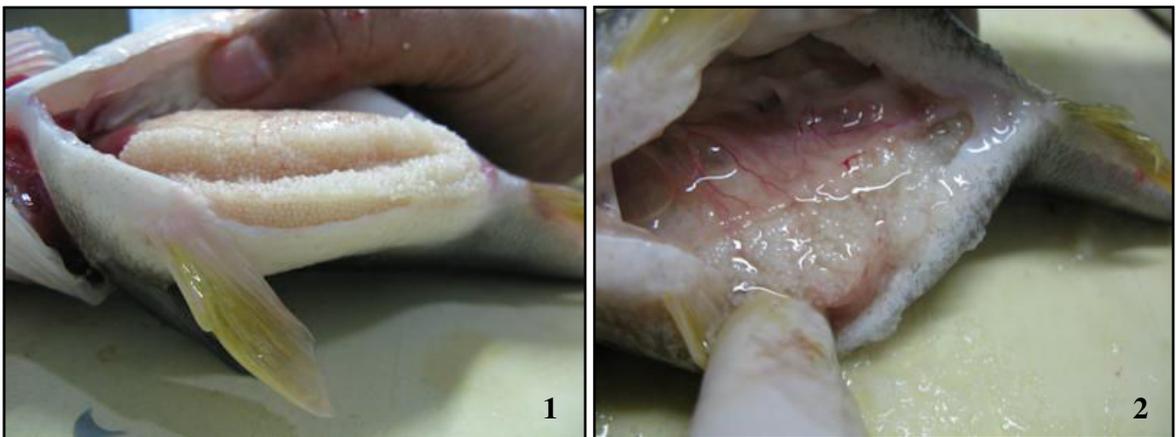
	Induction		Vitellogenèse	Phase terminale	
	Décroissance de la photopériode	Décroissance de la température	Vernalisation	Augmentation de la température	Augmentation de la photopériode
<i>Paralichthys lethostigma</i>	exigé (suggéré)	exigé (suggéré)	non étudié	non nécessaire (suggéré)	non nécessaire (suggéré)
<i>Paralichthys dentatus</i>	exigé (suggéré)	exigé (suggéré)	non étudié	non nécessaire (suggéré)	non nécessaire (suggéré)
<i>Gadus morhua</i>	exigé (démontré)	non nécessaire (hypothèse)	exigé (fortement suggéré)	non nécessaire (suggéré)	probablement exigé (suggéré)
<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	exigé (fortement suggéré)	non nécessaire (hypothèse)	exigé (fortement suggéré)	non étudié	non étudié
<i>Perca flavescens</i>	exigé (démontré)	exigé (démontré)	exigé (fortement suggéré)	exigé (démontré)	non étudié
<i>Perca fluviatilis</i>	exigé (démontré)	exigé (démontré)	exigé (fortement suggéré)	exigé (démontré)	probablement exigé (suggéré)
<i>Sander vitreus</i>	exigé (suggéré)	exigé (suggéré)	exigé (suggéré)	exigé (démontré)	non étudié
<i>Sander lucioperca</i>	exigé (démontré)	exigé (démontré)	exigé (suggéré)	exigé (démontré)	non étudié
<i>Sparus aurata</i>	exigé (fortement suggéré)	non nécessaire (fortement suggéré)	non nécessaire (fortement suggéré)	non nécessaire (suggéré)	non étudié
<i>Dicentrarchus labrax</i>	exigé (démontré)	exigé (démontré)	exigé (démontré)	optionnel (fortement suggéré)	non étudié
<i>Morone chrysops</i>	exigé (suggéré)	exigé (hypothèse)	exigé (hypothèse)	exigé (hypothèse)	non étudié
<i>Morone saxatilis</i>	exigé (démontré)	exigé (démontré)	exigé (démontré)	exigé (suggéré)	non étudié

**Tableau 1 :** Exigences photo-thermiques des poissons du groupe fonctionnel 2 lors du cycle de reproduction. Selon Wang *et al.*, 2010 et Abdulfatah, 2010.

(A)



(B)



**Figure 3 :** (A) Evolution de l'IGS moyen (%  $\pm$  erreur standard) en fonction des différentes modalités thermo-photo périodiques appliquées lors de la phase de vernalisation à des géniteurs de perche femelles. Les différentes lettres indiquent les différences statistiques significatives. X\_Y : Température de vernalisation \_ photophase de vernalisation (Abdulfatah, 2010). (B) Observation des gonades de perche femelles en fin de phase de vernalisation, lors d'une température de vernalisation de 6°C. (1) L'ovaire est normal et les ovocytes granuleux et 18°C ou (2) une atresie est observée.

### I.2.2. VITELLOGENÈSE CHEZ LES ESPÈCES DU GROUPE 2

Les poissons de ce groupe se caractérisent par le besoin d'une phase de vernalisation (maintien à une température froide) de plusieurs mois afin de permettre le déroulement correct

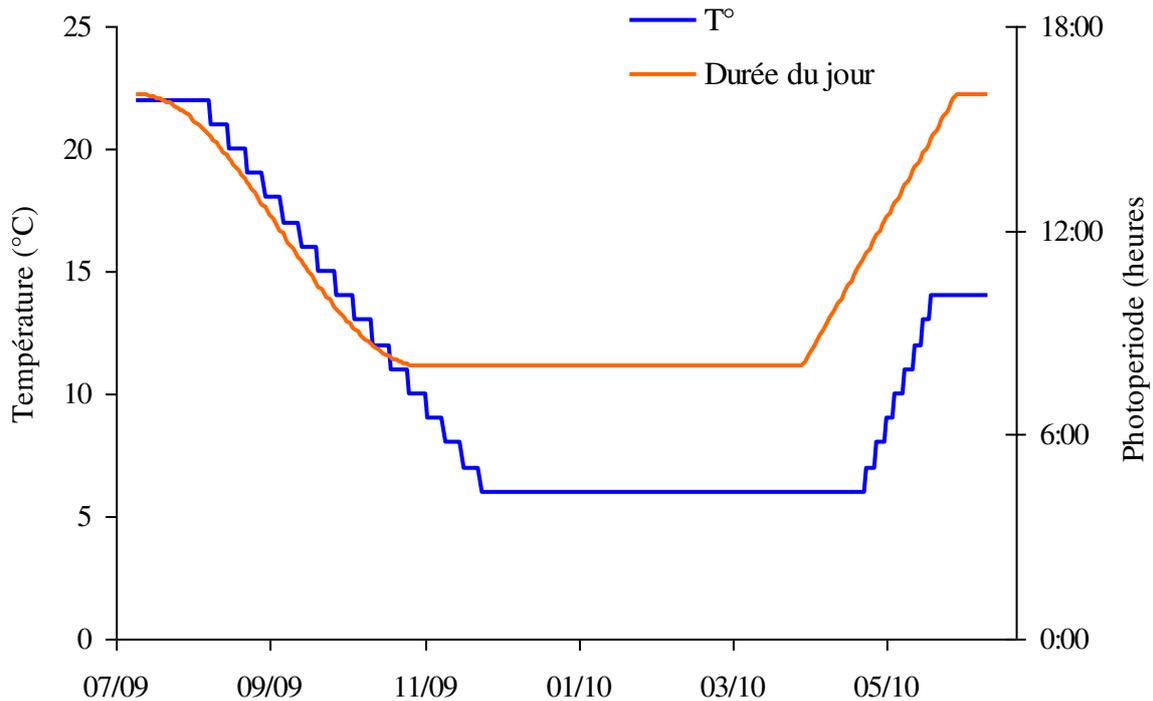
de la vitellogenèse. Au-delà d'une température donnée, une dégradation des follicules ovariens est constatée, comme observé pour des températures de vernalisations de 14 et 18°C chez la perche commune par Abdulfatah, 2010 (Figure 3). Le seuil pour la perche dans le lac Léman a été observé à 10°C par Gillet et Dubois (2007). La durée de la photophase pendant cette période ne semble pas jouer un rôle sur le déroulement de la vitellogenèse. Seule l'amplitude de diminution initiale importe

### **I.2.3. MATURATION OVOCYTAIRE ET PONTE CHEZ LES ESPECES DU GROUPE 2**

Dans ce groupe, deux sous-groupes peuvent être distingués : celui des poissons pouvant pondre spontanément pendant la phase de vernalisation (bar, daurade, morue...) et celui des poissons qui ne peuvent pondre sans variation de température (percidés). L'augmentation de la photopériode durant le dernier mois du cycle de reproduction chez la perche influence la production de stéroïdes sexuels (Wang, 2006). La photopériode pourrait ainsi jouer un rôle dans les phases terminales de la gonadogenèse. La température reste cependant le facteur principal de synchronisation selon les expériences d'Abdulfatah (2010), puisqu'une augmentation permet à elle seule de déclencher les pontes en conditions de photophase constantes.

### **I.2.4. PROGRAMME PHOTO-THERMIQUE POUR L'OBTENTION DE PONTES HORS-SAISON**

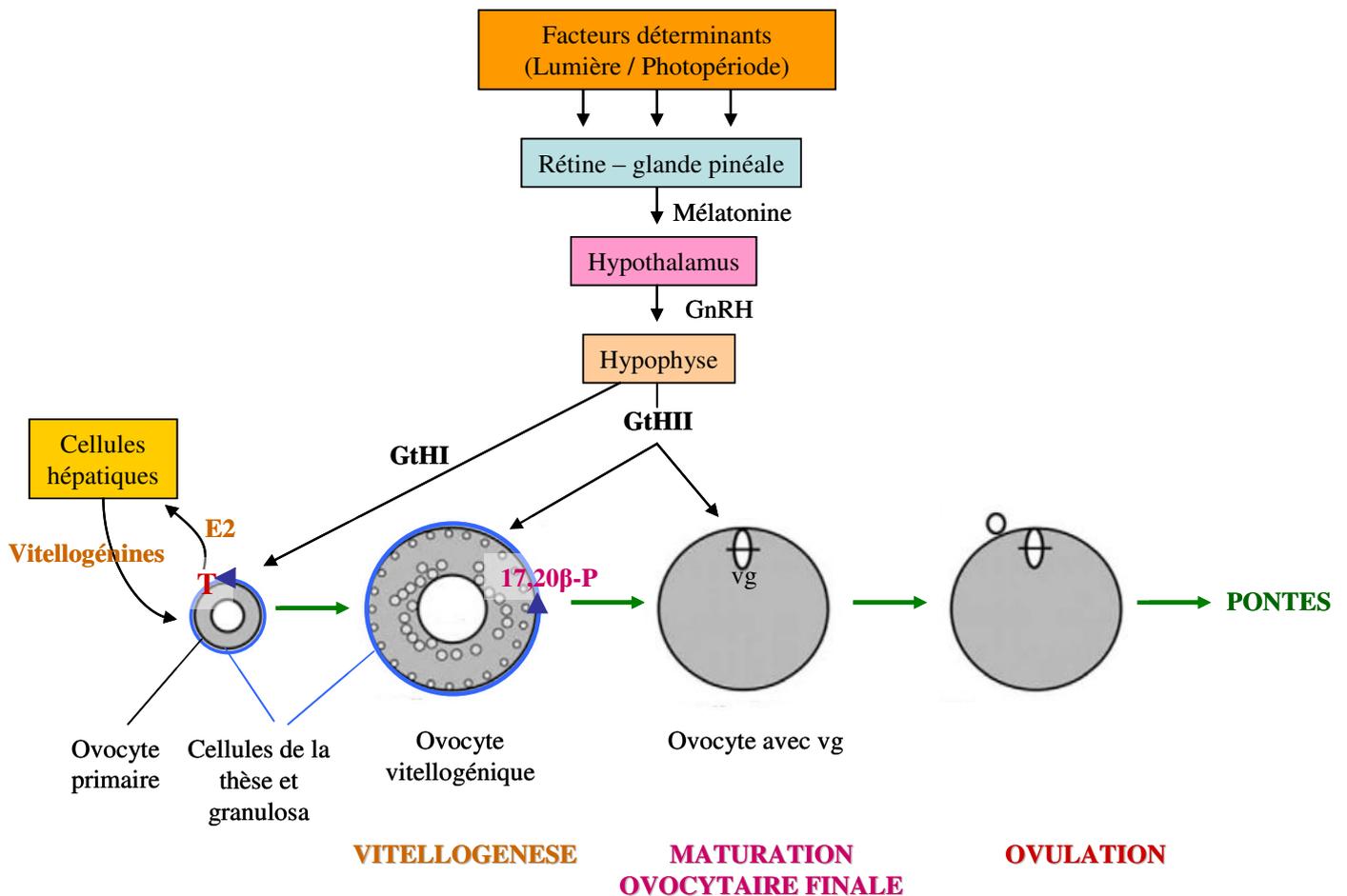
Les différentes recherches (Migaud, 2002 ; Wang, 2006 ; Abdulfatah, 2010) menées sur l'influence des variations de photopériode et température tout au long du cycle de reproduction ont mené à la mise au point un programme photo-thermique. Celui-ci a permis le déroulement de la gonadogenèse et l'obtention de pontes de perches hors saison, avec des taux de ponte de 100% (Abdulfatah, 2010) (Figure 4). Cependant, 54,55 % seulement des pontes étaient fécondées, et le taux de fécondation était faible (73,3 %  $\pm$  25 des pontes fécondées).



**Figure 4 :** Programme photo-thermique permettant l'obtention de pontes hors saison. Selon les travaux d'Abdufatah, 2010.

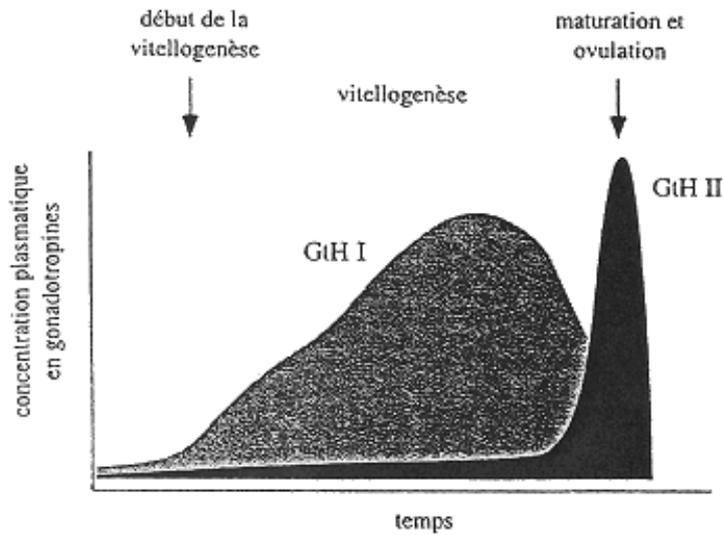
## I.2. CYCLE DE REPRODUCTION ET CONTROLE HORMONAL

Le cycle de reproduction est piloté par différents signaux, qui stimulent le système nerveux central. Dans le cas des poissons dont la reproduction est pilotée par les variations de photopériode, les organes récepteurs à la lumière (rétine et glande pinéale) permettent la transmission de l'information à l'axe hypothalamus – hypophyse – gonades par la production de mélatonine (Mayer *et al.*, 1997 ; Migaud *et al.*, 2010) (Figure 5). La mélatonine stimule la production de neuro-hormones (GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone) par l'hypothalamus, qui, elles-mêmes, vont permettre la production de gonadotropines hypophysaires (GtH I et II). Alors que la GtH I (équivalent de la FSH, hormone folliculaire stéroïdienne, chez les tétrapodes) joue principalement un rôle lors des premières étapes de la gamétogenèse des poissons et la vitellogenèse, la GtH II (équivalent de la LH, hormone lutéinisante chez les tétrapodes) stimule les étapes finales (Van der Kraak et Wade, 1994 ; Jobling, 1995).

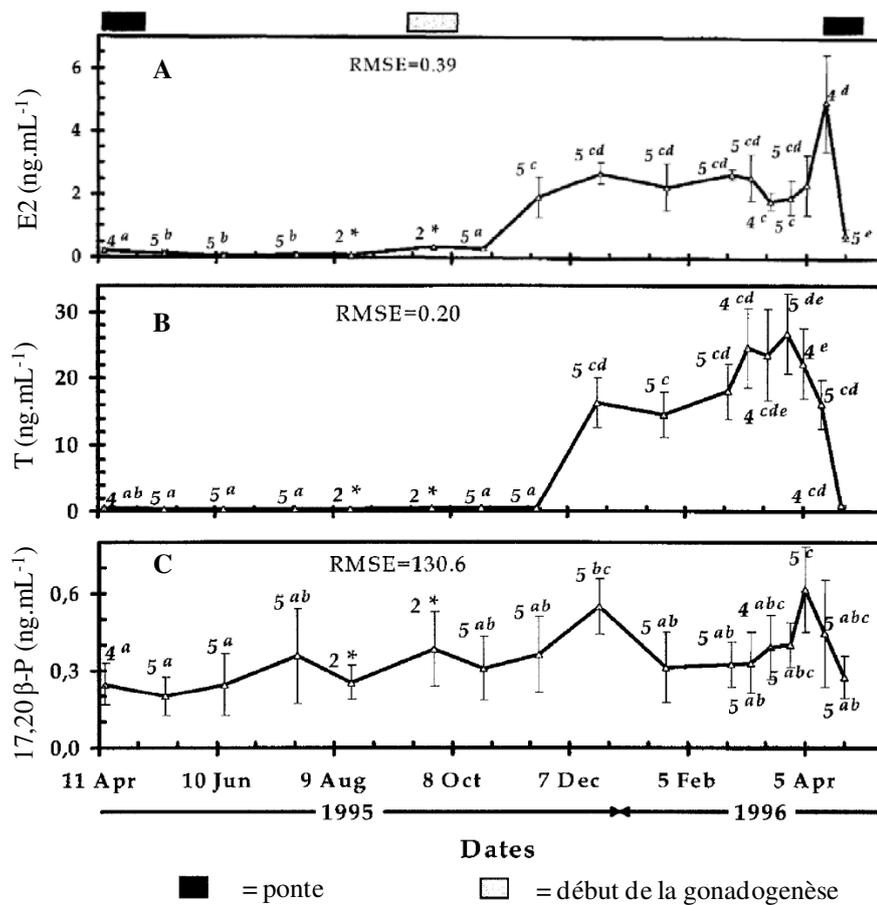


**Figure 5 :** Schéma récapitulatif des synthèses hormonales lors de l'ovogenèse. Schéma modifié de Migaud, 2002. GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone ; GtH I et II : gonadotropines hypophysaire; E2 : 17β-œstradiol ;

Chez les géniteurs femelles, la teneur plasmatique du sang en GtH I augmente lors du déclenchement de la vitellogenèse ; sa concentration reste élevée durant toute cette phase, puis diminue avant la maturation finale de l'ovocyte (Figure 6) (Jobling, 1995). Elle stimule la production de testostérone (T) par les cellules de la thèque, au niveau des follicules ovariens. Une enzyme spécifique des cellules de la granulosa, l'aromatase, transformera T en 17β-œstradiol (E2) (Kagawa *et al.*, 1984). Ce stéroïde sexuel stimule la production de vitellogénine par les cellules hépatiques (Wallace et Salman, 1981). Ainsi, chez les femelles non engagées dans un cycle de reproduction, les teneurs en stéroïdes sexuels sont quasiment nulles dans le plasma sanguin (Figure 7) ; puis les concentrations plasmatiques en T et en E2 augmentent lors de la vitellogenèse (Sulistyo *et al.*, 1998) (Figure 7).



**Figure 6 :** Evolution des gonadotropines hypophysaires (GtHI et GtHII) au cours du cycle de reproduction chez les salmonidés. Selon Jobbling, 1995.



**Figure 7 :** Variation de la concentration plasmatique en 17β-œstradiol (E2), testostérone (T) et 17,20 β P chez les femelles de perches au cours d'un cycle annuel de reproduction (avril 1995-avril 1996) selon Sulistyó *et al.*, 1998.

En fin de la vitellogenèse, la production de GtH II va rapidement augmenter pour atteindre un pic, correspondant à la maturation et l'ovulation des ovocytes (Figure 6) (Jobling, 1995). La GtH II induit la production de progestagènes, hormones inductrices de la maturation ovocytaires, par les cellules de la thèque et de la granulosa. Le principal de ces stéroïdes est la 17,20  $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one ou 17,20 $\beta$ -P ; elle stimule la reprise de la méiose par les ovocytes (Figure 2). Ainsi, la 17,20 $\beta$ -P présente de faibles taux plasmatiques durant les premières phases du cycle de reproduction, puis les teneurs augmentent au moment de la maturation, avant de diminuer à nouveau (Figure 7).

*Ce chapitre nous a permis de mettre en évidence l'importance de la photopériode et de la température comme facteurs inducteurs du cycle de reproduction de la perche. Il est à l'heure actuelle possible d'induire la reproduction en conditions artificielles et d'obtenir des pontes ; ceci grâce à la mise au point d'un programme photo-thermique qui comprend deux grandes phases : une phase d'induction qui permet l'entrée des géniteurs dans le cycle de reproduction et une phase vernalisation pendant laquelle se déroule la vitellogenèse. Le cycle de reproduction peut être suivi par l'observation des taux hormonaux plasmatiques ainsi que de l'indice gonado-somatique (IGS), qui reflète l'investissement des géniteurs dans la reproduction.*

## **CHAPITRE II. RÉGULATION DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION**

### **II.1. ÉVALUATION DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION**

Evaluer les performances de reproduction d'un lot de poissons consiste à estimer la production de larves viables de qualité. Cette production est dépendante de la quantité de gamètes émis par les géniteurs ainsi que de leur succès de fécondation, puis de développement embryonnaire et d'éclosion. Si la quantité d'œufs pondus par femelle (fécondité absolue) ou par unité de poids (fécondité relative) est importante pour estimer les performances de reproduction, ce paramètre reste largement insuffisant puisque qu'il ne garanti pas le succès de fécondation et d'éclosion.

C'est pour cela que la qualité des gamètes, des œufs et des larves a été largement explorée dans la littérature scientifique. Les études portent plus particulièrement sur l'œuf et ses performances. L'œuf se développera en un embryon grâce à l'incorporation de molécules dans l'ovocyte pendant la gonadogenèse, mais également grâce au matériel génétique apporté par les deux gamètes. Le rôle respectif des gamètes dans la qualité de la larve reste actuellement peu connu. Cependant, la connaissance approfondie de la composition des gamètes peut permettre de mieux comprendre ce qui expliquera leur qualité, mais aussi de déterminer les paramètres indicateurs de qualité les plus pertinents. Ainsi, cette partie explore la composition de l'ovule et du spermatozoïde de poisson, ainsi que l'ensemble des indicateurs de qualité classiquement mesurés.

### **II.1.1. QUALITE DES OVOCYTES**

Durant l'ovogenèse, différentes réserves sont accumulées dans l'ovocyte afin d'assurer le développement embryonnaire. Après ovulation, les échanges avec le milieu extérieur sont très faibles et ne concernent que quelques ions seulement (Holliday et Pattie Jones, 1967). Tous les autres composants, génétiques, nutritifs et constitutifs, qui participent au fonctionnement cellulaire et donc à la qualité de l'ovocyte, sont incorporés avant l'ovulation. Le contenu des ovocytes au moment de la ponte détermine donc leur qualité (Kjorsvik *et al.*, 1990). C'est pour cela que l'incorporation, la synthèse et les traitements que subissent les composants de l'ovocyte durant l'ovogenèse jouent un rôle clé dans l'assemblage correct d'un ovocyte de qualité (Bobé et Labbé, 2010).

Nous allons donc dans un premier temps nous intéresser à la composition biochimique d'un ovocyte. Nous explorerons ensuite les méthodes permettant d'estimer la qualité ovocytaire.

#### ***II.1.1.1. Composition biochimique d'un ovocyte***

##### **Acides aminés libres**

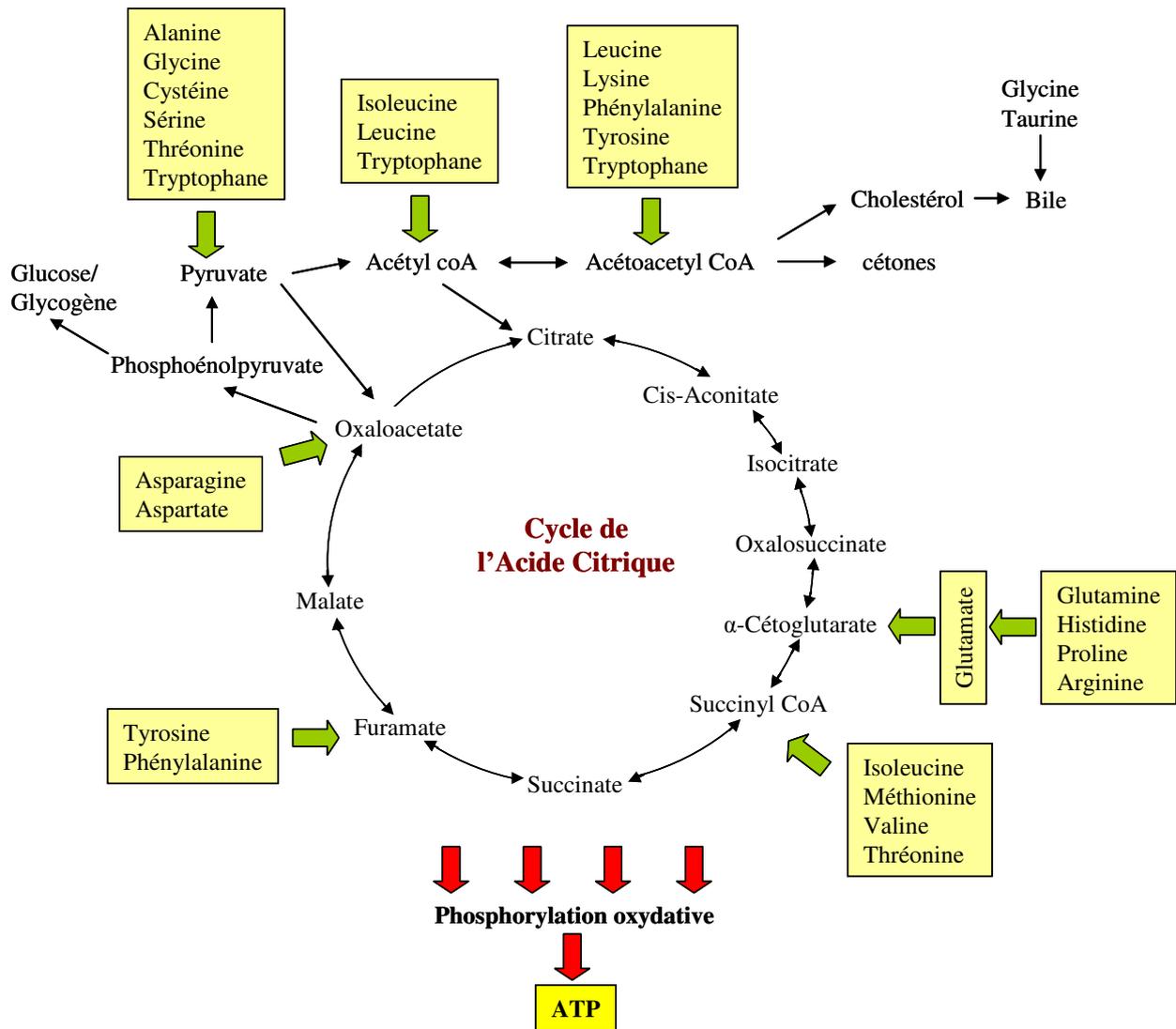
Pour de nombreuses espèces de poissons, les acides aminés libres (AAL) sont la principale source d'énergie pour le développement embryonnaire de l'œuf. Les études ont surtout porté sur les poissons marins, dont les ovocytes comportent une fraction plus forte d'AAL que ceux des poissons d'eau douce (Dabrowski *et al.*, 1985). Certains AAL seraient utilisés non seulement pour la synthèse protéique, mais aussi comme substrat pour le cycle de Krebs, après désamination (Figure 8). Ainsi, l'énergie dérivée des AAL représente de 60 à 90

% des besoins énergétiques des embryons pour les espèces suivantes : morue de l'Atlantique (*Gadus morhua*) (Finn *et al.*, 1995a), le flétan (*Hippoglossus hippoglossus*) (Finn *et al.*, 1995b), le bar (*Dicentrarchus labrax*) (Rønnestad *et al.*, 1998), et le turbot (*Scophthalmus maximus*) (Finn *et al.*, 1996). La deuxième source d'énergie provient des lipides, les taux d'utilisation des lipides et AAL varient d'une espèce à l'autre, avec une consommation plus importante de lipides chez les espèces ayant des globules lipidiques.

Si l'embryon utilise principalement les AAL comme source d'énergie, les acides gras seront consommés majoritairement après éclosion. Chez le flétan par exemple, les AAL sont l'unique source d'énergie de l'embryon (Finn *et al.*, 1991) puis de la larve pendant les deux premières semaines après l'éclosion (Finn *et al.*, 1995b) ; ensuite, les peptides deviennent le substrat préférentiel (44 %), avec les AAL (31 %) rejoint par les lipides polaires (principalement la phosphatidylcholine) (21 %) et neutres (3 %) (Finn *et al.*, 1995b). Chez le bar, les AAL sont prioritairement utilisés dès la fécondation, alors que les acides gras dérivés du globule lipidique sont utilisés après l'éclosion de la larve (Rønnestad *et al.*, 1998). Chez le turbot, après 17-18h de dépendance au glycogène, l'embryon utilise les AAL (84%), ainsi que la phosphatidylcholine (9 %) et des esters cireux (5 %) (Finn *et al.*, 1996) ; cette tendance s'inverse après l'éclosion, puisque les AAL ne représentent plus que 32 % de la source d'énergie de la larve.

Les larves de perche ne catabolysent que très peu les lipides, et on peut donc supposer que comme les espèces citées plus haut, elles tirent principalement leur énergie de la dégradation des acides aminés, les larves utilisant plutôt les lipides (Abi-Ayad, 1998).

Parmi les AAL qui composent les réserves des ovocytes, on retrouve majoritairement les 9 acides aminés essentiels qu'un animal ne peut synthétiser (Phénylalanine, Méthionine, Leucine, Isoleucine, Valine, Thréonine, Thryptophane, Histidine, Lysine) (Mellinger, 1995). L'ensemble des AAL participe à la synthèse de protéines nécessaires au développement de l'embryon et de la larve. Chez les poissons marins, les acides aminés libres contribuent également à la régulation osmotique : la diminution de leur concentration dans les œufs (morue) ou les larves (flétan et morue) permet de réduire la pression osmotique interne avant même l'apparition des organes responsables de l'osmorégulation hyposmotique, typique des Téléostéens marins (Thorsen et Fyhn, 1996). Ce phénomène reste négligeable chez les Téléostéens d'eau douce (Gunaseraka *et al.*, 1999).



**Figure 8 :** Point d'entrée des AAL dans le cycle de Krebs, et point de sortie vers la néoglucogénèse, la cholestérogénèse et la cétogénèse. Schéma provenant de la revue de Finn *et al.*, 2010.

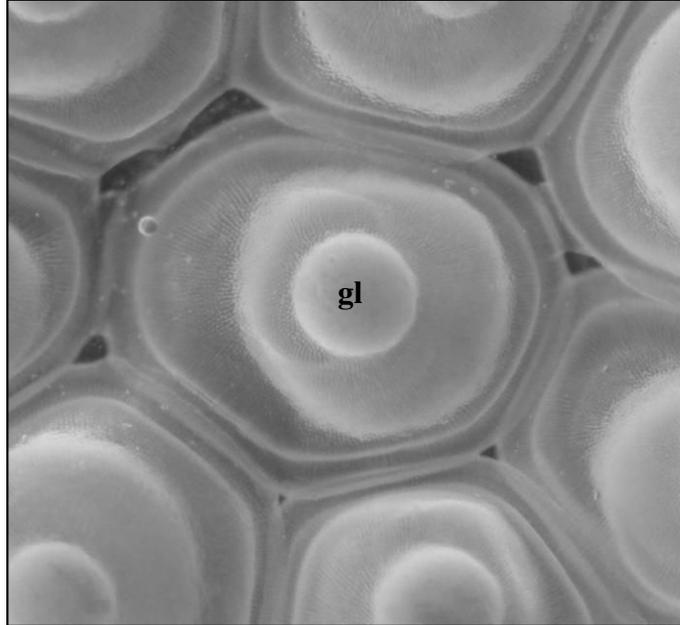
## - Lipides

### *Composition des réserves lipidiques*

Des réserves lipidiques sont également présentes dans les ovocytes sous plusieurs formes :

- complexe vitellogénique de phospholipides et de triacylglycérols comprenant également des phosphoprotéines, qui correspondent à de larges inclusions dans l'ovocyte,

- gouttelettes lipidiques constituées principalement d'un ou plusieurs lipide(s) neutre(s) (triglycérides, diglycérides, cholestérol et ses esters, cériques). Elles peuvent être très petites ou très grosses, uniques ou bien nombreuses. Chez les percidés, ces globules huileux sont généralement présents sous la forme d'un globule lipidique (Figure 9).

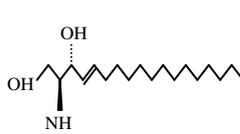
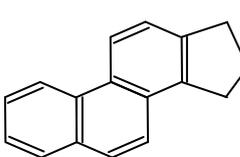


**Figure 9 :** Globule lipidique (gl) d'un œuf de perche (3 heures après la fécondation).

Les différents lipides incorporés pendant la vitellogenèse vont jouer plusieurs rôles importants lors du développement embryonnaire. Ils constituent l'élément de base de la construction des membranes lors des nombreuses divisions cellulaires ; les phosphatidylcholines et phosphatidyléthanolamines (famille des glycérophospholipides, voir Tableau 2) semblent particulièrement importants puisque universellement prédominants dans les œufs de poissons (Hazel, 1989 ; Wiegand, 1996). Des lipides neutres, sources d'énergie pour le métabolisme de l'embryon sont également présents (phospholipides, triacylglycérols) (Verreth *et al.*, 1994 ; Wiegand 1996) ; cependant, cette source d'énergie n'est que peu utilisée lors du développement embryonnaire, alors qu'elle est majoritairement utilisée par la larve lors des premiers stades. Sont présents également les acides gras (AG), saturés et insaturés (Tableau 2), ayant de nombreux rôles structuraux et métaboliques.

Les lipides peuvent être incorporés dans le vitellus directement à partir de la source alimentaire ou des réserves de la femelle (Garrido *et al.*, 2007). Ils peuvent cependant être modifiés dans le foie ou l'ovaire, et synthétisés *de novo* par la femelle (Wiegand, 1996). Il est observé de grandes variations des profils en lipides des ovocytes entre les différentes espèces

de poissons (Mellinger 1995 ; Wiegand, 1996). Chaque espèce semble avoir des caractéristiques propres quand à ses besoins, particulièrement en acides gras. Ceci est dû à l'adaptation de l'espèce dans son milieu et permet une meilleure survie larvaire. Il est ainsi observé que les espèces marines ont une proportion d'acides gras insaturés de la série (n-6) plus importante que les espèces d'eau douce (Wiegand, 1996).

		Constitution	Rôles
Acides Gras (AG)	Acides carboxyliques à chaîne aliphatique linéaire hydrophobe, saturés ou insaturés (selon la présence ou non de doubles liaisons) Notés Cn:m (n = nombre de carbones et m = nombre de saturations)	Saturés $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{n-2}\text{-COOH}$ ( $n \geq 2$ ) <hr/> Insaturés (mono- ou poly-insaturés ; 1 à 6 doubles liaisons)	Stockés sous forme de triglycérides - source d'énergie ; Rôles structural car précurseur d'autres lipides. Précurseurs d'hormones et de messagers cellulaires
Glycérides	Esters d'acides gras et de glycérol (1 à 3 AG)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-O-CO-R}_1 \\   \\ \text{CH-O-CO-R}_2 \\   \\ \text{CH}_2\text{-O-CO-R}_3 \end{array}$	Réserve d'énergie
Glycéro-phospholipides	Dérivés de l'acide phosphatidique (résultant de l'estérification du glycérol par 2 AG et un acide phosphorique)	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{CH}_2\text{-O-C-R}_1 \\   \\ \text{R}_2\text{-C(=O)-O-CH} \\   \\ \text{CH}_2\text{-O-C(=O)-P-O-X} \\   \\ \text{O} \end{array}$	Membranes biologiques
Sphingolipides	Acide gras + alcool aminé (sphingosine) ± substituant (phosphoryl-choline ou groupement glucidique)		Membranes biologiques
Terpènes	Polymères d'isoprène	$(\text{C}_5\text{H}_8)_n$	Précurseurs des vitamines (A, E, K), caroténoïdes et stérols
Stérides ou Stéroïdes	Lipides dérivant du noyau cyclopentanophénanthrénique		Précurseurs des acides biliaires, hormones stéroïdiennes et vitamine D ; Constituants importants des membranes plasmiques

**Tableau 2 :** Classification, structure et rôles des différentes classes de lipides dans l'organisme.

### *Qualité des ovocytes et lipides*

Les nombreuses études montrant le rôle essentiel des réserves lipidiques pour la survie embryonnaire ont principalement étudié le rôle des AG. Chez le sandre (*Sander lucioperca*), par exemple, un déficit en AG de la série (n-3) peut entraîner un arrêt du développement embryonnaire et une faible survie larvaire (Czesny et Dabrowsky, 1998). Chez la morue (*Gadus morhua*), les ovocytes des poissons d'élevage présentent de faibles taux d'acide arachidonique (ARA), et par conséquent un rapport EPA / ARA (EPA = acide eicosapentaénoïque) plus élevé que ceux observés dans les ovocytes de poissons sauvages, ce qui serait lié à des taux de fécondation et d'éclosion plus faibles (Salze *et al.*, 2005). Ce lien entre le profil d'AG et la qualité des embryons/larves n'est pas forcément observé chez toutes les espèces, comme le démontrent les récents travaux sur la sole (Lund *et al.*, 2008).

Les rôles des AG sont variés, ce qui explique leur importance pour le développement embryonnaire ; cela concerne notamment l'ARA (acide arachidonique, C20:4 (n-6)), l'EPA (acide éicosapentaénoïque, 20:5 (n-3)) et le DHA (acide docosahéxanoïque, 22:6 (n-3)), acides gras polyinsaturés (AGPI) particulièrement étudiés en aquaculture. Les AG essentiels peuvent être une source d'énergie, selon leur sensibilité à la  $\beta$ -oxydation (Tocher, 2010). Une grande quantité de ces AG, tout particulièrement les AGPI de la famille (n-3), est utilisée pour la structure et le fonctionnement membranaire des cellules, puisqu'étant précurseurs des phospholipides, constituants majoritaires des membranes (Sargent *et al.*, 1995). Le DHA est particulièrement impliqué en tant qu'AG structural et fonctionnel car c'est un important constituant de l'ensemble des membranes plasmiques (Feller, 2008). Ce rôle apparaît donc majeur lors du développement embryonnaire au cours duquel la surface membranaire augmente tout au long des divisions cellulaires. Un autre rôle des AGPI concerne l'osmorégulation (Léger et Frémont, 1981), particulièrement importante lors du développement embryonnaire, puisque le contenu de l'œuf est séparé du milieu extérieur par une simple membrane.

En plus de ces rôles dans le métabolisme et la structure des ovocytes et embryons, les lipides apportent une caractéristique supplémentaire aux ovocytes de certains poissons pélagiques : le pourvoir de flottaison, utilisé comme indicateur de qualité des ovocytes chez certaines espèces. Ce paramètre correspond à une adaptation de l'espèce à l'environnement et dépend de la nature de la gouttelette lipidique. Ainsi, les ovocytes benthiques sont composés de 5 à 36% de lipides, tandis que les ovocytes pélagiques en contiennent de 13 à 20 % (Heming et Buddington 1988).

- **Glycogène**

Bien que des réserves de glycogènes soient présentes dans l'ovocyte, celles-ci ne représentent qu'un faible pourcentage du vitellus. En effet, l'embryon l'utilise uniquement lors des premiers stades embryonnaires, quand il ne possède pas les enzymes nécessaires au catabolisme lipidique et protéique. Ainsi, l'énergie procurée par le glycogène est peu utilisée (Mellinger, 1995).

- **Vitamines et pigments**

Les vitamines sont des molécules essentielles pour l'organisme car toutes ne peuvent être synthétisées. Elles ont de nombreux rôles, en particulier ceux de cofacteurs enzymatiques et d'antioxydants. En effet, lors du fonctionnement de la cellule, particulièrement en aérobie (métabolisme utilisant l'oxygène), des espèces réactives de l'oxygène (ROS ; radicaux libres) sont formées en petite quantité et peuvent réagir avec les constituants de la cellule, perturbant ainsi son fonctionnement. Les cellules contiennent donc des antioxydants enzymatiques (Catalase, Glutathion Peroxydase, Glutathion Réductase, Peroxydases...), ainsi que des facteurs non enzymatiques, tels que les vitamines A, C, et E, le glutathion, l'ubiquinone... molécules essentielles au bon fonctionnement de l'organisme.

Les vitamines sont présentes dans les ovocytes en quantité faible par comparaison aux AAL et lipides. Elles sont cependant nécessaires au développement embryonnaire de part leurs rôles dans le métabolisme.

Une vitamine abondamment trouvée dans les gonades de poisson est l'acide ascorbique - vitamine C (Kjorsvik *et al.*, 1990). Son rôle principal dans les ovocytes est d'être un antioxydant, protégeant les cellules des radicaux libres (Siman et Eriksson, 1997). Molécule particulièrement importante lors de l'embryogénèse, ses stocks décroissent durant le développement embryonnaire et la nutrition endogène (Dabrowski et Ciereszko, 2001). De nombreuses études montrent une augmentation des performances de reproduction, et particulièrement de la survie embryonnaire. Ceci a été observé par exemple chez la truite arc-en-ciel (Blom et Dabrowski, 1995), lors de l'augmentation de concentration de vitamine C dans la ration alimentaire maternelle, qui avait entraîné une augmentation dans les gonades. Cependant, ceci n'est pas observé chez toutes les espèces, telles que la morue (Mangor-Jensen *et al.*, 2007).

Une autre vitamine importante est l' $\alpha$ -tocopherol – vitamine E, qui a également un rôle antioxydant. Tant qu'elle n'est pas capable de se nourrir, la larve de flétan présente des

taux de vitamine C et E stables. Ainsi, de l'éclosion à la première nutrition, les vitamines migrent sans altération du sac vitellin aux tissus larvaires (Ronnestad *et al.*, 1999).

Les caroténoïdes tels que l'astaxanthine et la canthaxanthine semblent avoir aussi un rôle de protection contre les radicaux libres. Une augmentation de la teneur en astaxanthine dans l'alimentation des géniteurs de morue entraînant une augmentation de la teneur dans les ovocytes (Grung *et al.*, 1993), est lié à une augmentation du taux de fécondation (Sawanboonchun *et al.*, 2008).

La vitamine A en excès dans l'alimentation n'affecte pas la qualité des ovocytes chez le cardeau hirame (Furuita *et al.*, 2001) : bien que la teneur des ovocytes ait augmenté, l'excès de vitamine est stocké dans le foie des génitrices. Cependant, ce phénomène de régulation n'est pas observé chez la truite arc-en-ciel: si une teneur alimentaire minimale (60-200 UI.g<sup>-1</sup>) est essentielle pour maintenir la qualité des ovocytes (fécondation et croissance lors des premiers stades larvaires), un excédent alimentaire (> 700 UI.g<sup>-1</sup>) entraîne une baisse de la qualité de la reproduction (mortalité embryonnaire) (Fontagné-Dicharry *et al.*, 2010)

#### - **Hormones**

Un certain nombre d'hormones sont présentes dans les ovocytes ; elles jouent un rôle important dans le développement larvaire. Ainsi, leur composition peut affecter la qualité ovocytaire. Elles sont soit incorporées dans l'ovocyte via la circulation sanguine, telles que les hormones thyroïdiennes (triiodothyronine T3 et thyroxine T4) présentes en quantités mesurables chez toutes les espèces de poissons étudiées (Greenblatt *et al.*, 1989). Il est possible également qu'elles soient synthétisée après la fécondation (Brooks *et al.*, 1997). Cependant, les études montrent que les embryons puis les larves sont physiologiquement immatures, et qu'elles ont une faible capacité à produire des hormones, des facteurs de croissance ou même certaines protéines, ceci jusqu'à la fin de la résorption du sac vitellin. Ainsi, la concentration hormonale dépendra principalement des apports maternels accumulés dans l'ovocyte, en attendant que la production endogène se mette en place (Lam, 1994).

Des variations sont observées selon les espèces de poissons. La T4 est ainsi plus abondante que la T3 dans les œufs de poissons d'eau douce, alors que le contraire est observé chez les poissons marins, diadromes et euryhalins (Tagawa *et al.*, 1990).

Le cortisol, d'origine maternelle, est aussi présent dans les ovocytes en fin d'ovogénèse (De Jesus et Hirano, 1992); son rôle sera discuté en **II.2.1.2.**

- **ARNs**

Les ARNm seraient principalement synthétisés *in situ* pendant la phase primaire de la croissance ovocytaire (Wallace et Selman, 1990). Il est aussi observé que certains transcrits passent de la circulation maternelle vers l'ovocyte en développement et donc influencent la croissance et le développement de l'ovocyte, et par la suite le développement de l'embryon (Amani *et al.*, 1994 ; Hales *et al.*, 1994). En effet, il semblerait que l'embryon commence à transcrire son propre ADN à partir du stade mid-blastula, comme observé chez le xénope (Tata, 1986 ; Brooks *et al.*, 1997). Les ARNm sont ainsi accumulés en même temps que les protéines pendant toute l'ovogénèse (Tata, 1986 ; Pelegri, 2003).

Quelques études récentes permettent une meilleure connaissance du transcriptome des ovocytes de poissons (Bonnet, 2006, Aegerter *et al.*, 2005). Knoll-Gellida *et al.* (2006) ont déterminé l'ensemble du transcriptome du poisson zèbre (*Danio rerio*). Cela a permis la quantification des ARNm et l'identification des plus abondants tels que les transcrits de protéines ribosomales, d'actines et de tubulines. Ce type de catalogue peut servir de base pour de futures études comparatives inter- et intra-espèces, qui s'intéresseraient à la compréhension des fonctions cellulaires impliqués dans la modulation de la qualité des ovocytes.

- **Protéines**

Le protéome ovocytaire commence à être exploré chez différentes espèces afin de créer comme pour le transcriptome, des catalogues de protéines ovocytaires. C'est ainsi que les protéomes du poissons zèbre (*Danio rerio*) (Knoll-Gellida *et al.*, 2006 ; Ziv *et al.*, 2008), de la daurade royale (*Sparus aurata*) (Ziv *et al.*, 2008) et de l'esturgeon perse (*Acipenser persicus*) (Keyvanshokoo *et Vaziri*, 2008) ont été analysés.

Parmi les protéines ovocytaires, la vitellogénine est retrouvée majoritairement (Ziv *et al.*, 2008). Cette lipo-glyco-phosphoprotéine est synthétisée par le foie puis incorporée dans les ovocytes pendant la phase de vitellogenèse. Là, elle subit différents clivages enzymatiques pour donner trois dérivés protéiques, qui seront utilisés comme source d'énergie par l'embryon. Trois gènes principaux codent la vitellogénine, et l'expression de ces 3 gènes sera variable selon les espèces de poissons (Finn et Fyhn, 2010).

L'ovocyte contient également de nombreuses enzymes impliquées dans le métabolisme, la synthèse protéique, ou la protection cellulaire (pyruvate kinase, éno-lase I, protéines ribosomiales, heat shock protéines), incorporées dans l'ovocyte lors de la gamétogénèse ou bien synthétisées *in situ* (Knoll-Gellida *et al.* 2006). Des protéines de structure ( $\beta$ -actine, tubuline...), des récepteurs membranaires, des transporteurs... ont aussi

été identifiées dans le protéome. Ainsi, au moment de l'ovulation, le protéome ovocytaire n'est pas forcément le reflet du transcriptome.

Ces différentes enzymes n'ont été que peu étudiées dans les ovocytes de poisson, mais il est probable que leur abondance dans l'ovocyte va contribuer à en déterminer la qualité.

#### ***II.1.1.2. Phénomène de surmaturation***

Ce phénomène est assez fréquent chez les poissons d'élevage. Il consiste en une diminution progressive de la qualité des ovocytes jusqu'à leur mortalité, suite à un phénomène de rétention dans l'ovaire ou le fluide ovarien de la femelle lors de l'ovulation. Cette rétention, qui existe également dans le milieu naturel, est généralement due en aquaculture à l'absence du signal déclencheur de la ponte (Kjorsvik *et al.*, 1990). Les ovocytes dégénèrent ainsi, d'abord par manque d'oxygène, puis se dégradent au fur et à mesure du temps. Ce phénomène a particulièrement été étudié chez les salmonidés. Chez la truite arc-en-ciel, le liquide cœlomique présente au cours de la surmaturation une augmentation de l'activité de l'Aspartate Aminotransférase (indicateur de l'intégrité des membranes plasmiques) et de l'Acide Phosphatase, ainsi qu'une diminution du pH et une augmentation des teneurs en acides gras estérifiés et non estérifiés et du contenu protéique du fluide ovarien (Lahnsteiner, 2000). Ces molécules sont relarguées par les ovocytes en dégénérescence et pourraient servir comme indicateur de la qualité des ovocytes. Chez la truite brune de mer (*Salmo trutta caspius*), Bahrekazemi *et al.* (2009) ont également mis en évidence une augmentation des taux de glucose, calcium, fer, et du cholestérol dans le fluide ovarien.

#### ***II.1.1.3. Estimation de la qualité des ovocytes***

##### **Paramètres morphométriques classiques**

###### *Taille des ovocytes*

En aquaculture, il est historiquement perçu qu'un ovocyte plus gros est de meilleure qualité. La réalité est bien plus complexe. La taille de l'ovocyte peut être exprimé en tant que diamètre ovocytaire, volume ovocytaire, poids sec, poids humide, énergie contenue par ovocyte ou toute substance clé contenue dans l'ovocyte (carbone, azote, protéine...) (Kamler, 2005). Cependant, la plupart des données concernent le diamètre ovocytaire, qui est dépendant de la taille du vitellus d'un part, mais peut également varier en fonction de l'espace périvitellin (Balon, 1986).

Généralement, les ovocytes de plus grande taille ont tendance à avoir une valeur énergétique plus importante, mais cette corrélation n'est pas systématique (Kamler, 2005). Ceci limite ainsi la pertinence de l'étude du diamètre ovocytaire. Les larves provenant d'ovocytes plus gros montrent généralement de meilleures performances : elles sont plus grandes à l'éclosion et ont un meilleur taux de croissance (Moodie *et al.*, 1989 ; Huss *et al.*, 2007 ; Teletchea *et al.*, 2010) ; cette différence de performances peut persister jusqu'à 107 jours après l'éclosion chez les saumon *Salmo salar* (Einum et Flemming, 2000).

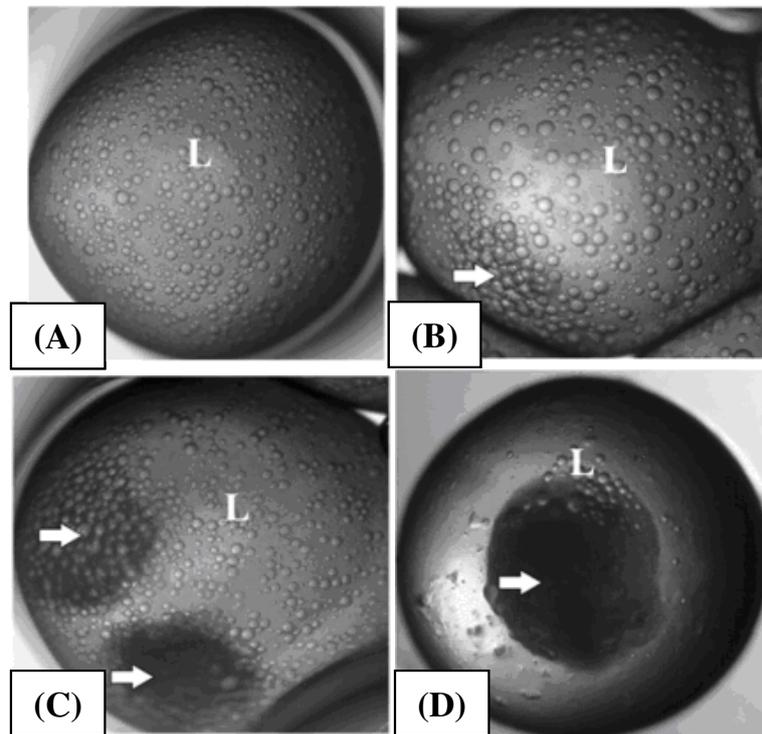
De grandes différences de taille des ovocytes sont observées entre différentes populations d'une même espèce, à âge et poids comparables, qui peuvent aller jusqu'à 70% chez le saumon coho (*Oncorhynchus kisutch*) (Brooks, *et al.*, 1997). Ceci n'est pas systématiquement lié à des différences de qualité, et la taille des ovocytes pourrait traduire une adaptation stratégique des géniteurs. Par exemple, les populations fluviales de *Rhinogobius sp* produisent des ovocytes plus larges ayant plus de réserves vitellines que les populations lacustres, car les larves des populations fluviales sont plus exposées au risque de jeûne à l'issue de la résorption du sac vitellin (Maruyama *et al.*, 2003). La température peut également expliquer les différences de taille. Les gros ovocytes semblent être favorisés dans les eaux froides, car leur développement embryonnaire est plus long. Ceci n'est pourtant pas systématiquement confirmé (Kamler, 1992 ; Teletchea *et al.*, 2009a, Teletchea et Fontaine, 2010). Inversement, un ovocyte plus gros a un rapport surface sur volume plus faible, ce qui est défavorable pour une bonne oxygénation de l'embryon dans un eau plus chaude (Marsh, 1984).

Ainsi, la taille des ovocytes est un paramètre complexe, qui, bien que régulièrement utilisé en pisciculture, ne donne qu'une indication partielle de la qualité de la ponte.

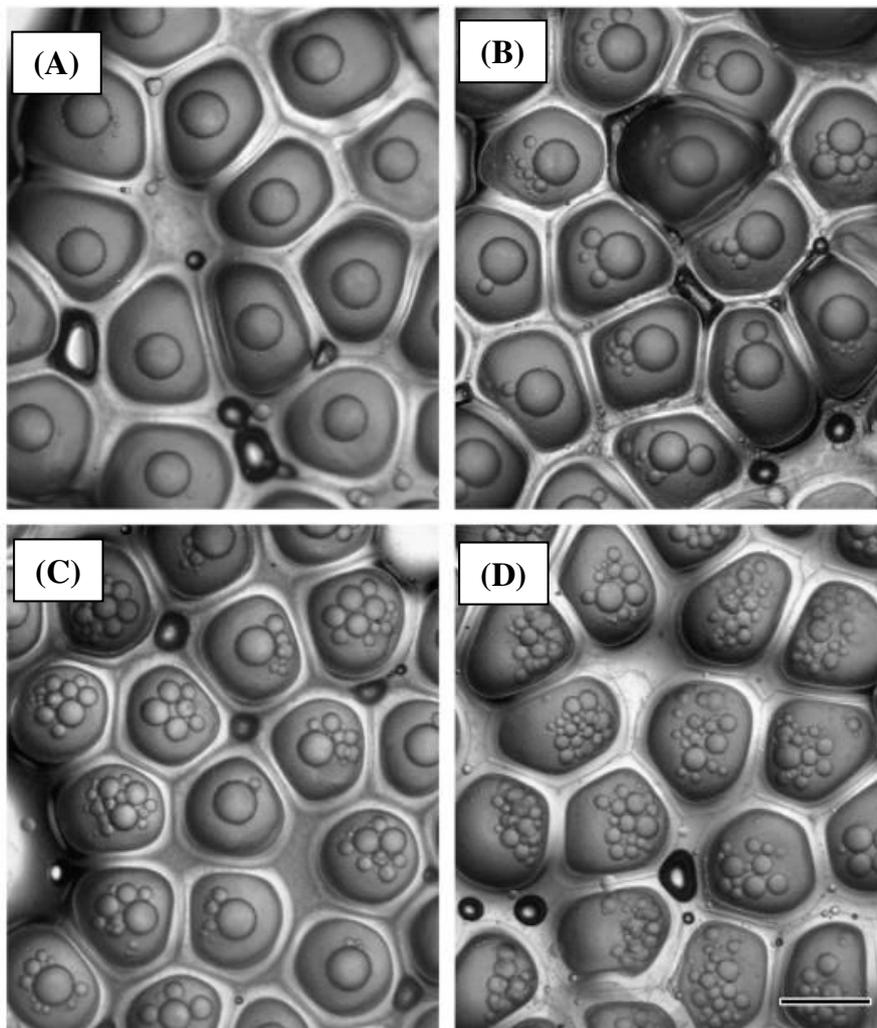
#### *Autres indicateurs*

Chez certaines espèces, la présence de gouttelettes lipidiques peut être utilisée pour estimer la qualité des ovocytes. Chez la truite fario (*Salmo trutta fario*), la distribution des gouttelettes a été étudiée par Mansour *et al.* (2007). Lorsque les gouttelettes étaient distribuées partout dans l'ovocyte (Figure 10), la qualité des ovocytes était haute (pourcentage d'embryons au stade œillé de  $96,2 \pm 5.2$  %). Une légère agrégation des gouttelettes sur un pôle diminuait la qualité de 50 % ( $40,6 \pm 15.2$ ). Si l'agrégation était plus importante, sur un ou 2 pôles, la qualité diminuait encore ( $3,3 \pm 2.9$  % et zéro). Chez la perche, le phénomène de fragmentation de la gouttelette lipidique est au contraire accompagné d'une diminution de la qualité des ovocytes (Zarski *et al.*, 2011). Quatre catégories de gouttelettes ont été observées

(Figure 11), de la gouttelette entière (Stade I) (pourcentage d'embryons au stage œillé de 92.80%) à des gouttelettes très fragmentées (Stade IV) (mortalité embryonnaire de plus de 90%). Ainsi, si l'étude des inclusions lipidiques doit être réalisée pour les ovocytes de chaque espèce de poisson, ce paramètre peut être un indicateur de qualité intéressant.



**Figure 10** : Différentes formes de gouttelettes lipidiques dans les ovocytes de truite fario (*Salmo trutta fario*) (G x 15). Quatre catégories ont été déterminées en fonction de la forme des gouttelettes. (A) Catégorie I: les gouttelettes sont distribuées sur l'ensemble de l'ovocyte. (B) Catégorie II : Quelques lipides s'agrègent sur un pôle ovocytaire (C) Catégorie III : La plupart des lipides sont agrégés sur un des deux pôles de l'ovocyte (D) Catégorie IV : L'ensemble des lipides se sont agrégés en une grosse et unique gouttelette en un pôle de l'ovocyte. D'après Mansour *et al.* (2007).



**Figure 11:** Différentes catégories de ruban de perche après ovulation, en fonction du degré croissant de fragmentation de la gouttelette lipidique. (A) : Catégorie I. (B) : catégorie 2 ; (C) : catégorie 3, (D) : Catégorie 4. La barre représente 1mm. Selon Zarski *et al.* (2011).

#### - Outils moléculaires

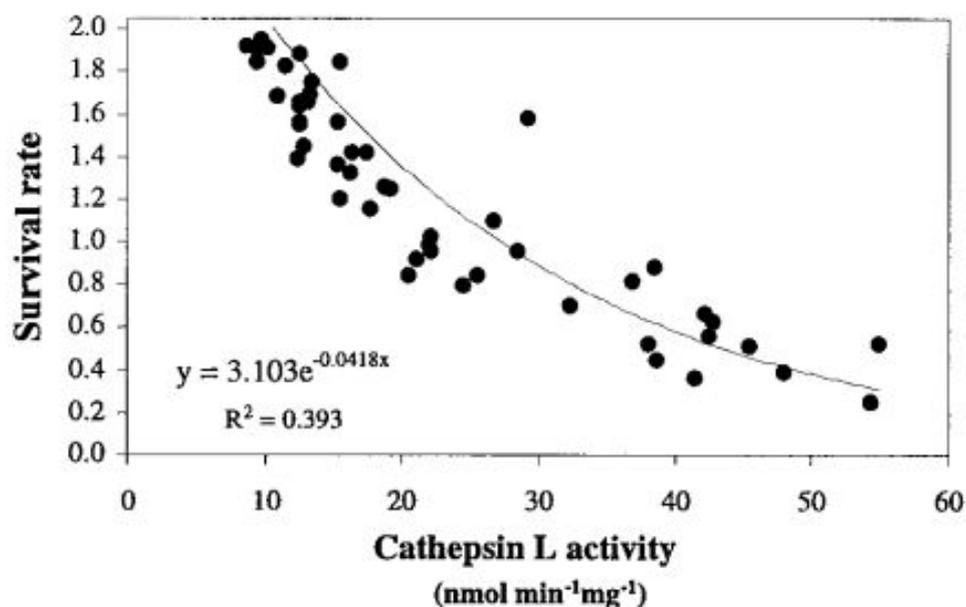
Actuellement, de plus en plus d'études qui utilisent l'outil moléculaire sont publiées. Elles visent à mettre en évidence des biomarqueurs moléculaires de la qualité des ovocytes, mais aussi à comprendre les mécanismes régissant cette qualité. L'avantage de ce type d'approche est l'aspect prédictif potentiel d'un biomarqueur, qui éviterait les suivis longs et fastidieux des pontes. Pour le moment, les études concernant les poissons restent peu nombreuses, mais tendent à se développer. En effet, deux groupes de molécules sont de plus en plus étudiés par la littérature : les ARNm et les protéines.

### Transcriptomique

Peu d'études sont disponibles pour le moment concernant la transcriptomique. Bonnet *et al.*, 2007a ont mis en évidence 6 transcrits chez la truite arc-en-ciel qui seraient liés à altération de la qualité des ovocytes lors de manipulations thermo-photopériodiques (survie embryonnaire plus faible, taux de malformation larvaire plus élevé). Une décroissance des ARNm de la *nucléoplasmine* (Npm2), de la tubuline  $\beta$  et de l'IGF1 est observée lors de la surmaturation des ovocytes chez la même espèce, phénomène associé à une baisse progressive de la qualité des ovocytes (Aegerter *et al.*, 2005). Ainsi, ces transcrits pourraient être biomarqueurs potentiels de la qualité ovocytaire chez la truite.

### Protéomique

Les premières études concernant les protéines des ovocytes ciblaient des protéines particulières. Ainsi, Kestemont *et al.* (1999) ont étudié le lien entre la baisse de la qualité des œufs chez la perche au fur et à mesure de la saison de ponte (diminution du taux de fécondation, changement dans l'aspect et la résistance des rubans, éclosions plus précoces et forte mortalité larvaire) et les taux de Cathepsine L. Cette protéase du lysosome serait liée à la mobilisation de la vitellogénine pendant le développement embryonnaire ; ces auteurs ont mis en évidence des liens entre l'activité de la Cathepsine L mesurée 7 jours après fécondation et le taux d'éclosion, ainsi qu'avec la résistance des larves au choc osmotique (Figure 12).



**Figure 12 :** Lien entre le l'activité de la cathepsin L ( $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ ) dans des œufs de *Perca fluviatilis* âgés de 7 jours, et le taux de survie embryonnaire lors d'un choc osmotique à un stress halin ( $25 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Kestemont *et al.*, 1999).

Gimenez *et al.* (2006) ont montré, chez le denté commun (*dentex dentex*), des différences dans la composition en carbohydrates des ovocytes et dans les activités enzymatiques (Phosphatase Alkaline et Pyruvate Kinase) selon que les pontes sont de bonne ou mauvaise qualité. Lahnsteiner et Paternello (2004) ont étudié le lien entre les concentrations d'Adenylate Kinase, de Glucose-6-phosphatase et de Transaldolase dans les ovocytes de daurade royale (*Sparus aurata*) et le pourcentage d'œufs se développant en embryons viables. Une régression linéaire simple a pu être mise en évidence, mais les auteurs n'ont retenu comme indicateur de qualité des ovocytes que l'Adenylate Kinase.

Cependant, il est fort probable que plusieurs protéines soient impliquées dans la régulation de la qualité des ovocytes. En effet, les mécanismes de régulation sont probablement bien plus complexes, impliquant la totalité d'une fonction cellulaire, voire plusieurs. Ainsi, l'intérêt de la protéomique réside dans l'étude simultanées de l'ensemble des protéines, soit le protéome. Ces techniques relativement récentes sont beaucoup utilisées en médecine (He *et al.*, 2005 ; Ali *et al.* 2010), et de plus en plus dans d'autres domaines tels que l'écotoxicologie (Calzolari *et al.*, 2007 ; Lemos *et al.*, 2010), la nutrition (Hamza *et al.*, 2010), la biologie du développement (Kristoffersen *et al.*, 2009) ; elles permettent outre l'observation des variations dans le protéome, d'identifier des biomarqueurs protéiques de maladie, de qualité, de perturbation cellulaire...

Pour le moment, peu d'études sur le protéome des ovocytes de poissons sont disponibles. Comme expliqué en **II.1.1.1.**, des cartographies du protéome du poisson zèbre et de la daurade royale (Ziv *et al.*, 2008), ainsi que de l'esturgeon (Keyvanshokoo et Vaziri, 2008) ont été obtenues. A notre connaissance, trois études ont permis de mettre en évidence des changements dans le protéome des ovocytes dans différentes conditions. Lors d'une étude comparative de follicules à plusieurs stades de développement, Rime *et al.* (2004) ont analysé le fluide cœlomique de la truite arc-en-ciel lors du processus de maturation ; ils ont mis en évidence plusieurs protéines (fragment de vitellogénines, Lectine type-C, et Apolipoprotein A-I-1) s'accumulant dans le fluide cœlomique lors de la maturation ovocytaire, permettant une première approche des mécanismes moléculaires impliqués lors de ce processus. Une étude préliminaire de Yoshikuni *et al.* (2003) a mis en évidence des changements d'expression des protéines ovocytaires et de phosphorylations protéiques durant l'acquisition de la maturation et la transduction du signal chez le médaka (*Oryzias latipes*). Enfin, une première analyse protéomique sur le bar commun (*Dicentrarchus labrax*) (Crespel *et al.*,

2008) ont conclu que la Nucléoside Diphosphatase Kinase était un biomarqueur potentiel de qualité des ovocytes puisqu'il est lié positivement au taux de fécondation.

La transcriptomique et la protéomique sont donc de nouveaux domaines d'analyse permettant de comprendre les mécanismes impliqués dans la régulation de la qualité ovocytaire, mais aussi de trouver potentiellement des marqueurs moléculaires, afin permettre la prédiction de la qualité d'une ponte.

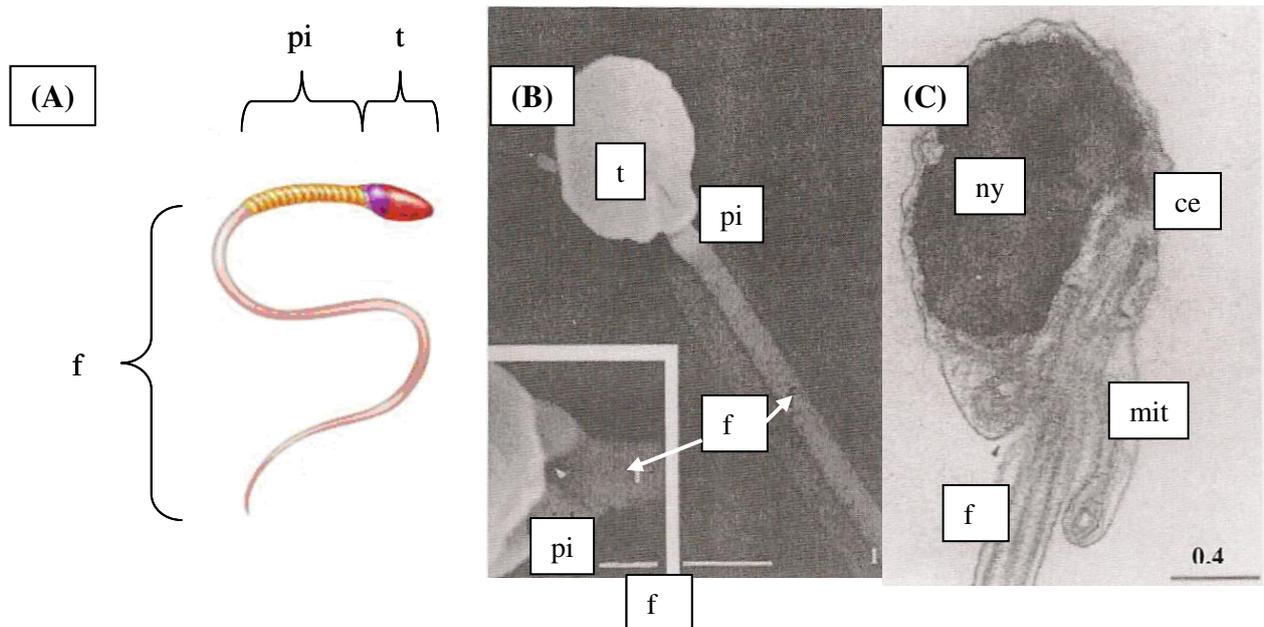
## **I.1.2. QUALITE DES SPERMATOZOÏDES**

### *II.1.2.1. Constitution du sperme*

#### **- Morphologie d'un spermatozoïde**

Un spermatozoïde de poisson est formé de 3 parties distinctes : tête, pièces intermédiaires et flagelle (Figure 13 (A-B)). La tête porte l'information génétique (n chromosomes) contenue dans un noyau, et contient très peu de cytoplasme. La forme du noyau varie selon les espèces. Le flagelle, généralement unique, correspond à une évagination de la membrane plasmique allongée par les microtubules ; il mesure quelques dizaines de micromètres, et son battement permet la mobilité du spermatozoïde. Les pièces intermédiaires contiennent des mitochondries (une ou plusieurs) fournissant l'énergie au flagelle, ainsi qu'une paire de centrioles à partir desquels s'allongent les microtubules. Chez la plupart des espèces, 9 paires de microtubules périphériques et un paire de microtubules centrale sont présentes, bien que certaines espèces n'en possèdent pas, comme l'anguille (Gibbons *et al.*, 1983).

Le spermatozoïde de perche présente une tête ovoïde de 1,7 à 1,9 $\mu$ m de long et 1,6 à 1,8  $\mu$ m de large, portant un noyau dépourvu de pores nucléaires et présentant très peu de cytoplasme (Figure 13 (C)). L'implantation médiolatérale du flagelle sur le noyau le rend asymétrique. Le flagelle mesure de 30 à 35  $\mu$ m. Une seule mitochondrie est présente dans les pièces intermédiaires, ce qui pourrait peut-être être en lien avec le faible temps de motilité (20 à 30s) (Lahnsteiner *et al.*, 1995).



**Figure 13:** (A) Représentation schématique d'un spermatozoïde. (B) Spermatozoïde de perche selon Lahnsteiner *et al.* (1995). (C) Détail de la tête et des pièces intermédiaire d'un spermatozoïde de perche selon Lahnsteiner *et al.* (1995). t : tête ; pi : pièces intermédiaires ; f : flagelle ; ny : Noyau ; ce : centrioles ; mit : mitochondries.

#### - Composition biochimique et métabolisme

##### *Spermatozoïde*

Selon la revue de Billard *et al.* (1995a), outre la forte composition en eau, l'analyse biochimique des spermatozoïdes montre la présence de lipides (2,5 à 3,5 % du poids frais) dont 36 à 40 % sont des phospholipides, 26 à 32 % du cholestérol, et 0,6 à 2,2 % des triglycérides. On note aussi la présence de glycogène, principalement chez les poissons à fécondation interne. Des enzymes du métabolisme énergétique ont également été identifiées (ATPases, Phosphatases, Lipases, Estérases, Oxydases, plusieurs enzymes uricolytiques, LDH, NAD et NADP Hydrogénase) (Billard et Cosson, 1990). Des protéines nucléaires sont également présentes et très variables selon les espèces : Protamine ou Histones, déterminant ainsi l'intensité de la condensation chromatique et donc la résistance de l'ADN spermatique (Bobe et Labbé, 2010).

##### *Liquide séminal*

Le liquide séminal des poissons contient des minéraux, des protéines en petite quantité, des carbohydrates (glucose principalement et fructose en concentrations plus

faibles), de l'acide lactique et des lipides. La concentration en protéines est bien plus faible que chez les mammifères (Mann et Lutwak-Mann, 1981), soit généralement de 1 à 3 g.L<sup>-1</sup>. On y trouve des lipoprotéines (Loir *et al.*, 1990) dont le rôle supposé serait de permettre les interactions avec les membranes plasmiques des spermatozoïdes pendant le stockage dans les spermiductes. Des anti-protéinases sont également présentes, elles protégeraient les spermatozoïdes contre la protéolyse (Ciereszko *et al.*, 2000). Une activité protéolytique, variable selon les espèces, a également été observée, mais son rôle n'est pas trop connu (Kowalski *et al.*, 2003).

#### - **Caractéristiques du sperme**

La densité en spermatozoïdes varie selon les espèces de poisson de 0,7 à 130 milliards de spermatozoïdes par millilitre de sperme suivant les espèces (Suquet *et al.*, 1994). Ces variations dépendent des différences écologiques et des comportements de reproduction. Par exemple, la densité en spermatozoïdes de la perche est forte, plusieurs mâles entrant en compétition pour fertiliser une même ponte de femelle ; la compétition spermatique sera forte et un nombre élevé de spermatozoïde augmente les chances de fécondation de chaque mâle. Tandis que chez les salmonidés, les mâles compensent le fort courant de l'eau par un plus grand volume d'éjaculat et une densité ainsi plus faible, le nombre d'ovocyte (de grosse taille) étant réduit (Piironen et Hyvärinen, 1983). Chaque espèce a donc des caractéristiques particulières de densité et de volume. Cependant, il est fréquemment observé des variations des caractéristiques du sperme pendant le cycle de reproduction, en association avec une diminution de sa qualité en fin de cycle (Hajirezaee *et al.*, 2010).

#### ***II.1.2.2. Estimation de la qualité du sperme***

##### - **Volume de sperme et concentration en spermatozoïdes**

Le volume de sperme, évalué par stripping à un moment précis du cycle de reproduction, permet de comparer les performances des mâles. Cependant, bien qu'utile, cette mesure ne représente probablement pas la quantité réelle du sperme produit sur l'ensemble de la période de reproduction.

La concentration en spermatozoïdes est un paramètre également simple à estimer : comptage au microscope, spermatocrite, cytométrie de flux (Alavi *et al.*, 2008). Du fait de la forte variabilité inter-individus, des dilutions successives, des erreurs de comptage possibles lors du comptage à l'œil, ou des problèmes de sédimentation, ce paramètre reste un indicateur

peu fiable, même si on peut supposer qu'un mâle produisant moins de sperme fécondera moins d'ovocytes.

- **Motilité**

La motilité des spermatozoïdes est essentielle pour leur permettre de féconder un ovocyte (Billard *et al.*, 1995b), bien qu'elle ne garantisse pas la fécondation. Ce paramètre intègre la qualité de nombreux compartiments cellulaires du spermatozoïde responsables de l'activation de la motilité et du soutien progressif du mouvement : mitochondries possédant les réserves énergétiques nécessaires, structure et composition de l'axonème (partie axiale du flagelle), et la membrane plasmique. Ce paramètre est très utilisé afin de comparer les qualités de différents spermes.

Autrefois simplement estimé par l'observation sous microscope entre lame et lamelle des spermatozoïdes après activation (Fauvel *et al.*, 2010), la technique utilisée actuellement consiste en un enregistrement vidéo du mouvement des spermatozoïdes. Utilisés depuis une dizaine d'années, les systèmes CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*) permettent l'intégration des différentes positions de la tête d'un spermatozoïde en mouvement lors d'enregistrements vidéos afin de calculer les trajectoires et ses caractéristiques. Cette méthode est particulièrement bien adaptée pour l'étude du sperme des poissons : en effet, ceux-ci présentent une motilité courte et qui varie rapidement. Bien que beaucoup d'informations sur le sperme soient ainsi générées par ces analyses, seules quelques paramètres sont utilisés pour révéler une différence significative entre différents spermes (Rurangwa *et al.*, 2001; Linhart *et al.*, 2005).

Bien que certaines études aient mis en évidence un lien entre la motilité et le pouvoir fécondant des spermatozoïdes (Ciereszko *et al.*, 2000 ; Linhart *et al.*, 2000), cette observation n'est pas systématique. Il est possible que de fortes concentrations en spermatozoïdes compensent une motilité moindre.

- **Nouvelles méthodes biochimiques**

*Qualité de la membrane plasmique*

L'étude de la qualité de la membrane plasmique des spermatozoïdes est régulièrement étudiée afin d'évaluer l'impact de polluants ou de la cryopréservation sur la qualité du sperme. Les dommages observés sont souvent associés à une motilité réduite (Ogier de Baulny *et al.*, 1999). Les méthodes d'étude sont assez difficiles à mettre en place. Il est possible de l'étudier indirectement en analysant les divers composants cytoplasmiques

(enzymes, métabolites) présents dans le fluide séminal, ceux-ci reflèteraient les altérations de la membrane, et donc sa perméabilité (Ciereszko et Dabrowski, 1994, Zilli *et al.*, 2004). La perméabilité de la membrane plasmique peut être également mesurée grâce à des colorants hydrophobes (éosine/nigrosine, éosine seule) qui pénètrent dans le spermatozoïde lorsque la membrane est altérée, et colorent le noyau (Zilli *et al.*, 2003). Enfin, la résistance à un choc osmotique peut également être estimée (Marian *et al.*, 1993).

### *Qualité de l'ADN nucléaire*

Une méthode consiste à évaluer les dommages à l'ADN par un test « comet ». Ce test, sensible et fiable, consiste à faire migrer l'ADN des spermatozoïdes en 1D : l'ADN endommagé migre plus rapidement que l'ADN entier, d'où une forme particulière sur le chromatographe en forme de comète : les ADN endommagés sont présents dans la queue. Il semble que l'augmentation de l'altération de l'ADN observée par Labbé *et al.* (2001) soit corrélée avec une diminution du taux de fécondation. Cependant, le pourcentage absolu de noyaux altérés n'est pas prédictif du pouvoir fécondant du sperme.

### *Contenu énergétique*

Paramètre lié à la motilité des spermatozoïdes, le contenu en ATP du sperme a été mesuré chez plusieurs espèces de poissons tel que la carpe (Perchec *et al.*, 1995) ou la perche (Boryshpolets *et al.*, 2009). En effet, un lien entre le contenu énergétique et la motilité a déjà été mis en évidence chez la daurade royale (Cabrita *et al.*, 2005). De plus, une diminution des stocks d'ATP liée au processus de cryoconservation entraîne une diminution du taux de fécondation chez le turbot (Dreanno *et al.*, 1997), mais à priori, moins importante que chez la daurade, les spermatozoïdes de cette espèce étant capables de produire leur énergie pour soutenir le mouvement du flagelle (Dreanno *et al.*, 1997). L'étude du contenu énergétique demande à ce que des standards soient déterminés pour chaque espèce et que le métabolisme cellulaire soit examiné. Bien qu'il existe des exceptions, telles que l'ablette (*Alburnus alburnus*) qui ne montre aucune relation entre le stock d'ATP et la motilité des spermatozoïdes (Lahnsteiner *et al.*, 1996), ce paramètre est un marqueur de qualité intéressant.

#### - **Pouvoir fécondant**

La qualité des spermatozoïdes reste délicate à mesurer. En effet, différents paramètres entrent en jeu et peuvent se compenser : motilité, densité, volume... Il suffit d'un seul

spermatozoïde de qualité parmi des milliers pour féconder un ovocyte, et à fortes concentrations, le taux de fécondation ne reflètera pas la qualité globale des spermatozoïdes. Aussi, le pouvoir fécondant reste le paramètre le plus fiable : il correspond au taux minimal de spermatozoïdes nécessaire par ovocyte permettant d'obtenir le taux de fécondation maximal pour une ponte donnée. Plus précis que la mesure du taux de fécondation, pourtant souvent utilisée, il consiste à tester différentes dilutions du même sperme sur des lots d'ovocytes issus d'une même ponte. Ainsi, chez la lamproie marine, le ratio mesuré est de 50 000 spermatozoïdes par ovocyte pour obtenir un taux de fécondation satisfaisant de 85 % (Ciereszko *et al.*, 2000). Ce ratio est variable selon les espèces de poisson étudiées : 80 000 chez la carpe (Linhart et Billard, 1994) et 6000 spermatozoïdes par ovocyte pour un taux de fécondation de 75-85 % chez le turbot (Suquet *et al.*, 1995).

Cependant, les méthodes de mesure peuvent modifier les résultats. La conservation des ovocytes et du sperme à température ambiante lors de la fécondation artificielle peut altérer la qualité. Bien que des températures de conservation de 4°C permettent de préserver le sperme à plus long terme (Linhart et Billard, 1994), le sperme s'altère au cours du temps. Enfin, le liquide d'activation des spermatozoïdes peut modifier les propriétés des gamètes mâles et femelles, et doit donc être adapté à chaque espèce étudiée (Billard *et al.*, 1995b).

### **II.1.3. QUALITE DES ŒUFS FECONDES**

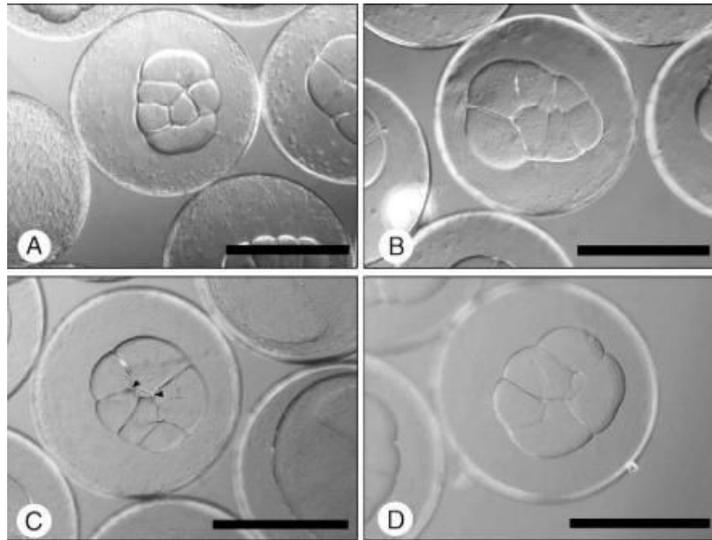
#### **- Taux de fécondation**

Ce paramètre est souvent utilisé dans la bibliographie pour détecter les pontes de mauvaise qualité (Kjorsvik *et al.*, 1990). C'est un indicateur fiable, bien qu'il ne soit pas systématiquement corrélé au taux de survie embryonnaire pour un certain nombre d'espèces comme la carpe, le corégone, la limande ou le turbot (Kjorsvik *et al.*, 1990). En effet, la fécondation de l'ovocyte ne dépend pas uniquement de son contenu, puisque la qualité des spermatozoïdes entre en jeu. De plus, un œuf pourra stopper son développement embryonnaire, à cause d'un défaut dans les réserves ovocytaires, ou des divisions embryonnaires.

#### **- Taux de malformation embryonnaire**

La fécondation est suivie par un processus de clivages cellulaires, qui correspond à une série de divisions mitotiques rapides qui permet l'obtention de nombreuses cellules appelées blastomères. Ceci se passe sans augmentation du volume cytoplasmique global lors

des premiers cycles de clivage. Pour la plupart des espèces de poisson, les blastomères sont réguliers en taille et forme. Mais il arrive que des anomalies apparaissent, en relation avec avec une faible viabilité des œufs (Kjørsvik *et al.*, 1990). Ces aberrations présentent des organisations spatiales irrégulières (asymétrie) ou des clivages anormaux : tailles inégales des cellules, adhésions inter-cellulaires incomplètes, nombre anormal de cellules... (Shield *et al.*, 1997 ; Rideout *et al.*, 2004) (Figure 14).



**Figure 14** : Différents types de clivages anormaux d’embryons d’aiglefin (*Melanogrammus aeglefinus*) au stade de développement 8 blastomères. (A) Asymétrie. (B) Taille des blastomères inégale (C) Faible adhérence entre blastomères (D) Faible définition des marges des blastomères. Les barres horizontales représentent 1mm. Selon Rideout *et al.* (2004).

Lors d’une étude sur la qualité des œufs de turbot, Kjørsvik *et al.* (2003) mettent en évidence un lien entre le taux de blastomères normaux aux stades 8-32 cellules et le taux de production de juvéniles de turbot. L’observation des anomalies des blastomères peut être un bon indicateur de la qualité de la ponte. En 2005, Avery et Brown utilisent cette méthode (étude des blastomères asymétriques aux stades de développement 4 et 8 cellules) comme indicateur de malformations chez la limande à queue jaune (*Limanda ferruginea*). Ils constatent que 40% des œufs présentant des blastomères asymétriques survivent et produisent une larve viable. La mortalité des œufs malformés apparaît lors du premier tiers de l’embryogenèse. Ceci suggère que certaines cellules sont capables d’effectuer une correction de la symétrie ou bien que la symétrie n’est pas un caractère critique pour la survie. Ainsi,

pour la limande à queue jaune, la symétrie des cellules ne peut être un indicateur fiable de la mortalité larvaire, comme cela a été considéré pour la sole. Ceci est également observé pour la morue atlantique (Avery *et al.*, 2009). La fiabilité de ce paramètre doit ainsi être vérifiée pour chaque espèce étudiée.

- **Taux d'éclosion**

Très souvent employé dans la littérature, le taux d'éclosion est un indicateur assez fiable. Il permet de connaître le succès du développement embryonnaire. Cependant, il n'est pas suffisant pour estimer la qualité d'une ponte. En effet, il ne permet pas de connaître le succès du développement larvaire. Les larves peuvent présenter de forts taux de malformation menant à leur mort ; elles peuvent aussi ne pas être capables de résorber le sac vitellin ou de s'alimenter par la suite. Enfin, la qualité du sac vitellin résorbé après l'éclosion peut influencer la qualité des larves. Par exemple, Henrotte *et al.* (2010) ont montré que des larves de perche provenant de deux lots expérimentaux dont les parents ont été nourris différemment (D1 avec un ration DHA/EPA/ARA de 3/2/2 et D2 avec un ratio de 23/9/1), peuvent présenter une qualité larvaire variable pour un taux d'éclosion similaire. Le lot D1 présente un taux d'éclosion de  $63,5 \pm 3,8 \%$ , qui n'est pas différent statistiquement du deuxième lot ( $44,6 \pm 19,1 \%$ ). Cependant les taux de survie larvaire à un choc osmotique et de survie au jeûne des larves sont significativement plus élevés pour le lot D1 ( $39,2 \pm 24,7$  et  $87,6 \pm 25,9$  respectivement) que pour le lot D2 ( $4,4 \pm 2,8$  et  $35,1 \pm 0,8$ ).

Il apparaît donc nécessaire de s'intéresser à la qualité des larves afin d'avoir une bonne estimation de la qualité d'une ponte.

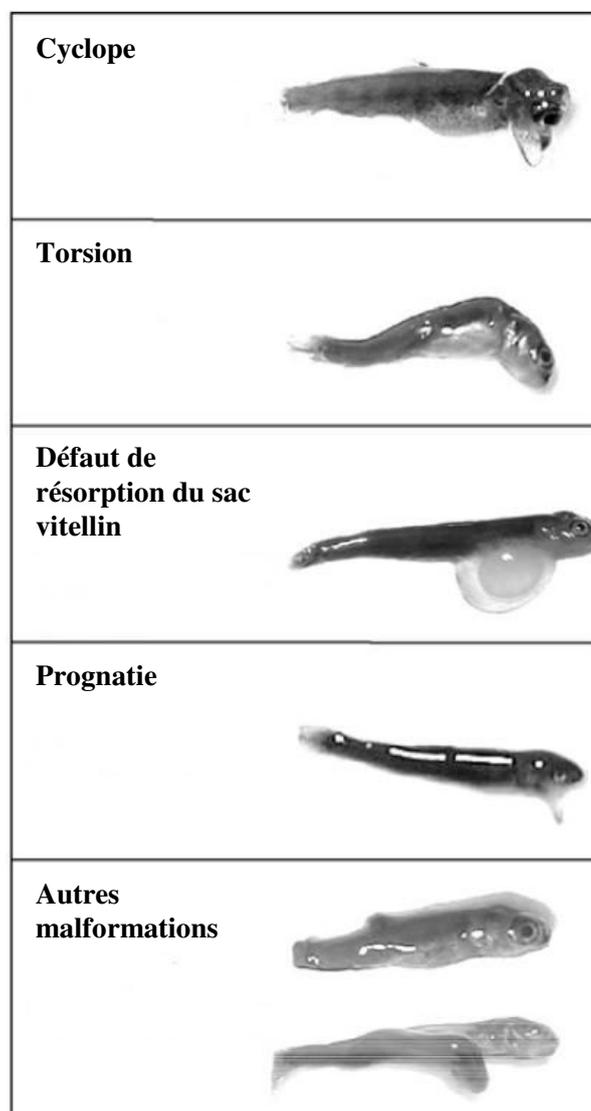
#### **II.1.4. QUALITE DES LARVES**

La qualité des larves est le reflet de la qualité globale de la reproduction. Elle complète l'information donnée par les paramètres mesurés sur les ovocytes, les spermatozoïdes et les œufs. Ce paragraphe présente les différents paramètres larvaires qui peuvent être étudiés lors d'un suivi des performances de reproduction.

- **Taux de malformations larvaires**

Il est possible que les malformations larvaires soient le résultat de malformations embryonnaires. La qualité des ovocytes et leur capacité à développer correctement un embryon peuvent être caractérisés par le taux de malformation larvaire, qui peut aussi résulter

d'un problème de qualité du sperme. Par exemple la cryoconservation peut endommager les spermatozoïdes et leur matériel génétique (Horvath et Urbanyi, 2000) et entraîner une augmentation significative du pourcentage de larves déformées (de 10 à 14%) par rapport au contrôle (4 %). Chez la truite, il a été montré que le vécu des géniteurs induit des malformations spécifiques certains types de perturbations telles que les manipulations photopériodiques (Bonnet *et al.*, 2007b). Le phénomène de surmaturation ovocytaire aura tendance à entraîner des malformations de type « cyclope » (Aegerter et Jalabert 2004 ; Bonnet *et al.*, 2007b). La fragmentation de la gouttelette lipidique chez la perche entraîne également des malformations larvaires (Zarski *et al.*, 2011). Différents types de malformations larvaires sont présentés sur la Figure 15.



**Figure 15:** Différents types de malformation larvaire chez la truite arc-en-ciel. Selon Bonnet *et al.* (2007b).

## - **Résistance et survie larvaire**

Une première méthode consiste à laisser les larves à jeun, afin qu'elles puisent dans leurs réserves. Leur capacité à mobiliser ces réserves est alors mise en évidence. Chez la perche, la mesure de la survie larvaire à 3 jours est régulièrement utilisée, les larves commençant leur alimentation exogène à ce stade. Cependant, la résorption du sac vitellin dure jusqu'à 7 à 10 jours après l'éclosion (Abi-Ayad, 1998). La mesure du taux de survie larvaire à 7 jours serait donc un bon moyen d'estimer la quantité et qualité des réserves vitellines. Certaines études mesurent la résistance des larves au jeûne. Un relevé journalier des larves mortes permet de définir la DL50, c'est-à-dire le temps mis pour atteindre 50% de mortalité pour un lot de larves (Henrotte *et al.*, 2010). Cette mesure semble plus complète, car elle prend en compte tous les facteurs susceptibles d'intervenir dans l'expression de la qualité d'une larve ; c'est donc un paramètre intégrateur.

Certaines études utilisent le test de résistance à un choc osmotique. Il consiste à mettre des larves dans une solution saline et de mesurer la mortalité après une certaine durée (généralement, 90min, Migaud, 2002 ; Henrotte *et al.*, 2010). Ainsi, on mesure la capacité des larves à réguler leur osmolarité. Cependant, aucune étude n'a montré le lien entre résistance au choc osmotique et survie larvaire.

*L'étude des méthodes d'évaluation des performances de reproduction nous a montré que nous avons à disposition de nombreux paramètres permettant d'estimer les performances de reproduction. Il semble important de prendre en compte différents niveaux (ovocytes, sperme, œufs fécondés et larves), correspondant à différents stades de la reproduction. L'estimation doit être faite le plus tard possible dans le développement larvaire, voire juvénile, puisque qu'aucun paramètre intégratif n'est disponible. Le facteur quantité des larves/juveniles ne doit être négligé, ni l'investissement des géniteurs dans la reproduction (fécondité). L'étude de nouveaux paramètres moléculaires de la qualité des ovocytes et du sperme pourrait permettre de mettre en évidence des biomarqueurs prédictifs de la qualité du cycle, qui éviteraient le suivi long et fastidieux, obligatoire à l'heure actuelle.*

## **II.2. FACTEURS MODULATEURS**

### **II.2.1. FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX**

De nombreux facteurs environnementaux sont susceptibles d'engendrer un stress pour les géniteurs ce qui peut altérer leur santé, et éventuellement leurs performances de

reproduction. Après un examen de la réponse au stress des poissons, une étude des facteurs environnementaux pouvant avoir une influence sur la reproduction sera réalisé.

### ***II.2.1.1. Réponse au stress des géniteurs***

La réponse au stress commence par un changement de fonctionnement des tissus et des organes, qui essaient de s'adapter à l'élément stressant. Ceci résulte en une perturbation de l'homéostasie, incitant l'organisme à s'adapter à ce stress (Schreck *et al.*, 2001). L'amplitude de la réponse peut varier selon les espèces, mais le mode de fonctionnement général reste le même.

- **La réponse primaire** consiste en un déclenchement d'une cascade neuroendocrine impliquant un relargage immédiat de catécholamines et l'activation de l'axe hypothalamus – hypophyse – cellules stéroïdogènes (Figure 16). Chez les vertébrés, elle est initiée par l'hypothalamus. Celui-ci relargue un neuromédiateur (CRH, *Corticotropin Releasing Factor*) qui active la libération sanguine d'ACTH (Adrénocorticotrope Hormone) par l'hypophyse (Sumpster, 1997). Parallèlement, les cellules nerveuses du système nerveux sympathique sécrètent de la sérotonine, qui induit la production d'adrénaline par les cellules chromaffines surrénales. La production d'adrénaline doit favoriser la réponse à un stress donné. Dans le même temps, l'ACTH induit la production de cortisol (hormone gluco-corticoïdienne) par les cellules interrénales en quelques minutes. Ensemble, l'adrénaline et le cortisol vont initier la réponse secondaire et la réponse tertiaire (Schreck *et al.*, 2001).

- **La réponse secondaire** consiste en la mobilisation des substrats riches en énergie : les réserves hépatiques en glycogène sont libérées, entraînant une élévation du glucose plasmatique (Figure 17). On observe également un effet sur la circulation générale des acides gras libres et une inhibition générale de la synthèse des protéines (Pickering., 1981) ; de ce point de vue, la réponse au stress peut être considérée comme ayant un effet anti-métabolique (Schreck, 1992). Le stress a également une action sur la balance hydrominérale : entrée d'eau pour les poissons d'eau douce et perte d'eau pour les poissons d'eau de mer. Les concentrations en électrolytes peuvent aussi être affectées, mais on ne sait pas si ce n'est pas un effet des mouvements d'eau dans l'organisme (Schreck *et al.*, 2001).

- Il existe un grand nombre de réponses tertiaires (Figure 17), résultant des réponses primaire et secondaire, comme par exemple, des changements de comportements (nutrition, agression) (Barton, 2002).

Afin d'estimer le niveau de stress d'un poisson, on mesure généralement le taux de cortisol plasmatique. En effet, la cortisolémie reste élevée en cas de stress ponctuel ou chronique, ce qui fait du cortisol un bon indicateur (Wendelaar-Bonga, 1997).

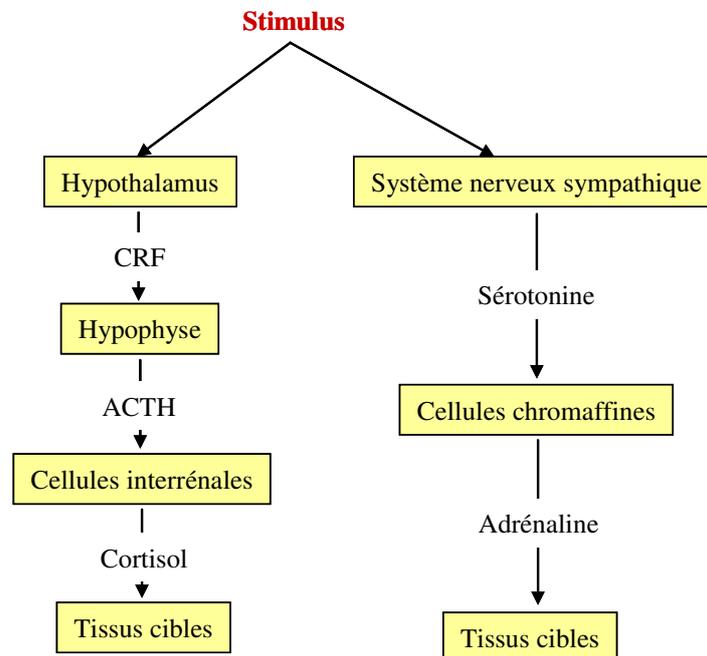


Figure 16: Schéma simplifié de l'endocrinologie du stress chez les poissons. CRF : melanin concentrating hormone ; ACTH : adrénocorticotrope hormone.

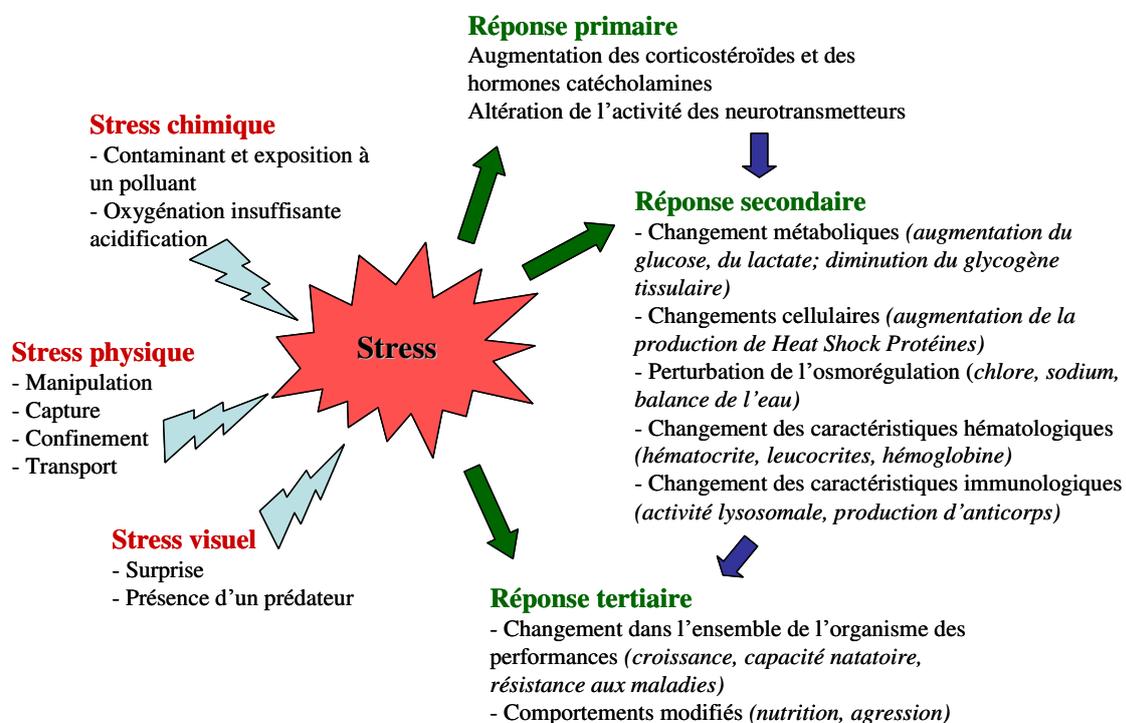


Figure 17 : Stress chimiques, physiques et visuels induisant la réponse au stress et ses conséquences physiologiques chez les poissons. Selon Barton, 2002.

### ***II.2.1.2. Effet du stress sur la reproduction***

En règle générale, le stress a des conséquences physiologiques néfastes sur la reproduction.

#### **- Effet du stress sur l'induction de la gamétogenèse**

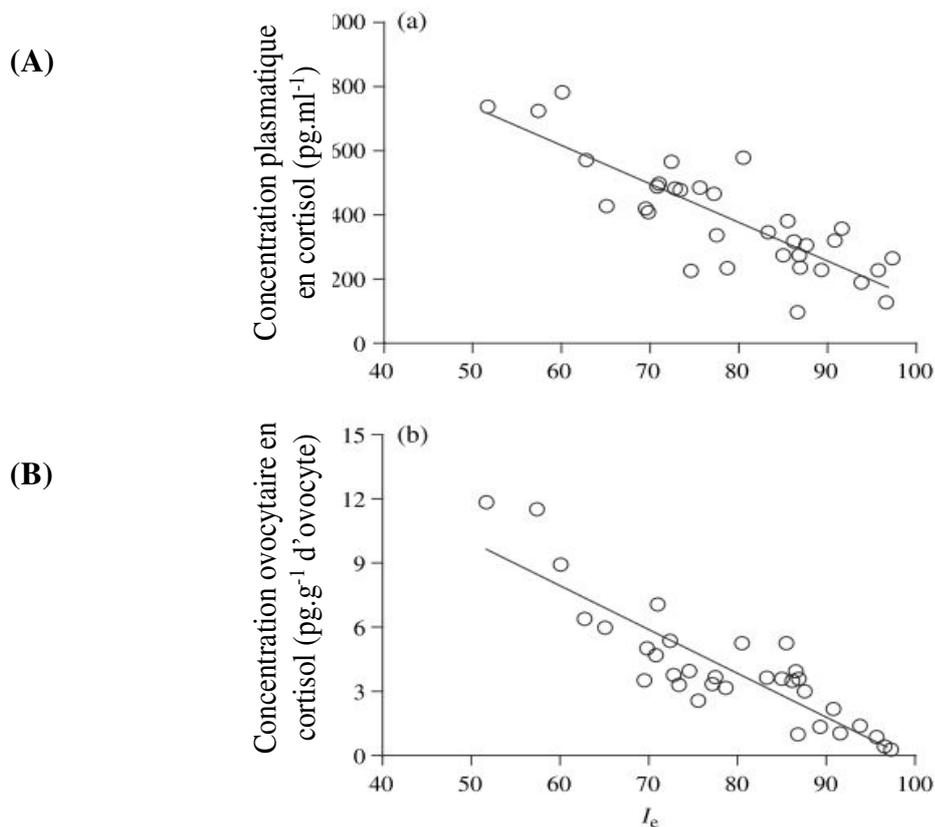
Le stress par son effet sur l'axe hypothalamus - hypophyse – cellules stéroïdogènes peut entraîner une réallocation de l'énergie entre les différentes fonctions de l'organisme, notamment la reproduction (Wendelaar-Bonga, 1997). Le cortisol peut ainsi avoir un effet suppressif de la gamétogenèse. Ceci a été observé chez la truite arc-en-ciel, lors d'exposition de follicules ovariens à de fortes concentrations de cortisol *in vitro*. Carragher et Sumpter (1990) ont observé un effet suppressif de la synthèse de stéroïdes, ce qui suggérait que le stress pouvait compromettre la vitellogenèse.

#### **- Effet du stress sur les performances de reproduction**

Il est possible que le stress modifie les performances de reproduction des géniteurs et la qualité de la progéniture. En effet, lors d'expérimentations réalisées par Campbell *et al.* (1992), un stress répété pendant 9 mois (émersion) a été appliqué à un lot de truites arc-en-ciel, induisant des taux plasmatiques de cortisol élevés (33,8 ng.mL<sup>-1</sup> pour les femelles stressées par rapport à 10,8 ng.mL<sup>-1</sup> pour les poissons témoins). La fécondité des femelles stressées n'a pas été affectée ; cependant la taille des ovocytes a été réduite par rapport au lot témoin. La survie larvaire a été diminuée de 15 %. La qualité du sperme des mâles a été également affectée. Les travaux plus récents de Mingist *et al.* (2007) montrent une relation négative entre la concentration en cortisol dans le sérum maternel et dans les ovocytes et le pourcentage d'œufs arrivant au stade œillé chez le saumon masu (*Oncorhynchus masou*) (Figure 18).

Si certaines études montrent un effet délétère du stress sur le développement embryonnaire, ceci n'est pas systématiquement observé. En effet, selon la période où survient le stress, ainsi que sa durée, l'impact sur les performances de reproduction sera variable. Ceci a été observé lors de l'expérience menée par Contreras-Sanchez *et al.* (1998). Un stress a été appliqué à des femelles de truite arc-en-ciel soit durant la période de vitellogenèse (45 jours - lot 1), soit durant la période de la maturation finale (45 jours - lot 2), soit durant la totalité de l'expérience (90 jours - lot 3). Le stress appliqué pendant la phase terminale de la gonadogenèse a induit une avancée de l'ovulation de 2 semaines (lots 2 et 3) par rapport au lot témoin et aux poissons stressés uniquement pendant la période de vitellogenèse (lot 1). La

fécondité absolue a été affectée, mais cela serait principalement dû à un retard de croissance ; la fécondité relative n'a en effet pas été changée. Cependant, la taille des ovocytes et des larves a été réduite pour ces conditions. Aucun lot n'a montré une survie et une résistance embryonnaire et larvaire affectées par rapport au témoin contrairement aux expériences décrites précédemment de Campbell *et al.* (1992) et Mingist *et al.* (2007).



**Figure 18 :** Relation entre le pourcentage de survie des embryons au stade œillé ( $I_e$ ) et (A) la concentration plasmatique et (B) la concentration ovocytaire de femelles saumon masu élevées en bassins extérieurs. Une relation linéaire a été réalisée pour chaque graphe : (A)  $y = -12,018x + 1338,200$  et (B)  $y = -0,205x + 20,246$ . Selon Mingist *et al.*, 2007.

- **Effet du cortisol sur les ovocytes et larves**

Le cortisol est présent dans les ovocytes et larves de nombreuses espèces, dont le cardeau hirme (*Paralichthys olivaceus*) (De Jesus *et al.*, 1991), le saumon du Pacifique (*Oncorhynchus keta*) (Hwang *et al.*, 1992) ou le bar d'Asie (*Lates calcarifer*) (Sampath-Kumar *et al.*, 1997). Il s'accumule facilement dans les ovocytes, mais la concentration décroît rapidement entre la fécondation et l'éclosion. Son rôle exact n'est pas bien connu. Des travaux effectués sur les larves indiquent que le cortisol peut entre autres entraîner la stimulation des hormones thyroïdiennes chez le cardeau hirme (de Jesus *et al.*, 1990),

augmenter la survie larvaire (chez le bar, Sampathkumar *et al.*, 1993) et stimuler la croissance larvaire (Lam, 1994).

### ***II.2.1.3. Différentes sources de stress***

#### **- Manipulations**

Les manipulations par l'homme en condition d'élevage (pêche au filet, émergence, nettoyage des bassins...) peuvent engendrer de forts stress des géniteurs (Wendelaar-Bonga, 1997 ; Barnett et Pankhurst, 1998). De forts taux de cortisol sont observés après manipulations, des taux de 200ng.mL<sup>-1</sup> sont relevés chez des juvéniles de perche une demi-heure après l'induction du stress (Jentoft *et al.*, 2005). Lors d'un stress répété, la cortisolémie basale peut rester élevée plusieurs semaines comme l'ont observé Sunyer *et al.* (1995). Ceci peut entraîner des modifications des performances de reproduction comme présenté en **2.1.2**.

#### **- Lumière**

En dehors de l'influence de la photopériode, la relation entre lumière et performances de reproduction n'a pas été beaucoup étudiée. L'impact de l'intensité lumineuse et de la qualité de la lumière (spectre lumineux) est assez bien connu chez les larves, qui présentent des préférences spécifiques d'intensité et de longueur d'onde qui leur permettent de voir leurs proies tout en limitant le stress de trop fortes luminosités (Villamizar *et al.*, 2011). Chez des poissons plus âgés, une telle sensibilité peut être observée, et des conditions lumineuses inadéquates peuvent entraîner une augmentation du cortisol plasmatique, voire une dégradation de la rétine (Vera et Migaud, 2009). Cependant les poissons adultes semblent également capables de s'adapter à des conditions non favorables (Migaud *et al.*, 2007).

Ainsi, lors d'une expérience multifactorielle (Wang, 2006), l'intensité lumineuse est apparue être un facteur modulateur majeur de la qualité de la reproduction chez des mâles de perche, agissant principalement en interaction avec d'autres facteurs (température, réserves énergétiques des géniteurs à l'entrée du cycle de reproduction, manipulations, présence d'une phase d'aube) sur leurs caractéristiques de reproduction (IGS, concentration et osmolarité du sperme, concentrations en cortisol et en 11 kéto-testostérone...). L'impact sur les femelles a été moindre, seuls les taux de cortisol ont été affectés par une luminosité plus élevée (1000 lx vs 100 lx).

Une lumière inadaptée est ainsi une source de stress, qui peut modifier la qualité de la reproduction.

## - Qualité de l'eau

Un pH ou une salinité non adapté(e), les divers polluants que l'on peut trouver en milieu aquatique, une saturation en oxygène (O<sub>2</sub>) trop faible... peuvent altérer les performances de reproduction des géniteurs.

### *pH et oxygène*

Un pH trop faible peut altérer les tissus cutanés des poissons, notamment au niveau branchial, perturbant ainsi la santé du poisson (Dey *et al.*, 2001 ; Zabolkina, 2005). Appliqué lors de la gonadogenèse, ceci peut avoir pour effet une altération de la qualité des gamètes, comme cela a été observé par Dey *et al.* (2009). En effet, les spermatozoïdes ont montré une diminution de qualité (flagelles sous-développés, acrosomes très peu développés, phénomènes d'agglutination des spermatozoïdes, problème de motilité), lorsque les mâles du danio géant (*Devario aequipinnatus*) ont été maintenus en aquarium dans une eau acidifiée telle qu'observée dans le milieu naturel suite à une pollution. Les effets du pH observés en milieu naturel sont généralement couplés à une pollution (métaux) des eaux, ce qui ne permet pas de conclure sur l'effet réel du pH sur les performances de reproduction (Vuorinen *et al.*, 2004). Une perturbation du pH reste cependant un facteur potentiel de perturbation de la santé des géniteurs, et donc de la reproduction.

L'impact d'un pH non adapté ou d'une hypoxie auront plutôt lieu lors de la ponte, au moment de la fécondation, lorsque les gamètes se retrouvent au contact de l'eau. Le taux de fécondation et la réaction corticale peuvent être diminués, comme observé chez le corégone (*Coregonus lavaretus lavaretus*) (Keinänen *et al.*, 2003).

### *Polluants*

Il existe également de nombreux polluants d'origine agricole ou industrielle, dont les effets sont très nombreux et variés. Aussi seuls les plus connus pour leur influence sur la santé et la reproduction seront évoqués. Certains polluants comme le phénol, molécule issue de l'industrie (raffinage du pétrole) et des pollutions plastiques, entraîne des nécroses principalement des branchies, mais aussi de la peau, du tractus digestif... altérant la santé des poissons et pouvant à terme avoir un effet sur les systèmes de reproduction (Wlasow *et al.*, 2010).

L'ammoniac est une substance toxique fréquemment observée dans un élevage en circuit fermé (Modra et Svobodova, 2009). Il est principalement dû à l'excrétion des poissons

(Stejskal *et al.*, 2009) et doit être contrôlé au risque de voir apparaître un état de stress des poissons, et une diminution de la croissance malgré une adaptation relative à ces conditions peu favorables au bien être (Pinto *et al.*, 2007).

Il existe également de nombreux perturbateurs endocriniens, comme les métaux lourds ou le 4-nonylphénol (molécule utilisée en industrie), qui peuvent entraîner une diminution des productions oestrogéniques et androgéniques chez les poissons (Ebrahimi et Taherianfard, 2009) ainsi que des diminutions des performances de reproduction (réduction de la fécondité, de la qualité du sperme, de la fertilité) (Popek *et al.*, 2006).

#### - **Caractéristiques de l'habitat**

Chaque poisson a des préférences spécifiques et occupe une niche écologique particulière dans la nature. Aussi, les caractéristiques physiques de l'habitat et sa complexité (végétation, présence d'abri, ...), ou bien la texture du substrat, peuvent influencer sur leur bien-être. C'est ainsi que la sole, un poisson plat et benthique, présente des préférences entre les habitats d'élevage proposés : un substrat plastique tend à augmenter leur inconfort par rapport à du sable ; la couleur préférée dépend du substrat utilisé (Reig *et al.*, 2010). Si dans cette expérience, l'altération du bien-être est observée par une analyse du comportement des poissons sur une courte durée, d'autres conséquences d'un environnement inadapté (couleur des bassins) peuvent être observées aux niveaux de la croissance, de la concentration sanguine en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), ou de la mobilisation des réserves hépatiques en lipides (carpe commune, Papoutsoglou *et al.*, 2000). Des truites arc-en-ciel élevées dans un bassin noir présenteront une diminution du poids total, de l'alimentation et du taux de conversion alimentaire par rapport à des poissons élevés dans un environnement bleu ou blanc (Papoutsoglou *et al.*, 2005).

La perche occupe différentes zones dans son habitat naturel : bancs de sable peu profonds dans des rivières ou proches de rives enrochées (Copp et Juradja, 1993), ou en pleine eau dans les lacs avec des déplacements verticaux en fonction de la disponibilité en nourriture... (Mairesse, 2005). C'est donc un poisson opportuniste capable d'occuper des milieux très différents (Mairesse, 2005). Cependant, sa grande sensibilité à l'intensité lumineuse (Wang, 2006) suggère que des zones d'ombre ou des refuges pourraient diminuer l'état de stress des géniteurs élevés en circuit fermé.

### **II.2.1. FACTEURS NUTRITIONNELS**

Bien que tous ses effets ne soient pas encore compris, l'alimentation joue un rôle très important dans la reproduction. Source d'énergie pour le géniteur, elle lui permet d'assurer l'entretien, la croissance de l'organisme, ainsi que la reproduction. Par sa composition biochimique et sa disponibilité, elle influe non seulement sur l'état du géniteur (métabolisme, immunité, bien-être général), mais aussi sur la qualité des gamètes.

### ***II.2.1. Taux d'alimentation et reproduction***

Le principal effet d'une restriction alimentaire concerne la fécondité. Chez la truite fario (*salmo trutta*), un faible taux de nourrissage (0,4 à 3,2 % de la biomasse) pendant toute la durée du cycle reproducteur a diminué la fécondité absolue ( $1315 \pm 92$  pour un taux de 0,4 % et  $1789 \pm 221$  pour une alimentation *ad libitum*) (Billard et de Frémont, 1980). La même tendance a été observée chez des femelles de morue subissant des privations de 3 à 9 semaines pendant la vitellogénèse (Karlsen *et al.*, 1995), et chez le bar nourris à 0,45 % du poids vif par jours 6 mois avant les pontes (Cerdeira *et al.*, 1994). Yoneda et Whright (2005) ont montré chez la morue une corrélation négative entre la croissance somatique et la croissance ovocytaire, montrant la réallocation de l'énergie par le géniteur vers la reproduction, qui reste la priorité du géniteur. Les poissons investissent donc prioritairement leur énergie dans la gonadogenèse, et l'éventuel surplus sert à la croissance somatique. Ceux qui subissent des restrictions ont alors un poids inférieur à ceux nourris sans restriction. Ainsi, étant donné que la fécondité absolue (nombre d'œufs par poisson) est dépendante de la taille des poissons, et celle-ci est diminuée par la restriction, tandis que la fécondité relative (nombre d'œufs par gramme de poissons) reste inchangée, comme l'ont également observé Karlsen *et al.* (1995).

Cependant, le moment où la restriction est appliquée est important, et peut réduire la fécondité relative. Lorsque des faibles rations sont distribuées à des turbots pendant la période de recrutement des ovocytes vitellogéniques (4-8 mois avant les pontes), si les ovocytes de quelques femelles se développent normalement, la plupart des femelles présentent une absence d'ovocytes vitellogéniques, ou bien des ovocytes faiblement développés ; de fortes atrésies folliculaires sont également observées. Tandis que l'application des faibles rations pendant la période de vitellogénèse, soit 4 mois avant les pontes, entraîne une diminution de la vitellogénèse et de la croissance ovocytaire, entraînant une baisse de 70 % du poids ovarien par rapport au lot témoin (pas de restriction alimentaire) (Bromley *et al.*, 2000). Les mâles semblent moins sensibles que les femelles (Bromley *et al.*, 2000 ; Imsland et Gunnarsson., 2011), car leur investissement dans la reproduction est moindre.

Une restriction alimentaire peut entraîner un retard de maturation (Ali *et al.*, 2001). Ceci a été observé chez l'omble chevalier, lors d'une restriction de 50 % de la ration par rapport au lot témoin pendant 2 périodes de 6 semaines sur l'année d'expérimentation (septembre-novembre et décembre-février). L'IGS et les concentrations plasmatiques de testostérone des femelles ont été diminuées pendant les phases de fin de maturation, entraînant ainsi un retard de la maturation ovocytaire (Imslund *et al.*, 2011). Le même phénomène a été observé chez le bar, pour lequel une alimentation réduite entraîne une diminution de l'œstradiol plasmatique et un retard d'un mois des différenciations folliculaires et donc de maturation (Cerda *et al.*, 1994). La puberté peut également être retardée lors d'une diminution de la croissance, lié à une restriction, et ce malgré les phénomènes de compensation couramment observés (Taranger *et al.*, 2010).

La qualité des ovocytes reste peu affectée par les restrictions alimentaires. La taille ovocytaire peut être diminuée, comme observé chez le bar (Cerda *et al.*, 1994), chez le *Brycon amazonicus* (Camargo et Urbinati, 2008). Ceci n'est pas le cas pour le *Tilapia zillii*, par exemple, malgré une diminution de la ration de 25 % (Coward et Bromage, 1999). Les taux de fécondation et d'éclosion restent inchangés (Cerda *et al.*, 1994 ; Camargo et Urbinati, 2008), et si la survie larvaire peut être très faiblement changée comme observé chez le bar (Cerda *et al.*, 1994), des jeûnes répétitifs (2 jours de jeûne pour 3 jours de nourrissage pendant 6 mois avant les pontes) peuvent au contraire entraîner une plus grande résistance larvaire, indiquant la mise en place de mécanismes compensatoires encore inconnus (Camargo Urbinati, 2008).

### ***II.2.2. Effet de la qualité de l'alimentation sur les performances de reproduction***

La composition de l'aliment est un facteur important dans la détermination de la qualité de la reproduction et mérite que l'on s'y intéresse plus en détail. Une attention particulière a été portée aux lipides, dont le ratio entre les acides gras insaturés apparaît être déterminant dans la qualité de la reproduction.

#### **Lipides :**

Les lipides ont fait l'objet de nombreuses études dans la recherche en aquaculture. En effet, cette classe de molécules variées aux nombreux rôles physiologiques (présentés en **II.1.1.1.** et Tableau 2) est essentielle pour le fonctionnement de l'organisme et l'équilibre entre les différents lipides est très important pour le métabolisme.

### *Importance de la qualité des acides gras, et de leur taux d'incorporation dans l'alimentation des géniteurs :*

Certains acides gras sont essentiels dans l'alimentation des animaux dont les poissons, car ceux-ci ne sont pas capables de les synthétiser, comme l'acide linoléique (18:2 (n-6)), précurseur de l'ARA) et l'acide  $\alpha$ -linoléique (18:3 (n-3)), précurseurs de l'acide eicosapentaénoïque et l'acide docohexanoïque. En revanche, les besoins en AG varient d'une espèce de poisson à l'autre, et sont dépendants du métabolisme propre à chaque espèce et liés à l'environnement. En effet, l'étude de poissons marins montre que certaines espèces, telles que le turbot ou la daurade royale ne sont pas capables de subvenir à leurs besoins en acides gras poly-insaturés à chaîne de 20 ou 22 carbones. Ceci est dû à un mauvais fonctionnement d'une enzyme de conversion, la  $\Delta$ 6-Désaturase (Sargent *et al.*, 1997), ne leur permettant pas de convertir des AG à chaîne moyenne (18 C) en AG à chaîne plus longue (20 ou 22 C) (Sargent, 1995). Ces AG, en particulier ceux de la série n-3, doivent être alors présents dans leur alimentation, et tout particulièrement le DHA, (22:6 (n-3)) et l'EPA (20:5 (n-3)) (Bromage, 1995), et l'acide arachidonique (ARA, 20:4 (n-6)) (Sargent *et al.*, 1995, 1999). Les poissons d'eau douce au contraire ont besoin d'acides  $\alpha$ -linoléique et linoléique dans leur alimentation (Sargent *et al.*, 2002).

### *Acide gras et reproduction*

De nombreux travaux ont montré l'importance des acides gras dans la régulation de la qualité de la reproduction.

Tout d'abord, les acides gras peuvent agir sur le métabolisme endocrinien des géniteurs. En effet, l'EPA, le DHA et l'ARA sont des précurseurs des prostaglandines, phéromones produites par les poissons et qui seraient libérées dans l'eau afin de synchroniser les comportements sexuels (Sorensen *et al.*, 1988). C'est pourquoi des variations du taux de nourrissage peuvent entraîner des changements des taux hormonaux. Une étude *in vitro* a ainsi montré une réduction de l'action stéroïdogénique gonadotrope par l'action de l'EPA, du DHA et de l'ARA sur des cellules folliculaires de poisson rouge et de truite arc-en-ciel, conduisant à une diminution de la production de testostérone (Mercure et Van Der Kraak, 1995). De part la perturbation endocrinienne engendrée par un apport en AGPI non adapté, une altération des performances de reproduction peut être observé chez le bar lors de la période de reproduction. Une alimentation pauvre en AGPI, particulièrement ceux de la série (n-3), entraîne une production plus faible d'œstradiol et de testostérone, et une atrésie

folliculaire (Cerde *et al.*, 1995). L'étude menée par Asturiano *et al.* (2000) a également montré l'importance de ces AGPI dans la production *in vivo* de prostaglandines chez les mâles de bar, et suggèrent un rôle important dans la spermiation.

Le contenu ovocytaire étant généralement le reflet de l'alimentation des génitrices (Brooks *et al.*, 1997), il est couramment observé que les performances de reproduction sont affectées par le contenu en AG de l'alimentation. Ceci est le cas chez la daurade royale (*Sparus aurata*), dont la qualité de la ponte (fécondité, taux de fécondation, survie embryonnaire) est directement liée au contenu en AGPI (n-3). Des taux trop importants (2,18 et 3,15 % du poids sec de l'aliment) sont délétères pour les larves (augmentation du nombre d'œufs anormaux et diminution du taux de fécondation). Un taux optimal d'AGPI (n-3) est défini à 1.6% chez cette espèce (Fernandez-Palacios *et al.*, 1995). Tel qu'expliqué en **II.1.1.1.**, les rapports EPA/DHA/ARA incorporés dans les ovocytes sont particulièrement importants.

Il est également possible d'observer des phénomènes de régulation montrant que certains lipides sont préférentiellement accumulés dans les ovocytes (Tocher, 2003) ou subissent des modifications directement dans l'ovocyte (Fernandez-Palacio *et al.*, 1995). Il reste communément observé, toutefois, que chaque espèce a un régime optimal, assurant de meilleures performances de reproduction. Chez la perche commune, les meilleurs résultats sont obtenus pour un ratio DHA/EAP/ARA de 3/2/2 (Henrotte *et al.*, 2010). Il est donc important de déterminer les préférences de l'espèce élevée, tout particulièrement le ratio DHA/EAP/ARA, afin d'optimiser les performances de reproduction.

Chez les mâles, la qualité du sperme peut également être en fonction de la teneur en acides gras. Chez le bar, une ration alimentaire enrichie en AGPI entraîne une période de spermiation plus longue, un volume de sperme plus important, et une densité en spermatozoïdes plus forte que lors d'un nourrissage avec du poisson fourrage. Le taux de mâles spermiant est également plus élevé. La motilité des spermatozoïdes n'est pas améliorée (Asturiano *et al.*, 2001). Cet effet n'est cependant pas observé chez la perche, pour laquelle les changements d'AGPI entraînent des variations des caractéristiques biochimiques du sperme, mais pas de ses performances (volume, densité, motilité, vitesse ou osmolarité) (Henrotte *et al.*, 2011).

## - **Protéines**

Les protéines sont des molécules essentielles à l'organisme : après digestion, les acides aminés obtenus sont utilisés soit comme sources d'énergie (jusqu'à 40% des ressources métaboliques), soit comme unités de base des protéines synthétisées par l'organisme. Chaque espèce a des exigences en protéines, permettant la croissance et le maintien, et qui varient avec l'âge et la taille des poissons (Wilson, 2002). La proportion de protéines dans l'alimentation est donc très importante pour la bonne santé des poissons.

Selon les quelques études disponibles, la teneur en protéine de l'aliment peut également influencer sur la reproduction et sa qualité. Chez le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*), la teneur qui donne les meilleures performances de reproduction (nombre de pontes par bac, fréquence de ponte par femelle, fécondité absolue et nombre moyen d'ovocytes par ponte) est de 40%. Chez ce poisson, ce fort taux de protéines entraîne des pontes plus fréquentes et une augmentation significative du taux d'éclosion (77 % pour un taux protéique de 40 %, 66 % pour un taux de 35 et 62 % pour un taux de 30 %). En revanche, si ce taux diminue à 30%, cela entraîne une diminution de la fécondité absolue de 2,5 fois par rapport à un nourrissage à 40 % de protéines (El Sayed et Kawanna 2008). Les besoins sont variables selon les espèces : il a été montré chez les salmonidés que le besoin en protéines est moins important en période de reproduction (28 % de l'aliment), car les géniteurs utilisent leurs réserves lipidiques ; au contraire, la daurade montre des besoins énergétiques accrus en protéines (45 %), au quel cas les performances de reproduction seront altérées (nombre de globules lipidiques, taux d'éclosion et taux de malformation) (Luquet et Watanabe, 1986). Un optimum doit être trouvé pour chaque espèce, il est par exemple de 30% pour les femelles Xipho (*Xiphophorus helleri*) (Ling *et al.*, 2006).

L'origine des protéines utilisées est également importante. Généralement, le remplacement de protéines d'origine animale par des protéines d'origine végétale entraîne une diminution des performances de reproduction des géniteurs carnivores. Il a été observé une diminution de la fécondité des truites arc-en-ciel (Pereira *et al.*, 1998), bien qu'aucune incidence sur la qualité des œufs et des larves ne n'ait été observée chez cette espèce. Au contraire, l'ajout de protéines végétales dans l'alimentation entraîne une diminution du taux d'éclosion et de survie larvaire chez la dorade (Zohar *et al.*, 1995). La composition en acides aminés essentiels des protéines végétales semble donc être moins adaptée aux besoins des poissons carnivores que les protéines d'origine animale.

- **Vitamines, pigments et minéraux**

La *vitamine C* (acide ascorbique) est trouvée en quantité abondante dans l'organisme des téléostéens, plus particulièrement au niveau du cerveau et des gonades (Dabrowski et Ciereszko 2001). Le rôle important de l'acide ascorbique lors de la reproduction a été admis, même si les mécanismes ne sont pas très bien connus. Chez les femelles de truite arc-en-ciel, une augmentation des teneurs alimentaires en acide ascorbique est liée à une augmentation de la fécondité et de la survie larvaire (Blom et Dabrowski, 1995). Chez les mâles, une carence en vitamine C peut causer une diminution de la qualité du sperme et de sa concentration en spermatozoïdes, ainsi que de leur motilité (Ciereszko et Dabrowski, 1995).

La *vitamine A* et les *caroténoïdes* : La vitamine A est utilisée pour la croissance, la reproduction et le développement embryonnaire, et doit être présente dans l'alimentation, car les animaux sont incapables de la synthétiser (Palace et Werner, 2006). Stockée sous forme estérifiée, elle est présente dans l'organisme sous différentes formes : rétinol (Vitamine A1, forme alcoolisée), dèshydrorétinol (Vitamine A2, diffère de la vitamine A1 par une double liaison carbonée en plus), rétinol (aldéhyde, utilisé pour la vision)... Les caroténoïdes, dont l'astaxanthine, sont des précurseurs de la vitamine A ; ainsi l'incorporation à forte dose dans l'alimentation n'induit pas de problèmes d'hypervitaminose (dépressions de croissance, mortalités plus importantes, nageoires anormales et foies pâles) comme observé lors de fortes concentrations alimentaires de vitamine A (Furuita *et al.*, 2001).

L'incorporation de vitamine A dans les ovocytes est régulée, afin d'éviter une hypervitaminose et de préserver leur qualité. Ceci a été observé lors de la complémentation de l'alimentation en vitamine A de cardeaux hirame : la quantité de rétinol retrouvé dans le foie des femelles était 20 fois supérieure à celle trouvée dans les poissons témoins sans complément alimentaire, et seulement 4 fois plus importante dans les ovocytes. Le pourcentage d'œufs flottant et les taux d'éclosion étaient significativement plus importants dans le lot supplémenté, mais la fécondité et les autres mesures des performances reproductrices (taux de larves malformées et survie larvaire) n'étaient pas différentes (Furuita *et al.*, 2001). Si une augmentation de la disponibilité en vitamine A n'entraîne pas forcément de meilleures performances reproductrices, en revanche, il a été montré qu'une carence induisait une baisse des performances (Craik, 1985). Un excès de vitamine A peut être tératogène, et ce pour des teneurs variables selon les espèces. Pour le saumon atlantique et le bar, des taux de 3100 et 500UI/g d'aliment respectivement entraînent une croissance larvaire anormale (lordoses) (Ørnsrud *et al.*, 2002 ; Villeneuve *et al.*, 2005).

La *vitamine E* (tocophérol) : La vitamine E a été reconnue depuis longtemps comme un composant essentiel de l'alimentation, et des doses minimales dans l'alimentation ont été déterminées pour un grand nombre d'espèces de poissons (50 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment pour la truite arc-en-ciel selon le Conseil National de Recherche des USA (1993) ; 250 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment pour la daurade royale selon Izquierdo *et al.*, 2001). Son rôle principal d'antioxydant permet tout particulièrement la protection contre la peroxydation des lipides en conditions stressantes, comme observé chez le poisson-chat (*Clarias gariepinus*) (Baker et Davies, 1996).

Une augmentation de la teneur en vitamine E dans la ration (de 22 à 125 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment) permet de réduire le nombre de malformations embryonnaires et d'augmenter la fertilité chez la daurade royale (Fernandez-Palacios *et al.*, 1997, Izquierdo *et al.*, 2001). Chez la truite arc-en-ciel, une supplémentation en vitamine E (0.03 et 0.05% de vitamine E du poids humide) dans la ration commerciale entraîne une augmentation de la concentration en spermatozoïdes, du spermatochrome et de la motilité du sperme par rapport au contrôle. Les taux de fécondation n'ont pas été augmentés, cependant ces taux étaient globalement élevés (environ 85% dans le groupe témoin non suppléé et les 2 groupes expérimentaux suppléés à 0.03 et 0.05%) (Canyurt et Akhan, 2008). L'importance de la vitamine E est donc également observée chez les mâles. Ce rôle antioxydant sur le sperme fait qu'elle est régulièrement utilisée comme protecteur lors de la cryoconservation de sperme (Cabrita *et al.*, 2010).

### **II.2.3. FACTEURS POPULATIONNELS**

Le 3<sup>ème</sup> groupe de facteurs potentiellement influents sur la qualité de la reproduction concerne les facteurs populationnels. Ces facteurs correspondent aux caractéristiques des géniteurs, phénotypiques ou génétiques, qui peuvent influencer la qualité de la reproduction et de la descendance.

#### ***II.2.3.1. Effet parental***

L'effet parental correspond aux critères phénotypiques du géniteur, reflet du génotype, mais pouvant être également le résultat de l'impact de l'environnement. Les études se sont plus particulièrement intéressées aux femelles, à cause de la variabilité de taille des gamètes. Cependant, l'effet des mâles ne doit pas être négligé, de part l'importance de la qualité du sperme lors de la fécondation, mais aussi du matériel génétique qu'il apporte (Badyaev et Uller, 2009).

- **Age et rang de ponte**

Le rang de ponte d'un géniteur correspond au nombre de fois où celui-ci s'est reproduit. Il est logiquement lié à son âge. Généralement, les poissons s'étant déjà reproduits présentent de meilleures performances de reproduction que ceux se reproduisant pour la première fois. C'est ce qui a été observé par exemple chez la perche commune (Abi-Ayad, 1998) et chez la truite arc-en-ciel (Brooks, 1997). En général, les ovocytes sont plus grands (Kamler, 2005), les réserves vitellines sont plus importantes et leur qualité peut être meilleure, augmentant celle des larves, comme observé chez le black bass *Sebastes melanops* (Berkeley *et al.*, 2004), et la fécondité relative est plus élevée (Bobko et Berkeley, 2004). Ainsi, les générations plus âgées tendent à être plus productives que les plus jeunes (Kamler, 2005 ; Lucero, 2007). Cependant, passé un certain âge, ces performances décroissent (Kamler, 2005).

Un phénomène similaire est observé chez les mâles. Le rang de ponte et la taille du géniteur peuvent modifier la qualité du sperme. Ceci a été observé chez le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*) (Casselman et Montgomerie, 2004), pour lequel la vitesse de nage des spermatozoïdes va augmenter avec l'âge. Chez le bar rayé, la qualité du sperme (volume, durée de la motilité des spermatozoïdes) est meilleure chez des mâles de 3 ans, par rapport à de jeunes mâles d'un an ou à des poissons plus âgés (12 ans) (Vuthiphandchai et Zohar, 1999). Cependant, rang de ponte et taille du géniteur n'influent pas sur la qualité du sperme chez toutes les espèces. Chez la truite arc-en-ciel, les mâles d'un an présentent une qualité de sperme identique voire meilleure que les poissons plus âgés (plus grande concentration en spermatozoïdes) (Liley *et al.*, 2002).

- **Taille**

Le principal effet de la taille des femelles sur leurs performances de reproduction concerne la taille des ovocytes : plus la femelle est grande, plus les ovocytes sont gros. Ceci a été étudié par Kamler (1992), et est confirmé par de nombreuses études conduites chez diverses espèces de poissons : hareng (Ware, 1985), truite arc-en-ciel (Bonislawska *et al.*, 2000), brochet et doré jaune (Johnston, 1997), esturgeon (Imanpoor *et al.*, 2009), et crénilabre à 5 tâches (Raventos et Planes, 2008).

Peu d'études se sont intéressées au lien entre la taille des femelles et la qualité biochimique des ovocytes. Keckeis *et al.* (2000) ont mesuré chez le hotu (*Chondrostoma nasus*) l'hydratation, la quantité de carbone, d'azote, de soufre, et la valeur énergétique totale

des ovocytes ; la taille des femelles a influencé la taille des ovocytes et leur valeur énergétique, ce qui a augmenté la résistance au jeûne des larves. Chez le doré jaune, en revanche, la valeur énergétique n'a pas varié en fonction de la taille des femelles ; cependant le taux d'éclosion était positivement lié à la taille des génitrices (Johnson, 1997). L'auteur suggérerait un lien avec la composition des réserves ovocytaires. Des études complémentaires sont nécessaires.

Lors de ces études, réalisées principalement en milieu naturel, la distinction entre l'effet taille et de l'effet âge n'a pu être faite. En effet, la taille des poissons est corrélée à leur âge. Cependant, selon Berkeley *et al.* (2004), ce serait l'âge qui influencerait le plus sur les performances reproductrices.

Chez la perche commune, la taille modifie également le moment de ponte. Gillet *et al.* (1995) ont remarqué que les grosses femelles pondent après les petites dans le lac Léman. Cependant, le contraire a été observé par Holcik (1969) dans le réservoir Klicava, et par Dalimier *et al.* (1982), dans le lac de la Gombe. Selon Gillet *et al.* (1995), ceci serait expliqué par des phénomènes de dominance des grosses perches qui ont une occupation différente du milieu par les petites, ce qui décalerait leur période de ponte. Les auteurs ont envisagé également la capacité des petites perches à entrer en maturation finale plus rapidement. Ce phénomène est également observé chez les mâles : les petits mâles commencent à pondre avant puis plus tard que les gros mâles, ce qui limite leur participation à la reproduction (Trippel, 2003).

#### ***II.2.3.2. Niveau de domestication***

Price (1984) définit le phénomène de domestication comme « le processus par lequel une population d'animaux devient adaptée à l'homme et à l'environnement captif par une ou des combinaisons de modifications génétiques au long des générations et d'évènements de développement induits par l'environnement, récurrents à chaque génération ». Une définition plus récente proposée par Digard, 2003 définit la domestication comme « l'action que les hommes exercent sur les animaux qu'ils possèdent, ne serait-ce qu'en les élevant ». Ainsi la liste des espèces domestiquées passe de 25-30 selon la première définition à plus de 200 selon Digard. Récemment, en considérant notamment le degré de maîtrise de la reproduction des espèces, cinq niveaux de domestication ont été définis (Teletchea, 2011). La perche commune serait au niveau 4 (cycle de reproduction maîtrisé, pas d'introduction de géniteurs sauvages, pas de programme de sélection).

La domestication exerce une forte pression de sélection sur le comportement et la physiologie des poissons. En effet, le milieu d'élevage, plus particulièrement en milieu intensif, présente de grandes différences avec le milieu naturel : c'est un environnement physique plus simple, un espace réduit où la migration est impossible. La reproduction peut avoir lieu sans la nécessité d'avoir un partenaire sexuel. La densité est beaucoup plus forte, et donc les comportements agressifs peuvent être accentués (Vandeputte et Prunet, 2002).

Ainsi, le processus de domestication des poissons s'accompagne d'une adaptation des individus à leur milieu de vie. Les comportements, la physiologie et le patrimoine génétique pourront être modifiés.

#### - **Changements de comportements**

Selon Huntingford (2004), le simple fait d'élever des larves ou des individus capturés dans un environnement différent de celui de la nature peut engendrer des différences de comportement selon 3 voies :

- *l'expérience différentielle*, qui correspond à une adaptation comportementale à l'environnement, basée sur le vécu du poisson (sans mortalité différentielle). Il n'y a pas sélection de certains phénotypes.
- *la mortalité différentielle* : La pression de sélection par l'ensemble des facteurs induits par la captivité entrainera la mort des individus non adaptés, sélectionnant ainsi les phénotypes résistants aux conditions de captivité.
- *Sélection de traits comportementaux sur plusieurs générations* : Au cours des générations, certains traits sont fixés, volontairement ou non (croissance rapide car fort appétit des poissons...).

Ainsi, via une sélection de comportements favorables, divers types de changements sont observés : développement de comportements alimentaires agressifs en lien avec une capacité à accéder plus rapidement à l'aliment (Ruzzante, 1994 ; Vandeputte et Prunet 2002) ; diminution des comportement de défense ou d'évitement des éléments stressant comme les manipulateurs (Alvarez et Nicieza, 2003 ; Johnsson *et al.*, 2001) ; et modifications des comportements reproducteurs, que nous allons étudier plus en détail.

Les comportements reproducteurs, propres à chaque espèce de poisson, sont essentiels à l'aboutissement de la reproduction en milieu naturel. Parmi les différents comportements observés, le comportement de ponte engendrant l'oviposition est activé par le système hormonal (Sveinsson et Hara 1995, 2000 ; Kobayashi *et al.*, 2002). Il est également possible

d'observer des comportements de garde des œufs ou de soins parentaux, permettant d'optimiser la survie embryonnaire voire larvaire, comme chez le poissons clown (*Amphiprion melanopus*) (Green et McCormic, 2005) ou chez les cichlidés africains (Thünken *et al.*, 2010).

En condition d'élevage, ces comportements sont susceptibles d'être altérés, ou bien inexprimés, entraînant une diminution des performances de reproduction. Ceci a été observé chez le mérou rouge tacheté, dont le taux de fécondation des pontes spontanées en bassin est très inférieur (19,0%) à celui des pontes fécondées artificiellement (84,3%), sur le même lot de poissons (Okumura *et al.*, 2002). A priori, le comportement de ponte n'a pu être correctement exprimé à cause de la disposition du bassin, expliquant les faibles taux de fécondation observés. La captivité peut aussi simplement inhiber le comportement reproducteur, et donc la ponte des poissons comme observé chez la dorade royale (Zohar, 1988). Chez la femelle saumon Atlantique, l'absence de ponte due à l'absence de comportement reproducteur entraîne la rétention des ovocytes et un phénomène de surmaturation ; en effet, les femelles ne pondent qu'en présence de gros mâles (De Gaudemar *et al.*, 2000).

Chez la perche, la femelle est suivie par plusieurs mâles ; le plus proche frotera le ventre pour stimuler la ponte (Craig, 2000). Aucune étude comportementale n'a été publiée pour le moment chez cette espèce. Cependant, une absence de comportement de reproduction des mâles, observé lors d'un suivi vidéo de poissons maintenus en bassin d'élevage, explique l'absence de fécondation (Toner, 2011). Étant donné qu'Abdulfatah (2010) a obtenu des taux de fécondation non nuls, on peut suggérer que la captivité n'inhibe pas systématiquement le comportement reproducteur de la perche, bien qu'il puisse l'affecter.

#### - **Performances de reproduction**

Il est couramment observé une baisse des performances de reproduction des poissons d'élevage par rapport à ce qui est observé en milieu sauvage (Kjørsvik, 1994 ; Policar *et al.*, 2010). Cependant, il est parfois difficile de faire la distinction entre les altérations de la physiologie d'un poisson domestiqué et l'inadéquation des techniques aquacoles (gestion du programme photo-thermopériodique par exemple), plus particulièrement pour des espèces dont le cycle de vie n'est pas totalement maîtrisé. De plus, il est possible que les différentes techniques utilisées en période de ponte engendrent un stress qui diminue les performances de reproduction, telle que la manipulation régulière des poissons pour vérifier le degré de maturation (Policar *et al.*, 2010 ; Lush *et al.*, 2011) ou bien l'induction hormonale des pontes

(Mylonas *et al.*, 2010). Les changements de la physiologie de la reproduction liés à un processus de domestication n'ont pour le moment pas été étudiés ; cependant, il a été observé une diminution des performances de reproduction lorsque des poissons d'élevage s'échappent et retournent à la vie sauvage. Chez le saumon atlantique, les poissons d'origine domestiques retournés dans leur milieu naturel présentent une diminution de 83% du succès reproducteur par rapport aux poissons sauvages (Jonsson et Jonsson, 2006).

L'adaptation à la captivité peut être bénéfique à l'élevage. Krejszeff *et al.* (2009) observent que les ides domestiquées (*Leuciscus idus*) ovulent en l'absence de traitement inducteur, contrairement aux poissons sauvages, qui nécessitent un traitement hormonal. Les auteurs concluent à un possible changement physiologique chez l'ide domestiqué, qui serait plus adaptés à la vie domestique.

### ***II.2.3.3. Origine géographique***

Le troisième facteur populationnel d'intérêt concerne l'origine géographique des poissons. Dans le milieu naturel, des variations entre les différentes populations sont régulièrement observées (croissance, comportement...) (Conover, 1992 ; Imsland *et al.*, 2001 ; Purchase et Brown, 2001). Ces différences peuvent être expliquées par les variations de l'habitat (variations de température, niveau trophique ...), mais aussi par une adaptation des poissons à leur milieu, qui peuvent se traduire par des différences génétiques.

Bien que peu d'étude s'y soient intéressées, les performances de reproduction peuvent varier selon la localisation géographique des poissons. Chez le saumon atlantique, par exemple, la fécondité peut varier entre les différentes populations, démontrant une variation de l'investissement des poissons des différentes populations (Tableau 3) (Fleming, 1996). Chez la perche commune, une étude *in situ* de Heibo *et al.* (2005) a montré des différences de performances de reproduction selon l'origine des géniteurs. Bien que l'on trouve de fortes variations intra-populationnelles, l'investissement des géniteurs dans la reproduction (IGS) décroît globalement avec la latitude. En revanche, l'âge de la maturité, la taille à maturité et la durée de vie augmente avec la latitude. Ces études ne permettent pas de connaître l'importance de l'environnement sur les performances de reproduction par rapport aux caractéristiques intrinsèques des géniteurs. En effet, les facteurs environnementaux pouvant modifier les performances des géniteurs sont nombreux (température, disponibilité en nourriture...). C'est pourquoi l'élevage en laboratoire en condition identiques de différentes populations permet d'évaluer réellement le lien entre traits de reproduction et population. Ainsi, Green et Chambers (2007) ont montré l'influence de l'origine sur la date de ponte et le

volume du sac vitellin de deux populations pourtant géographiquement proches (135km), des larves poulamon Atlantique (*Microgadus tomcod*).

#### ***II.2.3.4. Densité des géniteurs***

L'élevage intensif en aquaculture est synonyme de densités importantes de poissons par rapport à ce qui existe dans la nature. Selon les espèces, ces fortes densités seront mal tolérées, ou au contraire contribueront au bien-être (poissons à tendance grégaire). Des densités élevées peuvent déclencher un stress chez les poissons et modifier leurs performances de reproduction. Par exemple, chez la carpe commune, Sehgal et Toor (1995) ont observé de meilleures performances de reproduction lors de densités plus faibles (2500 et 5000 individus.ha<sup>-1</sup>) par rapport aux performances observées lors de densité plus élevées (7500 individus.ha<sup>-1</sup>) : diamètre ovocytaire plus important, taille des larves plus grande, meilleure croissance et survie au jeûne des larves. La maturité ovarienne et les pontes ont été avancées lors de densités plus faibles. Chez le saumon Atlantique, un effet des fortes densités (70 à 90kg.m<sup>-3</sup>) sur le pourcentage de maturation est également observé (Berg *et al.*, 1996). Chez le tilapia, Siddiqui *et al.*, (1997) observent que les fortes densités déclenchent un stress social, entraînant une diminution du taux de conversion alimentaire, de la croissance et de la fécondité absolue. Le cas du tilapia reste particulier car c'est un poisson territorial qui construit un nid ; il y a donc compétition pour l'espace lors de la reproduction, ce qui n'est pas observé chez la perche.

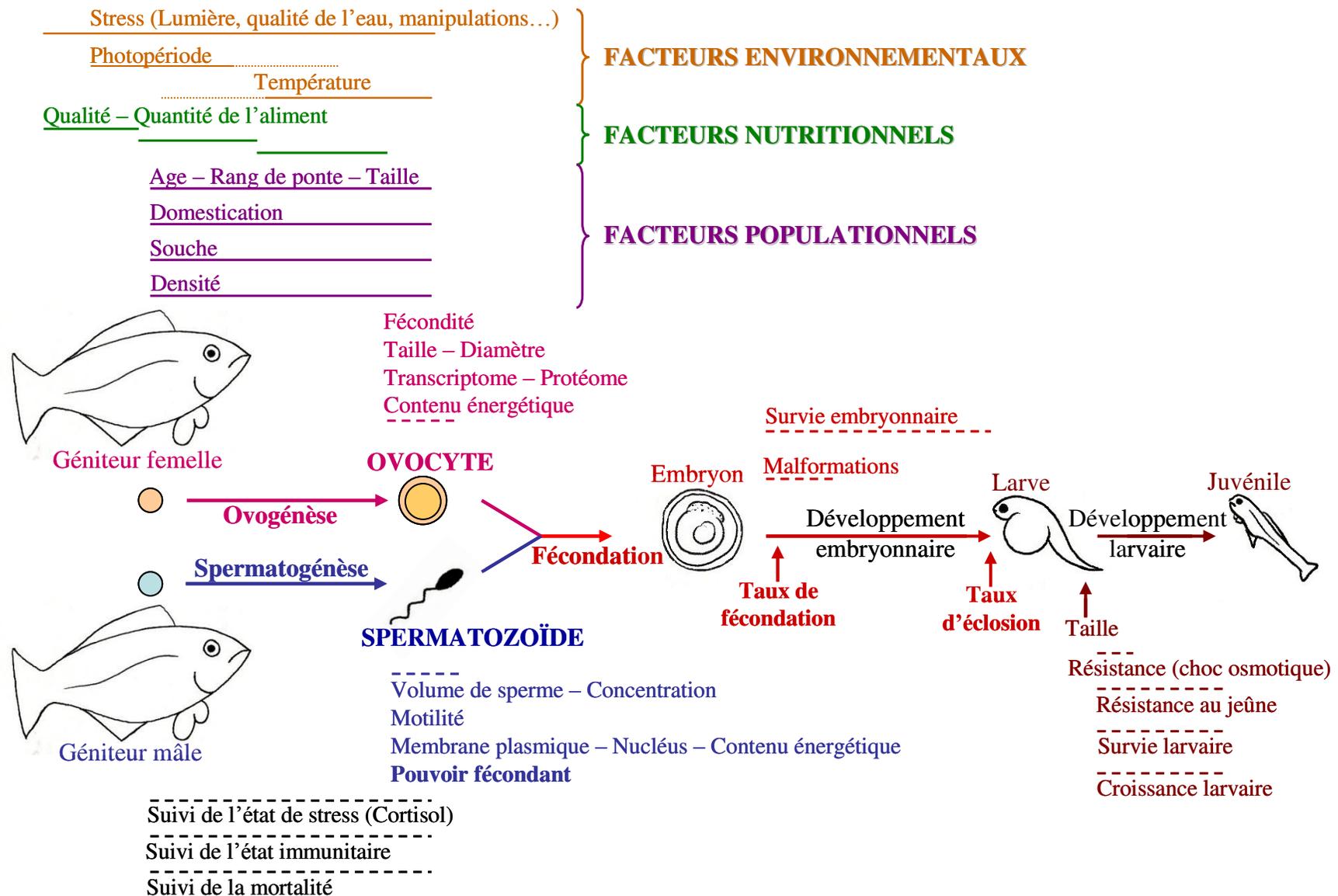
La perche est un poisson grégaire qui se sent en sécurité en présence de ses congénères (observations personnelles). Aucune étude n'a été réalisée afin de connaître les densités optimales, mais les observations réalisées au laboratoire laissent à penser que la perche est plus à l'aise à de fortes densités.

Population	Longueur moyenne (cm)		Fécondité (F)		Régression	r <sup>2</sup>
Nord Esk (Ecosse)	70		6400		F = 0,0101 x (Longueur standard) 3,668	-
Meig (Ecosse)	70	(58,0-78,5)	6067		F = 0,1167 x (Longueur standard) 2,5529	-
Lyon (Ecosse)	70	(53,0-89,0)	4943		F = 0,0817 x (Longueur standard) 2,5851	-
Blackwater (Ecosse)	70	(47,5-87,0)	5117		F = 0,4093 x (Longueur standard) 2,2138	-
Garry (Ecosse)	70	(66,5-95,0)	5370		F = 0,0056 x (Longueur standard) 3,2035	-
Dee (Ecosse)	70	(49,0-93,0)	5495		F = 0,4667 x (Longueur standard) 2,2018	-
Conon (Ecosse)	70	(57,5-73,0)	5572		F = 2,3933 x (Longueur standard) 1,8103	-
Imsa (Norvège)	67,5	(51,1-82,7)	5109	(1791-9576)	F = 5,104 x (Poids somatique) 0,86	0,81
Narraguagus et Machias (Maine, USA)	74,8	(65,9-100,1)	8286	(3580-18847)	F = 0,077 x (Longueur totale) 3,676	0,69
Miramichi (New Brunswick, Canada)	66,4		5665		F = 0,25 x (Longueur standard) 2,3743	0,72
Restigouche (New Brunswick, Canada)	84,8		10415		F = 0,31 x (Longueur moyenne) 2,3423	0,89
Big Salmon (New Brunswick, Canada)	-	(50-87)	-	(1700-11800)	F = 203 x e 0,05(longueur standard)	0,84

**Tableau 3 :** Variation de la fécondité des femelles saumon atlantique (nombre total d'œufs par femelle) selon les différentes origines. La régression donne la relation entre la taille des femelles et la fécondité. D'après Fleming, 1996.

## CONCLUSION

La Figure 19 présente un résumé schématique adapté de Bobe et Labbé (2010) des données analysées dans le cadre de cette synthèse bibliographique. Elle montre les diverses possibilités de la régulation multifactorielle des performances de reproduction, selon trois grands groupes de facteurs : environnementaux, nutritionnels et populationnels. Les facteurs peuvent agir à différents moments du développement des gonades, depuis le recrutement ovocytaire à la ponte. Le suivi des géniteurs au cours du cycle de reproduction donne une indication sur le déroulement de la gonadogenèse. Le suivi des pontes (ovocytes, œufs, larves) via les différents paramètres disponibles permet d'estimer les performances de reproduction.



**Figure 19** : Facteurs influents sur le cycle de reproduction et méthodes d'évaluation de la qualité de la reproduction, aux différents stades du cycle (modifié de Bobe et Labbé, 2010).

## **PARTIE B : ETUDE EXPERIMENTALE**

## PROBLÉMATIQUE SCIENTIFIQUE

A l'heure actuelle, les études scientifiques ont permis d'identifier les facteurs déterminants de la reproduction des poissons de zone tempérée, soit la température et la photopériode. Le cycle d'un certain nombre d'espèces, dont la perche commune, a fait l'objet d'études qui ont permis d'obtenir des pontes hors saison par la maîtrise des variations photothermiques. Cependant, la qualité des pontes artificiellement obtenues reste variable, voire très mauvaise. Ceci n'est pourtant pas observé lors d'incubation de pontes provenant de géniteurs sauvages en laboratoire. Le manque de connaissance au niveau des techniques d'incubation et d'élevage larvaire est donc à exclure.

Il semble donc que cette variabilité de qualité de la reproduction soit dépendante des conditions de maintien des géniteurs et donc de tous les facteurs susceptibles d'influencer leur santé lors de la gamétogenèse.

La synthèse bibliographique a montré que les facteurs environnementaux (lumière, manipulation des poissons, caractéristiques physiques et chimiques de leur environnement) peuvent déclencher un stress des géniteurs. Dès lors qu'un de ces facteurs sort des limites de tolérance des poissons, l'homéostasie est perturbée, et le mécanisme de la réponse au stress est déclenché. Lors d'un stress répété, la santé des géniteurs ainsi que leurs performances de reproduction peuvent être altérées. Le lien entre les effets des facteurs nutritionnels et les performances de reproduction est largement étudié dans la bibliographie ; il reste cependant bien plus complexe et moins connu. Les effets d'un régime alimentaire pourraient varier selon qu'il est appliqué en période de recrutement ovocytaire (phase d'induction) ou de gonadogenèse (phase de vitellogenèse) ; très peu d'études concernent pourtant la période du cycle de reproduction où le régime est appliqué. Enfin, le lien entre facteurs populationnels et reproduction n'a que très peu été étudié dans la littérature ; pourtant, certains de ces facteurs (notamment la domestication) modifient fortement la physiologie des géniteurs et sont donc susceptibles d'influencer les performances de reproduction. Les facteurs nutritionnels et populationnels semblent donc particulièrement intéressants à étudier afin de chercher les causes potentielles de la qualité médiocre de la reproduction en perculture et d'optimiser la production larvaire.

Habituellement, les facteurs sont testés un par un, et ceci pour chaque espèce. Ce travail long et fastidieux ne permet pas de connaître l'importance relative des facteurs au sein

du système biologique complexe que représente un élevage aquacole. Il est probable qu'au sein de ce système, il y ait des interactions entre facteurs, ce qu'une approche monofactorielle ne permet pas de mettre en évidence. Il est alors nécessaire d'adapter la méthodologie d'étude au contexte systémique en adoptant une approche expérimentale multifactorielle (plans factoriels fractionnaires) afin d'étudier plusieurs facteurs simultanément. Ainsi, il sera possible de hiérarchiser les effets des facteurs simples et des interactions. Un autre avantage de cette méthode est de pouvoir tester les facteurs étudiés sur un nombre d'unités expérimentales réduit (4 facteurs à 2 modalités sur 8 bassins, par exemple).

Estimer la qualité de la reproduction consiste à étudier les performances des géniteurs (indice gonado-somatique, fécondité) et la qualité des pontes, qui est généralement étudiée à trois niveaux : qualité des gamètes, des œufs et des larves. Un grand nombre d'études utilise principalement les taux de fécondation, d'œufs au stade œillé, d'éclosion et de survie larvaire pour estimer les performances de reproduction (Kjorsvik *et al.*, 1990 ; Bromage, 1995). Cependant, ces paramètres sont plus ou moins pertinents. En effet, le taux de fécondation n'est pas garant d'un fort taux d'éclosion et sert principalement à mettre en évidence une ponte de mauvaise qualité. Une ponte ayant un fort taux d'éclosion peut produire des larves malformées, et une survie larvaire élevée n'est intéressante que lors d'éclosion massive des œufs. La synthèse bibliographique a montré qu'il existe également d'autres paramètres utilisés pour une espèce en particulier (gouttelette lipidique, malformations embryonnaires). Il en ressort qu'il n'existe pas de protocole précis permettant d'estimer la qualité d'une ponte, que ce soit pour une espèce particulière ou pour un groupe de poissons. De plus, aucun paramètre prédictif fiable n'est connu à l'heure actuelle.

La qualité d'un gamète, soit sa capacité à féconder ou à être fécondé, et par la suite à se développer en un embryon viable (Bobe et Labbé, 2010), implique un fonctionnement cellulaire performant, qui permet le processus de fécondation, puis d'embryogénèse. Les indicateurs habituellement mesurés chez les poissons ne permettent pas de comprendre pourquoi un ovocyte, malgré la mise en présence de sperme de qualité, n'est pas fécondé, ou ne développe pas un embryon viable. Les besoins biochimiques et énergétiques de l'embryon sont de plus en plus connus, mais les mécanismes moléculaires qui ont lieu dans l'ovocyte avant la ponte, puis dans l'œuf après fécondation, restent inexplorés. Quelques travaux commencent à s'intéresser à la composition protéique et transcriptomique ovocytaire. Il reste cependant de grandes lacunes dans la compréhension des phénomènes de régulation de la qualité de l'ovocyte, alors que le fonctionnement d'un spermatozoïde est bien connu. C'est

pour cela que l'étude biochimique de la qualité des ovocytes semble particulièrement importante.

Lors de ce travail de thèse, nous avons étudié l'effet de facteurs nutritionnels et populationnels sur l'état physiologique des géniteurs durant le cycle de reproduction d'une part, et sur les performances de reproduction d'autre part ; l'objectif est de hiérarchiser les facteurs et interactions en fonction de leur influence, mais également de comprendre les mécanismes physiologiques liés à la régulation de la qualité. Nous avons souhaité étudier ces deux groupes de facteurs séparément, pour plus de précision, notamment en ce qui concerne la hiérarchisation des effets dans chaque groupe de facteur ; nous avons donc réalisé une expérimentation par groupe, soit deux expériences menées en conditions similaires, grâce à l'utilisation de plans factoriels. Dans une deuxième partie, l'étude d'un maximum de paramètres d'un lot de pontes de perche nous a permis de classer ces pontes en fonction de leur qualité, mais également de mettre en évidence les paramètres les plus pertinents pour définir cette qualité, voire la prédire. Le protéome de ces pontes a alors été étudié, afin de rechercher des profils d'expression protéique spécifiques aux différents groupes de qualité.

Si cette étude s'intéresse en particulier à la perche, elle pourrait également permettre de comprendre les mécanismes de régulation de la qualité de la reproduction pour d'autres poissons, notamment ceux appartenant au même groupe fonctionnel (pondeur printanier précoce, selon Teletchea *et al.*, 2009b), et pourrait en faciliter leur domestication.

# **EXPERIMENTATION 1 : « ALIMENTATION »**

## **INFLUENCE DE FACTEURS NUTRITIONNELS SUR LES PERFORMANCES DE REPRODUCTION DE LA PERCHE COMMUNE**

### **I. MATERIEL ET METHODES**

#### **I.1. FACTEURS POTENTIELLEMENT INFLUENTS**

La synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence deux types de facteurs nutritionnels potentiellement influents : le taux de nourrissage et la composition de la nourriture (lipides, protéines...), qui ont des conséquences variables selon les périodes du cycle de reproduction concernées.

Une étude de la phase d'induction de la reproduction chez les femelles perche a été réalisée par Wang *et al.* (2006). Parmi 8 facteurs testés, deux facteurs nutritionnels ont été étudiés : l'état nutritionnel initial et le rationnement lors de la phase d'induction. L'état des réserves avant l'entrée dans la reproduction apparaît être un facteur influent sur la réponse des géniteurs à l'induction du cycle de reproduction. Dans sa thèse, Wang (2006) a testé sur l'ensemble du cycle 8 facteurs dont 3 nutritionnels (état nutritionnel initial, type d'aliment et rationnement durant l'ensemble du cycle). L'importance de l'état nutritionnel des géniteurs avant l'entrée en gonadogenèse sur la qualité des gonades mâles a ainsi été mise en évidence ; en effet, le sperme était plus concentré et produit en plus grande quantité lorsque l'état nutritionnel initial des mâles était faible. Ces perches mâles ont utilisé l'aliment distribué pendant la phase de vernalisation afin de réaliser la spermatogenèse, démontrant ainsi un statu d' « *income breeder* » (Henderson *et al.*, 1996). Ceci n'a pas été le cas chez les poissons entrés dans le cycle avec un état nutritionnel initial fort, ils se sont peu nourris et ont utilisé leur réserves pour la gonadogenèse, tel qu'observé pour cette espèce dans le milieu naturel, ce qui correspond à un statu de « *capital breeder* ». L'étude des performances de reproduction des femelles n'a pu être réalisée, car aucune ponte n'a été obtenue. L'influence de ces facteurs alimentaires reste donc inconnue chez les femelles de perche.

Ainsi, le taux de rationnement semble être un facteur potentiellement influent chez la perche, et ce, à 2 stades du cycle : lors de la phase d'induction, ce qui conduit à l'obtention de

poissons avec un état nutritionnel fort ou faible en début de phase de vitellogenèse ; et lors de cette phase de vitellogenèse, qui dure durant toute la période de vernalisation.

Afin de comprendre quel impact peut avoir ce facteur sur le cycle de reproduction, nous avons testé deux facteurs nutritionnels quantitatifs :

- **Rationnement pendant la phase d'induction ;**
- **Rationnement pendant la phase de vernalisation.**

Pour ces 2 facteurs, nous avons choisi les deux modalités suivantes :

- rationnement à satiété : les poissons sont nourris tous les jours *ad libitum* ;
- rationnement à satiété + jeûne : les poissons sont nourris tous les jours *ad libitum* pendant 15 jours, puis subissent un jeûne de 15 jours.

Le jeûne de 15 jours nous est apparu comme la meilleure solution pour induire une différence de rationnement entre les lots de poissons. En effet, il évite l'augmentation de l'hétérogénéité de taille des poissons qui serait accentuée par un rationnement limité. En effet, les gros poissons risquent d'empêcher les plus petits de se nourrir, et le taux de nourrissage des poissons ne serait pas homogène dans l'unité expérimentale.

Il a également été montré lors de la synthèse bibliographique l'importance de la composition de l'aliment sur la santé des géniteurs et de leur progéniture. La qualité des gamètes est le reflet de la composition des aliments distribués (acides gras, vitamines...) chez de nombreuses espèces, dont la perche (Henrotte *et al.*, 2010, 2011). En élevage, il est possible de distribuer aux poissons de l'aliment naturel (poisson fourrage) ou de l'aliment artificiel (granulés formulés). Si l'aliment naturel est sensé être le plus adapté aux besoins des poissons car très proche de ce dont ils se nourrissent dans leur milieu naturel, l'aliment granulé présente une composition étudiée pour répondre au mieux aux besoins des poissons. Celle-ci est connue et fixe, en particulier en ce qui concerne les teneurs en vitamines voire en acides gras, généralement incorporés en supplément des composants de base. Cependant, la connaissance des besoins des poissons reste incomplète, même pour des espèces très étudiées comme les salmonidés. De plus, les producteurs d'aliment peuvent incorporer des aliments d'origine végétale qui peuvent ne pas être adaptés à un organisme carnivore et en diminuer les performances de reproduction (Pereira *et al.*, 1998). Il serait ainsi intéressant de comparer l'effet de deux types d'aliment différents en forme et en composition sur les performances des poissons en élevage lors du cycle de reproduction. De plus, puisque la perche présente deux

périodes distinctes lors de la gonadogenèse (phase d'induction et phase de vitellogenèse), il serait intéressant d'étudier l'effet du type d'aliment lors de ces 2 périodes.

Deux facteurs qualitatifs ont donc été choisis :

- **type d'aliment pendant la phase d'induction.**
- **type d'aliment pendant la phase de vernalisation.**

Sans entrer dans le détail des variations de composition de l'aliment, nous avons voulu tester l'effet du nourrissage artificiel avec un aliment couramment utilisé à celui de l'aliment naturel. Les 2 modalités testées sont les suivantes:

- Poisson fourrage : ce sont principalement des poissons blancs (juvéniles d'ables, de tanches, de gardons, et de carpes) de petite taille, distribués vivants aux géniteurs ;
- Granulés : cela correspond à un aliment formulé industriel conditionné sous forme de granulés, composé à partir de protéines de poissons, blé, gluten de maïs, soja, gluten de soja, protéines de tournesol, légumes, huiles végétales, vitamine et minéraux (données fournisseur). Cet aliment est celui qui a été distribué aux géniteurs depuis leur sevrage à deux mois ( $0,45 \pm 0,21$ g).

L'objectif de cette étude est donc de tester les quatre facteurs nutritionnels présentés ci-dessus afin de hiérarchiser leurs effets et ceux d'éventuelles interactions sur l'état des géniteurs au cours du cycle de reproduction, et sur les performances de reproduction lors de la saison de ponte.

## **I.2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL**

Des géniteurs domestiqués de perche, d'origine Meuse (génération 5, production au laboratoire à partir de pontes fournies par le CEFRA de Liège) ont été élevés en bassins expérimentaux pendant 10 mois au sein du laboratoire, de juin 2009 à mai 2010. Les 4 facteurs, testés selon 2 modalités, sont appliqués sur 8 unités expérimentales selon un plan factoriel fractionnaire. Le plan factoriel complet aurait nécessité l'utilisation de 16 unités expérimentales. La matrice  $2^{4-1}$  utilisée représente une fraction  $\frac{1}{2}$ . Elle a été élaborée avec le logiciel Planor (Kobilinsky, 2000) selon le principe de la matrice clé (Tableau 4). Cela permet de tester les 4 facteurs sur uniquement 8 unités.

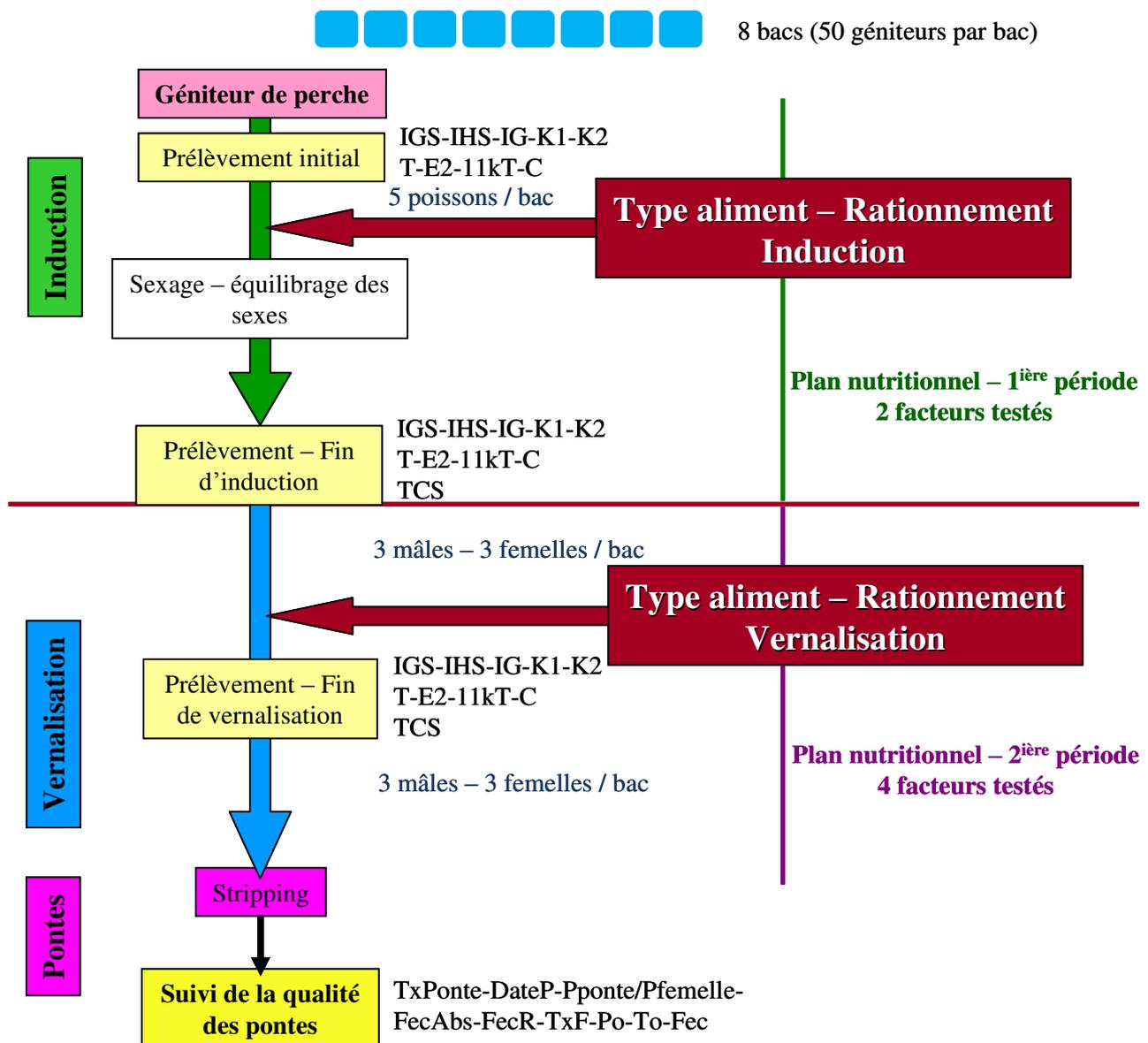
Combinaison	N° bac	Facteurs nutritionnels quantitatifs		Facteurs nutritionnels qualitatifs	
		Type d'aliment pendant la vernalisation	Type d'aliment pendant la phase d'induction	Rationnement pendant la vernalisation	Rationnement pendant la phase d'induction
1	15	poisson fourrage	poisson fourrage	à satiété	à satiété
2	9	granulés	poisson fourrage	à satiété	jeûne
3	13	poisson fourrage	granulés	à satiété	jeûne
4	16	granulés	granulés	à satiété	à satiété
5	12	poisson fourrage	poisson fourrage	jeûne	jeûne
6	11	granulés	poisson fourrage	jeûne	à satiété
7	14	poisson fourrage	granulés	jeûne	à satiété
8	10	granulés	granulés	jeûne	jeûne

**Tableau 4 :** Matrice expérimentale utilisée pour l'expérimentation 2 « Alimentation ».

Prélèvement initial		
IGS	Indice gonado-somatique	%
IHS	Indice hépato-somatique	%
IG	Indice de gras	%
K1	Facteur de condition K1	-
K2	Facteur de condition K2	-
T	Concentration en testostérone plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
E	Concentration en œstradiol plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
11kT	Concentration en 11 kéto-testostérone plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
C	Concentration en cortisol plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
Prélèvement de fin d'induction		
En plus des variables précédentes:		
TCS 2	Taux de croissance spécifique moyen durant l'induction	% <sub>.j</sub> <sup>-1</sup>
Prélèvement de fin de vernalisation		
En plus des variables initiales:		
TCS 3	Taux de croissance spécifique moyen durant l'induction	% <sub>.j</sub> <sup>-1</sup>
Suivi de la qualité des pontes		
TxPonte	Taux de ponte moyen par bassin	%
DateP	Date de la ponte	jours
Pponte/Pfemelle	Poids de la ponte / poids de la femelle (après la ponte)	-
FecAbs	Fécondité absolue moyenne par bassin	Nombre d'ovocytes par femelle
FecR	Fécondité relative moyenne par bassin	Nombre d'ovocytes par g de femelle
TxF	Taux de fragmentation moyen par bassin	%
Po	Poids des ovocytes moyen par bassin	g
To	Taille des ovocytes moyenne par bassin	mm
Fec	Taux de fécondation	%

**Tableau 5 :** Paramètres étudiés lors du suivi des performances de reproduction de l'expérimentation « Alimentation ».

Le cycle de reproduction a été piloté par le programme photo-thermique mis au point par Abdulfatah, 2010 (Figure 4), selon 3 grandes phases : phase d'induction du cycle de reproduction, phase de vernalisation, phase terminale d'induction des pontes. Le schéma expérimental est présenté Figure 20.



**Figure 20 :** Schéma expérimental de l'expérience « Alimentation ». IGS : Indice gonado-somatique ; IHS : Indice hépato-somatique ; IG : Indice de gras ; K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2 ; T : Concentration plasmatique en testostérone ; E2 : Concentration plasmatique en œstradiol ; 11KT : Concentration plasmatique en 11 kéto-testostérone ; TCS : Taux de croissance spécifique moyen ; TxPonte : taux de ponte ; DateP : Date de ponte ; Pponte/Pfemelle : Poids de la ponte / Poids de la femelle ; FecAbs : Fécondité absolue ; FecR : Fécondité relative ; TxF Taux de fragmentation ; Po : Poids ovocytaire moyen ; To : Taille ovocytaire moyenne ; Fec : Taux de fécondation.

Durant toute l'expérimentation, un suivi morpho-anatomique et hormonal par sexe des géniteurs est réalisé, à partir de prélèvements opérés pour chaque phase : prélèvement initial, prélèvement en fin de phase d'induction, et prélèvement en fin de phase de vernalisation (avant le début de la période de ponte). L'ensemble des paramètres mesurés lors du suivi morpho-anatomique et hormonal est indiqué dans le Tableau 5. Puis les pontes sont obtenues et fécondées artificiellement par stripping. Les performances de reproduction sont alors estimées par la mesure des caractéristiques de reproduction des femelles et des critères morpho-anatomiques des pontes (Tableau 5). La qualité des aliments utilisés est régulièrement analysée durant toute l'expérimentation ; la mortalité des géniteurs est également relevée.

### **I.3. STRUCTURES EXPERIMENTALES**

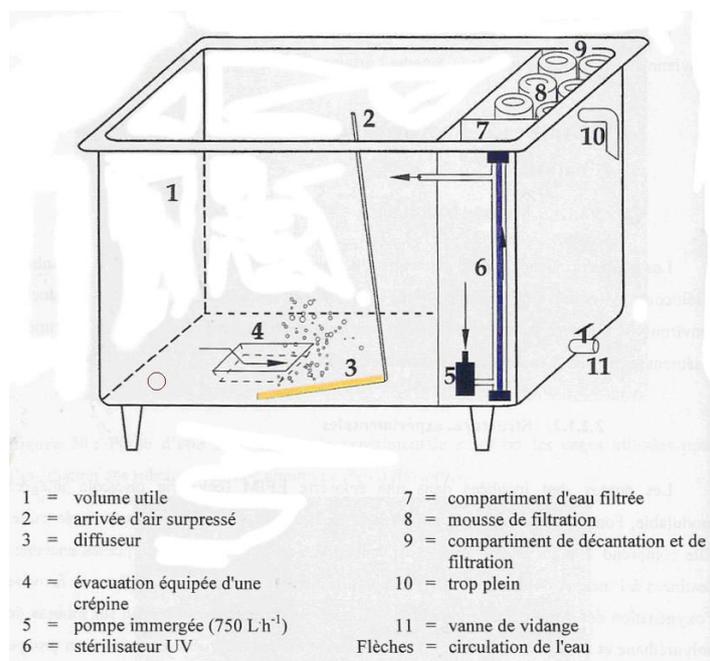
#### ***Elevage en conditions photo-thermiques contrôlées***

Le laboratoire possède des locaux permettant de réaliser le cycle complet de reproduction de la perche, en maîtrisant les paramètres photo-thermiques. Ainsi les structures expérimentales utilisées lors des expérimentations comprennent :

- Une salle équipée d'un surpresseur fournissant l'air (oxygène) à l'ensemble des bassins expérimentaux ;
- Une salle de prélèvement permettant de réaliser les dissections des poissons et les fécondations artificielles ;
- Une salle d'acclimatation et de grossissement des poissons où seront élevés les géniteurs de perche. Cette salle contient 4 bassins rectangulaires de 6000L pouvant héberger jusqu'à environ 340-350kg de poissons au total (Figure 21). Chaque bassin fonctionne en circuit fermé (5 m<sup>3</sup> de volume utile et 1 m<sup>3</sup> de compartiment de filtration). L'eau est filtrée par un ensemble de mousses en polyuréthane (type filtren T 30, LP Mousse) qui sert de filtre mécanique et biologique. Un réacteur à lampe UV (Philips, 55 W) dans lequel l'eau filtrée passe ensuite permet de réduire la charge bactérienne avant d'être déversée dans le bassin contenant les poissons (Figure 22). Chaque bassin est éclairé par une série de néons de type « Lumière du jour » (Philips TLD 58 W 86<sub>5</sub>), produisant une intensité lumineuse d'environ 250 lx à la surface de l'eau. La photopériode est réglée sur 16L:8O grâce à des horloges.

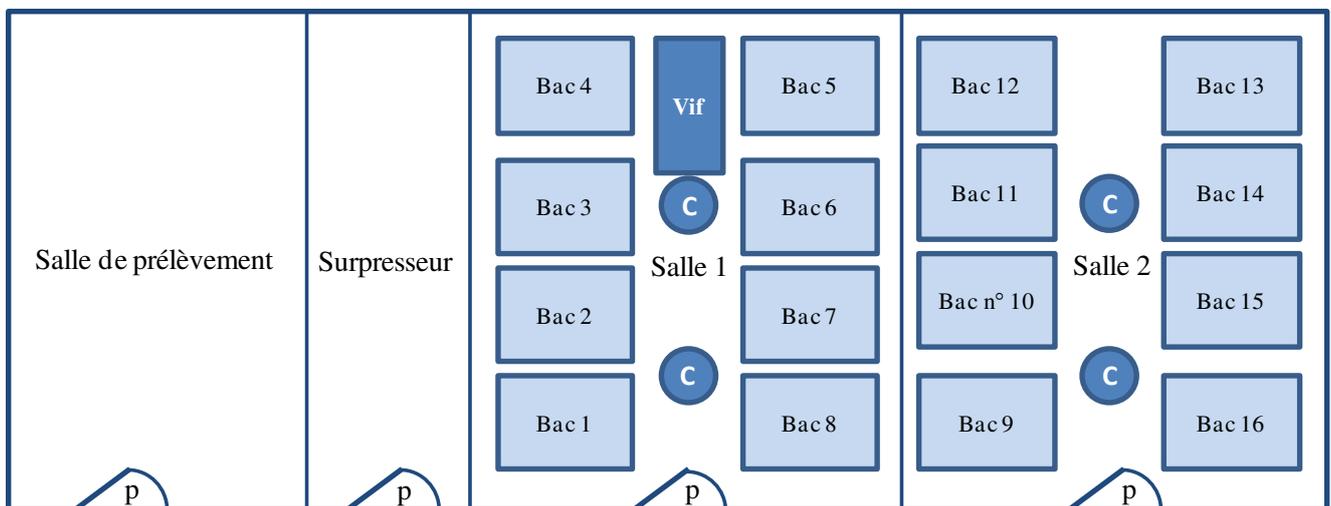


**Figure 21 :** Bassin de grossissement (6000 L) de la salle d'acclimatation fonctionnant en circuit fermé.



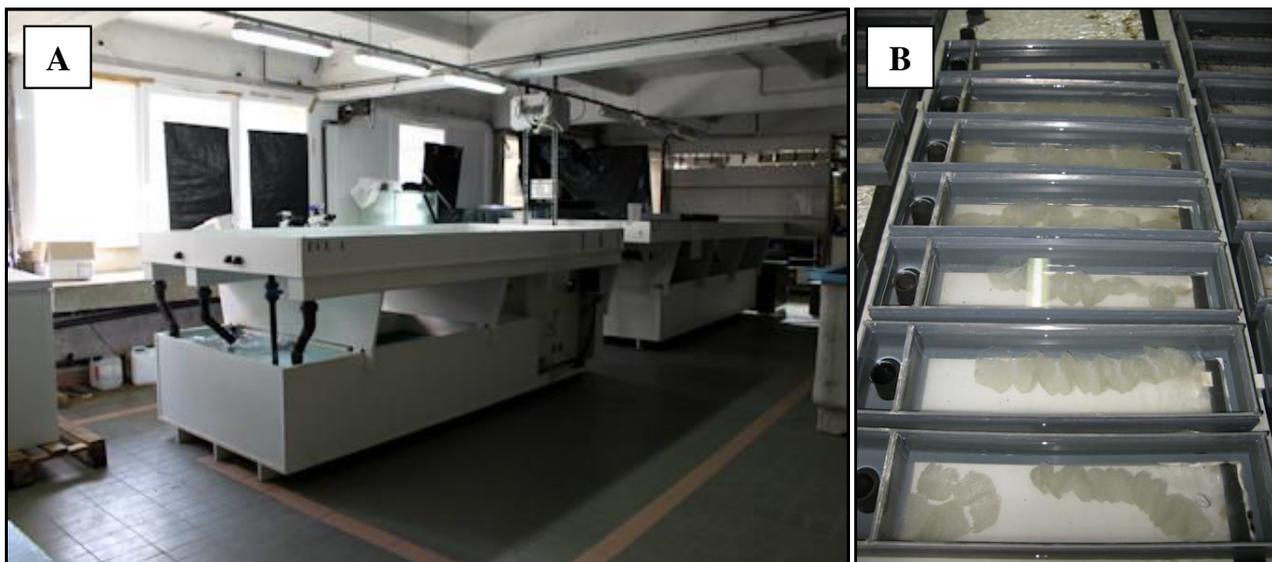
**Figure 22 :** Schéma du principe de fonctionnement d'un bassin et de son système de filtration (d'après Tamazouzt, 1995).

- Deux salles expérimentales thermo- et photo-régulées (Figure 23). Chaque salle contient 8 unités expérimentales qui correspondent à des bassins de 500 L fonctionnant en circuit fermé et possédant chacun leur propre système de filtration. Le principe de fonctionnement est le même que celui des bassins de 6000 L. Chaque bassin est surmonté d'une armature en bois recouverte d'une bâche plastique noire permettant l'isolement de l'unité expérimentale de son environnement et donc évitant toute interférence (lumineuse notamment). Deux tubes néons (18W, OSRAM L.) accrochés au couvercle du bassin permettent un éclairage individuel des bassins, qui est piloté par une unité programmable (Enviroscène, Futronix) gérant le programme photopériodique. Un groupe « froid » (climatiseur fixé au plafond) permet de contrôler la température de façon indépendante dans chaque salle.



**Figure 23** : Disposition des structures expérimentales au sein des locaux du laboratoire (p : porte ; c : climatiseur)

- Une salle d'incubation des œufs et d'élevage larvaire, comportant une écloserie, constituée par une table d'éclosion comportant 64 clayettes (45 \* 40 \* 12 cm) dans lesquelles sont étalées les rubans d'œufs de perche (Figure 24). Le système correspond à un circuit fermé thermo-régulé de 1000 L, soumis à un éclairage de 16 heures par jour, constitué de néons permettant une luminosité homogène sur l'ensemble des clayettes (Intensité lumineuse de 100 à 200 lux).



**Figure 24 :** (A) Écloserie ; (B) Clayettes de l'écloserie contenant des rubans d'œufs.

#### **I.4. SUIVI DE LA QUALITE DE L'EAU**

Un suivi de la qualité de l'eau est réalisé au laboratoire pendant la phase de grossissement des géniteurs dans les bassins de 6000 L, durant la totalité de l'expérimentation dans les bassins expérimentaux, et lors de l'incubation des œufs et l'élevage des larves dans l'écloserie.

Le pH, la température et la teneur en oxygène dissous sont mesurés trois fois par semaine grâce à une sonde multiparamétrique WTW (modèle pH/Oxi 340i). Les taux de nitrites et d'ammonium sont mesurés deux fois par semaine par dosage colorimétrique (spectromètre Cary 1E U.V.) selon les méthodes à la sulfanylamide et au bleu d'indophénol décrites par Rodier (1984). Les taux de nitrites et d'ammonium doivent être maintenus en dessous de 1 mg.L<sup>-1</sup> ; des changements d'eau peuvent être réalisés lorsqu'une dégradation brusque de la qualité de l'eau est observée. Le taux d'oxygène dissous est maintenu entre 7 et 8 mg.L<sup>-1</sup>, par modulation de la quantité d'air surpressé injectée dans le bassin. Le pH doit varier entre 7,0 et 7,8; son ajustement se fait par ajout de NaCO<sub>3</sub> lorsqu'une baisse de pH est relevée (1 g de NaCO<sub>3</sub> ajouté par dixième d'unité pH inférieure à 7,4 et pour 100 L d'eau).

#### **I.5. PRODUCTION DES GENITEURS DE PERCHE**

### ***1.5.1. Origine des géniteurs***

Les géniteurs utilisés pour cette expérimentation ont été produits au sein de notre laboratoire directement à partir de 5 pontes de perche. Les pontes à l'origine du lot de poissons ont été fournies par le CEFRA de Liège (Belgique). Elles proviennent de géniteurs domestiqués (génération 4) d'origine Meuse élevés en conditions photo-thermiques naturelles et ont été obtenues sur place, puis transférées depuis Liège dans l'écloserie du laboratoire en avril 2008.

### ***1.5.2. Incubation***

Les pontes, pondues les 8, 9 et 10 avril 2008, ont été transférées au laboratoire le 10 avril dans des sacs en plastique sous oxygène et maintenus à température constante (température de ponte, soit 15°C) pendant tout le trajet. Après acclimatation, les rubans d'œufs ont été étendus sur les clayettes de l'écloserie. La température a été maintenue constante (13°C) tout au long de l'incubation. La photopériode était de 16L:8O (Intensité lumineuse de 100 à 200 lux). L'éclosion des larves est intervenue 6 à 10 jours après la date de ponte.

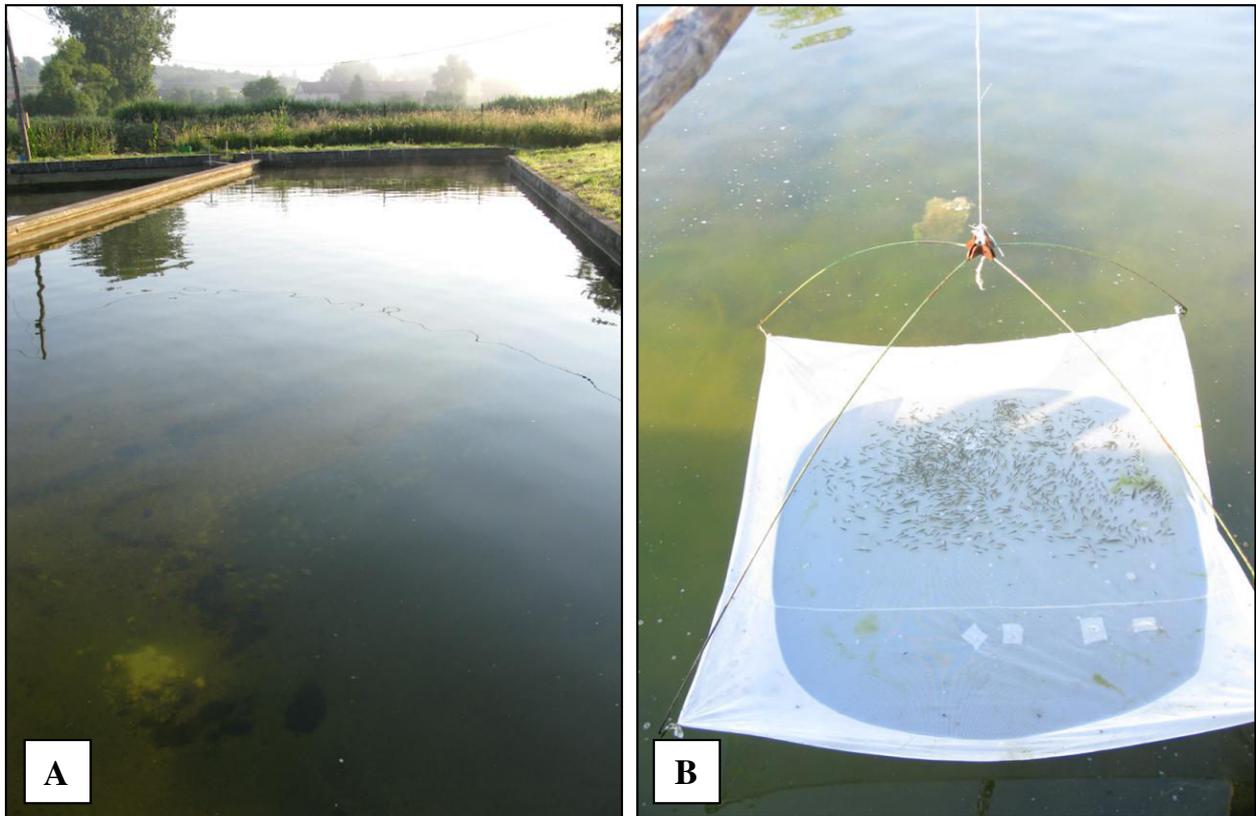
### ***1.5.3. Elevage larvaire***

Dès la fin de l'éclosion massive, les larves ont été transférées dans des bassins extérieurs d'élevage larvaire en béton de 336 m<sup>3</sup> chez un pisciculteur local (GAEC piscicole du Saulnois, Gélucourt, Moselle, France), à raison de 100 larves.m<sup>-3</sup> (Figure 25 A). Chaque bassin est alimenté continuellement en eau provenant d'un étang adjacent, fournissant ainsi le plancton nécessaire au développement des larves ; un filtre à l'entrée de chaque bassin permet d'éviter l'introduction éventuelle de larves de l'étang. L'élevage larvaire en conditions naturelles a ainsi duré 8 semaines avant le transfert des juvéniles au laboratoire.

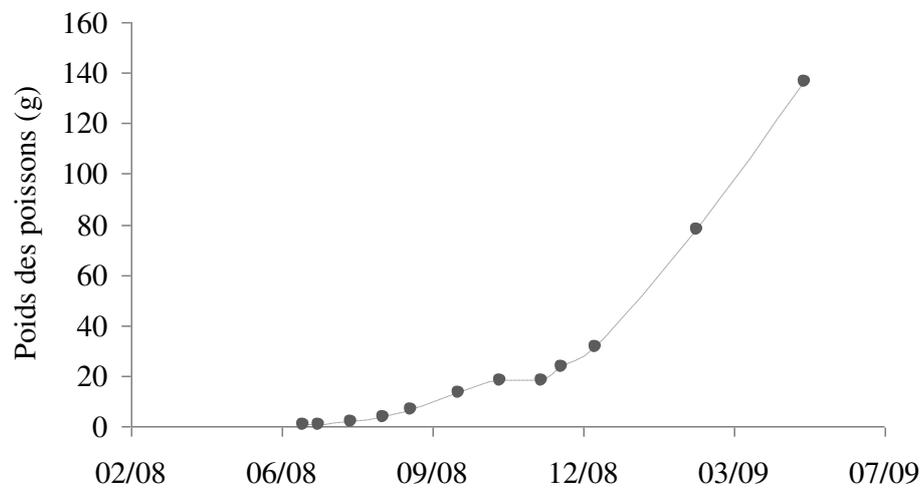
### ***1.5.4. Grossissement***

A la fin de la phase d'élevage larvaire, soit huit semaines après le transfert en bassin extérieur, les juvéniles ont été pêchés au carrelet (Figure 25 B), puis transférés dans un bassin de 6000 L au sein du laboratoire (température 25°C, photopériode constante de 16L:8O), afin d'effectuer un sevrage aux granulés (BioMar, Ecolife 60, 0,5mm). Les poissons ont ainsi été maintenus dans ces conditions, de leur sevrage en juin 2008 jusqu'au début des expérimentations en mai 2009. Un contrôle de croissance mensuel a été réalisé pendant toute

la période de grossissement, consistant à la mesure du poids individuel d'environ 50 poissons, afin d'ajuster les modalités du nourrissage (Figure 26).



**Figure 25 :** (A) Bassins d'élevage larvaire ; (B) Pêche au carrelet des juvéniles au bout de 8 semaines d'élevage.



**Figure 26 :** Suivi de la croissance moyenne des géniteurs de perche utilisés pour l'expérimentation « Alimentation » lors la période de grossissement au sein du laboratoire.

Plusieurs aliments sont utilisés selon les différentes périodes de production des géniteurs.

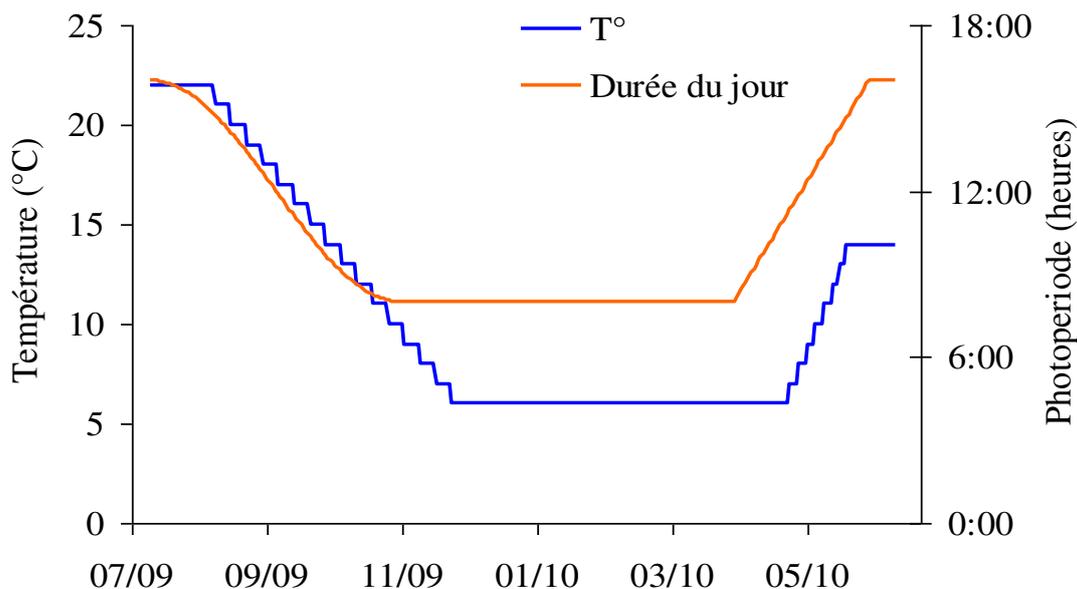
Pendant toute la phase de croissance pré-expérimentale, les poissons sont nourris avec du granulé Ecolife 60, de granulométrie adaptée à leur taille (de 1,5 mm de diamètre lors du sevrage des juvéniles à 6,5 mm). Lors de la phase d'acclimatation dans les bassins expérimentaux, l'aliment utilisé est le granulé Ecolife 60 6,5 mm (BioMar). Le taux de rationnement optimal est calculé en fonction de la taille des poissons, selon Mélard *et al.* (1996). Une détérioration de la qualité de l'eau peut engendrer une baisse de la ration distribuée. Lors de leurs premières semaines post-sevrage, les poissons sont nourris quotidiennement grâce à un tapis roulant sur lequel est étendue la ration. Cela permet un nourrissage en continu. Les poissons sont ensuite nourris manuellement, deux fois dans la journée.

#### ***1.5.5. Expérimentation : phase d'acclimatation***

Le 28 mai 2009, les poissons ont été transférés dans 8 bacs expérimentaux de 500 L situés dans la salle climatisée 3. Cinquante poissons sont placés dans chaque bac de 500 L, soit 400 poissons au total. Afin d'obtenir une hétérogénéité de la taille constante dans les différents bassins expérimentaux, les poissons ont été triés et sélectionnés en fonction de leur poids. Ainsi, à l'empoissonnement, chaque bassin contient le lot suivant : 22 poissons de 50 à 100 g, 10 poissons de 101 à 150 g, 7 poissons de 151 à 200 g, 6 poissons de 201 à 250 g et 5 poissons de plus de 250 g.

### **I.6. CONTROLE PHOTO-THERMIQUE DU CYCLE DE REPRODUCTION**

Le programme photo-thermique utilisé (Figure 27) a été mis au point dans le cadre de la thèse d'Abdulfatah (2010). Il consiste en une phase d'induction correspondant à la diminution de la photopériode de 16L:8O à 8L:16O en 16 semaines, suivie de 3 mois à 8L:16O correspondant à la phase de vernalisation, puis d'une augmentation finale de la photopériode jusqu'à 16L:8O en 8 semaines. En parallèle, avec un mois de retard par rapport à la photopériode, une diminution de la température est réalisée de 22°C à 6°C en 15 semaines ; la période de vernalisation à 6°C dure 3 mois, avant l'augmentation finale de 6°C à 14°C en 4 semaines. La transition lumière / obscurité est réalisée sans progressivité.



**Figure 27 :** Programme photo-thermique appliqué pendant l'expérimentation, selon les travaux d'Abdulfatah (2010).

## I.7. ALIMENTATION DES POISSONS

### *I.7.1. Aliments utilisés et rationnement*

Lors de la période expérimentale, deux types d'aliments ont été utilisés :

- **Granulés « Ecolife 62 6,5 mm – BioMar » :** Ces granulés sont spécialement conçus pour la reproduction des bars en aquaculture. Cet aliment est régulièrement utilisé par les periculteurs. Une commande de 200 kg a été réalisée en mai 2009. Les sacs ont été conservés à température ambiante, soit 20°C durant toute l'expérimentation.

- **Poisson fourrage :** Le poisson fourrage est fourni par des pisciculteurs locaux (GAEC piscicole du Saulnois, SARL Piscival les Sources) en fonction de la consommation des géniteurs de perche. Il est composé de petits cyprinidés (able, gardons, rotengles et petites carpes), stockés dans un bac de 600 L aéré et non filtré placé dans la salle climatisée 1 (Figure 9). Les poissons sont stockés 15 jours maximum en période réchauffée ( $T^{\circ} > 12^{\circ}\text{C}$ ), et jusqu'à un mois en période hivernale ( $T^{\circ} < 12^{\circ}\text{C}$ ). La distribution consiste à transférer régulièrement à l'épuisette environ 200 g de poissons fourrages dans les bassins expérimentaux concernés, afin d'éviter que l'ensemble des poissons fourrage soit consommé. Les géniteurs peuvent ainsi chasser et se nourrir à volonté.

Les rations appliqués ont été les suivants:

- **A satiété** : Le nourrissage à satiété correspond à un nourrissage quotidien (début de matinée) *ad libitum*, en une fois. Les granulés sont apportés manuellement par des versements successifs de petites quantités de granulés jusqu'à satiété (arrêt du comportement de chasse des poissons). Les poissons fourrages sont distribués à l'épuisette en fonction de la quantité restant dans les bassins des géniteurs de façon à ce qu'il y ait constamment des proies vivantes dans le bassin.
- **Jeûne** : Pour cette modalité, les poissons sont nourris pendant 2 semaines *ad libitum*, tel que décrit précédemment, puis subissent un jeûne pendant 2 semaines.

### ***I.7.2. Suivi de la qualité de l'alimentation***

Des prélèvements d'aliments sont réalisés régulièrement sur les deux types d'aliments afin d'avoir un suivi de la qualité :

- Un prélèvement de 25 g de poisson fourrage est réalisé à chaque arrivage ; ces poissons sont stockés à -80°C jusqu'à l'analyse. 16 arrivages ont eu lieu pendant l'expérimentation.
- Vingt-cinq g de granulé sont prélevés à chaque ouverture de sac de granulés, puis congelés à -80°C.

Une analyse de la composition biochimique (teneur en eau, protéines, lipides totaux et profil en acides gras) a été réalisée à la fin de l'expérimentation.

#### **Analyse biochimique des aliments**

Après décongélation, chaque échantillon est broyé et homogénéisé à l'aide d'un robot ménager.

**Le pourcentage d'humidité et la teneur en cendres** sont réalisés tel que suit : 3 à 4 g d'échantillon sont homogénéisés avec 4 fois leur poids de sable de Fontainebleau afin de faciliter la dessiccation, qui a lieu à l'étuve à 105°C pendant 24h. Puis la détermination des cendres est réalisée dans un four à moufles à 550°C pendant 12h.

$$\% \text{ d'humidité} = (\text{Poids Aliment sec} - \text{Poids Aliment humide}) * 100 / \text{Poids Aliment humide}$$

$$\text{Cendres} = (\text{Poids Cendres} - \text{Poids Aliment sec}) * 100 / \text{Poids Aliment sec}$$

**Les protéines** sont dosées selon la méthode de Kjeldahl (Rowland, 1938), grâce à un passeur automatique d'échantillons. Cent milligrammes d'échantillon sont minéralisés à

400°C en présence d'acide sulfurique et de catalyseur. Puis une distillation permet la libération d'ammoniac par adjonction de soude. L'ammoniac est alors piégé dans une solution d'acide borique à 3% de pH connu. Le dosage automatique de l'azote (Vapodest 6 Gerhardt) est un dosage pHmétrique utilisant de l'acide sulfurique 0,02 N. Le pourcentage de protéines est déterminé par la relation suivante :

$$\text{Protéines (\%)} = 6,25 * \text{Azote total (\%)}$$

**Les lipides totaux** sont mesurés par la méthode de Folch *et al.* (1957) modifiée par Chen *et al.* (1981). Les extractions sont réalisées sur 14 g et 5 g d'échantillon pour le poisson fourrage et l'aliment respectivement. Les solvants utilisés sont le dichlorométhane et le méthanol (proportion 2:1) ; un antioxydant, le BTH (Butylhydroxytoluène), complète le mélange à raison de 0,01%. Les échantillons sont broyés à l'aide d'un broyeur micrométrique Ultra-Turax ; l'évaporation du solvant se fait grâce à un évaporateur rotatif Rotavapor à 50°C. Une fois pesés, les échantillons sont dissous dans un mélange méthanol-BTH (0,01) % et stockés à -80°C pour limiter l'oxydation des acides gras.

**La teneur des glucides** est évaluée par différence entre l'échantillon total et les teneurs des lipides et des protéines ; les dosages des protéines et des lipides permettent de déduire les glucides.

**Teneur énergétique :** Chaque constituant est associé à un coefficient énergétique (39,7 kJ.g<sup>-1</sup> pour les lipides ; 23,4 kJ.g<sup>-1</sup> pour les protéines, 17,1 kJ.g<sup>-1</sup> pour les glucides, selon Tacon, 1990).

**Les acides gras** sont identifiés par chromatographie en phase gazeuse à ionisation de flamme (CPG Varian 3 400). L'ajout de potasse méthanolique à une prise aliquotée de lipides (10 mg) permet la saponification des lipides de l'échantillon. Une méthylation a alors lieu à 100°C pendant 45 min par ajout d'une solution de méthanol / trifluorure de bore (BF<sub>3</sub>, 14%). Les acides gras méthylés sont récupérés après centrifugation dans un mélange eau-hexane, puis stockés sous azote à -80°C dans de l'hexane-BHT (0,01%). La chromatographie utilise un gradient de température de 4°C.min<sup>-1</sup>, de 180°C à 240°C avec un pallier de 10 mn à la température maximale. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup>. Les acides gras sont identifiés par comparaison aux étalons standards (Abi-Ayad 1998).

## **I.8. MARQUAGE, SEXAGE ET EQUILIBRAGE DES SEXES DANS LES BASSINS EXPERIMENTAUX**

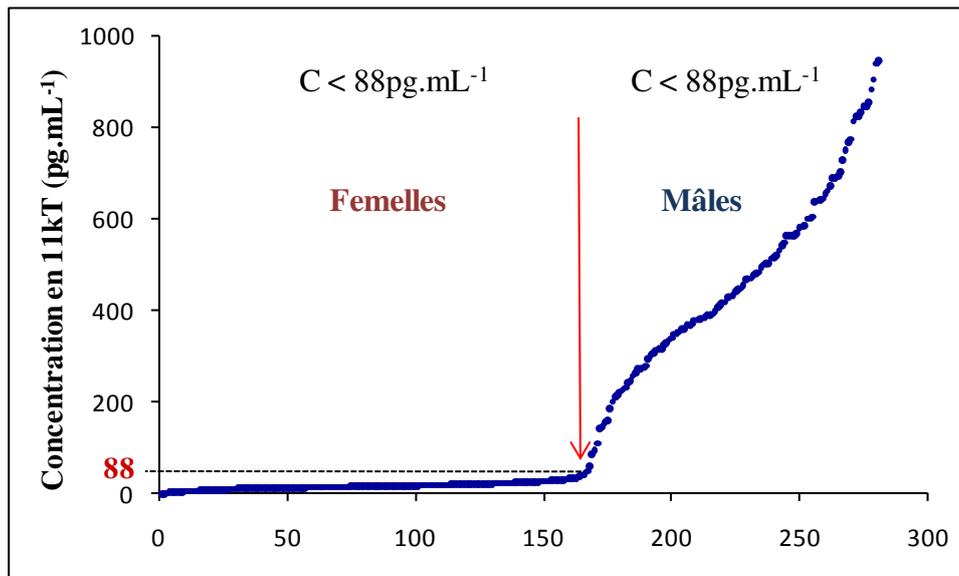
### ***I.8.1. Marquage et sexage des poissons***

Dans leur milieu naturel, les mâles présentent une forte augmentation du taux plasmatique en 11kT au bout de 5 mois environ après l'induction du cycle de reproduction, ce qui n'est pas le cas des femelles (Sulistyo *et al.*, 1998, 2000). Ainsi, un dosage de la concentration plasmatique en 11kT au bout de 108 jours d'expérimentation (les 9 et 10 novembre 2009) permet de déduire le sexe des poissons, tel que réalisé par Teletchea *et al.*, (2009b), chez le sandre. L'ensemble des géniteurs est ainsi sexé. De plus, les poissons sont marqués par une micro puce afin de pouvoir les identifier par la suite.

Après anesthésie dans un bain de 2-phénoxyethanol ( $0,5 \text{ mL.L}^{-1}$ ), un implant (transpondeur Pit-tag « Trovan ID 100 HI ») est inséré en intramusculaire au niveau dorsal gauche de chaque poisson grâce à une seringue d'insertion d'implant, et un prélèvement sanguin est réalisé sur chaque poisson. Le réveil s'effectue dans une bassine oxygénée, puis les poissons sont transférés dans le bac d'origine.

La prise de sang de 1 mL environ est réalisée dans la veine caudale grâce à une seringue de 2 mL. Un microtube de 1,5 mL hépariné ( $5000 \text{ U.mL}^{-1}$ ) recueille le prélèvement, puis est centrifugé afin d'extraire le plasma (25 minutes, 4000 rpm à température ambiante). Le plasma est alors conservé dans un microtube de 0,5mL au congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

La méthode de dosage est présentée dans le paragraphe **I.9.1.** de ce chapitre. L'ensemble des concentrations obtenues sont classées par ordre croissant. Les valeurs présentent un décrochement net, correspondant à une valeur limite entre mâles et femelles (Figure 28), qui sera variable selon le lot de géniteurs, et leur niveau d'engagement dans le cycle de reproduction. Ainsi, selon nos mesures, les femelles ont été déterminées comme ayant une concentration inférieure à  $88 \text{ pg.mL}^{-1}$  ; les mâles correspondant aux individus présentant une concentration supérieure à  $88 \text{ pg.mL}^{-1}$ . Cette méthode s'est avérée fiable à 87,5% lors de cette expérimentation.



**Figure 28** : Concentrations plasmatiques en 11 kéto-testostérone à la fin de la phase d'induction (N = 281) et sexage des géniteurs. Les concentrations plasmatiques en 11kT sont mesurées sur l'ensemble des géniteurs au bout de 15 semaines d'expérimentation. Chaque point représente un individu. Le décrochement est considéré comme étant la valeur limite entre les mâles et les femelles.

### ***1.8.2. Ré-allotement***

En fonction du sex-ratio estimé dans les bacs, un ré-allotement pour rééquilibrer les sexes a eu lieu. Ce ré-allotement a eu lieu le 14 décembre 2009, avant la deuxième partie du programme nutritionnel de l'expérimentation. L'échange a eu lieu entre les bassins ayant eu le même régime alimentaire pendant toute la période d'induction, soit uniquement entre les bacs 9 et 12.

## **I.9. SUIVI DE LA QUALITE DU CYCLE DE REPRODUCTION**

### ***1.9.1. Suivi des géniteurs***

Un suivi de l'état des géniteurs est réalisé lors du cycle de reproduction. Trois moments clés du cycle ont été échantillonnés :

- Un prélèvement de 5 poissons par bassin est réalisé à la fin de la phase d'acclimatation, juste avant le début de l'expérimentation, et avant l'application du programme photo-thermique. Le sexage n'ayant alors pas encore été réalisé, les poissons sont choisis de manière aléatoire dans les bassins.
- Le deuxième prélèvement a lieu à la fin de la phase d'induction, avant la phase de vernalisation, soit 19 semaines après le début du programme photo-thermique, à la fin

de la décroissance de la température. Le sexage des poissons étant alors réalisé, nous avons pu sélectionner 3 mâles et 3 femelles par bassin.

- Le troisième prélèvement a lieu à la fin de la phase de vernalisation, juste avant la remontée de la durée d'éclairement hebdomadaire, soit au bout de 38 semaines d'expérience. 3 mâles et 3 femelles sont à nouveau échantillonnés.

Les dates des prélèvements sont présentées dans le Tableau 6.

	Date	Nombre de poissons
Prélèvement 1	22/07/2009	5 poissons
Prélèvement 2	09/12/2009	3 mâles - 3 femelles
Prélèvement 3	19/04/2009	3 mâles - 3 femelles

Tableau 6 : Dates et prélèvements réalisés lors de l'étude expérimentale « Alimentation ».

Le suivi des géniteurs consiste en un suivi hormonal et un suivi physiologique.

#### - **Prélèvements sanguins et suivi hormonal**

Le prélèvement sanguin est réalisé de la même manière que lors du sexage (voir **I.8.1**). Les individus sélectionnés à l'épuisette sont transférés dans un bain anesthésiant de 2-phénoxyethanol (0,5 mL.L<sup>-1</sup>, Sigma). Environ 1,5 mL de sang sont prélevés. La durée de manipulation des poissons (pêche, anesthésie, prélèvement sanguin) ne doit pas excéder 5 minutes, afin de limiter au maximum l'effet de la manipulation sur la cortisolémie des poissons. Le sang est alors transféré dans un microtube hépariné (5000 U.mL<sup>-1</sup>) avant d'être centrifugé à 4000 rpm pendant 25 minutes à température ambiante. Le plasma est congelé à -20°C et conservé à cette température jusqu'à l'analyse hormonale.

Les dosages hormonaux sont réalisés par test ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) sur le plasma sanguin. Le principe du dosage repose sur la compétition entre une molécule à dosage libre et un complexe de la même molécule lié à une enzyme, l'Acétylcholine Estérase (AchE) pour la fixation sur un nombre limité d'anticorps libres (antisérum) spécifiques de la molécule à doser. Les anticorps de l'antisérum sont ensuite captés par des anticorps spécifiques de l'antisérum et fixés sur la plaque à puits de dosage (phase d'incubation). Enfin un substrat de l'AchE (réactif Ellman) est déposé dans les puits. Celui-ci est dégradé et donne un métabolite coloré (phase d'incubation). La concentration de l'échantillon est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 412 nm.

L'œstradiol plasmatique a été extrait de 50 µL de plasma sanguin dans 200 µL de chlorure de méthylène avant d'être dissous dans 500 µL d'une solution tampon fournie par le kit de mesure SpiBio EIA kit (réf 582251). La mesure a ensuite été réalisée sur 50 µL d'extrait. La limite de détection était de 20 pg.mL<sup>-1</sup>, et les coefficients de variation inter- et intra-plaque étaient de 28 et 30% respectivement, pour une concentration plasmatique de 156 pg.mL<sup>-1</sup>.

Le cortisol a été extrait (dilution 10 x) et mesuré de la même façon grâce au kit SpiBio EIA kit (réf 500360) (Limite de détection : 35 pg.mL<sup>-1</sup> ; variabilité intra-plaque : 22 % ; variabilité inter-plaque : 24% pour une concentration de 450 pg.mL<sup>-1</sup>).

La testostérone plasmatique a été extraite de 50 µL de plasma sanguin dans 200 µL d'éther-diéthylique avant d'être redissous dans 500 µL de solution tampon (dilution 10 x). Le kit SpiBio EIA kit (réf 582701) a permis de mesurer les taux hormonaux dans 50µL of extrait (Limite de détection : 6 pg.mL<sup>-1</sup> ; variabilité intra-plaque : 5% ; variabilité inter-plaque : 15 % pour une concentration plasmatique de 225 pg.mL<sup>-1</sup>).

Les taux hormonaux de 11-kéto-testostérone sont dosés directement sur 50 µL de plasma. Le kit utilisé est un «Spibio EAI Kit (réf 582751) (Limite de détection : 1,3 pg.mL<sup>-1</sup> ; variabilité intra-plaque : 2 % ; variabilité inter-plaque : 13 % pour une concentration plasmatique de 46 ng.mL<sup>-1</sup>).

Pour chaque plaque, une courbe étalon a été réalisée. L'absorbance du test a été mesurée par un lecteur de plaque Biotek Synergy HT 232503.

#### - Suivi physiologique des poissons

Une fois la prise de sang réalisée, les poissons sont euthanasiés puis conservés (5°C) jusqu'à la dissection. Pour chaque poisson, le sexe est déterminé, la taille (longueur standard) et le poids total sont mesurés ; les échantillons suivant sont pesés : gonades, foie, réserves adipeuses.

Les paramètres morpho-anatomiques suivant, indicateurs de l'état des géniteurs, sont alors calculés :

- Indice gonado-somatique (**IGS**) = Poids des gonades / Poids total
- Indice hépato-somatique (**IHS**) = Poids du foie / Poids total
- Indice de gras (**IG**) = Poids du gras périviscéral / Poids total

- Facteur de condition **K1** =  $100 \times \text{Poids total} / \text{Longueur standard}^3$
- Facteur de condition **K2** =  $100 \times (\text{Poids total} - \text{Poids des gonades}) / \text{Longueur standard}^3$

Le taux de croissance spécifique moyen est calculé ainsi (Poids initial et final : moyennes par unité expérimentale) :

- Taux de croissance spécifique moyen (TCS) =  $(\ln(\text{Poids final}) - \ln(\text{Poids initial})) / \text{nombre de jours} \times 100$

### ***1.9.2. Suivi des performances de reproduction***

#### **Obtention des ovocytes**

Les pontes ont été obtenues par fécondation artificielle et leurs caractéristiques ont été déterminées lors un suivi au laboratoire. La période de *stripping* (collecte des gamètes) pour chaque unité expérimentale a débuté après l'obtention d'une première ponte naturelle dans un des bassins. Les poissons ont alors été pêchés quotidiennement afin de sélectionner les femelles prêtes à pondre.

La pêche a lieu en début d'après-midi, avant l'extinction de la lumière. L'ensemble des poissons de chaque bassin est pêché et transféré dans une bassine de 50 L ; les mâles sont distingués des femelles par palpation (présence de sperme au niveau de la papille urogénitale lors de la palpation, mâles « spermants »). Trois mâles choisis au hasard destinés à féconder les pontes sont mis de côté dans un seau de 10 L. Les femelles prêtes à pondre sont identifiées par l'observation de la papille urogénitale, turgescence à l'approche de la ponte (Figure 29). Elles déclenchent l'oviposition après une très faible pression abdominale, elles sont alors immédiatement strippées.

Les ovocytes sont récupérés dans une bassine propre et sèche. Le poids total de la ponte est mesuré, ainsi que le poids de la femelle après oviposition. Du sperme est alors récupéré grâce à une seringue sur les 3 mâles sélectionnés. Une légère pression sur l'abdomen suffit à le faire sortir. La papille urogénitale doit être correctement nettoyée et totalement sèche. Cette précaution particulière est prise afin d'éviter la contamination par l'urine. Le sperme est alors déposé à sec sur les rubans d'ovocytes, de la manière la plus homogène possible. De l'eau provenant du bassin d'origine des poissons (environ 50 mL) est ensuite versée sur les gamètes ; le récipient est délicatement agité pendant quelques secondes avant d'être laissé au repos pendant 5 minutes. Les œufs sont ensuite transférés dans une clayette de l'écloserie (Figure 24).



**Figure 29 :** Femelle de perche prête à pondre. Les flèches indiquent la papille uro-génitale turgescente.

- **Caractéristiques de reproduction des femelles**

Pour chaque ponte, la date de ponte est relevée. Le poids de la femelle après ponte et le poids du ruban permettent de calculer le rapport : Poids de la ponte / Poids de la femelle. Le taux de ponte de la combinaison est calculé en fin de saison de reproduction (Tableau 7). Les fécondités absolues et relatives sont calculées par rapport au poids de la femelle après ponte.

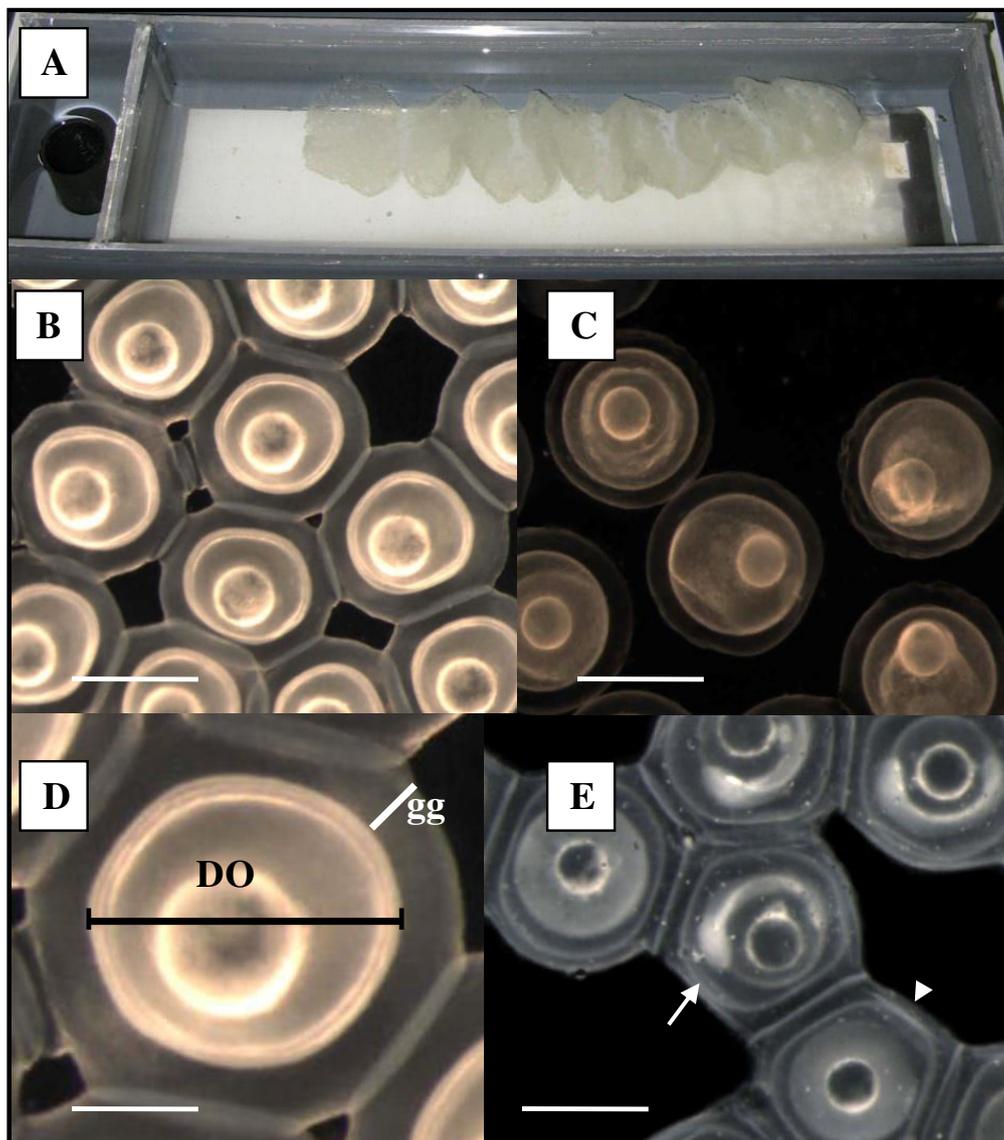
- **Mesure des paramètres morphométriques des ovocytes**

Des ovocytes sont prélevés afin de mesurer plusieurs paramètres ovocytaires.

- **Taille des ovocytes** : Trois fragments de ruban d'environ 30 ovocytes chacun pris à divers endroits du ruban sont photographiés sous une loupe binoculaire (Olympus

SZX7). Le diamètre des ovocytes est mesuré en mm grâce au logiciel Cell A (Figure 30 D).

- Poids des ovocytes : Trois fragments de ruban d'environ 100 ovocytes chacun sont pesés ; le nombre exact d'ovocytes est ensuite déterminé. Le poids ovocytaire en est alors déduit en mg.
- Taux de fragmentation : Le pourcentage de délitement des rubans est estimé. Un taux de fragmentation de 0% correspond à un ruban entier, tandis qu'un taux de 100% correspond à des ovocytes totalement détachés (Figure 30 B-C).



**Figure 30** : (A) Ruban d'œufs de perche au moment de la ponte, dans une clayette ; (B) Ruban d'œufs non fragmenté (0%) ; (C) Ruban totalement fragmenté (100%) ; (D) Mesure du diamètre ovocytaire (DO) à l'intérieur de la gangue gélatineuse (gg) ; (E) Evaluation du taux de fécondation à 3 jours (la

flèche correspond à un œuf fécondé et la tête de flèche à un œuf non fécondé). Les barres d'échelle représentent 1 mm en B, C et E, et 500 µm en D.

- **Suivi des œufs**

Les œufs sont incubés dans l'écloserie à 13°C. Chaque ruban d'œufs est étalé dans une ou plusieurs clayettes (Figure 30 A) et son évolution est suivie. Pour chaque ponte, les paramètres suivant sont étudiés :

- Taux de fécondation : le pourcentage d'œufs fécondés (Figure 30 E) est mesuré 3 jours après la fécondation sur trois fragments d'une centaine d'œufs chacun.
- Taux d'éclosion : il correspond au pourcentage de larves écloses par ponte. Trois fragments d'une centaine d'œufs chacun sont mis à incuber dans trois isofoirs. Le nombre d'œufs exact est déterminé pour chaque fragment. A la fin de l'éclosion, les larves écloses sont prélevées et conservées dans du formol (70 %) pour un comptage ultérieur.

L'ensemble des paramètres mesurés lors du suivi des performances de reproduction est présenté dans le Tableau 7.

<b>Paramètres</b>		<b>Moment de la mesure</b>		<b>Calcul</b>
Taux de ponte	TxPonte	Fin de la saison de ponte		Nombre de ponte par bac / Nombre total de femelles
Date de ponte	DateP	Jour de la ponte		Nombre de jours depuis la première ponte récoltée
Poids de la ponte / Poids de la femelle	Pponte/ Pfemelle	Jour de la ponte		
Fécondité absolue	FecAbs	Jour de la ponte		Nombre d'ovocytes par femelle
Fécondité relative	FecR	Jour de la ponte		Nombre d'ovocytes par g de femelle
Taux de fragmentation	TxF	Jour de la ponte		Pourcentage d'œufs libres
Poids ovocytaire	Po	Jour de la ponte		Poids du fragment / nombre d'œufs
Taille ovocytaire	To	Jour de la ponte		
Taux de fécondation	Fec	72h après la fécondation		(nombre d'œufs fécondés / nombre total d'œufs)
Taux d'éclosion	Ec	Fin de l'éclosion		(nombre de larves écloses / nombre total d'œufs) x100

**Tableau 7** : Liste des paramètres étudiés lors du suivi des pontes.

## I.10. ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats du plan complet (prélèvements initial et final, fin de vernalisation) sont analysés grâce au logiciel Analys (Kobilinsky, 2000). Les graphes de Daniels (quantiles  $\frac{1}{2}$  normaux des effets) sur le modèle sursaturé sont tout d'abord analysés et permettent de déterminer les contrastes potentiellement influents sur la variable étudiée (Daniel, 1959). Les hypothèses ci-dessous sont posées :

- Les interactions de degré supérieur ou égal à 3 sont négligeables.
- Au sein d'un groupe d'alias d'interaction influent, sera considérée comme potentiellement active l'interaction de degré 2 qui contient au moins un facteur principal influent. Les effets des autres interactions contenues dans ce groupe seront alors supposés négligeables.
- Si un contraste de groupe d'alias d'interaction semble actif, mais qu'aucun facteur simple inclus dans ces interactions ne l'est, l'interaction considérée comme potentiellement active sera choisie arbitrairement, grâce à l'étude des connaissances actuelles sur le sujet étudié.

Une ANOVA est alors réalisée sur les contrastes ainsi sélectionnés, avec comme résiduelle, les contrastes non actifs. Les différences entre les moyennes ajustées sont ensuite testées par un t-test grâce à une procédure GLM (Logiciel SAS 9.1), ( $p < 0,05$ ).

Les effets sont hiérarchisés selon leur contribution à la variabilité totale observée sur la variable considérée. Les contributions des effets sont calculées comme le rapport du carré factoriel considéré sur la somme totale des carrés (factoriels + résiduelle). Les contributions sont exprimées en pourcentages.

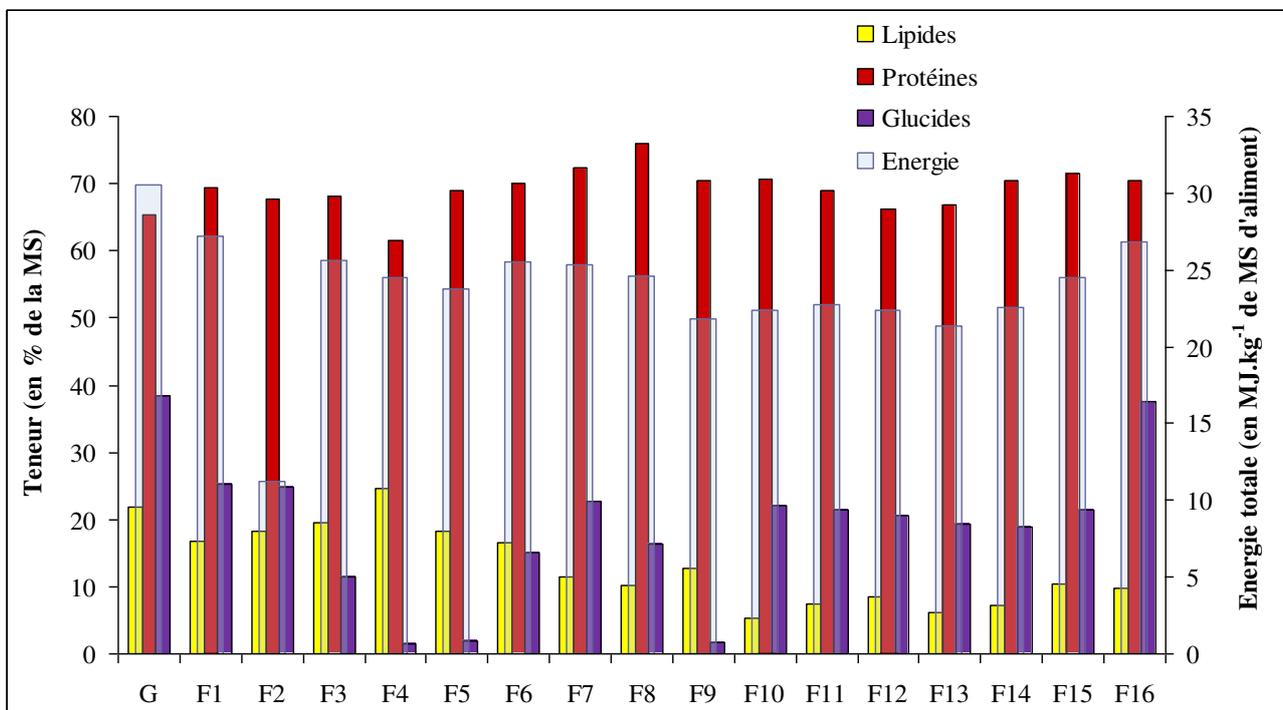
Les résultats du plan partiel (prélèvement 2, fin de phase d'induction) sont analysés grâce au logiciel SAS 9.1. Une ANOVA est réalisée grâce à aux procédures GLM et Glimpower (SAS/STAT® User's Guide, 1989). Les effets testés sont ceux des 2 facteurs étudiés lors de la phase d'induction et de l'interaction. Un test F a permis de tester les variances, puis un test t de comparer les moyennes ajustées entre groupes. Le coefficient de variation de l'écart-type résiduel (CVETR) est indiqué ainsi que les puissances. Le niveau minimal de significativité a été fixé à  $p < 0,05$ .

## II. RESULTATS

### II.1. COMPARAISON DE LA COMPOSITION DES ALIMENTS DISTRIBUES

L'évolution des teneurs en lipides, protéines et glucides exprimées en pourcentage de la matière sèche au cours du temps (présentation des différents arrivages en Annexe 1) du poisson fourrage (Fx) est présentée dans la Figure 31 et comparée à celles des granulés (G). L'énergie totale de chaque aliment est également disponible.

Le poisson fourrage est moins riche en lipides que les granulés sur l'ensemble de l'expérimentation (12,7 % de la MS pour le poisson fourrage et 21,9 % pour les granulés) ; il est également moins riche en glucides (17,4 % de glucides pour le poisson fourrage et 38,4 % pour les granulés). En revanche, la teneur en protéines est plus importante (69,3 % pour le poisson fourrage et 65,3 % pour les granulés). L'aliment formulé est plus riche en énergie (30,53 MJ.kg<sup>-1</sup> de MS, en accordance avec les données du fournisseur) que le poisson fourrage (23,27 ± 1,84 MJ.kg<sup>-1</sup> de MS).

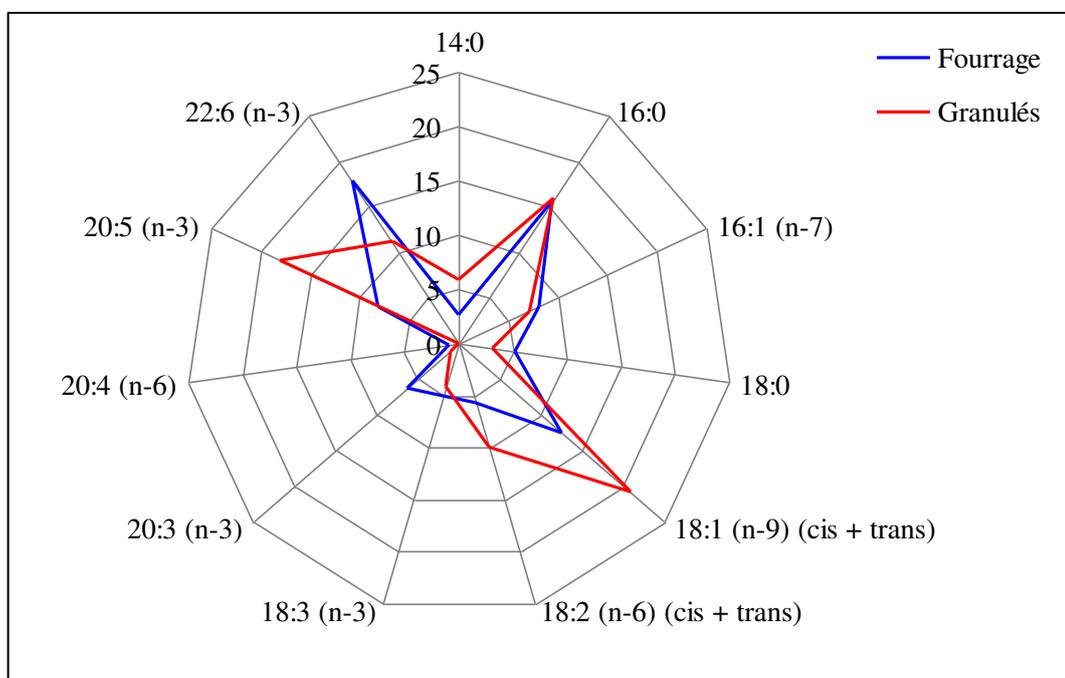


**Figure 31 :** Composition en lipides totaux, protéines et glucides, et énergie totale des granulés et des différents lots de poissons fourrages. G: aliment granulés ; F1 à 16: différents arrivages de poisson fourrage, F1 étant le premier arrivé en début d'expérience, et F16 le dernier.

La composition du poisson fourrage varie en fonction des arrivages tout au long de l'expérimentation (Figure 31). La teneur en protéines du poisson fourrage reste relativement stable durant l'expérimentation. Cependant, la teneur en lipides totaux varie fortement en fonction du temps et oscille entre 5,3 % en décembre (F10) et 24,7 % à la mi-août (F4), tout comme la teneur en glucides qui varie de 1,6 % en F4 à 37,6 % en F16.

La composition en acides gras des deux types d'aliment est présentée sur le Figure 32. Le détail des acides gras par arrivage de poisson fourrage est présenté en annexe 2. Seuls les AG dont la teneur est supérieure à 1% des acides gras totaux ainsi que l'acide arachidonique sont présentés. Les granulés sont plus riches en acide myristique (14:0), palmitique (16:0), oléique et élaïtique (18:1 (n-9) (cis+trans)), acide linolélaïdique (18:2 (n-6) (cis+trans)) et acide éicosapentaenoïque (20:5 (n-3)). En revanche, les poissons fourrage sont en moyenne sur l'ensemble de l'expérimentation enrichis en acide palmitoléique (16:1 (n-7)), acide stéarique (18:0), acide  $\alpha$ -linoléinique (18:3 (n-3)), acide tricosanoïque (20:3 (n-3)), acide arachidonique (20:4 (n-6)) et acide docosahéxanoïque (22:6 (n-3)).

Le ratio DHA/EPA/ARA est de 22/10/1 pour le poisson fourrage et de 10/30/1 pour les granulés.



**Figure 32 :** Composition en acides gras des deux aliments distribués lors de l'expérimentation « Alimentation » (en % des acides gras totaux).

## II.2. ETAT MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DES GENITEURS AU COURS DU CYCLE DE REPRODUCTION

Le prélèvement initial (1) permet de mettre en évidence l'homogénéité des lots de géniteurs entre les différents bassins expérimentaux avant l'application des facteurs testés. En effet, les faibles différences observées initialement entre les bassins ne sont expliquées par aucun des facteurs (ni interaction) testés, ceci quel que soit le sexe (Tableaux 10 et 11). Les données brutes sont présentées dans les Annexes 3 A et B.

A la fin de la phase d'induction (prélèvement 2, Annexes 4 A et B), des différences sont observées entre les bacs ; celles-ci peuvent être comparées car aucune différence n'a été observée lors du prélèvement initial. Aucun effet de l'alimentation distribué pendant la phase d'induction n'est significatif sur les variables étudiées (Tableaux 10 et 11). Cependant, le test n'est pas suffisamment puissant pour mettre en évidence un éventuel effet de d'aliment distribué pendant l'induction sur les facteurs étudiés ( $P_{\max} = 35 \%$  pour les femelles et  $52 \%$  pour les mâles pour l'ensemble des paramètres testés lors de ce prélèvement).

Le dernier prélèvement (3) a eu lieu juste avant le début de la période de ponte. Les données brutes sont présentées dans des Annexes 5 A et B. Lors de ce prélèvement, l'ensemble des mâles étaient spermiantes.

### *II.2.1. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonales des femelles*

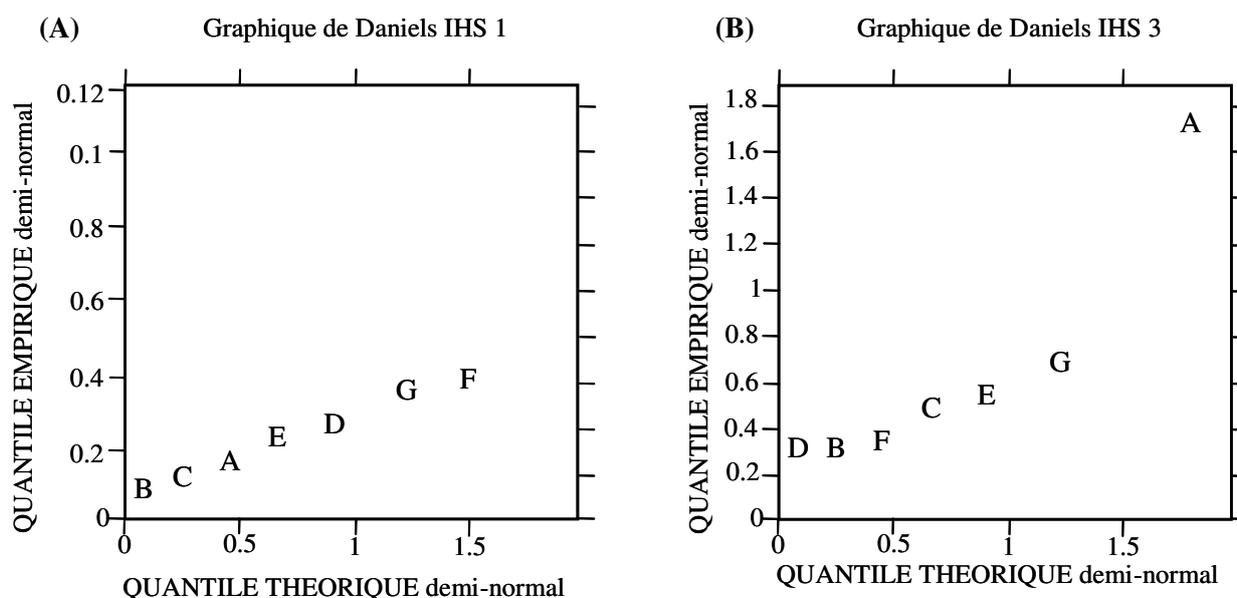
Les effets simples et interactions modulant les paramètres morpho-anatomiques et le taux de cortisol mesurés tout au long de l'expérience sont présentés sur le Tableau 10. Comme expliqué précédemment, ces effets concernent uniquement les paramètres de fin de phase de vernalisation.

**Détermination des effets potentiellement actifs :** La recherche des effets potentiellement actifs par les graphes de Daniels permet d'identifier un effet simple expliquant les différences observées entre bassins. Si l'on prend comme exemple le graphe de Daniels obtenu pour l'IHS des femelles lors du prélèvement initial, on constate que l'ensemble des points représentant un effet simple ou une interaction sont alignés (Figure 33 A). On peut en déduire qu'aucun effet n'est influent sur l'IHS des femelles.

	Effets simples								Interaction	CVETR (%)	Pmax (%)
	Type d'aliment pendant la vernalisation		Type d'aliment pendant l'induction		Rationnement pendant la vernalisation		Rationnement Nourrissage pendant l'induction				
	Poisson fourrage	Granulés	Poisson fourrage	Granulés	A satiété	Jeûne	A satiété	Jeûne			
IHS 1	1,80 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,69 <sup>a</sup>	-	9	39
IHS 2	-	-	2,00 <sup>a</sup>	2,21 <sup>a</sup>	-	-	2,21 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	-	14	35
IHS 3	<b>2,02<sup>a</sup></b>	<b>1,31<sup>b</sup></b>	1,67 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>	1,82 <sup>a</sup>	1,51 <sup>a</sup>	-	21	>99
IG 1	3,63 <sup>a</sup>	3,26 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,82 <sup>a</sup>	3,68 <sup>a</sup>	3,21 <sup>a</sup>	3,55 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	-	17	17
IG 2	-	-	0,57 <sup>a</sup>	1,04 <sup>a</sup>	-	-	1,12 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>	-	50	18
IG 3	0,43 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	<b>0,10<sup>a</sup></b>	<b>0,59<sup>b</sup></b>	0,31 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	-	47	32
K1 1	1,85 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	1,87 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	2,03 <sup>a</sup>	-	12	13
K1 2	-	-	2,06 <sup>a</sup>	1,91 <sup>a</sup>	-	-	2,07 <sup>a</sup>	1,90 <sup>a</sup>	-	17	20
K1 3	<b>2,14<sup>a</sup></b>	<b>2,00<sup>b</sup></b>	2,02 <sup>a</sup>	2,11 <sup>a</sup>	2,09 <sup>a</sup>	2,04 <sup>a</sup>	2,07 <sup>a</sup>	2,07 <sup>a</sup>	-	3	74
K2 1	1,84 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	1,99 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	1,84 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	-	12	13
K2 2	-	-	1,90 <sup>a</sup>	1,76 <sup>a</sup>	-	-	1,91 <sup>a</sup>	1,76 <sup>a</sup>	-	14	21
K2 3	<b>1,76<sup>a</sup></b>	<b>1,57<sup>b</sup></b>	1,63 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	1,66 <sup>a</sup>	-	4	94
C 1	0,87 <sup>a</sup>	12,92 <sup>a</sup>	5,46 <sup>a</sup>	8,32 <sup>a</sup>	11,29 <sup>a</sup>	2,49 <sup>a</sup>	9,18 <sup>a</sup>	4,61 <sup>a</sup>	-	11	32
C 2	-	-	118 <sup>a</sup>	170 <sup>a</sup>	-	-	167 <sup>a</sup>	121 <sup>a</sup>	-	13	17
C 3	14,0 <sup>a</sup>	10,6 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>	13,5 <sup>a</sup>	15,3 <sup>a</sup>	9,4 <sup>a</sup>	15,2 <sup>a</sup>	9,51 <sup>a</sup>	-	34	17
TCS 2	-	-	0,28 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	-	-	0,27 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>	-	18	25
TCS 3	<b>0,14<sup>a</sup></b>	<b>-0,04<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>a</sup></b>	<b>0,11<sup>b</sup></b>	0,08 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	-	77	57

**Tableau 10 :** Effet des facteurs simples et interactions sur les paramètres mesurés chez les femelles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement de fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement de fin de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples; IHS : Indice hépato-somatique (%); IG : Indice de gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2 ; C : concentration plasmatique de cortisol (ng.L<sup>-1</sup>) ; TCS : Taux de croissance spécifique moyen (%.j<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

En revanche, le graphe de Daniels obtenu pour l'IHS lors du prélèvement de fin de vernalisation (Figure 33 B) montre un point non aligné décalé vers la gauche : le point A correspond au type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation. Le modèle d'analyse de variance teste alors ce facteur.

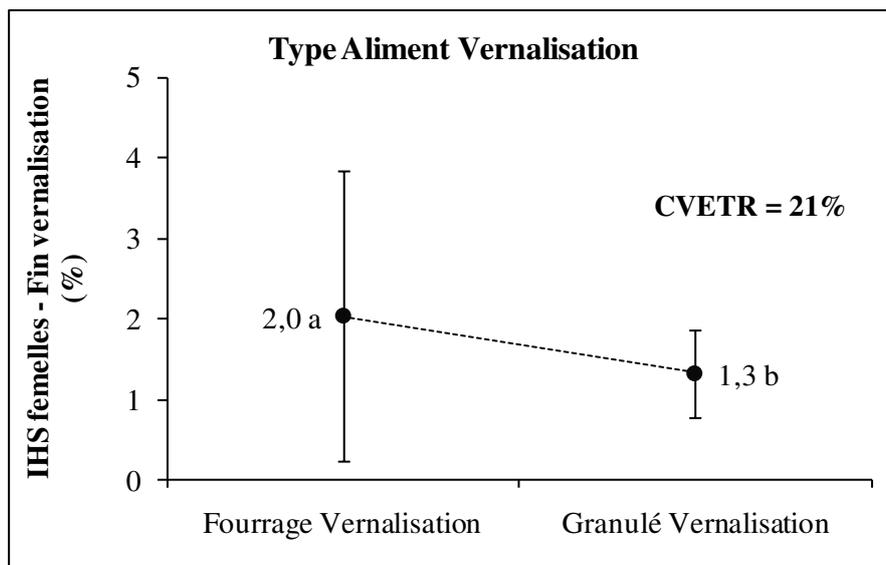


**Figure 33 :** Graphes de Daniels pour l'IHS des femelles en début d'expérimentation **(A)** et en fin de vernalisation **(B)**. A : Type d'aliment distribué lors la vernalisation (Type V) ; B : Type d'aliment distribué lors l'Induction (Type I) ; C : Rationnement utilisé lors la Vernalisation (Rationnement V) ; D : Rationnement utilisé lors l'Induction (Rationnement I) ; E : Interaction Type V \* Type I + Interaction Rationnement V \* Rationnement I ; F : Interaction Type V \* Rationnement V + Interaction Type I \* Rationnement I ; G : Interaction Type V \* Rationnement I + Interaction Type I \* Rationnement V.

L'analyse du graphe de Daniels est réalisée pour chaque variable étudiée lors des prélèvements 1 et 3 (plan complet testé), mais seuls les résultats de l'analyse de variance seront présentés pour la suite des résultats.

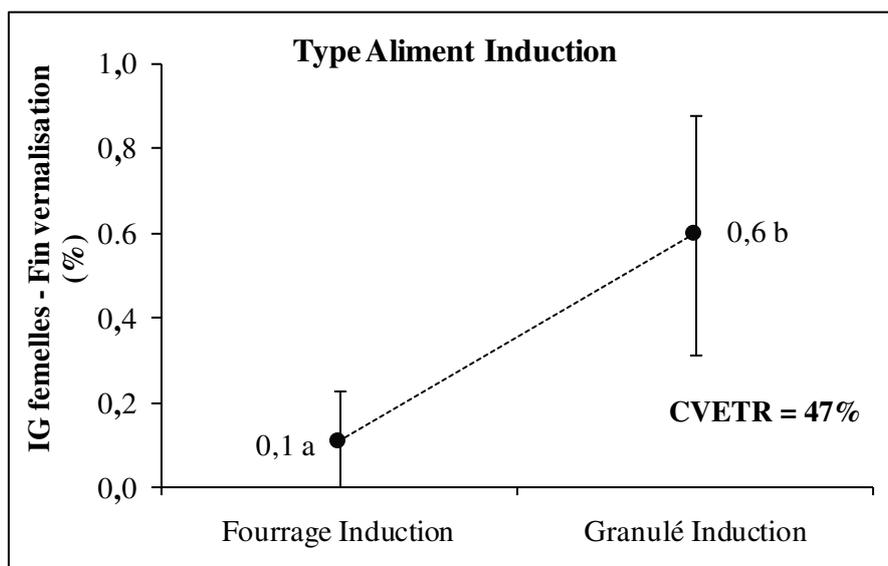
Cette analyse n'est pas nécessaire lors du traitement des données de fin de phase d'induction, car deux facteurs sur les quatre étudiés sont testés à ce moment de l'expérience, ce qui correspond alors à l'analyse d'un plan complet à deux réplicas par modalité (voir **I.10**).

**IHS** : Lors du prélèvement initial, les poissons présentent des indices hépatosomatiques similaires dans l'ensemble des bassins. Ceci est également observé en fin de phase d'induction où les valeurs sont légèrement plus élevées. Aucun effet n'est alors observé. En revanche, l'effet du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation explique les différences d'IHS en fin de vernalisation (Figure 34), puisque les femelles nourries avec du poisson fourrage ont une masse hépatique supérieure en fin de phase de vernalisation. Les valeurs d'IHS s'échelonnent de 1,1 % (combinaison 6) à 2,7 % (combinaison 1).



**Figure 34** : Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice hépatosomatique (IHS) des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 58 \%$ .

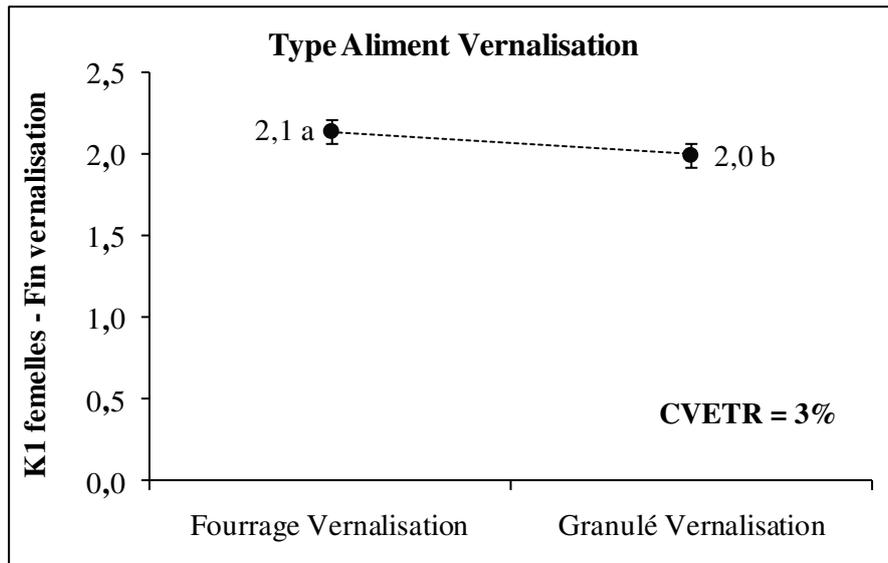
**IG** : Les réserves lipidiques ont été fortement consommées pendant l'ensemble de l'expérimentation. L'IG en fin de phase de vernalisation varie de 0 % (combinaison 1) à 0,99 % (combinaison 7). Un effet simple significatif du type d'aliment distribué pendant la phase d'induction est observé (Figure 35) : les femelles nourries au poisson fourrage pendant la phase d'induction ne possèdent quasiment plus de réserves adipeuses en fin de vernalisation, contrairement aux femelles nourries aux granulés.



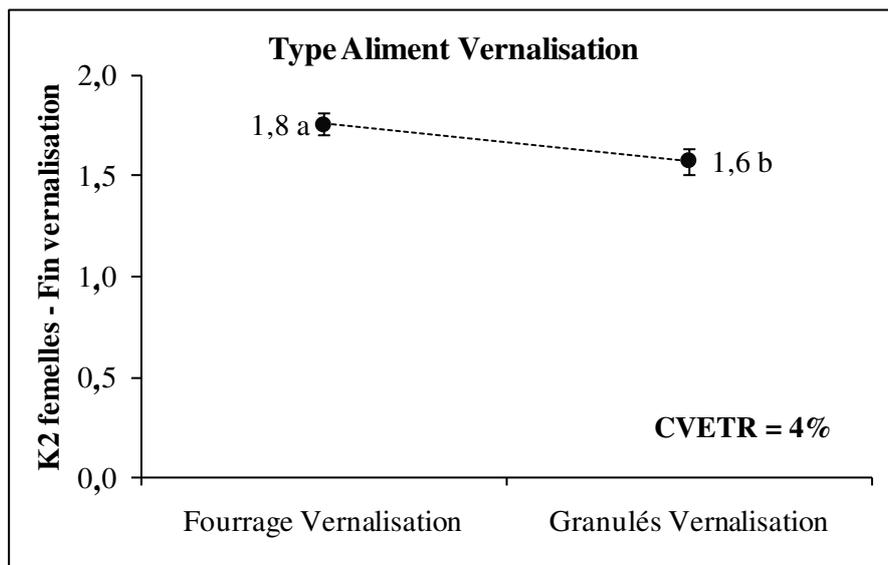
**Figure 35 :** Influence du type d'aliment distribué pendant la phase d'induction sur l'indice de gras (IG) des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 86\%$ .

**K1, K2 :** Les facteurs de condition K1 et K2 présentent des variations entre les lots des bassins tout au long de l'expérience. En fin de vernalisation, les valeurs varient de 1,9 (combinaison 8) à 2,2 (combinaison 7) pour K1 et 1,5 (combinaison 8) à 1,8 (combinaison 7) pour K2. Les différences entre combinaisons de ces deux facteurs de condition sont expliquées par le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation : les femelles nourries au poisson fourrage pendant cette période arrivent en fin de gonadogenèse avec un plus fort embonpoint (Figures 36 et 37).

**C :** Les taux plasmatiques de cortisol variaient fortement entre les bassins à chaque point de prélèvement et entre les différents prélèvements. Les valeurs varient de  $0,42 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 1 à  $28,6 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 4 en situation initiale. Les valeurs sont nettement plus élevées en fin d'induction (de 28 à  $352 \text{ ng.mL}^{-1}$ ). Elles diminuent lors du troisième prélèvement, en fin de phase de vernalisation et s'échelonnent de  $5 \text{ ng.mL}^{-1}$  (combinaison 6) à  $21 \text{ ng.mL}^{-1}$  (combinaison 1). Pour les 3 prélèvements, les différences entre bassins ne sont expliquées par aucun facteur ni interaction.



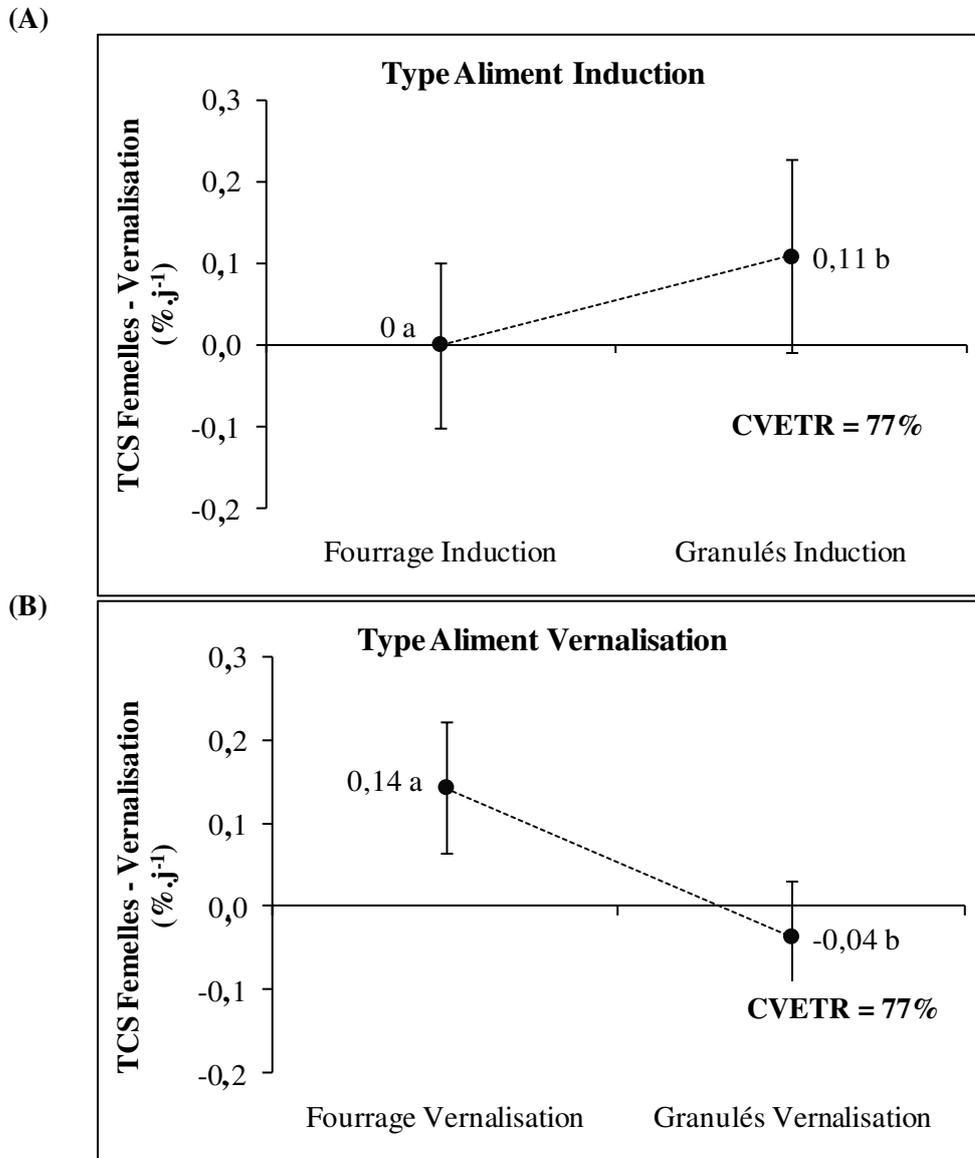
**Figure 36 :** Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice de condition (K1) des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 79 \%$ .



**Figure 37 :** Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice de condition (K2) des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 76 \%$ .

**TCS :** Le taux de croissance spécifique moyen varie de 0,07 (combinaison 3) à 0,42 (combinaison 6) en fin de phase d'induction et de -0,13 (combinaison 6) à 0,24 (combinaison 3) en fin de phase de vernalisation. Deux effets simples sont observés en fin de phase de vernalisation : type d'aliment pendant les phases d'induction et de vernalisation. Les femelles nourries aux granulés pendant la phase d'induction (Figure 38A), ont globalement grossi,

tandis qu'il n'y a pas de croissance pour celles nourries au poisson fourrage. Celles nourries aux granulés pendant la phase de vernalisation montrent une légère décroissance globale par rapport à celles nourries au poisson fourrage qui ont une croissance positive (Figure 38B).



**Figure 38 :** (A) Influence du type d'aliment distribué pendant la phase d'induction sur le taux de croissance spécifique moyen (TCS) des géniteurs femelles pendant la phase de vernalisation. (B) Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur le taux de croissance spécifique (TCS) des géniteurs femelles pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 91 \%$ .

**Conclusions :** Ces résultats montrent que le facteur principal ayant modifié l'état morphologique des géniteurs femelles (IHS, K1, K2, TCS) durant la phase de vernalisation est le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation. Le type d'aliment distribué

pendant la phase d'induction a également eu un effet (IG et TCS) ; le rationnement n'a influencé aucun paramètre, que ce soit en phase d'induction ou en phase de vernalisation.

	Effets simples								Interaction	CVETR (%)	Pmax (%)
	Type d'aliment pendant la vernalisation		Type d'aliment pendant l'induction		Rationnement pendant la vernalisation		Rationnement pendant l'induction				
	Poisson fourrage	Granulés	Poisson fourrage	Granulés	A satiété	Jeûne	A satiété	Jeûne			
IHS 1	1,80 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,69 <sup>a</sup>	-	9	6
IHS 2	-	-	1,54 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>	-	-	1,61 <sup>a</sup>	1,46 <sup>a</sup>	-	20	13
IHS 3	2,15 <sup>a</sup>	1,46 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	1,80 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	1,84 <sup>a</sup>	Type V * Type I - Type I * Rationnement I	3	>99
IG 1	3,63 <sup>a</sup>	3,26 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,82 <sup>a</sup>	3,21 <sup>a</sup>	3,09 <sup>a</sup>	3,55 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	-	22	87
IG 2	-	-	0,02 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>	-	-	0,24 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	-	20	36
IG 3	0,09 <sup>a</sup>	0,24 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	-	95	6
K1 1	1,85 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	1,87 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	2,03 <sup>a</sup>	-	12	34
K1 2	-	-	1,85 <sup>a</sup>	1,80 <sup>a</sup>	-	-	1,88 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	-	20	17
K1 3	<b>1,96<sup>a</sup></b>	<b>1,81<sup>b</sup></b>	1,89 <sup>a</sup>	1,88 <sup>a</sup>	1,90 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	1,92 <sup>a</sup>	-	3	99
K2 1	1,84 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	1,99 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	1,84 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	-	12	33
K2 2	-	-	1,74 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>	-	-	1,78 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	-	12	17
K2 3	<b>1,86<sup>a</sup></b>	<b>1,72<sup>b</sup></b>	1,79 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	1,75 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	Rationnement V * Rationnement I	1	>99
C 1	19,9 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	6,4 <sup>a</sup>	18,6 <sup>a</sup>	19,7 <sup>a</sup>	23,4 <sup>a</sup>	17,9 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	-	13	29
C 2	-	-	149 <sup>a</sup>	76 <sup>a</sup>	-	-	151 <sup>a</sup>	74 <sup>a</sup>	-	16	13
C 3	22,4 <sup>a</sup>	7,9 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>	19,3 <sup>a</sup>	10,7 <sup>a</sup>	19,6 <sup>a</sup>	21,9 <sup>a</sup>	8,4 <sup>a</sup>	-	96	9
TCS 2	-	-	0,15 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	-	-	0,10 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	-	30	12
TCS 3	0,06 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	-0,03 <sup>a</sup>	Quantité V * Quantité I	70	6

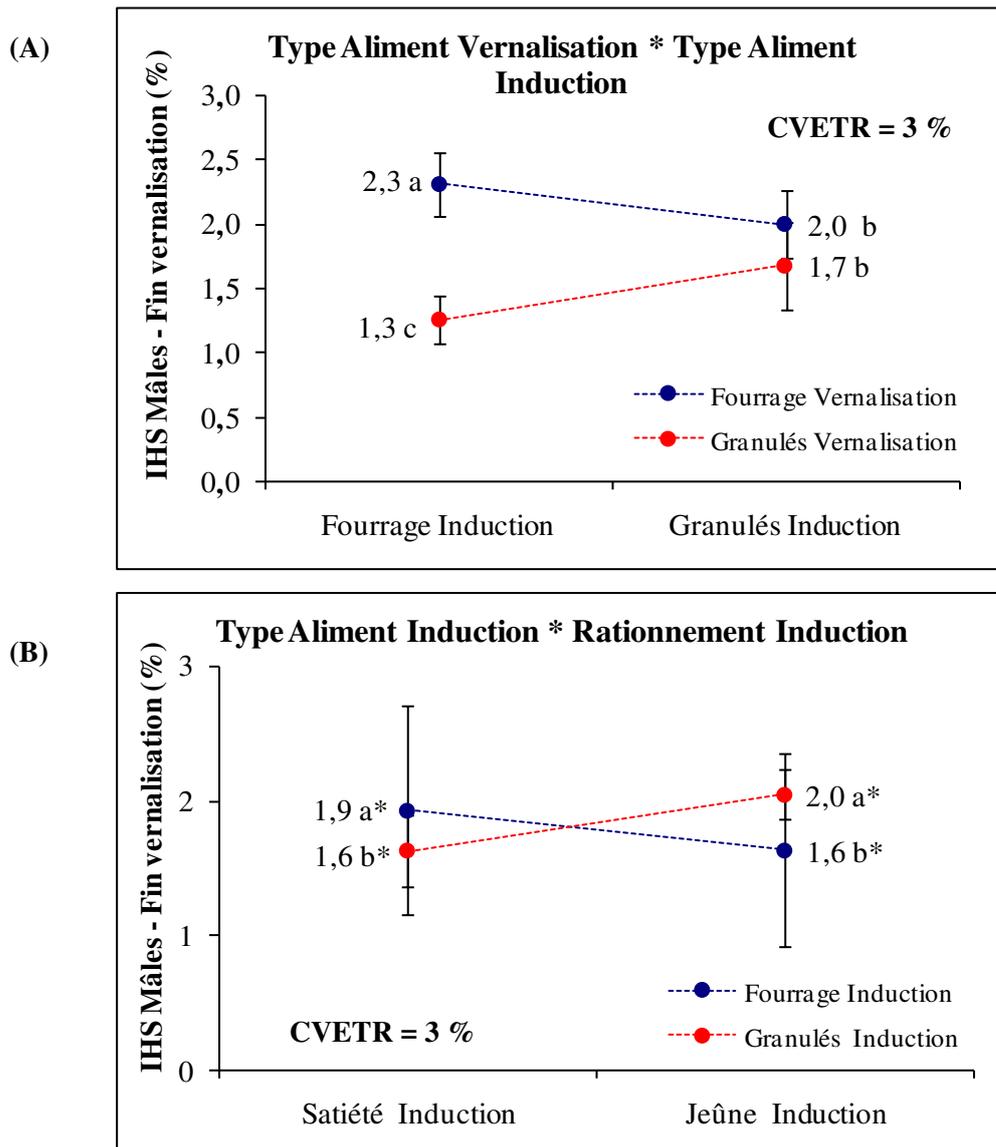
**Tableau 10 :** Effet des facteurs simples et interactions sur les paramètres mesurés chez les mâles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement en fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement en fin de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples; IHS : Indice hépato-somatique (%); IG : Indice de gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2 ; C : concentration plasmatique de cortisol (ng.L<sup>-1</sup>); TCS : Taux de croissance spécifique moyen (%.j<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

### ***II.2.2. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonale des mâles***

Les effets simples et interactions modulant les paramètres morpho-anatomiques et le taux de cortisol mesurés lors des différents prélèvements sur les mâles sont présentés dans le Tableau 11. Les effets concernent uniquement les paramètres de fin de phase de vernalisation, comme observé pour les femelles.

**IHS :** L'IHS en fin de vernalisation varie de 1,1 % (combinaison 2) à 2,5 % (combinaison 1). Deux interactions expliquent les variations d'IHS : 1 - interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation et le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction et 2 - interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction. Lorsque les poissons sont nourris aux granulés pendant la phase d'induction, le type d'aliment ingéré en phase de vernalisation n'a pas d'effet significatif sur l'IHS. Inversement, si ils sont nourris avec du poisson fourrage en phase d'induction, les poissons nourris avec du poisson fourrage en phase de vernalisation ont un IHS qui augmente significativement alors qu'il diminue significativement s'ils reçoivent du granulé pendant cette même période (Figure 39 A). A satiété pendant la phase d'induction, les poissons nourris avec du poisson fourrage pendant la phase d'induction ont un IHS plus élevé que ceux nourris aux granulés alors que s'ils subissent un jeûne en phase d'induction, leur IHS diminue quand ils reçoivent du poisson fourrage plutôt que des granulés (Figure 39 B).

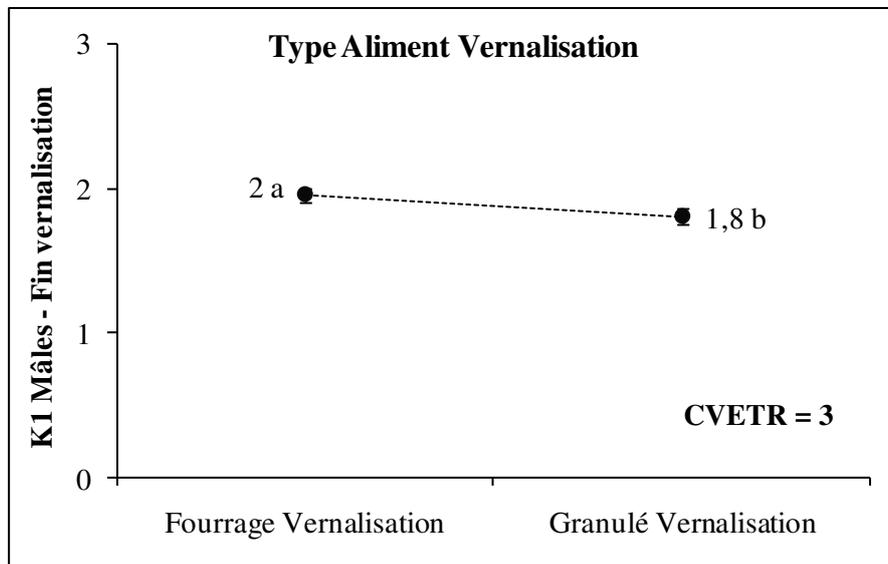
**IG :** Tout comme observé pour les femelles, les réserves adipeuses sont consommées lors de l'expérimentation. En fin de phase de vernalisation, les IG varient de 0 % (combinaisons 2, 5 et 6) à 0,7 % (combinaison 4). Chez les mâles, ce paramètre n'est pas significativement influencé par les facteurs testés lors de l'expérimentation.



**Figure 39 :** (A) Influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation et le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction sur l'indice hépato-somatique (IHS) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. (B) Influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction sur l'indice hépato-somatique (IHS) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres suivies d'une (\*) indiquent les différences potentiellement significatives ; test f :  $p < 0,05$  ; test t NS (puissance = 5%).  $R^2 = 99\%$ .

**K1, K2 :** Si aucun effet n'a été observé lors des 2 précédents prélèvements, le facteur de condition K1 (1,8 % en combinaison 6 à 2 % en combinaison 3) a été influencé par un effet simple en fin de phase de vernalisation : le type d'aliment distribué pendant la phase de

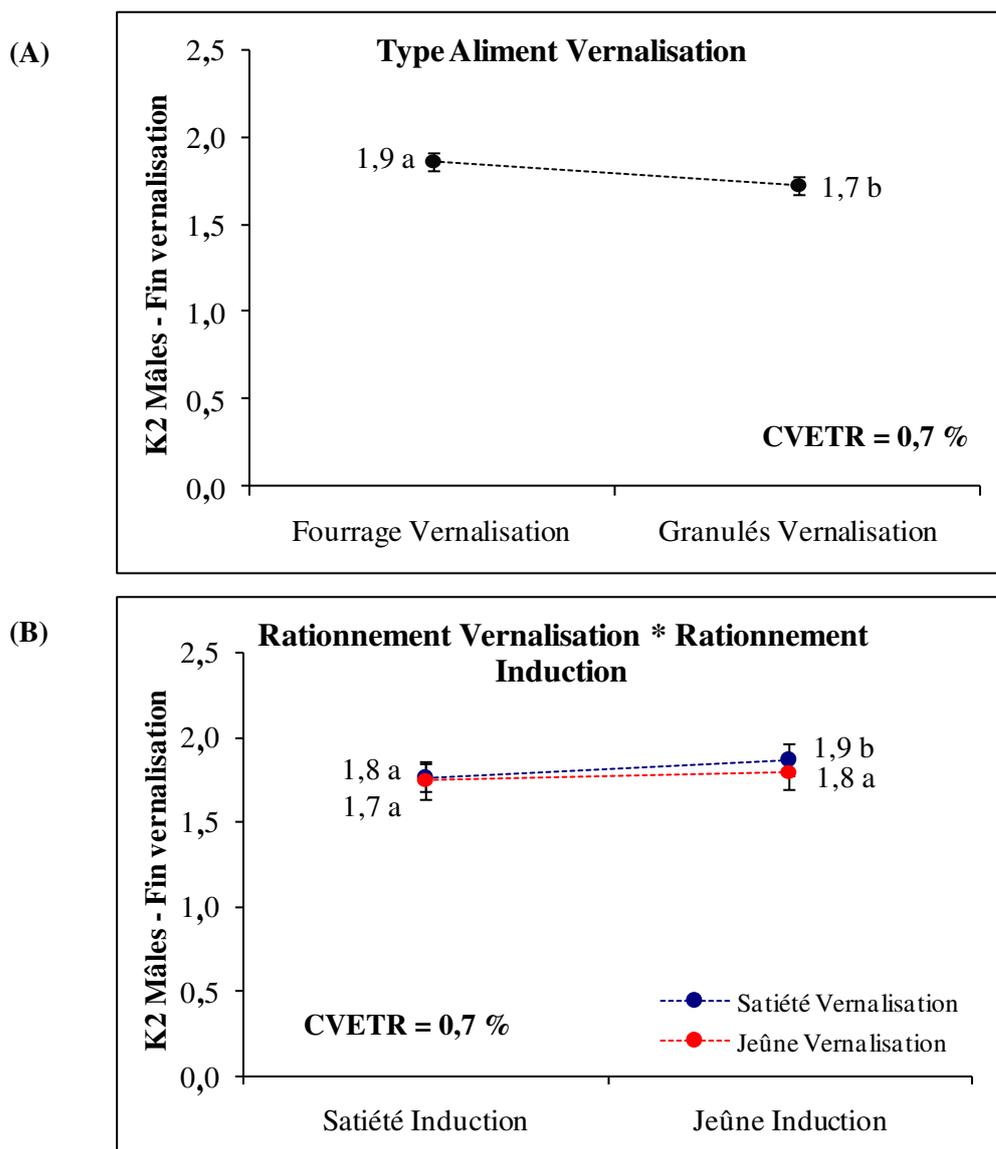
vernalisation (Figure 40). Les poissons nourris au poisson fourrage pendant la phase de vernalisation présentent un embonpoint plus élevé.



**Figure 40** : Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice de condition (K1) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 72\%$ .

Le même effet simple a été observé pour le facteur de condition K2 en fin de phase de vernalisation (Figure 41A), mais une interaction explique également les différences de K2 : interaction entre la quantité d'aliment distribuée pendant la phase de vernalisation et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction (Figure 41B). A satiété en phase d'induction, l'effet quantité d'aliment distribuée pendant la phase de vernalisation n'est pas significatif, alors qu'avec des périodes de jeûne en phase d'induction, les poissons nourris à satiété pendant la phase de vernalisation ont un K2 supérieur à celui des 3 autres modalités.

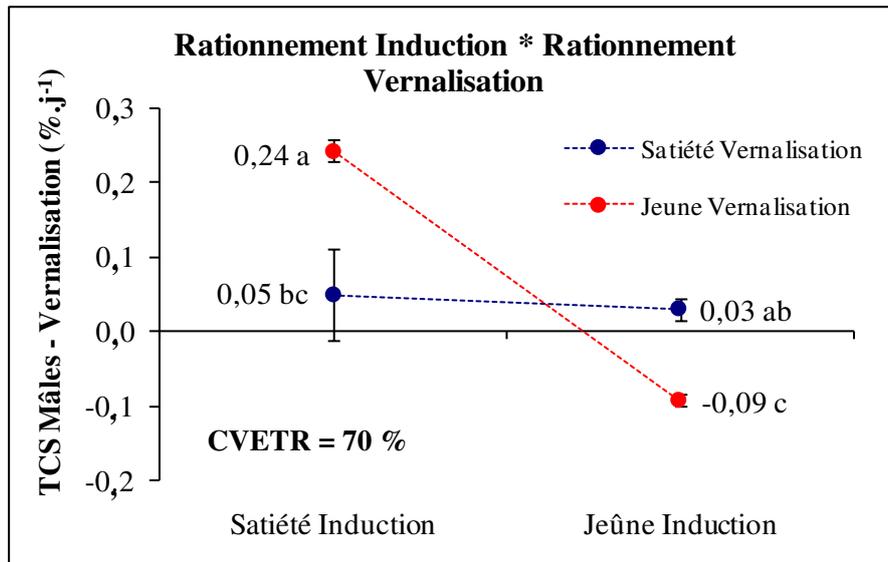
**C** : Tout comme observé pour les femelles, les concentrations plasmatiques en cortisol sont faibles en début d'expérimentation (de  $0,8 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 2 à  $53 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 7). Une forte augmentation est observée en fin de phase d'induction, avec une variabilité inter-combinaison élevée (de  $18 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 4 à  $460 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 6). Ces variations ne sont expliquées par aucun facteur ni interaction testés. Il en est de même en fin de phase de vernalisation, alors que les taux plasmatiques de cortisol ont diminué (de  $7 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 8 à  $18 \text{ ng.mL}^{-1}$  en combinaison 1) ( $P_{\text{max}} = 9$ ).



**Figure 41 :** (A) Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice de condition (K2) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. (B) Influence de l'interaction entre le rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction sur l'indice de condition (K2) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 99 \%$ .

**TCS :** En fin de phase de vernalisation, le taux de croissance spécifique moyen des mâles est influencé par l'interaction entre la quantité d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation et la quantité d'aliment distribué pendant la phase d'induction (Figure 42). Les valeurs ont de fortes variations entre combinaisons (-0,1 en combinaison 5 à 0,25 en combinaison 6). Si les mâles sont nourris à satiété pendant la phase de vernalisation, leur TCS

ne varie pas significativement quelle que soit leur mode d'alimentation pendant la phase d'induction (TCS faible). Inversement, lorsque les mâles subissent des périodes de jeûne pendant la phase de vernalisation, ils présentent le plus fort TCS s'ils ont été nourris à satiété pendant la phase d'induction ou le plus faible s'ils ont été soumis à des périodes de jeûne en phase d'induction (TCS négatif).



**Figure 42** : Influence de l'interaction entre les rations utilisées pendant les phases d'induction et de vernalisation sur le taux de croissance spécifique moyen (TCS) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 94$  %.

**Conclusions** : Les paramètres morpho-anatomiques des mâles n'ont pas été autant influencés par les facteurs testés que pour les femelles. Le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation modifie uniquement les indices de condition, de même que pour les femelles ; ce facteur entre en interaction avec le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction pour modifier l'IHS. Le rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation n'a aucun effet, contrairement à celui utilisé pendant la phase d'induction qui interagit avec le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction pour modifier l'IHS.

## II.3. EVOLUTION DES PARAMETRES DE REPRODUCTION AU COURS DU CYCLE

A la fin de la phase d'induction, les poissons semblent tous être entrés dans un cycle de reproduction dans l'ensemble des bassins (Annexe 4 A et B). En effet, les femelles présentent un IGS moyen supérieur à 4,3% (combinaison 1) et l'IGS des mâles est supérieur à 4,6% (combinaison 6).

### II.3.1. Paramètres reproducteurs des femelles

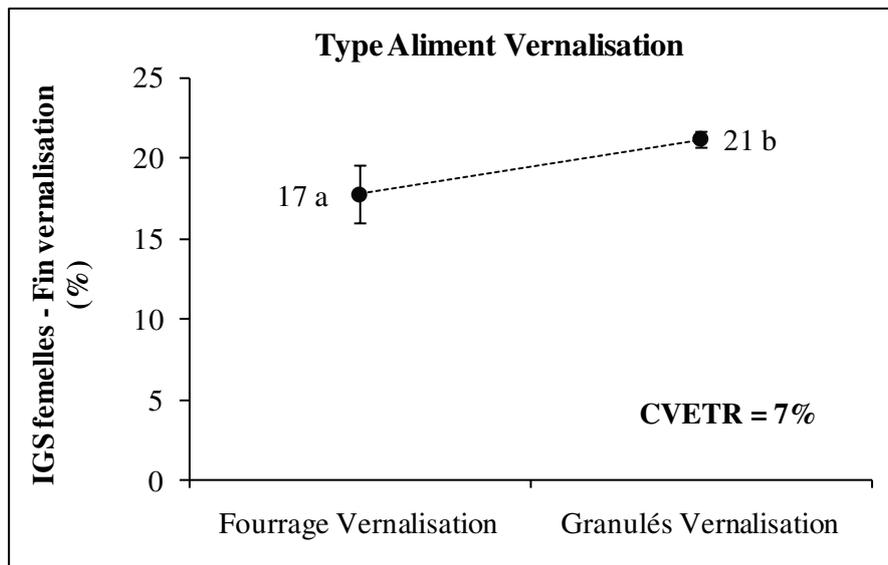
Les paramètres de reproduction des femelles ainsi que les facteurs simples et les interactions influents sont présentés dans le Tableau 12.

	Effets simples								Interaction	CVETR (%)	Pmax (%)
	Type d'aliment pendant la vernalisation		Type d'aliment pendant l'induction		Rationnement pendant la vernalisation		Rationnement Nourrissage pendant l'induction				
	Poisson fourrage	Granulés	Poisson fourrage	Granulés	A satiété	Jeûne	A satiété	Jeûne			
IGS 1	1,01 <sup>a</sup>	0,98 <sup>a</sup>	0,99 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>	0,99 <sup>a</sup>	0,97 <sup>a</sup>	1,02 <sup>a</sup>	-	5	19
IGS 2	-	-	7,29 <sup>a</sup>	7,97 <sup>a</sup>	-	-	7,73 <sup>a</sup>	7,53 <sup>a</sup>	-	224	11
IGS 3	<b>17,7<sup>a</sup></b>	<b>21,2<sup>b</sup></b>	19,1 <sup>a</sup>	19,8 <sup>a</sup>	19,0 <sup>a</sup>	19,9 <sup>a</sup>	19,1 <sup>a</sup>	19,7 <sup>a</sup>	-	7	36
T 1	1,81 <sup>a</sup>	1,28 <sup>a</sup>	1,89 <sup>a</sup>	1,21 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>	-	39	5
T 3	20,1 <sup>a</sup>	19,8 <sup>a</sup>	18,6 <sup>a</sup>	21,3 <sup>a</sup>	23,5 <sup>a</sup>	16,4 <sup>a</sup>	21,7 <sup>a</sup>	18,2 <sup>a</sup>	Type I * Quantité V	14	5
E2 1	0,34 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	-	9	56
E2 2	-	-	1,91 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	-	-	2,06 <sup>a</sup>	1,66 <sup>a</sup>	-	10	8
E2 3	<b>0,43<sup>a</sup></b>	<b>0,81<sup>b</sup></b>	0,68 <sup>a</sup>	0,57 <sup>a</sup>	<b>0,81<sup>a</sup></b>	<b>0,43<sup>b</sup></b>	0,64 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	-	25	5

**Tableau 12 :** Effet des facteurs simples et interactions sur les paramètres reproducteurs des femelles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement en fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement en fin de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples; IGS : Indice gonadosomatique (%) ; T : Concentration plasmatique en testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>) ; E2 : Concentration plasmatique en œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

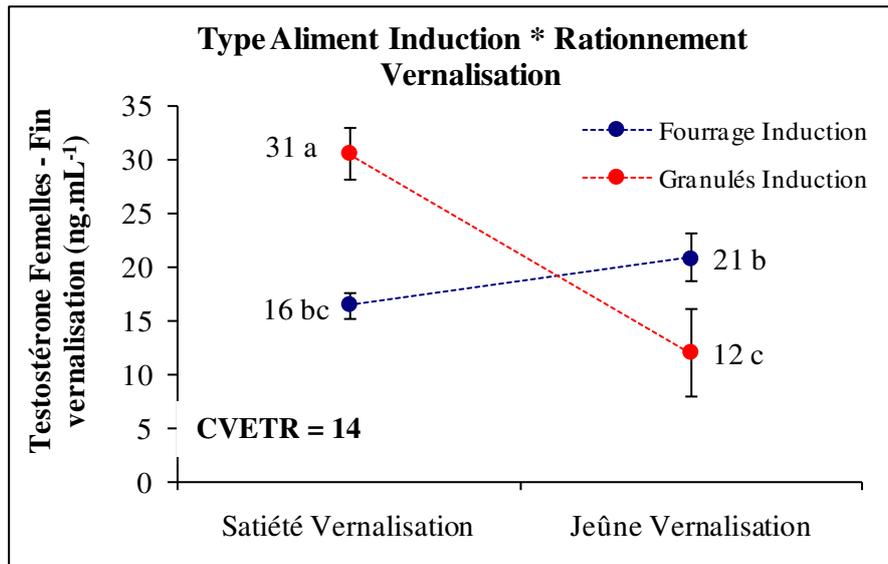
**IGS :** Lors du dernier prélèvement, l'IGS des femelles est compris entre 15 et 22% (respectivement pour les combinaisons 1 et 6). Un effet simple explique les différences d'IGS

en fin de phase de vernalisation : il s'agit du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation. Les femelles ayant été nourries aux granulés pendant cette période ont développé une masse ovarienne plus grosse que celles nourries au poisson fourrage (Figure 43).



**Figure 43 :** Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice gonado-somatique (IGS) des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 69 \%$ .

**T :** L'absence de données concernant la concentration en testostérone des femelles de deux combinaisons, due à des prélèvements insuffisants de sérum, n'a pas permis la comparaison des concentrations plasmatiques de testostérone en fin de phase d'induction. Les différences de taux plasmatique en testostérone entre les combinaisons ( $9 \text{ ng.ml}^{-1}$  pour la combinaison 6 à  $32 \text{ ng.ml}^{-1}$  pour la combinaison 4) observées en fin de phase de vernalisation sont expliquées par l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant l'induction et la quantité d'aliment pendant la vernalisation (Figure 44). Les femelles nourries aux granulés pendant la phase d'induction présentent de plus forts taux plasmatiques en testostérone si elles sont nourries à satiété pendant la phase de vernalisation par rapports à celles ayant subi des périodes de jeûne en phase de vernalisation. Ces taux ne sont pas différents lorsque les femelles sont nourries avec du poisson fourrage.

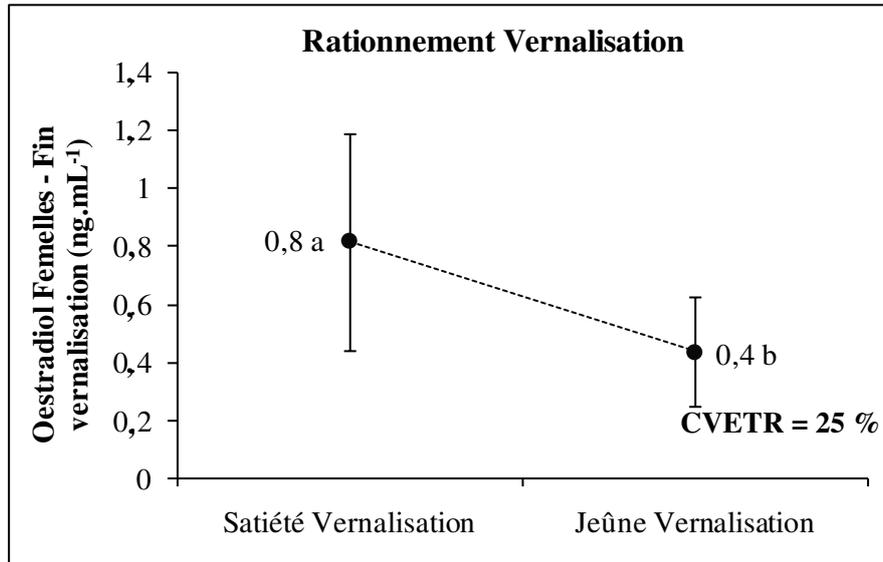


**Figure 44 :** Influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction et le rationnement pendant la phase de vernalisation sur la concentration plasmatique en testostérone des géniteurs femelles en fin de phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 93 \%$ .

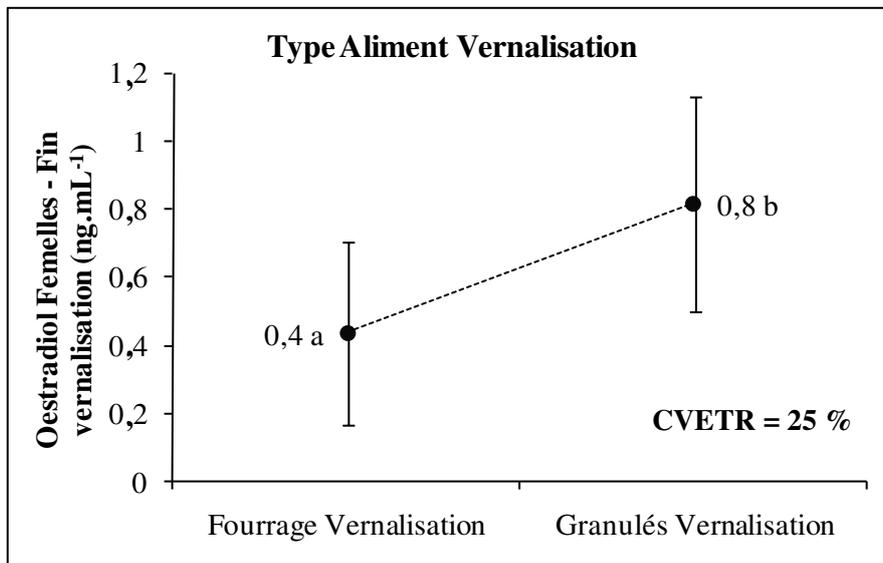
**E2 :** Les différences des taux plasmatiques d'œstradiol observées en fin de phase de vernalisation entre les différentes combinaisons sont expliquées par deux facteurs simples : quantité d'aliment distribuée pendant la phase de vernalisation (Figure 45 A) et type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation (Figure 45 B). Les femelles nourries à satiété pendant la phase de vernalisation ainsi que les femelles nourries avec du granulé pendant cette même période présentent de plus forts taux d'œstradiol en fin de phase de vernalisation.

**Conclusion :** Les caractéristiques de reproduction des femelles ont été influencées principalement par le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation (IGS et E2). Le rationnement utilisé pendant cette période a aussi agi en effet simple (T) et en interaction avec le type d'aliment distribué pendant la phase de d'induction. Le taux de rationnement utilisé pendant la phase d'induction n'a eu aucun effet.

(A)



(B)



**Figure 45 :** (A) Influence de la quantité d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur la concentration plasmatique en œstradiol des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. (B) Influence du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur la concentration plasmatique en œstradiol des géniteurs femelles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 91 \%$ .

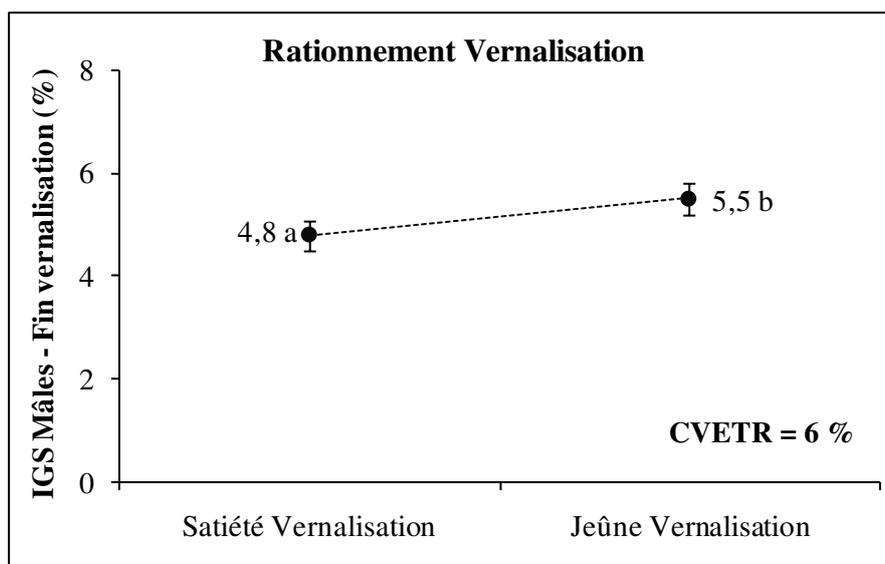
### II.3.2. Paramètres reproducteurs des mâles

Le Tableau 13 présente les effets simples et des interactions observés sur les paramètres de reproduction des mâles durant le cycle de reproduction.

	Effets simples								Interaction	CVETR (%)	Pmax (%)
	Type d'aliment pendant la vernalisation		Type d'aliment pendant l'induction		Rationnement pendant la vernalisation		Rationnement Nourrissage pendant l'induction				
	Poisson fourrage	Granulés	Poisson fourrage	Granulés	A satiété	Jeûne	A satiété	Jeûne			
IGS 1	0,48 <sup>a</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,23 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	-	65	21
IGS 2	-	-	5,98 <sup>a</sup>	5,16 <sup>a</sup>	-	-	5,32 <sup>a</sup>	5,82 <sup>a</sup>	-	90	31
IGS 3	5,0 <sup>a</sup>	5,3 <sup>a</sup>	5,2 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	<b>4,8<sup>a</sup></b>	<b>5,5<sup>b</sup></b>	5,2 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	-	6	58
T 1	2,10 <sup>a</sup>	2,37 <sup>a</sup>	2,29 <sup>a</sup>	2,18 <sup>a</sup>	1,74 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	2,18 <sup>a</sup>	2,30 <sup>a</sup>	-	24	5
T 2	-	-	9,7 <sup>a</sup>	8,6 <sup>a</sup>	-	-	10,2 <sup>a</sup>	8,1 <sup>a</sup>	-	72187	7
T 3	13,9 <sup>a</sup>	18,5 <sup>a</sup>	12,0 <sup>a</sup>	20,4 <sup>a</sup>	13,0 <sup>a</sup>	19,5 <sup>a</sup>	14,2 <sup>a</sup>	18,2 <sup>a</sup>	-	16	5
11kT 1	0,12 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	-	18	5
11kT 2	-	-	0,76 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	-	-	0,47 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	-	38	19
11kT 3	7,72 <sup>a</sup>	5,89 <sup>a</sup>	6,88 <sup>a</sup>	6,73 <sup>a</sup>	6,79 <sup>a</sup>	6,82 <sup>a</sup>	5,89 <sup>a</sup>	7,72 <sup>a</sup>	Type I* Quantité I	23	5

**Tableau 13 :** Effet des facteurs simples et interactions sur les paramètres reproducteurs des mâles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement en fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement en fin de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples; IGS : Indice gonadosomatique (%) ; T : Concentration plasmatique en testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>) ; 11kT : Concentration plasmatique en 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

**IGS :** L'IGS des mâles en fin de vernalisation est influencé par le rationnement appliqué pendant la phase de vernalisation (Figure 46). Les valeurs d'IGS s'étendent de 4,3 % (combinaison 3) à 5,8 % (combinaison 6). Les mâles nourris avec des phases de jeûne pendant la vernalisation développent plus de gonades que ceux nourris à satiété.

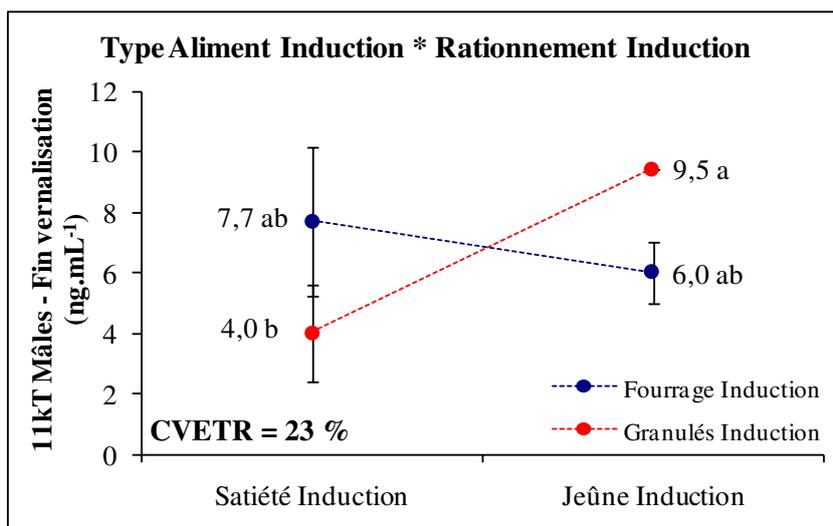


**Figure 46 :** Influence de la quantité d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur l'indice gonado-somatique (IGS) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 63 \%$ .

**T :** Les concentrations plasmatiques en testostérone varient de 9 à 35  $\text{ng.mL}^{-1}$  en fin de phase de vernalisation ; ces variations ne sont expliquées par aucun facteur ni interaction testés ( $P_{\text{max}} > 99$ ).

**11kT :** Les taux de 11 kéto-testostérone, bien plus élevés en fin d'expérimentation, présentent également de fortes variations entre les combinaisons (de 3,3  $\text{ng.mL}^{-1}$  pour la combinaison 4 à 9,5  $\text{ng.mL}^{-1}$  pour la combinaison 8), et sont influencés par l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction (Figure 47). Les poissons nourris aux granulés pendant la phase d'induction ont des taux de 11 kéto-testostérone plus deux fois plus élevés quand ils subissent des périodes de jeûne par rapport à l'aliment à satiété pendant la même période. Par contre la tendance à la diminution des taux avec l'aliment fourrage n'est pas significative.

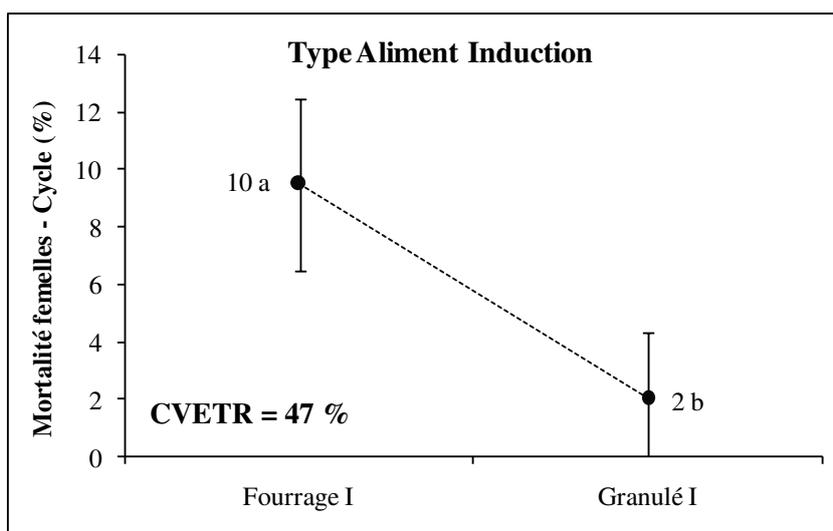
**Conclusions :** Les paramètres reproducteurs des mâles n'ont que peu été modifiés par les facteurs testés. Deux effets ont été observés : le taux de rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation qui a modifié l'IGS et l'interaction entre le rationnement utilisé pendant la phase d'induction et le type d'aliment utilisé pendant la phase d'induction qui a modifié les concentrations plasmatique de 11 kéto-testostérone.



**Figure 47 :** Influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant d'induction et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction sur la concentration plasmatique en 11 kéto-testostérone des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 77 \%$ .

#### II.4. SUIVI DE LA MORTALITE DURANT L'EXPERIMENTATION

La mortalité des mâles n'a été influencée par aucun facteur, alors que le facteur simple type d'aliment distribué pendant la phase d'induction a influencé la mortalité des femelles (Figure 48). Ainsi, les femelles nourries avec du poisson fourrage pendant la phase d'induction ont présenté une plus forte mortalité que celles alimentées avec des granulés.



**Figure 48 :** Influence de du type d'aliment distribué pendant la phase d'induction sur la mortalité des géniteurs femelles sur l'ensemble de l'expérimentation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 72 \%$ .

## II.5. EVALUATION DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION

La première ponte naturelle a été obtenue à J = 263, le 10 avril 2009, soit 4 jours après l'enclenchement du programme final d'induction des pontes (augmentation de la photopériode de 32 min, température stable de 6°C). La saison de ponte a duré 29 jours, période pendant laquelle la fécondation artificielle a été réalisée quotidiennement.

Les effets des facteurs simples et des interactions sont présentés Tableau 14.

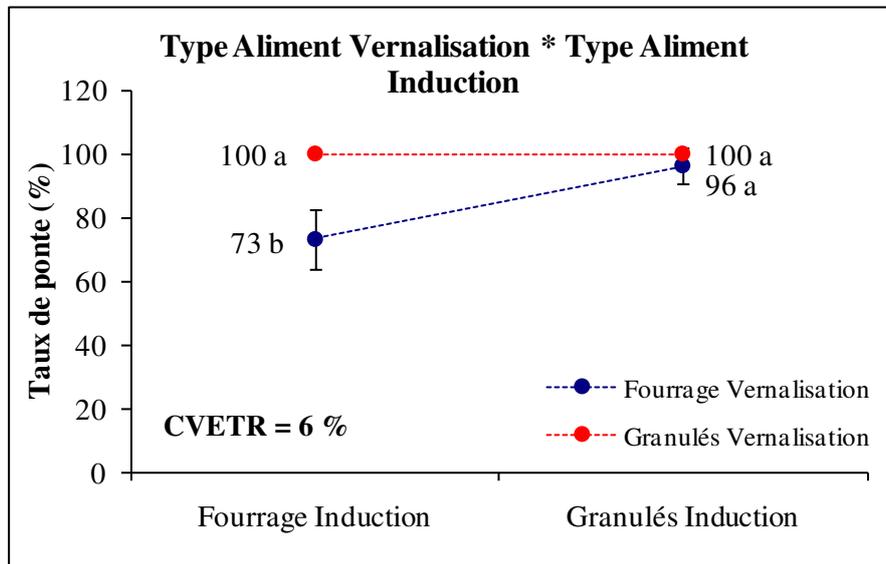
### Effets simples

	Type d'aliment pendant la vernalisation		Type d'aliment pendant l'induction		Nourrissage pendant la vernalisation		Nourrissage pendant l'induction		Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Poisson fourrage	Granulés	Poisson fourrage	Granulés	A satiété	Jeûne	A satiété	Jeûne			
TxPonte	85 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	98 <sup>a</sup>	95 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	92 <sup>a</sup>	Type V * Type I	6	23
DateP	288 <sup>a</sup>	289 <sup>a</sup>	288 <sup>a</sup>	290 <sup>a</sup>	289 <sup>a</sup>	289 <sup>a</sup>	288 <sup>a</sup>	289 <sup>a</sup>	-	11	20
Pponte/ Pfemelle	18 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>	18 <sup>a</sup>	18 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>	18 <sup>a</sup>	Type I * Rationnement I	6	18
FecAbs	9531 <sup>a</sup>	8954 <sup>a</sup>	10080 <sup>a</sup>	8405 <sup>a</sup>	8433 <sup>a</sup>	10052 <sup>a</sup>	8704 <sup>a</sup>	9781 <sup>a</sup>	-	14	26
FecR	61 <sup>a</sup>	59 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	57 <sup>a</sup>	54 <sup>a</sup>	66 <sup>a</sup>	59 <sup>a</sup>	61 <sup>a</sup>	-	9	52
TxF	54 <sup>a</sup>	51 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	58 <sup>a</sup>	58 <sup>a</sup>	47 <sup>a</sup>	57 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	-	22	>99
Po	4,3 <sup>a</sup>	4,3 <sup>a</sup>	4,1 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>	4,2 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>	4,2 <sup>a</sup>	-	3	79
Do	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	<b>1,4<sup>a</sup></b>	<b>1,4<sup>b</sup></b>	<b>1,5<sup>a</sup></b>	<b>1,4<sup>b</sup></b>	-	1	86
Fec	2,8 <sup>a</sup>	3,9 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	5,2 <sup>a</sup>	4,6 <sup>a</sup>	2,0 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	3,4 <sup>a</sup>	-	40	74

**Tableau 14 :** Effet des facteurs simples et des interactions sur les paramètres mesurés sur les pontes. CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples ; TxPonte : taux de ponte (%) ; DateP : Date de ponte (j) ; Pponte/Pfemelle : Poids de la ponte / Poids de la femelle (%) ; FecAbs : Fécondité absolue (nombre d'ovocytes par femelle) ; FecR : Fécondité relative (nombre d'ovocyte par g de femelle) ; TxF : Taux de fragmentation (%) ; Po : Poids ovocytaire moyen (mg) ; To : Taille ovocytaire (mm) ; Fec : Taux de fécondation (%). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

**TxPonte :** Les taux de ponte sont élevés et proches de 100 % ; le plus faible étant observé pour la combinaison 5 (67 %). L'interaction entre le type d'aliment pendant la phase de vernalisation et le type d'aliment pendant la phase l'induction est significative (Figure 49).

Il n'y a aucune influence du type d'aliment pendant la phase d'induction pour les poissons nourris aux granulés pendant la vernalisation (100 % de pontes), alors que ce taux tombe à 73 % lorsque les femelles sont alimentées avec du poisson fourrage, pendant les phases d'induction et de vernalisation.

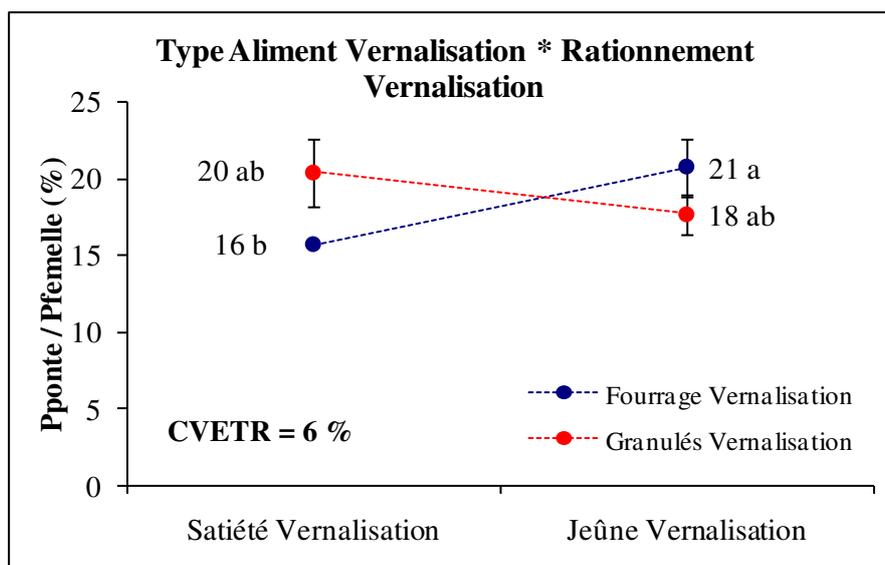


**Figure 49 :** Influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation et le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction sur le taux de ponte. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 89 \%$ .

**Date de ponte :** Aucun effet des facteurs et des interactions testés n'explique les différences observées dans les dates de ponte entre les combinaisons ( $P > 99$ ).

**FecAbs, FecR :** La fécondité absolue varie de 7400 (combinaison 4) à 12300 (combinaison 5) œufs par femelle. Les variations observées ne sont pas expliquées par les facteurs testés. Il en est de même pour la fécondité relative, qui a varié de 42 (combinaison 1) à 79 (combinaison 7) œufs par gramme de matière fraîche de femelle ( $P_{max} > 99$ ).

**Pponte/Pfemelle :** Le rapport ( $P_{ponte}/P_{femelle}$ ) s'échelonne de 15,6 % à 22 %. Une influence de l'interaction entre le type et la quantité d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation est observée (Figure 50). Une augmentation significative est relevée quand les géniteurs nourris avec du poisson fourrage en phase de vernalisation subissent une période de jeûne par comparaison avec ceux nourris à satiété sur la même période.



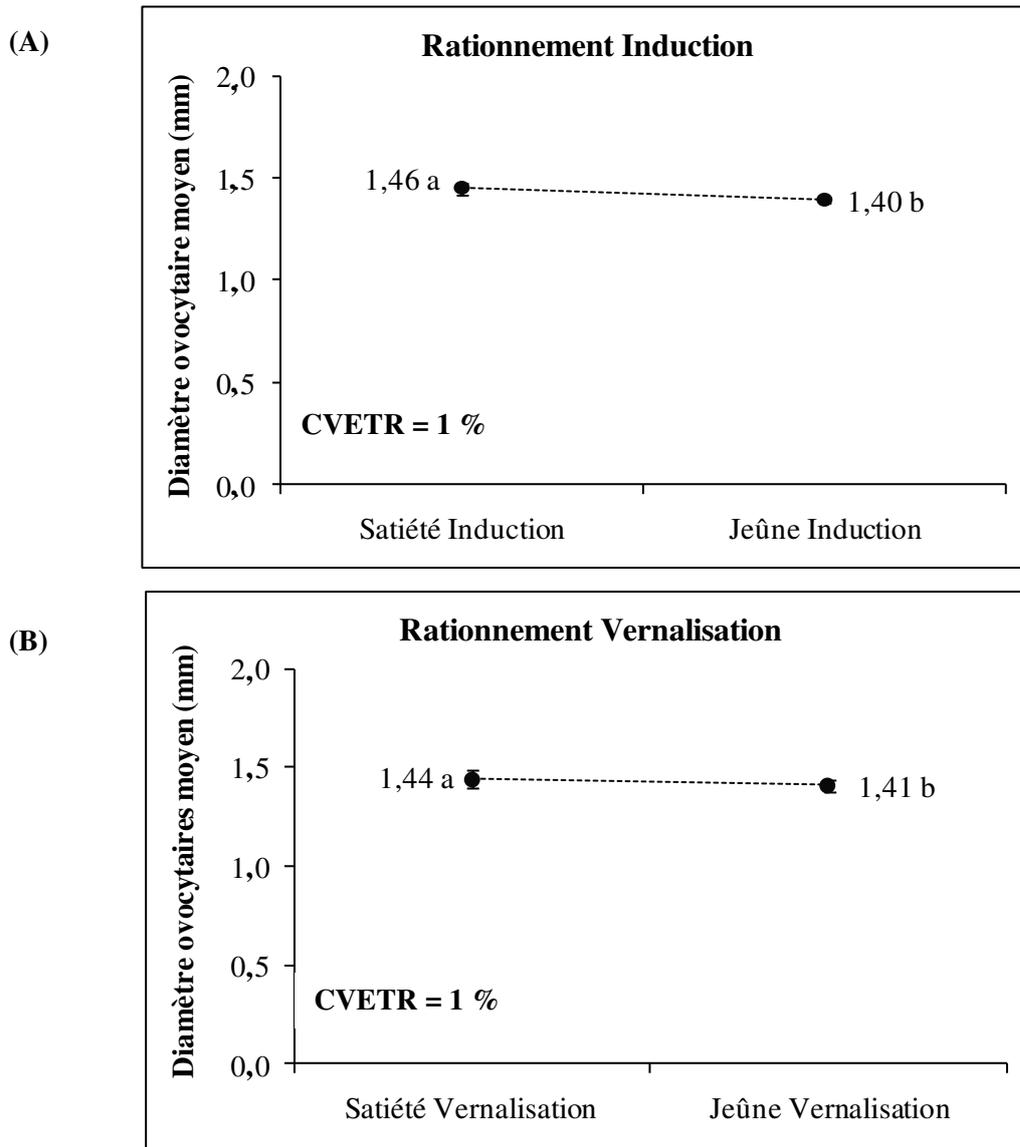
**Figure 50 :** Influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation et la quantité d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur le rapport Poids de la ponte / Poids de la femelle. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 89 \%$ .

**TxF :** Le taux de fragmentation est élevé et très variable entre les bassins (de 27 à 73% pour les combinaisons 5 et 7 respectivement), mais ces différences ne sont expliquées par aucun des facteurs ou interactions testés ( $P_{max} > 99$ ).

**Po, To :** Si les variations de poids des œufs entre les combinaisons (de 3,8 à 4,7 mg respectivement pour les combinaisons 2 et 1) ne sont pas expliquées par les facteurs étudiés ( $P_{max} > 99$  et  $= 99$  respectivement), la taille des œufs est en revanche influencée par l'effet de la quantité d'aliment distribué pendant les phases d'induction et de vernalisation (Figure 51). Les poissons ayant subi des périodes de jeûne ont pondu des œufs plus petits.

**Fec :** Les taux de fécondation sont faibles, de 0 % en combinaison 1 à 10 % en combinaison 4. Aucun facteur ni interaction n'explique les différences observées ( $P_{max} > 99$ ).

Les taux d'éclosion étant tous nuls, aucun suivi larvaire n'a été réalisé.



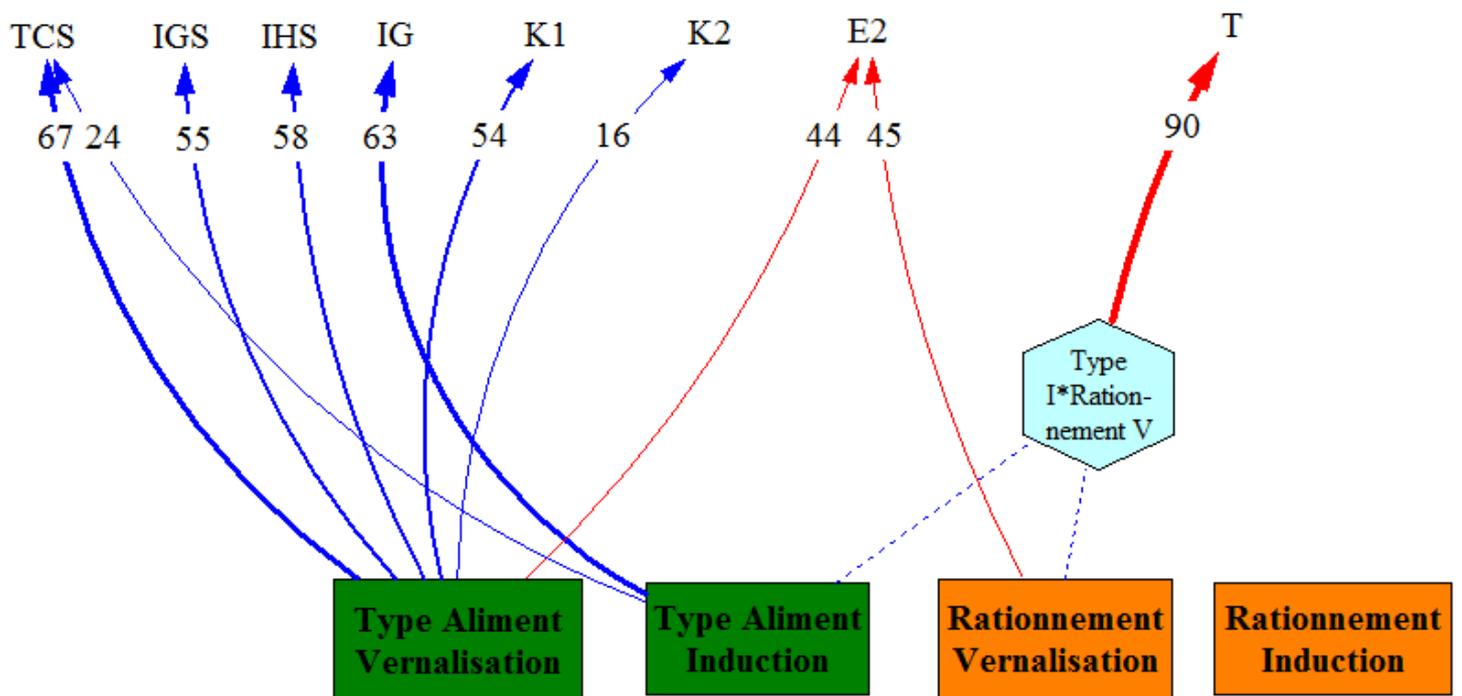
**Figure 51 :** (A) Influence de la quantité d'aliment distribué pendant la phase d'induction sur la taille des ovocytes obtenus pendant la saison de pontes. (B) Influence de la quantité d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur la taille des ovocytes obtenus pendant la saison de pontes. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 85 \%$ .

**Conclusions :** Le type d'aliment utilisé pendant la phase de vernalisation a influencé les performances de reproduction via l'interaction avec le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction (taux de ponte) et le rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation (Pponte/Pfemelle). Ce dernier facteur a influencé la taille moyenne des ovocytes tout comme le rationnement utilisé pendant la phase d'induction.

## II.6. MODELISATION DES EFFETS OBSERVES SUR L'ETAT DES GENITEURS ET LES PERFORMANCES DE REPRODUCTION

### II.6.1. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des femelles

L'ensemble des effets simples et des interactions influant sur les paramètres morpho-anatomiques et reproducteurs des femelles de perche lors de la phase de vernalisation sont présentés sur la Figure 52. L'importance relative des effets sur les variables est donnée par le pourcentage de la variance du modèle.

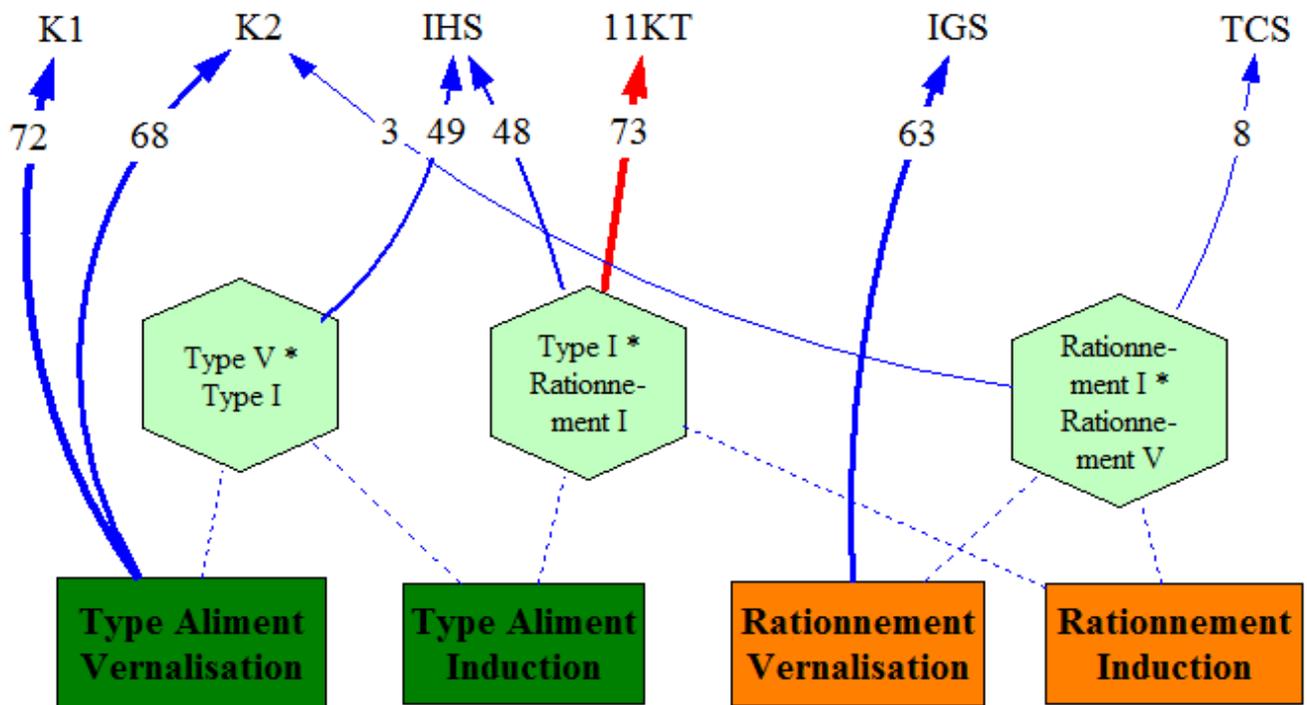


**Figure 52 :** Effets simples et interactions influant sur les paramètres morpho-anatomiques (en bleu) et physiologiques (en rouge) des femelles de perche relevés à la fin de la phase de vernalisation. IGS : Indice gonado-somatique ; IHS : Indice hépatosomatique ; IG : Indice de gras ; K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2 ; T : concentration plasmatique de testostérone. Les carrés représentent les 4 effets simples ; les hexagones représentent les interactions. Les flèches indiquent l'effet du facteur simple ou de l'interaction, et les chiffres associés correspondent au pourcentage de la variance de l'effet expliquant les variations du paramètre étudié ; l'épaisseur des flèches est fonction du pourcentage de la variance. Les traits en pointillés indiquent les facteurs entrant en interaction.

L'importance du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation sur les caractéristiques morpho-anatomiques des géniteurs (IHS, K1 et K2) ressort de cette analyse. Ce facteur apparaît avoir joué un rôle très important sur la croissance gonadique (67% de la variance) ; il a modulé dans une moindre mesure la teneur plasmatique en œstradiol. L'effet sur l'IGS est également important. Le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction a fortement affecté le niveau des tissus adipeux et bien plus faiblement la croissance des poissons. Si le rationnement utilisé pendant la phase d'induction n'a eu aucune influence sur les paramètres morpho-anatomiques et hormonaux des géniteurs, le rationnement appliqué pendant la vernalisation a directement influencé les concentrations d'œstradiol et a interagi avec le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction pour moduler de manière importante les taux plasmatiques de testostérone.

#### ***II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des mâles***

L'ensemble des effets simples et des interactions influant sur les caractéristiques morpho-anatomiques et physiologiques des mâles sont présentés sur la Figure 53. Les facteurs testés ont affecté les géniteurs mâles différemment par rapport à ce qui a été observé chez les femelles. Le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation a influencé la condition des géniteurs (K1 et K2) de manière plus forte que ce qui est observé pour les femelles. Les autres effets observés sont ceux d'interactions. Le rationnement des géniteurs pendant la phase de vernalisation a joué un rôle important sur la croissance des gonades ; c'est le seul effet observé pour ce facteur. Le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction en interaction avec le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation a modulé modérément l'IHS, tout comme l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase d'induction et le rationnement utilisé pendant la phase d'induction, qui a eu en revanche un fort effet sur les concentrations plasmatiques de 11 kéto-testostérone. Le rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation est entré en interaction avec le rationnement utilisé pendant la phase d'induction et a eu un effet très faible sur le taux de croissance spécifique des mâles et leur IHS.

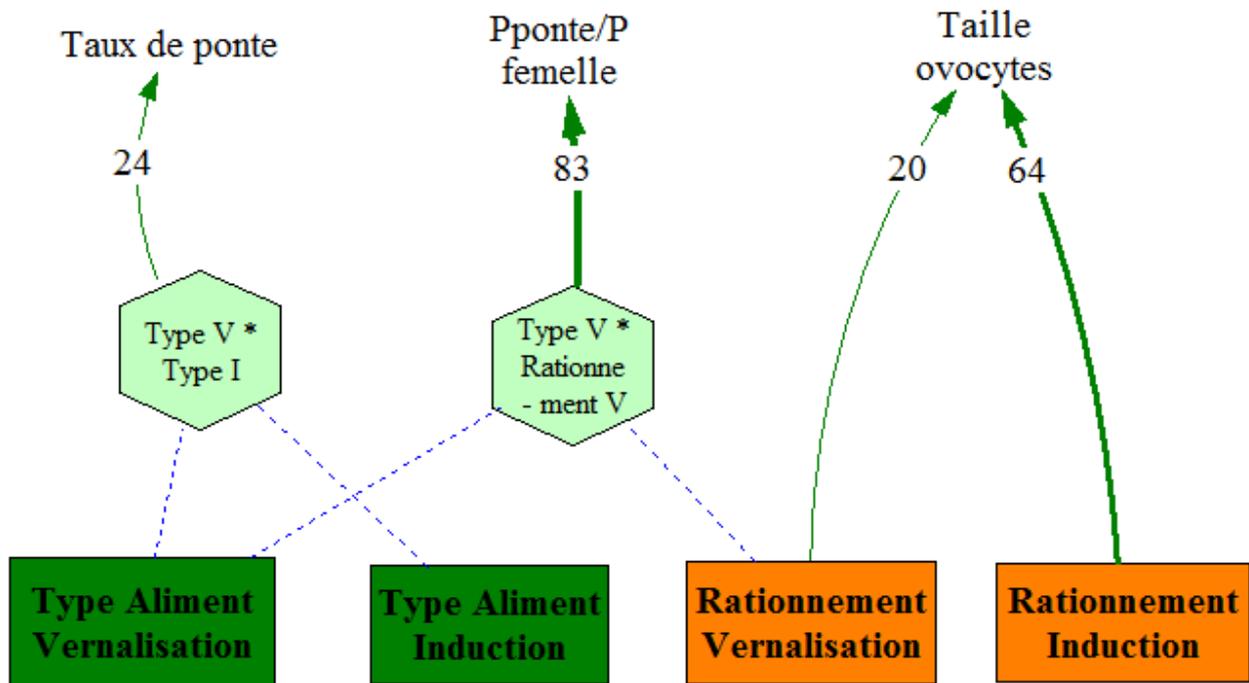


**Figure 53 :** Effets simples et interactions influant sur les morpho-anatomiques (en bleu) et physiologiques (en rouge) des mâles lors de la phase de vernalisation. IGS : Indice Gonado-Somatique ; IHS : Indice Hépat Somatique ; K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2 ; 11kT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone. TCS : taux de croissance spécifique. Les carrés représentent les 4 effets simples ; les hexagones représentent les interactions. Les flèches indiquent l'effet du facteur simple ou de l'interaction, et les chiffres associés correspondent au pourcentage de la variance de l'effet expliquant les variations du paramètre étudié ; l'épaisseur des flèches est fonction du pourcentage de la variance. Les traits en pointillés indiquent les facteurs entrant en interaction.

### *II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les performances finales de reproduction*

La Figure 54 résume l'ensemble des effets simples et des interactions observés sur les paramètres de la reproduction. Seuls trois paramètres sur les 9 mesurés ont été influencés par les facteurs testés (Taux de ponte, Poids de la ponte / Poids de la femelles et Taille des ovocytes). L'effet le plus fort concerne l'interaction entre le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation et le rationnement utilisé pendant cette période qui a fortement influencé le rapport Poids de la ponte / Poids de la femelle. L'interaction entre les types d'aliment distribué pendant les phases de vernalisation et d'induction a faiblement influencé

le taux de ponte. Le rationnement utilisé pendant la phase d'induction a influencé la taille des ovocytes tout comme le rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation, mais dans une moindre mesure.



**Figure 53 :** Effets simples et interactions influant sur les performances de reproduction de la perche. Les carrés représentent les 4 effets simples ; les hexagones représentent les interactions. Les flèches indiquent l'effet du facteur simple ou de l'interaction, et les chiffres associés correspondent au pourcentage de la variance de l'effet expliquant les variations du paramètre étudié ; l'épaisseur des flèches est fonction du pourcentage de la variance. Les traits en pointillés indiquent les facteurs entrant en interaction.

## **EXPERIMENTATION 2 : « POPULATION »**

### **INFLUENCE DE FACTEURS POPULATIONNELS SUR LES PERFORMANCES DE REPRODUCTION DE LA PERCHE COMMUNE**

#### **I. MATERIEL ET METHODES**

##### **I.1. FACTEURS POTENTIELLEMENT INFLUENTS**

La synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence plusieurs facteurs populationnels potentiellement intéressants : effet parental tel que le rang de ponte, l'âge, la taille des géniteurs, le niveau de domestication, l'origine géographique ou la densité. Parmi l'ensemble de ces facteurs, trois nous sont apparus particulièrement pertinents.

- **Origine géographique des géniteurs** : Lors de la comparaison des performances de reproduction de différentes populations, des différences ont été mises en évidence chez différentes espèces de poisson, dont la perche commune (Heibo *et al.*, 2005). Les effets de ce facteur « origine » sur la reproduction ont été cependant assez peu étudiés ; pourtant ce facteur est d'un grand intérêt dans le choix d'une population fondatrice pour la domestication d'une nouvelle espèce. De plus, si les performances de reproduction varient selon l'origine géographique des géniteurs dans un environnement identique, ceci suggérerait une héritabilité de certains caractères concernant les performances de reproduction.

Nous avons ainsi choisi d'étudier ce facteur selon deux modalités :

- Poissons d'origine Meuse, soit des poissons provenant d'un fleuve en zone de plaine (latitude 50°37'N) ;
- Poissons d'origine Léman, soit des poissons d'un lac de montagne (latitude 46°22'N).

Ces poissons sont représentatifs de deux milieux de vie différents, que cela soit au travers de leur habitat (différences de turbidité de l'eau, de vitesse des courants, de substrat..., Mairesse 2005) ou des caractéristiques photo-thermiques (réchauffement précoce d'un fleuve de plaine par rapport à un lac de montagne, différence de latitude).

- **Niveau de domestication** : La domestication est connue pour exercer une forte pression de sélection sur les poissons d'élevage, ce qui entraîne de nombreux changements

physiologiques et comportementaux (Vandeputte et Prunet, 2002). Il est globalement observé une diminution des performances de reproduction des poissons d'élevage par rapport aux poissons sauvages (Policar *et al.*, 2010). La qualité intrinsèque des géniteurs, qui peut être altérée par la sélection liée à l'élevage, peut expliquer des performances réduites (Kjørsvik, 1994 ; Policar *et al.*, 2010). Ce facteur étant peu étudié dans la littérature, cette étude permettra de mettre en évidence d'éventuels effets.

Le niveau de domestication a été étudié comme suit, selon deux modalités :

- Poissons d'origine sauvage, provenant de géniteurs vivant dans le milieu naturel ;
- Poissons domestiqués, dont les parents ont été produits en élevage depuis plusieurs générations.

Nous avons ainsi utilisé, pour chaque origine, une population de poissons d'élevage, ayant subi une sélection par l'homme depuis plusieurs générations (5 pour les poissons de la Meuse et 11 pour ceux du Léman), et des poissons d'origine sauvage produits à partir de pontes provenant du milieu naturel. Afin d'éviter une influence du vécu (sauvage ou en captivité) des poissons sur leur performances de reproduction, les poissons ont été élevés en conditions similaires au laboratoire depuis le stade le plus précoce possible.

- **Poids initial des géniteurs** : Le poids des géniteurs a souvent été étudié dans la littérature. Il est, chez beaucoup d'espèces, positivement corrélé avec la taille ovocytaire (Kamler, 2005). Cependant, ce paramètre n'est pas le garant de la qualité future des larves. De plus, d'autres paramètres, tel que le moment de ponte chez la perche (Gillet *et al.*, 1995), peuvent être liés à ce facteur. Des comportements spécifiques sont souvent liés au poids des poissons dans le milieu naturel, comme cela a été observé chez la perche (habitat plus profond occupé par les grosses perches dominant les petites), ce qui entraîne des différences de vécu, et pourrait expliquer des variations de performances (Gillet *et al.*, 1995). Il serait donc intéressant de déterminer en conditions de vie identique si la taille des poissons influe sur la reproduction.

Nous avons ainsi sélectionné des poissons en fonction de leur taille, selon les deux modalités suivantes :

- Poissons de poids plus faible compris entre 51 et 100 g à l'empoissonnement,
- Poissons de poids plus grand compris entre 101 et 200 g à l'empoissonnement.

Les poissons de chaque modalité sont issus période de reproduction, et ont donc le même âge. Leur vécu est identique.

L'âge et le rang de ponte n'ont pas été étudiés pour la raison suivante. Nous avons produit les géniteurs dans notre laboratoire afin permettre un vécu similaire et maîtrisé des poissons. Il nous a été impossible de produire plusieurs lots de géniteurs d'âge différent faute de structures et de temps ; un premier cycle de reproduction permettant d'obtenir des géniteurs de rang de ponte 2 était donc impossible. De plus, nos bassins expérimentaux ont reçu le maximum d'individus possibles permettant de préserver une qualité d'eau correcte. Une densité en poissons plus élevée n'était pas possible sans risquer une dégradation de l'eau et des conditions de vie ; une densité plus faible ne permettait pas de réaliser des prélèvements réguliers pour le suivi des géniteurs. La densité n'a donc également pu être étudiée.

L'objectif de cette étude est donc de tester les trois facteurs populationnels sélectionnés et d'en hiérarchiser les effets et leurs éventuelles interactions sur les caractéristiques des géniteurs au cours du cycle de reproduction, ainsi que sur les performances de reproduction lors de la saison de ponte.

## **I.2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL**

Après la production des larves au laboratoire, la production de juvéniles en bassins extérieurs (GAEC piscicole du Saulnois) et le grossissement des juvéniles au laboratoire pendant une année, les géniteurs ont été maintenus en bassins expérimentaux de 500 L pendant 10 mois, de juin 2009 à mai 2010 (50 poissons par bassin).

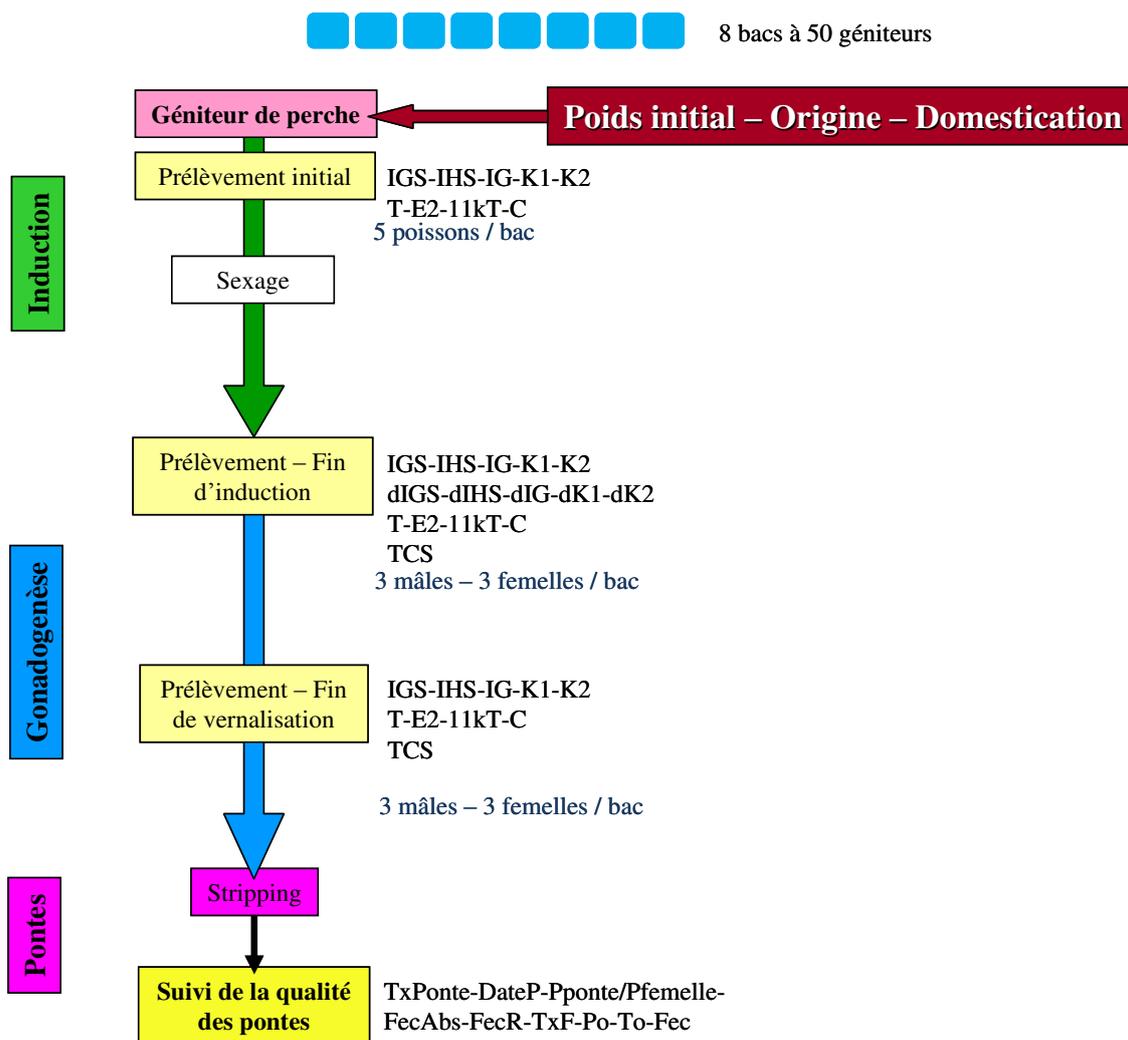
Les quatre lots de perches utilisés pour cette expérimentation sont les suivants :

- Perches d'origine Meuse, sauvages ;
- Perche d'origine Meuse, domestiquées depuis 5 générations, produites par le CEFRA (Université de Liège, Belgique).
- Perches d'origine lac Léman, sauvages, fournies par l'INRA de Thonon les Bains;
- Perches d'origine lac Léman, domestiquées depuis 11 générations (données du pisciculteur) par la société Percitech, Chavornay, Suisse, via la société Lucas Perches.

Pour chaque lot de perches, les poissons les plus gros (>101 g) ont été séparés des petits (51 à 100 g) au moment de l'empeisonnement des bassins. Ainsi, les géniteurs ont été répartis dans les bassins selon le plan factoriel complet ( $2^3$ ) (Tableau 15).

Combinaison	N° du bac	Origine géographique	Niveau de domestication	Poids initial
1	6	Meuse	Sauvages	Petits
2	7	Léman	Sauvages	Petits
3	2	Meuse	Domestiqués	Petits
4	1	Léman	Domestiqués	Petits
5	4	Meuse	Sauvages	Gros
6	8	Léman	Sauvages	Gros
7	5	Meuse	Domestiqués	Gros
8	3	Léman	Domestiqués	Gros

**Tableau 15** : Matrice expérimentale utilisée pour l'expérience 3 « Population ».



**Figure 54** : Schéma expérimental de l'expérience « Population ». IGS : Indice gonado-somatique ; IHS : Indice hépato-somatique ; IG : Indice de gras ; K1, K2 : Facteurs de condition 1 et 2 ; dIGS : variation de l'IGS pour la période étudiée ; dIHS : Variation de l'IHS pour la période étudiée ; dIG : variation d'IG pour la période étudiée ; dK1 et dK2 : variation de K1 et de K2 pour la période étudiée ; T : concentration plasmatique en testostérone ; E2 : concentration plasmatique en œstradiol ; 11kT : concentration plasmatique en 11 kéto-testostérone ; TCS : Taux de croissance spécifique moyen ; TxPonte : taux de ponte ; DateP : Date de ponte ; Pponte/Pfemelle : Poids de la ponte / Poids de la femelle ; FecAbs : Fécondité absolue ; FecR : Fécondité relative ; TxF : Taux de fragmentation ; Po : Poids ovocytaire moyen ; To : Taille ovocytaire moyenne ; Fec : Taux de fécondation.

Le schéma expérimental, établi selon le même déroulement que pour l'expérimentation précédente est présenté par la Figure 54. Durant toute l'expérimentation, un suivi des géniteurs est réalisé. Celui-ci correspond à 3 prélèvements : prélèvement initial, prélèvement en fin de phase d'induction et prélèvement en fin de phase de vernalisation, avant le début de la période de ponte.

<b>Prélèvement initial</b>		
IGS	Indice gonado-somatique	%
IHS	Indice hépato-somatique	%
IG	Indice de gras	%
K1	Facteur de condition K1	-
K2	Facteur de condition K2	-
T	Concentration en testostérone plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
E	Concentration en œstradiol plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
11kT	Concentration en 11 kéto-testostérone plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
C	Concentration en cortisol plasmatique	ng.mL <sup>-1</sup>
<b>Prélèvement en fin de phase d'induction</b>		
<b>En plus des variables précédentes:</b>		
dIGS I	variation d'IGS pendant la phase d'induction	%
dIHS I	variation d'IHS pendant la phase d'induction	%
dIG I	variation d'IG pendant la phase d'induction	%
dK1 I	variation de K1 pendant la phase d'induction	-
dK2 I	variation de K2 pendant la phase d'induction	-
TCS I	Taux de croissance spécifique moyen durant l'induction	%.j <sup>-1</sup>
<b>Prélèvement en fin de phase de vernalisation</b>		
<b>En plus des variables initiales:</b>		
dIGS V	variation d'IGS pendant la phase d'induction	%
dIHS V	variation d'IHS pendant la phase d'induction	%
dIG V	variation d'IG pendant la phase d'induction	%
dK1 V	variation de K1 pendant la phase d'induction	-
dK2 V	variation de K2 pendant la phase d'induction	-
TCS V	Taux de croissance spécifique moyen durant la phase de vernalisation	%.j <sup>-1</sup>
<b>Suivi de la qualité des pontes</b>		
TxPonte	Taux de ponte moyen par bassin	%
DateP	Date de la ponte	jours
Pponte/Pfemelle	Poids de la ponte / poids de la femelle	-
FecAbs	Fécondité absolue moyenne par bassin	Nombre d'ovocytes par femelle
FecR	Fécondité relative moyenne par bassin	Nombre d'ovocyte par g de femelle
TxF	Taux de fragmentation moyen par bassin	%
Po	Poids moyen des ovocytes par bassin	g
To	Taille moyenne des ovocytes par bassin	mm
Fec	Taux de fécondation	%

**Tableau 18 :** Paramètres étudiés lors du suivi des performances de reproduction de l'expérimentation « Population ».

Un suivi morpho-anatomique et hormonal est réalisé, et les paramètres mesurés sont les mêmes que ceux utilisés pour l'expérimentation « Alimentation » (Tableau 16). Un suivi de la qualité des pontes est réalisé par la suite. Les pontes sont obtenues artificiellement et

suivies au laboratoire. La mortalité des géniteurs est relevée tout au long du cycle. Le cycle de reproduction a été piloté par le programme photo-thermique mis au point par Abdulfatah (2010) (Figure 4).

### **I.3. STRUCTURES EXPERIMENTALES ET SUIVI DE LA QUALITE DE L'EAU**

L'expérience se déroule en conditions photo-thermiques contrôlée, dans les bassins de la salle 2 décrite dans le premier chapitre (paragraphe **I.3.**). Le même suivi de qualité de l'eau est réalisé tout au long de la phase de production des géniteurs et tout au long de l'expérimentation.

### **I.4. PRODUCTION DES GENITEURS DE PERCHE**

#### ***I.4.1. Origines des géniteurs***

Les géniteurs utilisés pour cette expérimentation ont été en partie produits au sein de notre laboratoire directement à partir de pontes de perche ; le lot 4 a été produit par la société Percitech jusqu'au stade juvénile avant d'être transféré au sein du laboratoire (Tableau 17).

N° de lot	Origine
Lot 1	Meuse Sauvages
Lot 2	Meuse Domestiqués ( <i>lot utilisé également pour l'expérimentation « Alimentation »</i> )
Lot 3	Léman Sauvages
Lot 4	Léman Domestiqués

**Tableau 17** : Lots de perche utilisés pour l'expérimentation « Population »

Les pontes à l'origine des lots 1 et 2 ont été fournies par le CEFRA. Les pontes naturelles (5 pontes) provenant de géniteurs sauvages pêchés dans la Meuse et maintenus en bassins d'élevage lors de la saison de ponte, ainsi que les pontes de géniteurs domestiqués (génération 4) (4 pontes) d'origine Meuse élevés en conditions photo-thermiques naturelles ont été transférées dans l'écloserie du laboratoire (voir **I.5.2.** de l'expérience « Alimentation ») en avril 2008. Les pontes à l'origine du lot 3 (5 pontes) proviennent du lac Léman. Des pontes naturelles de perches sauvages ont été collectées dans le lac par l'INRA de Thonon-les-Bains (France), à une profondeur de 8 à 13 m et ont également été transférées dans l'écloserie du laboratoire fin mai 2008. L'incubation des œufs et l'élevage larvaire de ces 3 lots a été réalisé au laboratoire.

Les poissons du lot 4 ont été fournis par la société « Lucas Perches », alors que les juvéniles mesuraient 1,74 cm en moyenne. L'élevage larvaire a été réalisé par la société Percitech. Les caractéristiques d'élevage de ces 4 lots sont présentées Tableau 18.

	<b>Lot 1</b>	<b>Lot 2</b>	<b>Lot 3</b>	<b>Lot 4</b>
Souche	Meuse Sauvages	Meuse Domestiqués	Léman Sauvages	Léman Domestiqués
Date de ponte	18-19-20- 21/04/2008	08-09- 10/04/2008	26-28/05/2008	Inconnue
Température de ponte	15°C	15°C	9°C	Inconnue
Température d'incubation	15°C	13°C	10.5°C à 19°C (en 5 jours)	Inconnue
Nombre de pontes	4	5	5	Inconnu
Date de début d'éclosion	26-04-08	16-04-08	06-06-08	Inconnue
Date de transfert en bassin d'élevage larvaire	30/04/2008	18/04/2008	13/06/2008	Inconnue
Température en bassin d'élevage larvaire	17°C	12°C	20°C	Inconnue
Date du transfert des larves au laboratoire	19-06-08	16-06-08	23-07-08	24-06-08

**Tableau 18 :** Récapitulatif des conditions d'obtention des géniteurs utilisés pour l'expérimentation « Population ».

#### ***1.4.2. Incubation des pontes***

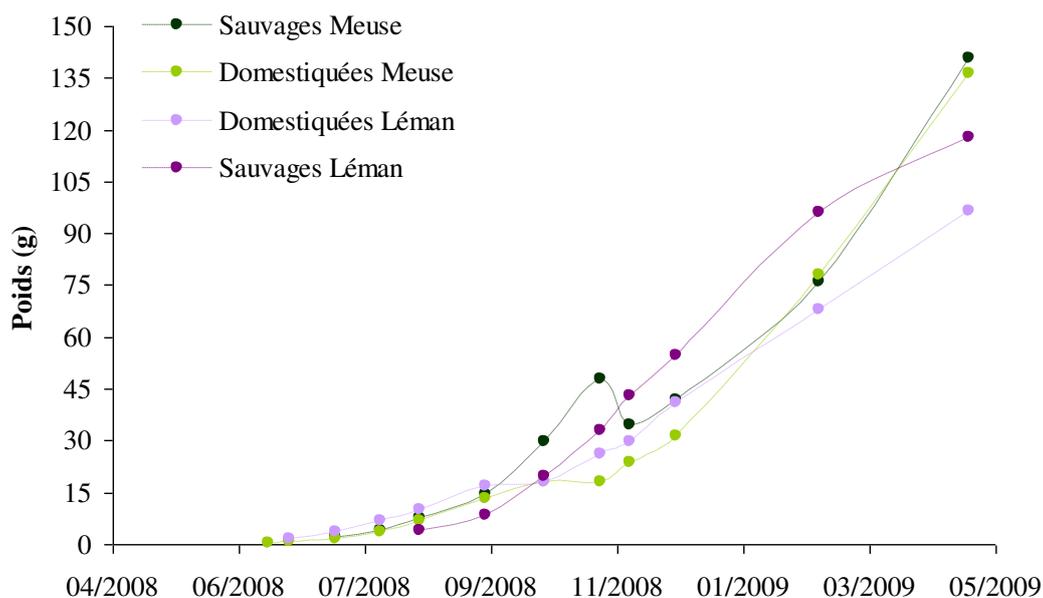
Chaque lot de pontes a été transféré au laboratoire dans des sacs en plastique sous oxygène pur et maintenu à une température constante (température de ponte, cf. Tableau 18) pendant tout le trajet. Après acclimatation, les rubans d'œufs sont étendus sur les clayettes de l'écloserie. La température est maintenue constante (Tableau 18) tout au long de l'incubation. La photopériode est de 16L:8O (100 à 200 lux). L'éclosion des œufs débute entre 6 et 10 jours après la ponte.

#### ***1.4.3. Elevage larvaire et grossissement***

L'élevage larvaire s'est effectué exactement dans les mêmes conditions que pour l'expérimentation "Alimentation". A la fin de la phase d'élevage larvaire, chaque lot de juvéniles a été transféré dans un bassin de 6000L au laboratoire (température 25°C, photopériode continue de 16L:8O), afin d'effectuer un sevrage aux granulés (Ecolife 60, 0.5mm) ; soit mi juin pour les poissons d'origine Meuse, et fin juillet pour les poissons d'origine Léman. Le 4<sup>ième</sup> lot, élevé par la société Percitech, a été transféré au sein du

laboratoire fin juin, maintenu dans des conditions similaires aux 3 autres lots et nourri de la même façon.

Les quatre lots de poissons ont ainsi été maintenus dans des conditions similaires, depuis leur sevrage en juin-juillet 2008 jusqu'au début de l'expérimentation en mai 2009. Un contrôle de croissance mensuel a été réalisé pendant toute la période de croissance tel qu'expliqué dans le premier chapitre (Figure 55).



**Figure 55** : Suivi de la croissance des 4 lots de perche depuis l'arrivée des juvéniles au sein du laboratoire. Les contrôles de croissance sont réalisés sur une cinquantaine d'individus pêchés aléatoirement dans le bassin et pesés individuellement

#### *1.4.4. Expérimentation : phase d'acclimatation*

Le 28 mai 2009, les poissons ont été transférés dans les 8 bacs expérimentaux de 500L, situés au sein du laboratoire dans la salle climatisée 2. Les poids moyens par lot de poissons sont présentés dans le Tableau 19.

	Poids moyen (g)
Meuse Sauvages	138 ± 89
Meuse Domestiquées	124 ± 81
Léman Sauvages	116 ± 45
Léman Domestiquées	93 ± 41

**Tableau 19**: Poids moyen des poissons à la fin de la phase de grossissement (mai 2009).

Après un tri en fonction de leur poids individuel, 50 poissons sont introduits dans chaque bac de 500L, soit 400 poissons au total, selon la matrice expérimentale présentée sur le tableau 15.

### I.5. CONTROLE PHOTO-THERMIQUE DU CYCLE DE REPRODUCTION

Le programme photo-thermique utilisé est celui présenté dans le paragraphe I.6. de l'expérience « Alimentation » (Figure 27).

### I.6. ALIMENTATION DES POISSONS

Les larves, puis les juvéniles, sont nourris comme présenté dans le paragraphe I.7. de l'expérience. « Alimentation ». Les géniteurs sont nourris quotidiennement à satiété à l'aide de granulés « **Ecolife 62 6,5 – BioMar** » pendant toute l'expérimentation.

### I.7. MARQUAGE ET SEXAGE DES GENITEURS DANS LES BASSINS EXPERIMENTAUX

La pratique est identique à celle de l'expérimentation « Alimentation ». Le ré-allotement n'a pas été possible dans cette expérimentation, chaque unité expérimentale étant unique de par les facteurs testés, bien que les bassins aient été déséquilibrés en sex-ratio (Tableau 20).

Bac	Lot	Mâles	Femelles	Bac	Lot	Mâles	Femelles
1	Léman Domestiqués Petits	24	12	5	Meuse Domestiqués Gros	15	30
2	Meuse Domestiqués Petits	19	24	6	Meuse Sauvage Petits	23	23
3	Léman Domestiqués Gros	10	34	7	Léman Sauvage Petits	31	11
4	Meuse Sauvage Gros	18	24	8	Léman Sauvage Gros	9	33

**Tableau 20** : Sex-ratio dans les bassins de l'expérience « Population » lors du sexage (15 semaines d'expérimentation).

## I.8. SUIVI DU CYCLE DE REPRODUCTION

### I.8.1. Suivi des géniteurs

Un suivi morpho-anatomique et physiologique des géniteurs est réalisé lors du cycle de reproduction tel que réalisé pour l'expérimentation « Alimentation » (paragraphe I.9.). Les dates des prélèvements sont présentées dans le Tableau 21.

		« Population »
Prélèvement 1 (Initial)	Date	22/07/2009
	Nombre de poissons	5 poissons
Prélèvement 2 (Fin d'induction)	Date	10/12/2009
	Nombre de poissons	3 mâles - 3 femelles
Prélèvement 3 (Fin de vernalisation)	Date	19/04/2009
	Nombre de poissons	3 mâles - 3 femelles

**Tableau 21** : Dates et prélèvements réalisés lors de l'expérimentation « Population ».

Les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques étudiés sont identiques à ceux étudiés dans l'expérimentation « Alimentation ». Cependant, pour les points de prélèvement 2 (fin de phase d'induction) et 3 (fin de vernalisation), les variations d'indice gonado-somatique, hépato-somatique, de gras, et les facteurs de condition ont également été analysées, du fait de différences observées au prélèvement initial.

- Variation d'indice gonado-somatique durant la phase d'induction (%) :  
**dIGS I** = IGS moyen en fin de phase d'induction – IGS initial moyen
- Variation d'indice hépato-somatique durant la phase d'induction (%) :  
**dIHS I** = IHS moyen en fin de phase d'induction – IHS moyen initial
- Variation d'indice de gras durant la phase d'induction (%) :  
**dIG I** = IG moyen en fin de phase d'induction – IG moyen initial
- Variation de facteur de condition 1 durant la phase d'induction :  
**dK1 I** = K1 moyen en fin de phase d'induction – K1 moyen initial
- Variation de facteur de condition 2 durant la phase d'induction :  
**dK2 I** = K2 moyen en fin de phase d'induction – K2 moyen initial

- Variation d'indice gonado-somatique durant la phase de vernalisation (%) :  

$$\mathbf{dIGS\ V} = \text{IGS moyen en fin de phase de vernalisation} - \text{IGS moyen en fin de phase d'induction}$$
- Variation d'indice hépato-somatique durant la phase de vernalisation (%) :  

$$\mathbf{dIHS\ V} = \text{IHS moyen en fin de phase de vernalisation} - \text{IHS moyen en fin de phase d'induction}$$
- Variation d'indice de gras durant la phase de vernalisation (%) :  

$$\mathbf{dIG\ V} = \text{IG moyen en fin de phase de vernalisation} - \text{IG moyen en fin de phase d'induction}$$
- Variation de facteur de condition 1 durant la phase de vernalisation :  

$$\mathbf{dK1\ V} = \text{K1 moyen en fin de phase de vernalisation} - \text{K1 moyen en fin de phase d'induction}$$
- Variation de facteur de condition 2 durant la phase de vernalisation :  

$$\mathbf{dK2\ V} = \text{K2 moyen en fin de phase de vernalisation} - \text{K2 moyen en fin de phase d'induction}$$

### ***1.8.2. Suivi de la qualité des pontes***

Pour chaque expérimentation, les pontes ont été obtenues par fécondation artificielle. La qualité de chaque ponte a ensuite été estimée par un suivi au laboratoire, tel que décrit dans le paragraphe **I.9.2.** de l'expérience « Alimentation ».

## **I.9. ANALYSES STATISTIQUES**

Lors de cette expérimentation, un plan factoriel complet est utilisé. Il permet l'estimation individuelle de chaque effet principal et de chaque effet lié à une interaction de degré 2. Les interactions d'ordre supérieur ou égal à 3 sont négligées. Après l'étude des graphes de Daniels, une ANOVA est réalisée tel que décrit dans le paragraphe **I.10.2.** de l'expérience « Alimentation ».

## **II. RESULTATS**

### **II.1. ETAT PHYSIOLOGIQUE DES GENITEURS AU COURS DU CYCLE DE REPRODUCTION**

L'étude des effets simples et des interactions en situation initiale (prélèvement 1) montre des différences entre les bassins avant même le début de l'expérimentation. C'est pour cela que les évolutions des paramètres des femelles entre l'état initial et la fin de la phase d'induction (prélèvement 2) sont présentées (dIGS, dIHS, ...). Pour les mâles, l'analyse au prélèvement initial n'a pu être réalisée. En effet, lors de ce prélèvement, aucun mâle n'a été prélevé dans 2 bassins (combinaisons 3 et 5). L'étude de l'évolution des paramètres entre le premier et le deuxième point de prélèvement est donc impossible, puisque des valeurs initiales manquent. Le taux de croissance spécifique ne pourra également être étudié chez les mâles pour ce prélèvement.

Le dernier prélèvement de poissons (prélèvement 3) a lieu en fin de phase de vernalisation, juste avant la période de ponte, soit au bout de 38 semaines d'expérimentation. Les données brutes sont présentées dans les Annexes 7 A et 7 B pour le prélèvement 1, 8 A et B pour le prélèvement 2 et 9 A et B pour le prélèvement 3.

#### ***II.1.1. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonales des femelles***

Les effets des facteurs simples et des interactions sur les paramètres morpho-anatomiques et le taux plasmatique de cortisol des femelles sont présentés dans le Tableau 22. Ces paramètres ont été relativement peu modulés par les facteurs testés.

	Effets simples						Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Origine géographique		Niveau de domestication		Poids initial				
	Meuse	Léman	Sauvages	Domestiqués	Petits	Gros			
IHS 1	1,68 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a</sup>	<b>1,44<sup>a</sup></b>	<b>1,84<sup>b</sup></b>	-	14	>99
IHS 2	2,19 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	2,05 <sup>a</sup>	1,91 <sup>a</sup>	<b>1,50<sup>a</sup></b>	<b>2,37<sup>b</sup></b>	-	20	56
IHS 3	1,63 <sup>a</sup>	1,46 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,49 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	1,53 <sup>a</sup>	-	32	8
dIHS I	0,51 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,23 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	-	95	23
dIHS V	-0,56 <sup>a</sup>	-0,32 <sup>a</sup>	-0,46 <sup>a</sup>	-0,42 <sup>a</sup>	<b>-0,05<sup>a</sup></b>	<b>-0,84<sup>b</sup></b>	-	95	53
IG 1	3,21 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	3,87 <sup>a</sup>	2,75 <sup>a</sup>	2,56 <sup>a</sup>	4,06 <sup>a</sup>	-	30	37
IG 2	0,07 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	-	30	22
IG 3	0,40 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	<b>0,09<sup>a</sup></b>	<b>0,70<sup>b</sup></b>	-	61	76
dIG I	-3,13 <sup>a</sup>	-2,63 <sup>a</sup>	-3,11 <sup>a</sup>	-2,66 <sup>a</sup>	<b>-2,30<sup>a</sup></b>	<b>-3,46<sup>b</sup></b>	-	19	>99
dIG V	<b>0,32<sup>a</sup></b>	<b>-0,39<sup>b</sup></b>	-0,28 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	-0,17 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	-	0	62
K1 1	1,77 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	<b>1,66<sup>a</sup></b>	<b>1,84<sup>b</sup></b>	-	3	>99
K1 2	1,84 <sup>a</sup>	1,91 <sup>a</sup>	1,82 <sup>a</sup>	1,93 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	1,90 <sup>a</sup>	-	3	8
K1 3	1,98 <sup>a</sup>	1,89	1,88 <sup>a</sup>	1,98 <sup>a</sup>	<b>1,83<sup>a</sup></b>	<b>2,04<sup>b</sup></b>	-	5	26
dK1 I	0,08 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	-	114	66
dK1 V	0,14 <sup>a</sup>	-0,02 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	-0,02 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	-	185	37
K2 1	1,75 <sup>a</sup>	1,72 <sup>a</sup>	1,72 <sup>a</sup>	1,75 <sup>a</sup>	<b>1,65<sup>a</sup></b>	<b>1,82<sup>b</sup></b>	-	3	>99
K2 2	1,73 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	1,74 <sup>a</sup>	-	3	8
K2 3	<b>1,60<sup>a</sup></b>	<b>1,49<sup>b</sup></b>	<b>1,49<sup>a</sup></b>	<b>1,59<sup>b</sup></b>	<b>1,47<sup>a</sup></b>	<b>1,62<sup>b</sup></b>	-	28	77
dK2 I	-0,02 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	-0,02 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>	-0,08 <sup>a</sup>	Domestication* Poids initial	33	97
dK2 V	-0,13 <sup>a</sup>	-0,29 <sup>a</sup>	-0,21 <sup>a</sup>	-0,21 <sup>a</sup>	-0,30 <sup>a</sup>	-0,12 <sup>a</sup>	-	58	37
C 1	2,43 <sup>a</sup>	3,79 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>	4,51 <sup>a</sup>	2,44 <sup>a</sup>	3,78 <sup>a</sup>	-	37	21
C 2	102 <sup>a</sup>	190 <sup>a</sup>	188 <sup>a</sup>	104 <sup>a</sup>	109 <sup>a</sup>	183 <sup>a</sup>	-	71	14
C 3	10,6 <sup>a</sup>	9,0 <sup>a</sup>	11,7 <sup>a</sup>	7,9 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	9,1 <sup>a</sup>	-	49	12
TCS 2	0,17 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	<b>0,10<sup>a</sup></b>	<b>0,27<sup>b</sup></b>	Domestication* Poids initial	16	>99
TCS 3	0,09 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	<b>0,10<sup>a</sup></b>	<b>0,05<sup>b</sup></b>	-	18	94

**Tableau 22** : Effet des facteurs simples et des interactions sur les paramètres mesurés chez les femelles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement en fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement en fin de phase de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples ; IHS : Indice hépato-somatique (%) ; dIHS : variation de l'IHS sur la période étudiée (I : induction, V : vernalisation) (%) ; IG : Indice de gras (%) ; dIG : variation de l'IG sur la période étudiée (%) ; K1 et K2 : facteurs de condition ; dK1 et dK2 : variations des facteurs de condition K1 et K2 sur la période étudiée ; C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>) ; TCS : Taux de croissance spécifique moyen (%.j<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

**IHS, dIHS** : Lors du prélèvement initial, un effet du poids initial des géniteurs sur l'IHS est observé. En effet, les grosses femelles ont un IHS plus élevé que les petites (Figure 56). L'effet de ce facteur simple est également observé en fin de phase d'induction (Figure 57). L'IHS des femelles est compris entre 1,4 (combinaison 1) et 2,7 % (combinaison 5). Globalement, les génitrices ont une évolution positive des réserves hépatiques par rapport à la phase initiale, mais les variations observées entre les combinaisons ne sont expliquées par aucun facteur ni interaction étudié ( $P_{max} = 7$ ).

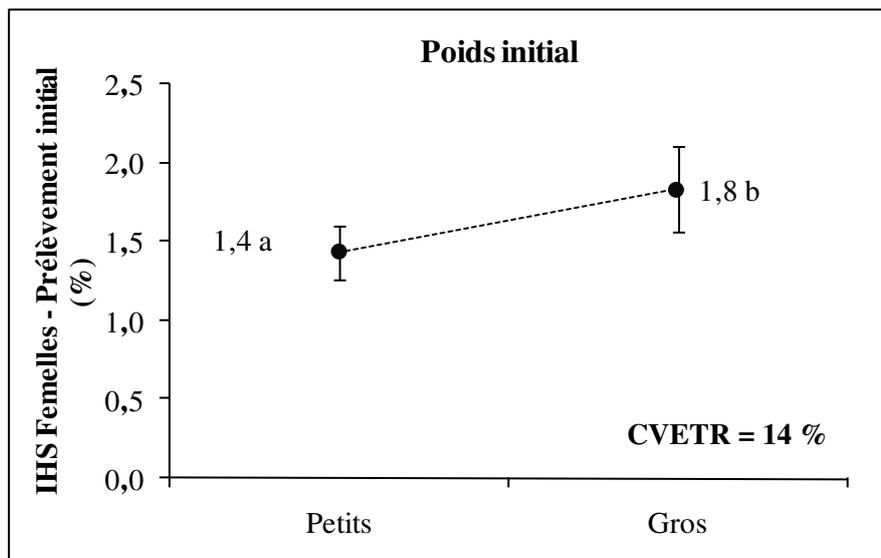


Figure 56 : Influence du poids initial des femelles sur leur indice hépatosomatique (IHS) initial. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 51$  %.

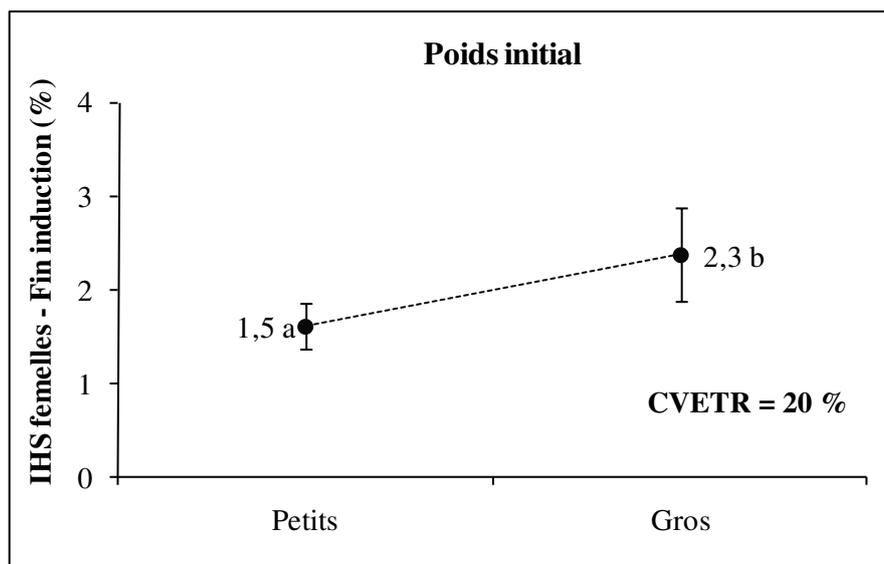
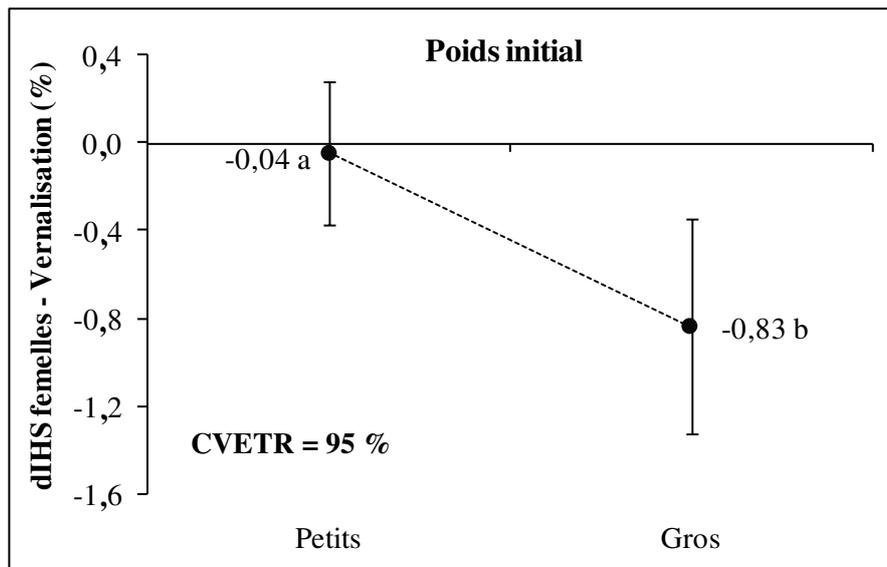


Figure 57 : Influence du poids initial des femelles sur leur indice hépatosomatique (IHS) à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 53$  %.

En fin de phase de vernalisation, des variations entre les valeurs d'IHS sont observées (de 1,48 % pour la combinaison 8 à 1,84 % pour la combinaison 1). L'effet poids initial n'est plus observé ; aucun autre facteur testé n'explique ces différences. En revanche, le poids initial des femelles explique les variations d'IHS entre la fin de la phase d'induction et la fin de la phase de vernalisation (Figure 58). Ainsi, les pertes hépatiques ont été très faibles pour les petits poissons par rapport aux grands.

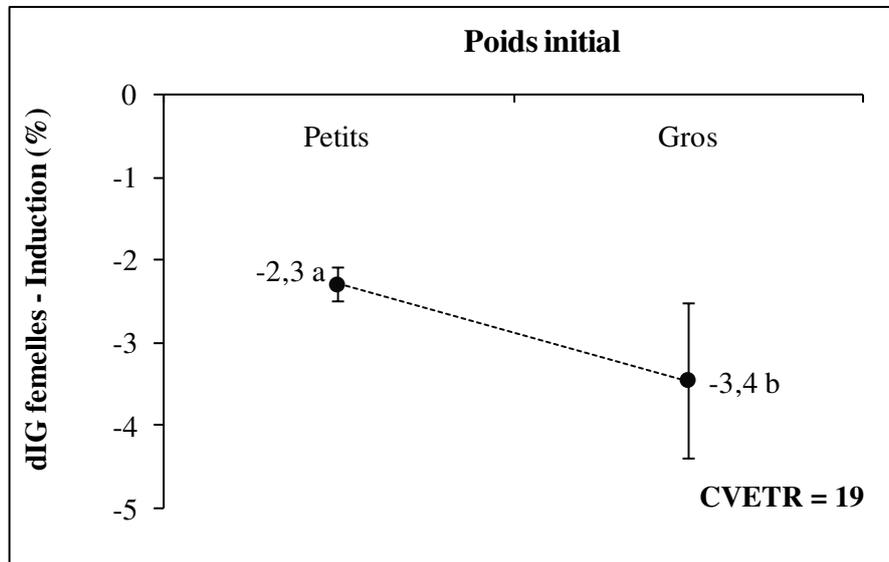


**Figure 58** : Influence du poids initial des femelles sur les variations de leur indice hépatosomatique (IHS) pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 55$  %.

**IG, dIG** : Aucun facteur étudié ne semble expliquer les variations d'indice de gras relevées lors des prélèvements 1 et 2. Cependant, il se pourrait que le poids initial ait un effet sur les réserves lipidiques des femelles à ces deux moments du cycle de reproduction. L'ANOVA montre une probabilité en limite de significativité (respectivement  $p = 0,052$  et  $p = 0,078$ ), les CVETR élevés (respectivement 20 et 30 %) et les faibles puissances du test (respectivement 43 et 70 %) permettent de formuler l'hypothèse d'un effet du poids initial sur l'IG ; ainsi, les grosses femelles auraient des réserves lipidiques supérieures aux petites femelles.

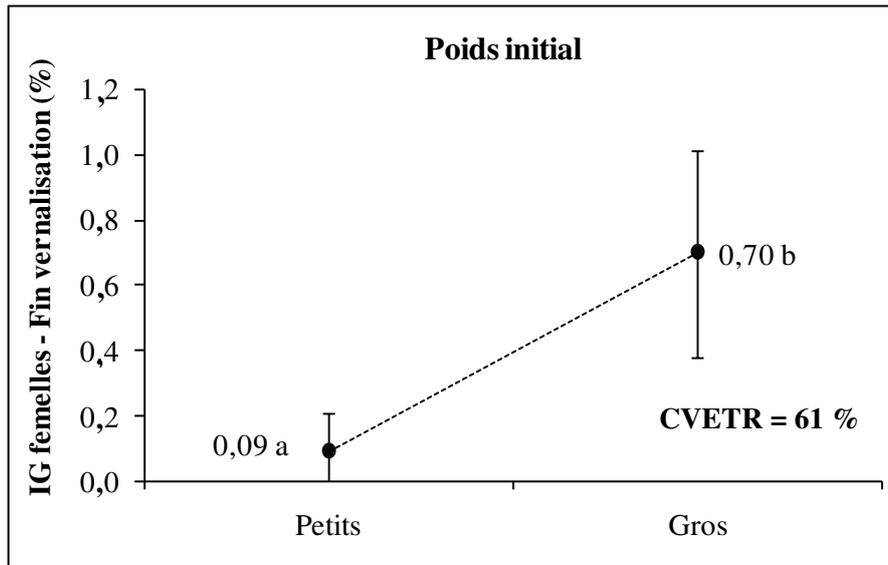
Les réserves de gras ont nettement diminué sur l'ensemble des bacs lors de la phase d'induction : pertes de 2,05 % (combinaison 2) à 4,08 % (combinaison 5) par rapport au prélèvement initial. Ces variations d'indice de gras (dIG) observées sont dépendantes

également de l'effet poids initial. En effet, les petites femelles ont proportionnellement dépensé moins de réserves adipeuses que les grosses femelles (Figure 59).

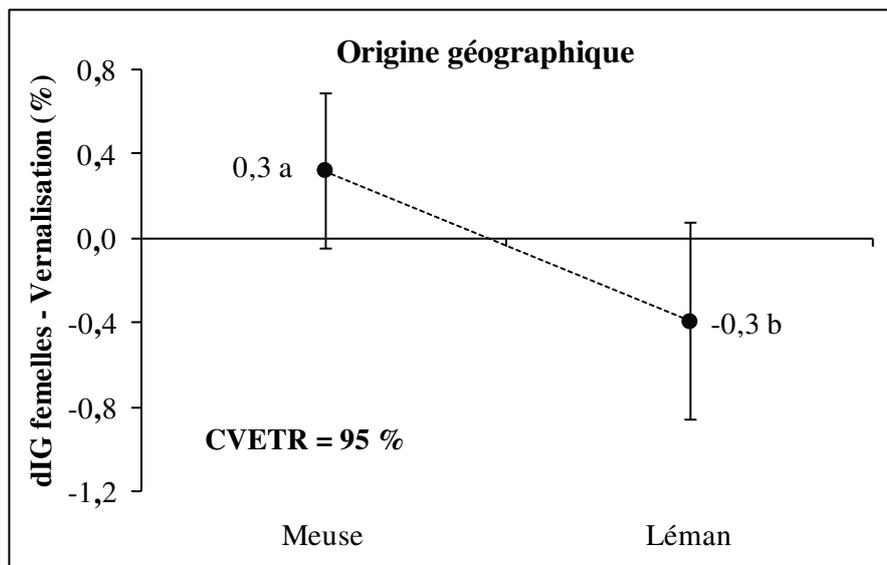


**Figure 59** : Influence du poids initial des femelles sur la variation de leur indice de gras (dIG) pendant la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 77\%$ .

En fin de phase de vernalisation, l'analyse statistique montre que le poids initial des géniteurs influence également l'indice de gras des géniteurs. Les réserves adipeuses alors très faibles (de 0% pour les combinaisons 3 et 4 à 0,85% pour la combinaison 7) sont plus importantes chez les plus grosses femelles (Figure 60). Cependant, les variations d'IG pendant la phase de vernalisation ont été modulées par le facteur origine géographique. En effet, Les poissons d'origine Meuse ont gagné en réserves adipeuses tandis que les poissons d'origine Léman ont eu tendance à en perdre (Figure 61).

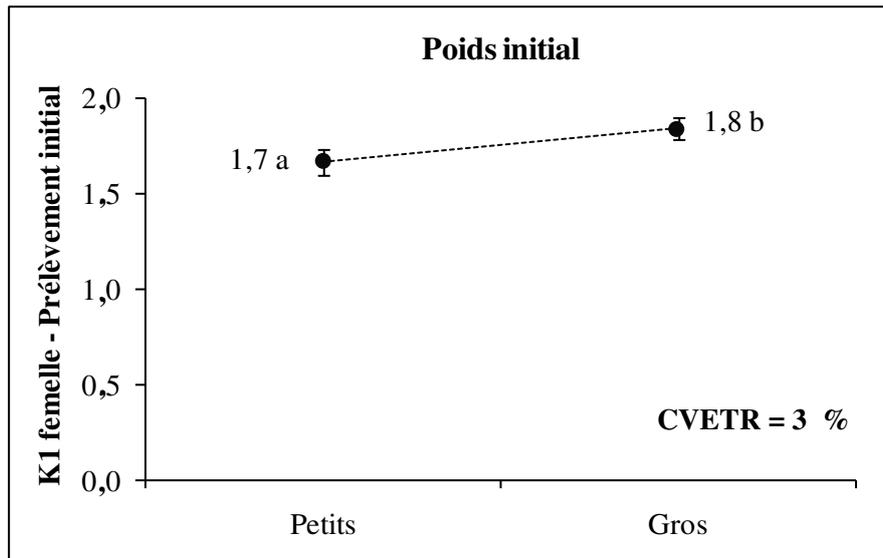


**Figure 60 :** Influence du poids initial des femelles sur leur indice de gras (IG) en fin de phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 68 \%$ .

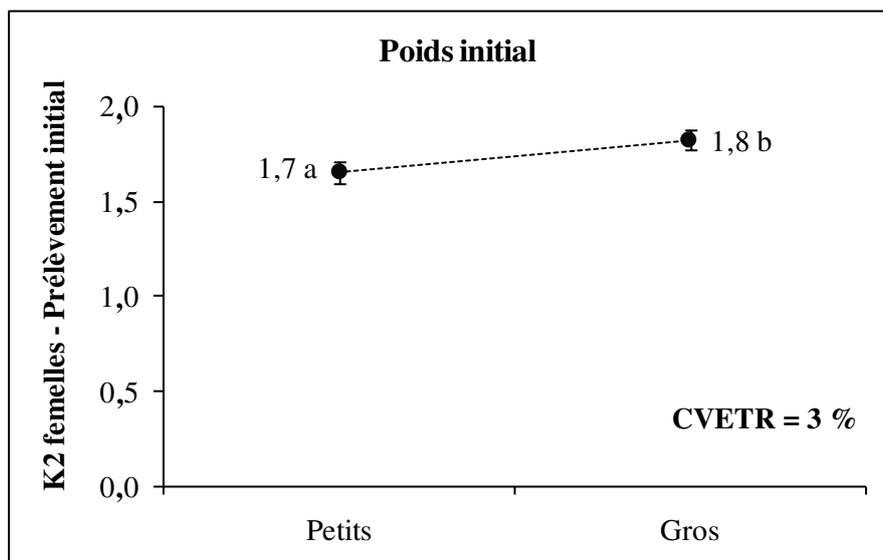


**Figure 61 :** Influence de l'origine géographique sur les variations d'indice de gras (dIG) des géniteurs femelles pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 73 \%$ .

**K1, K2, dK1, dK2 :** En situation initiale, les indices de condition K1 et K2 sont modulés par le facteur poids initial (Figure 62 et 63). En effet, les grosses femelles présentent un embonpoint plus important que les petites.

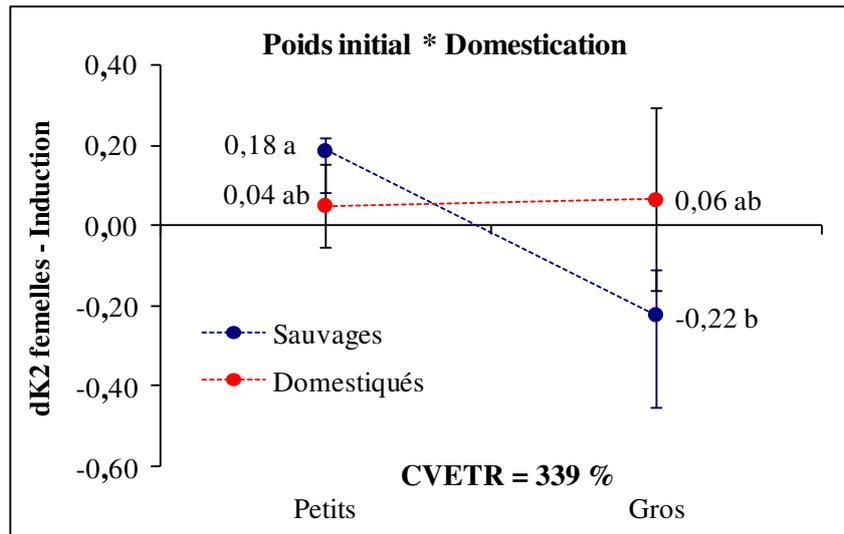


**Figure 62 :** Influence du poids initial des femelles sur leur facteur de condition K1 initial. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 74 \%$ .



**Figure 63 :** Influence du poids initial sur leur facteur de condition K2 initial. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 75 \%$ .

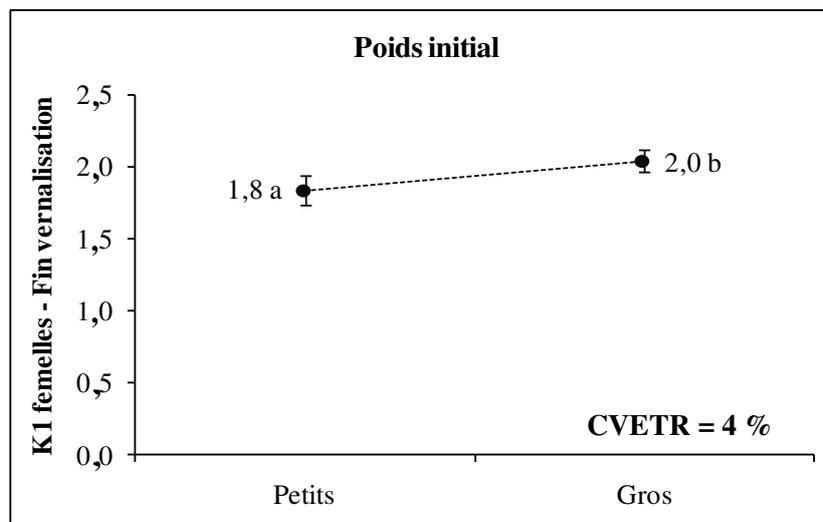
En fin de phase d'induction, cet effet n'est plus observé. Le facteur de condition K1 montre de faibles variations entre les combinaisons (de 1,71 pour la combinaison 4 à 1,89 pour la combinaison 7), à l'exception de la combinaison 8 pour lequel  $K1 = 2,18$  ; les variations de K1 (dK1) demeurent assez faibles. Aucun effet des facteurs ou interactions testés n'explique les différences observées pour K1 et dK1 ( $P_{max} = 96$  et  $5 \%$  respectivement). Il en est de même pour K2 ( $P_{max} = 96 \%$ ).



**Figure 64 :** Influence de l'interaction entre le niveau de domestication et le poids initial sur la variation d'indice de condition (dK2) des géniteurs femelles pendant la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 96 \%$ .

Cependant, l'interaction entre le niveau de domestication et le poids initial explique en partie les variations de dK2 observées (Figure 64). Ainsi, l'effet poids initial n'est pas significatif pour les poissons domestiqués alors que le dK2 diminue significativement entre les petits et les gros poissons sauvages.

En fin de vernalisation, les valeurs du facteur de condition K1 s'échelonnent de 1,75 (combinaison 2) à 2,12 (combinaison 7). Le poids initial des géniteurs explique les variations observées entre les bassins (Figure 65). Ainsi, K1 est significativement plus élevé chez les grosses femelles.

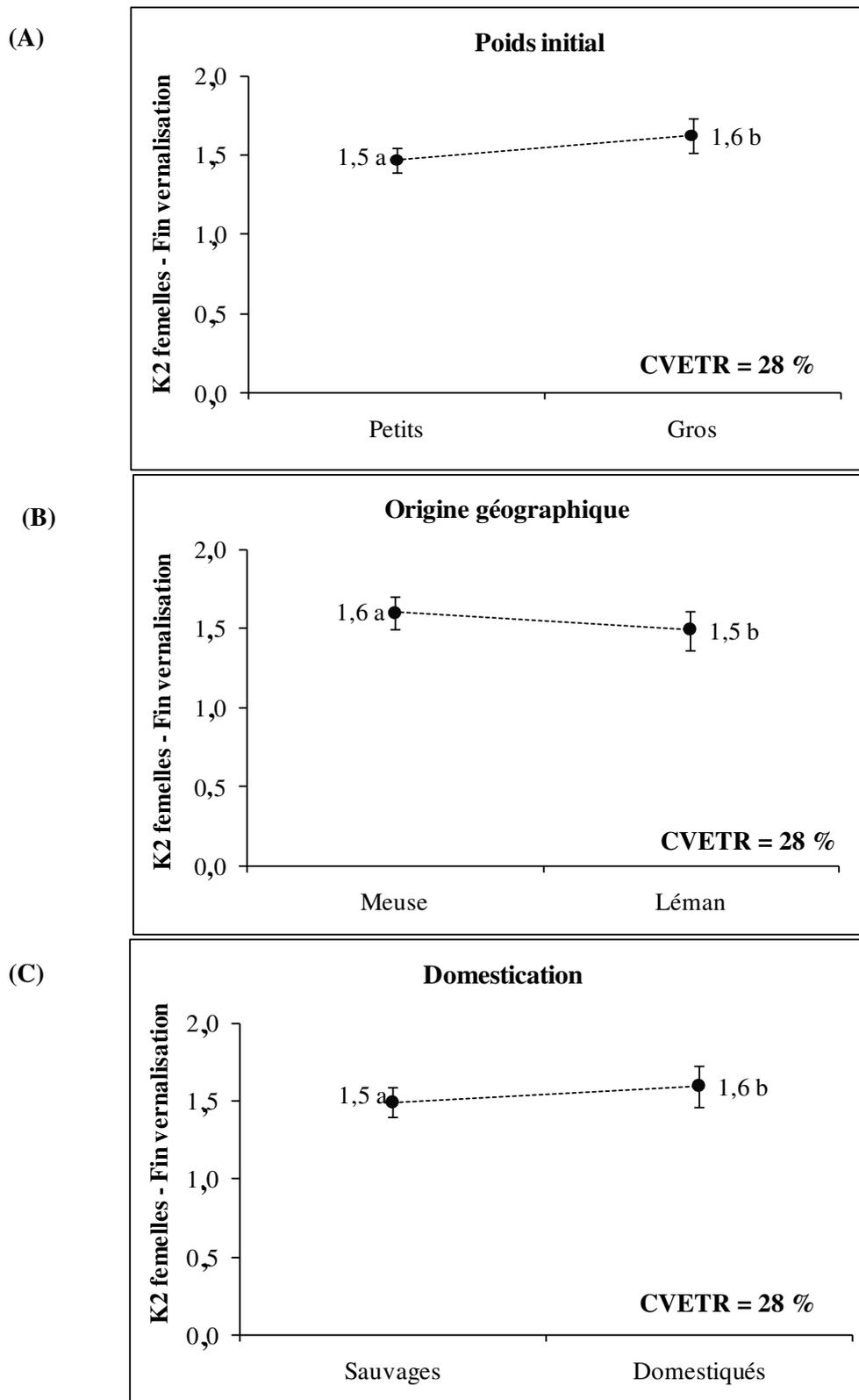


**Figure 65 :** Influence du poids initial sur l'indice de condition K1 des géniteurs femelles en fin de phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 62 \%$ .

Les différences entre les combinaisons observées pour le facteur de condition K2 sont expliquées par l'effet des 3 facteurs simples étudiés. Ainsi, les grosses femelles présentent un K2 plus élevé (Figure 66 A) par rapport aux petites ; les poissons d'origine Léman présentent un embonpoint plus faible (Figure 66 B) que ceux d'origine Meuse, et les poissons domestiqués ont un K2 plus élevé que les poissons sauvages (Figure 66 C).

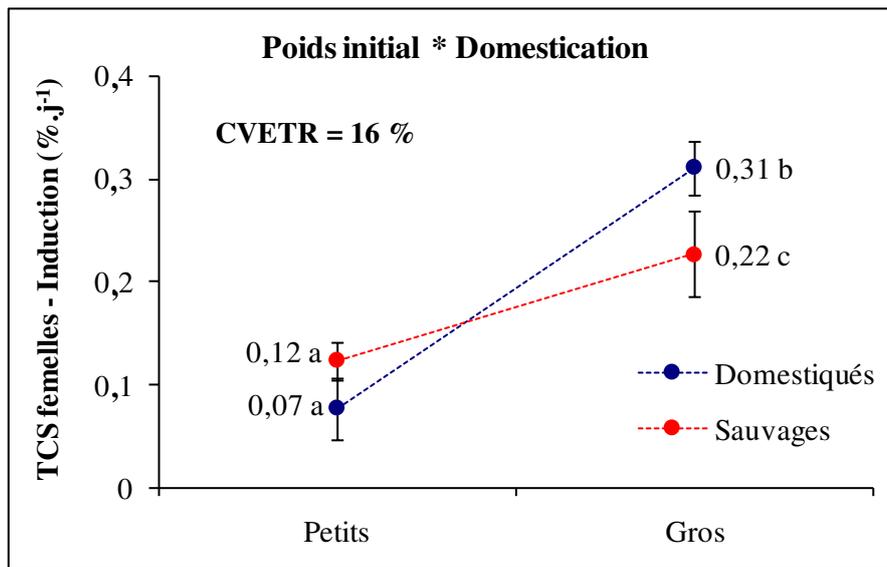
Les variations de K1 et K2 pendant la phase de vernalisation ne sont expliquées par aucun facteur ou interaction testé.

**C** : Les teneurs plasmatiques en cortisol varient fortement entre les points de prélèvement et entre les combinaisons. En situation initiale, les valeurs sont faibles et varient de 1,3 (combinaison 1) à 6,7 ng.mL<sup>-1</sup> (combinaison 8). Les teneurs atteignent 385 ng.mL<sup>-1</sup> (combinaison 6) en fin de phase d'induction. Enfin, ces valeurs diminuent pour atteindre 5,9 à 18,5 ng.mL<sup>-1</sup> en fin de phase de vernalisation. Au cours du cycle de reproduction, aucun facteur ni interaction n'explique les différences observées, toutefois les CVETR sont très élevés.



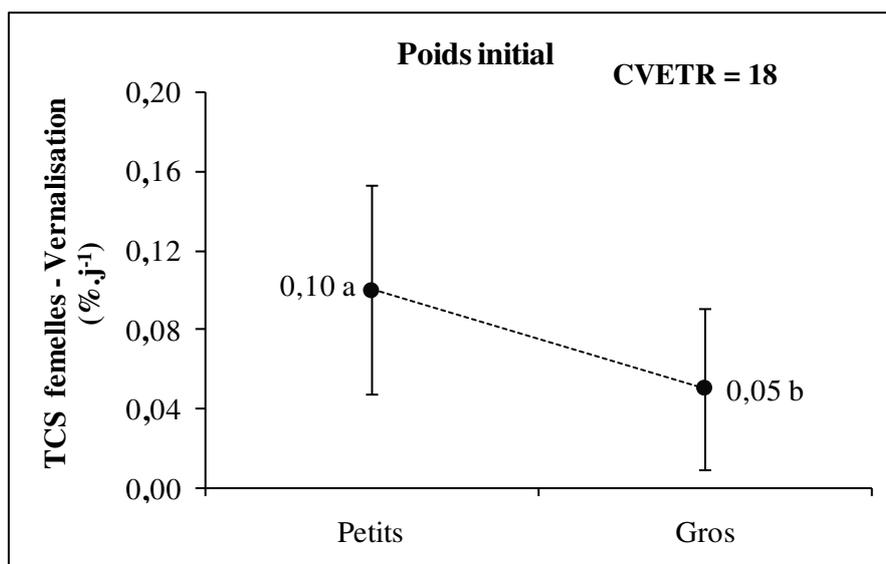
**Figure 66 :** (A) Influence du poids initial sur l'indice de condition K2 des géniteurs femelles en fin de vernalisation. (B) Influence de l'origine géographique sur l'indice de condition K2 des géniteurs femelles en fin de vernalisation. (C) Influence du niveau de domestication sur l'indice de condition K2 des géniteurs femelles en fin de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 62 \%$ .

**TCS :** Lors de la phase d'induction, le taux de croissance spécifique moyen est influencé par le poids initial, en interaction avec l'effet domestication (Figure 67). Les petits poissons présentent une croissance plus faible que les gros, et parmi les gros poissons, les domestiqués ont une meilleure croissance par rapport aux sauvages.



**Figure 67 :** Influence de l'interaction entre le poids initial et le niveau de domestication sur le taux de croissance spécifique (TCS) des géniteurs femelles pendant la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 96 \%$ .

L'effet poids initial a également agi durant la phase de vernalisation, cependant, aucune interaction n'est observée. Les valeurs varient de 0 (combinaison 7) à 0,15 (combinaison 3). Les petites femelles ont présenté un taux de croissance supérieur aux grosses femelles durant cette période (Figure 68).



**Figure 68** : Influence du poids initial sur le taux de croissance spécifique moyen (TCS) des géniteurs femelles pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 68\%$ .

***Conclusions :** L'effet poids initial apparait comme être le principal facteur modulateur des paramètres morpho-anatomiques des génitrices. Initialement, les gros géniteurs ont globalement plus de réserves et un plus fort embonpoint. Cet effet a tendance à persister lors du déroulement du cycle de reproduction, puisque la taille initiale influe encore sur certains paramètres en fin de phase de vernalisation (K2, IG, TCS). L'origine géographique modifie les paramètres des femelles uniquement pendant et en fin de vernalisation (dIG et K2). L'interaction entre le niveau domestication et le poids initial modifie également les caractéristiques des géniteurs femelles (TCS et dK2) durant la phase d'induction.*

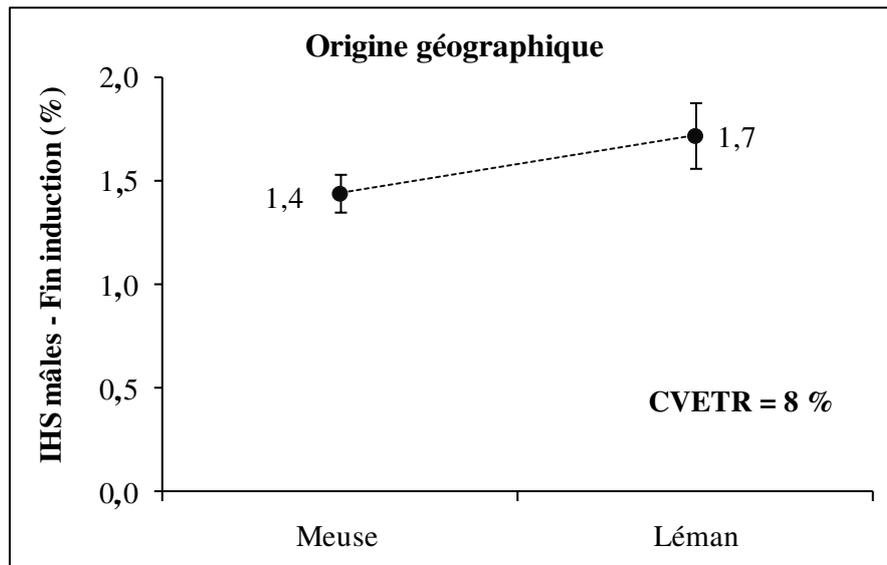
### **II.1.2. Caractéristiques morpho-anatomiques et hormonales des mâles**

Le Tableau 23 présente les effets des facteurs simples et des interactions sur les paramètres morpho-anatomiques et du taux plasmatique en cortisol des géniteurs. Les paramètres n'ont pu être analysés en situation initiale. Ne seront donc présentées que les données obtenues à la fin des phases d'induction et de vernalisation.

	Effets simples						Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Origine géographique		Niveau de domestication		Poids initial				
	Meuse	Léman	Sauvages	Domestiqués	Petits	Gros			
IHS 2	<b>1,44<sup>a</sup></b>	<b>1,72<sup>b</sup></b>	1,56 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	-	8	62
IHS 3	1,62 <sup>a</sup>	1,36 <sup>a</sup>	1,49 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>	Poids initial * Origine ; Domestication *	4	>99
dIHS V	0,18 <sup>a</sup>	-0,36 <sup>a</sup>	-0,07 <sup>a</sup>	-0,04 <sup>a</sup>	-0,15 <sup>a</sup>	-0,03 <sup>a</sup>	Poids initial*Origine	197	90
IG 2	<b>0<sup>a</sup></b>	<b>0,81<sup>b</sup></b>	0,66 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>	-	110	50
IG 3	0,30 <sup>a</sup>	0,94 <sup>a</sup>	0,86 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	Origine * Poids initial	25	>99
dIG V	0,30 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	-0,12 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>		114	81
K1 2	1,75 <sup>a</sup>	1,89 <sup>a</sup>	<b>1,68<sup>a</sup></b>	<b>1,96<sup>b</sup></b>	1,84 <sup>a</sup>	1,80 <sup>a</sup>	-	59	66
K1 3	1,74 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a</sup>	1,66 <sup>a</sup>	1,75 <sup>a</sup>	-	1	98
dK1 V	<b>-0,01<sup>a</sup></b>	<b>-0,21<sup>b</sup></b>	<b>0,02<sup>a</sup></b>	<b>-0,08<sup>b</sup></b>	-0,17 <sup>a</sup>	-0,05 <sup>a</sup>	-	76	89
K2 2	1,64 <sup>a</sup>	1,80 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>	Origine * Domestication	3	>99
K2 3	1,65 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	-	1	93
dK2 V	<b>0,00<sup>a</sup></b>	<b>-0,19<sup>b</sup></b>	<b>0,02<sup>a</sup></b>	<b>-0,07<sup>b</sup></b>	-0,14 <sup>a</sup>	-0,05 <sup>a</sup>	-	93	78
C 2	123 <sup>a</sup>	149 <sup>a</sup>	137 <sup>a</sup>	135 <sup>a</sup>	176 <sup>a</sup>	96 <sup>a</sup>	-	52	34
C 3	14,8 <sup>a</sup>	8,3 <sup>a</sup>	9,7 <sup>a</sup>	8,2 <sup>a</sup>	10,8 <sup>a</sup>	12,4 <sup>a</sup>	-	50	23
TCS V	0,02 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	-0,01 <sup>a</sup>	<b>-0,02<sup>a</sup></b>	<b>0,04<sup>b</sup></b>	-	18	>99

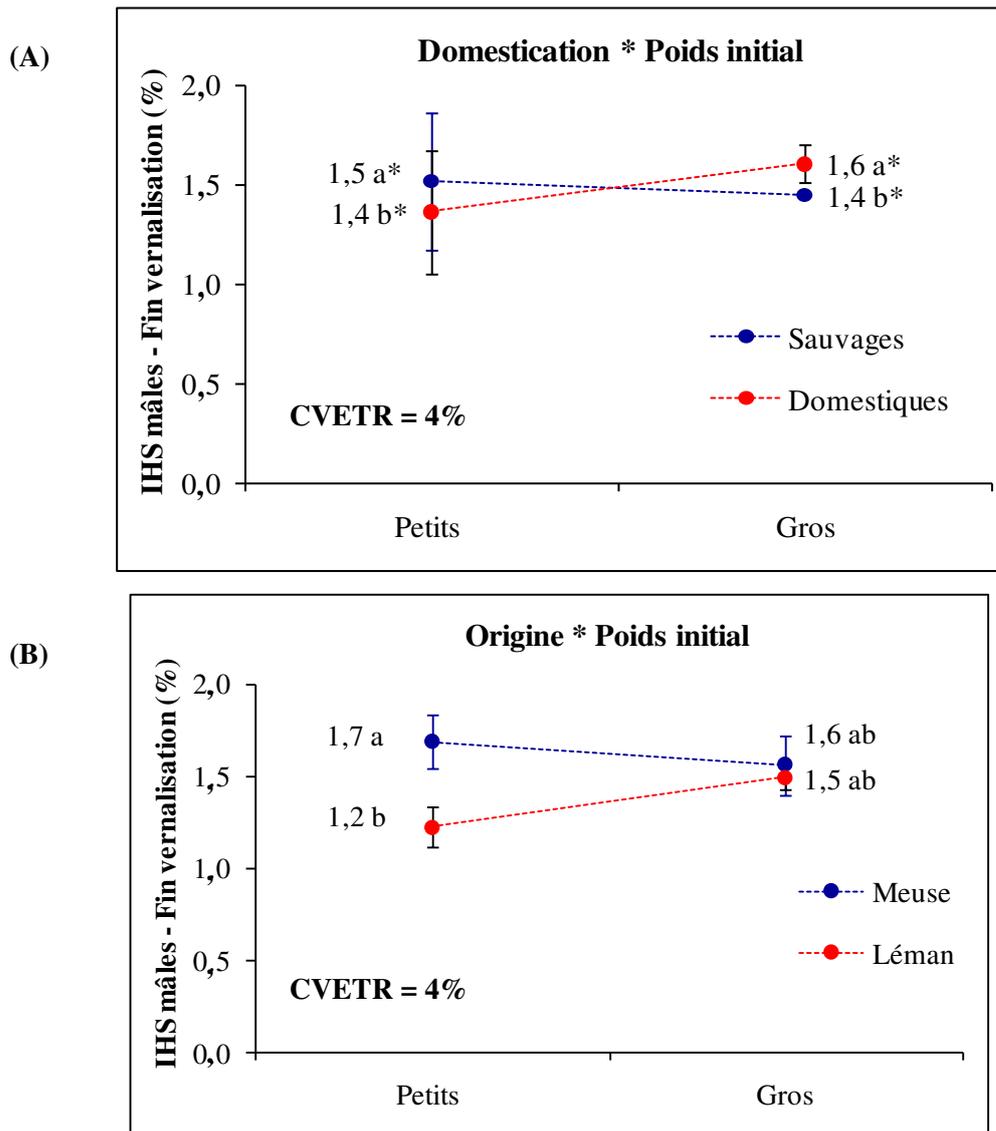
*Tableau 22* : Effet des facteurs simples et des interactions sur les paramètres mesurés chez les mâles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement de fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement de fin de phase de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples ; IHS : Indice hépatosomatique (%) ; dIHS : variation de l'IHS sur la période étudiée (I : induction, V : vernalisation) (%) ; IG : Indice de gras (%) ; dIG : variation de l'IG sur la période étudiée (%) ; K1 et K2 : facteurs de condition ; dK1 et dK2 : variations des facteurs de condition K1 et K2 sur la période étudiée ; C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>) ; TCS : Taux de croissance spécifique moyen (%.j<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

**IHS** : En fin de phase d'induction l'origine géographique des poissons agit sur l'IHS (Figure 69). En effet, les mâles d'origine Léman ont une masse hépatique plus importante que les poissons provenant de la Meuse.



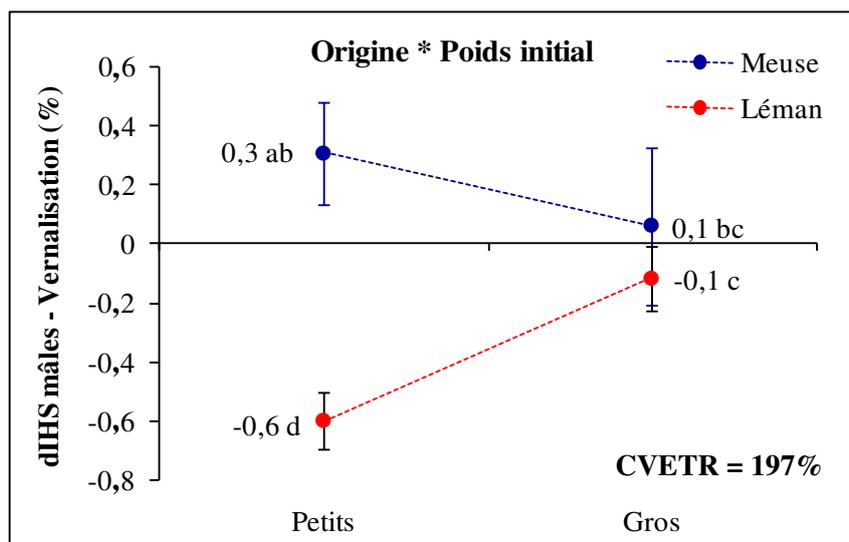
**Figure 69** : Influence de l'origine géographique sur l'indice hépatosomatique (IHS) des géniteurs mâles à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 60 \%$ .

En fin de phase de vernalisation, les différences d'IHS entre les bassins sont expliquées par 2 interactions : poids initial \* niveau de domestication (Figure 70 A) et poids initial \* origine géographique (Figure 70 B). Pour les poissons sauvages, l'IHS est plus élevé lorsque les mâles sont petits par rapport aux gros, alors que la tendance inverse est observée chez les poissons domestiqués. De plus, les petits poissons d'origine Meuse ont un IHS plus élevé que ceux d'origine Léman, tandis qu'aucune différence n'est observée pour les gros poissons.



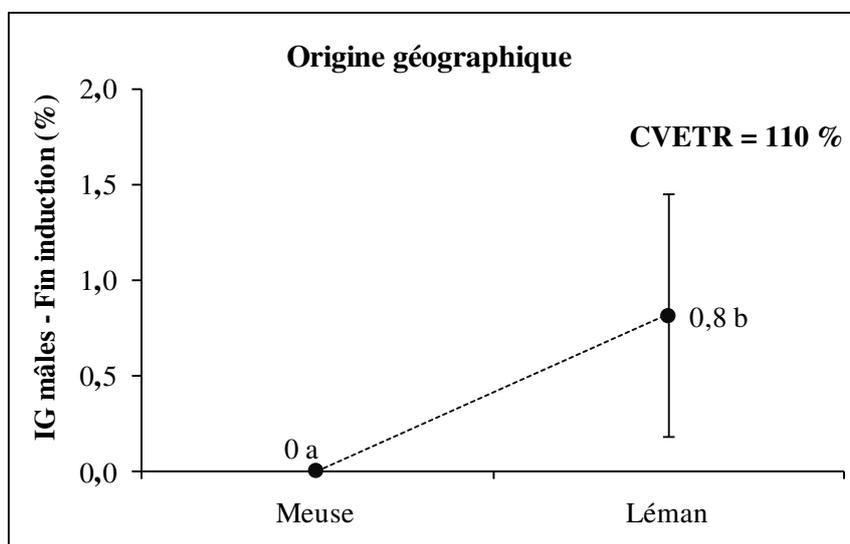
**Figure 70 :** (A) Influence de l'interaction domestication \* poids initial sur l'indice hépato-somatique (IHS) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. (B) Influence de l'interaction poids initial \* origine géographique sur l'indice hépato-somatique (IHS) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ). Les différentes lettres suivies d'un astérisque (\*) indiquent les différences potentiellement significatives test f :  $p < 0,05$  ; test t NS (puissance = 0,050).  $R^2 = 98\%$ .

L'interaction entre le poids initial et l'origine géographique des poissons influence également les variations d'IHS relevées pendant la phase de vernalisation. Si les variations d'IHS n'ont pas été différentes entre les petits et les gros géniteurs mâles d'origine Meuse, les petits mâles d'origine Léman présentent une réduction significativement plus importante de leur IHS par rapport aux gros poissons de même origine (Figure 71).



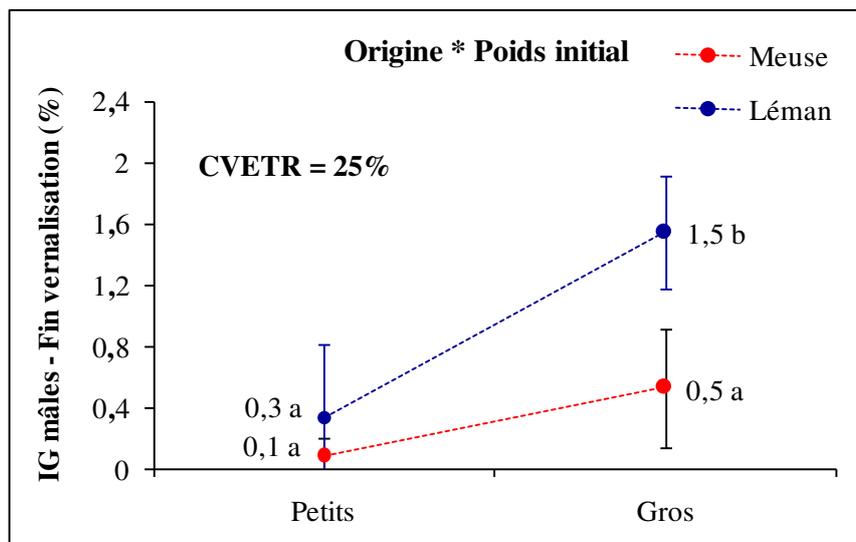
**Figure 71 :** Influence de l'interaction entre l'origine et le poids initial sur les variations d'indice hépato-somatique (dIHS) des géniteurs mâles pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 88 \%$ .

**IG :** L'indice de gras présente des valeurs faibles chez les mâles en fin de phase d'induction (de 0 % dans les combinaisons 1, 3, 4 et 5 à 1,3 % pour la combinaison 6). Les mâles d'origine Meuse n'ont alors plus de réserves adipeuses, contrairement aux poissons du Léman (Figure 72).



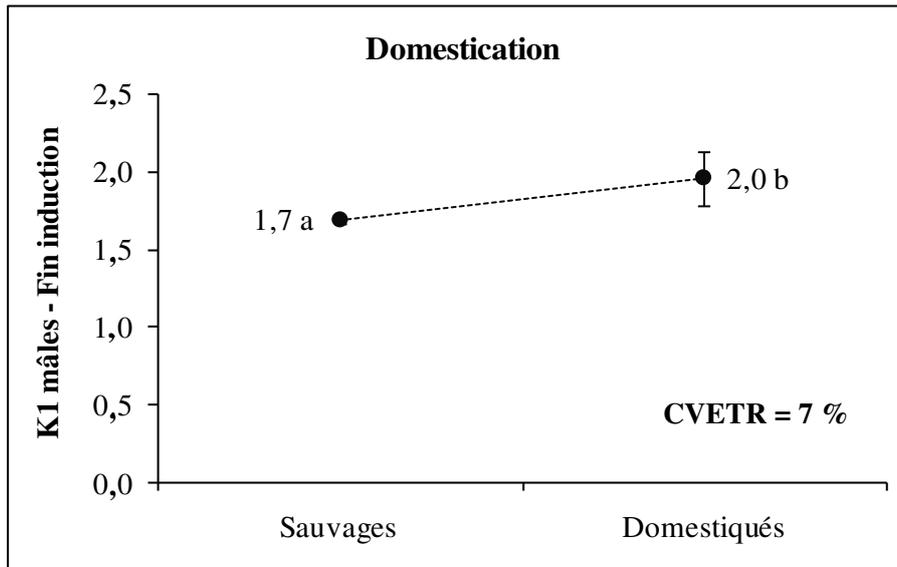
**Figure 72 :** Influence de l'origine géographique sur l'indice de gras (IG) des géniteurs mâles à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 52 \%$ .

Les valeurs d'IG s'échelonnent de 0 % (combinaisons 3 et 4) à 1,8 % (combinaison 6) en fin de phase de vernalisation. Ce paramètre est alors influencé par l'interaction entre le poids initial et l'origine géographique des géniteurs (Figure 73). Les poissons d'origine Meuse ne présentent pas de différence significative selon le poids initial, alors que les petits poissons d'origine Léman ont un indice de gras bien plus faible que les gros. Aucun facteur ni interaction testés n'explique les variations d'IG observées entre les bassins.

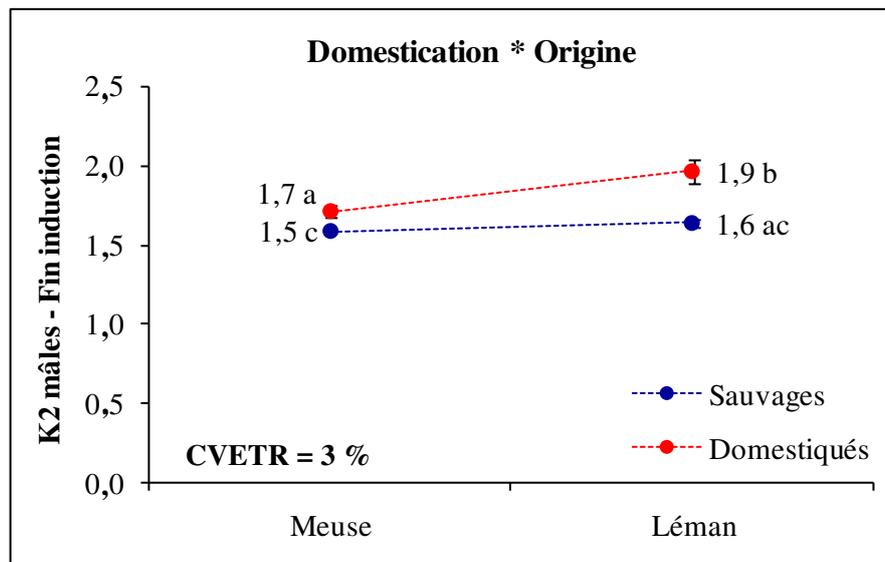


**Figure 73** : Influence de l'interaction entre le poids initial et l'origine géographique sur l'indice de gras (IG) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 97\%$ .

**K1, K2** : En fin de phase d'induction, l'indice de condition K1 (variant de 1,7 pour la combinaison 6 à 2,2 pour la combinaison 4) est plus élevé pour les poissons domestiqués par rapport aux poissons sauvages (Figure 74). L'indice de condition K2 calculé en fin de phase d'induction est en revanche influencé par une interaction entre le niveau de domestication et l'origine géographique des poissons (Figure 75). Si les poissons sauvages n'ont montré aucune variation de K2 en fin d'induction qu'ils soient d'origine Meuse ou Léman, les poissons domestiqués ont présenté un K2 plus élevé lorsqu'ils étaient d'origine Léman par rapport aux 3 autres modalités.



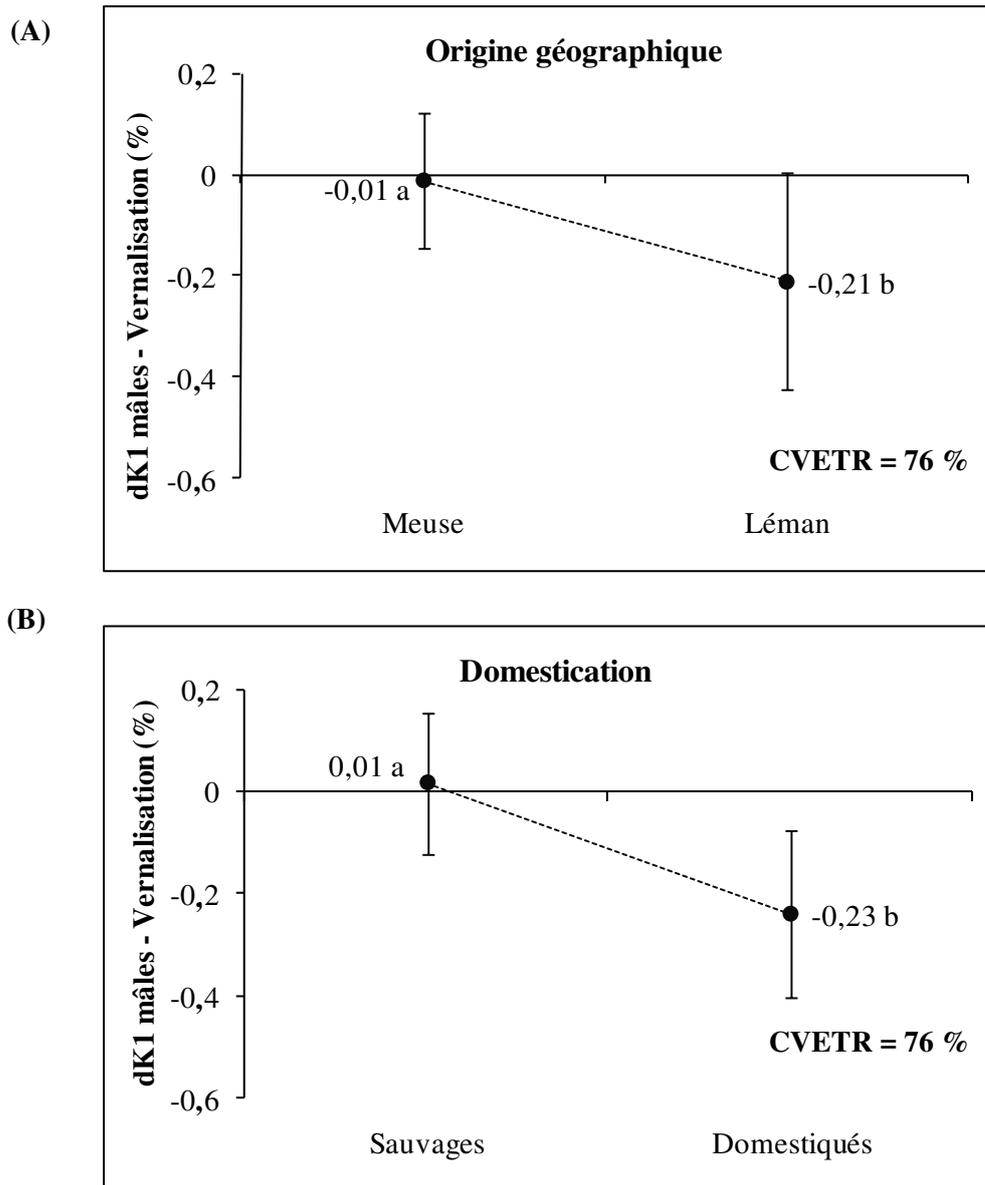
**Figure 74 :** Influence du niveau de domestication sur l'indice de condition K1 des géniteurs mâles à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 62 \%$ .



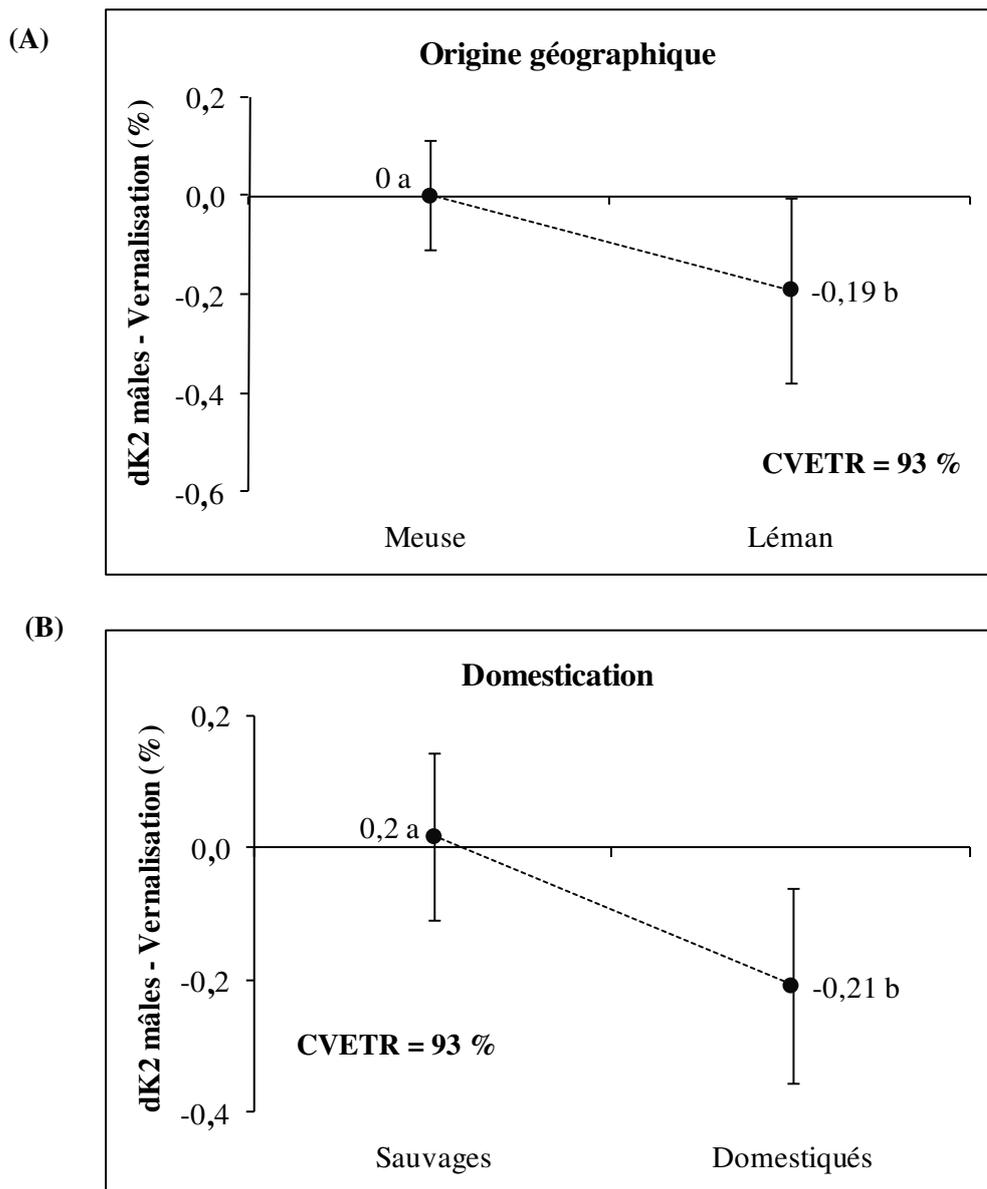
**Figure 75 :** Influence de l'interaction entre le niveau de domestication et l'origine géographique sur l'indice de condition K2 des géniteurs mâles à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 95 \%$ .

En fin de phase de vernalisation, aucun facteur ni interaction n'explique les différences observées entre les bassins pour les indices de conditions K1 et K2, qui varient de 1,6 pour la

combinaison 2 à 1,8 pour la combinaison 5 en ce qui concerne K1 et de 1,5 pour la combinaison 2 à 1,7 pour la combinaison 5 ( $P_{max} > 99$ ) pour K2. Cependant, les variations des facteurs de condition pendant la phase de vernalisation sont expliquées par deux effets simples liés à l'origine géographique des géniteurs et au niveau de domestication. Les mâles d'origine Meuse et sauvages ne présentent pas de variation de K1 ni de K2, tandis que les mâles d'origine Léman et domestiqués ont perdu de l'embonpoint (Figures 77 et 78).



**Figure 77 :** (A) Influence de l'origine géographique sur l'évolution de l'indice de condition (K1) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. (B) Influence du niveau de domestication sur l'évolution de l'indice de condition (K1) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 90\%$ .

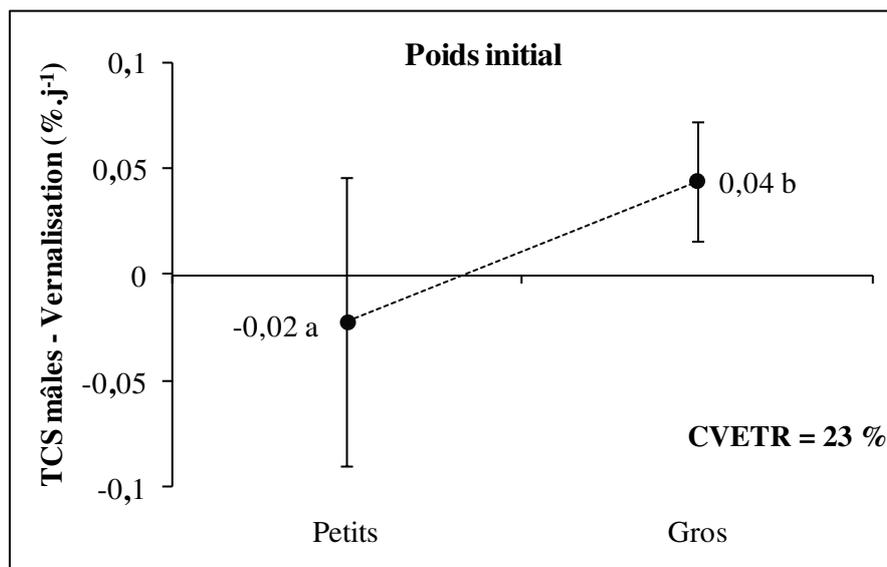


**Figure 78 :** (A) Influence de l'origine géographique sur l'évolution de l'indice de condition (K2) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. (B) Influence du niveau de domestication sur l'évolution de l'indice de condition (K2) des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 82 \%$ .

**C :** Les taux plasmatiques de cortisol présentent la même variation dans le temps que ce qui est observé chez les femelles : faibles concentrations lors du prélèvement initial (0,6 à 6,4 ng.mL<sup>-1</sup>), fortes concentrations en fin de phase d'induction avec de fortes différences entre les bassins (de 27 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 8 à 285 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 4) et diminution des teneurs en fin de phase de vernalisation (de 2 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 6 à

21 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 8). Aucun effet n'explique ces variations. Cependant, les poissons d'origine Meuse ont des taux de cortisol qui ont tendance à être plus élevés. L'absence de signification de cet éventuel effet serait due aux très forts CVETR (Pmax = 34 et 23 % pour C2 et C3 respectivement).

**TCS :** Le taux de croissance spécifique moyen a été plus important pour les gros poissons par rapport aux petits durant la phase de vernalisation (Figure 79).



**Figure 79 :** Influence du poids initial sur le taux de croissance spécifique moyen (TCS) des géniteurs mâles pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 78 \%$ .

**Conclusions :** La régulation des paramètres morpho-anatomiques des mâles apparaît être plus complexe que celle des femelles. Le poids initial des géniteurs n'apparaît pas être un facteur prédominant chez les mâles comme observé chez les femelles. Le seul effet simple observé pour ce facteur concerne le taux de croissance spécifique durant la phase de vernalisation. En revanche, ce facteur interagit avec l'origine géographique des poissons pour modifier plusieurs paramètres en fin de vernalisation (IG, dIHS, dK1). L'effet origine des géniteurs apparaît être plus important que pour les femelles, en fin de phase d'induction et en fin de phase de vernalisation. Enfin, le niveau de domestication a modifié les variations d'indice de condition en fin de vernalisation ainsi que le facteur de condition K1 en fin d'induction.

## II.2. EVOLUTION DES PARAMETRES DE REPRODUCTION AU COURS DU CYCLE

### II.2.1. Paramètres reproducteurs des femelles

Le Tableau 23 présente l'ensemble des effets simples et des interactions modifiant les paramètres de reproduction des géniteurs femelles durant le cycle de reproduction.

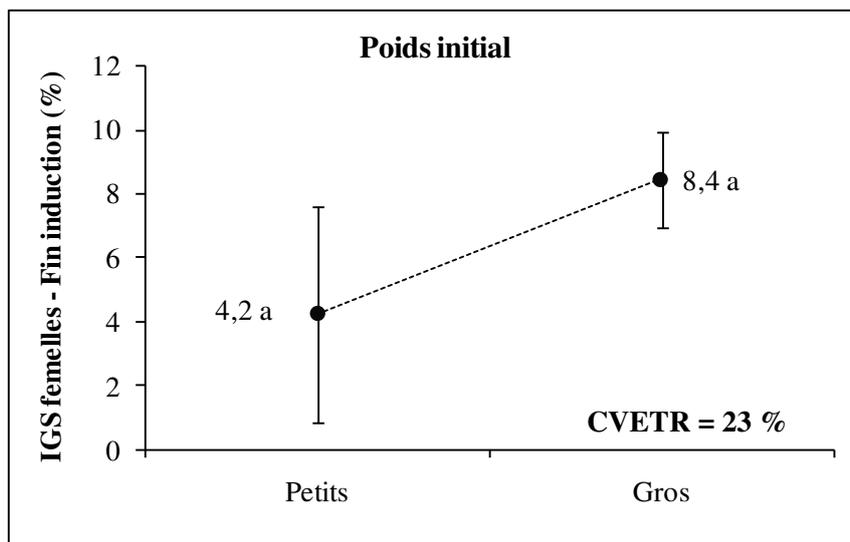
	Effets simples						Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Origine géographique		Niveau de domestication		Poids initial				
	Meuse	Léman	Sauvages	Domestiques	Petits	Gros			
IGS 1	0,99 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	1,16 <sup>a</sup>	-	21	52
IGS 2	5,92 <sup>a</sup>	6,73 <sup>a</sup>	6,59 <sup>a</sup>	6,06 <sup>a</sup>	4,22 <sup>a</sup>	8,43 <sup>a</sup>	-	23	86
IGS 3	19,4 <sup>a</sup>	20,9 <sup>a</sup>	20,8 <sup>a</sup>	19,5 <sup>a</sup>	19,9 <sup>a</sup>	20,4 <sup>a</sup>	-	10	14
dIGS I	4,93 <sup>a</sup>	5,77 <sup>a</sup>	5,81 <sup>a</sup>	4,89 <sup>a</sup>	3,43 <sup>a</sup>	7,27 <sup>a</sup>	-	43	43
dIGS V	13,5 <sup>a</sup>	14,2 <sup>a</sup>	14,2 <sup>a</sup>	13,5 <sup>a</sup>	15,7 <sup>a</sup>	11,9 <sup>a</sup>	Poids initial* Origine	12	71
T 1	1,94 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	2,09 <sup>a</sup>	<b>0,98<sup>a</sup></b>	<b>2,55<sup>b</sup></b>	-	62	5
T 2	10,2 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	10,2 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	9,7 <sup>a</sup>	-	76	5
T 3	26,4 <sup>a</sup>	16,1 <sup>a</sup>	22,7 <sup>a</sup>	19,9 <sup>a</sup>	17,0 <sup>a</sup>	25,6 <sup>a</sup>	-	27	5
E2 1	0,87 <sup>a</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,54 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,94 <sup>a</sup>	-	50	5
E2 2	0,94 <sup>a</sup>	1,57 <sup>a</sup>	1,69 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	1,96 <sup>a</sup>	-	86	5
E2 3	1,42 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,66 <sup>a</sup>	1,26 <sup>a</sup>	1,28 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	-	39	20

**Tableau 23 :** Effet des facteurs simples et des interactions sur les paramètres reproducteur des femelles lors des différents prélèvements (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement de fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement de fin de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples; IGS : Indice gonado-somatique (%) ; dIGS : variation d'IGS sur les périodes étudiées (I : induction ; V : vernalisation) (%) ; T : Concentration plasmatique en testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>) ; E2 : Concentration plasmatique en œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

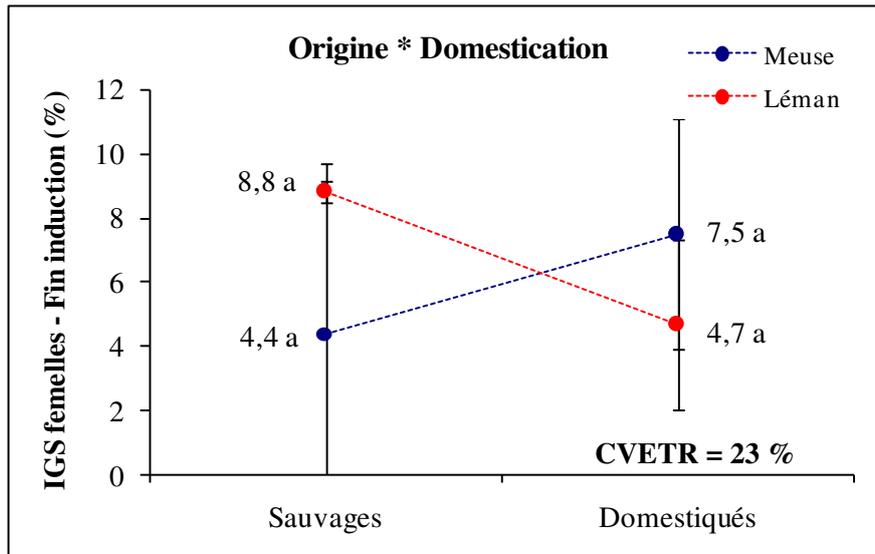
**IGS :** Les IGS mesurés au début de l'expérience présentent des valeurs peu élevées (de 0,6% pour la combinaison 6 à 1,6% pour la combinaison 8) ; les variations initiales entre les bassins ne sont pas expliquées par les facteurs populationnels étudiés (Pmax = 52). Cependant, les effets du poids initial des femelles et du niveau de domestication restent possibles ; en effet, le CVETR élevé et la faible puissance du test (Pmax = 47 et 52 respectivement) permet de formuler l'hypothèse de ces 2 effets. Les grosses femelles ainsi que les femelles domestiquées auraient un IGS initial plus élevé.

A la fin de la phase d'induction, soit au bout de 19 semaines d'expérimentation, l'analyse morpho-anatomique montre que la quasi-totalité des poissons était entrée dans un cycle de reproduction. En effet, à l'exception du bac 6, l'IGS des femelles des bacs expérimentaux est supérieur à 2,5 %. Les valeurs varient de 0,6 % (combinaison 1) à 10 % (combinaison 7). L'effet du poids initial n'est pas significatif, vraisemblablement par manque de puissance ( $p = 0,054$  ;  $P = 55\%$ ) (Figure 80). L'interaction entre l'origine géographique et le niveau de domestication est également en limite de signification ( $p = 0,071$  ;  $P = 5\%$ ) (Figure 81). Les faibles puissances ne permettent pas d'affirmer que ces effets ne sont pas significatifs. Les femelles sauvages du Léman et domestiquées de la Meuse auraient un IGS supérieur aux autres.E

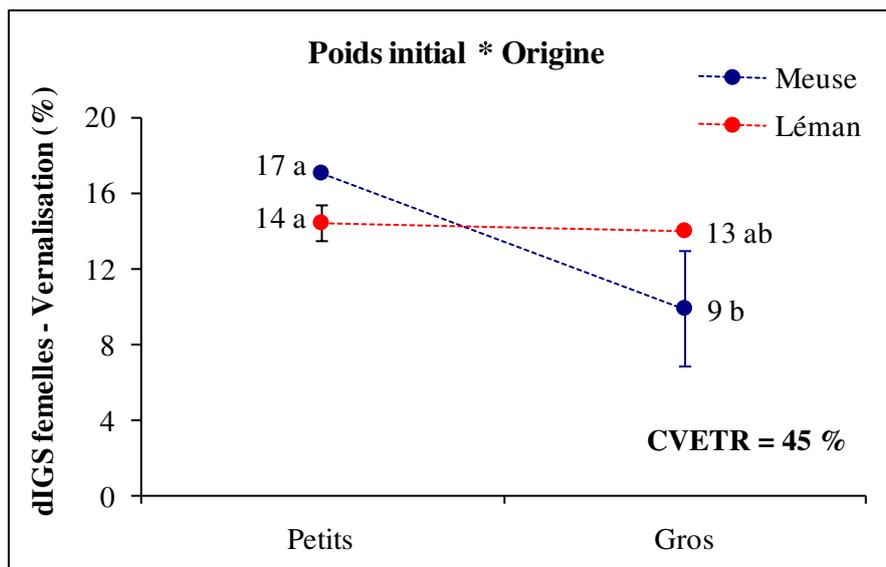
En fin de phase de vernalisation, les femelles présentent des IGS compris entre 17,7 % et 22,9%. Cependant, les écarts observés ne sont pas expliqués par les facteurs ou les interactions testés ( $P_{\max} = 14$ ). En revanche, les variations d'IGS pendant cette période sont expliquées par l'interaction entre le poids initial et l'origine géographique des géniteurs. Le gain d'IGS a été identique entre les petits et les gros géniteurs d'origine Léman, tandis que ce gain a été plus important pour les petites femelles par rapport aux grosses pour les géniteurs d'origine Meuse (Figure 82).



**Figure 80** : Influence du poids initial sur l'indice gonado-somatique (IGS) des géniteurs femelles à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 94\%$ .

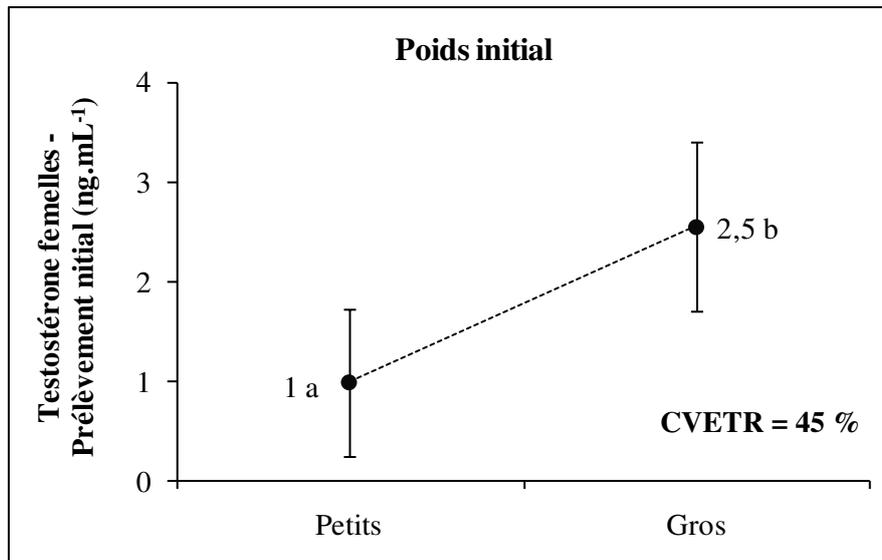


**Figure 81** : Influence de l'interaction entre l'origine géographique et le niveau de domestication sur l'indice gonado-somatique (IGS) des géniteurs femelles à la fin de la phase d'induction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 94\%$ .



**Figure 82** : Influence de l'interaction entre le poids initial et l'origine géographique sur les variations d'indice gonado-somatique (dIGS) des géniteurs femelles pendant la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 94\%$ .

**T, E2** : Une différence significative du taux plasmatique de testostérone est initialement observée entre les petits et les gros géniteurs, les petites femelles présentant un taux plus faible (Figure 83). Aucun facteur ni interaction n'explique les différences d'œstradiol relevées entre les différents lots de géniteurs.



**Figure 83** : Influence du poids initial sur le taux plasmatique en testostérone des géniteurs femelles au début de l'expérience. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 56\%$ .

En fin de phase d'induction, malgré les fortes variations des taux hormonaux observées entre les combinaisons (de 2 à 19  $\text{ng.mL}^{-1}$  pour la testostérone, de 0,2 à 4,4  $\text{ng.mL}^{-1}$  pour l'œstradiol), aucun facteur ni interaction testés ne semblent influencer les taux de ces stéroïdes sexuels, mais les CVETR sont très élevés et les écarts assez faibles.

Enfin, en fin de phase de vernalisation, les taux de testostérone et d'œstradiol, bien que variables entre les femelles des différents bassins (de 12 à 34  $\text{ng.mL}^{-1}$  pour la testostérone et de 0,8 à 2,9  $\text{ng.mL}^{-1}$  pour l'œstradiol) ne sont influencés par aucun facteur ou interaction testés ; les CVETR également sont très élevés.

**Conclusions** : *Aucun n'effet n'affecte de manière significative l'IGS des femelles ; cependant, un effet du poids initial est possible en situation initiale et en fin d'induction. L'interaction entre le poids initial et l'origine des géniteurs a modifié les variations d'IGS pendant la phase de vernalisation. A l'exception de la concentration en testostérone qui a été modulée par le poids des géniteurs en situation initiale, les taux de stéroïdes sexuels n'ont pas été modifiés par les facteurs testés.*

### II.2.2. Paramètres reproducteurs des mâles

Les effets simples et les interactions modifiant les caractéristiques reproductives des géniteurs mâles pendant le cycle de reproduction sont présentés dans le Tableau 24.

	Effets simples						Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Origine géographique		Niveau de domestication		Taille des poissons				
	Meuse	Léman	Sauvages	Domestiques	Petits	Gros			
IGS 2	5,93 <sup>a</sup>	4,77 <sup>a</sup>	4,46 <sup>a</sup>	6,24 <sup>a</sup>	5,69 <sup>a</sup>	5,01 <sup>a</sup>	-	23	62
IGS 3	5,26 <sup>a</sup>	4,39 <sup>a</sup>	4,30 <sup>a</sup>	4,43 <sup>a</sup>	4,63 <sup>a</sup>	5,02 <sup>a</sup>	-	10	35
dIGS V	-0,67	-0,39	-0,16	-0,46	-1,06	0,01		180	23
T 2	12,3 <sup>a</sup>	14,9 <sup>a</sup>	13,7 <sup>a</sup>	13,5 <sup>a</sup>	17,6 <sup>a</sup>	9,6 <sup>a</sup>	-	65	6
T 3	<b>15,4<sup>a</sup></b>	<b>7,8<sup>b</sup></b>	9,8 <sup>a</sup>	12,2 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>	12,2 <sup>a</sup>	-	18	6
11kT 2	0,29 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	-	40	5
11kT 3	<b>3,72<sup>a</sup></b>	<b>1,14<sup>b</sup></b>	1,8 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	2,9 <sup>a</sup>	-	54	6

**Tableau 24 :** Effet des facteurs simples et des interactions sur les paramètres reproducteurs des mâles lors des différents prélèvements (2 : prélèvement en fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement en fin de phase de vernalisation). CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples; IGS : Indice gonado-somatique (%) ; dIGS V : variation d'IGS pendant la phase de vernalisation (%) ; T : Concentration plasmatique en testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>) ; 11kT : Concentration plasmatique en 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0,05).

**IGS :** L'IGS des mâles en fin de phase d'induction présente des variations entre les différentes combinaisons (de 3,2 % pour la combinaison 5 à 6,9% pour la combinaison 7). Aucun effet des facteurs testés ou d'une interaction n'est observé.

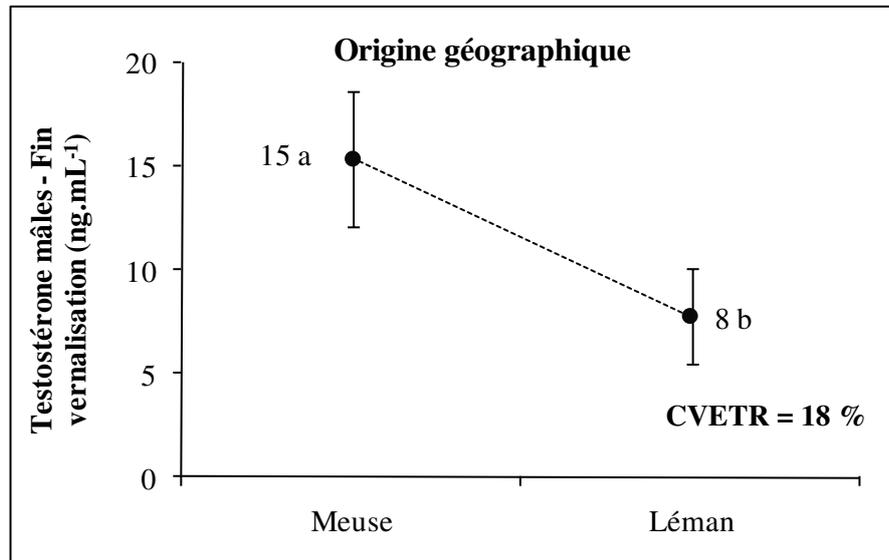
En fin de phase de vernalisation, l'IGS varie de 3,5 % (combinaison 2) à 5,8 % (combinaison 5). Cependant, aucun facteur ou interaction significatif n'a été mis en évidence (Pmax = 23). Aucun effet n'est observé sur les variations d'IGS pendant cette période, probablement à cause d'un CVTER élevé (Pmax = 23).

**T, 11kT :** Les taux plasmatiques de testostérone étaient globalement élevés en fin de phase d'induction, tout comme les taux de 11 kéto-testostérone (de 3 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 8 à 29 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 4 pour la testostérone et de 0.04 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 5 à 0.33 ng.mL<sup>-1</sup> pour la combinaison 6 pour la 11 kéto-testostérone).

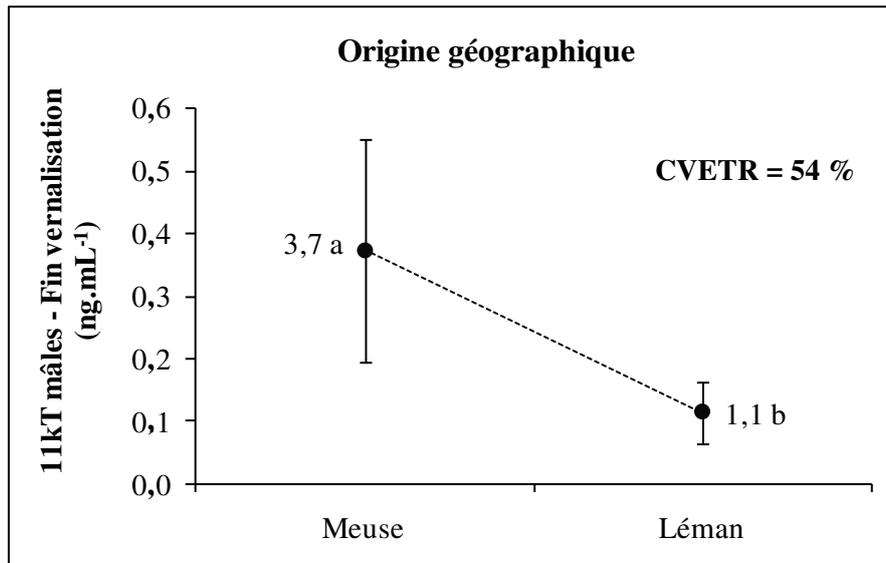
Aucun facteur ni interaction n'explique les variations de ces hormones ( $P_{\max} > 99$  et  $= 7\%$  respectivement) car les écarts entre moyennes sont faibles.

En fin de phase de vernalisation, un facteur simple explique en partie les différences de testostérone (de 7 à 19  $\text{ng.L}^{-1}$ ) : l'origine géographique des géniteurs (Figure 84). Ainsi, les taux de testostérone étaient beaucoup plus élevés chez les poissons d'origine Meuse par rapport aux poissons d'origine Léman.

A cette même période, le taux hormonal de 11 kéto-testostérone (variant de 0,6 à 6,4  $\text{ng.L}^{-1}$ ) a également été influencé par l'origine géographique des mâles, puisque les poissons d'origine Meuse présentaient des taux plus élevés que les poissons d'origine Léman (Figure 85).



**Figure 84** : Influence de l'origine géographique sur le taux plasmatique de testostérone des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 93\%$ .

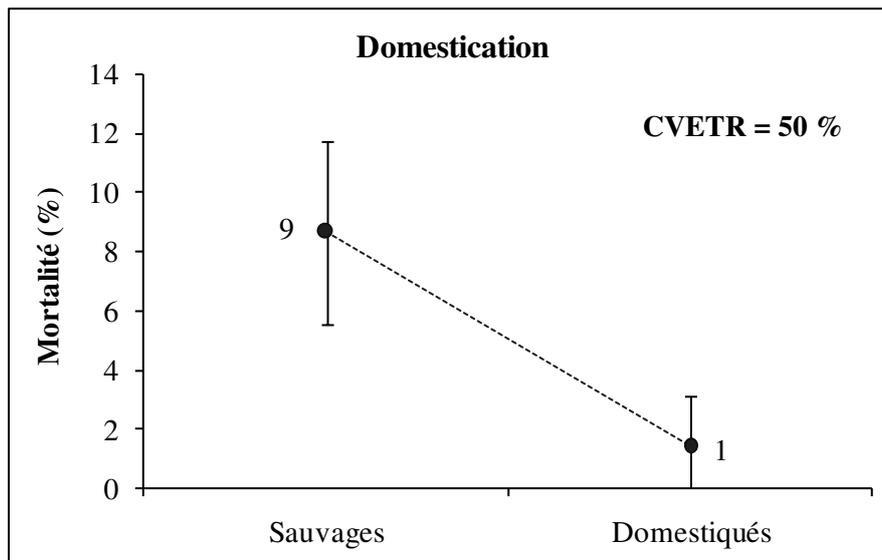


**Figure 85 :** Influence de l'origine géographique sur le taux plasmatique de 11 kéto-testostérone des géniteurs mâles à la fin de la phase de vernalisation. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 57 \%$ .

**Conclusions :** *Le seul facteur ayant modifié les caractéristiques de reproduction des géniteurs mâles durant le cycle est l'origine géographique des géniteurs, qui a modifié les taux de stéroïdes sexuels en fin de phase de vernalisation.*

### II.3. MORTALITE DES GENITEURS AU COURS DU CYCLE DE REPRODUCTION

La mortalité durant cette expérimentation a été faible. Elle a été au maximum de 7 poissons pour la combinaison 1, soit 13 % des individus sexes confondus. Aucun mort n'a été trouvé pour les combinaisons 4 et 7. Les poissons sauvages ont eu un taux de mortalité plus important que les poissons domestiqués (Figure 86). L'étude de la mortalité par sexe ne montre aucune influence des facteurs étudiés ou d'interaction.

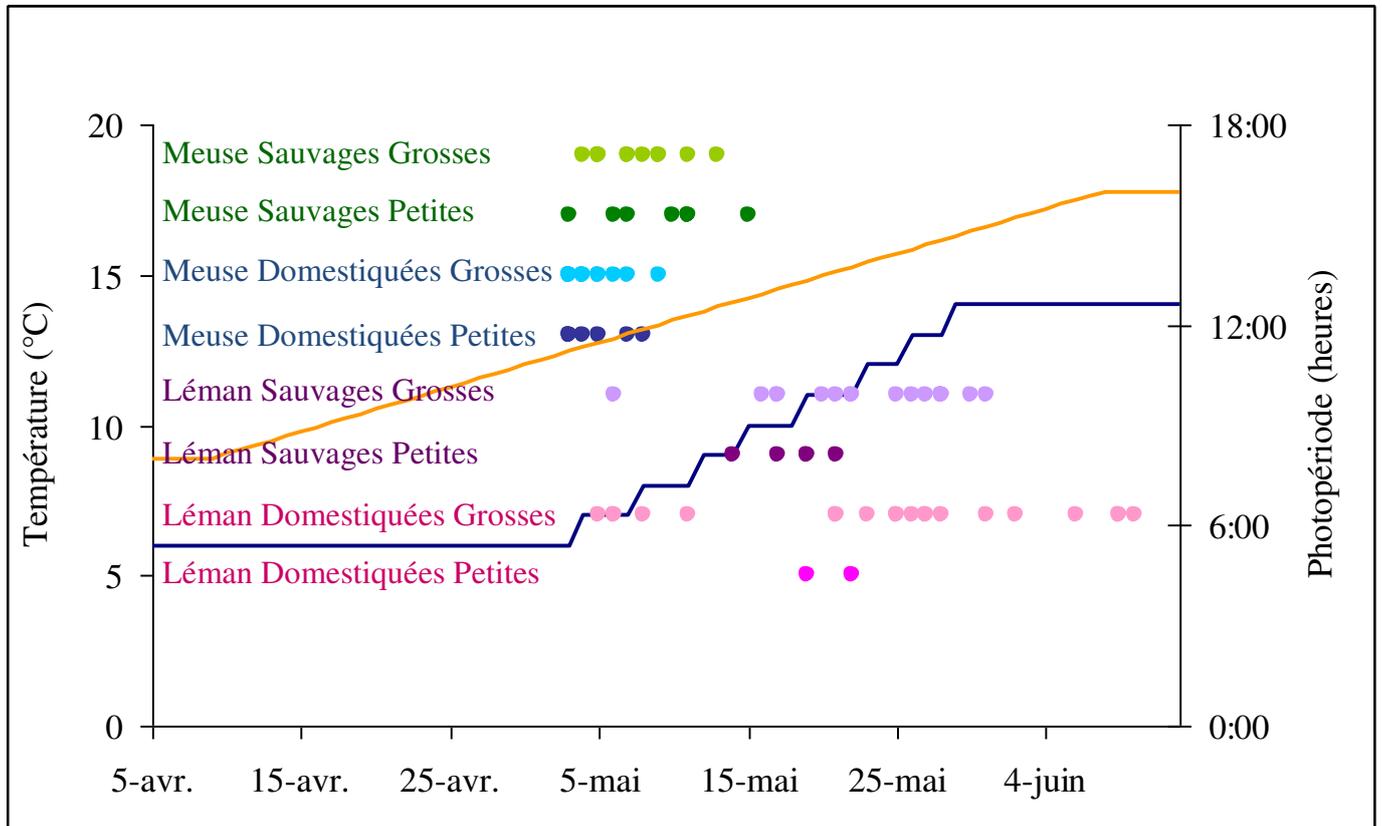


**Figure 86** : Influence du niveau de domestication sur le taux de mortalité des géniteurs sur l'ensemble du cycle de reproduction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 73 \%$ .

#### II.4. EVALUATION DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION

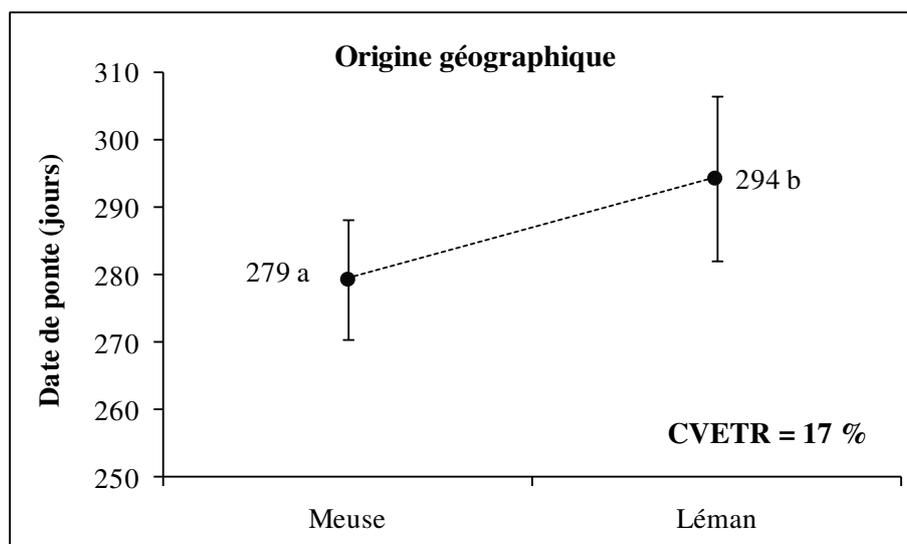
La saison de ponte a débuté lors de l'augmentation finale de température, soit après 283 jours d'expérience, et s'est étalée sur 38 jours. L'étalement des pontes par combinaison est présenté sur la Figure 87. Les poissons d'origine Meuse ont été les premiers à pondre, sur une dizaine de jours, dès le début de l'augmentation de la température dans le bassin, alors que celle-ci a augmenté de 6 à 10°C. Les poissons de la Meuse ont commencé à pondre plus tard, lorsque la température a atteint 7°C, et ce jusqu'à la fin de la période de réchauffement. Les grosses femelles ont pondu en premier, qu'elles soient sauvages ou domestiquées ; l'étalement des pontes a été plus long pour ces poissons (36 jours). Les petites femelles Léman ont été les dernières à pondre et ont pondu sur une période courte (7 jours pour les sauvages et 5 jours pour les domestiquées), mais le faible nombre de ponte ne permet pas une analyse statistique de la durée de la période de ponte.

Les effets des facteurs simples et des interactions modifiant les performances de reproduction sont présentés dans le Tableau 25. Les données brutes sont disponibles en annexe 10.



**Figure 87** : Répartition des pontes obtenues dans chaque bassin au cours de la saison de reproduction. La ligne orange représente la durée de la photophase dans les bassins et la ligne bleue représente l'évolution de la température.

**DateP** : Un effet significatif de l'origine des poissons sur la date de ponte est observé (Figure 88). Les poissons d'origine Meuse pondent en moyenne 15 jours plus tôt que les poissons d'origine Léman, alors que la température n'excédait pas 8°C en moyenne dans les bassins.



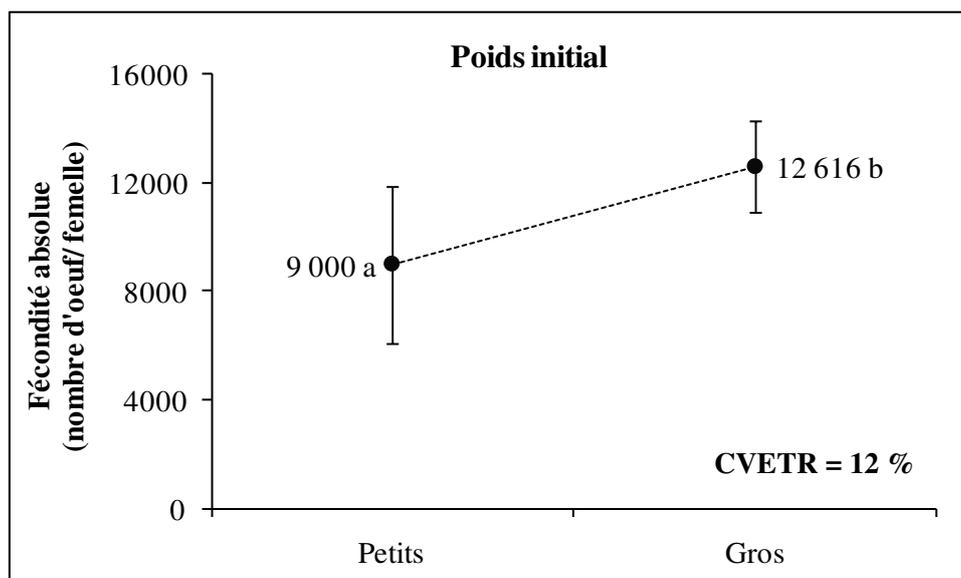
**Figure 88** : Influence de l'origine géographique sur la date de ponte lors de la période de reproduction. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 92 \%$ .

	Effets simples						Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Origine géographique		Niveau de domestication		Poids initial				
	Meuse	Léman	Sauvages	Domestiques	Petits	Gros			
TxPonte	82 <sup>a</sup>	86 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>	78 <sup>a</sup>	73 <sup>a</sup>	94 <sup>a</sup>	-	22	30
DateP	<b>279 a</b>	<b>294 b</b>	287 <sup>a</sup>	286 <sup>a</sup>	286 <sup>a</sup>	287 <sup>a</sup>	-	18	>99
Pponte/ Pfemale	22 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	-	12	>99
FecAbs	10312 <sup>a</sup>	11303 <sup>a</sup>	11553 <sup>a</sup>	10062 <sup>a</sup>	<b>9000<sup>a</sup></b>	<b>12616<sup>b</sup></b>	-	12	82
FecR	69 <sup>a</sup>	74 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	74 <sup>a</sup>	69 <sup>a</sup>	-	14	14
TxF	48 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>	46 <sup>a</sup>	41 <sup>a</sup>	56 <sup>a</sup>	Origine * Domestication	35	>99
Po	4,27 <sup>a</sup>	4,36 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>	4,29 <sup>a</sup>	4,34 <sup>a</sup>	Poids initial * Domestication	3	12
To	1,38 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,40 <sup>a</sup>	1,38 <sup>a</sup>	-	3	9
Fec	9 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>	-	50	48

**Tableau 25 :** Effet des facteurs simples et des interactions sur les paramètres mesurés sur les pontes. CVETR : Coefficient de variation des écarts-types résiduels ; Pmax : puissance maximale observée lors du test des effets simples ; TxPonte : taux de ponte (%) ; DateP : Date de ponte (j) ; Pponte/Pfemale : Poids de la ponte / Poids de la femelle (%) ; FecAbs : Fécondité absolue (nombre d'ovocytes par femelle); FecR : Fécondité Relative (nombre d'ovocytes par g de femelle) ; TxF : Taux de fragmentation (%) ; Po : Poids ovocyttaire moyen (mg); To : Taille ovocyttaire moyenne (mm) ; Fec : Taux de fécondation (%). Les différentes lettres indiquent les différences significatives (p<0.05).

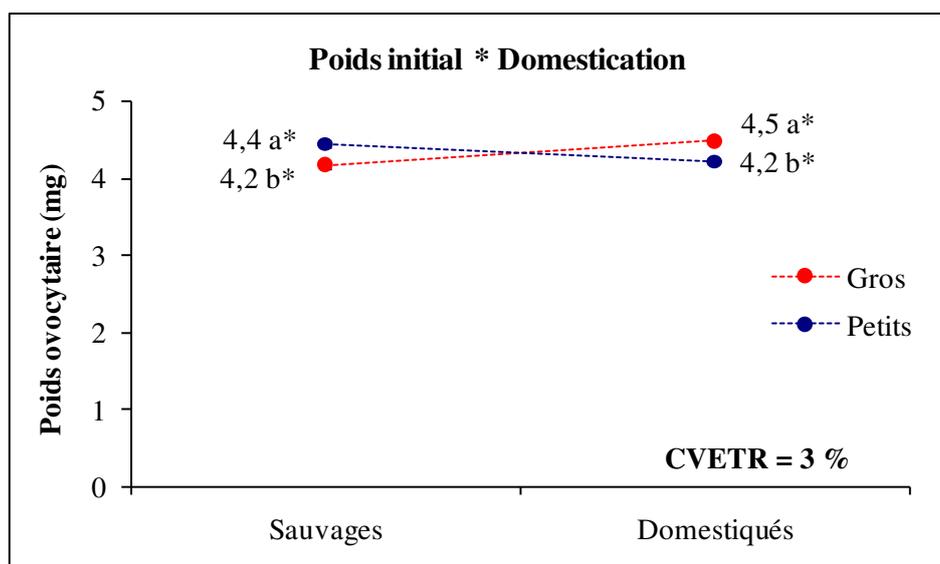
**Txponte :** Des rubans d'œufs ont été pondus dans chacun des bacs expérimentaux. Le taux de ponte le plus bas est de 50% pour la combinaison 4 et le plus haut est de 100% dans les combinaisons 2, 5 et 6. Ces différences ne sont expliquées par aucun des facteurs testés (Pmax > 99).

**FecAbs, FecR :** La fécondité absolue la plus faible est d'environ 7800 ovocytes par femelle et la plus élevée est d'environ 14 500 ovocytes par femelle. Les variations observées sont expliquées par l'effet du poids initial des géniteurs (Figure 89). En effet, les grosses femelles ont une plus grande fécondité absolue que les petites. Cependant, aucun effet n'explique les variations des fécondités relatives observées (de 57 à 85 ovocytes par g de femelle sur l'ensemble des bassins) (Pmax = 14).



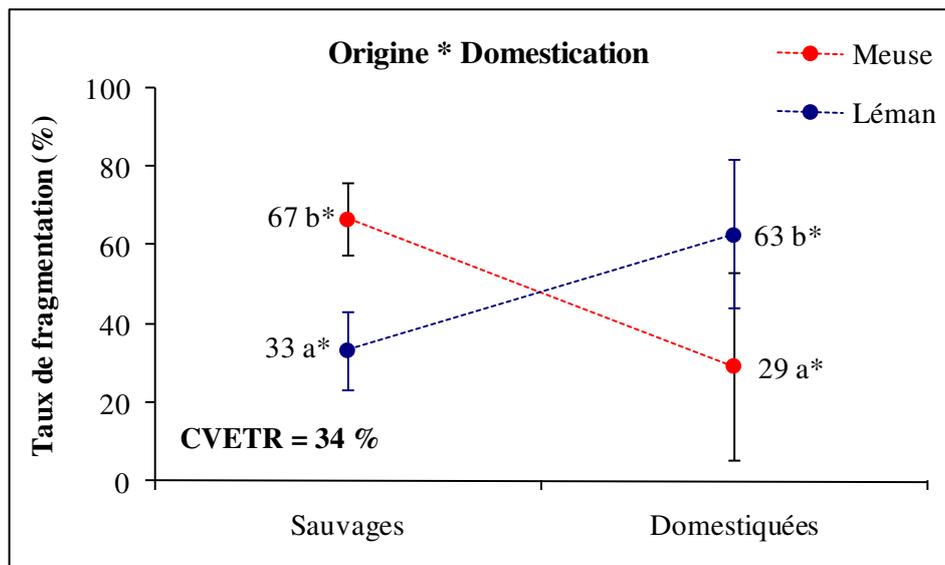
**Figure 89 :** Influence du poids initial des géniteurs sur la fécondité absolue des femelles. Les différentes lettres indiquent les différences significatives ( $p < 0,05$ ).  $R^2 = 71 \%$ .

**Pponte/Pfemelle, Po, To :** Les moyennes sont assez homogènes et les effets ne sont pas significatifs, excepté celui de l'interaction Poids initial \* Domestication sur le poids moyen des ovocytes (Figure 90). Les grosses femelles domestiquées et les petites sauvages auraient des ovocytes plus gros que les petites femelles domestiquées et les grosses sauvages.



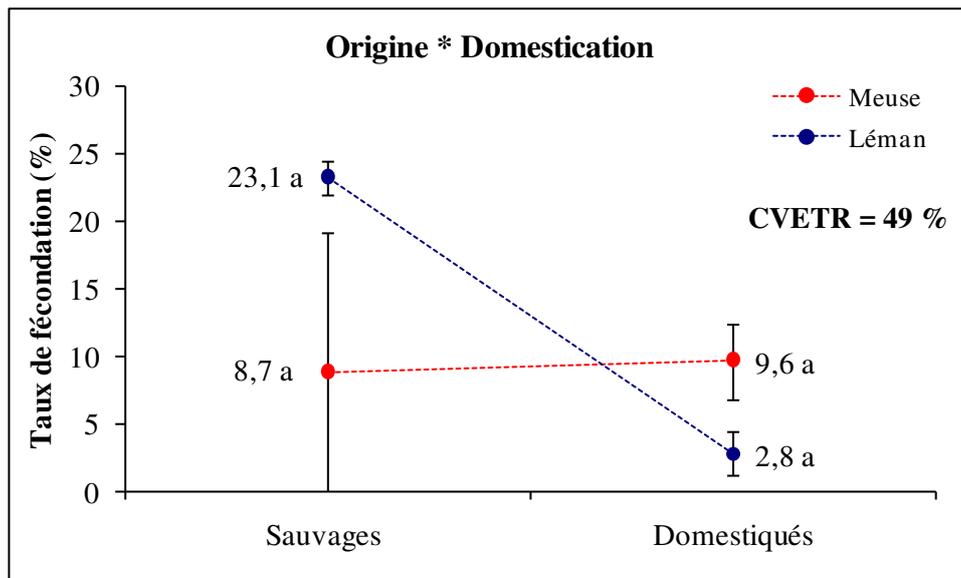
**Figure 90 :** Influence de l'interaction poids initial des géniteurs \* niveau de domestication sur le poids ovocytaire moyen. Les différentes lettres suivies d'un astérisque (\*) indiquent les différences potentiellement significatives test f :  $p < 0,05$  ; test t NS (puissance = 0,050).  $R^2 = 69 \%$ .

**TxF** : Le taux de fragmentation est relativement élevé sur l'ensemble des bassins : le taux moyen le plus faible est de 20 % (combinaisons 2 et 3) et le plus élevé de 84 % (combinaison 5). L'interaction niveau de domestication \* origine géographique des géniteurs explique en partie ces variations (Figure 91). Les pontes des poissons sauvages d'origine Meuse et domestiqués d'origine Léman sont plus fragmentées que celles des poissons domestiqués Meuse et sauvages Léman.



**Figure 91** : Influence de l'interaction entre l'origine géographique et le niveau de domestication des géniteurs sur le taux de fragmentation des rubans d'œufs. Les différentes lettres suivies d'un astérisque (\*) indiquent les différences potentiellement significatives test f :  $p < 0,05$  ; test t NS (puissance = 0,105).  $R^2 = 67 \%$ .

**Fec** : Le taux de fécondation est très bas sur l'ensemble des pontes obtenues (de 1 à 22 % dans les combinaisons 5 et 2 respectivement). L'effet de l'interaction entre le niveau de domestication et l'origine géographique (Figure 92) est en limite de signification ( $P = 0,051$ ). Le CVETR élevé (50 %) et la faible puissance du test (41 %) ne permettent pas d'affirmer que cet effet d'interaction n'est pas significatif. On peut faire l'hypothèse que les pontes issues des géniteurs sauvages d'origine Léman ont présenté un meilleur taux de fécondation que les autres.



**Figure 92 :** Influence de l'interaction entre l'origine géographique et le niveau de domestication des géniteurs sur le taux de fécondation des pontes. Les différentes lettres indiquent qu'aucune différence n'est significative.  $R^2 = 79\%$ .

Les taux d'éclosion ont été nuls pour chaque ponte obtenue. Le suivi larvaire n'a donc pas pu avoir lieu.

**Conclusions :** Quatre des 9 paramètres mesurés ont été modifiés par les facteurs testés. Deux facteurs simples sont observés, l'origine géographique et le poids initial des géniteurs qui ont modifié respectivement la date de ponte et la fécondité absolue, et ces deux facteurs sont entrés en interaction avec le niveau de domestication des poissons pour modifier le poids ovocytaire et le taux de fragmentation. .

## II.5. MODELISATION DES EFFETS OBSERVES SUR L'ETAT DES GENITEURS ET LES PERFORMANCES DE REPRODUCTION

### II.6.1. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des femelles

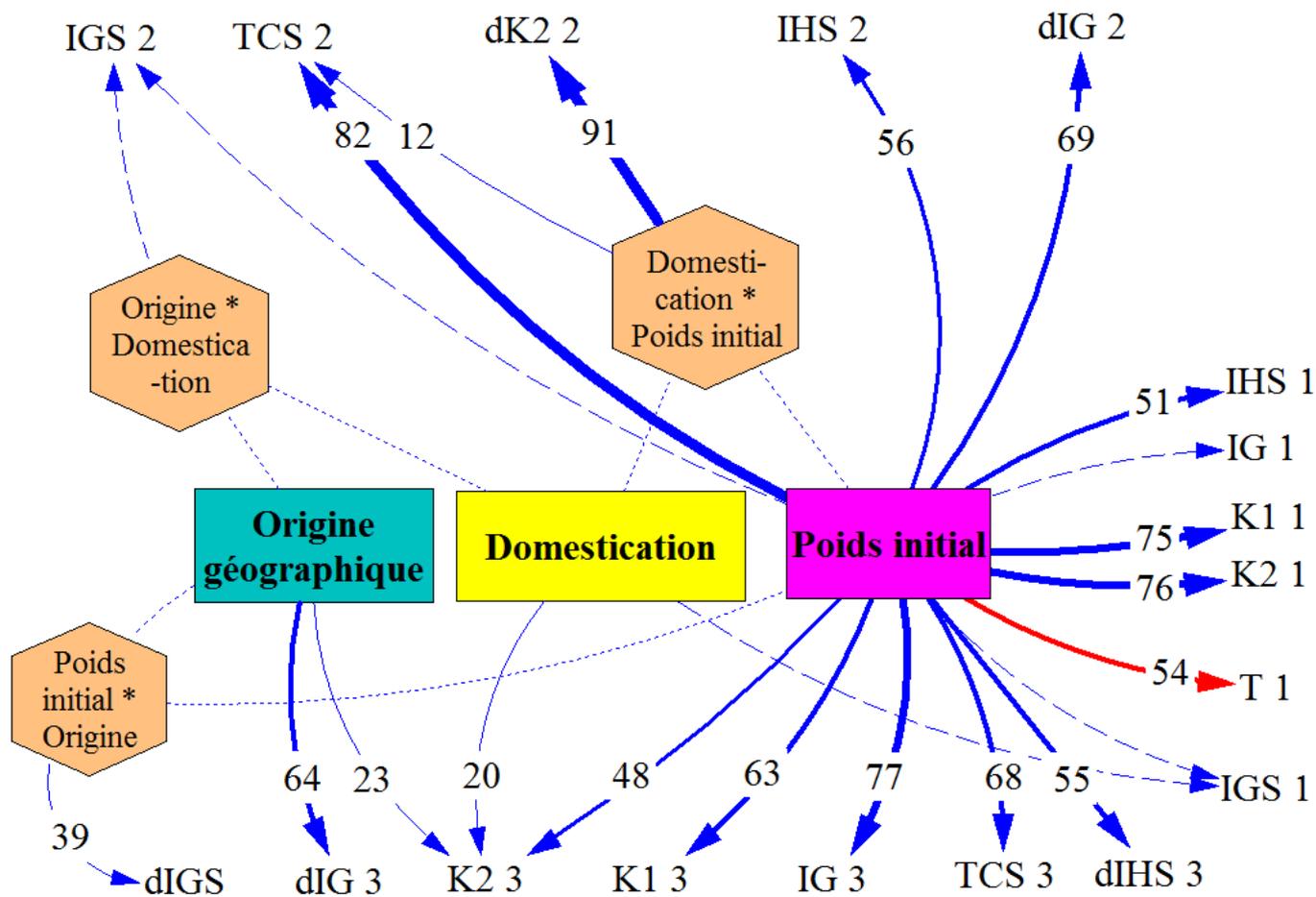
La Figure 93 présente une modélisation des effets des facteurs populationnels étudiés durant le cycle de reproduction des femelles.

Au début de l'expérience, les paramètres morpho-anatomiques des femelles sont fortement influencés par le facteur poids initial. Ce facteur module également le taux initial de testostérone plasmatique. Il est possible que l'IGS soit également influencé par ce facteur, ainsi que par le niveau de domestication.

Lors de la phase d'induction, les facteurs testés ont moins modifiés les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des femelles. Le principal effet observé est à nouveau celui du poids initial des géniteurs qui influence très fortement le taux de croissance spécifique. Ce facteur entre en interaction avec le niveau de domestication et a un impact important sur les variations de K2 et bien moindre sur le taux de croissance spécifique moyen. Les variations de K2 pendant cette période sont très fortement modulées par l'interaction entre le poids initial des géniteurs et leur niveau de domestication. Les paramètres reproducteurs ne semblent pas être influencés. Cependant, il est possible que l'IGS ait été modulé par le poids initial des géniteurs ainsi que par l'interaction entre l'origine géographique et le niveau de domestication.

Enfin, en fin de vernalisation, l'IGS et les teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels ne semblent avoir été modulés par aucun facteur testé. Le gain d'IGS est influencé par l'interaction entre l'origine géographique des poissons et leur poids initial, de manière modérée. A l'exception de l'IHS, les paramètres morpho-anatomiques (IG, K1 et K2), ainsi que les variations d'IHS, ont été modifiés par le poids initial des géniteurs dont l'effet est particulièrement important sur l'IG. Le taux de croissance spécifique moyen est également sous l'influence de ce facteur, mais de manière moins forte qu'en phase d'induction. Les effets de l'origine géographique des géniteurs observés concernent uniquement le facteur de condition K2 en fin de phase de vernalisation.

Il ressort ainsi de cette étude que le facteur modulateur principal des caractéristiques morpho-anatomiques des géniteurs de perche femelles est le poids initial. Les paramètres de reproduction ont en revanche été peu modifiés par les facteurs testés.



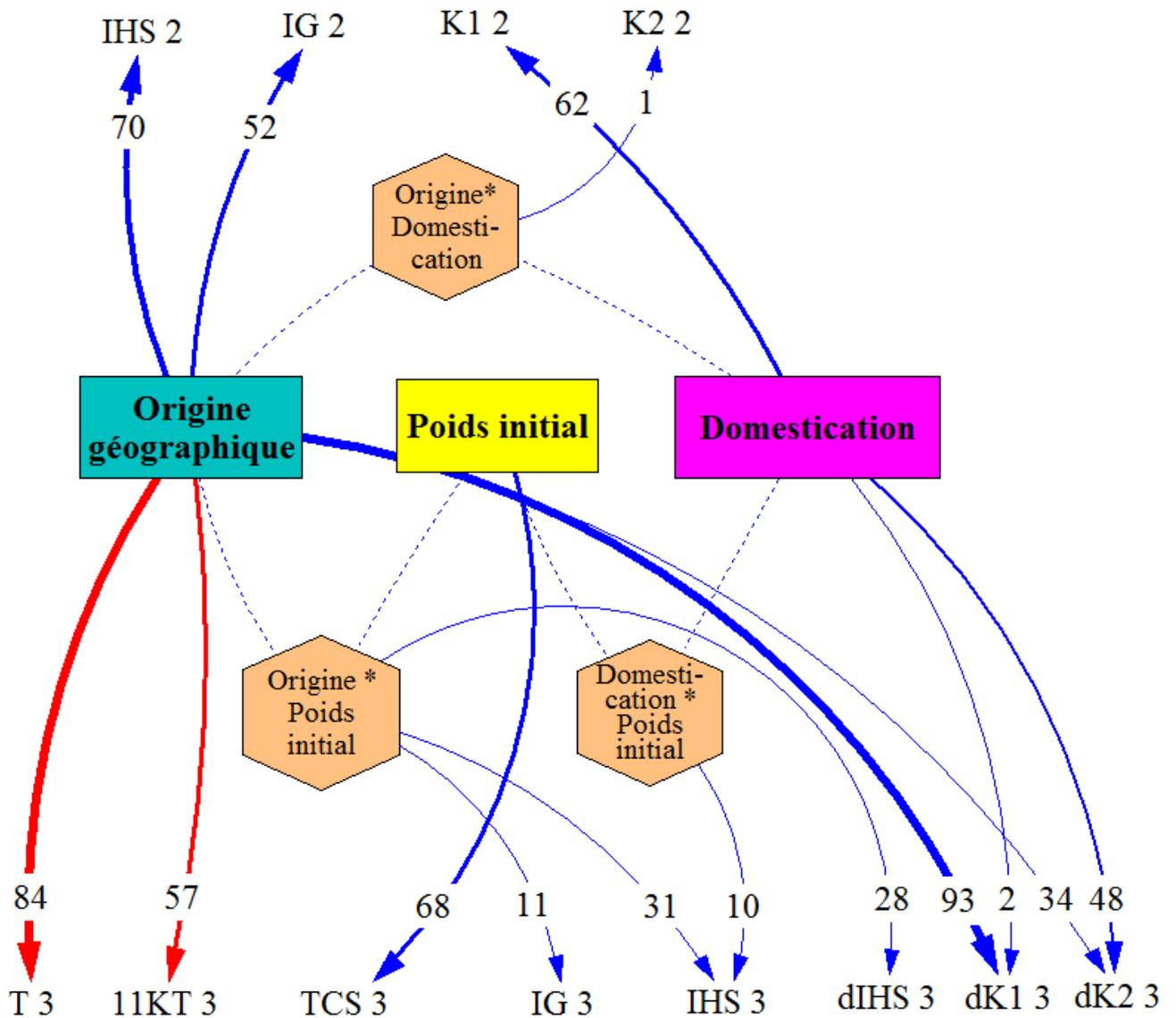
**Figure 93 :** Modélisation des effets simples et interactions influant sur les paramètres morpho-anatomiques (en bleu) et physiologiques (en rouge) des femelles lors du cycle de reproduction (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement de fin de phase d'induction ; 3 : prélèvement de fin de phase de vernalisation). IGS : Indice gonado-somatique ; IHS : Indice hépato-somatique ; IG : Indice de gras ; K1, K2 : Facteurs de condition 1 et 2 ; T : concentration plasmatique en testostérone. TCS : taux de croissance spécifique moyen. Les rectangles représentent les 3 effets simples et les hexagones les interactions. Les flèches indiquent l'effet du facteur simple ou de l'interaction, et les chiffres associés correspondent au pourcentage de la variance de l'effet expliquant les variations du paramètre étudié ; l'épaisseur des flèches est fonction du pourcentage de la variance. Les traits discontinus indiquent les effets potentiels mais non statistiquement significatifs ; les traits en pointillés indiquent les facteurs entrant en interaction.

### *II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des mâles*

Une modélisation des effets des facteurs populationnels étudiés durant le cycle de reproduction des mâles est proposée par la Figure 94.

Contrairement à ce qui est observé pour les femelles, le poids initial n'a aucun effet sur les caractéristiques morpho-anatomiques et physiologiques des géniteurs mâles en fin de phase d'induction. En revanche, un effet est observé sur le taux de croissance spécifique en fin de phase de vernalisation. L'origine géographique des géniteurs agit comme facteur simple pour moduler fortement l'IHS et l'IG en fin de phase d'induction, les variations des facteurs de condition, avec un effet plus important pour K1 pendant la phase de vernalisation ; les teneurs en stéroïdes sexuels sont également très modifiés à la fin de cette période. Ce facteur agit en interaction avec le poids initial des géniteurs pour moduler l'IHS et l'IG en fin de phase de vernalisation, et les variations d'IHS pendant cette période ; cependant, cet effet reste faible. Le niveau de domestication modifie le facteur de condition K1 en fin de phase d'induction, les variations d'indice de condition de façon plus modérée pendant la vernalisation, ainsi que très faiblement le facteur K2 en interaction avec l'origine géographique des poissons. Il entre également en interaction avec le poids initial des géniteurs pour moduler faiblement l'IHS en fin de phase de vernalisation.

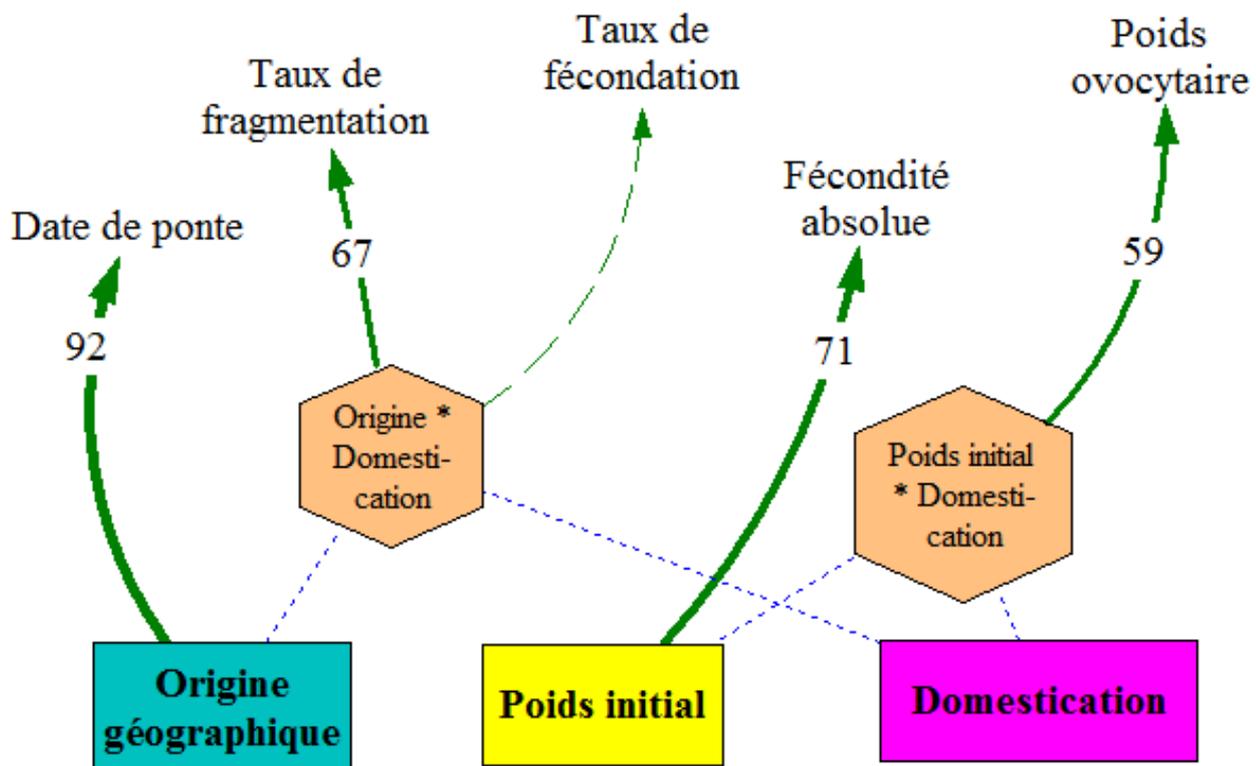
La régulation des caractéristiques morpho-anatomiques et de l'état physiologique des mâles semble ainsi être plus complexe par rapport à ce qui est observé chez les femelles. Le niveau de domestication et l'origine géographique semblent avoir eu plus d'importance sur les paramètres morpho-anatomiques et physiologiques des mâles.



**Figure 94 :** Modélisation des effets simples et des interactions influant sur les paramètres morpho-anatomiques (en bleu) et physiologiques (en rouge) des mâles lors du cycle de reproduction (1 : prélèvement initial ; 2 : prélèvement de fin de phase d'induction) ; 3 : prélèvement de fin de phase de vernalisation. IGS : Indice gonado-somatique ; IHS : Indice hépato-somatique ; IG : Indice de gras ; K1, K2 : Facteurs de condition 1 et 2 ; T : concentration plasmatique en testostérone. TCS : taux de croissance spécifique moyen. Les rectangles représentent les 3 effets simples et les hexagones les interactions. Les flèches indiquent l'effet du facteur simple ou de l'interaction, et les chiffres associés correspondent au pourcentage de la variance de l'effet expliquant les variations du paramètre étudié ; l'épaisseur des flèches est fonction du pourcentage de la variance. Les traits en pointillés indiquent les facteurs entrant en interaction.

## II.6.2. Modélisation des effets ayant modifié les performances de reproduction

La Figure 95 présente le modèle obtenu pour expliquer les effets simples et les interactions observés lors de cette expérience sur les caractéristiques de reproduction. L'origine géographique a profondément modifié la date de ponte. Elle module également le taux de fragmentation des rubans d'œufs, en interaction avec le niveau de domestication des géniteurs. Le poids initial des géniteurs a d'une part fortement influencé la fécondité absolue en tant que facteur simple et a d'autre part interagi avec le niveau de domestication pour moduler dans une moindre mesure le poids moyen des ovocytes.



**Figure 95 :** Modélisation des effets simples et des interactions influant sur les performances de reproduction. Les rectangles représentent les 3 effets simples et les hexagones les interactions. Les flèches indiquent l'effet du facteur simple ou de l'interaction, et les chiffres associés correspondent au pourcentage de la variance de l'effet expliquant les variations du paramètre étudié ; l'épaisseur des flèches est fonction du pourcentage de la variance. Les traits discontinus indiquent les effets potentiels mais non statistiquement significatifs ; les traits en pointillés indiquent les facteurs entrant en interaction.

# **EXPERIMENTATION 3 : « QUALITE OVOCYTES »**

## **ETUDE DE LA QUALITÉ DES PONTES DE PERCHE ET ANALYSE DU PROFIL PROTÉOMIQUE DES OVOCYTES.**

### **I. MATERIEL ET METHODES**

#### **I.1. PRINCIPE EXPERIMENTAL**

Dans les deux expériences précédentes, l'estimation des performances de reproduction a été réalisée grâce à l'étude de paramètres classiquement utilisés dans la littérature : taille ovocytaire, poids ovocytaire, taux de fécondation, survie embryonnaire, taux d'éclosion... L'absence d'éclosion n'a pas permis de réaliser le suivi des paramètres concernant les larves (survie larvaire, taux de malformation...). Dans la littérature, la plupart des études comprenant un suivi de qualité utilisent un ou plusieurs de ces traits biologiques liés aux pontes (Kjorvisk *et al.*, 1990 ; Bobe et Labbé, 2010). Cependant, la littérature ne permet pas de connaître la pertinence relative de chacun de ces paramètres pour estimer la qualité d'une ponte. Par exemple, Huss *et al.* (2007) montrent que la taille des ovocytes peut être liée à des larves de meilleure qualité chez la perche commune, mais ce lien n'est à priori pas systématique (Kamler, 2005). En effet, un gros ovocyte peut présenter des défauts de composition chimique.

Ainsi, nous allons tout d'abord réaliser une analyse des traits biologiques de plusieurs pontes de perche (œufs et larves) afin d'en avoir une approche multidimensionnelle. Ces pontes de qualité variable ont été obtenues au laboratoire ; l'application de différents programmes nutritionnels tout au long du cycle de reproduction, visait à modifier le vécu des géniteurs et donc leurs performances de reproduction.

A partir des traits biologiques des œufs et des larves, l'objectif est de construire une typologie de la qualité des pontes et de mettre en évidence les caractéristiques des ovocytes qui pourraient permettre la prédiction des performances de reproduction. Ceci pourrait permettre d'éviter par la suite le suivi long des pontes soumis aux aléas des structures et des opérateurs (variation de la qualité de l'eau, erreurs de comptage...).

Cependant, ces paramètres biologiques ne prennent pas en compte la composition de l'ovocyte : qualité du protéome, du transcriptome, du génome, de la composition vitelline...

A ce niveau, la composition du protéome nous semble d'un intérêt particulier, elle est dépendante des mécanismes de l'ovogenèse. Si le protéome des ovocytes de poissons commence à être exploré (Knoll-Gellida *et al.* 2006, Ziv *et al.*, 2008; Keyvanshokoo and Vaziri 2008), pour le moment, très peu d'études s'intéressent au lien avec la qualité des pontes (Yoshikuni *et al.*, 2003 ; Crespel *et al.*, 2008). Des protéines montrant des variations d'abondance, telle que la Nucléoside Diphosphatase Kinase chez le bar (Crespel *et al.*, 2008), ont cependant été mises en évidence. Aucune étude de la sorte n'a été réalisée pour la perche.

Ainsi, nous allons nous intéresser à la composition du protéome de pontes dont les performances ont été préalablement déterminées. Nous rechercherons des différences d'expression des protéines entre les différents groupes de qualité.

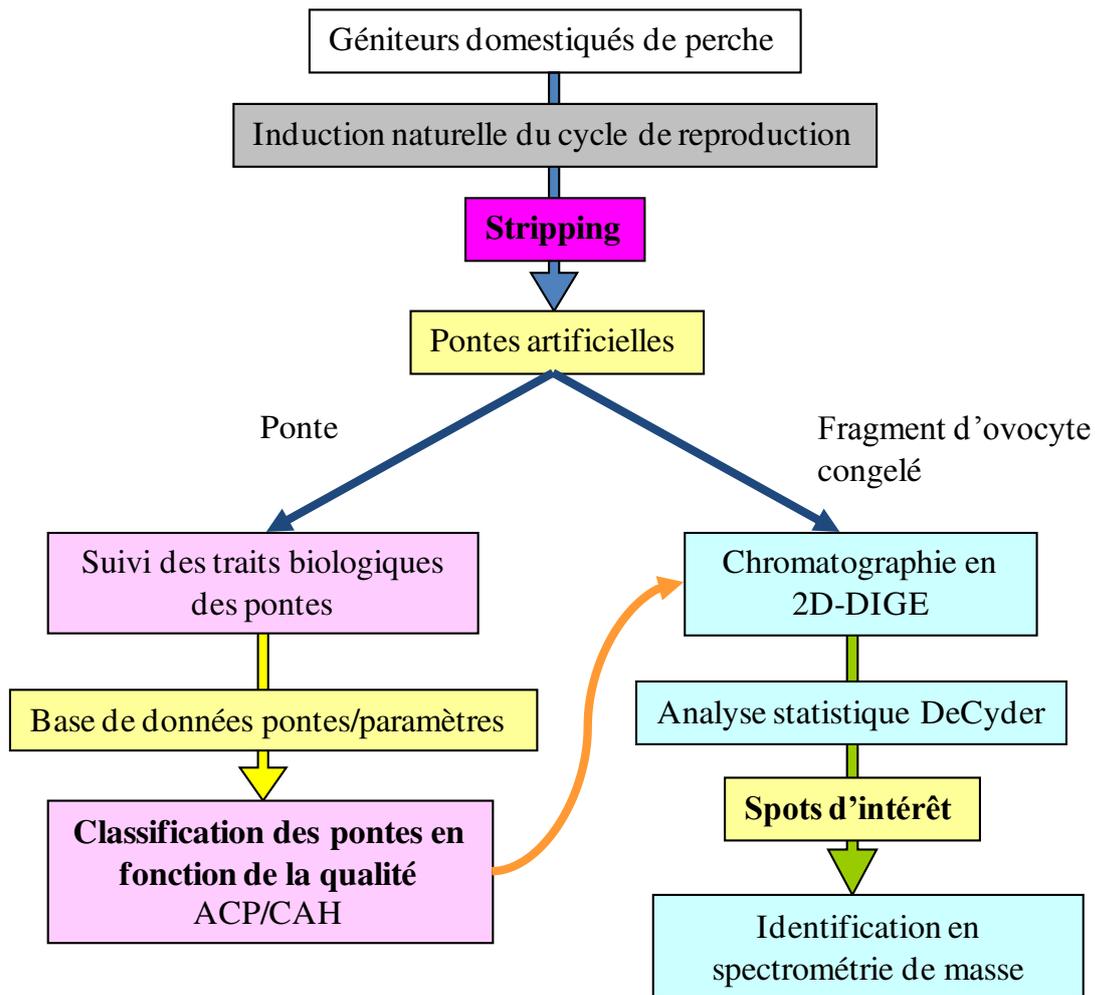
## I.2. Dispositif expérimental

Les pontes ont été obtenues de géniteurs de perches domestiquées (génération 10) élevés en conditions photo-thermiques naturelles sur le site expérimental de la Bouzule de juin 2008 à avril 2009. Six bassins expérimentaux contenaient chacun une centaine d'individus. Durant toute cette période, les géniteurs ont été nourris selon un plan factoriel fractionnaire identique à celui de l'expérience « Alimentation » (Tableau 26), avec le même objectif expérimental, c'est-à-dire étudier l'effet de facteurs alimentaires sur les performances de reproduction. Cependant, la perte de deux lots de géniteurs durant la période hivernale (forts gels) n'a pas permis l'analyse en plan multifactoriel. En revanche, les caractéristiques des pontes ont pu être étudiées.

Combinaison	N° bac	Facteurs nutritionnels quantitatifs		Facteurs nutritionnels qualitatifs	
		Type d'aliment pendant la vernalisation	Type d'aliment pendant la phase d'induction	Rationnement pendant la vernalisation	Rationnement pendant la phase d'induction
1	11	poisson fourrage	poisson fourrage	à satiété	à satiété
2	2	granulés	poisson fourrage	à satiété	jeûne
3	9	poisson fourrage	granulés	à satiété	jeûne
4	10	granulés	granulés	à satiété	à satiété
5	12	poisson fourrage	poisson fourrage	jeûne	jeûne
6	4	granulés	poisson fourrage	jeûne	à satiété
7	1	poisson fourrage	granulés	jeûne	à satiété
8	3	granulés	granulés	jeûne	jeûne

**Tableau 26 :** plan de rationnement des poissons de l'expérience « Qualité Œufs » ; deux bassins expérimentaux, les 3 et 12, ont été perdu au cours de l'hiver.

Le schéma de l'étude est présenté par la Figure 96. Après l'obtention d'une première ponte naturelle le 7 avril 2009, un suivi quotidien des femelles prêtes à pondre a permis l'obtention de pontes artificielles, sur la période du 8 avril au 3 mai 2009. Après avoir congelé un fragment de quelques grammes d'ovocytes dans de l'azote liquide, chaque ponte a été fécondée par le sperme de 3 mâles. Un suivi des traits biologiques a alors été réalisé pour chaque ponte.



**Suivi de la qualité**

**Analyse protéomique**

Figure 96 : Schéma de l'étude « Qualité Ovocytes »

A la fin de la saison de ponte, une analyse en composantes principales et une classification hiérarchique ascendante ont permis de classer les pontes en fonction de leur qualité et de leurs traits biologiques.

Le protéome de chaque ponte (lot d'ovocytes) a ensuite été analysé en technologie 2D-DIGE (collaboration avec les FUNDP, Belgique), afin de mettre en évidence d'éventuelles variations d'expression protéique en fonction de la qualité. Les spots d'intérêt obtenus ont été alors identifiés en spectrométrie de masse.

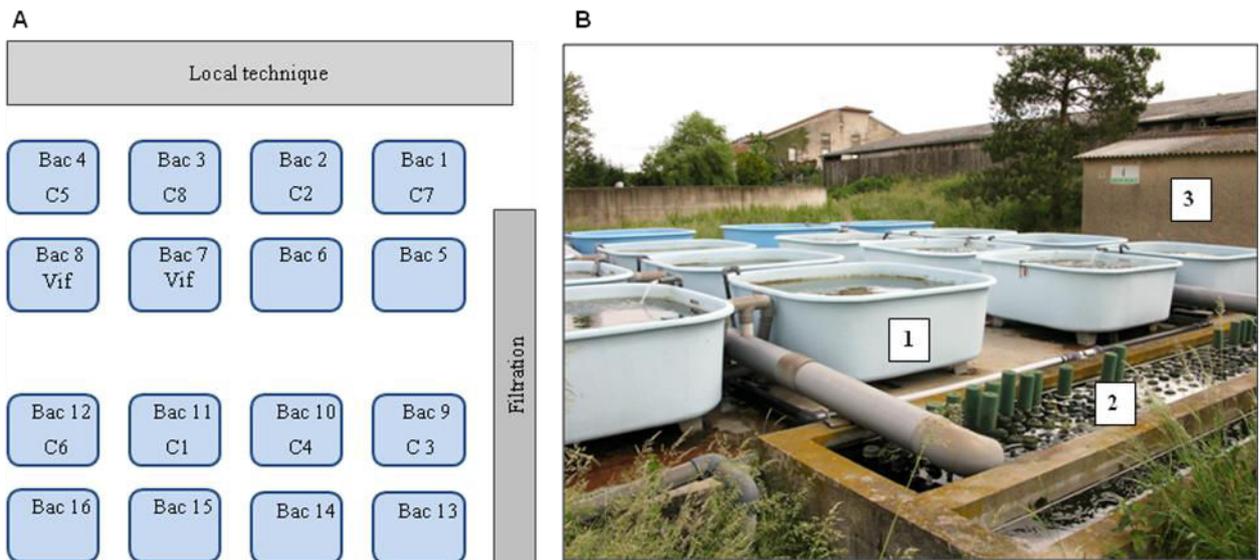
### **I.3. STRUCTURES EXPERIMENTALES**

#### ***I.3.1. Elevage des géniteurs en conditions photo-thermiques naturelles – Site expérimental de la Bouzule***

Le laboratoire possède des structures expérimentales en extérieur sur le site de « La Bouzule » (Domaine expérimental de l'ENSAIA, Laneuvelotte, Lorraine, France). Les structures suivantes sont présentes:

- Un local technique contenant une salle équipée d'un surpresseur fournissant l'air à l'ensemble des bassins expérimentaux ; une salle de manipulation où sont réalisées les dissections et la reproduction artificielle,

- Seize bassins rectangulaires de 3000L chacun disposés sur une dalle de béton (Figure 97). Un système de filtration commun (mousses en polyuréthane, type filtren T 30, LP Mousse) assure la filtration mécanique et biologique de l'eau. Après passage dans un réacteur à lampe UV (Phillips), une pompe renvoie l'eau dans les 16 bassins, puis le trop plein de chaque bassin se déverse dans un tuyau commun ramenant l'eau dans le bassin de filtration, contenant des mousses de filtration.



**Figure 97** : A. Disposition des structures expérimentales sur le site de la Bouzule (54) B. Photo du site ; 1. Bassins expérimentaux ; 2. Système de filtration 3. Local technique

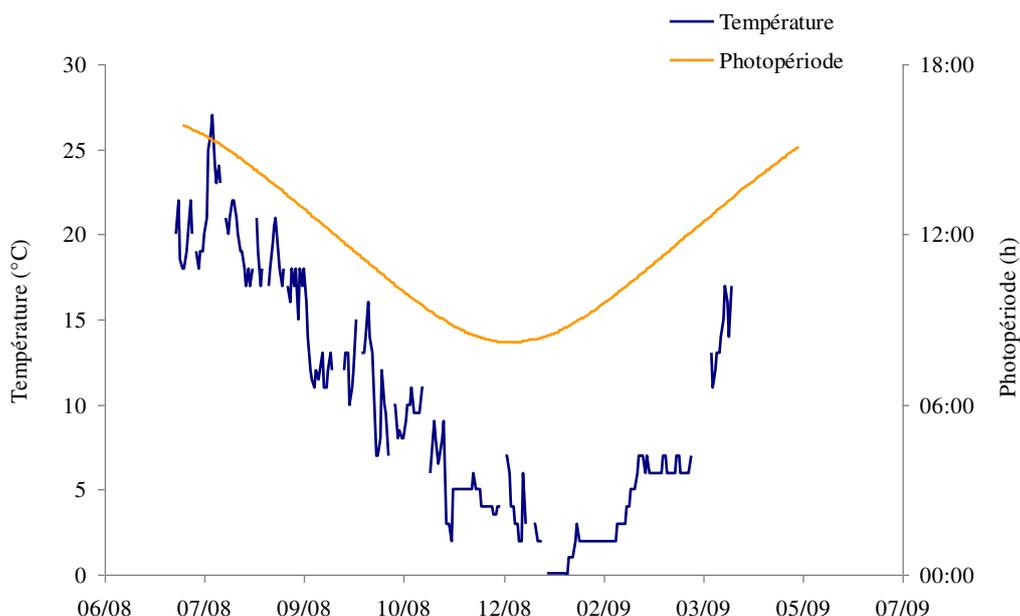
Un suivi de la qualité de l'eau de la station est réalisé une fois par semaine, comme décrit dans le paragraphe **I.4** de l'expérience « Alimentation ».

#### **I.4. ORIGINE DES GENITEURS**

Les géniteurs utilisés pour cette expérimentation sont des perches domestiquées provenant de la société « Lucas Perches » (Hampont, Moselle, France). Arrivés au laboratoire le 1<sup>er</sup> avril 2008, les 160 kg de poissons (poids moyen  $139 \pm 42$  g) sont répartis dans 3 bassins de 6000L. Ils sont nourris *ad libitum* jusqu'à leur transfert au site expérimental de « la Bouzule ». Le transfert a eu lieu le 23 juin 2008 et l'acclimatation a duré jusqu'au 7 juillet 2008.

#### **I.5. CONTROLE PHOTO-THERMIQUE DU CYCLE DE REPRODUCTION – CONDITIONS NATURELLES**

Les poissons de cette expérience ont été élevés dans des bassins extérieurs, en conditions de photopériode et température naturelles (Figure 98), durant l'ensemble des 10 mois expérimentaux (de juillet 2008 à avril 2009).



**Figure 98 :** Variations de la photopériode et de la température (eau des bassins) mesurées pendant toute la durée de l'expérimentation (juin 2008 – mai 2009).

## I.6. ALIMENTATION DES GENITEURS

Pendant la phase d'acclimatation, les poissons sont nourris quotidiennement à satiété avec des granulés de type « Ecolife 62 6,5 – BioMar ».

Lors des périodes expérimentales, deux types d'aliment sont utilisés :

- **Granulés « Ecolife 62 6,5 – BioMar » :** ces granulés sont également utilisés lors de l'expérimentation « Alimentation ». Une commande de 300kg est réalisée en mai 2008. Les sacs sont conservés à température ambiante, soit 20°C durant toute l'expérimentation.
- **Poisson fourrage :** Le poisson fourrage est fourni par des pisciculteurs locaux (GAEC piscicole du Saulnois, SARL Piscival les Sources) en fonction de la consommation des géniteurs de perche. Il est composé de petits cyprinidés (gardon, rotengle et petites carpes), stockés dans deux bassins de la station aquacole (bassins 7 et 8, Figure 97). Les poissons sont stockés 15 jours maximum en période estivale ( $T^{\circ} > 12^{\circ}\text{C}$ ), et jusqu'à un mois en période hivernale ( $T^{\circ} < 12^{\circ}\text{C}$ ). La distribution consiste à transférer à l'épuisette du poisson fourrage dans les bassins expérimentaux concernés. Les géniteurs peuvent ainsi se nourrir à volonté.

Les taux de rationnement utilisés sont ceux utilisés lors de l'expérimentation « Alimentation », soit **A satiété** ou avec des périodes de 15 jours de jeûne par mois, comme expliqué dans le chapitre **I.7.1.** de l'expérience « Alimentation ».

## **I.7. MARQUAGE ET SEXAGE DANS LES BASSINS EXPERIMENTAUX**

A la fin de la phase d'induction de la reproduction, soit les 15, 16 et 18 septembre 2008, l'ensemble des géniteurs est marqué par une micropuce et est sexé par un dosage hormonal tel que présenté dans le chapitre **I.8.** de l'expérience « Alimentation ». Ceci permet de connaître et de suivre le vécu des géniteurs durant l'ensemble de la période de reproduction.

## **I.8. SUIVI DE LA QUALITE DES PONTES**

### ***I.8.1. Obtention des ovocytes***

Toutes les pontes sont obtenues par fécondation artificielle. La qualité de chaque ponte est ensuite estimée par un suivi au laboratoire. Comme pour les expériences précédentes, la période de stripping (collecte des gamètes) des géniteurs de chaque unité expérimentale débute après l'obtention d'une première ponte naturelle. Les poissons sont alors pêchés quotidiennement afin de sélectionner les femelles prêtes à pondre. Dans le milieu naturel, les perches pondent à l'aube. Ainsi, la pêche a lieu juste avant l'aube, soit aux alentours de 5h00 du matin. La collecte des gamètes est réalisée comme expliqué dans le paragraphe **I.9.2.** de l'expérimentation « Alimentation ».

Pour chaque ponte, le jour de la ponte est noté. Les poids de la ponte et de la femelle après ponte sont notés. Un fragment du ruban non fécondé est collecté et immédiatement introduit dans des tubes de prélèvement de 1,5mL avant d'être congelé dans de l'azote liquide. L'ensemble des échantillons est par la suite conservé au congélateur à -80°C du laboratoire jusqu'aux analyses protéomiques.

Après fécondation, les œufs sont transférés dans l'écloserie, après un voyage de 20 minutes environ depuis la station de la Bouzule ; la température de transport est maintenue à 14°C environ, température moyenne à laquelle se déroule les ponte (sur l'ensemble des pontes) dans la station.

### ***1.8.2. Mesure des paramètres morpho-anatomiques sur les pontes et les ovocytes non fécondés***

Le suivi des pontes est identique à celui conduit pour les 2 précédentes expérimentations, comme décrit dans le paragraphe **I.9.2.** de l'expérimentation « Alimentation ». Il consiste à mesurer les paramètres suivant :

- Taille des ovocytes
- Poids des ovocytes
- Taux de fragmentation

### ***1.8.3. Suivi des œufs (après fécondation) et des larves***

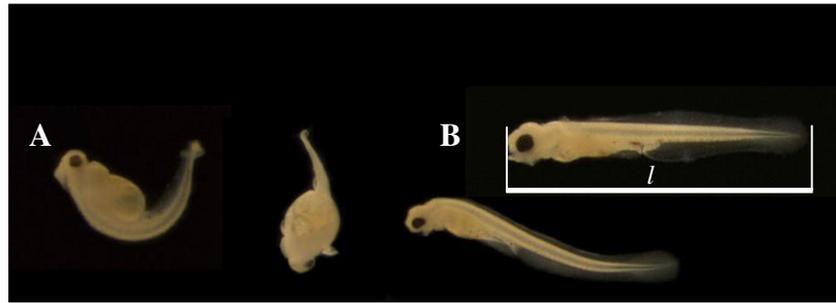
Les paramètres concernant la caractérisation des œufs sont également identiques à ceux présentés dans le paragraphe **I.9.2.** de l'expérimentation « Alimentation », soit :

- Taux de fécondation : le pourcentage d'œufs fécondés est mesuré 3 jours après la fécondation, sur trois fragments d'une centaine d'œufs chacun.
- Taux d'éclosion : il correspond au pourcentage de larves écloses sur la ponte. Trois fragments d'une centaine d'œufs chacun sont mis à incuber dans trois isoloirs. Le nombre d'œufs exact est déterminé pour chaque fragment. A la fin des éclosions, les larves écloses sont prélevées et conservées dans du formol (70%) pour un comptage ultérieur.

Les paramètres suivants sont également mesurés :

- Taux de malformation larvaire : Un comptage du nombre de larves malformées est effectué sur les larves prélevées précédemment (Figure 99A). Le taux de malformation larvaire correspond au nombre de larves malformées sur le nombre de larves total.
- Taille des larves à l'éclosion : Trois jours après le début de l'éclosion massive, 50 larves sont prélevées au hasard et fixées dans une solution de formol à 10%. Elles sont ensuite mesurées (mm) individuellement à la loupe binoculaire (Figure 99B).
- Taux de survie larvaire à 7 jours : Trois lots de 100 larves sont placés dans trois isoloirs dès la fin de la période d'éclosion. Le nombre de larves vivantes est compté au bout de 7 jours. Les larves ne sont pas alimentées pendant cette période ; elles subsistent grâce à leurs réserves vitellines (phase d'endotrophie). Le taux de survie larvaire correspond au nombre de larves vivantes à 7 jours sur le nombre de larves introduites dans l'isoloir initialement.
- Taux de survie au jeûne : Cela consiste à mesurer le temps en jours pour obtenir 50% de morts parmi les larves (DL50) lorsqu'elles ne sont pas nourries, (Migaud, 2002). Trois lots de 100 larves par ponte sont maintenus, de l'éclosion à leur mort, dans une clayette sans être

alimentés. Un dénombrement quotidien des larves mortes est réalisé, jusqu'à l'obtention de 50 morts. La durée de l'expérience est mesurée en nombre de jours (= DL50).



**Figure 99:** Illustration de paramètres mesurés sur les larves. A. Exemples de larves malformées; B. Mesure de la longueur des larves (l) à l'éclosion.

L'ensemble des paramètres mesurés lors du suivi d'une ponte est présenté dans le Tableau 27.

## **I.9. DETERMINATION DE DIFFERENTS GROUPES DE QUALITE**

### ***I.9.1. Etude statistique des paramètres reproducteurs***

Afin de hiérarchiser l'ensemble des paramètres de reproduction mesurés à partir de chaque ponte étudiée, une Analyse en Composantes Principales (ACP) est réalisée grâce au logiciel SPAD 7.0. Les variables actives correspondent aux 8 variables suivantes : taux de fécondation ; taux d'éclosion ; durée d'incubation ; durée d'éclosion ; taux de malformation larvaire ; taille des larves à l'éclosion ; taux de survie larvaire à 7 jours et taux de survie au jeûne). Les variables illustratives correspondent aux 6 variables suivantes : poids de la femelle ; poids de la ponte ; date de ponte ; poids ovocytaire ; taux de fragmentation et diamètre ovocytaire. Chaque ponte a été suivie en triplicata, ce qui correspond à trois individus ; ainsi, 40 individus ont été étudiés lors de l'analyse. L'ACP est suivie par une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) réalisée à l'aide également du logiciel SPAD 7.0. La représentativité d'un point est évaluée grâce aux valeurs test correspondantes, qui correspondent à la mesure de la distance entre le point et le centre de gravité en nombre d'écart-types. Les variables présentant une valeur test  $>2$  sont considérées comme caractérisant de manière significative le groupe de données correspondant (Morineau et Alujanet, 1998).

<b>Paramètres</b>	<b>Moment de la mesure</b>	<b>Calcul</b>
<i>Poids des femelles</i>	<i>Jour de la ponte</i>	
<i>Poids de la ponte</i>	<i>Jour de la ponte</i>	
<i>Date de ponte</i>	<i>Jour de la ponte</i>	<i>Nombre de jours à partir de la première ponte de la saison dans la station</i>
<i>Poids ovocytaire individuel</i>	<i>Jour de la ponte</i>	
<i>Taux de fragmentation</i>	<i>Jour de la ponte</i>	<i>Pourcentage d'œufs libres</i>
<i>Diamètre ovocytaire</i>	<i>Jour de la ponte</i>	
Taux de fécondation	72h après la fécondation	Nombre d'œufs fécondés / nombre total d'œufs
Taux d'éclosion	Fin des éclosions	(Nombre d'œufs éclos / nombre total de larves) x100
Durée d'incubation	Début des éclosions	Nombre de jours entre la ponte et les premières éclosions
Durée d'éclosion	Fin des éclosions	Nombre de jours entre les premières éclosions et les dernières
Taux de malformation larvaire	Fin de l'éclosion	(Nombre de larves malformées / nombre totale de larves) x100
Taille des larves à l'éclosion	Fin de l'éclosion	
Taux de survie larvaire à 7 jours	7 jours après la fin des éclosions	(Nombre de larves vivantes à 7 jours / nombre de larves initial) x100
Taux de survie au jeûne	Tous les jours depuis la fin des éclosions jusqu'à la mort de 50% des larves	Nombre de jour pour atteindre 50% de mortalité

**Tableau 27 :** Liste des paramètres étudiés lors du suivi des pontes. Les paramètres en italique correspondent aux variables caractérisant les femelles et les ovocytes ; tandis que les autres paramètres correspondent aux variables caractérisant les pontes.

### ***1.9.2. Comparaison des moyennes intergroupes***

Une ANOVA a été réalisée grâce au logiciel SAS 9.1 system via une procédure GLM et Univariate (SAS/STAT® User's Guide, 1989). Les effets testés sont ceux des 3 groupes de qualité déterminés par l'analyse de donnée (ACP et CAH) (ddl = 2). Les moyennes ajustées ont été comparées par un test de Tukey pour les variables suivant une loi normale (poids et diamètre ovocytaire ;  $p < 0,05$ ). Les variables ne suivant pas une loi normale ont été comparées par un test de Kruskal Wallis (poids des femelles, poids de la ponte, moment de ponte, taux de fragmentation).

### **I.10. ANALYSE DU PROTEOME DES OVOCYTES DE PERCHE : 2D-DIGE**

Cette analyse est réalisée sur les échantillons d'ovocytes non fécondés prélevés sur chaque ponte et conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  (voir **I.8.1.**), en collaboration avec l'équipe URBE (FUNDP) de Namur. Parmi les 20 pontes obtenues et étudiées lors du suivi, 16 au total ont été étudiées en 2D-DIGE ; elles correspondaient aux pontes les plus représentatives de chaque groupe de qualité, déterminé par l'analyse de données (voir **I.10.**). L'analyse consiste à comparer le niveau d'expression de chaque protéine présente dans le protéome des ovocytes étudiés.

La 2D-DIGE consiste à séparer les protéines extraites des ovocytes à étudier et marquées par différentes cyanines, grâce à une électrophorèse en 2 dimensions. Deux échantillons protéiques colorés par 2 cyanines (3 et 5) ainsi qu'un standard interne (mélange homogène de l'ensemble des échantillons étudiés, soit des 16 pontes) coloré par une troisième cyanine (2) sont déposés en quantité strictement identique sur chaque gel d'électrophorèse. Ainsi, après migration, chaque spot est constitué d'une ou plusieurs protéines provenant des 2 échantillons analysés, et des protéines du standard interne dont la quantité est identique entre chaque gel analysé. L'abondance protéique relative des 2 échantillons par rapport au standard est alors calculée pour chaque spot, grâce à la différence de fluorescence des cyanines. L'analyse informatique des gels permet ensuite de comparer les spots entre les différents gels et de déterminer ceux dont l'abondance relative varie en fonction de la qualité des ovocytes.

Les protéines présentes dans ces spots seront alors identifiées en spectrométrie de masse.

### ***1.10.1. Extraction des protéines***

L'échantillon est pesé sur une balance de précision. La quantité analysée par échantillon est d'environ 150 mg (~50-75 œufs). Le broyage de l'échantillon (3 x 15 secondes) est réalisé dans un tube de verre grâce à un homogénéisateur à tige de verre dans du tampon RIPA (NP40 1%; Triton X100 1%; CHAPS 1%; IPG (roche) 1/50; NaF 1%; Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 1%), à raison de 400 µL de tampon d'extraction pour 100µg d'échantillon. Le broyat est récupéré dans un microtube de 1,5 mL. Une sonication est alors réalisée, à raison de 3 étapes de 15 secondes, séparées de 15 secondes de repos sur de la glace. L'homogénat est ensuite centrifugé 15 min à 14000g à 4°C. Le surnageant est récupéré.

### ***1.10.2. Précipitation et rinçage des protéines***

Quatre volumes d'acétone pure froids sont ajoutés à l'extrait protéique (soit 300 µL d'extrait protéique + 1,2 mL d'acétone dans un microtube de 1,5 mL). Les protéines précipitent en formant un agrégat blanc. L'échantillon est laissé 2h au congélateur à -20°C. Une centrifugation à 10 000g pendant 10 min à 4°C est alors réalisée. Après élimination du surnageant, 1 mL d'acétone pure froid (-20°C) est alors ajouté sur l'agrégat de protéines. Après une homogénéisation par inversion, le mélange est centrifugé 5 min à 10 000 g à 4°C. Le surnageant est éliminé. Ce processus (acétone - homogénéisation - centrifugation – élimination du surnageant) est répété 4 fois. Lors du dernier rinçage, les protéines sont laissées entre 30 minutes et 1 heure dans l'acétone pur à -20°C avant la centrifugation. Une fois le surnageant du dernier rinçage éliminé, le tube est laissé à l'air libre, à température ambiante afin de permettre l'évaporation de l'acétone. L'agrégat de protéines est ensuite dissous dans 200 µL de tampon DLA (Urée 7M ; Thiourée 2M ; CHAPS 4% ; Tris-HCl 30 mM pH 8,5 ; fournisseur : PlusOne de GEHealthcare – labo Proteomics) à température ambiante. Afin de faciliter la dissolution, le microtube est vortexé trois fois (3 x 15 s), puis une sonication est alors réalisée trois fois (3 x 15 s) ; chaque action (vortexage ou sonication) est suivie d'une période de refroidissement dans de l'eau glacée (15 s).

### ***1.10.3. Dosage des protéines***

Les protéines sont dosées grâce à un kit Pierce 660 (GE Healthcare) par une méthode colorimétrique. Le dosage est réalisé dans une plaque de 96 puits, et l'absorbance est mesurée à 660nm. Les différents extraits protéiques sont dosés dans une plaque multi puits à fond plat. Une courbe étalon est réalisée grâce à du BSA (Bovine Serum Albumine) (0, 1, 2, 4 et 8 µL de BSA stock 2 mg / mL) et le blanc correspond au DLA, tampon de dissolution des

protéines. Pour chaque échantillon mesuré, 1µl de solution de protéines est analysé. La lecture est réalisée à 660nm au lecteur de plaques après 5 minutes d'incubation. Les concentrations obtenues lors des extractions des protéines des différentes pontes sont présentées dans l'annexe 11.

#### ***1.10.4. Electrophorèse 2D – Coloration DIGE***

##### **Première dimension (Isoélectrofocalisation) :**

###### *Marquage par les cyanines*

Après dosage des protéines, la concentration est ajustée si besoin à environ 10 µg.mL<sup>-1</sup> (minimum de 2 µg.mL<sup>-1</sup>). Le pH des solutions d'échantillon est ajusté à 8.5 par une mesure sur papier pH grâce à l'ajout de soude (50 mM). Après centrifugation (10 min à 13 000 g), un dosage Pierce 660 nm précis des protéines est à nouveau réalisé, comme expliqué dans le paragraphe **I.9.3**.

Le marquage est réalisé par 3 types de cyanine : Cy 2, Cy 3 et Cy 5. Pour chaque gel, il s'agit de faire migrer 2 échantillons de 25 µg de protéines marquées aux Cy 3 et 5, et 27.5 µg de protéines du standard interne coloré aux Cy 2.

Quantité de protéines par échantillon			
Ponte 6	2,99 µl	Ponte 34	3,53 µl
Ponte 20	4,82 µl	Ponte 35	4,54 µl
Ponte 21	3,26 µl	Ponte 36	4,55 µl
Ponte 22	4,96 µl	Ponte 37	4,35 µl
Ponte 25	4,98 µl	Ponte 38	4,51 µl
Ponte 26	3,03 µl	Ponte 39	4,35 µl
Ponte 28	4,38 µl	Ponte 40	2,26 µl
Ponte 33	3,46 µl	Ponte 42	3,11 µl
Total dans le standard			27,5 µl
Quantité totale de protéines (µg)			495 µg

**Tableau 28 :** Préparation du standard : mélange homogène de l'ensemble des extraits protéiques étudiés, afin d'obtenir une quantité finale de 27.5µL de protéine.

Chaque cyanine est diluée dans du Di Méthyl Formamide et conservée à l'abri de la lumière dans de la glace. Le standard est préparé selon le Tableau 28, soit un mélange homogène de l'ensemble des échantillons, puis marqué avec la Cy 2 (1 µL). Les échantillons sont marqués

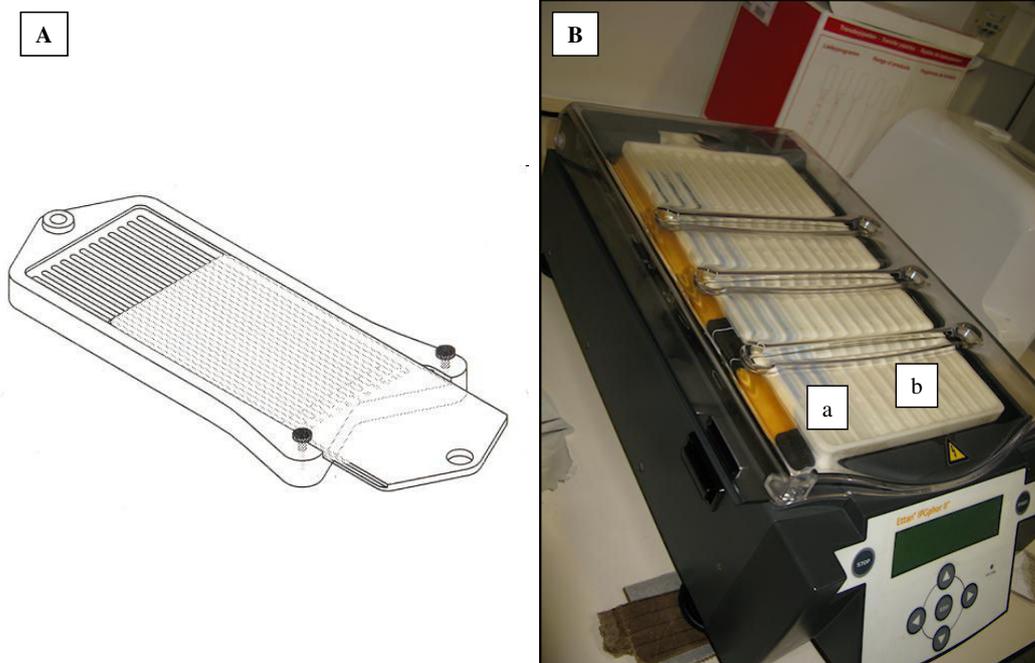
ensuite (Annexes 12), à raison de 1 $\mu$ L de cyanine pour 25  $\mu$ g de protéines. Après 30min au noir et sur de la glace, 1 $\mu$ l de solution de lysine (18 mg / 10mL) est ajouté à chaque solution de protéines et les échantillons sont laissés à incuber 10 min.

### Réduction

Une fois le marquage réalisé, les solutions de protéines sont mélangées, soit sur chaque gel : 27,5  $\mu$ g de protéines du standard colorés par Cy 2 + 25  $\mu$ g de protéines colorés par Cy 3 + 25  $\mu$ g de protéines colorées par Cy 5. La réduction a alors lieu pendant 15 min, par l'ajout d'un volume équivalent de tampon de réduction auquel sont rajoutés du DTT (dithiothreitol) (20 mg.mL<sup>-1</sup>) et de tampon IPG 4-7 (Immobilized PH Gradients) (20  $\mu$ l.mL<sup>-1</sup>).

### Iso Electro focalisation (IEF)

Les gels utilisés en première dimension correspondent à des strips de 24cm, pH 4-7. Ces strips sont réhydratés avec du tampon de réhydratation (Urée 7M ; Thiourée 2 M ; CHAPS 2 % ; Bleu de bromophénol 0,00 2% ; IPG 0,5 % ; DTT 20 mM) pendant 10 à 20 h avant la migration en première dimension. La réhydratation est réalisée dans un « *reswelling tray* » (Figure 100 A); le gel du strip est mis en contact avec la solution de réhydratation contenant l'échantillon protéique ; de l'huile est rajoutée par-dessus afin d'éviter une évaporation pendant la réhydratation.



**Figure 100 :** (A) « *Reswelling tray* ». (B) Unité de focalisation isoélectrique Ettan IPGphor GE Healthcare. a : Strips ; b : Manifold.

La migration a lieu sur une unité de focalisation isoélectrique Ettan™ IPGphor (GE Healthcare) (Figure 100 B). De l'huile (108 mL) est placée sur le manifold afin d'isoler les strips. La liaison électrique entre l'électrode et le strip est possible grâce à du papier wick imbibé de 150µl d'eau désionisée. Après un test du voltage, les protéines sont chargées dans des puits placés du côté positif du montage (150 µl au maximum par puits).

Le programme de migration est présenté dans le Tableau 29. La durée totale de la migration est de 16h00. Dès la fin de la migration, l'IEF est arrêtée. Les strips sont utilisés immédiatement pour la 2<sup>ième</sup> dimension.

3h à 300V	Etape continue
6h à 1000V	Gradient
3h à 8000V	Gradient
8000V pour 50 000Vh (6h)	Etape continue

**Tableau 29** : Programme de migration utilisé lors de l'IEF

- **Deuxième dimension** :

*Préparation des gels de 24 cm*

Des gels de polyacrylamide utilisés pour la deuxième dimension sont coulés entre des plaques de verre de 30\*20cm. Après avoir nettoyé les plaques à l'éthanol, celles-ci sont placées dans le caster, servant à les maintenir pendant la polymérisation. La solution d'acrylamide est alors préparée. La solution suivante est réalisée : Acrylamide 10%, Tris HCl pH 8,8 0,375 M, SDS 0.1% (Sodium Dodecyl Sulfate). Après mélange, du Temed 0.033% (N, N, N', N'-tétraméthyléthylènediamine) est ajouté. Le gel est coulé immédiatement après l'ajout de l'APS 0,05% (Ammonium persulfate). La polymérisation a lieu en 30 min, mais les gels sont laissés au repos 5 heures afin d'éviter toute déformation.

*Equilibrage des strips*

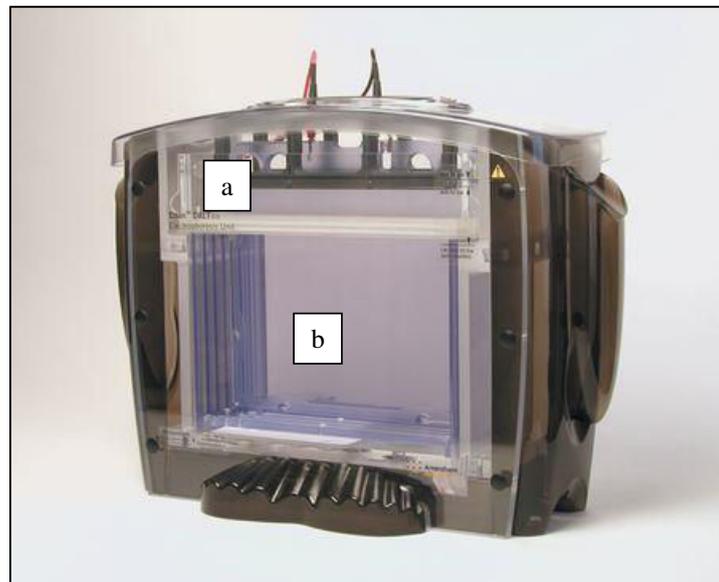
L'équilibrage, permettant de faire perdre la structure secondaire aux protéines, consiste en 2 bains dans du tampon d'équilibrage (TE ; Tris-HCl 50 mM pH 8,8, Urée 6M, Glycérol 30%, DSD 2%, Bleu de Bromophénol 0,002%, 100 mg.mL<sup>-1</sup> de DTT). Il consiste à laisser les strips 15 minutes dans du TE avec du DTT 20 mg.mL<sup>-1</sup>, puis 15 minutes dans du TE avec de l'iodoacétamylde 25 mg.mL<sup>-1</sup>.

### *Migration de la deuxième dimension*

La migration selon la deuxième dimension débute immédiatement après l'équilibrage. Après un rinçage dans du tampon d'électrophorèse, le strip est inséré entre des plaques en verre au contact du gel polyacrylamide ; un gel d'agarose est rapidement coulé par-dessus afin de permettre un contact entre le strip et le gel d'acrylamide. L'ensemble est alors placé dans une unité d'électrophorèse Ettan DALTsix (GE Healthcare) (Figure 101). La cuve supérieure est remplie de tampon d'électrophorèse (Tris :  $0,3 \text{ g.L}^{-1}$ , Glycine :  $5,4 \text{ g.L}^{-1}$ ) avec 0.2% de SDS, tandis que la cuve inférieure est complétée par le tampon d'électrophorèse avec 0.1% de SDS. La migration est réalisée à 200 V et 0.5 W par gel, pendant environ 16h, jusqu'à ce que le front de migration soit arrivé en bas du gel. La fin de la migration peut être accélérée par une augmentation graduelle de la puissance par gel.

### *Scan*

Une fois la migration terminée, les gels sont scannés dans le département URBC (FUNDP, Namur) grâce à un Typhoon imager (GE Healthcare). La résolution est de  $100 \mu\text{m}$ . Pour chaque gel, trois scans sont réalisés à trois longueurs d'onde différentes (488 nm pour la Cy2, 532 nm pour la Cy3, 633 nm pour la Cy5). L'analyse des scans est réalisée grâce au logiciel DeCyder (EDA 5.0 software, GE Healthcare).



**Figure 101:** Unité d'électrophorèse Ettan DALTsix (GE Healthcare). A : Cuve supérieure (tampon d'électrophorèse + 0.2% de SDS) ; b : Cuve inférieure (tampon d'électrophorèse + 0.1% de SDS)

### ***I.10.5. Détermination des spots d'intérêt***

Les spots d'intérêt ont été déterminés par ANOVA ( $p < 0,05$ ) : pour chaque spot, les moyennes d'abondance relative de chaque groupe de qualité ont été comparées par le logiciel DeCyder EDA 5.0 software (GE Healthcare). Cette analyse permet de mettre en évidence l'effet des groupes de qualité sur le contenu protéique des ovocytes.

### ***I.10.6. Electrophorèse 2D – Coloration au ruthénium – Picking***

Une fois le traitement de l'ensemble des pontes réalisé grâce au logiciel DeCyder, des spots ont été sélectionnés et identifiés par spectrométrie de masse. Deux gels d'électrophorèse en 2D sont alors réalisés dans des conditions similaires à celles utilisées en 2D-DIGE. La coloration des protéines est réalisée au ruthénium pour permettre l'analyse spectrométrique.

-

#### **Première dimension (Isoélectrofocalisation) :**

La première dimension est réalisée sur des strips de 24 cm, pH 4-7 de la même manière que présenté dans le paragraphe **I.9.4**. Les strips sont réhydratés avec 350  $\mu\text{g}$  de protéines non marquées d'un échantillon choisi au hasard (ponte 16).

#### **Deuxième dimension :**

##### *Préparation des gels de 24cm*

Les gels sont coulés comme décrit dans le paragraphe **I.10.4**. La différence réside dans le traitement de l'une des 2 plaques par une solution de Silane (éthanol 80 %, acide acétique glacial 2%, 1 mL.L<sup>-1</sup> de Silane). Après équilibrage, les strips sont insérés dans les gels 2D et la migration est réalisée comme décrit dans le paragraphe précédent.

##### *Coloration au ruthénium*

La plaque est ouverte, puis la plaque portant le gel est tout d'abord lavée et agitée sur deux périodes de 30 min dans une solution éthanol 40% - acide acétique 10% - eau ultra-pure 50%. Après 5 min sous une agitation dans de l'eau ultra-pure, le gel est incubé toute la nuit dans une solution de krypton (7  $\mu\text{L}$  de ruthénium pour 1 L d'éthanol 20%). Le lendemain, le gel est rincé une première fois dans une solution d'acide acétique 5% (5 min), puis deux fois dans de l'eau ultra-pure (15 min) avant d'être scanné pour être piqué.

### *Piquage*

Les spots sont alors excisés des gels par une unité Ettan™ Spot Picker (GE Healthcare) et stockés à -80°C.

#### - **Identification en spectrométrie MS-MS :**

Après 2 rinçages à l'eau distillée, les morceaux de gels sont dissous avec de l'acétonitrile 100%. La protéolyse est réalisée à 37°C pendant une nuit grâce à l'addition de 3 µL de trypsine modifiée (Promega) suspendus dans du tampon froid (100 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>). Le surnageant est alors récupéré et combiné avec l'éluant d'une élution précédente auquel sont ajoutés 5% d'acide formique. La solution obtenue est conservée à -20°C jusqu'à l'analyse.

Les peptides sont séparés par chromatographie liquide en phase inversée, par une colonne Dionex de phase inverse 75 µm x 150 mm (Acclaim PepMap 100 C18) montée dans un système de chromatographie 2D-LC Dionex UltiMate 3000 couplé à un spectromètre de masse nano-LC-ESI-MS/MS MaXis UHR-TOF. La phase mobile A est composée de 95% d'acide formique 0.1% et d'acétonitrile 5% dans de l'eau, et la phase mobile B est constituée d'acide formique 0.1% dans de l'acétonitrile. Dans la colonne, 1 µL de protéines trypsinées est injecté et le contenu organique de la phase mobile B est initialement augmenté linéairement de 5 à 40% pendant 40 min, puis de 40 à 100% en 5 min. L'effluent de la colonne est alors connecté à un ionisateur ESI nano Sprayer (Bruker). Sur le scan de contrôle, les spectres MS sont alors acquis pour 0,5 s dans la gamme m/z comprise entre 50 et 2200. Les 3 peptides ionisés 2+ ou 3+ sont alors séquencés. L'énergie de Dissociation Induite par Collision (DIC) est ajustée automatiquement en fonction du rapport de la masse sur la charge (m/z) et du statut de la charge de l'ion précurseur. Les systèmes MaXis et Dionex sont pilotés par le logiciel de contrôle Compass HyStar 3.2 (Bruker). La liste des pics est créée par le logiciel DataAnalysis 4.0 (Bruker) et sauvegardée en tant que fichier XML pour être ensuite utilisée par ProteinScape 2.0 (Bruker) avec comme moteur de recherche Mascot 2.2 (Matrix Science). La spécificité enzymatique est ajustée à la trypsine, et le nombre maximum de clivages par peptide est ajusté à 1. La carbamidométhylation est acceptée comme une modification fixe et l'oxydation de la méthionine comme une modification variable. La tolérance de masse pour un peptide mono-isotopique est de 10 ppm et la tolérance MS/MS a été fixée à 0.05 Da.

L'identification des pics a été réalisée sur la banque de données full NCBI (9 694 989 séquences chargées au 15 Septembre 2009). Le logiciel Scaffold (version Scaffold-2\_06\_01, Proteome Software Inc., Portland, OR, USA) a permis la validation des peptides et l'identification protéique. Tous les échantillons MS/MS ont été analysés grâce au logiciel Mascot (Matrix Science, London, UK; version 2.2) et X! Tandem (The GPM, thegpm.org; version 2007.01.01.).

L'identification peptidique a été acceptée si la probabilité dépassait 95% comme spécifié par l'algorithme « Peptide Prophet » (Keller *et al.*, 2002). L'identification protéique a été validée lorsque la probabilité était supérieure à 99% et contenait au moins un peptide identifié. Les probabilités des protéines ont été calculées par l'algorithme « Protein Prophet » (Nesvizhskii *et al.*, 2003).

## **II. RESULTATS**

### **II.1. CLASSIFICATION DES PONTES**

Lors de la saison de ponte, nous avons pu collecter, féconder et étudier 20 pontes de perches. Parmi elles, 14 ont permis l'obtention de larves ; 6 pontes n'ont pas développé d'embryon et présentaient un taux de fécondation nul à 3 jours. Ces 6 pontes permettent de définir une classe de pontes de mauvaise qualité (MQ). Pour les 14 pontes ayant permis l'obtention de larves, les 14 paramètres présentés dans le Tableau 27 ont été mesurés, tandis que seuls les paramètres mesurés avant fécondation ont été mesurés pour les pontes de mauvaise qualité.

#### ***II.1.1. Caractérisation des axes de l'Analyse en Composantes Principales***

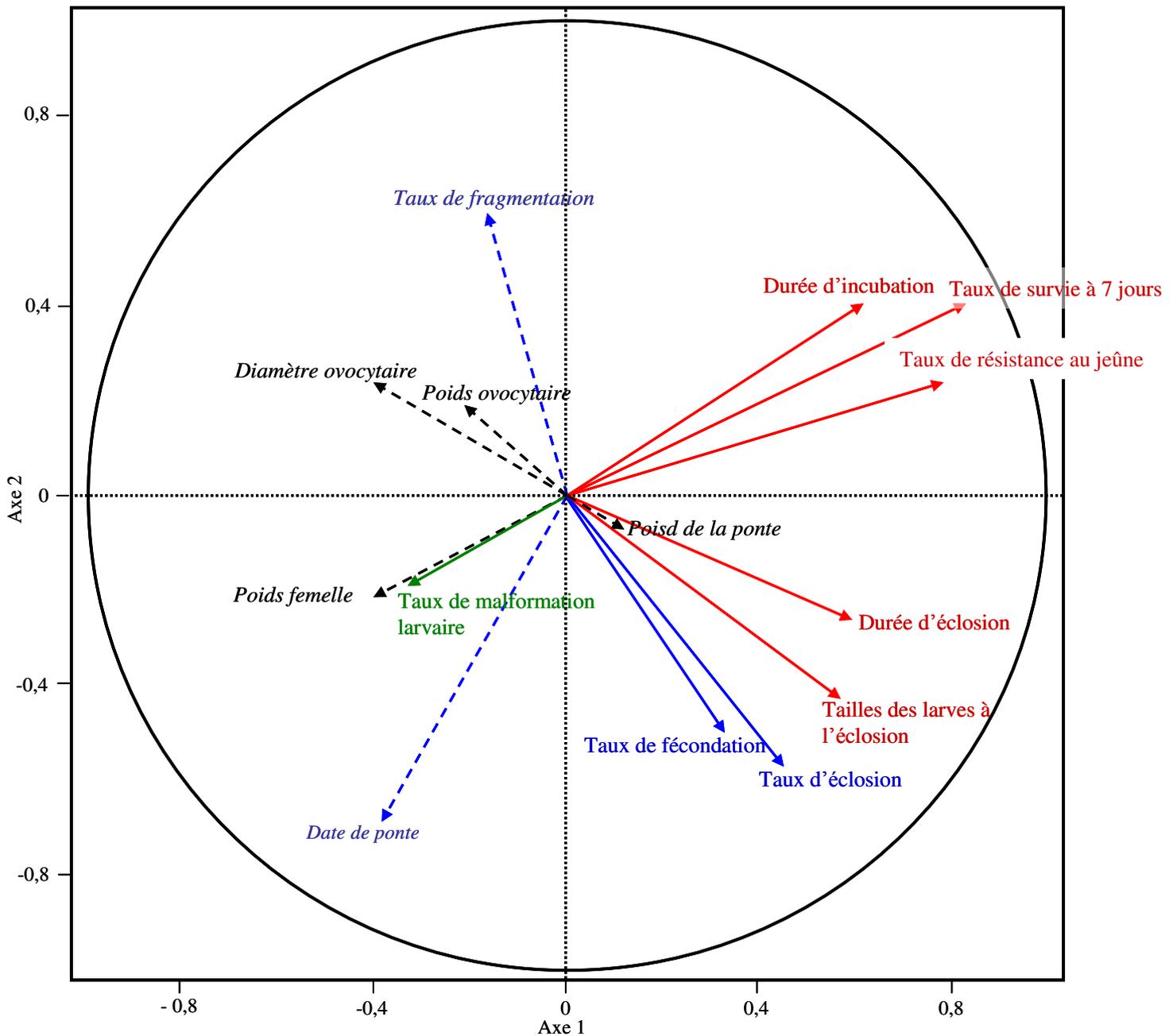
L'ACP a permis de mettre en évidence 3 axes principaux expliquant 63% de l'inertie (Figure 102). Le premier axe (35% de l'inertie) est principalement caractérisé par les paramètres larvaires étudiés (taux de survie à 7 jours :  $r = 0.84$  ; taux de résistance au jeûne :  $r = 0.77$  ; taille des larves à l'éclosion :  $r = 0.57$ ), ainsi que par certains paramètres d'incubation (durée d'incubation :  $r = 0.62$ , durée d'éclosion :  $r = 0.60$ ). Aucun paramètre illustratif ne

s'associe à ces valeurs de façon significative. L'axe 2 explique 15% de l'inertie et est caractérisé par les taux d'éclosion ( $r = -0.58$ ) et de fécondation ( $r = -0.49$ ), qui s'associent au taux de fragmentation des pontes ( $r = 0.61$ ) et à la date de ponte ( $r = -0.69$ ). Le troisième axe (13% de l'inertie) est principalement caractérisé par le taux de malformation larvaire ( $r = -0.82\%$ ) ; aucune variable illustrative n'est associée à cet axe 3.

L'observation des corrélations entre les variables montre une corrélation de 0.77 entre le taux de survie larvaire et la résistance au jeûne, ainsi qu'une corrélation de 0.60 entre la durée d'incubation et la taille des larves à l'éclosion. Les autres corrélations sont inférieures à 0.50 (Tableau 30).

	Taux de fécondation	Taux d'éclosion	Durée d'incubation	Durée d'éclosion	Taux de malformation larvaire	Taille des larves à l'éclosion	Taux de survie larvaire à 7 jours	Taux de survie au jeûne
Taux de fécondation	1							
Taux d'éclosion	0,27	1						
Durée d'incubation	0,08	0,01	1					
Durée d'éclosion	0,12	0,15	0,15	1				
Taux de malformation larvaire	0,07	-0,21	-0,15	-0,02	1			
Taille des larves à l'éclosion	0,14	0,34	0,36	0,49	-0,15	1		
Taux de survie larvaire à 7 jours	0,14	0,17	0,60	0,35	-0,24	0,23	1	
Taux de survie au jeûne	0,23	0,28	0,31	0,41	-0,20	0,09	0,77	1

**Tableau 30** : Matrice des corrélations entre les variables actives de l'analyse en composantes principales.



**Figure 102 :** Cercle des corrélations de l'analyse en composantes principales. Projection sur le plan 1-2. Les vecteurs en pointillés représentent les variables illustratives; les vecteurs pleins correspondent aux variables actives. Les variables structurant les axes sont représentées en rouge pour l'axe 1, bleu pour l'axe 2 et vert pour l'axe 3. Les variables en noir ne structurent aucun axe.

### ***II.1.2. Détermination de deux classes correspondant à deux qualités de ponte***

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) a permis l'identification de 2 classes de pontes (Figure 103), toutes 2 caractérisées par l'axe 1 et de coordonnées opposées. Chaque classe comprend 20 individus (correspondant aux fragments de ponte) provenant de 7 pontes. La première classe (A), identifiée comme la classe de haute qualité (HQ), correspond

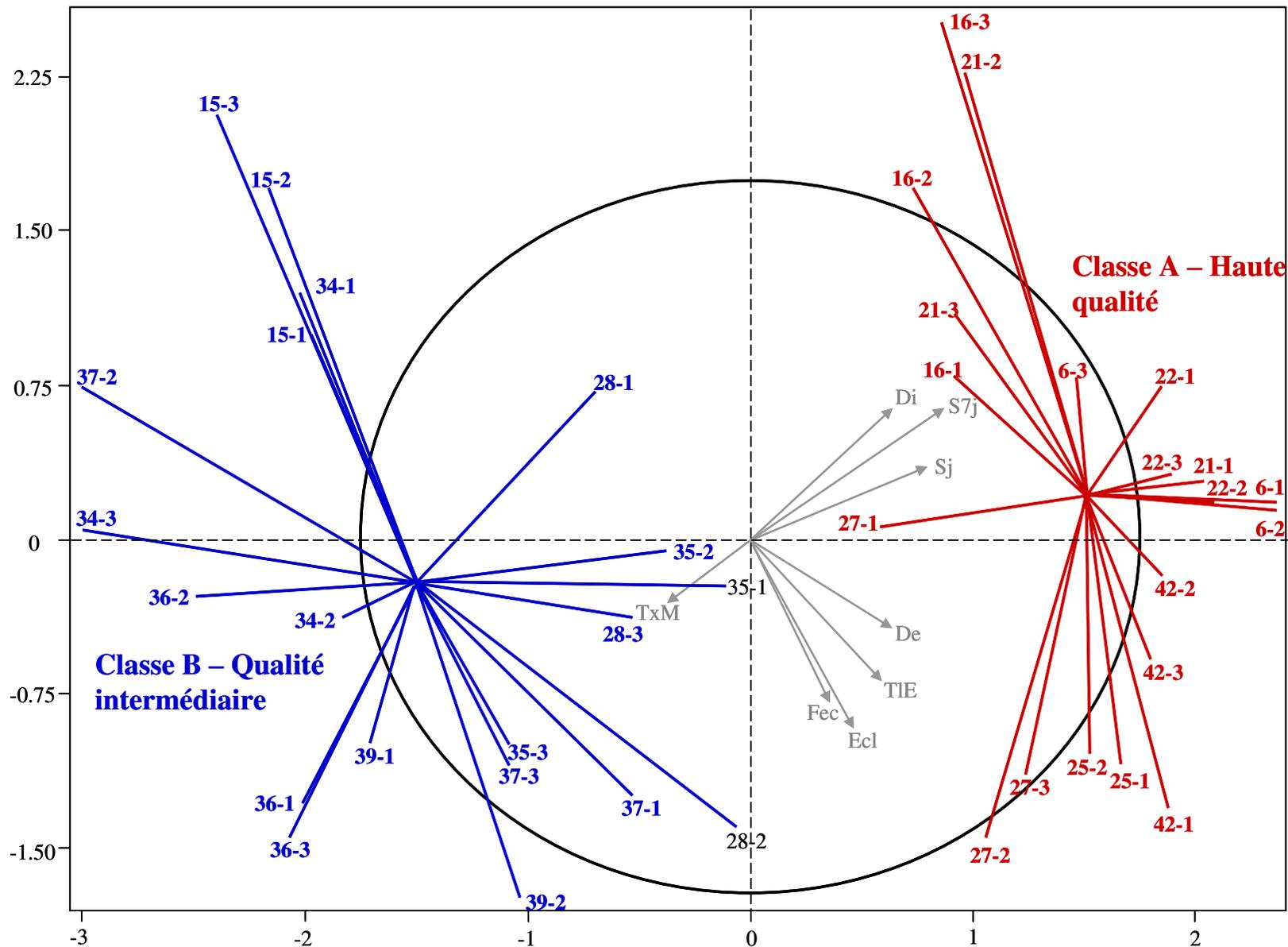
à des pontes ayant présenté des durées d'incubation et d'éclosion longues et produit des larves résistantes. Les pontes de la classe B présentent des valeurs opposées à celles de la classe A, soit des durées d'incubation et d'éclosion plus courtes et des larves moins résistantes et avec un taux de malformation plus élevé. Cette classe est donc définie comme caractérisant des pontes de qualité intermédiaire (QI). Les caractéristiques moyennes des 2 groupes de ponte sont présentées dans le Tableau 31.

	Classe HQ		Classe QI		Moyenne générale
	Valeur test	Moyenne	Valeur test	Moyenne	Moyenne
Taux de survie larvaire à 7 jours (%)	5,08	93,7	-5,08	39,6	66,68
Taux de survie au jeûne (%)	4,62	12,45	-4,62	6,85	9,65
Durée d'incubation (j)	4,17	14,3	-4,17	12,4	13,35
Taille des larves à l'éclosion (mm)	2,95	5,74	-2,95	5,55	5,64
Durée des éclosions (h)	2,81	67,2	-2,81	48	57,6
Taux de malformation larvaire (%)	-2,04	1,58	2,04	4,14	2,86
<i>Poids de la femelle (g)</i>	<i>-2,48</i>	<i>212,61</i>	<i>2,48</i>	<i>231,44</i>	<i>222,02</i>
<i>Date de ponte (j)</i>	<i>-3,04</i>	<i>16,8</i>	<i>3,04</i>	<i>22,3</i>	<i>19,55</i>

**Tableau 31 :** Caractéristiques des classes obtenues par la classification hiérarchique ascendante. Les données en italique correspondent aux variables illustratives, tandis que les autres correspondent aux variables actives. Les valeurs tests sont considérées comme significatives lorsque  $>2$ . HQ = haute qualité ; QI = qualité intermédiaire.

Tois classes de ponte ont ainsi été déterminées :

- **Classe HQ : pontes de haute qualité**
- **Classe QI : pontes de qualité intermédiaire**
- **Classe MQ : pontes de mauvaise qualité**



**Figure 103 :** Regroupement des pontes par une classification hiérarchique ascendante: Deux classes de qualité différente sont obtenues. Classe A – Haute qualité (HQ) et Classe B - Qualité intermédiaire (QI). X-Y : X = Numéro de la ponte ; Y – numéro du triplicata

Aucune des variables illustratives étudiées ne présente de différence significative entre les groupes de qualité (Tableau 32). Cependant, la faible puissance du test pour certains paramètres (poids de la femelle, poids de la ponte et taux de fragmentation) peut masquer des effets, d'autant que les écarts entre les moyennes sont assez importants (15 à 50% environ). Il est donc possible de formuler l'hypothèse que les pontes de mauvaise qualité ont un poids de ponte plus faible et un taux de fragmentation plus élevé.

	HQ	QI	MQ	CVETR	Puissance (%)
Poids de la femelle (g)	212,6 <sup>a</sup>	231,4 <sup>a</sup>	200,8 <sup>a</sup>	29	33
Poids de la ponte (g)	48,4 <sup>a</sup>	51,5 <sup>a</sup>	25,1 <sup>a</sup>	18	48
Date de ponte (jour)	16,8 <sup>a</sup>	22,3 <sup>a</sup>	22,3 <sup>a</sup>	5	>99
Poids ovocytaire (mg)	3,09 <sup>a</sup>	3,05 <sup>a</sup>	2,19 <sup>a</sup>	0,2	>99
Taux de fragmentation (%)	15 <sup>a</sup>	15 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	0,4	5
Diamètre ovocytaire (mm)	1,18 <sup>a</sup>	1,24 <sup>a</sup>	1,09 <sup>a</sup>	0,1	>99

**Tableau 32 :** Comparaison des moyennes des variables illustratives entre les trois groupes de qualité. BQ = bonne qualité ; QI = qualité intermédiaire et MQ = mauvaise qualité ; CVETR = Coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

**Conclusion :** *L'analyse paramètres caractérisant les pontes, les embryons et les larves, nous ont permis de définir trois groupes de pontes de qualité différente : des pontes de mauvaise qualité (MQ), caractérisées par un taux de fécondation à 3 jours nul ; des pontes de haute qualité (HQ) pondues tôt dans la période de reproduction par de petites femelles, les durées d'incubation et d'éclosions des embryons sont longues et conduisent à la formation de grosses larves résistantes et caractérisées par un faible taux de malformation ; enfin, les pontes de qualité intermédiaire (QI) ont été pondues par de plus grosses femelles en fin de période de reproduction, elles sont caractérisées par des larves moins résistantes, plus petites à l'éclosion et ayant un taux de malformation élevé. En dehors de la date de ponte, aucun paramètre mesuré avant fécondation ne semble lié à la qualité des pontes.*

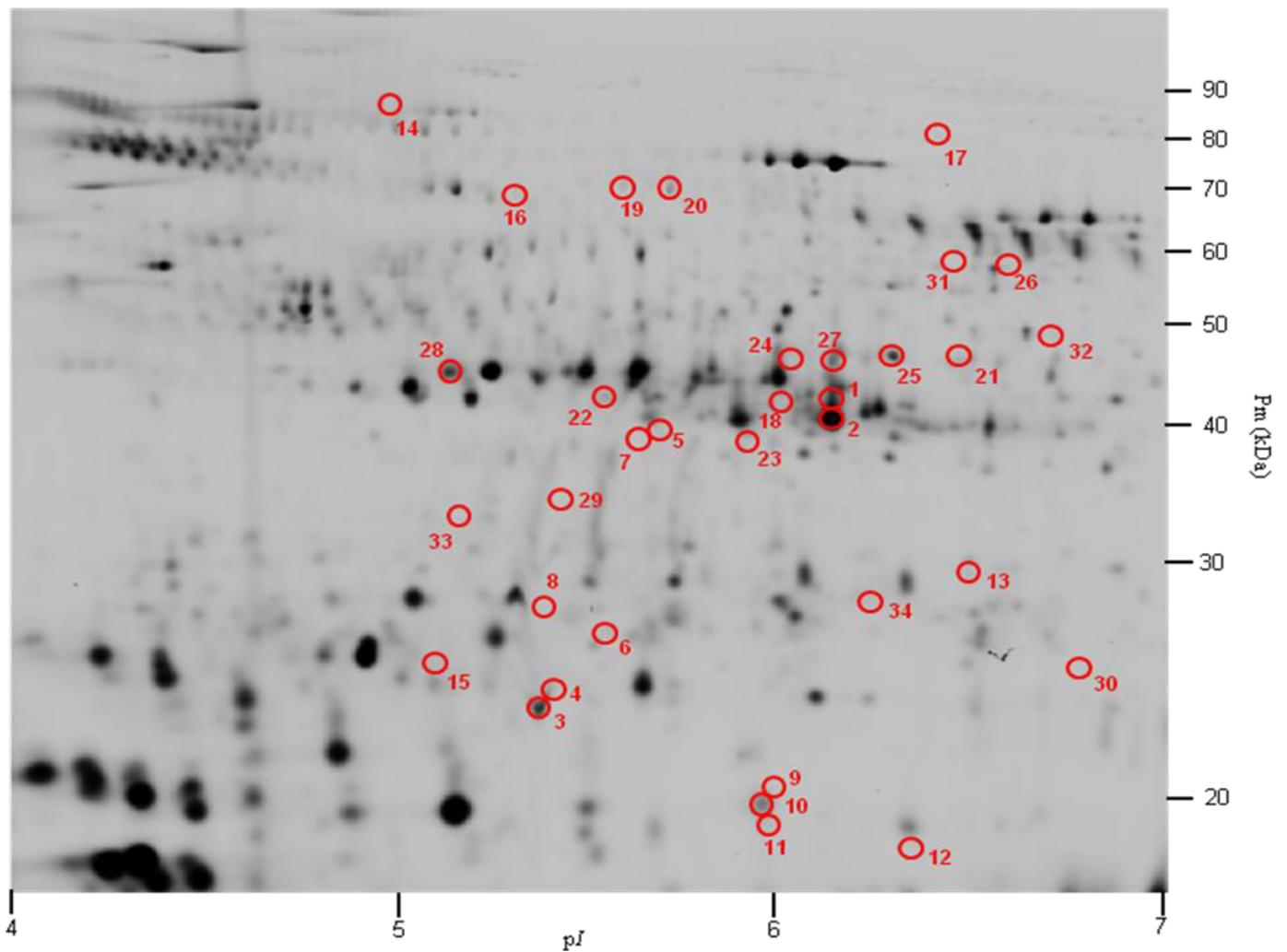
## II.2. PROFIL PROTEOMIQUE

### *II.2.1. Détermination des abondances relatives des protéines par l'analyse en 2D-DIGE*

L'analyse protéomique a concerné le protéome de 5, 6 et 5 pontes appartenant respectivement aux classes HQ, QI et MQ, et choisies parmi les pontes représentatives de chaque groupe de qualité et dont la quantité en ovocytes congelés était suffisante pour l'analyse. Pour chacun des gels, l'abondance relative de chacun des spots pour les 2 échantillons a été mesurée et comparée au standard interne qui était le même dans chaque gel, permettant ainsi la comparaison du niveau d'expression protéique dans les 16 échantillons étudiés.

Après deux analyses successives par les logiciels DeCyder (Differential In gel Analysis (DIA) et Biological Variation Analysis (BVA), entre 4435 à 5048 spots ont été détectés par gel. Parmi ces spots, le logiciel a identifié 2884 spots présents sur chacun des 8 gels. Le calcul des concentrations relatives de chaque spot par rapport au standard interne du gel et par rapport à un gel de référence choisi au hasard a pu être réalisé afin de permettre l'étude comparative entre tous les échantillons.

L'analyse EDA (Extended Data Analysis) a ensuite permis de déterminer 34 spots d'intérêt qui présentaient des différences d'abondance relative significatives entre les 3 classes étudiées ( $p < 0.05$ ) (Figure 104). Pour l'analyse EDA, il a été choisi de sélectionner les spots présents sur au moins 70% des gels ; en effet, il est possible que le logiciel DIA ne puisse pas faire correspondre des spots entre certains gels liés aux échantillons et le gel de référence ; ces spots sont pourtant bien présents sur chacun des gels, car présents dans le standard interne que l'on retrouve de manière identique sur chaque gel.



**Figure 104 :** Localisation des 34 spots de protéines différemment exprimées dans les 3 groupes de qualité sur un gel en 2-D représentatif (ponte n° 37).

Les résultats de l'ACP et de la CAH sont présentés Figure 105. La CAH permet de regrouper et de hiérarchiser les spots en fonction de leur abondance dans le protéome des pontes étudiées (classification verticale).

La classification des spots permet de les regrouper en fonction de leur patron d'expression dans les 3 classes de qualité. Quatre groupes sont ainsi déterminés (groupes A à D) :

- le **groupe A** est composé de spots présentant une expression plus forte par rapport au standard interne dans la classe QI, tandis que cette expression est plus faible dans les classes HQ et MQ. Comme ces spots ont une expression différente dans les pontes QI par rapport aux deux autres classes, nous pouvons en déduire que les protéines associées à ces spots ont une expression particulière dans ces pontes et pourraient

donc expliquer le phénotype associé. Nous estimons donc que le groupe de spots A est spécifique de la classe de ponte de qualité intermédiaire.

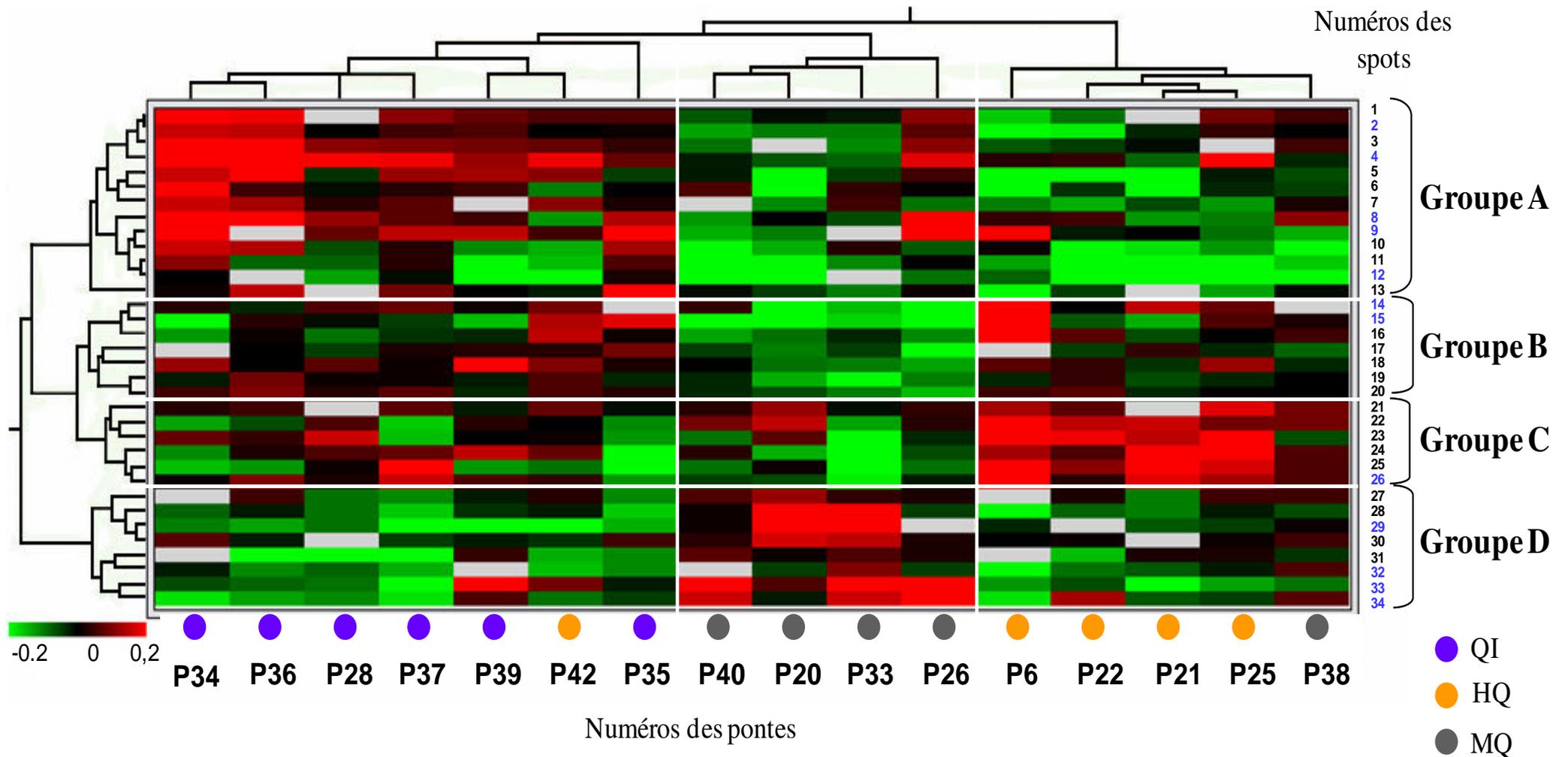
- 
- le **groupe B** comprend des spots dont l'expression est plus faible dans les pontes de mauvaise qualité par rapport aux pontes des deux autres classes. De même qu'expliqué pour le groupe A, les spots du groupe B ont une expression différente dans les pontes MQ par rapport aux deux autres classes, et les protéines correspondantes peuvent expliquer le phénotype associé. Nous estimons donc que le groupe de spots B est spécifique de la classe de ponte de mauvaise qualité.
- 
- le **groupe C** est composé de spots dont l'expression est plus importante dans la classe de haute qualité par rapport aux deux autres classes ; ainsi ce groupe de spots est considéré comme caractéristique de la classe de haute qualité.
- 
- enfin, le **groupe D** comprend des spots dont l'expression est plus forte dans les pontes de la classe MQ par rapport aux deux autres classes. Nous estimons donc que le groupe de spots D est spécifique de la classe de ponte de mauvaise qualité.

En résumé :

- Les pontes de **haute qualité (HQ)** sont caractérisées par le **groupe C (surexpression)**.
- Les pontes de **qualité intermédiaire (QI)** sont caractérisées par le **groupe A (surexpression)**.
- Les pontes de **mauvaise qualité (MQ)** sont caractérisées par les **groupes B (sous-expression)** et le **groupe D (surexpression)**.

Les spots mis en évidence pourraient correspondre à des protéines liées à la régulation de la qualité des ovocytes.

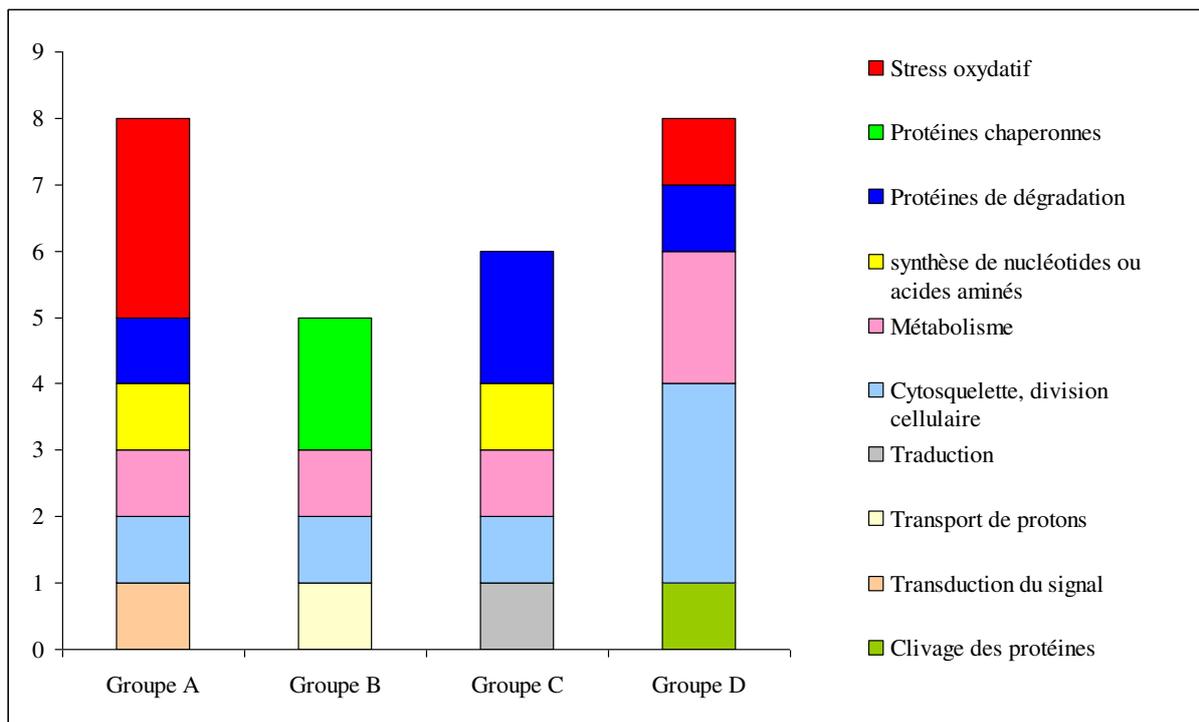
La CAH permet également de hiérarchiser les pontes en fonction de l'expression relative des spots identifiés (classification horizontale). Mis à part deux individus (pontes 38 et 42), les pontes sont regroupées selon la même classification mise en évidence par l'analyse des traits biologiques, ce qui confirme l'intérêt des spots sélectionnés.



**Figure 105 :** Représentation de l'abondance relative des spots d'intérêt identifiés par l'analyse en électrophorèse 2-D DIGE. Les pontes sont présentées en colonne (HQ, QI et MQ) et le regroupement des spots est présenté sur la droite (groupes A à D). Les couleurs allant du vert au rouge représentent l'abondance relative de chaque spot, des protéines les moins exprimées aux plus exprimées, par rapport au standard interne. Les spots noirs correspondent à un niveau d'expression identique au standard et les spots blancs correspondent à une absence d'identification par le logiciel sur le gel correspondant. Les numéros de spots en bleu correspondent aux spots pour lesquels la MS n'a pas permis l'identification de protéine, à l'inverse des spots ayant un numéro en noir.

### II.2.2. Identification des spots par spectrométrie de masse

Parmi les spots sélectionnés précédemment, 24 ont été excisés d'un gel préparatif et identifiés par spectrométrie de masse (MS/MS) (spots numérotés en noir sur la Figure 105). Les 10 spots restants (notés en bleu sur la Figure 105) n'ont pas pu être excisés à cause de contaminations possibles par des spots voisins ou du fait de leur trop faible abondance sur le gel. Parmi les 24 spots analysés en spectrométrie de masse, 19 ont pu être identifiés et sont présentés sur le tableau 18. Le détail des peptides ayant permis l'identification est disponible dans l'Annexe 13. Dix spots correspondaient à des protéines uniques tandis que les 9 spots restants contenaient 2 protéines. Certaines protéines ont été identifiées sur plusieurs spots pouvant appartenir à différents groupes de spots. Au total, 25 protéines impliquées dans 10 fonctions biologiques ont été identifiées. La classification des fonctions cellulaires en fonction des groupes est présentée par la Figure 106.



**Figure 106 :** Nombre de protéines identifiées pour chaque fonction cellulaire, selon les différents groupes de spots. Groupe A : Groupe de spots caractérisant les pontes de qualité intermédiaire (surexpression) ; Groupe B : Groupe de spots caractérisant les pontes de mauvaise qualité (sous-expression) ; Groupe C : Groupe de spots caractérisant les pontes de haute qualité (surexpression) ; Groupe D : Groupe de spots caractérisant les pontes de mauvaise qualité (surexpression).

### ***II.2.3. Fonctions cellulaires impliquées dans la régulation de la qualité des pontes***

Les protéines identifiées sur les spots d'intérêts sont présentées en fonction des 4 groupes de spots sur le Tableau 33.

#### **Protéines du cytosquelette**

Plusieurs protéines impliquées dans la formation du cytosquelette sont présentes dans chaque groupe de spots. L'alpha-Tubuline est faiblement exprimée dans les pontes MQ (spot 18). La beta-Actine est identifiée sur les spots 24 (groupe C) et 28 (groupe D). Dans le spot 28, elle est associée à la sous-unité alpha-1 de la protéine de coiffe F-Actine, De plus, la Cofiline 2 est trouvée dans le spot 10 qui appartient au groupe A.

#### **Métabolisme énergétique**

De plus, des protéines liées au métabolisme énergétique sont présentes dans les 4 groupes de spots. Ainsi, alors que la Pyruvate Kinase (glycolyse) est plus fortement exprimée dans les pontes de mauvaise qualité (spot 31), l'Aconitase 2 (cycle de Krebs) est moins exprimée dans cette classe de pontes (spot 17). La Transaldolase (voie des pentoses phosphates) est identifiée sur le spot 7 (groupe A) tandis que la 6-phospho-gluconate Deshydrogénase (voie des pentoses phosphates) est associée à 3 spots (21, 25, 27), correspondant aux groupes C et D. Deux protéines impliquées dans la synthèse des acides aminés ou des acides nucléiques sont trouvées dans plusieurs groupes : la S-adénosyl Homocystéinase (métabolisme de l'adénosyl-Homocystéinase) dans le groupe C (spot 21) et la S-méthyl thioadénosine Phosphorylase (métabolisme de la méthionine) dans le groupe A (spot 13).

#### **Protéines de dégradation**

Trois protéines liées à la voie de dégradation des protéines Ubiquitine-dépendantes sont trouvées dans 4 spots différents. Une protéine similaire à la sous-unité 11 non ATPase régulatrice du protéasome 26S est trouvée dans deux spots (25 et 27) appartenant aux groupes C et D. La sous-unité 13 est trouvée dans le spot 22 (groupe C) caractérisant les pontes HQ et une protéine similaire à la sous-unité 8 est trouvée dans le spot 6 (groupe A) caractérisant les pontes QI.

## **Traduction, transport de protons, transduction du signal, clivage des protéines**

Quatre protéines étaient les uniques représentantes de leur fonction biologique : la sous-unité H d'un facteur eucaryotique d'initiation à la traduction dans le groupe C (spot 23) (traduction), la sous-unité A de l'ATPase VI lysosomale dans le groupe B (spot 16) (transport de protons), la sous-unité catalytique de la sérine-thréonine Phosphatase (spot 5) (transduction du signal) dans le groupe A et la Peptidase B dans le groupe D (spot 31) (clivage des protéines).

## **Stress oxydatif, protéines chaperonnes**

Enfin, deux fonctions biologiques sont particulièrement intéressantes puisqu'elles impliquent plus d'une protéine appartenant au même groupe. Dans cette catégorie, on retrouve les Péroxyrédoxines (Prx) 5 et 6, respectivement sur les spots 10 et 6, qui sont plus exprimées dans les pontes QI et moins exprimées dans MQ et BQ. De plus, la Transferrine a été trouvée dans ce même groupe (spot 7). En revanche, la Quinoïde dihydrobioptérine Réductase est présente dans le groupe D (spot 30). Ces quatre protéines sont impliquées dans la réponse cellulaire contre le stress oxydatif. Finalement, deux protéines chaperonnes de la famille des *Heat-shock proteins* (HSP) sont présentes sur des spots appartenant au groupe B et caractérisent les pontes MQ : HSP9 sur les spots 19 et 20 et HSP70 sur le spot 16.

**Conclusion :** *L'analyse protéomique des ovocytes provenant de différentes pontes a permis de mettre en évidence des profils d'expression protéiques divers selon la qualité des pontes correspondantes. Au total 25 protéines impliquées dans 10 fonctions cellulaires différentes ont été identifiées. Parmi ces fonctions, certaines sont représentées par plusieurs protéines et leur expression est modifiée dans certains types de pontes. C'est notamment le cas de HSP70 et HSP9 (protéines chaperonnes) qui sont plus exprimées dans les pontes de mauvaise qualité par rapport aux autres classes de ponte. D'autres fonctions cellulaires sont représentées par plusieurs protéines mais ne sont pas spécifiques d'une classe de ponte comme les protéines impliquées dans la protection contre le stress oxydant. Ainsi les Péroxyrédoxines 5 et 6 sont plus exprimées dans les pontes de qualité intermédiaire alors que d'autres protéines comme la Quinoïde Dihydrobioptérine Réductase sont plutôt moins exprimées dans les pontes de mauvaise qualité. Il en est de même pour les protéines du cytosquelette ou d'autres nécessaires au métabolisme énergétique. Nous pouvons donc déduire de notre étude que le profil d'expression de certaines protéines semble être lié à la qualité des gamètes et pourrait donc avoir une influence sur le déroulement ultérieur du développement embryonnaire et larvaire.*

N°	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI obs / th	M (kDa)	Fonction biologique	Groupe
5	Sous-unité catalytique de la sérine/thréonine phosphatase	<i>Xenopus laevis</i>	Q7ZTR3	5,68/5,94	37,2	Transduction du signal	A
6	Sous-unité 8 non-ATPase régulatrice du protéasome 26S 1-cys peroxyrédoxine 6 (phospholipase A2)	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RRE0	5,55/5,79	30,7	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent Stress oxydatif	A
		<i>Oncorhynchus mykiss</i>	C1BHF2	5,44/5,79	24,4		
7	Transaldolase Transferrine	<i>Osmerus mordax</i>	C1BIU7	5,65/6,48	37,7	Métabolisme cellulaire	A
		<i>Epinephelus coioides</i>	B9V308	5,65/5,91	33,1	Transport du fer / Stress oxydatif	
10	Peroxyrédoxine 5 Cofiline 2	<i>Anoplopoma fimbria</i>	C3KHS6	5,94/5,41	20,2	Stress oxydatif	A
		<i>Tetraodon nigroviridis</i>	C3KHN8	5,94/6,84	18,8	Structure cellulaire	
13	S-méthyl thioadénosine phosphorylase	<i>Salmo salar</i>	B5X2Q5	6,49/6,26	29,3	Synthèse des Nucléotides	A
16	HSP70 Sous-unité A de l'ATPase VI lysosomale, transport de H+	<i>Oryzias latipes</i>	Q9W6Y1	5,31/5,80	76,2	Protéines Chaperonnes	B
		<i>Macacca mulatta</i>	D3DN75	5,31/5,35	68,3	Transport de proton	
17	Aconitase 2, hydratase	<i>Danio rerio</i>	Q6PEI6	6,39/7,58	84,9	Métabolisme cellulaire	B
18	Alpha tubuline	<i>Notothenia coriiceps</i>	Q9YHW1	6,00/4,94	50,2	Structure cellulaire	B
19	HSP9A	<i>Sparus aurata</i>	A9CD13	5,58/5,57	68,8	Protéines Chaperonnes	B
20	HSP9A	<i>Sparus aurata</i>	A9CD13	5,71/5,57	68,8	Protéines Chaperonnes	B
21	6 Phospho-gluconate deshydrogénase S-adénosyl homocystéinase	<i>Salmo salar</i>	Q4RVN6	6,44/5,94	53,2	Métabolisme cellulaire	C
		<i>Salmo salar</i>	B5DGE0	6,44/6,43	48	Synthèse des Acides Aminés	
22	Sous-unité 13 non-ATPase régulatrice du protéasome 26S	<i>Osmerus mordax</i>	C1BJM2	5,54/5,66	43,3	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	C
23	Sous-unité H du facteur eucariotique d'initiation à la traduction	<i>Anoplopoma fimbria</i>	C3KJQ5	5,82/5,67	39	Traduction	C
24	Bêta actine	<i>Monopterus albus</i>	Q7SZL6	6,01/5,31	41,8	Structure cellulaire	C
25	6 Phospho-gluconate deshydrogénase Sous-unité 11 non-ATPase régulatrice du protéasome 26S	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RVN6	6,28/5,94	53,2	Métabolisme cellulaire	C
		<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4SWI1	6,28/7,48	54,2	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	
27	6 Phospho-gluconate deshydrogénase Sous-unité 11 non-ATPase régulatrice du protéasome 26S	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RVN6	6,14/5,94	53,2	Métabolisme cellulaire	D
		<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4SWI1	6,14/7,48	53,3	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	
28	Protéine de coiffe F-actine, sous-unité alpha 1 Bêta actine	<i>Anoplopoma fimbria</i>	C3KHJ7	5,13/4,83	21,5	Structure cellulaire	D
		<i>Monopterus albus</i>	Q7SZL6	5,13/5,31	41,8	Structure cellulaire	
30	Quinoid dihydrobioptérine réductase	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4S3Y5	6,77/6,89	24,4	Production de tétrahydrobioptérine/Stress	D
31	Pyruvate kinase Peptidase B	<i>Takifugu rubripes</i>	Q8JJC2	6,44/6,35	58,2	Métabolisme cellulaire	D
		<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RUY4	6,44/6,14	55,8	Clivage des protéines	

**Tableau 33 :** Liste des protéines identifiées en spectrométrie de masse. L'espèce ayant permis l'identification est présentée, ainsi que la fonction cellulaire associée à la protéine. pI obs/th : Point isoélectrique observé/théorique ; M : Masse moléculaire ; A : Groupe de spots caractérisant les pontes de qualité intermédiaire ; B et D : Groupes de spots caractérisant les pontes de mauvaise qualité ; C : Groupe de spots caractérisant les pontes de haute qualité.

## **DISCUSSION**

# CHAPITRE 1 : FACTEURS MODULATEURS DU CYCLE DE REPRODUCTION

## I.1. METHODOLOGIE

Pour appréhender le déterminisme multifactoriel de la reproduction d'une espèce en cours de domestication, comme la perche commune, ma recherche doctorale s'est appuyée sur des méthodologies originales et complexes (plans d'expérience) et des études multidimensionnelles (approche multiparamétriques).

### Les atouts de l'approche multifactorielle

L'étude d'un système biologique consiste à analyser une « boîte noire », dont le fonctionnement interne n'est pas connu, mais dont les flux externes peuvent être quantifiés (Brun-Bellut et Gardeur, 2010). Cela signifie que nous pouvons mesurer les flux entrants, qui correspondent aux facteurs influents, et les flux sortants qui sont les variables de sortie ou réponses du système. Ces systèmes complexes, tel qu'un organisme animal (géniteur), sont sensibles à un grand nombre de facteurs, dont l'étude individuelle est coûteuse en temps et très peu intégrative. Une telle approche, facteur par facteur, ne tient pas compte du fait que les facteurs peuvent interagir pour influencer le système. L'approche multifactorielle permet d'analyser les effets simultanés d'un ensemble de facteurs et des interactions entre ces facteurs. Etant donné le très grand nombre de facteurs susceptibles d'agir sur la fonction de reproduction des poissons (Wang, 2006), cette méthodologie est particulièrement adaptée dans un contexte de domestication d'une nouvelle espèce (peu de connaissance) (Fontaine, 2006, Wang *et al.*, 2006). Dans un tel contexte, l'approche multifactorielle permet un premier tri des principaux facteurs influents (screening) et une hiérarchisation des effets des facteurs. Cette approche globale de la fonction de reproduction entre pleinement dans la problématique de l'équipe de recherche DAC, qui vise à développer une approche générique de la domestication, basée sur l'analyse des stratégies reproductives des poissons et le regroupement d'espèces en groupes fonctionnels (Fontaine, 2006). Ainsi, ces travaux visent à mieux comprendre la régulation des performances de reproduction des espèces appartenant au groupe des pondeurs printaniers précoces (Teletchea *et al.*, 2009a). Considérant le rôle des facteurs nutritionnels et populationnels testés, ma recherche a permis d'identifier les

principaux facteurs influents (taille initiale des géniteurs, type d'aliment ...) et de montrer la réponse différente des géniteurs en fonction du sexe. Ainsi, pour la première fois à notre connaissance, une première modélisation de ces réponses pour cette espèce modèle (par rapport à un groupe fonctionnel) a pu être proposée en considérant notamment l'évolution des caractéristiques des géniteurs au cours d'un cycle de reproduction. Du fait, de très faibles taux de fécondation et de taux d'éclosion nuls, cette modélisation n'a pu être étendue au niveau de l'analyse des performances reproductives comme initialement prévu. L'ensemble de ces points sera repris dans la suite de la discussion.

### Spécificité de l'effet poids initial

Lors de l'expérimentation « Alimentation », nous avons étudié chaque paramètre indépendamment de sa valeur au prélèvement précédent (prélèvements à la fin des phases d'induction et de vernalisation). En effet, la comparaison est possible car les valeurs initiales sont identiques. Pour l'expérience « Population », en revanche, les valeurs initiales sont différentes, nous avons donc également étudié les variations des paramètres entre les deux points de prélèvement. La variable d'écart entre les 2 mesures a le désavantage de cumuler les erreurs des 2 mesures, d'où des CVETR souvent élevés et de faibles puissances.

Une autre méthode d'analyse aurait consisté à utiliser un modèle d'analyse de covariance, en introduisant dans le modèle d'analyse de variance une co-variable correspondant à la variable au temps initial. C'est alors un contrôle d'hétérogénéité a posteriori, mais qui a l'inconvénient d'utiliser un degré de liberté, qui est donc soustrait à la résiduelle. Nous avons comparé les deux méthodes pour un paramètre choisi parmi ceux qui étaient modulés par un des facteurs étudiés, soit l'IHS (Tableau 34).

	Effets simples						Interactions	CVETR (%)	Pmax (%)
	Origine géographique		Niveau de domestication		Poids initial				
	Meuse	Léman	Sauvages	Domestiqués	Petits	Gros			
IHS 2 A	2,19 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	2,05 <sup>a</sup>	1,91 <sup>a</sup>	<b>1,50<sup>a</sup></b>	<b>2,37<sup>b</sup></b>	-	20	56
IHS 2 B	2,15 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	1,87 <sup>a</sup>	2,09 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	2,19 <sup>a</sup>	-	33	8

**Tableau 34 :** Comparaison des résultats obtenus à partir des deux méthodes testés sur l'IHS des femelles sans co-variable (IHS 2 A) et avec co-variable (IHS 2 B) (= IHS initial des géniteurs) en fin de phase d'induction pour l'expérimentation « Population ».  $R^2 = 53\%$  pour A ;  $R^2 = 84\%$  pour B.

Le modèle utilisant une co-variable prend en compte l'influence du paramètre en situation initiale lors du calcul de la moyenne ajustée. Le tableau 34 montre que ce modèle ne met pas en évidence l'effet du poids initial observé dans l'exemple utilisé. Ceci traduit que l'effet poids initial observé dans le modèle sans co-variable est uniquement dû aux différences initiales. Ainsi, cette autre méthode d'analyse aurait permis de prendre en compte l'effet des facteurs uniquement au moment du prélèvement, sans tenir compte de l'effet possible au point précédent, mais avec la limite dont nous avons parlé ci-dessus (nombre de degrés de liberté de la résiduelle réduit).

## **I.2. REGULATION MULTIFACTORIELLE DE LA CROISSANCE, DE LA CONDITION ET DES CARACTERISTIQUES MORPHO-ANATOMIQUES DES GENITEURS**

### **I.2.1 MORTALITE**

Les mortalités observées dans nos bassins expérimentaux ont été assez faibles. La mortalité maximale observée a été de 25% dans l'expérience « Alimentation » (combinaison 1 de l'expérience « Alimentation »). Nous pouvons comparer ces valeurs avec celles relevées par Wang (2006). Lors de son étude multifactorielle similaire à la nôtre, cet auteur a observé une mortalité moyenne de 35% alors que lors de nos expérience elle a été de 5% en moyenne. Il se pourrait que le programme photo-thermique qui a été amélioré par Abdulfatah (2010) explique les plus faibles mortalités observées dans nos bassins.

#### **Effet du niveau de la domestication sur la mortalité**

Nous pouvons émettre l'hypothèse que la domestication a amélioré l'adaptation des géniteurs aux conditions d'élevage : en effet, nous avons observé que les poissons sauvages présentent de plus forts taux de mortalité (soit 9 % contre 1% pour les poissons domestiques). La domestication d'une nouvelle espèce entraîne des changements dans la physiologie des poissons, par des phénomènes de mortalité différentielle, permettant de sélectionner des animaux plus résistants aux conditions d'élevage (Huntingford, 2004).

## **Effet du type d'aliment pendant la phase d'induction sur la mortalité**

La distribution d'aliment fourrage pendant la phase d'induction a entraîné une augmentation de la mortalité des femelles sur l'ensemble du cycle en comparaison avec les poissons qui ont été nourris aux granulés pendant cette même phase. Il se pourrait que ceci soit dû au changement d'alimentation brusque (texture, goût, obligation de chasser, stress de la présence de proies) qui aurait perturbé les géniteurs nourris préalablement aux granulés depuis leur sevrage

## **I.2.2. CONDITION ET CROISSANCE PONDERALE DES GENITEURS**

### ***I.2.2.1. Femelles***

La comparaison des paramètres morpho-anatomiques des poissons avec les données disponibles dans la littérature permet de constater que le cycle de reproduction s'est déroulé correctement lors de nos expérimentations. Si, à notre connaissance, aucune donnée n'est disponible sur le taux de croissance spécifique lors du cycle de reproduction, en revanche, il est possible de comparer les indices de conditions et de gras.

Tout au long du cycle, les valeurs de K2 observées sur l'ensemble de nos bassins sont plus faibles que ce qui a été observé lors du suivi des femelles de perche dans un étang lorrain (Sulistyo, 1998). A l'entrée du cycle de reproduction, les valeurs de K2 ne dépassent pas 1,9 dans nos bassins, tandis que Sulistyo note un minimum de K2 en repos sexuel de 2,0-2,3. Ceci pourrait être expliqué par des différences de morphologie des poissons d'origines différentes. En effet, les poissons que nous avons utilisé lors de nos expérimentations proviennent de la Meuse en Belgique pour l'étude « Alimentation » et du Léman pour l'étude « Population ». Lors de la comparaison de poissons sauvages d'origine Rhin et d'origine Léman, Mairesse (2005) a noté des différences de K2 entre les deux origines (respectivement 2,3 et 1,9). Ces différences proviendraient de morphotypes plus élancés dans le Léman que dans le Rhin. Cependant, la comparaison des K1 et K2 initiaux des femelles d'origine Meuse ou Léman dans l'expérimentation « Population » ne montre pas de différence statistiquement significative entre les 2 populations.

Les variations de K1 et K2 que nous avons observées suivent toutefois les mêmes variations que celles observées lors d'un cycle naturel (Sulistyo, 1998): augmentation lente de K1 tout au long du cycle tandis que K2 diminue progressivement jusqu'à la saison de ponte.

Dans le milieu naturel, une baisse du facteur de condition K2 (état d'embonpoint sans les gonades) par rapport au facteur K1 montre l'investissement pondéral des géniteurs au bénéfice de la croissance ovarienne (Le Cren, 1951).

Nous n'avons pas pu comparer les valeurs numériques des réserves adipeuses avec les données du suivi réalisé par Sulisty (1998) car cet auteur a mesuré l'indice viscérosomatique, qui reflète les réserves du tissu péri-viscéral, et non l'indice de gras. Cependant, cette étude montre que les réserves des poissons dans leur milieu naturel sont épuisées à la fin de la période d'induction, soit mi-octobre. L'étude de Blanchard *et al.* (2005) de poissons sauvages pêchés dans la Meuse montre également que les réserves périviscérales, soit les réserves adipeuses, diminuent avec le début de la vitellogenèse exogène dès le mois d'octobre. L'IG passe de 1,61% en été à des valeurs de 0,70% en octobre, qui restent alors stables jusqu'à la période de ponte. Nous observons également des valeurs très faibles, mais non nulles, en fin de phase de vernalisation.

### **Effet du type d'aliment pendant la phase de vernalisation et pendant la phase d'induction**

Il apparaît que le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation a particulièrement modulé les paramètres morpho-anatomiques des femelles de perche relevés en fin de vernalisation. Globalement, les femelles ayant mangé du poisson fourrage ont pris plus de poids (TCS plus élevé lors de la phase de vernalisation), ce qui n'est pas le cas avec une alimentation à base de granulés. Ces poissons ont montré un état d'embonpoint général plus important (K1 supérieur) et l'effet est également visible sur le facteur de condition K2, mais de façon plus modérée (16% de la variance). Cependant, la différence entre K1 et K2 n'est pas la même selon les deux modalités. Le gain d'embonpoint général (indices de condition plus élevés) est donc en partie expliqué par l'augmentation de la masse de gonades et une meilleure croissance des poissons lorsqu'ils ont été nourris avec du poisson fourrage. Ce résultat est différent de ce qui est observé chez des géniteurs de sandre nourris selon trois régimes alimentaires différents : poisson fourrage, granulés ou un mélange des deux aliments durant la totalité du cycle de reproduction (de septembre à avril). Des taux de croissance similaires dans les trois lots de poissons ont alors été observés (Wang *et al.*, 2009).

Etant donné qu'il n'existe pas d'aliment formulé pour la perche, nous avons utilisé un aliment destiné au bar, qui semble convenir à l'élevage de la perche (Fontaine *et al.*, 1997) et déjà utilisé au laboratoire lors des précédentes études sur la reproduction de la perche (Migaud, 2002, Wang, 2006 ; Abdulfatah, 2010). Cet aliment est plus riche en énergie (30,53

MJ.kg<sup>-1</sup> de MS vs 23,27 MJ.kg<sup>-1</sup> dans le poisson fourrage) et en lipides (21,9% vs 12,7%) par rapport à la composition moyenne du poisson fourrage qui est plus riche en protéines. Blanchard *et al.* (2008a) ont étudié des femelles juvéniles de perches en période de grossissement élevées en circuit fermé pendant 76 jours et ont montré que le taux de croissance spécifique était augmenté quand les géniteurs étaient nourris avec un ajout d'huile de poisson en comparaison avec de l'huile d'origine végétale. Ceci pourrait être lié à un profil d'AG plus proche de celui du poisson fourrage que des granulés que nous avons utilisés pour lequel le fournisseur précise un ajout d'huile végétale.

Une autre hypothèse expliquant les différences d'état proviendrait du fait que les deux types d'aliment sont associés à des modalités différentes de distribution de l'alimentation. En effet, les poissons nourris aux granulés sont alimentés en un seul repas journalier ; l'aliment restant tombe au fond des bassins et n'est généralement plus consommé. Tandis que le poisson fourrage vivant est toujours disponible et constitue une stimulation constante de l'instinct de chasse des perches (attractivité renforcée). Il a été observé que le fait de nourrir plusieurs fois dans la journée de jeunes dorés jaunes (*Sander vitreus*) augmente la prise alimentaire, et ainsi la croissance des poissons (Beamish et MacMahon, 1998). Aucune étude supplémentaire n'est disponible concernant d'éventuels effets sur la perche adulte. Cependant, de part leur nature de prédateurs qui les poussent à chasser plusieurs fois par jours, et particulièrement à l'aube et au crépuscule (Jacobsen *et al.*, 2002) il se peut que les perches aient ainsi consommé donc plus de fourrage que de granulés.

### **Effet du type d'aliment pendant la phase d'induction**

En fin de phase de vernalisation, les femelles ayant été nourries aux granulés pendant la phase initiale d'induction présentent un taux de croissance spécifique plus élevé que les femelles nourries au poisson fourrage (voir Figure 38 A). Il est possible que ce TCS plus élevé résulte d'une plus grande disponibilité en réserves lipidiques pendant la vernalisation. En effet, même si l'analyse statistique n'a pas pu mettre en évidence cette différence en fin de phase d'induction, l'IG semble plus élevé pour ces poissons à ce stade. La faible puissance du test ne permet pas d'exclure l'hypothèse que les femelles nourries aux granulés pendant la phase d'induction ont accumulé plus de réserves pendant cette période. L'IG est en effet plus élevé que celui observé chez des perches de même origine dans le milieu naturel (0,7%) (Blanchard *et al.*, 2005). Ceci proviendrait de la teneur plus élevée en lipides totaux des granulés. Il est possible que pendant cette période les poissons aient stocké l'excédent de lipides fournis par le granulé, essentiellement sous forme de graisses périviscérales, comme

observé par Xu *et al.* (2001) chez de jeunes perches. Ces stocks auraient alors pu être remobilisés pour la croissance des animaux pendant la phase de vernalisation.

### **Rationnement pendant le cycle de reproduction**

Notre étude statistique ne nous a pas permis de mettre en évidence un effet du type de rationnement en fin de phase d'induction sur la croissance des poissons. Cependant, cet effet est probable, et la faible puissance du test ne nous a pas permis d'en rejeter l'hypothèse. Les poissons présenteraient donc un IG, un K1 et un K2 plus faibles en fin de phase d'induction si des périodes de jeûne sont appliquées. Cependant, cet effet n'est pas visible en fin de phase de vernalisation. Il est possible que les poissons aient compensé pendant la phase de vernalisation le manque entraîné par les jeûnes subis en induction. Il est possible que les poissons plus maigres en fin de phase de vernalisation aient plus consommé pendant cette dernière période. Les travaux de Wang (2006) montrent que l'état nutritionnel initial qui correspond au niveau des réserves périviscérales avant l'application du programme photothermique (fort = fortes réserves lipidiques ( $2,4 \pm 1,8\%$ ) et faible = faibles réserves lipidiques ( $1,9 \pm 0,6\%$ )) a un effet sur l'ingéré estimé des poissons. Les poissons se nourrissent plus lorsque leurs réserves sont faibles (phénomène de compensation). Ceci expliquerait l'absence de différence en fin de vernalisation.

Le taux de rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation n'a eu aucun effet sur l'état général des femelles en fin de phase d'induction. Bien que la consommation globale des géniteurs ait diminué avec la baisse de la température (données personnelles), les poissons ont continué de s'alimenter pendant cette période. Il semble que les jeûnes appliqués durant cette période n'aient pas été suffisamment sévères pour affecter la croissance des géniteurs. Il a été montré dans la littérature que les perches dans leur environnement sont des « *capital breeder* », elles utilisent donc principalement leurs réserves durant la phase hivernales, et le taux d'ingestion diminue fortement avec la température (Huusko *et al.*, 1996). Il est possible que les réserves aient permis de subvenir au besoin en période de jeûne, et que les poissons aient compensé une fois nourris.

### **Effet du poids initial**

Le poids initial des poissons est le paramètre populationnel qui a le plus influencé les caractéristiques morpho-anatomiques des femelles.

Bien que les géniteurs aient été élevés en conditions quasi-identiques depuis leur sevrage, une forte hétérogénéité de poids a été observée dans les quatre populations de géniteurs utilisés, nous permettant de scinder chaque lot en deux groupes de poids très différents. Ces différences intra-populationnelles proviennent de l'effet d'hétérogénéité de croissance, phénomène observé dans le milieu naturel et en élevage (Jourdan, 1999 ; Houbard, 2005). Les facteurs induisant ce phénomène sont nombreux : origine génétique, environnement, alimentation... En pisciculture, les phénomènes de territorialité ou de hiérarchie sociale peuvent expliquer l'hétérogénéité de taille que l'on observe dans un lot de poisson ; il est observé que le tri des poissons lève l'inhibition de croissance des petits poissons (Mélard *et al.*, 1996). Cette levée d'inhibition entraîne un phénomène de croissance compensatoire chez les petits poissons. Ceci n'a pas été observé dans notre cas.

Ainsi, dès le début de l'expérimentation, les grosses femelles présentaient des indices morpho-anatomiques différents des petites : K1 et K2 plus élevés. Les réserves lipidiques étaient probablement également plus fortes bien que la différence ne soit pas statistiquement démontrée (CVETR et puissance du test faibles). L'IHS est également plus élevé, ce qui correspondrait à une accumulation de lipides alimentaires dans le foie, second lieu de stockage des graisses après les réserves périviscérales (Blanchard *et al.*, 2008b). Les plus gros individus auraient donc tendance à avoir plus de réserves.

Chez de nombreux poissons d'eau douce, il est en effet connu que les réserves lipidiques varient avec la taille, les petits poissons ayant de plus faibles réserves (Sogard et Olla, 2000 ; Biro *et al.* 2004). Chez les perches juvéniles, les différences de poids sont liées à une forme différente du corps, qui est plus mince ou plus trapue (Borcherding et Magnhagen, 2007).

Lors de nos expérimentations, la différence d'embonpoint et de réserves lipidiques entre les petits et les gros poissons se retrouve en fin de cycle de reproduction. La croissance a été globalement plus importante sur l'ensemble de l'expérimentation, bien que la prise de poids soit plus importante pendant l'induction pour les gros poissons alors qu'elle est identique sur les 2 phases pour les petits. Cela résulte vraisemblablement d'une activité métabolique différente. En effet, un corps plus large entraîne une décroissance des pertes en énergie, liée aux échelles allométriques des taux métaboliques (Calder, 1996). Ceci a été vérifié chez la capucette, *Menidia menidia* (Schultz et Conover, 1999). Les petits poissons ont proportionnellement perdu plus d'énergie pendant la période hivernale que les gros, indépendamment de la température ; ce phénomène est accentué par d'autres paramètres, dont des périodes de restrictions alimentaires. Ceci est visible dans notre expérimentation au

travers de l'observation de K2, qui présentent une diminution plus forte lors de la phase de vernalisation, bien que l'analyse statistique n'ait pu mettre en évidence la différence (CVETR élevé, puissance faible).

### **Effet de la domestication**

Un seul effet de la domestication est observé sur les caractéristiques morphométriques des femelles, il concerne le facteur de condition K2 en fin de phase de vernalisation. Les poissons domestiqués présentent un état d'embonpoint similaire à ce stade, et les réserves lipidiques ne sont pas différentes. L'investissement gonadique est donc différent pour les deux types de poissons, il est plus élevé pour les poissons sauvages (K2 plus faible). Ces différences de K sont également liées à la forme des poissons. Mairesse (2005) a montré que la domestication modifie la forme des poissons et ce en fonction des conditions d'élevage. La domestication a également modifié la croissance des gros géniteurs, et non des petits, mais uniquement pendant la phase d'induction. Les gros poissons domestiqués ont présenté un taux de croissance plus élevé que les gros poissons sauvages. Il est donc possible que la domestication modifie la capacité des femelles à s'adapter aux conditions expérimentales, plus particulièrement chez les gros individus. Les changements physiologiques dus à la domestication sont fréquents en pisciculture (Vandeputte et Prunet, 2002), il est donc possible que les éleveurs aient progressivement sélectionné des perches plus résistantes aux conditions d'élevage comme expliqué par Balon (2004). Ceci conforte l'effet de la domestication observé sur la mortalité totale (mâles et femelles confondus).

### **Effet de l'origine géographique**

L'origine géographique des perches n'a que très peu modifié les paramètres morpho-anatomiques des femelles. En situation initiale, les poissons n'ont pas montré de différence de condition. L'étude de Mairesse (2005) a pourtant montré une différence de K2 entre des poissons du Léman, poissons de lac de montagne, et des poissons du Rhin, poissons supposés plus proches de nos géniteurs de la Meuse.

Un effet de l'origine géographique est uniquement visible en fin de phase de vernalisation, où les poissons de la Meuse présentent un K2 plus élevé. Ces poissons ont gagné en réserves lipidiques, ce qui n'est pas le cas des poissons d'origine Léman. Il semble que les poissons aient une stratégie de gestion de leur énergie différente en fonction de leur origine géographique.

#### ***1.2.2.2. Mâles***

Il ressort de cette étude que les facteurs testés ont influencé les caractéristiques morpho-anatomiques des mâles de manière différentes que ce qui est observé chez les femelles.

#### **Effet du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation**

Ainsi, l'effet du type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation a modifié l'état d'embonpoint des mâles (K1 et K2) de la même manière que pour les femelles, cependant l'impact de ce facteur est plus important pour les mâles (72 et 68% de la variance expliquée pour K1 et K2 respectivement pour les mâles et 54 et 16% pour les femelles). Le taux de croissance spécifique n'a en revanche pas été modulé. Il est probable que les raisons expliquant ce résultat soient identiques à celles exposées pour les femelles : composition de l'aliment et mode d'alimentation (voir paragraphe ***1.2.2.1.***). La plus forte importance de ce facteur chez les mâles s'explique probablement par le fait qu'ils investissent moins d'énergie dans la reproduction, et donc que la perte d'indice de condition est moindre (Sulistyo, 1998).

En revanche, le rationnement des poissons a modifié la croissance des géniteurs ainsi que leur K2. Ces effets étaient cependant très faibles (respectivement 8 et 3% de la variance des paramètres).

#### **Effet du poids initial des géniteurs**

L'absence de données initiales chez les mâles ne permet pas de vérifier si les différences observées pour les paramètres morpho-anatomiques des femelles sont également présentes chez les mâles. Le poids initial n'a modifié que le taux de croissance spécifique des mâles en fin de phase de vernalisation, les petits poissons ayant perdu du poids alors que les gros ont présenté un gain. Cette différence est probablement expliquée par la forte utilisation des réserves lipidiques par les petits poissons, alors que les gros semblent avoir eu un gain de réserves périviscérales pendant cette période, bien que nous n'ayons pas pu le prouver (CVETR élevé, puissance peu élevée). Ceci rejoint les observations faites pour les femelles, ainsi que l'explication de la différence d'utilisation des réserves par les petits poissons (Calder, 1996 ; Schultz et Conover, 1999).

### **Effet de l'origine géographique des géniteurs**

Le niveau des réserves lipidiques est apparu être plus élevé en fin de phase d'induction pour les mâles d'origine Léman (IG supérieurs), phénomène non observé chez les femelles. Cependant, la diminution d'embonpoint (K1) a été plus élevée pour ces poissons pendant la phase de vernalisation, bien que le taux de croissance spécifique ait été identique. Aucune donnée de la littérature ne permet d'expliquer la différence de gestion de l'énergie des géniteurs selon leur origine géographique.

### **Effet du niveau de domestication**

Les seuls effets du niveau de domestication concernant les mâles sont une modification leur état d'embonpoint (K1, K2). Chez les mâles, l'effet de la domestication a modifié l'état général d'embonpoint en fin de phase d'induction, puisque les poissons domestiques présentent un K1 plus élevé à ce stade. C'est également le cas pour K2., bien que l'absence de données initiales ne nous permette pas de le vérifier, il est possible que cette différence soit visible en situation initiale et soit due à la modification de la morphologie des poissons par la domestication (Mairesse, 2005).

## **I.2.3. DEVELOPPEMENT GONADIQUE DES GENITEURS**

### ***I.2.3.1. Femelles***

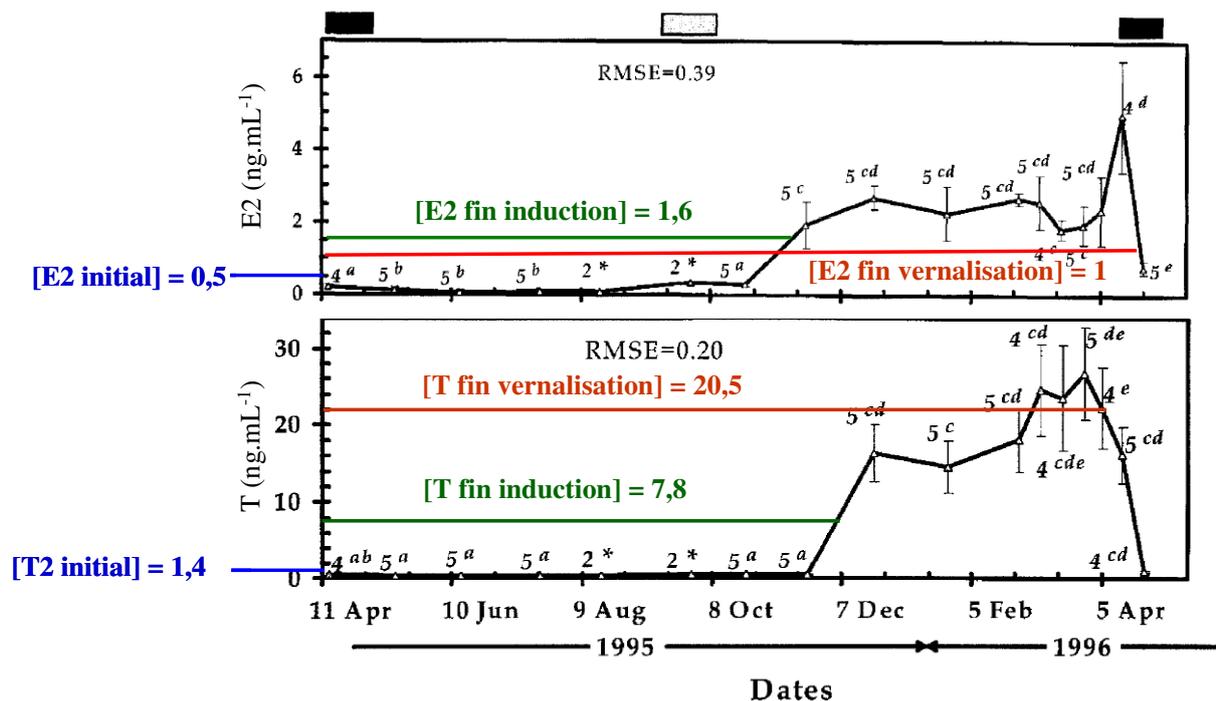
En début d'expérimentation, alors que les poissons ne sont pas rentrés dans un cycle de reproduction, les indices gonado-somatiques (IGS) mesurés chez les femelles sont légèrement plus élevés que ceux observés dans les populations « sauvages » en milieu naturel, puisqu'ils atteignent environ 1 % contre 0,5 % calculé par Sulisty (1998). Des valeurs d'IGS de 0,4 et 0,6% ont été observées par Migaud *et al.* (2006) selon que l'état nutritionnel initial des géniteurs était fort (IG : 5,3%) ou faible (1,3%). Ces deux auteurs ont étudiés des poissons sauvages d'un étang lorrain et des poissons domestiqués d'origine Léman. Il est possible que la différence de populations explique cet IGS initial plus élevé dans nos populations expérimentales.

L'observation de femelles de perche en milieu naturel montre des IHS généralement faibles en période de repos sexuel : 1,2% pour des perches de l'étang de Lindre en Moselle (Sulisty, 1998) et 0,93% pour des perches sauvages de la Meuse (Blanchard *et al.*, 2005). Ainsi, dans notre étude, les forts IHS observés en situation initiale (de 1,4 à 1,8 %) seraient

principalement dus à une accumulation plus importante de lipides, résultant probablement de la forte teneur en lipides totaux de l'aliment (21,9%) par comparaison à un aliment naturel (12,7% pour le poisson fourrage que nous avons utilisé). En effet, le stockage des réserves lipidiques chez la perche se fait principalement dans les réserves périviscérales, puis dans le foie en second lieu (Xu *et al.*, 2001 ; Blanchard *et al.*, 2005), comme cela est observé pour la truite arc-en-ciel et le bar (Figueiredo-Silva *et al.*, 2005).

L'IGS augmente ensuite de façon continue dès le début de la vitellogenèse, et ce tout le long du cycle jusqu'à la saison de pontes ; l'IHS augmente également jusqu'à un mois avant la saison de pontes, puis une diminution est alors observée (Sulistyo, 1998 ; Blanchard *et al.*, 2005). L'augmentation d'IGS correspond à la période de vitellogenèse où les ovocytes accumulent la vitellogénine ; ceci est possible grâce à la production hépatique de vitellogénine, qui permet le transfert du tissu mésentérique vers la masse ovarienne (Sulistyo, 1998). Ceci explique l'observation chez nos femelles d'une augmentation d'IGS et d'IHS au prélèvement P2 (fin de la phase d'induction, les poissons sont rentrés en phase vitellogénique), puis de la diminution d'IHS en P3 (diminution de la vitellogenèse). Des différences d'IHS dans le temps traduisent donc des différences d'activité au niveau des synthèses hépatiques.

Les valeurs moyennes d'œstradiol et de testostérone mesurées au cours l'expérience sont présentées dans la Figure 107, en comparaison avec les valeurs relevées lors de l'étude de Sulistyo (1998). Les teneurs que nous avons mesurées montrent une concordance avec celles observées par l'auteur. L'augmentation des teneurs en fin de phase d'induction montre que les poissons sont entrés en phase de vitellogenèse. Cependant, les taux d'œstradiol observés en fin de phase de vernalisation sont plus bas que ceux observés sur les perches sauvages.



**Figure 107 :** Comparaison des concentrations plasmatiques en œstradiol (E2) et en testostérone (T) relevées lors d'un cycle de reproduction chez des femelles de perche commune (traits noirs, Sulisyo *et al.*, 1998) et lors de notre étude en fin de phase d'induction et de vernalisation. Pour notre étude, les valeurs correspondent aux valeurs moyennes sur l'ensemble des bassins (en ng.mL<sup>-1</sup>).

En fin de phase de vernalisation, des pics préovulatoires sont généralement observés avant la période de ponte chez des perches. Migaud (2002) met en évidence une forte variation des teneurs pendant cette période ; les valeurs de base sont d'environ 1 ng.mL<sup>-1</sup>, et l'auteur observe deux pics à 2,5 ng.mL<sup>-1</sup> environ, plus faibles que ce qui a été observé par Sulisty (1998). Ces pics résultent d'une augmentation de GtH qui entraîne une augmentation de testostérone, en relation avec une augmentation de l'activité de l'Aromatase qui convertit la testostérone en œstradiol (Kagawa, 1982 ; Mylonas *et al.*, 1997). Ceci explique l'association de forts taux de testostérone (jusqu'à 35 ng.mL<sup>-1</sup>) aux faibles taux d'œstradiol (aux alentours de 1 ng.mL<sup>-1</sup>) que nous avons observé sur l'ensemble des bassins. Les différences de concentration en œstradiol relevées entre les deux expérimentations montrent une différence d'avancement dans les cycles de reproduction des différents lots de géniteurs. Les femelles de l'expérimentation « Alimentation » présentent des taux plus faibles ; ces femelles ont débuté leur saison de ponte avec une semaine environ d'avance sur les femelles de l'expérimentation « Population ». Il est donc probable que les femelles de l'expérience

« Alimentation » soient en période d'ovulation au moment du prélèvement de fin de vernalisation. Il est à noter que notre mesure correspond à un prélèvement unique, et qu'aucun suivi dans le temps n'a réellement été réalisé. Il est possible qu'un décalage du prélèvement de quelques jours aurait entraîné de fortes modifications des teneurs en stéroïdes.

### **Effet du poids initial des poissons**

Si une différence d'IGS entre les gros et les petits géniteurs n'a pu être montrée en début de cycle (CVETR élevé), un effet du poids initial est observé sur la concentration plasmatique en testostérone mesurée au début de l'expérience avant l'application du programme photo-thermique. Les grosses femelles présentent un taux significativement plus élevé que les petites femelles. En revanche, les niveaux d'ostrogènes ne dépendent pas du poids initial. Chez la perchaude, les androgènes (T) n'ont que peu d'effet sur la croissance (Malison *et al.*, 1988), alors que les œstrogènes (dont E2) améliorent la croissance des femelles en augmentant le taux de nutrition (Malison *et al.*, 1988 ; Ko *et al.*, 1999), ce qui explique le dimorphisme sexuel de croissance observé chez la perche commune (Mélard *et al.*, 1995 ; Fontaine *et al.*, 1997). L'étude de Mandiki *et al.* (2004b) montre qu'un traitement avec de la 17 $\alpha$ -méthyltestostérone entraîne une diminution du taux de nutrition et de la croissance de juvéniles de perche. Notre étude confirme donc une relation entre les niveaux plasmatiques en androgènes et le taux de croissance de la perche, même si les résultats contradictoires demeurent inexpliqués. Nous pouvons faire l'hypothèse que les différences d'âge et de niveau reproducteur des poissons expliquent cette divergence.

L'IGS semble être plus élevé pour les grosses femelles en comparaison à celui relevé chez les petites femelles en fin de vernalisation, bien que l'analyse statistique ne nous permette de l'affirmer (limite de signification) (Figure 80). Migaud *et al.* (2004) ont observé lors de leur expérimentation que les femelles de poids plus faible (200-250g) étaient plus sensibles aux facteurs environnementaux et entraient plus facilement dans un cycle de reproduction par rapport à de plus grosses (300-350g). En effet, la mesure de l'IGS au mois de février (mi vernalisation) montrait des valeurs significativement plus élevées pour les petites femelles (12% contre 4% pour les grosses). Nous avons observé le phénomène inverse lors de nos expérimentations. Cependant, le poids moyen de nos poissons en situation initiale était nettement plus faible (80-90g pour les petites femelles et 150-170g pour les grosses femelles). Il est donc possible qu'il existe un lien entre le poids des femelles et leur investissement dans la reproduction, mais le processus n'est pas connu chez la perche.

L'étude de Heibo et Vollestad (2002) sur 75 populations de perche provenant de nombreux lacs européens montre cependant que l'IGS ne dépend pas de la taille des poissons dans une même population.

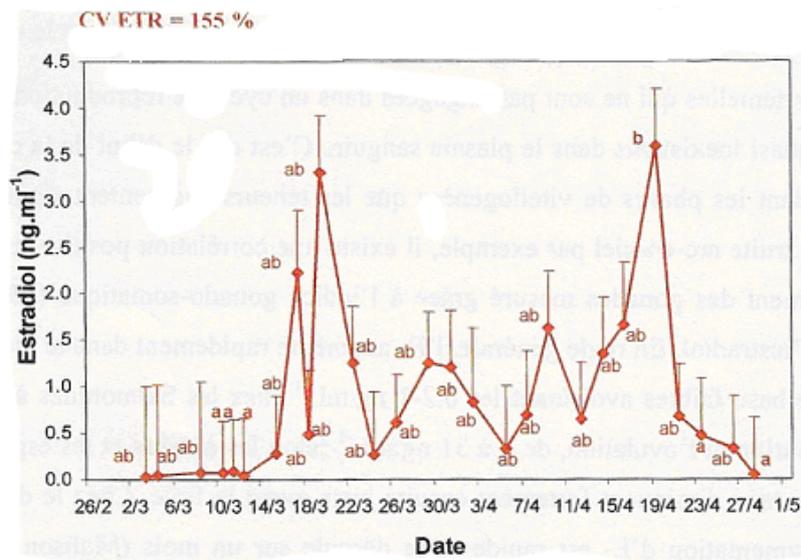
### **Type d'aliment distribué pendant la vernalisation**

L'IGS des femelles a également été influencé par le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation, puisque les femelles nourries aux granulés pendant cette période ont développé plus de gonades (Figure 43). Cette variation peut être due soit à un meilleur développement des gonades chez les femelles nourries avec l'aliment artificiel, soit à une plus importante prise de poids chez les femelles nourries avec du poisson fourrage. Or, les données montrent que ces femelles ont un indice de condition K2 et un taux de croissance spécifique plus élevés que celles nourries aux granulés. Cela nous permet de conclure que cette diminution de l'IGS est principalement due à une plus forte prise de poids de la part des femelles nourries au poisson fourrage.

Ces mêmes femelles présentent en fin de vernalisation des taux d'œstradiol inférieurs. Ces résultats semblent incohérents avec l'observation de l'IHS, qui est plus élevé lors de l'alimentation avec du poisson fourrage. En effet, l'IHS élevé à ce moment du cycle traduit une plus forte activité métabolique, en particulier celle liée à la production de vitellogénine. Etant donné que l'hormone inductrice de cette synthèse est l'E2, il semblerait logique d'observer des teneurs plus élevées.

Les différences de production d'œstrogène pourraient être liées au rapport DHA/EPA/ARA des aliments. L'aliment fourrage présente en effet une proportion globale plus importante d'acide arachidonique par rapport aux granulés, dans lequel la quantité d'ARA (série n-6) est très faible (ratio de 22/10/1 pour le poisson fourrage et de 10/30/1 pour les granulés). Il est connu dans la littérature que l'ARA, via sa conversion en prostaglandines (PGE2), stimule la production de testostérone chez le poisson rouge (*Carassius auratus*) (Van der Kraak *et al.*, 1990 ; Mercure et Van der Kraak, 1996) ; tandis que les AGPI de la série n-3 (dont le DHA et l'EPA) atténuent la production de stéroïdes à stimulation gonadotrope, à la fois dans les testicules des poissons rouges et dans les ovaires (Mercure et Van der Kraak, 1996). Chez la perche, l'ARA induit la production de 17,20b-dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP), une hormone produite par les cellules vitellogéniques folliculaires, qui contrôlent la maturation ovocytaire finale, ainsi que la production de PGE2 et PGE2 $\alpha$  par les cellules folliculaires. Donc la teneur en ARA de l'aliment peut modifier la maturation folliculaire finale chez la perche (Henrotte *et al.*, 2011). Il est ainsi possible que les femelles ayant mangé

du poisson fourrage pendant la phase de vernalisation et donc ayant reçu une quantité plus importante d'acide arachidonique, que celles nourries aux granulés, soient plus avancées dans leur cycle de reproduction, d'où de plus faibles taux d'œstradiol plasmatiques. Comme l'a présenté Migaud *et al.* (2003) (Figure 108), les teneurs d'E2 sont très variables dans un laps de temps très court en période pré-ovulatoire et sur des durées très courtes de quelques jours. La différence d'avancement dans le cycle de reproduction peut donc être très faible, ce qui expliquerait que l'on n'observe pas de différence de date de ponte significative.



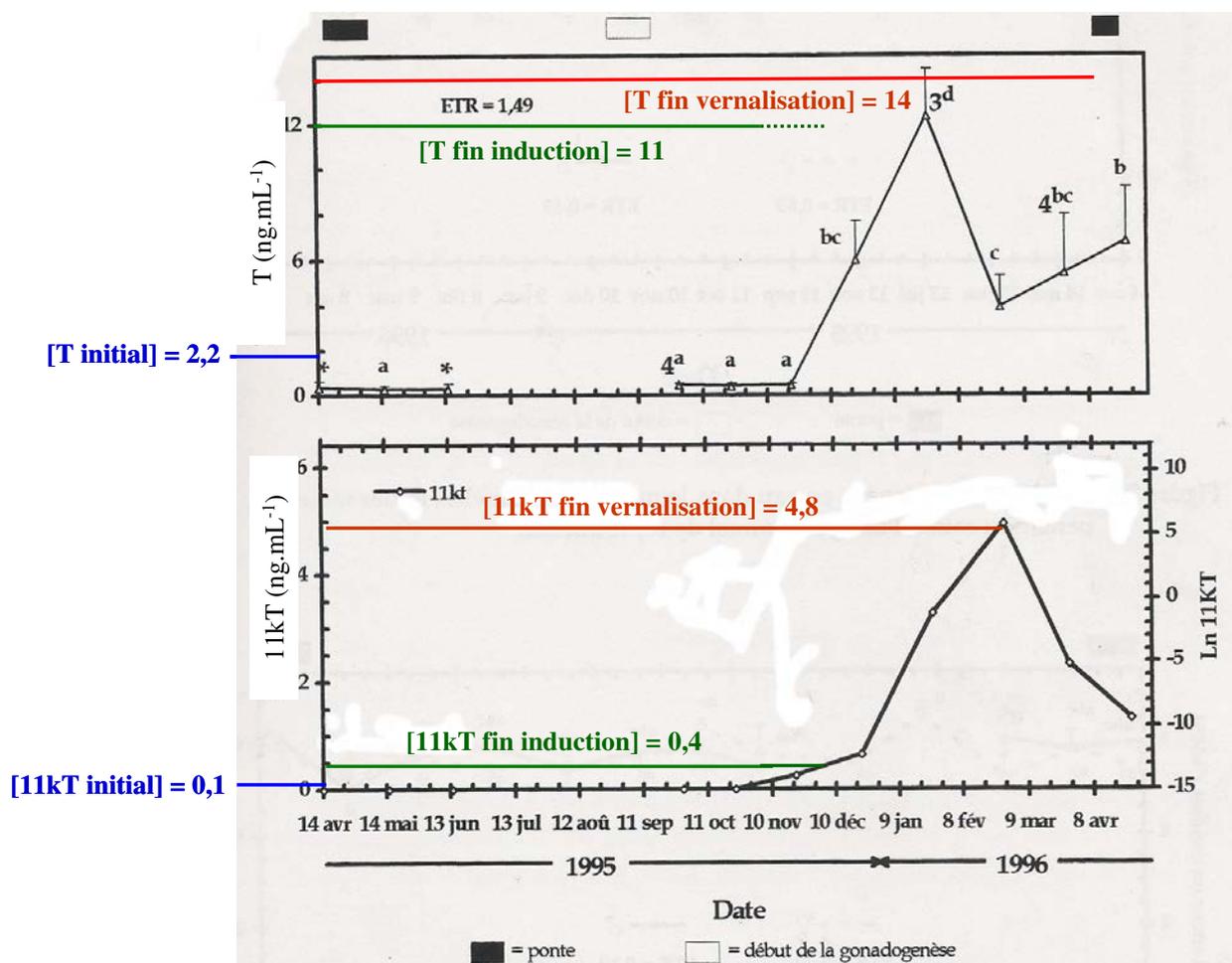
**Figure 108 :** Variations de la teneur plasmatique en œstradiol (E2) chez des géniteurs femelles de perche commune prélevées en milieu naturel en période pré-ovulatoire. D'après Migaud *et al.* (2003).

### Rationnement utilisé pendant la vernalisation

L'application de périodes de jeûne aux poissons pendant la phase de vernalisation entraîne une diminution des teneurs plasmatiques en œstradiol par rapport à un nourrissage à satiété permanent. Nous pouvons émettre l'hypothèse d'une vitellogenèse moins active due à un manque de nutriments, ce qui explique ces taux plus faibles d'œstradiol. Une réduction des taux plasmatiques d'E2 de 50% environ a également été observée lors d'une restriction alimentaire (poissons nourris à 0,45% du poids vif par jour contre 1,04 pour le groupe témoin) chez le bar. Cependant, la restriction alimentaire a retardé la période de ponte d'un mois (Cerde *et al.*, 1994), phénomène que nous n'avons pas observé.

### 1.2.3.2. Mâles

Chez les mâles, l'IGS des poissons sauvages est plus faible en été, soit inférieur à 0,3%, comme cela a été observé dans nos bassins (Sulistyo *et al.*, 2000). Il augmente au cours du mois de septembre pour atteindre une valeur maximale de 8,5%, avant de chuter en octobre et de se stabiliser aux alentours de 5% jusqu'à la période de ponte. Ceci est en accord avec les données que nous avons mesurées. Les teneurs plasmatiques en 11 kéto-testostérone correspondent à celles observées dans le milieu naturel par Sulistyo (1998) (Figure 109). Cependant, les teneurs en testostérone que nous avons mesurées sont plus élevées durant tout le cycle de reproduction. Wang (2002) a également mesuré des teneurs avoisinant 14 ng.L<sup>-1</sup> lors de ses expérimentations dans des conditions similaires aux nôtres.



**Figure 109 :** Comparaison des concentrations plasmatiques en testostérone (T) et en 11-kétotestostérone (11kT) relevées lors d'un cycle de reproduction chez des mâles de perche commune (traits noirs, Sulistyo *et al.*, 2000) et lors de notre étude en fin de phase d'induction et de vernalisation. Pour notre étude, les valeurs correspondent aux valeurs moyennes sur l'ensemble des bassins (en ng.mL<sup>-1</sup>).

### **Effet du rationnement utilisé pendant la phase de vernalisation**

Lors de l'expérimentation « Alimentation », le rationnement utilisé pendant la vernalisation a modifié l'IGS des mâles. En effet, les individus ayant subi des périodes de jeûne présentent un IGS plus élevé. Tout comme supposé pour les femelles, il semblerait que cet effet soit dû à une baisse de condition des poissons (K2), même si l'analyse statistique ne permet pas de le démontrer. Les observations de Wang (2006) ne montrent pas d'effet de la restriction alimentaire pendant la phase de vernalisation. Lors de son étude, il semblerait que l'état initial des réserves des géniteurs ait été le facteur nutritionnel le plus influent sur l'IGS des mâles.

### **Effet de l'origine géographique des géniteurs**

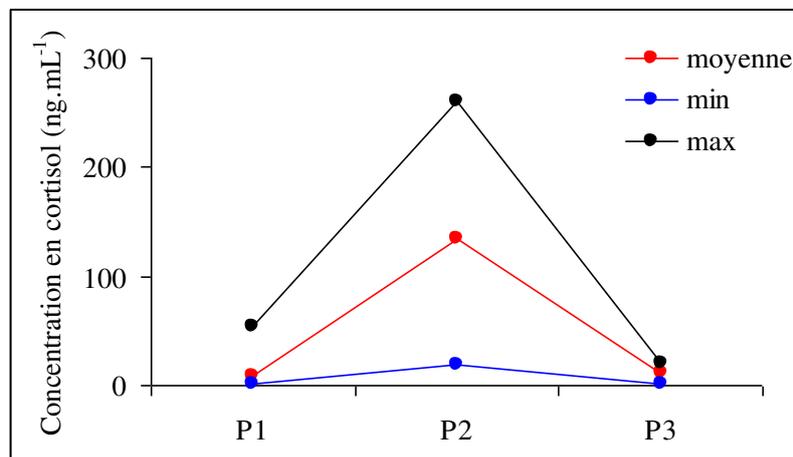
Les poissons du lac Léman présentent des taux plasmatiques en testostérone et 11-kétotestostérone moins élevés que les poissons de la Meuse en fin de vernalisation. Les mâles de perche présentent un pic de 11kT, lié à la spermiation. Cette hormone est impliquée dans le maintien de la viabilité des spermatozoïdes en attendant la saison de ponte (Malison *et al.*, 1994). Il est donc possible que les poissons du lac Léman présentent un retard de spermiation par rapport aux poissons de la Meuse.

## **I.2.4. CORTISOLEMIE DES GENITEURS**

Lors de nos expérimentations, les taux de cortisol plasmatiques ont montré de fortes variations entre les différents points de prélèvement. En situation initiale, les taux s'échelonnaient de 1 à 20 ng.mL<sup>-1</sup> sur l'ensemble des différents lots de géniteurs. En fin de phase d'induction, des teneurs très élevées ont été observées dans les deux expériences, avec des valeurs pouvant atteindre 260 ng.mL<sup>-1</sup> (Figure 110) et présentant une forte variabilité. Ce niveau de concentration est généralement rencontré lors d'un fort stress chronique ou un stress aigu. En effet, Acerete *et al.* (2004) mesurent des taux plasmatiques maximaux de 146 ng.mL<sup>-1</sup> lors d'un stress aigu causé par un transport et Douxfils *et al.* (2011) observent des teneurs de 123 ng.mL<sup>-1</sup> chez des juvéniles de perche exposés à un stress chronique (confinement).

De forts taux de cortisol ont été mesurés à la fin de la période d'induction par Wang (2006), dans des conditions similaires aux nôtres, cependant les teneurs moyennes n'étaient

pas si élevées (38 et 48 ng.L<sup>-1</sup> pour les femelles et les mâles respectivement). Cet auteur suggère que ces teneurs élevées sont liées à la faible température qui aurait agit comme un élément stressant sur les perches. Cependant, s'il a également observé de forts taux en fin de vernalisation (72 et 42 ng.mL<sup>-1</sup> à 4 et 8°C respectivement pour les femelles, 35 ng.mL<sup>-1</sup> en moyenne pour les mâles), les teneurs relevées lors de nos expérimentations ont fortement diminué pendant cette période pour atteindre des teneurs à peine plus élevées qu'en situation initiale. Etant donné que les perches subissent de faibles températures en période hivernale dans leur environnement, avec un minimum d'environ 5°C dans le lac Léman et le Rhin mesuré au mois de janvier (Mairesse *et al.*, 2005), il semble peu probable que l'abaissement de la température soit perçu comme un facteur de stress et explique les forts taux de cortisol que nous avons observé. Une étude a montré que le cortisol pouvait avoir un rôle dans la reproduction (Sbaihi, 2001). En effet, plusieurs rôles ont été notés, dont la stimulation de la production de LH (hormone lutéinisante ou GtH-II) et un rôle important dans la mobilisation des réserves métaboliques et calciques nécessaires à la vitellogenèse. Il est donc possible que les forts taux de cortisol ne soient pas une réponse à un stress des poissons, mais soit un phénomène normal dans les processus physiologiques liés à la reproduction.



**Figure 110 :** Evolution des concentrations plasmatiques minimales, moyennes et maximales de cortisol observées chez les géniteurs de perche sur l'ensemble du cycle de reproduction lors des expérimentations « Alimentation » et « Population ». P1 : prélèvement initial ; P2 : prélèvement en fin de phase d'induction ; P3 : prélèvement en fin de phase de vernalisation.

### **I.3. REGULATION MULTIFACTORIELLE DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION**

L'estimation des performances de reproduction n'a pas pu être entièrement réalisée, du fait de taux de fécondation très faibles et de taux d'éclosion nuls. La qualité globale de la reproduction a donc été très médiocre pour nos deux expérimentations et n'a pas permis une analyse complète de la régulation multifactorielle des performances de reproduction, comme initialement prévu. Il semble que la cause principale soit la qualité des ovocytes. En effet, les spermatozoïdes des mâles des deux expériences ont été vérifiés et présentaient des paramètres normaux pour des perches (concentration spermatique, osmolarité et motilité ; données non publiées ; collaboration avec l'Université de Bohême du Sud, République Tchèque) et la technique de fécondation artificielle est couramment utilisée au laboratoire et a préalablement permis d'obtenir de bons résultats (obtention de larves de bonne qualité, résultats non décrits).

Diverses raisons peuvent expliquer la faible qualité des ovocytes. Le programme photo-thermique pourrait être remis en cause ; mais Abdulfatah (2010) a obtenu des taux de fécondation de 90% dans des conditions identiques. En revanche, il n'a pas étudié les taux d'éclosion, qui, malgré un taux de fécondation élevé, pourraient être nuls. De plus, la société Lucas Perches (Hampont, Moselle) a obtenu en 2010 des larves avec ce même programme photo-thermique en conditions de pontes hors saison (données non publiées). Le bassin de conditionnement des géniteurs était bien plus volumineux (10 000 L), et les densités plus fortes que dans nos expériences. Il est possible que nos bassins expérimentaux de 500 L ne soient pas adaptés à la reproduction de la perche, qui est un poisson grégaire se plaisant à de fortes densités d'élevage. Ceci pourrait entraîner un état de stress et donc des perturbations de la vitellogenèse. Il est en effet largement connu que le stress modifie les performances de reproduction (Campbell *et al.*, 1992 ; Contreras-Sanchez *et al.*, 1998 ; Mingist *et al.*, 2007 ; Leatherland *et al.*, 2010). Cependant, la mesure du cortisol ne semble pas être l'indicateur le plus fiable, du fait de son possible rôle dans la reproduction.

Toutefois des enseignements importants que nous allons présenter sont à tirer de cette partie de l'étude.

### **I.3.1. PARAMETRES QUANTITATIFS**

#### **Effet du type d'aliment utilisé en phase d'induction sur le taux de ponte**

Le taux de ponte était plus faible quand les femelles ont été nourries avec du poisson fourrage pendant tout le cycle de reproduction. Les femelles qui n'ont pas pondu ne sont pas entrées dans le cycle de reproduction. Le changement de type d'alimentation a peut-être engendré une perturbation pour des poissons nourris aux granulés depuis leur sevrage, comme en témoigne l'augmentation de la mortalité des poissons nourris au poisson fourrage pendant la phase d'induction.

#### **Effet du poids initial des géniteurs sur la fécondité absolue**

Les fécondités que nous avons obtenues étaient plus faibles par rapport à ce qui a pu être observé dans la littérature. Par exemple, Henrotte *et al.* (2010) obtiennent 32 100 à 48 500 œufs par femelle en moyenne, selon les différents régimes alimentaires testés, soit 3 à 4 fois plus que dans nos expérimentations (soit 10 025 œufs par femelle en moyenne sur l'ensemble des bassins des deux expérimentations). Leurs poissons (géniteurs de deux ans domestiqués de génération 4) pesaient 185 g en début d'expérimentation, soit un poids initial plus élevé que dans nos expérimentations. Migaud *et al.* (2006) obtient des fécondités absolues de 39 500 à 50 800 œufs par femelle, soit 99,8 à 112,6 œufs par gramme de femelle en fécondité relative, ce qui correspond à près de deux fois ce que nous avons observé. Les géniteurs utilisés étaient des perches de 3 ans sauvages, d'origine Moselle (Lindre-Basse), pesant de 252 à 279g en début d'expérience. Etant donné que l'âge des poissons influence les performances de reproduction (Kamler, 2005), les plus faibles fécondités observées dans nos expériences pourraient être dues aux caractéristiques intrinsèques de nos géniteurs (poissons de un an en début d'expérience et de rang de ponte 1).

Le poids initial des géniteurs peut également expliquer ces différences. En effet, notre étude a montré que le poids initial a influencé la fécondité absolue des femelles : les petites ont produit moins d'œufs que les grosses. Ce phénomène est observé couramment dans la littérature, de telle sorte qu'une relation exponentielle décrit cette relation :  $E.n. = a.L^b$  où E.n. correspond au nombre d'œufs, L correspond à la longueur de la femelle et a et b sont des facteurs spécifiques à l'espèce étudiée (Kamler, 2005). La fécondité relative cependant reste inchangée. Les deux exemples cités précédemment confirment également cette hypothèse.

## **Effet du niveau de domestication et de l'origine géographique sur le poids individuel ovocytaire**

Dans notre expérience, nous avons aussi observé un effet du poids initial des femelles sur le poids ovocytaire, en interaction avec le niveau de domestication (Figure 90). Cela montre que les poissons domestiqués pondent des ovocytes plus gros lorsque le poids initial des géniteurs est plus important ; le phénomène inverse est observé pour les poissons sauvages. Heibo et Vollestad (2002), lors d'une étude de la reproduction de la perche sur 5 lacs norvégiens, ont noté une augmentation du poids individuel des œufs avec la taille des femelles, ceci pour chaque localité étudiée. Cependant, les auteurs n'ont pas mesuré le poids des poissons ni leur indice de condition. Il est donc délicat de conclure sur un phénomène similaire dans nos bassins concernant les femelles domestiquées. De plus, le poids ovocytaire tel qu'il a été mesuré prend en compte la gangue gélatineuse. Ce paramètre ne reflète donc pas exactement le contenu ovocytaire, puisque la quantité de matière de la gangue peut varier, sans forcément modifier la qualité ovocytaire. La différence de poids pourrait être due à une différence de gonflement de la gangue ou de sa composition chimique.

## **Effet du taux de rationnement sur le diamètre ovocytaire**

Le diamètre ovocytaire, paramètre plus fiable puisque la gangue n'est pas prise en compte, a été influencé par le taux de rationnement des poissons. Les périodes de jeûne, que ce soit en phase d'induction ou en phase de vernalisation, ont diminué le diamètre des ovocytes. La fécondité absolue n'a pas été affectée, le nombre d'œufs par femelle était identique. L'énergie moindre reçue par les femelles lors des périodes de jeûne a donc entraîné une baisse des réserves ovocytaires incorporées pendant la vitellogenèse. Ce phénomène a également été observé par Cerda *et al.* (1994) chez des géniteurs de bar ayant subi une restriction sur une longue période au cours de leur cycle de reproduction. Lors de restrictions alimentaires en début de cycle de reproduction, la perche semble avoir favorisé la quantité d'ovocytes, contrairement à ce qui est plus habituellement observé (Carillo *et al.*, 1995b, Siddiqui *et al.*, 1998). Cependant, les taux de fécondation très faibles et l'absence d'éclosion ne nous permettent pas de conclure sur l'effet de ces périodes de jeûne sur les performances des larves.

### **I.3.2. PARAMETRES QUALITATIFS**

#### **Effet de l'origine géographique sur le moment de ponte**

Les poissons d'origine Meuse ont pondu plus tôt que les poissons d'origine Léman, indépendamment de leur taille ou de leur niveau de domestication, et des facteurs environnementaux supposés déclencher les pontes (augmentation de la photopériode et de la température). Dans la nature, les poissons d'origine Meuse pondent habituellement plus tôt dans la saison, généralement dès début avril (com. pers. C. Mélard), alors que les poissons du lac Léman pondent plus tard, de mai à juin lorsque la température approche les 12°C (Gillet et Dubois, 2007). Cette différence de moment de ponte pourrait être liée au fait que l'eau de ce lac de montagne se réchauffe beaucoup plus lentement que l'eau d'un fleuve de plaine comme la Meuse, comme a observé par Mairesse (2005) lors de la comparaison des températures annuelles dans le Léman et dans le Rhin. Les précédentes études (Abdulfatah, 2010) montraient que la température était le facteur déclencheur de la période de ponte chez la perche. Dans notre expérience, les pontes débutent alors que la température est encore à 6-7°C et la photopériode a à peine commencé à augmenter. Ainsi, le moment de ponte apparaît être une caractéristique héréditaire comme cela a pu être observé chez la truite arc-en-ciel (Su *et al.*, 1997) pour laquelle une différence de 18 jours a pu être observée entre deux souches (Quinton *et al.*, 2004).

Ces observations indiquent que le programme photo-thermique utilisé n'est pas adapté aux poissons d'origine Meuse. Il a en effet été développé principalement à partir de lots de géniteurs d'origine Léman (Migaud, 2004 ; Wang, 2006 ; Abdulfatah, 2010). Il semble donc important durant un processus de domestication d'utiliser des géniteurs de la même origine géographique ou d'adapter le programme photo-thermique en fonction de l'origine géographique des géniteurs afin d'optimiser les performances de reproduction.

Une reproduction de la perche à des températures plus faibles (par rapport à 12-14°C) est régulièrement observée : des rubans sont trouvés à 8-9°C lorsque le réchauffement printanier est plus lent. Cependant, nous n'avons pas suffisamment de données pour conclure quand à un impact éventuel sur la qualité de telles pontes prématurées.

#### **Effet du niveau de domestication sur le taux de fragmentation des pontes**

Le seul effet observé de la domestication sur les performances de reproduction concerne le taux de fragmentation des rubans. Un fort taux de fragmentation indique une

perturbation dans le phénomène d'attachement des œufs et peut être lié à un défaut du fluide ovarien (Mansour *et al.*, 2009), donnant ainsi une indication sur la qualité des œufs. Nos résultats montrent une interaction entre le niveau de domestication et l'origine géographique des géniteurs. En accord avec l'origine des poissons, l'impact de la domestication sur l'attachement des ovocytes n'est pas le même, puisque les poissons domestiqués présentent un plus fort taux de fragmentation pour l'origine Léman par comparaison à l'origine Meuse, et qu'un phénomène inverse est observé pour les poissons sauvages (Figure 91). Ce pourrait être une conséquence négative du niveau de domestication puisque les poissons de la Meuse sont domestiqués depuis 5 générations, tandis que les poissons du Léman sont domestiqués depuis 11 générations (données CEFRA et Percitech). Une autre possibilité concerne les parcours de domestication des poissons des deux origines différentes. En effet, les adaptations aux conditions de captivité varient selon les caractéristiques des systèmes d'élevage, ainsi que les décisions prises par les éleveurs, ce qui amène à différentes adaptations des poissons domestiqués (Vandeputte et Prunet, 2002).

## CONCLUSIONS

Ce travail a pu mettre en évidence certaines régulations multifactorielles des paramètres morfo-anatomiques des géniteurs tout au long du cycle de reproduction ainsi que leurs performances de reproduction, malgré l'absence d'éclosion des larves.

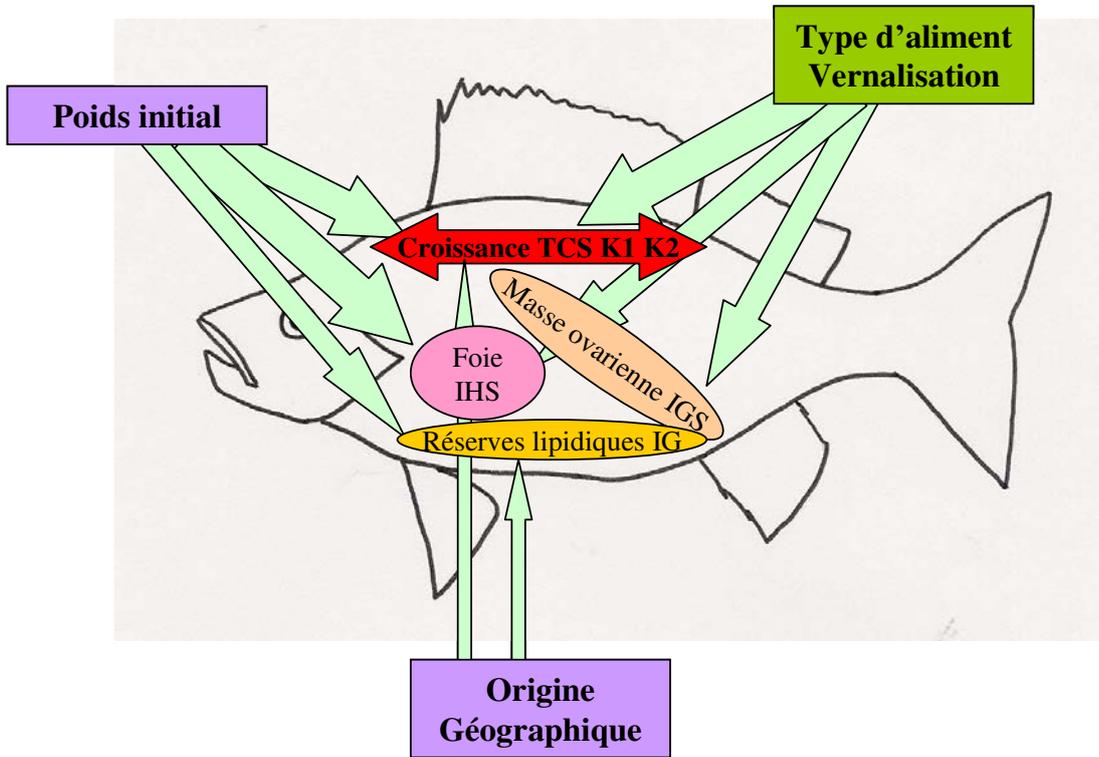
Les poissons ont développé des stratégies de reproduction différentes en fonction du sexe (Figures 111 et 112).

Les facteurs alimentaires ont plus d'importance pour les femelles, notamment lors de la période de vernalisation, que pour les mâles. L'observation d'effets de ces facteurs pendant la phase de vernalisation prouve que les géniteurs continuent à s'alimenter et utilisent l'énergie de l'alimentation pour réaliser leur gonadogenèse. Cependant, les femelles semblent plus sensibles à la qualité de l'aliment qu'à sa quantité, à l'inverse des mâles. L'effet du type d'aliment sur les caractéristiques des femelles est ainsi apparu comme particulièrement important. Il semble donc que lors d'un cycle de reproduction, il faille veiller à apporter aux géniteurs femelles un aliment de qualité afin d'éviter une baisse des performances de reproduction. Cependant, l'étude des performances larvaires pourrait permettre de valider cette observation. La distribution de poisson fourrage ne semble pas particulièrement intéressante, de part la mortalité qu'elle entraîne, et de part la baisse du taux de ponte. Quand

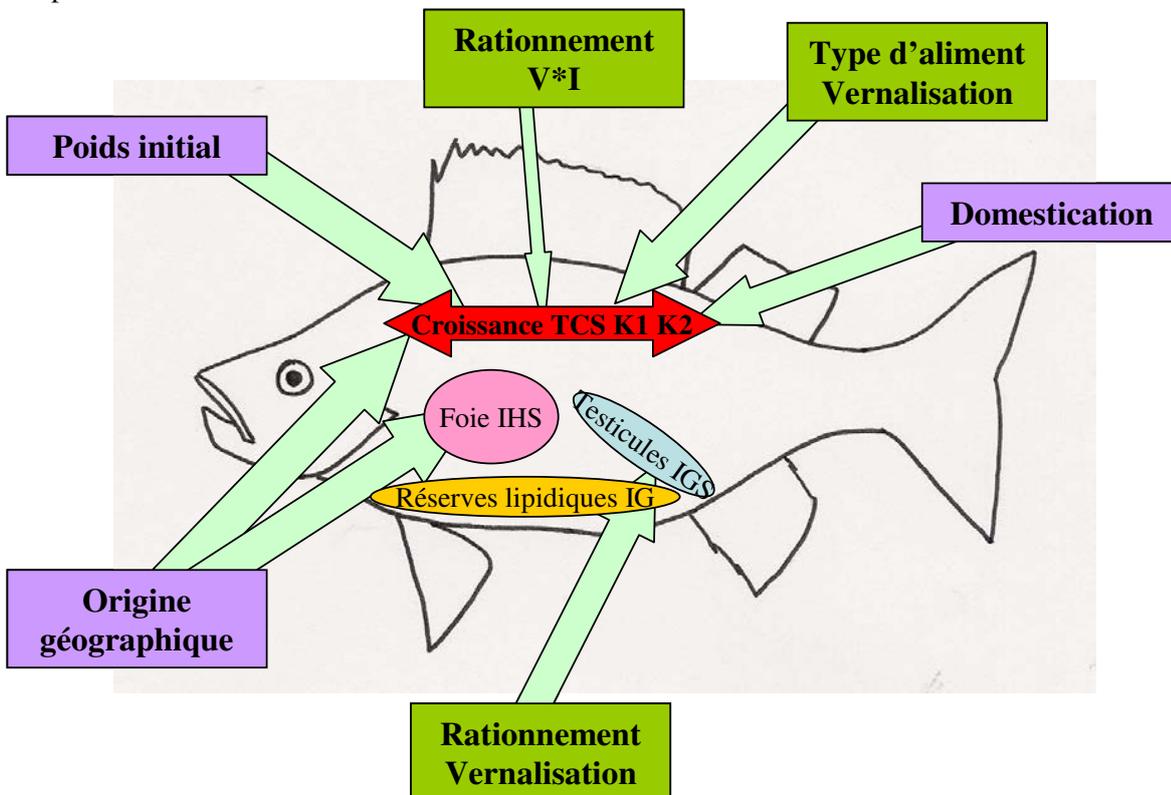
aux mâles, plus que la qualité, c'est la quantité d'aliment distribué qui doit être suffisante pour obtenir un développement testiculaire normal.

Le poids initial des géniteurs est un paramètre à prendre en compte lors du choix des femelles. Des géniteurs plus gros pondent plus d'ovocytes, présentent un épuisement moindre des réserves et un meilleur embonpoint en fin de cycle de reproduction. Il semble aussi essentiel de sélectionner la souche de géniteurs en fonction de son adéquation avec le programme photo-thermique. En effet, des pontes précoces ou tardives par rapport au programme utilisé pourraient perdre en qualité de part des conditions de pontes inadaptées (température trop faibles ou trop élevée). Etant donné que la période de spermiation des mâles est étendue dans le temps, l'adéquation entre souche et programme photo-thermique semble moins importante pour ce sexe. Un suivi de la qualité du sperme sur l'ensemble de la période de reproduction pourrait confirmer cette hypothèse.

Enfin, l'observation d'interaction lors du test des différents facteurs soulève l'intérêt du plan complet pour tester les facteurs modulateurs étudiés.



**Figure 111 :** Effet des principaux facteurs testés lors des expérimentations « Alimentation » et « Population » sur les caractéristiques morpho-anatomiques des femelles lors d'un cycle de reproduction.



**Figure 112 :** Effet des principaux facteurs testés lors des expérimentations « Alimentation » et « Population » sur les caractéristiques morpho-anatomiques des mâles lors d'un cycle de reproduction.

## CHAPITRE 2 : INDICATEURS DE LA QUALITE DE LA REPRODUCTION

### II.1. INDICATEURS MORPHOMETRIQUES

Lors de l'expérimentation 3 « Qualité Ovocytes », nous avons étudié un ensemble de paramètres caractérisant les pontes afin de les classer en fonction de leur qualité. Cette approche multiparamètres avait pour but d'identifier des relations entre les performances de reproduction mesurées après la fécondation et des paramètres mesurés avant la fécondation et susceptibles de prédire ces performances. L'importance de certains de ces critères est discutée ci-dessous.

#### **Rôle d'indicateur précoce des pontes de mauvaise qualité du taux de fécondation**

Lors de notre étude, nous avons obtenu 70 % de pontes fécondées et ayant donné des larves et 30 % des pontes n'ayant développé aucun embryon. Les pontes fécondées présentent un taux de fécondation élevé (supérieur à 85 %), mais des taux d'éclosions beaucoup plus variables ( $73 \pm 24$  %) ; les deux groupes ayant développé des embryons (Haute Qualité et Qualité Intermédiaire) ne montrent pas de différence significative pour ces 2 variables. L'analyse du taux de fécondation à 3 jours, premier paramètre mesuré après la fécondation, a ainsi permis de discerner les pontes de mauvaise qualité (MQ) des autres pontes, tel que décrit par Kjorsvik *et al.* (1990). Ce paramètre ne paraît pas être lié avec les performances ultérieures des pontes, particulièrement des larves. Si chez certaines espèces comme les salmonidés, un lien est observé entre le taux de fécondation et les performances embryonnaires et larvaires (survie embryonnaire en particulier) (Bromage *et al.*, 1992, Bromage, 1995), ceci ne semble pas être le cas pour la perche, puisqu'aucun lien n'est observé, comme cela a déjà été constaté chez d'autres espèces de poissons comme la carpe, le turbot, la morue... (Kjorsvik *et al.*, 1990). Il faut noter toutefois que nous avons mesuré le taux de fécondation à 3 jours, par l'observation du croissant formé autour du globule vitellin par l'embryon en développement. Le terme « taux de fécondation » est donc un terme impropre, comme le font remarquer Bobe et Labbé (2010), puisque les premiers stades embryonnaires sont pris en compte. En effet, la fécondation peut avoir eu lieu, et s'être arrêté par la suite. Il serait donc intéressant d'étudier les premiers stades de développement afin de déterminer à quoi correspond un taux de fécondation à 3 jours nul : absence totale de

fécondation, défaut dans la réaction corticale, ou défaut dans les premiers stades de clivage ayant entraîné la mort de l'embryon.

### **Taux de survie larvaire à 7 jours et taux de survie larvaire au jeûne**

Les deux paramètres que l'analyse a mis plus particulièrement en évidence concernent les capacités de survie des larves : taux de survie larvaire au jeûne et à 7 jours. Ces 2 paramètres sont ceux qui reflètent au mieux la qualité du développement embryonnaire ainsi que la composition initiale du contenu ovocytaire. Ils dépendent en effet de la façon dont le développement embryonnaire et larvaire a eu lieu, ainsi que de l'énergie que la larve a à sa disposition pour survivre (résorption du sac vitellin au bout de 7-10 jours maximum selon Aby-Ayad, 1998). Ces deux paramètres semblent donc être des paramètres intégrateurs de l'estimation des performances de reproduction.

L'analyse de données montre que le taux de survie à 7 jours et le taux de survie au jeûne sont liés. Ceci rejoint les observations réalisées par Amsterdam *et al.* (2004) : ces auteurs constatent que la mortalité des larves de poisson a lieu généralement durant les 5 jours après l'éclosion. De plus, le taux de survie au jeûne intègre les données du taux de survie à 7 jours, puisqu'il mesure indirectement la mortalité des larves sur une période plus longue (jusqu'à une quinzaine de jours). Ainsi, nous pouvons estimer que le taux de survie à 7 jours pourrait être suffisant pour estimer la qualité des larves de perche. Il est techniquement plus simple à réaliser que le suivi quotidien de la mortalité des larves lors du test de survie au jeûne ; il est donc plus fiable. En effet, les larves peuvent se désagréger et disparaître très rapidement une fois mortes dans l'isoloir. Nous avons choisi de ne pas nourrir les larves pendant cette période pour éviter les problèmes d'hétérogénéité de croissance, principalement dus à ce stade de développement larvaire à la difficulté de distribuer de façon homogène les proies, généralement des larves artémias, dont la teneur énergétique peut varier d'une éclosion à l'autre (effet des micro-environnements). Ainsi, les nourrissages auraient pu fausser les données en augmentant les chances d'obtenir des larves plus ou moins résistantes selon leur taux d'ingestion, ce qui mène à une plus forte hétérogénéité de taille, voire au cannibalisme, fréquent en larviculture de la perche (Kestemont *et al.*, 2003).

### **Paramètres mesurés avant la fécondation des ovocytes**

Parmi les paramètres mesurés avant la fécondation, très peu semblent être suffisamment fiables pour prédire les performances des embryons et larves issus de la ponte

étudiée. Les seuls paramètres pouvant expliquer les performances de reproduction sont ceux qui expliquent l'axe 2 de l'ACP (Figure 102), soit l'axe portant les valeurs actives décrivant les performances embryonnaires (taux de fécondation et d'éclosion). Ces paramètres sont la date de ponte et le taux de fragmentation.

#### *Date de ponte*

La date de la ponte semble donc liée à la capacité des gamètes à être fécondés et aux embryons à se développer correctement. Les pontes de haute qualité ont ainsi été pondues plus tôt dans la période de reproduction que les pontes de qualité intermédiaire, qui sont elles-mêmes pondues en même temps que les pontes de mauvaise qualité. Ceci est en accord avec des travaux précédents sur la perche qui montrent que les taux de fécondation et d'éclosion diminuent au cours de la saison de ponte. Ces résultats ont été mis en relation avec une dégradation prématurée des protéines vitellines (Kestemont *et al.*, 1999). Durant la saison de ponte, une diminution des performances de reproduction est observée chez d'autres espèces et pourrait être expliquée par le phénomène de surmaturation ovocytaire (Kjorsvik *et al.*, 1990 ; Johnson , 2007 ; Treasurer et Ford, 2010). Nous n'avons cependant pas observé d'influence ou de lien quelconque entre la date de ponte et les traits biologiques caractérisant les pontes, comme l'ont observé Treasurer et Ford (2010) pour le taux de fécondation, le diamètre ovocytaire, le poids des ovocytes et le pouvoir de flottaison des œufs chez le merlan. Une autre explication pour expliquer ces différences de performances de reproduction selon la date de ponte pourrait être la manipulation quotidienne des géniteurs lors du stripping qui a duré 3 semaines, qui aurait entraîné un stress. En effet, ceci a été observé chez différentes espèces de poissons élevés en captivité, tel que la morue, dont le confinement quotidien même ponctuel dans une bassine a entraîné une baisse de la qualité des larves, avec des taux de malformation plus élevés, une diminution des taux de fécondation, d'éclosion et de survie des larves (Morgan *et al.*, 1999), ce qui rejoint en partie nos observations. Dans notre étude, nous n'avons pas étudié de paramètre nous permettant de privilégier l'une ou l'autre de ces hypothèses.

#### *Taux de fragmentation*

Le taux de fragmentation est un paramètre qui n'a jamais été pris en compte chez la perche pour prédire la qualité des pontes. Lors de cette analyse, l'ANOVA qui a permis de comparer le taux de fragmentation moyen entre les 3 groupes de ponte n'a pu mettre en évidence des différences significative. Cependant, le test était très peu puissant du fait du

faible nombre de pontes étudiées (N=20). On ne peut donc pas rejeter l'hypothèse que les moyennes observées soient différentes, et que le taux de fragmentation soit plus élevé pour les pontes de mauvaise qualité (Tableau 32). Dans ce cas, un taux de fragmentation plus élevé serait lié à une moindre qualité de la ponte. En effet, les ovocytes de perche sont habituellement liés les uns aux autres par une gangue gélatineuse. La consistance de cette gangue est en partie dépendante de sécrétions dans le fluide ovarien (Mansour *et al.*, 2009) qui est nécessaire à l'activation du sperme. Ainsi, le taux de fragmentation du ruban d'œufs de perche pourrait constituer un indicateur négatif des performances de reproduction ; il se pourrait que les ovocytes libres ne puissent pas être correctement fécondés. Ce paramètre mériterait donc une étude approfondie sur un nombre de pontes plus important.

#### *Paramètres complémentaires*

Enfin, aucune variable illustrative n'a pu expliquer le taux de malformation larvaire. Récemment, il a été montré que les gouttelettes lipidiques fragmentées pouvaient être un indicateur prédictif du taux de malformation, tel que présenté en synthèse bibliographique (Figure 11) (Zarski *et al.*, 2011). Nous n'avons pas étudié ce paramètre mais à l'avenir il serait intéressant de le suivre pour déterminer s'il peut expliquer les différences observées au niveau des taux de malformations larvaires. Ceci suggère qu'il est probablement possible que de nouveaux indicateurs morphométriques prédictifs de la qualité des pontes puissent être développés.

Notre étude ne montre pas de lien entre le poids ovocytaire et la qualité des pontes (HQ, QI et MQ), malgré les différences observées. Il en est de même pour le diamètre ovocytaire. Aucun lien avec les paramètres embryonnaires ou larvaires mesurés n'a été observé, en particulier ceux qui sont liés aux réserves ovocytaires, tel que la survie des larves au jeûne. Pourtant, ceci a pu être observé chez d'autres espèces de poissons comme la morue (Ouellet *et al.*, 2001), ainsi que chez la perche, lors de l'étude de Huss *et al.* (2007), qui a montré un lien entre la taille des ovocytes et la taille des larves, ainsi que leur survie. A priori, plus que leur quantité, la qualité des réserves semble être le paramètre important du déterminisme de la qualité des ovocytes. Ainsi, l'analyse du contenu ovocytaire apparaît être essentielle.

**Conclusions :** *Cette étude montre que la résistance larvaire à 7 jours apparaît être le critère le plus intégratif parmi ceux analysés. Seuls la date de ponte et le taux de*

*fragmentation des pontes semblent prédire certaines performances de reproduction chez la perche bien que des études plus spécifiques soient nécessaires pour valider ces paramètres comme étant fiables et utilisables par les pisciculteurs. De plus, la recherche de critères morphologiques mesurés avant la fécondation, tel que la fragmentation de la gouttelette lipidique des ovocytes de perche pourrait permettre d'obtenir un paramètre prédictif fiable des performances larvaire et embryonnaire. Enfin, il est nécessaire de mieux évaluer certains paramètres comme le suivi des premiers stades embryonnaires qui pourrait permettre de comprendre les raisons de mieux caractériser le taux de fécondation à 3 jours.*

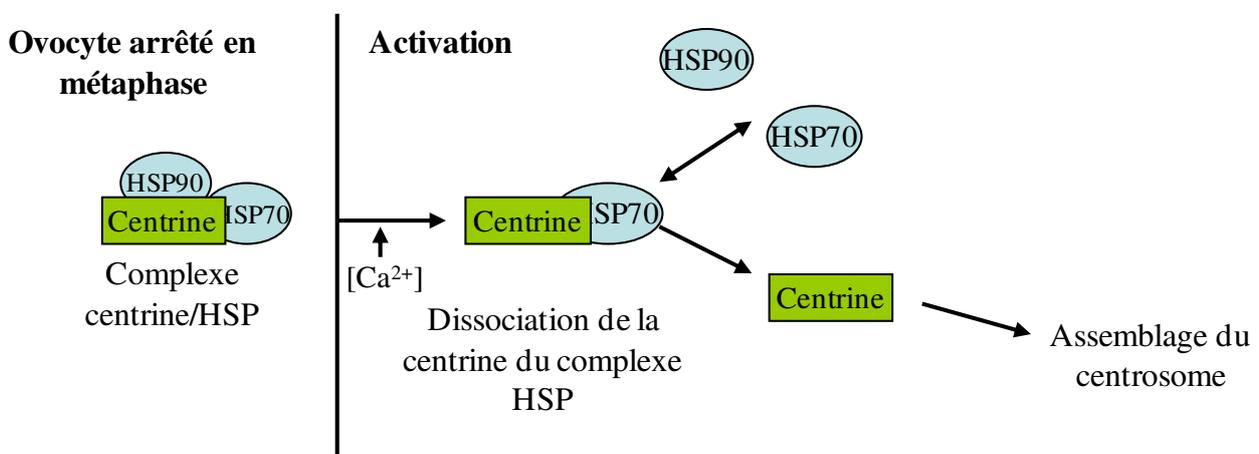
## **II.2. INDICATEURS MOLECULAIRES**

Afin de déterminer le profil protéique des différentes classes de pontes (HQ, QI et MQ), potentiellement lié à la détermination des performances de reproduction, nous avons comparé le protéome extrait des pontes de ces 3 classes grâce à la technologie 2D-DIGE. Nous avons obtenu 4 groupes de spots dont le patron d'expression permettait de caractériser les différentes classes de pontes. Plusieurs protéines impliquées dans dix fonctions cellulaires ont été identifiées, suggérant un lien entre ces fonctions et la qualité des pontes. Dans ce paragraphe, nous nous sommes intéressés aux fonctions protéiques représentées par plus de 2 protéines. En effet, il est rare lors de la régulation d'une fonction cellulaire qu'une seule protéine de la chaîne de réaction moléculaire ne soit régulée. Ainsi, cinq fonctions semblent particulièrement intéressantes.

### **Protéines chaperonnes**

Tout d'abord, les *Heat Shock Proteins* (HSP) sont des protéines chaperonnes impliquées dans la réponse cellulaire au stress. « Elles préviennent les interactions inappropriées entre des surfaces potentiellement complémentaires et défont les liaisons impropres qui pourraient se produire » (Wirth *et al.* 2002). Ces protéines sont surexprimées lorsque les cellules sont soumises à un stress (température élevée, mais aussi stress d'origine chimique : métaux lourds, ou autres polluants) et permettent une protection face à d'éventuels dégradations protéiques dans les cellules (Heikkila, 2007 ; Roberts *et al.*, 2010). Certaines, comme l'HSP70, peuvent être utilisées en tant qu'indicateur de stress, comme cela a été le cas chez la perche commune qui présentait de plus forts taux hépatiques lors d'un stress chronique

(Doux fils *et al.*, 2011). Les HSP sont présentes dans les ovocytes de mammifères (Novak *et al.*, 2004), d'amphibiens (Browder *et al.*, 1987), et de poissons (Knoll-Gellida *et al.*, 2006 ; Ziv *et al.*, 2008 ; Keyvanshokoo et Vaziri, 2008). Dans notre étude, HSP9 et HSP70 sont significativement moins exprimées dans les pontes de mauvaise qualité en comparaison avec les autres classes. Les HSP70 et 90 interagissent avec la centrine dans les ovocytes de xénope bloqués en méiose, avant la fécondation (Figure 113). Ce complexe est dissocié après la libération de calcium dans le cytoplasme qui a lieu après fécondation et qui permet l'activation de l'ovocyte (Uzawa *et al.*, 1995). Ceci pourrait expliquer l'absence de fécondation dans les pontes de mauvaise qualité.



**Figure 113** : Mécanisme de dissociation du complexe centrine/HSP lors de la fécondation des ovocytes de xénope. Selon Uzawa *et al.* (1995).

### Protéines du stress oxydant

Plusieurs protéines sont impliquées dans la protection contre le stress oxydant et sont fortement exprimées dans les pontes de qualité intermédiaire (Péroxirédoxines 5 et 6, et Transferrine) tandis que la Quinoid Dihydrobioptérine Réductase est plus exprimée dans les pontes de mauvaise qualité. Des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont produites par les cellules lors d'un fonctionnement cellulaire normal, mais aussi en réponse à un stress. A faible concentration, elles sont impliquées dans la transduction de signaux alors qu'elles sont délétères en grande quantité (dégradation membranaire et protéique, mutagenèse...). Les Peroxyrédoxines (Prx) protègent la cellule de sa propre production de ROS (Agarwal *et al.*, 2005 ; Rhee et Kim, 2005). Lors d'un stress, la production de Prx peut être perturbée. La régulation peut être positive ou négative selon le stress que subit l'animal : Chapman *et al.*

(2004) montrent une baisse des Péroxyrédoxines lors d'un stress chimique causé par une pollution au chrome chez la plie rouge (*Pseudopleuronectes americanus*) alors que le plus souvent une induction de la production est observée, comme chez le flet d'Europe (*Platichthys flesus*) lors d'une intoxication aux métaux lourds (Sheader *et al.* 2006). Ces protéines peuvent avoir plusieurs rôles, comme l'ont montré les travaux de Zheng *et al.* (2010), qui suggèrent que les Prx joue un rôle à la fois dans la maintenance cellulaire et lors d'une réponse immunitaire chez le turbot. Chez les mammifères, il a été montré qu'elles jouent plusieurs rôles dans la « balance rédox », la régulation de l'activité des promoteurs de plusieurs gènes, et le contrôle de la ségrégation des chromosomes (Rhee *et al.*, 2005). Le rôles des Péroxyrédoxines n'a jamais été étudié dans les ovocytes de poisson, même si elles ont été trouvées en abondance chez le poisson zèbre (Ziv *et al.*, 2008).

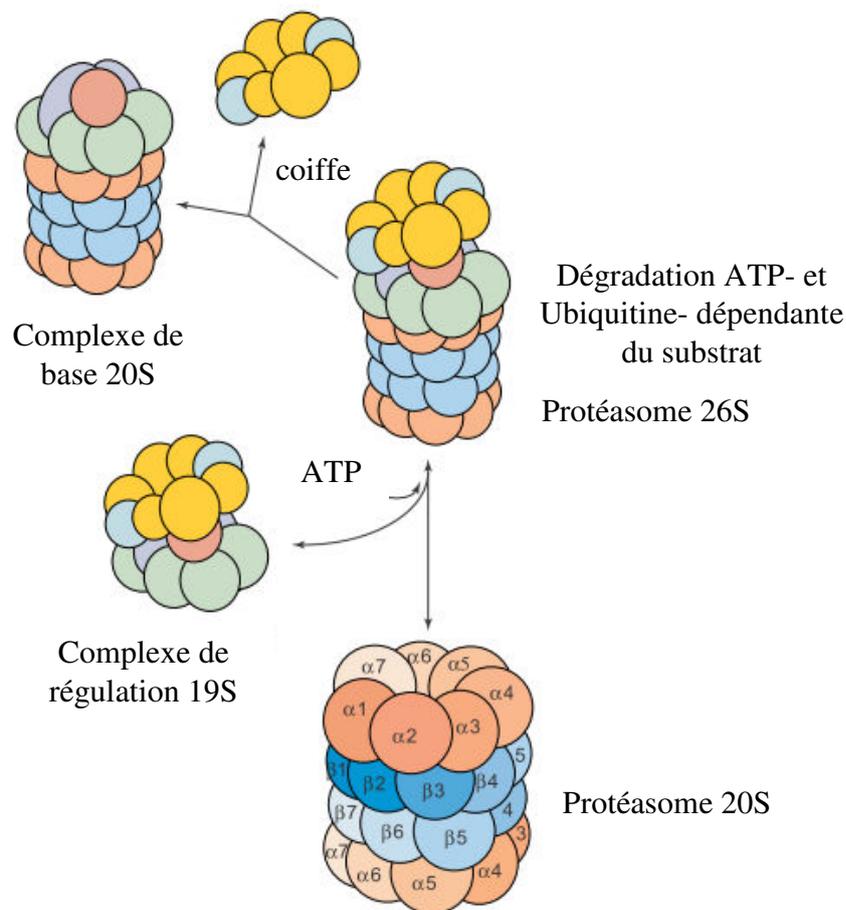
La Quinoid Dihydrobioptérine Réductase est impliquée dans la régénération de la tétrahydrobioptérine (BH4) qui est un cofacteur de plusieurs enzymes parmi lesquelles les Synthases de monoxyde d'azote (NOS) (Kim et Park, 2010). Plusieurs isoformes de NOS sont exprimées dans les ovocytes de souris et impliqués dans le développement folliculaire normal *in vitro* (Mitchell *et al.*, 2004).

La Transferrine semble être impliquée dans les mêmes processus cellulaire. La fonction la plus connue de cette protéine est le transport du fer dans l'organisme. Cependant, il a été montré que les concentration de Transferrines dans le fluide folliculaire étaient corrélées avec le degré de maturation folliculaire et la stéroïdogénèse (Mantzavinos *et al.*, 1993). La Transferrine apparait ainsi avoir d'autres fonctions que le transport du fer dans les follicules, et joue un rôle de facteur de croissance, influençant le développement ovocytaire (de Jong *et al.*, 1990). Elle agit également comme un chélateur d'ions permettant de limiter les ROS qui peuvent engendrer une atrésie folliculaire (Tilly, 1998).

Ces protéines sont surexprimées dans les pontes de qualité intermédiaire (Péroxyrédoxine 5 et 6, Transferrine) et dans les pontes de mauvaise qualité (Quinoid Dihydrobioptérine Réductase). Ces surexpressions peuvent traduire des conditions oxydantes lors de l'ovogenèse qui auraient conduit à la production ou l'incorporation de ces molécules dans les ovocytes. Finalement, ceci suggère une sensibilité des ovocytes au stress oxydant, ayant pour conséquence variables depuis une altération des performances embryonnaires et larvaires jusqu'à l'absence de fécondation.

## Dégradation des protéines Ubiquitine-dépendante

Parmi les protéines mises en évidence dans cette étude, trois sous-unité du protéasome ont montré des différences d'expression : la sous-unité 8 caractérisant les ovocytes de qualité intermédiaire, et les sous-unités 11 et 13, caractérisant les ovocytes de haute qualité et mauvaise qualité. Le protéasome est un gros complexe enzymatique composé de plusieurs sous unités, et comprenant un cœur catalytique de 20S ainsi que deux complexes régulateurs placés de chaque côté du cœur catalytique (Figure 114).



**Figure 114 :** Complexes du système protéasomal 26S. « La sous-unité régulatrice 19S se lie sur une extrémité du protéasome 20S, ce qui stimule son activité hydrolytique et permet la dégradation ATP-dépendante des protéines ubiquitinylées. La base du complexe régulateur 19S permet une activité peptidase élevée, mais non la dégradation conjuguée de l'Ubiquitine. Le rôle de la coiffe de la sous-unité régulatrice 19S du protéasome n'est pas encore connu ». Selon Ferrel *et al.* (2000).

Ce complexe a pour rôle de dégrader les protéines sur lesquelles l'Ubiquitine a été ajoutée (Ub). La voie de l'Ub joue un rôle central dans la régulation de l'homéostasie protéique dans la cellule et est nécessaire à plusieurs processus cellulaires tels que le cycle

cellulaire (Hershko et Ciechanover, 1998). Le protéasome est impliqué dans les processus de maturation ovocytaire finaux chez le poisson rouge (Tokumoto *et al.*, 1997). La dégradation par le protéasome de la Cycline B ubiquitinyllée entraîne l'inactivation du facteur de promotion de la maturation MPF, permettant ainsi l'entrée de l'ovocyte en interphase lors du premier cycle cellulaire mitotique (Horiguchi, 2005). Le protéasome joue également un rôle après la fécondation dans la transition mid-blastuléenne (dégradation des protéines d'origine maternelle et synthèse de protéines endogène par l'embryon) (DeRenzo et Seydoux, 2004). Ainsi, bien que notre étude ne nous permette pas de comprendre la régulation de ce complexe en fonction de la qualité des ovocytes, il se pourrait que cette protéine soit liée aux mécanismes cellulaires de régulation de l'homéostasie protéique et au bon développement des embryons issus des pontes de perche.

### **Métabolisme cellulaire**

Finally, plusieurs enzymes impliquées dans le cycle des pentoses phosphate (Transaldolase et 6 photos-gluconate Déshydrogénase), le cycle de Krebs (Aconitase 2) ou la glycolyse (Pyruvate Kinase) sont différemment exprimées parmi les classes de pontes. La variation de protéines essentielles du métabolisme énergétique peut affecter le fonctionnement embryonnaire et donc la production larvaire, comme il a déjà été observé chez la daurade royale (Lahnsteiner et Patarnello, 2004). En effet, il a été montré que parmi les enzymes du métabolisme énergétique testées (Adénylate Kinase, Alanine Aminotransférase, Malate Déshydrogénase, Glucose-6-Phosphatase, Succinate Déshydrogénase, Transaldolase), les variations d'expression de l'Adénylate Kinase, la Glucose-6-Phosphatase et la Transaldolase étaient liées à la survie embryonnaire. Parmi les protéines du métabolisme énergétique mises en évidence, l'Aconitase 2, enzyme mitochondriale, joue un rôle dans le cycle de Krebs. Elle est sous exprimée dans les pontes de mauvaise qualité. Ceci impliquerait un mauvais fonctionnement du cycle de Krebs, et donc un défaut de production d'ATP dans ces gamètes. Or, la production d'ATP est essentielle pour la maturation des ovocytes et peut influencer la qualité leur qualité comme démontré chez les souris (Yu *et al.*, 2010). Chez l'humain, un défaut de production d'ATP peut affecter la capacité de l'ovocyte à être fécondé et à se développer (Van Blerkom, 2011). De plus, il a été montré de l'inactivation de l'Aconitase entraîne une production de ROS qui peuvent dégrader les protéines mitochondriales (Fariss *et al.*, 2005). Ceci pourrait expliquer la surexpression d'enzymes du stress oxydant dans les ovocytes de mauvaise qualité (Quinoïd dihydrobioptérine Réductase). L'Aconitase 2 peut donc être un indicateur des ovocytes de mauvaise qualité.

## **Protéines du cytosquelette**

Les protéines du cytosquelette jouent un rôle essentiel dans la cellule, notamment lors de la division cellulaire. Leur expression est donc particulièrement importante dans les ovocytes. Ces protéines sont également essentielles aux déplacements intra-cellulaire de matière (vésicules) (Gore et Sampath, 2002). L'analyse du protéome ovocytaire du poisson zèbre montre que ces molécules font partie des protéines essentielles. La beta Actine, par exemple, est présente en grande quantité dans les follicules, soit exprimée à plus de 15% sous forme de transcrite (Knoll-Gellida 2006). Cependant, nos résultats ne permettent pas d'expliquer la régulation de ces protéines, puisque les protéines identifiées (alpha Tubuline, beta Actine, sous-unité alpha 1 de la protéine de coiffe F Actine, Cofiline 2) sont présents dans les 4 groupes de spots.

***Conclusions :** Cette étude montre pour la première fois la composition biochimique des ovocytes de perche d'une part, et les performances de reproduction des embryons et larves issus de ces mêmes pontes d'une autre part. Notre étude protéomique suggère que plusieurs fonctions cellulaires pourraient être liées aux performances de reproduction de la perche. Parmi ces fonctions, le rôle de protéines chaperonnes (HSP) pourrait expliquer l'absence de fécondation. La perturbation des protéines impliquées dans la réponse cellulaire contre le stress oxydant pourrait être liée à un défaut de qualité des ovocytes. La diminution de l'expression de protéines du métabolisme cellulaire peut être liée à l'absence de développement embryonnaire. Enfin, la régulation du protéasome en fonction de la qualité des pontes apparaît être complexe, et nécessiterait des investigations supplémentaires, tout comme les protéines du cytosquelette. Ainsi, parmi l'ensemble des protéines identifiées, l'HSP9, la Quinoid Dihydrobiopterine Réductase et l'Aconitase 2 semblent plus particulièrement liées à la qualité des pontes de mauvaise qualité. Ils pourraient, à l'avenir, constituer des biomarqueurs potentiels de la qualité des ovocytes.*

## **CONCLUSION GENERALE**

Mon travail de thèse a permis de mettre en évidence le déterminisme des facteurs populationnels et nutritionnels sur l'état morpho-anatomique et physiologique des géniteurs des perches, ainsi que sur les performances de reproduction en conditions photo-thermiques contrôlées. La réponse des femelles a différé de celle des mâles, suggérant l'importance de réaliser un compromis entre les modes de gestion de chaque sexe. Deux facteurs sont apparus comme particulièrement importants. Tout d'abord, le type d'aliment distribué pendant la phase de vernalisation qui a modifié l'état général des femelles, ainsi que leur investissement dans le cycle de reproduction. Ce résultat est nouveau car il était jusqu'alors envisagé que l'alimentation hivernale avait une importance modérée chez la perche ; ces résultats montrent au contraire que les femelles continuent de s'alimenter pendant cette période, et que la qualité de l'aliment peut influencer les performances de reproduction. Chez les mâles, plus que la qualité, il semble que ce soit la quantité d'aliment distribué qui soit cruciale pour le développement des gonades. Le deuxième facteur ayant fortement influencé les femelles a été le poids initial des poissons à l'entrée du cycle de reproduction. Les grosses femelles ont été plus performantes, alors que ce paramètre n'a que peu influencé les mâles. Pour améliorer la quantité des productions piscicoles, il est donc nécessaire de choisir les génitrices les plus grosses. Il semble également important de veiller à l'adéquation entre le programme photo-thermique et l'origine des poissons, afin que les pontes aient lieu dans des conditions de photopériode et de température adaptées. Il est maintenant nécessaire d'aller plus loin dans l'analyse de ces effets sur la qualité des gamètes et les performances larvaires. Une expérience multifactorielle testant les facteurs nutritionnels et populationnels les plus pertinents mis en évidence grâce à ce travail paraît intéressante, afin de mettre en évidence d'éventuelles interactions entre ces deux types de facteurs. Il faudra toutefois avant tout déterminer la cause de l'absence de larve en réalisant un cycle de reproduction en conditions photo-thermiques contrôlées dans des structures différentes. Les perches étant des poissons grégaires, il serait intéressant de tester l'effet du volume des bassins, ainsi que la densité en géniteurs. L'ajout de la simulation de l'aube pourrait être également étudié.

Le suivi de la qualité de pontes de perches a montré que le suivi des larves est primordial pour estimer les performances de reproduction des géniteurs. Notre étude a révélé que peu de paramètres morpho-anatomiques mesurés avant la fécondation sont fiables pour prédire les performances de reproduction des femelles. Le taux de fragmentation pourrait être un indicateur intéressant pour prédire les défauts de fécondation. Il nous a donc semblé judicieux de rechercher d'autres paramètres prédictifs, c'est pourquoi nous avons étudié le profil protéique de pontes de qualités différentes. Nous avons montré que la signature

protéomique des ovocytes de perches semble être liée à la qualité des ovocytes ; plusieurs fonctions biologiques sont affectées pendant la maturation ovocytaire, conduisant à des conséquences plus ou moins graves sur le développement ultérieur des embryons et des larves. Certaines protéines pourraient, à l'avenir être utilisées comme marqueurs moléculaires de la qualité des pontes comme HSP9, la Quinoid Dihydrobioptérine Réductase et l'Aconitase 2, dont l'expression apparait être liée à un défaut de qualité des ovocytes. Cependant, la régulation de cette qualité semble complexe, et des études complémentaires doivent être menées. Il sera tout d'abord nécessaire de confirmer ces résultats par western blotting pour comparer l'expression de ces protéines dans un grand nombre de pontes de qualités variables. Il sera ensuite intéressant de comprendre pourquoi et comment ces protéines sont exprimées différemment en fonction de la qualité ainsi que d'étudier les conséquences de ces variations sur le développement embryonnaire et larvaire des perches. Enfin, il serait intéressant de valider ces marqueurs dans des conditions différentes comme l'étude de facteurs modulateurs de la qualité des gamètes (origine des géniteurs, alimentation, niveau de domestication) ou l'effet des polluants sur les performances de reproduction des poissons élevés dans les étangs.

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## A

- Abdulfatah A., Fontaine P., et Marie M., 2007:** Effects of the photoperiodic and thermal kinetics on the induction of the reproduction cycle in the perch (*Perca fluviatilis*). Proceedings of the 8th International Symposium on Reproductive *Physiology of Fish*, 3–8 June 2007, p. 203. Saint-Malo, France.
- Abdulfatah A., 2010:** Etude du déterminisme environnemental du cycle de reproduction chez la perche commune *Perca fluviatilis*. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 182p.
- Abi-Ayad S.M., 1998 :** Etude expérimentale de la biologie de la reproduction de la perche fluviatile (*Perca fluviatilis*). Effet de la composition en acides gras de la série (n-3) de l'alimentation des géniteurs sur la qualité des œufs et des larves. PhD thesis Liège, Belgique.
- Aceretea L., Balascha J.C., Espinosa E., Josa A., Tort L., 2004:** Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237 167–178
- Aegerter S., Jalabert B., 2004:** Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 231, 59–71.
- Aegerter S., Jalabert B., Bobe J., 2005:** Large scale real-time PCR analysis of mRNA abundance in rainbow trout eggs in relationship with egg quality and post-ovulatory ageing. *Molecular reproduction and development* 72, 377–385.
- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK., 2005:** Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrin* 3:Article 28, 21p.
- Alavi S.M.H., Linhart O., Coward K., Rodina M., 2008:** Fish spermatology: implications for aquaculture management Fish spermatology, pp. 397–460.
- Ali M., Nicieza A., et Wootton R J, 2001:** Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries* 4, 147–190.
- Ali N., McKay M., Molloy M., 2010:** Proteomics of Smad4 regulated transforming growth factor-beta signalling in colon cancer cells. *Mol. BioSyst.* 6, 2332–2338.
- Alvarez D., Nicieza A.G., 2003:** Predator avoidance behavior in wild and hatchery-reared brown trout: the role of experience and domestication. *Journal of Fish Biology* 63(6), 1565–1577.
- Amanai K., Suzuki Y., Ohtaki T., 1994:** Involvement of a maternally transcribed lectin gene in the early development of *Bombyx mori*. *Roux's Arch Dev Biol* 203, 397–401.
- Ashton H.J., Farkvan D.O., et March B.E. 1993:** Fatty acid composition of lipids in the eggs and alevins from wild and cultured chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50, 648–655.
- Asturiano J.F., Sorbera L.A., Zanuy S., et Carrillo M., 2000:** Effects of polyunsaturated fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in a primary testis cell culture system for the European sea bass. *Journal of Fish Biology* 57, 1563–1574.
- Asturiano J.F., Sorbera L.A., Carrillo M., Zanuy S., Ramos J., Navarro J.C., Bromage N., 2001:** Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: A comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194,173–190.
- Avery T.S., Brown J.A., 2005:** Investigating the relationship among abnormal patterns of cell cleavage, egg mortality and early larval condition in *Limanda ferruginea*. *Journal of Fish Biology* 67, 890–896.

**Avery T. S., Killen S. S., Hollinger T.R., 2009:** The relationship of embryonic development, mortality, hatching success, and larval quality to normal or abnormal early embryonic cleavage in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture* 289, 265–273.

## B

**Badyaev A., Uller T., 2009:** Parental effects in ecology and evolution: mechanisms, processes and implications. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364, 1169–1177.

**Bahrekazemi M., Matinfar A., Soltani M., Abtahi B., Pusti I., Mohagheghi A., 2009:** The relation between egg viability, selected aspects of egg and ovarian fluid composition and time of stripping in endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Journal of fisheries and aquatic science* 4 (6), 306–315.

**Baker R.T.M., Davies S.J., 1996:** Changes in tissue  $\alpha$ -tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying  $\alpha$ -tocopheryl acetate inclusion in diets for the African catfish. *Aquaculture nutrition* 2(2), 71–79.

**Balon E.K., 1986:** Types of feeding in the ontogeny of fishes and the life-history model. *Environmental Biology of Fishes*. 16(1-3), 11-24.

**Balon E.K., 2004:** About the oldest domesticates among fishes. *Journal of Fish Biology* 65 (Supplement A), 1–27.

**Barnett C.W., Pankhurst N.W., 1998:** The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862). *Aquaculture* 162, 313–329.

**Barton B.A., 2002:** Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ. And Comp. Biol.*, 42, 517–525.

**Beamish F.W.H., MacMahon P.D., 1998:** Apparent heat increment and feeding strategy in walleye, *Stizostedion vitreum vitreum*. *Aquaculture* 68(1): 73-82

**Bell M.V., Dick J.R., Thrush M., Navarro J.C., 1996:** Decreased 20:4n – 6 / 20:5n - 3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* 144, 189–199.

**Berg A., Sigholt T., Seland A., Danielsberg A., 1996:** Effect of stocking density, oxygen level, light regime and swimming velocity on the incidence of sexual maturation in adult Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 143, 43–59.

**Berkeley S., Chapman C, Sograd S., 2004:** Maternal age as a determinant of larval growth and survival in a marine fish, *Sebastes melanops*. *Ecology* 85(5), 1258–1264.

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

**Billard R., de Fremont M., 1980:** Taux d'alimentation pendant la gamétogenèse et performance de reproduction chez la truite fario. *Bull. Fr. Piscic.* 279, 49–56.

**Billard R., Cosson M.P., 1990:** The energetics of fish sperm motility. In: Gagnon C, ed. Controls of sperm motility, biological and clinical aspects. Boca Raton, Florida: CRC Press; 153–173.

**Billard R., J. Cosson G., Crim L.W., Suquet M., 1995a:** Sperm physiology and quality. In: N.R. Bromage et R.J. Roberts (eds). *Broostock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, 1–24.

**Billard R., Cosson J., Perchec G., Linhart O., 1995b:** Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 129, 95–112.

- Biro P., 1997.** Temporal variation in Lake Balaton and its fish populations. *Ecology of Freshwater Fish* 6: 196–216.
- Blanchard G., Druart X., Kestemont P., 2005:** Lipid content and fatty acid composition of target tissues in wild *Perca fluviatilis* females in relation to hepatic status and gonad maturation. *Journal of Fish Biology* 66, 73–85.
- Blanchard G., Makombu J.G., Kestemont P., 2008a:** Influence of different dietary 18:3n-3/18:2n-6 ratio on growth performance, fatty acid composition and hepatic ultrastructure in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*, 284: 144-150.
- Blanchard G., Gardeur J.-N., Mathis N., Brun-Bellut J., Kestemont P., 2008b:** Ultrastructural features of hepatocytes in cultured Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) as affected by nutritional and husbandry conditions. *Br. J. Nutr.* 100, 317–331.
- Blom J., Dabrowski K., 1995:** Reproductive Success of Female Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Response to Graded Dietary Ascorbyl Monophosphate Levels. *Biologie of reproduction* 52, 1073–1080.
- Bobe J., Labbé C., 2010:** Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology* 165, 535–548.
- Bobko S., Berkeley S., 2004:** Maturity, ovarian cycle, fecundity, and age-specific parturition of black rockfish. *Fishery Bulletin* 102(3), 418–429.
- Bonislawska, M., Formicki, K., Winnicki, A., 2000:** Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. *Acta Ichthyol. Piscatoria* 30, 61–71.
- Bonnet E., 2006:** Étude des défauts de qualité des œufs chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) en relation avec les ARN messagers de l'ovocyte secondaire : une étude à l'aide de puces à ADNc. Université de Rennes 1, 165 p.
- Bonnet E., Fostier A., Bobe J., 2007a:** Microarray-based analysis of fish egg quality after natural or controlled ovulation. *BMC Genomics* 8, 55.
- Bonnet E., Fostier A., et Bobe J., 2007b:** Characterization of rainbow trout egg quality: case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology* 67, 786–794.
- Borcherding J., Magnhagen C., 2008:** Food abundance affects both morphology and behaviour of juvenile perch. *Ecology of Freshwater Fish* 17, 207–218.
- Boryshpolets S., Dzyuba B., Stejskal V., Linhart O., 2009:** Dynamics of ATP and movement in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) sperm in conditions of decreasing osmolality. *Theriogenology* 72, 851–859.
- Browder LW, Pollock M, Heikkila JJ, Wilkes J, Wang T, Krone P, Ovsenek N, Kloc M., 1987:** Decay of the oocyte-type heat shock response of *Xenopus laevis*. *Dev Biol* 124:191-199.
- Bromage N., Jones J., Randall C., Thrush M., Davies B., Springate J., Duston J., Barker G., 1992:** Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout. *Aquaculture* 100, 141–166.
- Bromage N., 1995:** Broodstock management and seed quality-general considerations. In: Bromage, N., Roberts, R.J. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford, pp. 1–24.
- Bromage N. R., Porter, M.J.R. Randall C.F., 2001:** The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197, 63–98.
- Bromley P.J., Ravier C., Witthames P.R., 2000:** The influence of feeding regime on sexual maturation, fecundity and atresia in first-time spawning turbot. *Journal of Fish Biology* 56, 264–278.

**Brooks S., Tyler C., et Sumpter J., 1997:** Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7, 387–416.

**Brummett R., Angoni D., Pouomogne V., 2004:** On-farm and on-station comparison of wild and domesticated Cameroonian populations of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 242 157–164.

**Brun-Bellut J., Gardeur J.-N., 2010:** Chap. 14 – Approches de l'élevage de truites an tant que système complexe – l'expérimentation multifactorielle. *La truite arc-en-ciel. De la Biologie à l'élevage*, Editions Quae, pp 278-282.

## C

**Cabrera E., Robles V., Cunado S., Wallace J.C., Sarasquete C., Herraez M.P., 2005:** Evaluation of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, sperm quality after cryopreservation in 5 ml macrotubes. *Cryobiology* 50, 3.

**Cabrera E., Sarasquete C., Martínez-Páramo S., Robles V., Beirão J., Pérez-Cereales S., Herraez M.P., 2010:** Cryopreservation of fish sperm: applications and perspectives. *J. Appl. Ichthyol.* 26, 623–635.

**Calder, W.A. 1996.** Size, function and life history. New York: Dover.

**Calzolari L., Ansoorge W., Calabrese E., Denslow N., Part P., Lettieri T., 2007:** Transcriptomics and proteomics. Applications to ecotoxicology. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D* 2 (3), 245–249.

**Camargo A.C.S., Urbinati E.C., 2008:** Influence of food restriction on the reproduction and larval performance of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). *Braz. J. Biol.*, 68(4), 869–873.

**Campbell P., Pottinger T., Sumpter J., 1992:** Stress Reduces the Quality of Gametes Produced by Rainbow Trout. *Biology of reproduction* 47, 1140–1150.

**Canyurt, Akhan, 2008:** Effect of dietary vitamin E on the sperm quality of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 39, 1014–1018.

**Carragher J., Sumpter J., 1990:** Corticosteroid physiology in fish. *Progress in clinical and biological research* 342, 487–492.

**Carrillo M., Zanuy S., Prat F., Cerdá J., Mañanós E., Bromage N., Ramos J., Kah O., 1994:** Nutritional and Photoperiodic Effects On Hormonal Cycles and Quality of Spawning in Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax* L.). *Netherlands Journal of Zoology*, 45(1-2), 204–209.

**Casselman S.J., Montgomerie R., 2004:** Sperm traits in relation to male quality in colonial spawning bluegill. *Journal of Fish Biology* 64, 1700–1711.

**Cerda J., Carrillo M., Zanuy S., Ramos J., 1994:** Effect of food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. *Aquat. Living Resour.*, 7, 255–266.

**Cerda J., Zanuy S., Carrillo M., Ramos J., Serrano R., 1995:** Short- and long-term dietary effects on female sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction. *Camp. Biochem. Physiol.* 111(1), 83–91.

**Chapman L., Roling J., Bingham L., Herald M., Baldwin W., Herald M., Baldwin W., 2004:** Construction of a subtractive library from hexavalent chromium treated winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) reveals alterations in non-selenium glutathione peroxidases. *Aquatic Toxicology* 67: 181–194.

**Chatain B., Vandeputte M., 2009:** La recherche piscicole en France : Etat des lieux, axes de recherche et propositions. INRA-Phase.

- Chen I., Shen C. Sheppard A., 1981.** Comparison of methylene chloride and chloroform for the extraction of fats from food products. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 58, 599–601.
- Chich J.-F., 2001:** A mini review: proteomic analysis, a post-genomic approach. *Lait* 81, 13–18.
- Chiyokubo T., Shikano T., Nakajima M., et Fujio Y., 1998:** Genetic features of salinity tolerance in wild and domestic guppies *Poecilia reticulata*. *Aquaculture* 167, 339–348.
- Ciereszko A., Dabrowski K., 1994:** Relationship between biochemical constituents of fish semen and fertility: the effect of short-term storage. *Fish Physiol. Biochem.* 12, 357–367.
- Ciereszko A., et Dabrowski K., 1995:** Sperm Quality and Ascorbic Acid Concentration in Rainbow Trout Semen Are Affected by Dietary Vitamin C: An Across-Season Study. *Biology of reproduction* 52, 982–988.
- Ciereszko A., Glogowski J., Dabrowski K., 2000:** Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes. In: Tiersch T.R., Mazik P.M. (eds.): *Cryopreservation in Aquatic Species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 21–48 pp.
- Conover D.O., 1992:** Seasonality and the scheduling of life history at different latitudes. *Journal of Fish Biology* 41, Issue Supplement sB, 161–178.
- Conseil national de recherche, 1993 :** *Nutrient Requirements of Fish*. National Research Council. National Academic Press, Washington, DC, USA.
- Contreras-Sanchez W., Schreck C., Fitzpatrick M., Pereira C., 1998:** Effects of Stress on the Reproductive Performance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of reproduction* 58, 439–447.
- Copp C.H., Juradja J.P., 1993:** Do riverine fish move inshore at night? *J. Fish Biol.* 43, 229–241.
- Cowards K., Bromage N.R., 1999:** Spawning frequency, fecundity, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia xillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first-feeding to sexual maturity. *Aquat. Living Resour.* 12 (1), 11–22.
- Craik J.C.A., 1985:** Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture* 47, (1), 61–88.
- Craig J.F., 2000:** Percid fish systematics, ecology and exploitation. *Fish and aquatic resources series* 3, 351pp.
- Crespel A., Rime A., Fraboulet E., Bobe J., Fauvel C., 2008:** Egg quality in domesticated and wild seabass (*Dicentrarchus labrax*): A proteomic analysis. *Cybium* 32(2) suppl.: 205.
- Cyr D. et EAles J.G., 1996:** Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6, 165–200.
- Czesny S., Dabrowski K., 1998:** The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquat. Living Resour.* II (6), 371–378.

## D

- Dabrowski K., Luczynski M., Rusicki M., 1985:** Free amino acids in the late embryogenesis and pre-hatching stage of two coregonid fishes. *Biochemical Systematics and Ecology* 13, 349–356.
- Dabrowski K., Ciereszko A., 2001:** Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. *Aquaculture Research* 32, 623–638.
- Dalimier N., Philippart J.C., Voss J., 1982:** Etude Eco-éthologique de la reproduction de la perche (*Perca fluviatilis* L.): observations en plongée dans une carrière inondée. *Cahier d'Ethologie appliquée* 2, 37–52.

**Daniel C., 1959:** Use of half-normal plots in interpreting factorial two-level experiments. *Technometrics* 1, 311–341.

**De Gaudemar B., Bonzom J.M., Beall E., 2000:** Effects of courtship and relative mate size on sexual motivation in Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 57, 502–515

**De Jesus E.G.T., Inui Y., Hirano T., 1990:** Cortisol enhances the stimulating action of thyroid hormones on dorsal fin-ray resorption of flounder larvae in vitro. *General and Comparative Endocrinology* 79(2), 167–173.

**De Jesus E.G.T., Hirano T. Inui Y., 1991:** Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 82, 369–376.

**De Jesus E.G.T., Hirano T., 1992:** Changes in whole body concentrations of cortisol, thyroid hormones, and sex steroids during early development of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *General and Comparative Endocrinology* 85 (1), 55–61.

**De Jong G., van Dijk J.P., van Eijk H.G., 1990:** The biology of transferrin. *Clin. Chim. Acta*, 190: 1-46.

**DeRenzo C., Seydoux G., 2004:** A clean start: degradation of maternal proteins at the oocyte-to-embryo transition. *TRENDS in Cell Biology* 14 (8): 420-426.

**Dey S., Ramanujam S.N., Bhattacharjee C.R., Dkhar PS., 2001:** Disturbances in cellular features and elemental homeostasis in the integument of a freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch) in relation to hydrogen ion concentration of polluted water. *Cytobios* 106(Suppl 2), 233–244.

**Dey S., Kharbuli S.M., Chakraborty R., Bhattacharyya S.P., Goswami UC., 2009:** Toxic effect of environmental acid-stress on the sperm of a hill-stream fish *Devario aequipinnatus*: a scanning electron microscopic evaluation. *Microsc Res Tech.* 72(2), 76–8.

**Digard J.-P., 2003:** La domestication animale revisitée par l'anthropologie. *Bulletin de la Societe Zoologique de France* 128(4), 283–296.

**Doux fils J., Mandiki S.N.M., Marotte G., Wang N., Silvestre F., Milla S., Henrotte E., Vandecan M., Rougeot C., Mélard C., Kestemont P., 2011:** Does domestication process affect stress response in juvenile Eurasian perch *Perca fluviatilis*? *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A 159: 92–99.

**Dreanno C., Suquet M., Quemener L., Cosson J., Fierville F., Normant Y., Billard R., 1997:** Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa. *Theriogenology* 48, 589–603.

## E

**Ebrahimi M., Taherianfard M. 2011:** The effects of heavy metals exposure on reproductive systems of cyprinid fish from Kor River. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 10(1), 13–24.

**Einum S., Fleming I., 2000:** Highly fecund mothers sacrifice offspring survival to maximize fitness. *Nature* 405, 565–567.

**El Sayed A.F., Kawanna M., 2008:** Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture* 280, 179–184.

## F

**FAO 2007:** Statistiques des pêches et de l'aquaculture. *FAO annuaire 2007*, 72p.

- Fariss M., Chan C., Patel M., Van Houten B., Orrenius S., 2005:** Role of mitochondria in toxic oxidative stress. *Molecular Interventions* 5(2): 94-111.
- Fauvel C., Suquet M., Cosson J., 2010:** Evaluation of fish sperm quality. *J. Appl. Ichthyol.* 26, 636–643.
- Feller S.E. 2008:** Acyl chain conformations in phospholipid bilayers: a comparative study of docosahexaenoic acid and saturated fatty acids. *Chemistry and Physics of Lipids* 153 (1), 76–80.
- Fernández-Palacios H., Izquierdo M.S., Robaina L., Valencia A., Salhi, M., Vergara J.M., 1995:** Effect of n - 3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 132, 325–337.
- Fernandez-Palacios H., Izquierdo M., Robaina L., Valencia A., Salhi M., Montero D., 1997:** The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for Gilthead seabream *Sparus aurata*. *Aquaculture* 148, 233–246.
- Ferrell K., Wilkinson C., Dubiel W., Gordon C., 2000:** Regulatory subunit interactions of the 26S proteasome, a complex problem. *TIBS* 25: 83-88.
- Figueiredo-Silva A., Rocha E., Dias J ?n Silva P., Rema P, Gomez E., Valente L.M.P., 2005:** Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 11: 147–155.
- Finn R. N., Fyhn H.J. et Evjen M.S., 1991:** Respiration and nitrogen metabolism of Atlantic halibut eggs (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Mar. Biol.* 108, 11–19.
- Finn R.N., Fyhn H.J. Evjen M.S., 1995a:** Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). I. Respiration and nitrogen metabolism. *Marine Biology* 124, 355–369.
- Finn R., Ronestad I. et Fyhn H., 1995b:** Respiration, nitrogen and energy metabolism of developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Camp. Biochml. Physiol.* IIIA. (4), 647–671.
- Finn R., Fyhn H., Hendenon R., Evjen M., 1996:** The Sequence of Catabolic Substrate Oxidation and Enthalpy Balance of Developing Embryos and Yolk-sac Larvae of Turbot (*Scophalmus maximus* L.). *Camp. Biochem. Physiol.* Vol. 115A (2), 133–151.
- Finn R., Fyhn H., 2010:** Requirement for amino acids in ontogeny of fish. *Aquaculture Research*, 41, 684–716.
- Floch J., Lee M., Stanley G.H.S., 1957:** A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 266, 497–505.
- Fleming I.A., 1996:** Reproductive strategies ecology and evolution. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6, 379–416.
- Fontagné-Dicharry S., Lataillade E., Surget A., Brèque J., Zambonino-Infante J.-L., Kaushik S.J., 2010:** Effects of dietary vitamin A on broodstock performance, egg quality, early growth and retinoid nuclear receptor expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 303, 40–49.
- Fontaine P., 2004a:** L'élevage de la perche commune, une voie de diversification pour l'aquaculture continentale. *INRA Prod. Anim.*, 17 (3), 189–193.
- Fontaine P., 2004b :** Premiers résultats en Perciculture hors-sol chez Lucas Perche. *Aquafilia*, 2, 10–14.
- Fontaine P., Gardeur J.-N., Kestemont P., Georges A., 1997:** Influence of feeding level on growth, intraspecific weight variability and sexual growth dimorphism of Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. reared in a recirculation system. *Aquaculture* 157, 1-9.

**Fontaine P., 2006:** De la maîtrise du cycle de développement de la perche commune *Perca fluviatilis* à l'étude du processus de domestication chez les poissons. Habilitation à Diriger des Recherches, Université Henri Poincaré, 86 p.

**Furuïta H., Tanaka H., Yamamoto T., Shiraishi M., Takeushi T., 2001:** Effects of high dose of vitamin A on reproduction and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries science* 67, 606–613.

## G

**Garrido S., Rosa R., Ben-Hamadou R., Cunha M.E., Chícharo M.A., van der Lingen C., 2007:** Effect of maternal fat reserves on the fatty acid composition of sardine (*Sardina pilchardus*) oocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 148, 398–409.

**De Gaudemar B., Bonzom J.M., Beall E., 2000:** Effects of courtship and relative mate size on sexual motivation in Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 57, 502–515.

**Gibbons B.H., Gibbons I.R., Baccetti B., 1983:** Structure and motility of the 9+0 flagellum of eel spermatozoa. *J. Submicrosc. Cytol.* 15, 15–20.

**Gillet C., Dubois J., Bonnet S., 1995:** Influence of temperature and size of females on the timing of spawning of perch, *Perca fluviatilis*, in Lake Geneva from 1984 to 1993. *Environmental Biology of Fishes* 42, 355–363.

**Gillet C., Dubois J., 1997:** Effect of water temperature and size of females on the timing of spawning of perch *Perca fluviatilis* L. in Lake Geneva from 1984 to 2003. *Journal of Fish Biology* 70, 1001–1014.

**Gillet C., Dubois J., 1997:** Effect of water temperature and size of females on the timing of spawning of perch *Perca fluviatilis* L. in Lake Geneva from 1984 to 2003. *Journal of Fish Biology* 70, 1001–1014.

**Giménez G., Estévez A., Lahnsteiner F., Zecevic B., Bell J.G., Henderson R.J., Piñera J.A., Sanchez-Prado J.A., 2006:** Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 260, 232–243.

**Gore A., Sampath K., 2002:** Localization of transcripts of the Zebrafish morphogen Squint is dependent on egg activation and the microtubule cytoskeleton. *Mechanisms of Development* 112: 153–156.

**Green B., McCormic M., 2005:** Maternal and paternal effects determine size, growth and performance in larvae of a tropical reef fish. *Mar Ecol Prog Ser* 289, 263–272.

**Green B.S., Chambers R.S., 2007:** Maternal effects vary between source populations in the Atlantic tomcod *Microgadus tomcod*. *Marine ecology progress series* 344, 185–195.

**Greenblatt, M., Brown, C.L., Lee, M., Dauder, S. and Bern, H.A., 1989:** Changes in thyroid-hormone levels in eggs and larvae and in iodide uptake by eggs of coho and chinook salmon, *Oncorhynchus kisutch* and *Oncorhynchus tshawytscha*. *Fish Physiology and Biochemistry* 6, 261–278.

**Grung M., Svendsen Y., Liaaen-Jensena S., 1993:** The carotenoids of eggs of wild and farmed cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 106 (2), 237–242.

**Gunasekera R., De Silva S., et Ingram B., 1999 :** The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquariensis* and Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquatic Living Resources* 12 (4), 255–261.

## H

- Hajirezaee S., Amiri B. M., Mirvaghefi A., 2010:** Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. *African Journal of Biotechnology* 9 (54), 9148–9154.
- Hales K., Meredith J., Stortia R., 1994:** Transcriptional and Post-transcriptional Regulation of Maternal and Zygotic Cytoskeletal Tropomyosin mRNA during Drosophila Development Correlates with Specific Morphogenic Events. *Developmental Biology Volume* 165 (2), 639–653.
- Hamza N., Silvestre F., Mhetli M., Khemis I. B., Dieu M., Raes M., Cahu C., Kestemont P., 2010:** Differential protein expression profile in the liver of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae fed with increasing levels of phospholipids. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D* 5, 130–137.
- Harel M., Tandler A., Kissil G.W., et Applebaum S.W., 1995:** The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead seabream (*Sparus aurata*) females and the subsequent effects on egg composition and egg quality. *British Journal of Nutrition* 72, 45–58.
- Harrel R.M., et Woods III L.C., 1995:** Comparative fatty acid composition of eggs from domesticated and wild striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture* 133, 225–233.
- Hazel J.R., 1989:** Cold adaptation in ectotherms: regulation of membrane function and cellular metabolism. In Wang, L.C.H., ed, *Advances in Comparative and Environmental Physiology* 4, Animal Adaptation to Cold. Berlin: Springer-Verlag, pp. 1–50.
- He Q.-Y., Zhou Y., Wong E., Ehlen T., Auersperg N., Chiu J.-F., Wong A., 2005:** Proteomic analysis of a preneoplastic phenotype in ovarian surface epithelial cells derived from prophylactic oophorectomies. *Gynecologic Oncology* 98, 68–76.
- Heibo E., Magnhagen C., Vøllestad L.A., 2005:** Latitudinal variation in life-history traits in Eurasian perch. *Ecology* 86(12), 3377–3386.
- Heikkilä J., Kaldis A., Morrow G, Tanguay R., 2007:** The use of the *Xenopus* oocyte as a model system to analyze the expression and function of eukaryotic heat shock proteins. *Biotechnology Advances* 25: 385–395.
- Heming T.A., Buddington R.K., 1988:** Yolk absorption in embryonic and larval fishes. WS Hoars et DJ Randall (eds) *Fish Physiology* 11A pp 407–446, Academic press San Diego.
- Henderson B., Wong J., Nepszy S., 1996:** Reproduction of walleye in Lake Erie: allocation of energy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 127–133.
- Henrotte R., Mandiki R., Prudencio A., Vandecan M., Mélard C., Kestemont P., 2010:** Egg and larval quality, and egg fatty acid composition of Eurasian perch breeders (*Perca fluviatilis*) fed different dietary DHA/EPA/AA ratios. *Aquaculture Research* 41, e53–e61.
- Henrotte E., Milla S., Mandiki S.N.M., et Kestemont P., 2011:** Arachidonic Acid Induces Production of 17,20b-Dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) via a Putative PGE2 Receptor in Fish Follicles from the Eurasian Perch. *Lipids* 46, 179–187.
- Hershko A., Ciechanover A., 1998:** The ubiquitin system. *Annu. Rev. Biochem.* 1998. 67:425–79.
- Holfik J., 1969:** The natural history of perch *Perca fluviatilis*, Linnaeus 1758 in the Klifava Reservoir. *Prace Laboratoria Ryharstva* 2, 269–305.
- Holliday F., Pattie Jones L., 1967:** Somme effects of salinity on the developing eggs and larvae of the plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Mar. Biol. Ass U.K.* 47, 39–48.
- Horiguchia R., Yoshikuni M., Tokumoto M., Nagahama Y., Tokumoto T., 2005:** Identification of a protein kinase which phosphorylates a subunit of the 26S proteasome and changes in its activity during meiotic cell cycle in goldfish oocytes. *Cellular Signalling* 17: 205–215.

**Horvath A., Urbanyi B., 2000:** The effect of cryoprotectants on the motility and fertilizing capacity of cryopreserved African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) sperm. *Aquaculture research* 31, 317–324.

**Huntingford F., 2004:** Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. *Journal of Fish Biology* 65 (Supplement A), 122–142.

**Huss M., Byström P., Strand A., Eriksson L.-O., Persson L., 2007:** Influence of growth history on the accumulation of energy reserves and winter mortality in young fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 65, 2149–2156.

**Huusko A., Vuorimies O., Sutela T., 1996:** Temperature- and light-mediated predation by perch on vendace larvae. *Journal of Fish Biology* 49(3): 441–457.

**Hwang P., Wu S., Lin J. Wu L., 1992:** Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. *Gen. Comp. Endocrinol.* 86, 189–196.

## I

**Imanpoor M.R., Alavi S.H., et Cosson J., 2009:** Relationship between biological characteristics of eggs and female brood stocks of Persian sturgeon *Acipenser persicus*: a comparison with other fish species. *Fish Physiol Biochem* 35, 701–707.

**Imsland A.K., Foss A., Stefansson S.O., 2001:** Variation in food intake, food conversion efficiency and growth of juvenile turbot from different geographic strains. *Journal of Fish Biology* 59, 449–454.

**Imsland A.K., Gunnarsson S., 2011:** Growth and maturation in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in response to different feed rations. *Aquaculture* 318, 407–411.

**Izquierdo M.S., Fernandez-Palacios H., Tacon A.G.J., 2001:** Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25–42.

## J

**Jacobsen L., Berg S., Broberg M., Jepsen N., Sko C., 2002:** Activity and food choice of piscivorous perch (*Perca fluviatilis*) in a eutrophic shallow lake. *Freshwater Biology* 47, 2370–2379.

### a radio-telemetry study

**Jalabert B., Breton B., Fostier A., Le Gac F., et Loir M., 1998 :** Bases physiologiques de la reproduction chez les poissons. *La pisciculture française* 133, 5–12.

**Jentoft S., Aastveit A., Torjesen P., Andersen Ø., 2005:** Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 141, 353–358.

**Jobling M., 1995:** Environmental biology of fishes. *Fish and Fisheries Series* 16, Chapman and Hall, P, 455.

**Johnson J., Höjesjö J., Fleming I., 2001:** Behavioural and heart rate responses to predation risk in wild and domesticated Atlantic salmon *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 788–794

**Johnston, T.A. 1997:** Within-population variability in egg characteristics of walleye (*Stizostedion vitreum*) and white sucker (*Catostomus commersoni*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 1006–1014.

**Jonsson B., Jonsson N., 2006:** Cultured Atlantic salmon in nature: a review of their ecology and interaction with wild fish. *ICES Journal of Marine Science*, 63: 1162–1181.

**Jourdan S., 1999:** Influence de facteurs abiotiques, la photopériode et l'intensité lumineuse, sur la survie et la croissance de larves, post-larves et juvéniles de perche *Perca fluviatilis* L.. Thèse de l'I.N.P.L., Nancy, 147 p.

## K

**Kagawa H., Young G., Nagahama Y., 1984:** In vitro estradiol-17 $\beta$  and testosterone production by ovarian follicles of goldfish, *carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 54, 139–143.

**Kamler E., 1992:** Early Life History of Fish: An Energetics Approach. Chapman & Hall, *Fish and Fisheries Series 4*, London, 267 pp.

**Kamler E., 2002:** Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in FishBiology and Fisheries* 12, 79–103.

**Kamler E., 2005:** Parent–egg–progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Fish Biology and Fisheries* 15: 399–421.

**Karlsen O., Holm J.C., Kjesbu O.S., 1995:** Effects of periodic starvation on reproductive investment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture* 133, 159–170.

**Keckeis H., Bauer-Nemeschkal H., Menshutkin V., Nemeschkal H. L., Kamler E., 2000:** Effects of female attributes and egg properties on offspring viability in a rheophilic cyprinid, *Chondrostoma nasus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 789–796.

**Keinänen M., Tigerstedt C., Kalax P., Vuorinen P.J., 2003:** Fertilization and embryonic development of whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) in acidic low-ionic-strength water with aluminium. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55, 314–329.

**Keller A., Nesvizhskii A.I., Kolker E., Aebersold R., 2002:** Empirical statistical model to estimate the accuracy of peptide identifications made by MS/MS and database search. *Anal. Chem.* 74, 5383–5392.

**Kestemont P., Cooremans J., Abi-Ayad A., Mélard C., 1999:** Cathepsin L in eggs and larvae of perch *Perca fluviatilis*: variations with developmental stage and spawning period. *Fish Physiology and Biochemistry* 21, 59–64.

**Kestemont P., Jourdan S., Houbart M., Mélard C., Paspatis M., Fontaine P., Cuvier A., Kentouri M., Baras E., 2003:** Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture* 227: 333–356

**Keyvanshokoo S., Vaziri B., 2008:** Proteome analysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) ova. *Animal Reproduction Science* 109, 287–297.

**Kim H.L., Park Y.S., 2010:** Maintenance of cellular tetrahydrobiopterin homeostasis. *BMB rep* 43(9): 584-92

**Kjorsvik E., Mangorjensen, A. et Holmefjord, I., 1990:** Egg quality in fishes. *Advances In Marine Biology* 26, 71–113.

**Kjorsvik E., 1994:** Egg Quality in Wild and Broodstock Cod *Gadus morhua* L. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(1), 22–29.

**Kjorsvik E., Hoehne-Reitan K., Reitan K.I., 2003:** Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 227, 9–20.

**Knoll-Gellida A., André M., Gattegno T., Forgue J, Admon A., Babin P., 2006:** Molecular phenotype of zebrafish ovarian follicle by serial analysis of gene expression and proteomic profiling, and comparison with the transcriptomes of other animals. *BMC Genomics* 7, 46.

**Ko K., Malison A., 1999:** Effect of genistein on the growth and reproductive function of male and female yellow Perch *Perca flavescens*. *Journal of the world aquaculture society* 30(1): 74-79.

**Kobayashi M., Sorensen P., Stacey N., 2002:** Hormonal and pheromonal control of spawning behavior in the goldfish. *Fish Physiology and Biochemistry* 26, 71–84.

**Kobilinsky A., 2000:** Analys and Planor software. Unité de Biométrie, INRA.

**Kowalski R., Glogowski J., Kucharczyk D., Goryczko K., Dobosz S., Ciereszko A., 2003:** Proteolytic activity and electrophoretic profiles of proteases from seminal plasma of Teleosts. *Journal of Fish Biology* 63, 1008–1019.

**Krejszeff S., Targońska K., Źarski D., Kucharczyk D., 2009:** Domestication affects spawning of the ide (*Leuciscus idus*) - preliminary study. *Aquaculture* 295 145–147.

**Kristoffersen B., Nerland A., Nilsen F., Kolarevic J., Finn R., 2009:** Genomic and proteomic analyses reveal non-neofunctionalized vitellogenins in a basal clupeocephalan, the atlantic herring, and point to the origin of maturational yolk proteolysis in marine teleosts. *Mol. Biol. Evol.* 26(5), 1029–1044.

## L

**Labbe C., Martoriati A., Devaux A., et Maisse G., 2001:** Effect of sperm cryopreservation on sperm DNA stability and progeny development in rainbow trout. *Mol. Reprod. Dev.* 60, 397–404.

**Lam T., 1994:** Hormones and egg larval quality in fish. *Journal of the World Aquaculture Society* 25: 2–12.

**Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T., Patzner R., 1995:** Fine structure and motility of spermatozoa and composition of the seminal plasma in the perch. *Journal of fish biology*, 47(3), 492-508.

**Lahnsteiner F., Berger B., Weisman T., et Patzner R.A., 1996:** Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol. Biochem.* 15, 167–179.

**Lahnsteiner F., 2000:** Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiology and Biochemistry* 23, 107–118.

**Lahnsteiner F., Patarnello P., 2004:** Egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, with biochemical parameters. *Aquaculture* 237, 443–459.

**Leatherland J.F., Li M., Barkataki. S., 2010:** Stressors, glucocorticoids and ovarian function in teleosts. *Journal of Fish Biology* (2010) 76, 86–111

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

**Léger C., Frémont L., 1981:** Métabolisme des acides gras et des lipides neutres. In Fontaine M. (Ed), *Nutrition des poissons*, Editions du CNRS, Paris, pp 215–246.

**Lemos M., Soares A., Correia A., Esteves A., 2010:** Proteins in ecotoxicology – How, why and why not? *Proteomics* 10, 873–887.

**Lepage O., Øverli Ø., Petersson E., Järvi T., Winberg S., 2000:** Differential stress coping in wild and domesticated sea trout. *Brain Behav. Evol.*, 56, 259–268.

**Liley N.R., Tamkee P., Tsai R., Hoysak D.J., 2002:** Fertilization dynamics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect of male age, social experience, and sperm concentration and motility on in vitro fertilization. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59, 144–152.

- Ling S., Hashim R., Kolkovski S., Chong Shu-Chien A., 2006:** Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture Research* 37, 1267–1275.
- Linhart O., Billard R., 1994:** Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis* L.) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *Journal of Applied Ichthyology* 10(2-3), 182–188.
- Linhart O., Rodina M., Cosson J., 2000:** Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: Sperm motility and hatching success of embryos. *Cryobiology* 41(3), 241–250.
- Linhart O., Rodina M., Gela D., Kocour M., Vandeputte M., 2005:** Spermatozoal competition in common carp (*Cyprinus carpio*): what is the primary determinant of competition success? *Reproduction* 130, 705–711.
- Loir M., Labb C., Maise G., Pinson A., Boulard G., Mourot B. et Chambeyron F., 1990:** Proteins of seminal fluid and spermatozoa in the trout (*Oncorhynchus mykiss*): Partial characterization and variations. *Fish Physiology and Biochemistry* 8(6), 485–495.
- Lubzens E., Young G., Bobe J., Cerdà J., 2010:** Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology* 165, 367–389.
- Lucero Y., 2007:** Population consequences of age-dependent maternal effects in rockfish (*Sebastes spp.*). University of California, Santa Cruz, 164pp.
- Lund I., Steinfeldt S.J., Suhr K.I., Hansen B.W., 2008:** A comparison of fatty acid composition and quality aspects of eggs and larval from cultured and wild brodstock of common sole (*Solea solea* L.). *Aquaculture nutrition* 14, 544–555.
- Lush L., Hamoutene D., Drover D., Walsh A., Puvanendran V., 2011:** Gamete collection method and egg quality comparison in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. mating pairs and its importance in selective breeding. *Aquaculture* 315, 407–409.
- Luquet P., Watanabe T., 1986:** Interaction "nutrition-reproduction" in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 2(1-4), 121–129.

## M

- Mairesse G., 2005 :** Déterminisme *ante mortem* et variabilité de la qualité nutritionnelle, technologiques et organoleptique (couleur et morphologie) de la perche commune, *Perca fluviatilis* (L.). Ecole doctorale sciences et ingénierie des ressources, procédés, produits, environnement. 170 pp.
- Mandiki S.N.M., Blanchard G., Mélard C., Koskela J., Kucharczyk D., Fontaine P., Kestemont P., 2004a:** Effects of geographic origin on growth and food intake in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) juveniles under intensive culture conditions. *Aquaculture* 229, 117–128.
- Mandikia S.N.M., Houbarta M., Babiaka I., Vandeloisea E., Gardeur J.-N., Kestemont P., 2004:** Are sex steroids involved in the sexual growth dimorphism in Eurasian perch juveniles? *Physiology and Behavior* 80 603– 609
- Mangor-Jensen A., Holm J., Rosenlund R., Osyvind Lie Ø., Sandnes K., 2007:** Effects of Dietary Vitamin C on Maturation and Egg Quality of Cod *Gadus morhua* L. *Journal of the World Aquaculture Society* 25 (1), 30–40.
- Mann T., Lutwak-Mann C., 1981:** Male reproductive function and semen. Springer-Verlag, Berlin, Heideberg, New Yrk.
- Mansour N, Lahnsteiner F, Patzner RA., 2009:** Ovarian fluid plays an essential role in attachment of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* eggs. *Theriogenology* 71:586-593.

- Mansour N., Lahnsteiner F., Patzner R.A., 2007:** Distribution of lipid droplets is an indicator for egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario*. *Aquaculture* 273, 744–747.
- Mansour N, Lahnsteiner F, Patzner RA., 2009:** Ovarian fluid plays an essential role in attachment of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* eggs. *Theriogenology* 71:586-593.
- Malison J., Kayes T., Wentworth B., Amundson C., 1988:** Growth and feeding responses of male versus female yellow perch (*Perca flavescens*) treated with estradiol-17B Canadian Journal of *Fisheries and Aquatic Sciences* 45(11): 1942-1948
- Malison J.A., Procarione L.S., Barry T.P., Kapuscinski A.R., Kayes T.B., 1994:** Endocrine and gonadal change during the annual reproductive cycle of freshwater teleost fish, *Stizostedion vitreum*. *Fish Physiol. Biochem.* 13: 473-484.
- Mantzavinos T., Dalamanga N., Hassiakos D., 1993:** Immunoglobulins IgG, IgA, IgM, complement C3, C4 and ferritin and transferrin levels in serum and follicular fluid in IVF patients. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, 20: 32-36.
- Marsh E., 1984:** Egg size variation in central Texas populations of *Etheostoma spectabile* (Pisces: Percidae). *Copeia* 1984, 291–301.
- Marian T., Krasznai Z., Balkay L., Balazs M., Emri M., Bene L., Tron L., 1993:** Hypoosmotic shock induces an osmolality-dependent permeabilization and structural changes in the membrane of carp sperm. *J. Histochem. Cytochem.* 41, 291–297.
- Maruyama A., Rusuwa B., Yuma M., 2003:** Interpopulational egg-size variation of a landlocked Rhinogobius goby related to the risk of larval starvation. *Environmental Biology of Fishes* 67, 223–230.
- Mayer I., Bornestaf C., Borg B., 1997:** Melatonin in non-mammalian vertebrates: hysiological role in reproduction? *Comparative Biochemistry and Physiology A* 118, 515–531.
- Mélard C., Kestemont P., Grignard J.C., 1996 :** Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*P. Fluviatilis*): effect of major biotic and abiotic factors on growth. *J. Appl. Ichthyol.* 12, 175–180.
- Mellinger J., 1995:** L'utilisation des lipids au cours du développement des poissons. *L'Année Biologique* 34 (3), 137–168
- Migaud H., 2002:** Influence des variations de la température et de la photopériode sur le cycle de reproduction et la qualité des pontes de la perche commune *Perca fluviatilis*. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 167p.
- Migaud H., Fontaine P., Sulisty I., Kestemont J., Gardeur J.-N., 2002:** Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis*: effects of rates of cooling and cooling durations on female gametogenesis and spawning. *Aquaculture* 205, 253–267.
- Migaud H., Mandiki R., Gardeur J.-N., Fostier A., Kestemont P., Fontaine P., 2003:** Synthesis of sex steroids in final oocyte maturation and induced ovulation in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resour.* 16, 380–388.
- Migaud H., Gardeur J.-N., Kestemont P., Fontaine P., 2004:** Off-season spawning of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture International* 12: 87–102.
- Migaud H., Cowan M., Taylor J., Ferguson H., 2007:** The effect of spectral composition and light intensity on melatonin, stress and retinal damage in post-smolt Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 270, 390–404.
- Migaud H., Davie A., Taylor J.F., 2010:** Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *Journal of Fish Biology* 76, 27–68.
- Mingist M., Kitani T., Koide N., Ueda H., 2007:** Relationship between eyed-egg percentage and levels of cortisol and thyroid hormone in masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Journal of Fish Biology* 70, 1045–1056.

- Mitchell L.M., Kennedy C.R., Hartshorne G.M., 2004:** Expression of nitric oxide synthase and effect of substrate manipulation of nitric oxide pathway in mouse ovarian follicles. *Hum Reprod.* 19(1): 30-40.
- Mellinger J., 1995:** L'utilisation des lipides au cours du développement des poissons. *L'Année Biologique* 34 (3), 137–168.
- Mellinger J., 2002:** Sexualité et reproduction des poissons. CNRS éditions Paris 349p.
- Mercure F., Van Der Kraak G., 1995:** Inhibition of Gonadotropin-Stimulated Ovarian Steroid Production by Polyunsaturated Fatty Acids in Teleost Fish. *Lipids* 30(6), 547–554.
- Mercure F., Van Der Kraak G., 1996.** Mechanisms of action of free arachidonic acid on ovarian steroid production in the goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 102, 130–140.
- Metcalfe N., Valdimarsson S., Morgan I., 2003:** The relative roles of domestication, rearing environment, prior residence and body size in deciding territorial contests between hatchery and wild juvenile salmon. *Journal of Applied Ecology* 40, 535–544.
- Modrá H, Svobodová Z., 2009:** Incidence of animal poisoning cases in the Czech Republic: current situation. *Interdisc Toxicol* 2, 48–51.
- Moodie G.E.E., Loadman N.L., Wiegand M.D., Mathias J.A. 1989:** Influence of egg characteristics on survival, growth and feeding in larval walleye (*Stizostedion vitreum*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 516–521.
- Morgan M.J., Wilson C.E., Crim L.W., 1999:** The effect of stress on reproduction in Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* 54: 477–488.
- Morineau A., Aluja-Banet T., 1998:** Analyse en composantes principales. Editeur CISIA-CERESTA ; St Mandé France, 150 pages.
- Mylonas C., Fostier A., Zanuy S., 2010:** Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165, 516–534

## N

- Nagahama, Y.,1983:** The functional morphology of teleost gonads. In: *Fish Physiology*, Vol.IXA. W.S. Hoar, D.J. Randall, and E.M. Donaldson, eds. Academic Press, NewYork, pp.223–275.
- Nesbo C.L., Magnhagen C., et Jakobsen K.S., 1998:** Genetic differentiation among stationary and anadromous perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea. *Hereditas* 129, 241–249
- Nesbo C.L., Fossheim T., Vollestad L.A., et Jakobsen K.S., 1999:** Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization. *Molecular Ecology* 8, 1387–1404.
- Nesvizhskii A.I., Keller A., Kolker E., Aebersold R., 2003:** A statistical model for identifying proteins by tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 75, 4646–4658.
- Novak S, Paradis F, Savard C, Tremblay K, Sirard MA., 2004:** Identification of porcine oocyte proteins that are associated with somatic cell nuclei after co-incubation. *Biol Reprod* 71:1279-1289.

## O

- Ogier de Baulny B., Labbe C., Maise G., 1999:** Membrane integrity, mitochondrial activity, ATP content, and motility of the European catfish (*Silurus glanis*) testicular spermatozoa after freezing with different cryoprotectants. *Cryobiology* 39, 177–184.

**Okumura S., Okamoto K., Oomori R., Nakazono A., 2002:** Spawning behavior and artificial fertilization in captive reared red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Aquaculture* 206, 165–173.

**Ørnsrud R., Graff I.E., Høie S., Totland G.K., Hemre G.-I., 2002:** Hypervitaminosis A in first-feeding fry of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquac. Nutr.* 8, 7–13.

**Ouellet P., Lambert Y, Berube I., 2001:** Cod egg characteristics and viability in relation to low temperature and maternal nutritional condition. *Journal of Marine Science* 58: 672–686.

## P

**Palace V.P., Werner J., 2006:** Vitamins A and E in the maternal diet influence egg quality and early life stage development in fish: a review. *Scientia Marina* 70 (SUPPL. 2), 41–57.

**Papoutsoglou S.E., Mylonakis G., Miliou H., Karakatsouli N.P. et Chadio S., 2000:** Effects of background color on growth performances and physiological responses of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. *Aquacult. Eng.* 22, 309–318.

**Papoutsoglou S., Karakatsouli N. et Chiras G., 2005:** Dietary l-tryptophan and tank colour effects on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. *Aquacult. Eng.* 32, 277–284.

**Pelegri F., 2003:** Maternal Factors in Zebrafish Development. *Developmental dynamics* 228, 535–554.

**Perchec G., Jeulin C., Cosson J., André F., Billard R., 1995:** Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. *J. Cell Sci.* 108, 747–753.

**Pereira J.O.B., Reis-Henriques M.A., Sanchez J.L., Costa J.M., 1998:** Effect of protein source on the reproductive performance of female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 29(10), 751–760.

**Pickering A.D., 1981:** Introduction: the concept of biological stress. In: Pickering, A.D. Ed., *Stress and Fish*. Academic Press, London, pp. 1–9.

**Pickering A.D., et Pottinger T.G., 1989:** Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry* 7(1-6), 253–258.

**Piironen J., Hyvarinen H., 1983:** Composition of the milt of some teleost fishes. *J. Fish Biol.*, 22: 351–361.

**Pinto W., Aragao C., Soares F., Dinis M.T. et Conceicao L.E.C., 2007:** Growth, stress response and free amino acid levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) chronically exposed to exogenous ammonia. *Aquaculture Research* 38, 1198–1204.

**Policar T., Podhorec P., Stejskal V., Hamackova J., Alavi S.M.H., 2010:** Fertilization and hatching rates and larval performance in captive common barbell (*Barbus barbus* L.) throughout the spawning season. *J. Appl. Ichthyol.* 26, 812–815.

**Popek W, Dietrich G, Glogowski J, Demska-Zakeś K, Drag-Kozak E, Sionkowski J, Łuszczek-Trojan E, Epler P, Demianowicz W, Sarosiek B, Kowalski R, Jankun M, Zakeś Z, Król J, Czerniak S, Szczepkowski M., 2006:** Influence of heavy metals and 4-nonylphenol on reproductive function in fish. *Reprod Biol.* 6 Suppl 1, 175–88.

**Price E.O., 1984:** Behavioural aspects of animal domestication. *Q. Rev. Biol.* 59, 1–32.

**Purchase C.F., Brown J.A., 2001:** Stock-specific changes in growth rates, food conversion efficiencies, and energy allocation in response to temperature change in juvenile Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* 58, 36–52

## Q

**Quinton C., McKlay L., McMillan I., 2004:** Strain and maturation effects on female spawning time in diallel crosses of three strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 234: 99–110.

## R

**Raventos N., Planes S., 2008:** Maternal size effects on early life traits of the temperate fish *Symphodus roissali*. *Aquat. Biol.* 4, 1–6.

**Reig L., Duarte, S., Valero J., Oca J., 2010:** Preference of cultured sole (*Solea senegalensis*) for different substrates differing in material, texture and colour. *Aquacultural Engineering* 42, 82–89.

**Rhee SG, Chae HZ, Kim K., 2005:** Peroxiredoxins: A historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radical Bio Med* 38: 1543-1552.

**Rideout R.M., Trippel E.A. Litvak M.K., 2004:** Predicting haddock embryo viability based on early cleavage patterns. *Aquaculture* 230, 215–228.

**Rime H., Guitton N., Pineau C., Bonnet E., Bobe J. et Jalabert B., 2004:** Post-ovulatory ageing and egg quality: A proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2, 26.

**Rinchar J., Kestemont P., Kühne E.R., Fostier A., 1996:** Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fish: I. Morphological and histological features. *Journal of Fish Biology* 49, 883–894.

**Roberts, R.J., Agius, C., Saliba, C., Bossier, P., Sung, Y.Y., 2010:** Heat shock proteins (chaperones) in fish and shellfish and their potential role in relation to fish health: a review. *J. Fish Dis.* 33, 789–801.

**Rodier J., 1984 :** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 7<sup>ième</sup> édition Dunod, pp. 1365.

**Rønnestad I., Koven W., Tandler A., Harel M., Fyhn H., 1998:** Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 162, 157–170.

**Rønnestad I., Hamre K., Lie Ø., Waagbø R., 1999:** Ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol levels in larvae of Atlantic halibut before and after exogenous feeding. *Journal of Fish Biology* 55: 720–731.

**Rowland S.J., 1938:** The determination of the nitrogen distribution in milk, *J. Dairy Res.*, 9, 42–49.

**Rurangwa E.; Volckaert F.A.M., Huyskens, G., Kime D.E., Ollevier F., 2001:** Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using computer-assisted sperm analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology* 55, 3.

**Ruzzante D.E., 1994:** Domestication effects on aggressive and schooling behavior in fish. *Aquaculture* 120(1-2), 1–24.

## S

**Salze G., Tocher D., Roy W., Robertson D., 2005:** Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. *Aquaculture Research* 36, 1488–1499.

**Sampathkumar, R., Munro, A., Lee, J. and Lam, T., 1993:** Exogenous cortisol promotes survival of Asian seabass (*Lates calcarifer*) hatchlings exposed to hypersalinity but not hyposalinity shock. *Aquaculture* 116: 247–255.

- Sampath-Kumar R., Lee S.T.L., Tan C.H., Munro A.D. Lam T.J., 1997:** Biosynthesis *in vivo* and excretion of cortisol by fish larvae. *J. Exp. Zool.* **277**, 337–344.
- Sara M., Favaloro E., Mazzola A., 1999 :** Comparative morphometrics of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo* Cetti, 1777), reared in different conditions. *Aquacultural Engineering* **19**, 195–209.
- Sargent J.R., Bell J.G., Bell, M.V., Henderson R.J., Tocher D.R. 1995:** Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology* **11**, 183–198.
- Sargent, J.R., 1995:** Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: Bromage, N.R., Roberts, R.R. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*, Blackwell, Oxford, pp. 353–312.
- Sargent J.R., McEvoy L.A., Bell J.G., 1997:** Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* **155**, 117–127.
- Sargent J., Bell G., McEvoy L., Tocher D., Estevez A., 1999:** Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* **177**, 191–199.
- Sargent, J.R., Tocher, D., Bell, J.G., 2002:** The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Elsevier, USA, pp. 181–257.
- Sasayama, Y., et Takahashi, H., 1972:** Effect of starvation and unilateral castration in male goldfish, *Carassius auratus*, and a design of bioassay for fish gonadotropin using starved goldfish. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **22**, 267–283.
- Sawanboonchun J., Roy W., Robertson D., Bell G., 2008:** The impact of dietary supplementation with astaxanthin on egg quality in Atlantic cod broodstock (*Gadus morhua*, L.). *Aquaculture* **283**, 97–101.
- Sbaihi M., 2001:** Interaction des stéroïdes sexuels et du cortisol dans le contrôle de la fonction de reproduction et du métabolisme calcique chez un Téléostéen migrateur, l'anguille (*Anguilla anguilla* L.), Thèse de Doctorat, Spécialité: Physiologie de la Reproduction, Université Paris VI, 2001, 212 p.
- Schreck C.B., 1992:** Glucocorticoids: metabolism, growth, and development. In: M. P. Schreibman, C. G. Scanes, and P. K. T. Pang (Editors). *The endocrinology of growth, development and metabolism in vertebrates*. Academic Press, New York pp. 367-392.
- Schreck C., Contreras-Sanchez W., Fitzpatrick M., 2001 :** Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* **197**, 3–24.
- Schultz E., Conover D., 1999:** The allometry of energy reserve depletion: test of a mechanism for size-dependent winter mortality. *Oecologia* **119**:474-483
- Scott A.P., Canario A.V.M., Prat F., 1990:** Radioimmunoassay of ovarian steroids in plasma of ovulating female seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **85**, 91–100.
- Sheader D, Williams T., Lyons B., Chipman K., 2006:** Oxidative stress response of European flounder (*Platichthys flesus*) to cadmium determined by a custom cDNA microarray. *Marine Environmental Research* **62**: 33–44
- Shields R.J., Brown N.P., Bromage N.R., 1997:** Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture* **155**, 1–12.
- Sehgal H.S., Toor H.S., 1995:** Effect of stocking density on ovarian maturation, offspring fitness and growth of common carp. *Aquaculture* **12**, 113–117.
- Siddiqui A.Q., Al-Harbi A.H., Al Hafedh Y.S., 1997:** Effect of stocking density on pattern of reproduction and growth of hybrid Tilapia in concrete tanks in Saudi Arabia. *Asian Fisheries Sciences* **10**, 41–49.
- Siddiqui A.Q., Al Hafedh Y.S., et Ali A., 1998:** Effect of dietary protein level on reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture research* **29**, 349–358.

- Shimada Y., Murakami N., Tsuzaki T., Seikai T., 2007:** Changes in growth, higher salinity tolerance and behavioral traits in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* after repeated cross-breeding. *Fisheries science* 73, 364–370.
- Siman C., Eriksson U., 1997:** Vitamin C supplementation of the maternal diet reduces the rate of malformation in the offspring of diabetic rats. *Diabetologia* 40, 1416–1424.
- Sogard S.M., Olla B.L., 2000 :** Endurance of simulated winter conditions by age-0 walleye pollock: effects of body size, water temperature and energy stores. *Journal of Fish Biology* 56: 1–21.
- Sorensen P.W., Hara T.J., Stacey N.E., Goetz F.W., 1988:** F prostaglandins function as potent olfactory stimulants comprising the post-ovulatory female sex pheromone in goldfish. *Biol. Reprod.* 38, 1039–1050.
- Stejskal V., Kouril J, Valentova O., Hamackova J. et Policar T., 2009:** Size-related oxygen consumption and ammonia excretion of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) reared in a recirculating system. *Aquaculture Research* 41, 135–142.
- Su G.S., Liljedahl L.E., Gall G., 1997:** Genetic and environmental variation of female reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 154: 115-124.
- Sulistyo I., 1998.** Contribution à l'étude et à la maîtrise du cycle de reproduction de la perche eurasiennne *Perca fluviatilis* L. Nancy, Université Henri Poincaré. 145 p.
- Sulistyo I., Rinchar J., Fontaine P., Gardeur J.-N., Capdeville B., Kestemont P., 1998:** Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resour.* 11(2), 101-111.
- Sulistyo I., Fontaine P., Rinchar J., Gardeur J.-N., Migaud H., Capdeville B., Kestemont P., 1998:** Reproductive cycle and plasma levels of steroids in male Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resour.* 13(2), 99–106
- Sumpter, J. P., 1990:** General concepts of seasonal reproduction. In *Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences.* (Munro, A. D., Scott, A. P. & Lam T. J., eds), pp. 13–31. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Sumpter J.P., 1997:** The endocrinology of stress. In: Iwama, G.W., Sumpter, J., Pickering, A.D., Schreck, C.B. Eds., *Fish Stress and Health in Aquaculture.* Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 95–118.
- Sunyer J. O., Gómez E., Tort L., Navarro V., Quesada J., 1995:** Physiological responses and depression of humoral components of the immune system in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) following daily acute stress. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques* 52(11), 2339–2346.
- Suquet M., Billard R., Cosson J., Dorange G., Chauvaud L., Mugnier C., et Fauvel C., 1994 :** Sperm features in turbot (*Scophthalmus maximus*): A comparison with other freshwater and marine fish species. *Aquat. Living resour.* 7(4), 1994, 283–294.
- Suquet M., Gagnon J.L., Quéméner L., Normant Y., 1995:** Artificial insemination of turbot (*Scophthalmus maximus*) eggs: a procedure for experimental purposes. In *Larvi'95* (Lavens, P., Jaspers, E. & Roelants, I., eds). European Aquaculture Society Special Publication 24, 57–59.
- Sveinsson T., Hara T.J., 1995:** Mature male Arctic char, *Salvenius alpinus* release F-type prostaglandins to attract conspecific females and stimulate their spawning behaviour. *Environmental Biology of Fishes* 42, 253–266.
- Sveinsson T., Hara T. J., 2000:** Olfactory sensitivity and specificity of Arctic char, *Salvenius alpinus* to a putative male pheromone, prostaglandin F2. *Physiology and Behaviour* 69, 301–307.

## T

- Tacon A.G.J., 1990.** Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. In: *Feeding Methods* Vol. 3, Argent Laboratories Press, Redmond, WA, USA p. 207.
- Tagawa M., Tanaka M., Matsumoto S., Hirano T., 1990:** Thyroid hormones in eggs of various freshwater, marine and diadromous teleosts and their changes during egg development. *Fish Physiology and Biochemistry* 8 (6), 515–520.
- Tamazouzt L., 1995:** L'alimentation artificielle de la perche *Perca fluviatilis* en milieux confinés (eau recyclée, cage flottante) : incidence sur la survie, la croissance et la composition corporelle. . Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy 1, P 126.
- Taranger G.L., Carrillo M., Schulz R.W., Fontaine P., Zanuy S., Felip A., Weltzien F.A., Dufour S., Karlsen O., Norberg B., Andersson E., Hansen T., 2010:** Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology* 165, 483–515.
- Tata J.R., 1986:** Coordinated assembly of the developing egg. *Bioessays* 4, 197–201.
- Teletchea F., Fostier A., Kamler E., Gardeur J.-N., Le Bail P.Y., 2009a:** Comparative analysis of reproductive traits in 65 freshwater fish species: application to the domestication of new fish species. *J. Fish. Fish.Biol.*19, 403–430.
- Teletchea F., Gardeur J.-N., Psenicka M., Kaspar V., Le Doré Y., Linhart O., Fontaine P., 2009b:** Effects of four factors on the quality of male reproductive cycle in pikeperch *Sander lucioperca*. *Aquaculture* 291, 217–223.
- Teletchea F., Fontaine P., 2010:** Comparison of early life-stage strategies in temperate freshwater fish species: trade-offs are directed towards first feeding of larvae in spring and early summer. *Journal of Fish Biology* 77, 257–278.
- Teletchea F., 2011:** Qu'est ce qu'un poisson domestiqué ? Implications pour le développement futur de l'aquaculture. Journée d'étude " Poisson". Séminaire de la Société d'Ethnozootechnie, 24 mai, Paris, France.
- Tilly J.L., 1998:** Molecular and genetic basis of normal and toxicant-induced apoptosis in female germ cell. *Toxicol. Let.*, 103: 497-501.
- Thorsen A., Fyhn H., 1996:** Final oocyte maturation in vivo and in vitro in marine fishes with pelagic eggs; yolk protein hydrolysis and free amino acid content. *Journal of Fish Biology* 48 (6): 1195–1209.
- Thünken T., Meuthen D., Bakker T.C.M., Kullmann H., 2010:** Parental investment in relation to offspring quality in the biparental cichlid fish *Pelvicachromis taeniatus*. *Animal Behaviour* 80, 69–74.
- Tocher D., 2003:** Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184.
- Tocher D., 2010:** Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research* 41, 717–732.
- Tokumoto M., Horiguchi R., Yamashita M., Nagahama Y., Tokumoto T., 1997:** Involvement of 26S proteasome in oocyte maturation of goldfish *Carassius auratus*. *Zoological science* 14: 347-351.
- Toner D., 2011:** Culture of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) in Ireland: past present and future. *Diversification in inland finfish aquaculture*, Pisek.
- Treasurer J., Ford L., 2010:** Assessment of egg quality and realised fecundity of whiting *Merlangius merlangus* L. in captivity. *J. Appl. Ichthyol.* 26 (2010), 554–560.
- Trippel E.A., 2003:** Estimation of male reproductive success of marine fish. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 33, 81–113.
- Tyler, C.R., Sumpter, J.P., Kawauchi, H. and Swanson, P. 1991:** Involvement of gonadotropin in the uptake of vitellogenin into vitellogenic follicles of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 84, 291–299.

**Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1996:** Oocyte growth and development in Teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6, 287–318.

## U

**Uzawa M, Grams J, Madden B, Toft D, Salisbury JL., 1995:** Identification of a complex between centrin and heat shock proteins in CSF-arrested *Xenopus* oocytes and dissociation of the complex following oocyte activation. *Dev Biol* 171: 51-59.

## V

**Van Blerkom J., 2011:** Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. *Mitochondrion* 11 (2011) 797–813

**Vandeputte M., Prunet P., 2002:** Génétique et adaptation chez les poissons : domestication, résistance au stress et adaptation aux conditions de milieu. *INRA Prod. Anim.*, 15 (5), 365–371.

**Van Der Kraak, G., Chang, J.P., 1990:** Arachidonic acid stimulates steroidogenesis in goldfish preovulatory ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 77, 221-228.

**Van Der Kraak G., Wade M.G., 1994:** A comparison of signal transduction pathways mediating gonadotropin actions in vertebrates. In: Davey K.B., Peter R.E., Tobe S.S(Eds). *Perspectives in Comparative Endocrinology*, National Research Council of Canada, Ottawa, PP. 59–63.

**Vera L.M., Migaud H., 2009:** Continuous high light intensity can induce retinal degeneration in Atlantic salmon, Atlantic cod and European sea bass. *Aquaculture* 296, 150–158.

**Verreth J., Custers G., Melger W., 1994:** The metabolism of neutral and polar lipids in eleuthero-embryos and starving larvae of the African catfish *Clarias gariepinw*. *Journal of Fish Biology* 45 (6), 961–971.

**Villamizar N., Blanco-Vives B., Migaud H., Davie A., Carboni S., Sánchez-Vázquez F.J., 2011:** Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: A review. *Aquaculture* 315, 86–94.

**Villeneuve L., Gisbert E., Le Delliou H., Cahu C.L., Zambonino-Infante J.L., 2005:** Dietary levels of all-trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. *Br. J. Nutr.* 93, 791–801.

**Vuorinen P.J., Peuranen S., Keinänen M., Tigerstedt C., Raitaniemi J. Rask M., 2004:** Acute effects on perch (*Perca fluviatilis*) and long-term effects on whitefish (*Coregonus lavaretus pallasii*) of liming of an acidified lake. *J. Appl. Ichthyol.* 20, 217–224.

**Vuthiphandchai V., Zohar Y., 1999:** Age-related sperm quality of captive striped bass *Morone saxatilis*. *Journal of the World Aquaculture Society* 30(1), 65–72.

## W

**Wallace, R.A., Selman, K., 1981:** Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.* 21, 325–343.

- Wallace R., Selman K., 1990:** Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electron Microscopy Technique* 16 (3), 175–201.
- Wagner E.J., Arndt R.E., Brough M., 2001:** Comparative tolerance of four stocks of cutthroat trout to extremes in temperature, salinity, and hypoxia. *Western North American Naturalist* 61(4), 434–444.
- Wang N., 2006:** Déterminisme de la Qualité du cycle de Reproduction chez la perche Commune, *Perca fluviatilis*. Approche Multifactorielle. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 140p.
- Wang N., Gardeur J.-N., Henrotte E., Marie M., Kestemont P., Fontaine P., 2006:** Determinism of the induction of the reproductive cycle in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*: effects of environmental cues and permissive factors. *Aquaculture* 261, 706–714.
- Wang N., Teletchea F., Kestemont P., Milla S., Fontaine P., 2010:** Photothermal control of the reproductive cycle in temperate fishes. *Reviews in Aquaculture* 2, 209–222.
- Wendelaar-Bonga S., 1997:** The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77(3), 591–625.
- Ware D.M., 1985:** Life history characteristics, reproductive value, and resilience of Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*). International symposium on the biological characteristics of herring and their implication for management, Nanaimo (1983) vol. 42, suppl. 1, pp. 127–137 (24 ref.).
- Wiegand M., 1996:** Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6, 259–286.
- Wilson R., 2002:** Amino acid and protein. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition. Elsevier, USA, pp. 143–179.
- Wirgin, I., Maceda, L., Stabile, J., Mesing, C., 1997:** An evaluation of introgression of Atlantic coast striped bass mitochondrial DNA in a Gulf of Mexico population using formalin-preserved museum. *Molecular Ecology* 6(10), 907–916.
- Wirth D., Christians E., Munaut C., Dessy C., Foidart J.-M., Gustin P., 2002:** Differential heat shock gene hsp70-1 response to toxicants revealed by in vivo study of lungs in transgenic mice. *Cell Stress Chaperones*. 7(4): 387–395.
- Wlasow T., Demska-Zakes K., Gomulka P., Jarmolowicz S., 2010:** Various aspects of piscine toxicology. *Interdisc Toxicol.* 3(3), 100–104.
- Wood III L.C., 2001:** Domestication and strain evaluation of striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture* 202, 343–350.

## X

- Xu X., Fontaine P., Mélard.C., Kestemont P., 2002 :** Effects of dietary fat levels on growth, feed efficiency and biochemical compositions of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture International* 9: 437–449, 2001.
- Xu X., Kestemont P., 2002:** Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. *Lipids* 37 (3): 297-304.

## Y

- Yoneda M., Whright P.J., 2005:** Effects of varying temperature and food availability on growth and reproduction in first-time spawning female Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* 67, 1225–1241.
- Yoshikuni M., Sagegami R., et Nagahama Y., 2003:** Proteome analysis: a new approach to identify key proteins involved in acquisition of maturational competence and oocyte maturation of medaka oocytes. *Fish Physiology and Biochemistry* 28, 379–380.

**Yu Y, Dumollard R, Rossbach A, Lai FA, Swann K., 2010:** Redistribution of mitochondria leads to burst of ATP during spontaneous mouse oocyte maturation. *J Cell Physiol.* 224(3): 672-80.

## Z

**Zabotkina E.A., 2005:** Comparative-Morphological Characteristics of Spleen of the Perch *Perca fluviatilis* L. from Lakes with Different Water pH Level. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 41(1), 112–118.

**Żarski D., Palińska K., Targońska K., Bokor Z., Kotrik L., Krejszeff S., Kupren K., Horváth A., Urbányi B., Kucharczyk D., 2011:** Oocyte quality indicators in Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L., during reproduction under controlled conditions. *Aquaculture* 313, 84–91.

**Zheng W., Hu Y., Zhang M., Sun L., 2010:** Analysis of the expression and antioxidative property of a peroxiredoxin 6. *Fish & Shellfish Immunology* 29: 305-311.

from *Scophthalmus maximus*

**Zilli L., Schiavone R., Zonno V., Storelli C., Vilella S., 2003:** Evaluation of DNA damage in *Dicentrarchus labrax* sperm following cryopreservation. *Cryobiology* 47, 3.

**Zilli L., Schiavone R., Zonno V., Storelli C., Vilella S., 2004:** Adenosine triphosphate concentration and beta-D-glucuronidase activity as indicators of sea bass semen quality. *Biol. Reprod.* 70, 1679–1684.

**Ziv T., Gattegno T., Chapovetsky V., Wolf H., Barnea E., Lubzens E., Admon A., 2008:** Comparative proteomics of the developing fish (zebrafish and gilthead seabream) oocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D* 3, 12–35.

**Zohar Y., 1988:** Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. In: Zohar, Y., Breton, B. (Eds.), *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*. INRA Press, Paris, pp. 47–62.

**Zohar Y., Harel M., Hassin S., Tandler A., 1995:** Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). In: N.R. Bromage et J.R. Roberts (EDS). *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, 94–117.

## **ANNEXES**

*Annexe I* : Arrivages du poisson fourrage utilisé lors de l'expérience "Alimentation".

Date d'arrivée	Jour de l'expérience	Quantité (kg)
24/07/2009	-1	3
31/07/2009	7	3
08/08/2009	15	2
17/08/2009	24	3
24/08/2009	31	7
07/09/2009	45	4
14/09/2009	52	5
25/09/2009	63	7
26/10/2009	94	7
15/12/2009	144	3
15/01/2010	175	3
08/02/2010	199	4
26/02/2010	217	3
12/03/2010	231	3
29/03/2010	248	3
08/04/2010	258	3

Annexe 2 (A) : Composition en acides gras (% des acides gras totaux) des différents lots de poisson fourrage utilisés lors de la phase

		Fourrage distribué en phase d'induction									
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
11:0	Acide undécanoïque	0,54	0	0	0	0	0	0	0	0	0,71
12:0	Acide laurique	0,03	0,27	0,14	0	0	0,11	0,20	0,17	0,17	0,49
13:0	Acide tridécanoïque	0,01	0,32	0	0	0	0,08	0	0,05	0,09	0,35
14:0	Acide myristique	0,27	3,06	2,12	1,67	1,02	2,00	2,11	2,03	3,15	5,11
14:1 (n-5)	Acide myristoléique	0,00	0,46	0	0	0	0,06	0,03	0,03	0,03	0,07
15:0	Acide pentadécanoïque	0,04	1,10	0,69	0,84	0,56	1,64	0,73	0,73	0,50	0,76
16:0	Acide palmitique	1,13	1,15	16,24	15,82	15,69	16,23	16,67	16,81	18,47	18,43
16:1 (n-7)	Acide palmitoléique	0,46	0,57	7,08	5,53	4,82	7,50	9,73	8,42	7,32	8,55
17:0	Acide heptadécanoïque	0,03	1,04	0,58	0,75	0,64	1,00	0,81	2,08	0,38	0,66
17:1 (n-7)	Acide cis-10-heptadécanoïque	0	0	0,73	0	0,49	0	0	0	0	0
18:0	Acide stéarique	0	16	4	6	6	5	4	5	4	3
18:1 (n-9) (cis+trans)	Acide oléique + Acide élaitique	1,21	6,07	11,93	9,48	8,96	12,44	9,99	10,18	20,35	18,17
18:2 (n-6) (cis+trans)	Acide linolélaïdique	0,81	0,61	3,20	2,63	1,97	2,74	3,86	3,57	16,49	11,91
18:3 (n-6)	Acide linoléinique	0,06	4,69	0,42	0,37	0,34	0,51	0,43	0,38	1,46	1,00
18:3 (n-3)	Acide $\alpha$ -linoléinique	0,22	3,17	4,75	1,79	1,29	2,53	5,53	3,76	3,59	4,44
20:0	Acide arachidonique	0,02	0,26	0	0,20	0,22	0,15	0,19	0,22	0,14	0,18
20:1 (n-11)	Acide cis-11-éicosénoïque	0,07	0,85	0,64	0,47	0,68	0,49	0,62	0,46	1,14	1,14
20:2	Acide cis-11-, 14-éicosadiénoïque	0,04	0,74	0,61	0,67	0,61	0,67	0,70	0,71	0,64	0,50
21:0	Acide hénéicosanoïque	0,02	0,51	0,23	0,25	0,27	0,21	0,21	0,22	0,39	0,29
20:3 (n-3)	Acide tricosanoïque	0,17	11,90	7,52	12,75	11,19	9,75	5,22	7,11	3,11	2,73
20:4 (n-6)	Acide Arachidonique	0,02	1,28	1,23	0,96	0,98	0,91	1,59	1,26	0,34	0,42
20:5 (n-3)	Acide cis-5,8,11,14,17-éicosapentaénoïque	0,33	9,22	8,77	10,64	9,11	8,83	12,00	10,95	5,89	7,08
22:0	Acide béhénique	0,01	0	0	0	0,07	0	0	0	0	0
22:1 (n-9)	Acide érucique	0	0	0	0	0	0	0	0,06	0	0
22:2 (n-6)	Acide cis-12,16-docosadiénoïque	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23:0	Acide tricosanoïque	0,01	0	0,43	0,24	0,15	0	0,31	0,26	0,26	0,35
24:0	Acide lignocérique	0	0	1,83	0	2,42	0	2,41	0	0	0
22:6 (n-3)	Acide cis-4,7,10,13,19-Docosahéxaénoïque	0,75	36,69	26,37	29,18	32,60	27,37	22,35	25,92	12,56	13,52

Annexe 2 (B) : Composition en acides gras (% des acides gras totaux) des différents lots de poisson fourrage utilisés lors de la phase de vernalisation et des granulés pour l'expérience "Alimentation"

		Fourrage distribué en phase de vernalisation						
		V11	V12	V13	V14	V15	V16	G
11:0	Acide undécanoïque	0	0,40	0	0	0,24	0	0
12:0	Acide laurique	0,29	0,46	0,26	0,23	0,21	0,31	0,08
13:0	Acide tridécanoïque	0,12	0,10	0,08	0,06	0	0,09	0
14:0	Acide myristique	3,74	4,42	3,58	3,11	1,83	3,28	5,87
14:1 (n-5)	Acide myristoléique	0,05	0,09	0,08	0,05	0	0,06	0
15:0	Acide pentadécanoïque	0,83	1,21	0,93	0,92	1,05	0,84	0,42
16:0	Acide palmitique	18,91	22,29	17,63	20,24	16,00	17,11	16,06
16:1 (n-7)	Acide palmitoléique	11,92	16,83	13,36	10,44	6,63	10,69	7,08
17:0	Acide heptadécanoïque	0,55	0,95	0,70	1,02	1,94	0,61	0,25
17:1 (n-7)	Acide cis-10-heptadécanoïque	0	1,15	0,66	0,47	1,19	0	0
18:0	Acide stéarique	3	5	3	7	6	5	3
18:1 (n-9) (cis+trans)	Acide oléique + Acide élaitique	17,76	18,60	13,98	17,48	11,06	13,26	20,86
18:2 (n-6) (cis+trans)	Acide linoléaïdique	10,04	8,02	5,83	7,13	6,69	4,82	10,04
18:3 (n-6)	Acide linoléinique	0,85	0,81	0,63	0,65	0,67	0,69	0,33
18:3 (n-3)	Acide $\alpha$ -linoléinique	7,62	11,67	8,94	7,44	5,37	7,58	4,06
20:0	Acide arachidonique	0,18	0	0,18	0,33	0,26	0,18	0,17
20:1 (n-11)	Acide cis-11-éicosénoïque	0,87	0,39	0,42	1,19	0,61	0,69	0,81
20:2	Acide cis-11-, 14-éicosadiénoïque	0,39	0,27	0,30	0,65	1,28	0,44	0,11
21:0	Acide hénéicosanoïque	0,23	0,20	0,25	0,35	0,52	0,36	0,06
20:3 (n-3)	Acide tricosanoïque	3,07	0,43	4,47	7,27	9,06	5,20	1,04
20:4 (n-6)	Acide Arachidonique	0,60	0,69	0,82	0,93	1,08	1,04	0,06
20:5 (n-3)	Acide cis-5,8,11,14,17-éicosapentaénoïque	7,38	5,18	9,21	9,72	8,55	7,05	17,99
22:0	Acide béhénique	0,05	0,91	0	0,15	0,16	0,11	0,0
22:1 (n-9)	Acide érucique	0	0	0	0,09	0,32	0	0,0
22:2 (n-6)	Acide cis-12,16-docosadiénoïque	0	0	0	0,13	0	0	0,0
23:0	Acide tricosanoïque	0,21	0	0,07	0,17	0,27	0,27	0,56
24:0	Acide lignocérique	0	0	2,01	2,99	2,69	0	0
22:6 (n-3)	Acide cis-4,7,10,13,19-Docosahéxaénoïque	11,06	0	12,18	0,21	16,44	20,61	11,14

Annexe 3 (A) : Paramètres mesurés lors du prélèvement initial de l'expérimentation "Alimentation" sur les femelles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique d'œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Type V	Type I	Rationnement V	Rationnement I	IGS	IHS	IG	K1	K2	T	C	E2
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	0,86	1,61	3,84	1,84	1,83	2,1	0,4	0,3
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	1,06	1,50	2,97	2,51	2,48	2,1	13,9	0,3
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	0,97	1,65	3,28	1,86	1,85	1,2	2,3	0,3
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	1,15	2,04	4,63	1,86	1,85	1,6	28,6	0,4
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	1,18	1,88	3,58	1,85	1,84	2,7	0,4	0,4
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	0,84	1,41	1,90	1,82	1,81	0,6	7,2	0,2
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	1,04	2,05	3,83	1,87	1,86	1,2	0,4	0,4
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	0,88	1,72	3,54	1,90	1,89	0,8	2,0	0,2

Annexe 3 (B) : Paramètres mesurés lors du prélèvement initial de l'expérimentation "Alimentation" sur les mâles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Type V	Type I	Rationnement V	Rationnement I	IGS	IHS	IG	K1	K2	T	C	11kT
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	0,93	1,61	3,84	1,84	1,83	1,9	13,0	0,13
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	0,14	1,50	2,97	2,51	2,48	3,1	0,8	0,08
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	0,38	1,65	3,28	1,86	1,85	3,1	5,4	0,12
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	0,24	2,04	4,63	1,86	1,85	2,9	2,0	0,08
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	0,42	1,88	3,58	1,85	1,84	1,9	8,3	0,08
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	0,32	1,41	1,90	1,82	1,81	2,4	3,5	0,07
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	0,20	2,05	3,83	1,87	1,86	1,6	53,0	0,14
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	0,18	1,72	3,54	1,90	1,89	1,2	13,8	0,07

Annexe 4 (A) : Paramètres mesurés lors du prélèvement réalisé en fin de phase d'induction de l'expérimentation "Alimentation" sur les femelles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : Taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique d'œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Type V	Type I	Rationnement V	Rationnement I	IGS	IHS	IG	K1	K2	TCS	T	C	E2
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	4,29	1,99	0,24	1,93	1,83	0,17	1,3	352	1,4
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	8,99	1,79	0,34	2,06	1,88	0,30	6,6	36	2,3
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	8,54	2,03	0,49	1,65	1,50	0,07	4,9	126	1,6
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	7,63	2,32	1,02	1,95	1,80	0,19		37	2,5
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	6,89	2,16	0,41	1,98	1,84	0,25	5,8	28	0,7
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	9,01	2,07	1,30	2,26	2,05	0,42	8,0	56	3,3
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	9,98	2,48	1,92	2,15	1,94	0,30		224	1,0
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	5,72	2,02	0,72	1,91	1,80	0,20	4,6	293	2,1

Annexe 4 (B) : Paramètres mesurés lors du prélèvement réalisé en fin de phase d'induction de l'expérimentation "Alimentation" sur les mâles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : Taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Type V	Type I	Rationnement V	Rationnement I	IGS	IHS	IG	K1	K2	TCS	T	C	11kT
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	5,67	1,51	0,10	1,88	1,78	0,18	21,0	31	0,6
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	5,73	1,36	0,00	1,88	1,77	0,13	6,3	85	0,5
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	4,66	1,47	0,30	1,76	1,68	0,07	4,7	151	0,2
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	5,77	1,33	0,70	1,72	1,62	0,13	5,7	18	0,5
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	7,96	1,49	0,00	1,74	1,60	0,28	8,2	19	1,6
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	4,57	1,82	0,00	1,91	1,83	0,02	3,3	460	0,4
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	5,25	1,78	0,17	2,02	1,91	0,06	10,7	93	0,4
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	4,94	1,51	0,11	1,72	1,63	0,18	13,4	41	0,4

Annexe 5 (A) : Paramètres mesurés lors du prélèvement réalisé en fin de phase de vernalisation de l'expérimentation "Alimentation" sur les femelles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : Taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11KT : concentration plasmatique d'œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Type V	Type I	Rationnement V	Rationnement I	IGS	IHS	IG	K1	K2	TCS	T	C	E2
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	15,02	2,68	0,00	2,08	1,76	0,07	17	21	0,8
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	20,88	1,21	0,17	2,03	1,61	-0,04	16	9	1,2
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	18,75	1,80	0,51	2,20	1,78	0,25	29	11	0,3
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	21,18	1,56	0,57	2,07	1,63	0,03	32	19	0,9
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	18,69	1,67	0,24	2,07	1,68	0,09	19	9	0,2
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	21,92	1,12	0,00	1,91	1,49	-0,13	22	5	0,5
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	18,41	1,94	0,99	2,21	1,80	0,17	15	15	0,3
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	20,67	1,37	0,31	1,97	1,57	-0,01	9	9	0,7

Annexe 5 (B) : Paramètres mesurés lors du prélèvement réalisé en fin de phase de vernalisation de l'expérimentation "Alimentation" sur les mâles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : Taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11KT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Type V	Type I	Rationnement V	Rationnement I	IGS	IHS	IG	K1	K2	TCS	T	C	11KT
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	4,81	2,48	0,00	1,91	1,82	0,09	12	18	9,6
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	4,67	1,12	0,00	1,89	1,80	0,06	9	7	4,9
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	4,45	2,18	0,00	2,02	1,93	0,00	16	8	9,5
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	5,17	1,44	0,29	1,79	1,70	0,00	15	10	3,3
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	5,64	2,13	0,18	1,98	1,86	-0,10	13	12	7,2
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	5,80	1,38	0,00	1,77	1,67	0,25	14	7	6,0
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	5,04	1,81	0,17	1,92	1,82	0,23	16	53	4,7
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	5,47	1,91	0,65	1,78	1,72	-0,09	35	7	9,4

Annexe 6 : Paramètres mesurés lors de l'estimation des performances de reproduction des poissons de l'expérimentation "Alimentation". TxPonte : Taux de ponte (% de femelles ayant pondu) ; DateP : Date de ponte (en jour par rapport au début de l'expérience) ; Pponte/Pfemelle : Rapport en le poids de la ponte et le poids de la femelle ; FecAbs : Fécondité Absolue (nombre d'oeufs par femelle) ; FecR : Fécondité Relative (nombre d'oeufs par g de femelle) ; TxF Taux de Fragmentation des ruban d'oeufs (%) ; Po : Poids ovocytaire (mg) ; To : Taille ovocytaire (mm) ; Fec : Taux de fécondation (%)

Combi- naison	N° Bac	Type V	Type I	Quantité V	Quantité I	TxPonte	DateP	Pponte/ Pfemelle	FecAbs	FecR	TxF	Po	To	Fec
1	15	Fourrage V	Fourrage I	Satiété V	Satiété I	80	286	15,6	8275	42	55	4,68	1,50	0
2	9	Granulé V	Fourrage I	Satiété V	Jeûne I	100	287	18,8	9937	73	63	3,77	1,41	2,3
3	13	Fourrage V	Granulé I	Satiété V	Jeûne I	100	290	15,7	8151	50	60	4,43	1,41	5,8
4	16	Granulé V	Granulé I	Satiété V	Satiété I	100	292	21,9	7369	51	53	5,00	1,45	10,4
5	12	Fourrage V	Fourrage I	Jeûne V	Jeûne I	67	291	22,0	12317	71	27	3,99	1,40	3,1
6	11	Granulé V	Fourrage I	Jeûne V	Satiété I	100	288	18,6	9791	64	46	3,97	1,44	0,3
7	14	Fourrage V	Granulé I	Jeûne V	Satiété I	92	287	19,4	9379	79	73	4,26	1,43	2,1
8	10	Granulé V	Granulé I	Jeûne V	Jeûne I	100	290	16,7	8720	49	44	4,46	1,37	2,3

Annexe 7 (A) : Paramètres mesurés lors du prélèvement initial de l'expérimentation "Population" sur les femelles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique d'œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	IGS	IHS	IG	K1	K2	T	C	E2
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	0.67	1.33	2.27	1.60	1.59	0.3	1.3	0.2
2	7	Léman	Sauvage	Petits	0.78	1.25	3.08	1.62	1.60	1.5	2.4	0.4
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits	0.83	1.61	2.54	1.73	1.72	1.7	1.4	0.7
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	0.89	1.55	2.35	1.70	1.69	0.4	4.8	0.7
5	4	Meuse	Sauvage	Gros	1.08	1.72	4.38	1.92	1.90	2.6	1.9	1.3
6	8	Léman	Sauvage	Gros	0.59	2.07	5.74	1.79	1.79	1.3	1.3	0.3
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	1.39	2.04	3.64	1.82	1.80	3.1	5.2	1.2
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	1.58	1.51	2.48	1.82	1.80	3.2	6.7	1.0

Annexe 7 (B) : Paramètres mesurés lors du prélèvement initial de l'expérimentation "Population" sur les mâles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	IGS	IHS	IG	K1	K2	T	C	11kT
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	0.39	1.33	2.27	1.60	1.59	0.3	5.9	0.07
2	7	Léman	Sauvage	Petits	0.94	1.25	3.08	1.62	1.60	0.5	2.1	0.11
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits								
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	0.47	1.55	2.35	1.70	1.69	0.2	0.6	0.13
5	4	Meuse	Sauvage	Gros								
6	8	Léman	Sauvage	Gros	0.17	2.07	5.74	1.79	1.79	0.2	4.5	0.06
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	0.28	2.04	3.64	1.82	1.80	0.2	6.4	0.07
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	0.30	1.51	2.48	1.82	1.80	0.3	5.6	0.09

Annexe 8 (A) : Paramètres mesurés lors du prélèvement de fin de phase d'induction de l'expérimentation "Population" sur les femelles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique d'œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	IGS	IHS	IG	K1	K2	dIGS	dIHS	dIG	dK1	dK2	TCS	T	C	E2
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	0.62	1.40	0.00	1.81	1.80	-0.05	0.07	-2.27	0.21	0.21	0.09	19	191	0.6
2	7	Léman	Sauvage	Petits	8.56	1.65	1.03	1.94	1.77	7.78	0.39	-2.05	0.32	0.17	0.15	16	158	0.7
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits	4.93	1.92	0.00	1.94	1.84	4.10	0.31	-2.54	0.21	0.12	0.06	6	59	0.7
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	2.78	1.42	0.00	1.71	1.66	1.89	-0.13	-2.35	0.01	-0.02	0.10	3	28	0.2
5	4	Meuse	Sauvage	Gros	8.13	2.77	0.30	1.73	1.59	7.05	1.06	-4.08	-0.19	-0.31	0.21	2	19	1.1
6	8	Léman	Sauvage	Gros	9.04	2.39	1.71	1.81	1.64	8.45	0.31	-4.03	0.01	-0.14	0.24	4	385	4.4
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	10.01	2.65	0.00	1.89	1.70	8.62	0.61	-3.64	0.08	-0.10	0.33	14	140	1.4
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	6.53	1.66	0.38	2.18	2.03	4.94	0.15	-2.10	0.35	0.23	0.29	19	190	1.0

Annexe 8 (B) : Paramètres mesurés lors du prélèvement de fin de phase d'induction de l'expérimentation "Population" sur les mâles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice Hépatosomatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combinaison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	IGS	IHS	IG	K1	K2	T	C	11kT
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	5,93	1,36	0,00	1,67	1,57	15	153	0,17
2	7	Léman	Sauvage	Petits	3,59	1,83	1,30	1,71	1,65	17	174	0,13
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits	5,80	1,40	0,00	1,78	1,68	9	92	0,32
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	7,45	1,81	0,00	2,18	2,01	29	285	0,04
5	4	Meuse	Sauvage	Gros	5,07	1,57	0,00	1,67	1,59	11	110	0,40
6	8	Léman	Sauvage	Gros	3,26	1,49	1,33	1,67	1,62	11	110	0,33
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	6,92	1,43	0,00	1,87	1,74	14	137	0,28
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	4,78	1,73	0,62	2,01	1,91	3	27	0,14

Annexe 9 (A) : Paramètres mesurés lors du prélèvement de fin de phase de vernalisation de l'expérimentation « Population » sur les femelles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice HépatO Somatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique

Combi- naison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	IGS	IHS	IG	K1	K2	TCS	dIGS	dIHS	dIG	dK1	dK2	TCS	T	C	E2
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	17.68	1.84	0.25	1.85	1.52	0.13	17.1	0.44	0.25	0.04	-0.28	0.13	26	18	0.8
2	7	Léman	Sauvage	Petits	22.31	1.51	0.10	1.75	1.36	0.03	13.8	-0.14	-0.93	-0.19	-0.41	0.03	15	6	1.3
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits	21.93	1.62	0.00	1.97	1.53	0.15	17.0	-0.30	0.00	0.03	-0.30	0.15	12	8	1.2
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	17.83	1.24	0.00	1.76	1.45	0.09	15.1	-0.18	0.00	0.05	-0.22	0.09	15	9	1.8
5	4	Meuse	Sauvage	Gros	20.17	1.40	0.49	2.00	1.59	0.10	12.0	-1.37	0.19	0.27	0.00	0.10	34	8	2.9
6	8	Léman	Sauvage	Gros	22.95	1.62	1.06	1.94	1.50	0.06	13.9	-0.77	-0.65	0.14	-0.15	0.06	15	14	1.6
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	17.73	1.64	0.85	2.12	1.74	0.00	7.7	-1.01	0.85	0.23	0.04	0.00	33	9	0.8
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	20.59	1.46	0.38	2.08	1.65	0.06	14.1	-0.20	0.00	-0.09	-0.38	0.06	19	6	1.2

d'œstradiol (ng.mL<sup>-1</sup>).

Annexe 9 (B) : Paramètres mesurés lors du prélèvement de fin de phase de vernalisation de l'expérimentation « Population » sur les mâles. IGS : Indice Gonado-Somatique (%); IHS : Indice HépatO Somatique (%); IG : Indice de Gras (%); K1, K2 : Facteurs de conditions 1 et 2; TCS : taux de croissance spécifique; T : concentration plasmatique de testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>); C : concentration plasmatique de cortisol (ng.mL<sup>-1</sup>); 11kT : concentration plasmatique de 11 kéto-testostérone (ng.mL<sup>-1</sup>).

Combi- naison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	IGS	IHS	IG	K1	K2	TCS	dIGS	dIHS	dIG	dK1	dK2	TCS	T	C	11kT
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	4.43	1.79	0.16	1.68	1.60	0.07	-1.49	0.43	0.16	0.00	0.03	0.07	11	18	2.7
2	7	Léman	Sauvage	Petits	3.45	1.30	0.67	1.55	1.50	-0.02	-0.14	-0.53	-0.63	-0.16	-0.15	-0.02	7	4	1.0
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits	5.33	1.58	0.00	1.69	1.61	-0.05	-0.47	0.19	0.00	-0.08	-0.07	-0.05	19	15	2.9
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	5.32	1.14	0.00	1.73	1.64	-0.08	-2.13	-0.67	0.00	-0.44	-0.37	-0.08	7	6	1.1
5	4	Meuse	Sauvage	Gros	5.83	1.44	0.80	1.84	1.74	0.04	0.76	-0.13	0.80	0.17	0.15	0.04	14	15	2.9
6	8	Léman	Sauvage	Gros	3.48	1.45	1.80	1.73	1.67	0.04	0.22	-0.04	0.48	0.06	0.05	0.04	7	2	0.6
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	5.46	1.67	0.25	1.74	1.64	0.02	-1.46	0.25	0.25	-0.13	-0.10	0.02	17	12	6.4
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	5.29	1.54	1.28	1.71	1.62	0.08	0.51	-0.19	0.66	-0.30	-0.29	0.08	11	21	1.8

*Annexe 10* : Paramètres mesurés lors de l'estimation des performances de reproduction des poissons de l'expérimentation « Population ». TxPonte : Taux de ponte (% de femelles ayant pondu) ; DateP : Date de ponte (en jour par rapport au début de l'expérience) ; Pponte/Pfemelle : Rapport en le poids de la ponte et le poids de la femelle ; FecAbs : Fécondité Absolue (nombre d'oeufs par femelle) ; FecR : Fécondité Relative (nombre d'oeufs par g de femelle) ; TxF Taux de Fragmentation des ruban d'oeufs (%) ; Po : Poids ovocytaire (mg) ; To : Taille ovocytaire (mm) ; Fec : Taux de fécondation (%)

Combi- naison	N° Bac	Origine	Domestication	Taille	TxPonte	DateP	Pponte/ Pfemelle	FecAbs	FecR	TxF	Po	To	Fec
1	6	Meuse	Sauvage	Petits	57	282	24.3	10079	77.8	50	4.43	1.41	16.0
2	7	Léman	Sauvage	Petits	100	291	27.3	10206	85.1	20	4.43	1.40	22.2
3	2	Meuse	Domestiqué	Petits	87	278	23.9	7878	74.6	23	4.18	1.32	11.5
4	1	Léman	Domestiqué	Petits	50	294	19.1	7836	56.9	70	4.13	1.46	1.6
5	4	Meuse	Sauvage	Gros	100	281	18.2	11482	59.1	84	4.02	1.38	1.3
6	8	Léman	Sauvage	Gros	100	296	25.3	14447	79.6	47	4.39	1.35	24.1
7	5	Meuse	Domestiqué	Gros	83	277	21.2	11812	63.2	36	4.46	1.42	7.6
8	3	Léman	Domestiqué	Gros	93	297	22.3	12723	75.0	56	4.50	1.36	3.9

*Annexe 11* : Concentration protéiques obtenues après extractions des protéines des différentes pontes de perches étudiées. BQ = bonne qualité ; QI = qualité intermédiaire et MQ = mauvaise qualité.

	<b>Concentration (<math>\mu\text{g}/\mu\text{l}</math>)</b>	<b>Quantité totale de protéines par aliquote (mg)</b>	<b>Classe de la ponte</b>
Ponte 6	9,2	1,839	HQ
Ponte 20	5,7	1,142	MQ
Ponte 21	8,4	1,686	HQ
Ponte 22	5,5	1,110	HQ
Ponte 25	5,5	1,105	HQ
Ponte 26	9,1	1,818	MQ
Ponte 28	6,3	1,256	QI
Ponte 33	8,0	1,591	MQ
Ponte 34	7,8	1,559	QI
Ponte 35	6,1	1,212	QI
Ponte 36	6,0	1,209	QI
Ponte 37	6,3	1,265	QI
Ponte 38	6,1	1,221	MQ
Ponte 39	6,3	1,265	QI
Ponte 40	12,2	2,434	MQ
Ponte 42	8,8	1,769	HQ

*Annexes 12* : Préparation des solutions à analyser en 2D-DIGE. A. Coloration à la Cyanine 3 B. Coloration à la Cyanine 5. Ces solutions sont immédiatement utilisées pour la migration en première dimension, après les 15 minutes de réduction. Cy3 et Cy5 : Cyanines 3 et 5 ; TRED : tampon de réduction.

(A)

N° gel	n° échantillon	Volume de protéines par échantillon (µl)	Cy3 (µL)	Lysine (µL)	Total (µL)	TRED (µL)	Volume final (µL)
<b>1</b>	Ponte 6	2,7	1	1	<b>4,7</b>	4,7	9,4
<b>2</b>	Ponte 22	4,5	1	1	<b>6,5</b>	6,5	13,0
<b>3</b>	Ponte 28	4,0	1	1	<b>6,0</b>	6,0	12,0
<b>4</b>	Ponte 20	4,4	1	1	<b>6,4</b>	6,4	12,8
<b>5</b>	Ponte 35	4,1	1	1	<b>6,1</b>	6,1	12,3
<b>6</b>	Ponte 33	3,1	1	1	<b>5,1</b>	5,1	10,3
<b>7</b>	Ponte 37	4,0	1	1	<b>6,0</b>	6,0	11,9
<b>8</b>	Ponte 40	2,1	1	1	<b>4,1</b>	4,1	8,1

(B)

N° gel	n° échantillon	Volume de protéines par échantillon (µl)	Cy5 (µL)	Lysine (µL)	Total (µL)	TRED (µL)	Volume final (µL)
<b>1</b>	Ponte 34	3,2	1	1	<b>5,2</b>	5,2	10,4
<b>2</b>	Ponte 26	2,8	1	1	<b>4,8</b>	4,8	9,5
<b>3</b>	Ponte 21	3,0	1	1	<b>5,0</b>	5,0	9,9
<b>4</b>	Ponte 26	4,5	1	1	<b>6,5</b>	6,5	13,0
<b>5</b>	Ponte 38	4,1	1	1	<b>6,1</b>	6,1	12,2
<b>6</b>	Ponte 36	4,1	1	1	<b>6,1</b>	6,1	12,3
<b>7</b>	Ponte 42	2,8	1	1	<b>4,8</b>	4,8	9,7
<b>8</b>	Ponte 39	4,0	1	1	<b>6,0</b>	6,0	11,9

Annexe 13 : Protéines et peptides correspondants identifiés dans les différents spots lors de l'expérimentation « Qualité Ovocytes ».

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
5	Sous unité catalytique de la sérine/thréonine phosphatase	<i>Xenopus laevis</i>	Q7ZTR3	5.9	37.2	2	10	IFCCHGGLSPDLQSMEQVR	70	55.49	Metallophos	Transduction du signal	A
								AHQVVEDGYEFFAK	72	56.81			
6	Sous unité 8 du 26S protéasome non-ATPase régulateur subunit 8	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RRE0	5.8	30.7	6	18	AYEIQFSEATR	50	57.15	PCI_Csn8	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	A
								DIQTNVYIR	66	58.05			
								VSEFHTELER	71	57.92			
								HPVSLEQYLMEGSYNK	64	60.21			
								HPVSLEQYLmEGSYNK	70	56.14			
								AYEIQFSEATR	97	57.15			
1-cys peroxyredoxin 6 (phospholipase A2)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	C1BHF2	5.44	24.4	2	20	LSILYPATTGR	55	57.95	1-cysPrx_C	Stress oxydatif		
							VIDSLQLTAQK	96	57.87				
7	Transaldolase	<i>Osmerus mordax</i>	C1BIU7	6.5	37.7	5	14	LSSTWEGIQAGR	55	57.71	Transaldolase	Métabolisme cellulaire	A
								MPAYQHLLDQAIK	46	57.01			
								VTLISPFVGR	69	58.38			
								FAADAIKLETMIK	47	57.16			
	Transferrine	<i>Epinephelus coioides</i>	B9V308	5.9	33.1	4	10	MPAYQHLLDQAIK	72	57.01	Transferrin	Transport du fer/ Stress oxydatif	
								EADAMAVDGGQVYTAGK	57	56.55			
								ASAEQYYGYAGAFR	54	56.55			
								EADAMAVDGGQVYTAGK	116	56.60			
10	Péroxirédoxin 5	<i>Anoplo-poma fimbria</i>	C3KHS6	8.4	20.2	13	39	ASAEQYYGYAGAFR	64	56.60	Redoxin	Stress oxydatif	A
								YAMLVEDGVVKK	57	57.28			
								THLPGFVQQAADLK	72	56.84			
								GVLFAVPGAFTPGCSK	63	56.89			
								MLADPTGAFTK	98	57.66			
								MLADPTGAFTK	81	57.51			
YAMLVEDGVVKK	90	57.60											

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascotti ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
10	Péroxirédoxin 5							Y <u>A</u> MLVEDGVVK	85	57.43			A
								YAMLVEDGVVKK	77	57.24			
								THLPGFVQQAADLK	103	56.83			
								GVLFAVPGAFTP <u>G</u> CSK	73	56.64			
								KINVEPDGTGLT <u>C</u> SLASNVLSEL					
								INVEPDGTGLT <u>C</u> SLASNVLSEL	99	55.63			
								KINVEPDGTGLT <u>C</u> SLASNVLSEL	96	54.99			
								YALYDATYETK	41	57.25			
VTDEVIAVFNDMK	93	57.07											
VTDEVIAVFND <u>M</u> K	73	56.91											
13	S-méthyl thioadénosine phosphorylase	<i>Salmo salar</i>	B5X2Q5	6.3	29.3	4	20	IGIIGGSGLDDPDILEGR	69	56.43	PNP_UDP_1	Synthèse des Nucléotides	A
								I <u>Q</u> NVE <u>C</u> VLLAR	74	57.59			
								IGIIGGSGLDDPDILEGR	121	56.43			
								EEIQPGDIVIIDQFIDR	85	55.86			
16	HSP70	<i>Oryzias latipes</i>	Q9W6Y1	5;8	76.2	6	8	DAGTISGLNVLR	85	57.87	HSP70	Protéines Chaperonnes	B
								<u>M</u> VNHFAIEFK	54	57.69			
								FEELNADLFR	71	57.75			
								NGLESYAFNMK	75	57.78			
								NGLESYAFN <u>M</u> K	71	57.80			
								NQVAM <u>N</u> PTNTVFDK	115	56.78			
								LAEM <u>P</u> ADSGYPAYLGAR	53	56.43		Transport de proton	
								TALVANTSNPVAAR	84	57.01			
LAEM <u>P</u> ADSGYPAYLGAR	72	56.43											
17	aconitase 2, hydratase	<i>Danio rerio</i>	Q6PEI6	7.6	84.9	7	8	VGLIG <u>S</u> CTNSSYEDMGR	85	56.47	aconitase	Métabolisme cellulaire	B
								VGLIG <u>S</u> CTNSSYED <u>M</u> GR	58	54.94			
								AQFTVTPGSEQIR	88	57.33			

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
17	aconitase 2, hydratase							CTTDHISAAGPWLK	62	57.09			B
								VAMQDATAQMAMLQFISSGLPK	45	55.11			
								VGLIGSCTNSSYEDMGR	112	56.51			
								VGLIGSCTNSSYEDMGR	82	56.30			
18	Alpha tubuline	<i>Notothenia coriiceps</i>	Q9YHW1	4.9	50.2	2	7	DVNAAIATIK	79	58.32	Tubullin	Structure cellulaire	B
								TCGGGDDSFNTFFSETGAGK	40	54.56			
19	HSP9A	<i>Sparus aurata</i>	A9CD13	5.6	68.8	14	14	MKETAENYLGTK	46	57.26	HSP70	Protéines Chaperonnes	B
								MYSPSQAGAFVLMK	51	57.10			
								MYSPSQAGAFVLMK	58	57.12			
								NAVVTVPAYFNDSQR	83	56.65			
								SQVFSTAADGQTQVEIK	88	56.52			
								VQQTVQDLFGR	79	57.76			
								KSQVFSTAADGQTQVEIK	80	56.13			
								MKETAENYLGTK	65	57.27			
								DRVEAVNMAEGIVHDTESK	42	55.55			
								MYSPSQAGAFVLMK	46	57.06			
								MYSPSQAGAFVLMK	85	57.09			
								MYSPSQAGAFVLMK	71	57.04			
								NAVVTVPAYFNDSQR	84	56.65			
SQVFSTAADGQTQVEIK	129	56.52											
20	HSP9A	<i>Sparus aurata</i>	A9CD13	5.6	68.8	21	21	MKETAENYLGTK	51	57.26	HSP70	Protéines Chaperonnes	B
								mKETAENYLGTK	48	57.50			
								MYSPSQAGAFVLMK	68	56.97			

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
20	HSP9A							DLLANKDSETGENIK	45	56.73			B
								NAVVTVPAYFNDSQR	75	58.75			
								SQVFSTAADGQTQVEIK	98	56.52			
								VQQTVQDLFGR	79	57.76			
								KSQVFSTAADGQTQVEIK	77	56.13			
								MKETAENYLGTK	78	57.27			
								DRVEAVNMAEGIVHDTESK	58	55.77			
								GDIGEVLLVGGMSR	97	57.50			
								DRVEAVNMAEGIVHDTESK	54	55.62			
								GDIGEVLLVGGMSR	77	57.38			
								EQQIVIQSSGGLSK	108	57.24			
								MYSPSQAGAFVLMK	66	57.08			
								MYSPSQAGAFVLMK	76	57.09			
								M <u>Y</u> SPSQAGAFVLMK	85	57.13			
								M <u>Y</u> SPSQAGAFVLMK	65	57.04			
								NAVVTVPAYFNDSQR	59	56.65			
								SQVFSTAADGQTQVEIK	130	56.52			
VEAVNMAEGIVHDTESK	62	56.40											
21	6 Phospho-gluconate deshydrogénase	<i>Salmo salar</i>	Q4RVN6	5.9	53.2	7	15	GLLVFGSGVSGGEGAR	47	57.07	NAD Binding 2	Métabolisme cellulaire	C
								LPANLLQAQR	96	57.63			
								AGQAVDDFIDK	74	57.88			
								VIGAESLEDMVSK	102	57.29			
								VIGAESLED <u>M</u> VSK	100	57.40			

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
21	6 Phospho-gluconate deshydrogénase S-adenosyl homocystéinase	<i>Salmo salar</i>	B5DGE0	6.4	48.0	5	12	LVPLLEAGDIIIDGGNSEYR	68	54.92	AdoHcyase	Synthèse des Acides Aminés	C
								GLLFVGSVSGGEEGAR	112	57.07			
								VAVVAGYGDVVGK	85	58.57			
								VADISLAEWGR	83	57.98			
								AIDIAENEMPGLMK	68	57.50			
								AIDIAENEMPGLMK	59	57.18			
GVSEETTTGVHNLYK	68	56.95											
22	Sous-unité 13 du protéasome 26S non-ATPase régulateur	<i>Osmerus mordax</i>	C1BJM2	5.7	43.3	3	6	LDFWcGDVK	59	57.46	PCI	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	C
								IPVNEVELLVMK	94	57.08			
								IPVNEVELLVMK	73	57.14			
23	Sous-unité H du facteur eucariotique d'initiation à la translation	<i>Anoplop-oma fimbria</i>	C3KJQ5	5.7	39.0	10	33	MFKPPQPPPR	58	57.57	Mov34	Translation	C
								LFMAEALQGHN	83	57.97			
								LFMAEALQGHN	77	57.92			
								ANIGFEHMFEVPILIK	63	56.15			
								AGQINNYCQNVK					
								SLQLLMDRVDDMSQDIVK	52	55.56			
								SLQLLMDRVDDMSQDIVK	84	55.62			
								STVADKHELLNLSSSNHLEK	46	55.47			
								HYQEEQGSEVVQGVLLGLVVEDR	67	54.57			
								ANIGFEHMFEVPILIK	54	56.15			
24	Bêta actine	<i>Monopterus albus</i>	Q7SZL6	5.3	41.8	2	10	DLYANTVLSGGTMYPIADR	43	55.59	Actin	Métabolisme cellulaire	C
								SYELPDGQVITIGNER	111	56.46			

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
25	6 Phospho-gluconate deshydrogénase	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RVN6	5.9	53.2	5	11	LPANLLQAQR	96	57.63	NAD Binding 2	Métabolisme cellulaire	C
								AGQAVDDFIDK	85	57.88			
								VIGAESLEDMVSK	108	57.29			
								VIGAESLEDMVSK	111	57.40			
								GLLFVGSVSGGEEGAR	119	57.07			
	Sous-unité 11 du proteasome 26S	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4SWI1	7.5	54.2	2	5	TGQAAELGGLLK	89	57.92	PCI	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	
								LYDNLLEQLIR	89	57.35			
27	6 Phospho-gluconate deshydrogénase	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RVN6	5.9	53.2	6	15	LPANLLQAQR	96	57.63	NAD Binding 2	Métabolisme cellulaire	D
								AGQAVDDFIDK	66	57.88			
								VIGAESLEDMVSK	100	57.40			
								VIGAESLEDMVSK	100	57.40			
								LVPLLEAGDIIIDGGNSEYR					
	Sous-unité 11 du proteasome 26S	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4SWI1	7.5	54.2	4	11	NASIDILHSIVR	79	57.63	PCI	Dégradation des protéines, ubiquitine-dépendent	
								EQSILELGTLLAK	86	57.33			
								LYDNLLEQLIR	95	58.97			
								TYEAALETIQNMSK	107	56.92			
28	Protéine F actin capping, sous-unité alpha 1	<i>Anoplo-poma fimbria</i>	C3KHJ7	4.8	21.5	5	28	LLLNNDNLLR	76	57.65	F-actin_cap_A	Structure cellulaire	D
								DACDTLSLAYVK	60	57.49			
								EGASHSFAQYNMDQFTPAK	57	55.27			
								EGASHSFAQYNMDQFTPAK	74	55.53			
								EHYPTGVCTVYGK	60	56.90			

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
28	Bêta actine	<i>Monopterus albus</i>	Q7SZL6	5.3	41.8	24	43	HQGV MVGMGQK	47	57.84	actin	Structure cellulaire	
								AGFAGDDAPR	69	58.72			
								IWHHTFYNELR	51	57.01			
								GYSFTTAAER	74	58.09			
								HQGV MVGMGQK	70	57.84			
								EITALAPTTMK	78	58.06			
								SYELPDGQVITIGNER	58	56.46			
								SYELPDGQVITIGNER	69	56.46			
								KDLYANTVLSGGTTMYPGIADR	60	59.39			
								KDLYANTVLSGGTTMYPGIADR	71	55.22			
								LCYVALDFEQEMGTAASSSSLEK	76	54.65			
								SYELPDGQVITIGNER	115	56.46			
								SYELPDGQVITIGNER	109	56.46			
								SYELPDGQVITIGNER	78	56.46			
								SYELPDGQVITIGNER	109	56.54			
								EEEIAALVVDNNGSMCK	94	56.39			
								EKLCYVALDFEQEMGTAASSSSLEK	57	53.97			
								TTGIVMDSGDGVTHTVPIYEGYALPHAILR	61	53.35			
								DLYANTVLSGGTTMYPGIADR	100	55.50			
								DLYANTVLSGGTTMYPGIADR	135	55.58			
								KDLYANTVLSGGTTMYPGIADR	94	55.71			
								LCYVALDFEQEMGTAASSSSLEK	163	54.42			
								LCYVALDFEQEMGTAASSSSLEK	178	54.22			

N° de spot	Nombre de la protéine	Espèce	N° d'accès	pI théorique	Masse moléculaire (kDa)	Nombre de peptides	% de recouvrement	Sequence	Score Mascott ion	Score X! Tandem	Domaine Pfam	Fonction biologique	Groupe du spot
30	Quinoid dihydrobioptérine réductase	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4S3Y5	6.9	24.4	3	12	AAVHQLCQSLAAK	62	57.94	adh_short	Production de tétrahydrobioptérine/Stress oxydatif	D
								AAVHQLcQSLAAK	74	57.94			
								AALSGTGGMVGYGMAK	117	57.05			
31	Pyruvate kinase	<i>Takifugu rubripes</i>	Q8JJC2	6.4	58.2	14	29	DPSEAVAVGAVEASFK	58	56.99	PK	Métabolisme cellulaire	D
								RFDEIMEASDGIMVAR	46	56.45			
								RFDEIMEASDGIMVAR	73	56.35			
								AGKPITCATQMLESNIK	64	56.14			
								NTGIICTIGPASR	90	59.83			
								EIGSDYLMcEIENGGTLGSK	73	55.51			
								IYIDDGLISLQVK	105	57.21			
								DPSEAVAVGAVEASFK	100	56.98			
								AEGSDVANAVLDGADcIMLSGETAK	88	59.01			
								FDEIMEASDGIMVAR	58	56.63			
								EACESFEPGSIQYRPIGIALDTK	60	54.66			
								EIGSDYLMcEIENGGTLGSK	75	55.57			
								AEGSDVANAVLDGADCIMLSGETAK	90	59.83			
								GDYPLEAVR					
AEGSDVANAVLDGADCIMLSGETAK	129	55.01											
	Peptidase B	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Q4RUY4	6.1	55.8	6	11	EYPC <sup>u</sup> LAAVNR	67	57.76	Peptidase M17	Clivage des protéines	
								NSVGADC <sup>u</sup> YVADELVVS	89	56.26			
								<sup>u</sup> MVMDLLCEMK	58	57.38			
								SEYEDILQC <sup>u</sup> NNLPSSATPR	63	55.36			
								GKSEYEDILQC <sup>u</sup> NNLPSSATPR	64	55.10			
								NSVGADC <sup>u</sup> YVADELVVS	115	56.26			

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE  
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL  
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

**Monsieur Marc LEGENDRE, Directeur de Recherche, GAMET, Montpellier**

**Monsieur Charles MELARD, Directeur de Recherche, CEFRA, Tihange, Belgique**

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

**Madame CASTETS Marie-Dorothee**

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,  
une thèse intitulée :

**"Fonction de reproduction et régulation de la qualité chez la perche commune, *Perca fluviatilis*. "**

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Intitulé du doctorat : « **Sciences Agronomiques** »

Fait à Vandoeuvre, le 07 novembre 2011

Le Président de l'I.N.P.L.

F. LAURENT



## **Fonction de reproduction et régulation de la qualité chez la perche commune, *Perca fluviatilis***

**Résumé :** L'amélioration des performances de reproduction des poissons d'élevage nécessite de déterminer les facteurs intrinsèques et extrinsèques influençant la qualité des gamètes d'une part, et de définir des paramètres fiables permettant de prédire les performances de reproduction d'autre part. Notre objectif est donc de comprendre le déterminisme multifactoriel de la reproduction chez la perche commune, *Perca fluviatilis*. Quatre facteurs nutritionnels (type d'aliment et taux de rationnement distribués lors des phases d'induction et de vernalisation) et 3 facteurs populationnels (poids initial, origine géographique, niveau de domestication) ont été testés. Une différence de réponse entre les sexes a été observée. Le type d'aliment distribué en vernalisation et le poids initial ont modifié l'état général des femelles. Les mâles ont plutôt été sensibles aux taux de rationnement et à l'origine géographique. L'étude des performances de reproduction a montré que le taux de ponte était sous l'influence de l'interaction entre le type d'aliment distribué en induction et en vernalisation, tandis que l'origine géographique a modulé la date de ponte. La régulation des performances de reproduction est donc un mécanisme complexe sous l'influence simultanée de plusieurs facteurs. La seconde partie de ce travail concerne la recherche de marqueurs prédictifs de la qualité des ovules. Nous avons d'abord montré que peu de paramètres morpho-anatomiques des pontes ou ovules sont des prédicateurs fiables. Cependant, l'analyse protéomique a permis de mettre en évidence plusieurs protéines exprimées différemment selon la qualité des pontes, pouvant jouer le rôle de biomarqueurs de qualité des ovules.

**Mots clés :** *Perca fluviatilis*, facteurs populationnels, facteurs nutritionnels, analyse multifactorielle, qualité des ovocytes, analyse protéomique.

## **Reproductive function and control of the quality of Eurasian perch, *Perca fluviatilis***

**Abstract:** Improving fish reproduction in breeding conditions implies to understand intrinsic and extrinsic factors influencing gametes quality on the one hand and to define relevant parameters allowing the prediction of fish reproductive performance on the other hand. Our goal was thus to understand the multifactorial determinism of the common perch (*Perca fluviatilis*) reproduction. Four nutritional factors (type of food and rate of rationing used either during the induction or vernalization phases) and 3 populational factors (initial weight, geographic origin and domestication level of breeders) have been tested. Data show different responses between females and males. type of food during wintering phase and initial broodstock weigh modified female condition. Males have been sensitive to rationing during wintering phase as well as geographical origin. Data show also that spawning rate was under the influence of interaction between kind of food during wintering phase and induction whereas geographical origin modulated the spawning date. The regulation of the performance reproduction is also a complex mechanism influenced by several factors. The second part of this work consisted on the research of parameters potentially predictive of ova quality. Firstly, our work shows that morphometric parameters measured before the fertilization are poorly relevant to predict reproductive performance. However, the proteomic analysis of several spawn allowed us to highlight proteins differently expressed according to the spawn quality, such proteins could be ova quality biomarkers.

**Keywords:** *Perca fluviatilis*, populational factors, nutritional factors, multiparameter study, oocytes quality, proteomic analysis.