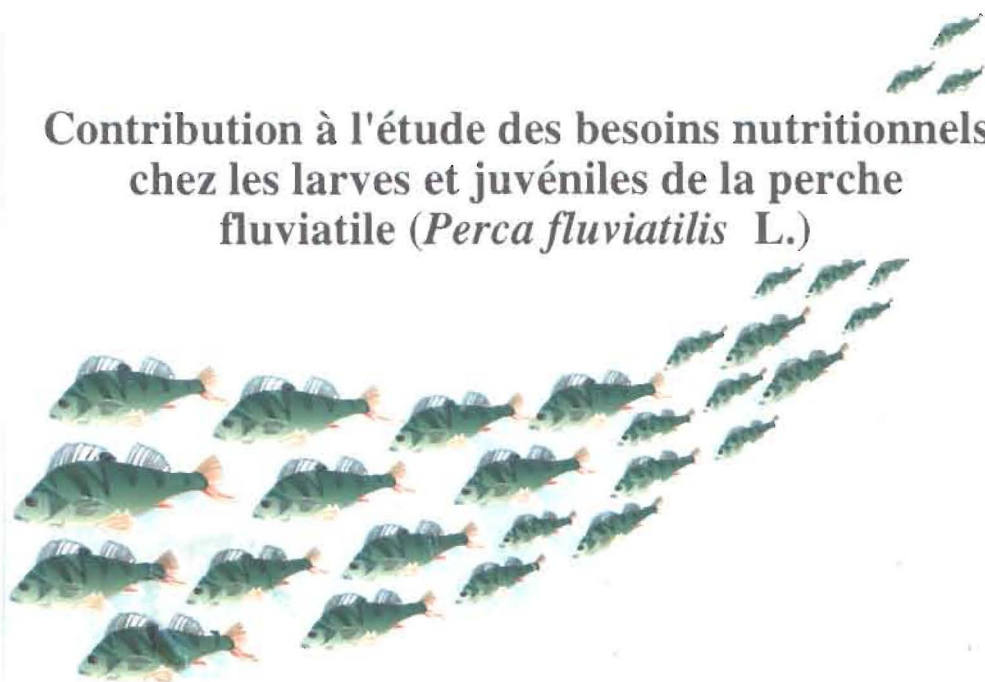




Contribution à l'étude des besoins nutritionnels  
chez les larves et juvéniles de la perche  
fluviale (*Perca fluviatilis* L.)



PRESSES  
UNIVERSITAIRES  
DE NAMUR

Dissertation présentée par  
**Emile Didier FIOGBE**  
Ingénieur Agronome  
en vue de l'obtention du grade  
de Docteur en Sciences

Décembre 1996

Contribution à l'étude des besoins nutritionnels  
chez les larves et juvéniles de la perche  
fluviale (*Perca fluviatilis* L.)



Dissertation présentée par  
**Emile Didier FIOGBE**  
Ingénieur Agronome  
en vue de l'obtention du grade  
de Docteur en Sciences

Composition du Jury :

Prof. J.-C. MICHA (Promoteur), F.U.N.D.P.  
Prof. K. DABROWSKI, OHIO State University USA  
Dr. P. KESTEMONT, F.U.N.D.P.  
Dr. C. MELARD, Université de Liège  
Prof. J. REMACLE, F.U.N.D.P.

© Presses universitaires de Namur & Emile Didier FIOGBE  
Rempart de la Vierge, 8  
B - 5000 Namur (Belgique)

Tous droits de reproduction, traduction, adaptation, même partielle,  
y compris les microfilms et les supports informatiques, réservés pour tous pays.

Imprimé en Belgique  
ISBN: 2-87037-228-0  
Dépôt légal: D / 1996 / 1881 / 11

Contribution à l'étude des besoins nutritionnels  
chez les larves et juvéniles de la perche  
fluviale (*Perca fluviatilis* L.)

Dissertation présentée par  
**Emile Didier FIOGBE**  
Ingénieur Agronome  
en vue de l'obtention du grade  
de Docteur en Sciences

1996

*A la mémoire de ma regrettée grand-mère  
Badoussi A. FIOGBE  
et  
en l'honneur de mes parents  
Nestor A. FIOGBE et Nannissi GODJO*

## Avant propos

*De nombreuses personnes ont contribué à la réalisation de ce travail, parfois bien indirectement, que se soit par leurs exigences, leurs personnalité, leur aide, leur service ou leur amitié. Je leur dois beaucoup et je voudrais qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.*

*Je pense plus particulièrement à Monsieur le Professeur J.C MICHA grâce à qui j'ai pu réaliser ce travail d'innovation. Je considère comme un privilège d'avoir fait ce premier pas dans la recherche des besoins nutritionnels chez les larves et juvéniles de la perche fluviatile. Dans son laboratoire, j'ai largement bénéficié de la rigueur de son jugement et de l'étendue de ses connaissances. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Les expériences ont été encadrées par le Docteur P. KESTEMONT. Son habileté et sa précision ainsi que son esprit d'initiative ont considérablement facilité ma tâche. Je suis heureux de lui témoigner ma gratitude.*

*Merci au Docteur J.P. DESCY et à M. SIEBRAND de la société Waters Millipore pour leurs aides pendant les dosages des protéines et des acides aminés.*

*Le dosage des acides aminés et des activités enzymatiques n'eût pu être réalisé avec cette rigueur scientifique, si Monsieur le Professeur J. REMACLE ne m'avait ouvert les portes de son laboratoire pour m'initier aux techniques de travaux pratiques de biochimie. J'y ai reçu un accueil chaleureux et je garde le meilleur souvenir de mon encadrement par mademoiselle M. DOYE, I. ALEXANDRE et de ma collaboration avec EDOUARD, ETIENNE, DOMINIQUE, MARTIN et M. DIEU. Qu'ils veuillent bien accepter l'expression de mes sentiments de gratitude.*

*Merci à Monsieur le Professeur K. DABROWSKI de 'School of Natural Resources OHIO State University USA', qui m'a enseigné les techniques de dosage des activités des enzymes de type trypsique et chymotrypsique dans son laboratoire.*

*Je voudrais remercier en général tous les membres de mon jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements vont également aux autorités de l'A.G.C.D qui m'ont accordé les bourses d'études en Belgique.*

*Merci à Monsieur X. Rollin du laboratoire de nutrition de poissons de l'U.C.L. pour m'avoir beaucoup aidé dans la formulation de mes aliments expérimentaux.*

*Merci aux Docteurs G. Derycke et Mbayahaga pour la lecture du manuscrit.*

*J'assure de mon amitié tous les membres du laboratoire d'Ecologie et en particulier F. LONNOY qui m'a aidé à la mise en forme du manuscrit et G. VERNIER, L. PIRMEZ, V. FRANK, A. EVRARD, M. TCHIBWABWA, B. KANIGINI, J. RINCHARD, L. VIROUX, P. MERGEN, P.FOSSION, E. BOVY, Y. MINE qui ont été d'un grand concours pour moi au cours de ce travail.*

*Merci à mon épouse JULIE et à mes filles E. SONIA, A. CHRISTELLE et E. PATRICIA pour avoir toléré 5 ans durant, mon irrégularité au foyer.*

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix  
Facultés des Sciences  
rue de Bruxelles, 61 B-5000 Namur, Belgique

**Contribution à l'étude des besoins nutritionnels chez les  
larves et juvéniles de la perche *Perca fluviatilis* L.**  
Par Emile Didier FIOGBE

Les besoins nutritionnels de la perche fluviatile ont été étudiés en nous basant sur sa biologie et ses besoins nutritionnels. Sa capacité importante d'adaptation à un large éventail de paramètres écologiques nous a amené à rechercher les conditions optimales de son élevage. Par ailleurs, la perche ne pouvant être élevée de façon rentable avec uniquement des proies vivantes, la recherche de la taille effective de son passage précoce à un aliment artificiel a constitué une étude préalable à celle de ses besoins nutritionnels.

La production extensive d'alevins de perche fluviatile en étangs fertilisés apparaît intéressante pour le moindre effort qu'elle nécessite, mais la survie en fin d'élevage est très faible (7%) et incontrôlable. La production semi-intensive ou intensive en eaux vertes dans des étangs bâchés avec apport d'*Artemia* substituée progressivement par de l'aliment sec semble de loin la plus intéressante. Elle permet une maîtrise de l'environnement aquacole et un taux de survie élevé (40%). Elle a cependant l'inconvénient d'être onéreuse pour sa consommation massive d'*Artemia*, et la sensibilité de sa forme intensive aux épidémies d'origine bactérienne.

Les paramètres zootechniques obtenus en fin d'élevage pour les transferts à différents poids des larves de la perche fluviatile sur aliment artificiel sec, indiquent que le sevrage tardif améliore la survie. Le sevrage précoce entraîne des mortalités massives, mais les poissons survivants montrent une adaptation importante caractérisée par une croissance très élevée. Les capacités digestives des larves montrent une bonne stabilité pour le sevrage à 300 mg de poids moyen.

La ration alimentaire de la perche fluviatile varie avec son poids suivant l'équation : ration optimale (%) =  $5,42 \text{ poids (g)}^{-0,283}$ . La teneur en protéines et en acides aminés de son régime alimentaire a un effet hautement significatif sur ses performances zootechniques et sa composition biochimique corporelle. Ses besoins en protéines étudiés à trois poids différents (0,3, 3 et 16 g), indiquent un taux de 50 % du régime sec chez les jeunes poissons de 0,5 g environ, mais à partir d'un poids moyen de  $\pm 3$  g et plus, ses besoins se stabilisent à  $\pm 40$  % de l'aliment sec. La composition en acides aminés du corps entier des alevins de perche fluviatile élevés en étang fertilisé avec du zooplancton comme seule source d'aliment, ne change pas au cours de son développement et est très similaire à celle de la truite arc-en-ciel, du saumon atlantique et du poisson chat. Toutefois, ses besoins estimés en acides aminés à partir d'une approche nutritionnelle assez fiable, la rapprochent plus de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).

Dissertation doctorale en Sciences Biologiques  
Namur, le 19 décembre 1996

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix  
Facultés des Sciences  
rue de Bruxelles, 61 B-5000 Namur, Belgique

**Contribution to the study of the nutritional requirements in  
larvae and juveniles of river perch *Perca fluviatilis* L.**

By Emile Didier FIOGBE

The aim of the present work has been to design an feeding program for river perch in intensive conditions. The study of its nutritional requirements implies the knowledge of the optimal conditions of its growth to better appreciate the quality of the nutrients foodstuffs to be given. On the other hand, since the perch cannot be reared in a efficient way with only live preys, its effectif weaning size has been studied before the investigation of its nutritional requirements studies.

Production of juveniles perch in fertilized ponds seems attractive due to the little efforts it requires, but the survival at the end of the breeding process is low (7%) and cannot be controled. But, semi-intensive or the intensive production in green water in canvas covered ponds using the live feed *Artemia*, progressively replaced by dry feed seems the more reliable method. It allows a good control of the aquatic environment and a higher survival rate (40%). They have the inconvenient to be too expensive because of the high consumption of *Artemia* and the intensive one is sensitive to bacteriological epidemics.

The zootechnical parameters obtained at the end of the breeding process for the weaning at different weight of the perch larvae to an artificial dry diet, showed that a late weaning improves the survival rate. Early weaning induced a high mortality, but the fishes which survived, showed a great adaptation, characterized by a growth rate similar to fishes reared with live prey. The study of the digestive capacities of larvae weaned at different weights, showed that a good stability of digestive enzymes for the switch from *Artemia* to dry food is obtained from 300 mg of average weight on.

The optimum ration of river perch varies with its weight following the equation : optimal ration (%) =  $5,42 \text{ poids (g)}^{-0,283}$ . The contents of proteins and amino acids in its diet has a highly significant effect on its zootechnical performances and on its biochemical body composition. Its proteins requirement studied at three different stages (0,3, 3 and 16 g), showed a rate of 50% of the dry feed in the young fish of 0.5 g of average weight, but from an average weight of  $\pm 3$  g and more, its protein requirement stabilized at  $\pm 40$  % of dry feed.

The composition of amino acids in the whole body of perch juveniles, reared in fertilized ponds with zooplankton does not vary during its development and is very similar to the one recorded in rainbow trout, atlantic salmon and cat fish. But, its amino acids requirements estimated by a reliable nutritionnal approche, bring the river perch closer to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

PhD thesis in Biological Sciences (Adviser : Prof. Dr. J.-C MICHA)  
Namur, 19th december 1996



# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>1. BIOLOGIE ET PISCICULTURE DE LA PERCHE FLUVIATILE</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Données biologiques</b>	<b>4</b>
1.1.1. Présentation de l'espèce	4
1.1.2. Position systématique	5
1.1.3. Distribution géographique	7
1.1.4. Exigences écologiques	8
1.1.4.1. Habitats	8
1.1.4.2. Température	8
1.1.4.3. Photopériode	9
1.1.4.4. Oxygène	9
1.1.4.5. pH de l'eau	10
1.1.4.6. Salinité de l'eau	10
1.1.5. Reproduction	11
1.1.5.1. Développement gonadale et Ponte	11
1.1.5.2. Incubation et embryogenèse	15
1.1.6. Alimentation	16
1.1.7. Croissance	18
1.1.8. Dynamique de population	19
<b>1.2. Etat actuel de la pisciculture de la perche</b>	<b>21</b>
1.2.1. Reproduction artificielle	22
1.2.1.1. Induction de la ponte et fécondation	22
1.2.1.1.1. Stabulation des reproducteurs	22
1.2.1.1.2. Induction de la ponte et fécondation	24
1.2.1.2. Incubation des oeufs	25
1.2.2. Systèmes d'élevage de la perche	26
1.2.2.1. Pisciculture extensive	26
1.2.2.1.1. Production de juvéniles de la perche en étangs	26
1.2.2.2. Pisciculture semi-intensive	29
1.2.2.2.1. Elevage larvaire en aquariums	29
1.2.2.2.2. Elevage larvaire en bassins bâches	30
1.2.2.3. Pisciculture intensive	34
1.2.2.4. Parasitisme	39

1.3. Conclusions	42
<b>2. CARACTERISTIQUES DE LA PERCHE AU COURS DE SON ONTOGENESE</b>	<b>44</b>
<b>2.1. Recherches bibliographiques</b>	<b>46</b>
2.1.1. Alimentation endogène	46
2.1.1.1. Effort de reproduction	46
2.1.1.2. Ressources alimentaires et vitellogenèse	47
2.1.1.3. Qualités nutritionnelles du vitellus	48
2.1.1.3.1. Caractéristiques nutritionnelles du vitellus	49
2.1.1.3.1.1. Structure et qualité	49
2.1.1.3.1.2. Composition quantitative	50
2.1.1.3.2. Mécanismes d'absorption du vitellus	52
2.1.1.3.3. Vitesse d'absorption du vitellus	54
2.1.1.3.4. Efficience d'utilisation du vitellus	57
2.1.2. Point de non retour et alimentation mixte	59
2.1.2.1. Point de non retour	59
2.1.2.2. Alimentation mixte	60
2.1.2.3. Préadaptation des larves à l'alimentation mixte	61
2.1.3. Alimentation exogène	63
2.1.3.1. Aliments vivants	63
2.1.3.1.1. Rotifères	63
<i>Brachionus plicatilis</i>	64
<i>Brachionus calyciflorus</i>	66
2.1.3.1.2. Cladocères	67
2.1.3.1.3. Copépodes	68
<i>Tigriopus</i>	69
<i>Acartia</i>	69
2.1.3.1.4. Crustacé branchiopode	70
<i>Artemia</i>	70
2.1.3.2. Aliments inertes secs	72
2.1.3.2.1. Fabrication de paillettes alimentaires	73
2.1.3.2.2. Microencapsulation	73
2.1.3.2.3. Enrobage des microgranulés	73
2.1.3.3. Facteurs influençant le comportement de la larve	73
2.1.3.3.1. Stabilité de l'aliment dans l'eau	74
2.1.3.3.2. Densité des particules alimentaires	74
2.1.3.3.3. Couleurs et contrastes	74
2.1.3.3.4. Odeur de l'aliment	74
2.1.3.3.5. Texture, structure et forme des particules	75
2.1.3.3.6. Stockage de l'aliment	75
2.1.3.3.7. L'environnement aquacole	76
2.1.4. Capacités de digestion larvaire des aliments	76

2.1.4.1. Différenciation morphologique du tube digestif	76
2.1.4.2. L'ontogénie des enzymes digestives	81
2.1.4.2.1. Les activités trypsiques et chymotrypsiques	81
Les activités trypsiques	82
Les activités chymotrypsiques	82
2.1.4.2.2. Les activités pepsiques	84
2.1.4.2.3. Les activités amylasiques	85
2.1.4.2.4. Les activités lipidiques	86
2.1.4.2.5. Autres enzymes	86
2.1.4.2.6. Quelques observations préliminaires chez la perche	87
<b>2.2. Recherches expérimentales</b>	<b>89</b>
2.2.1. Effets du type d'aliment	89
2.2.1.1. Performances zootechniques comparées	89
2.2.1.1.1. Matériel et méthodes	89
2.2.1.1.1.1. Installations expérimentales	89
2.2.1.1.1.2. Production en masse de rotifères	90
2.2.1.1.1.3. Production de nauplii d' <i>Artemia</i>	90
2.2.1.1.1.4. Origine des larves	91
2.2.1.1.1.5. Protocole expérimental	91
2.2.1.1.2. Résultats	92
2.2.1.1.3. Discussion	94
2.2.1.2. Alimentation des larves prégressives	95
2.2.1.2.1. Matériel et méthodes	96
2.2.1.2.1.1. Installations expérimentales	96
2.2.1.2.1.2. Origine des larves	97
2.2.1.2.1.3. Protocole expérimental	97
2.2.1.2.2. Résultats	99
2.2.1.2.3. Discussion	100
2.2.2. Effets de la taille au sevrage	102
2.2.2.1. Matériel et méthodes	102
2.2.2.1.1. Installations expérimentales	102
2.2.2.1.2. Protocole expérimental	103
2.2.2.1.3. Dosage des enzymes	104
2.2.2.1.3.1. Préparation des échantillons	104
2.2.2.1.3.2. Activités trypsiques et chymotrypsiques	104
2.2.2.1.3.3. Dosage des activités pepsiques	106
2.2.2.1.3.4. Calcul des activités enzymatiques	107
2.2.2.2. Résultats	108
2.2.2.2.1. Paramètres zootechniques	108
2.2.2.2.2. Activités des protéases digestives	110
2.2.2.3. Discussion	121
2.2.2.3.1. Performances de croissances	121
2.2.2.3.2. Equipements enzymatiques	123

2.2.2.3.2.1. Activités spécifiques trypsiques	123
2.2.2.3.2.2. Les activités chymotrypsiques	125
2.2.2.3.2.3. Pepsine	125
<b>2.3. Conclusions</b>	<b>126</b>
<b>3. ALIMENTATION ET BESOINS NUTRITIONNELS DE LA PERCHE FLUVIATILE</b>	<b>128</b>
<b>3.1. Recherches bibliographiques</b>	<b>129</b>
3.1.1. Besoins énergétiques	129
3.1.1.1. Schéma global de l'utilisation de l'énergie	129
3.1.1.2. Sources d'énergie	131
3.1.1.3. Evaluation des besoins énergétiques	132
3.1.1.3.1. Relations entre rations alimentaires et besoins énergétiques	132
3.1.1.3.2. Besoins énergétiques pour l'entretien	135
3.1.1.3.3. Besoins énergétiques pour la croissance	136
3.1.2. Besoins en protéines	137
3.1.2.1. Rôles divers	137
3.1.2.2. Sources	138
3.1.2.3. Métabolisme	139
3.1.2.4. Synthèse des protéines	141
3.1.2.5. Evaluation des besoins en protéines et en acides aminés	143
3.1.2.5.1. Méthodes de détermination des besoins en protéines	143
3.1.2.5.2. Méthodes de détermination des besoins en acides aminés	145
3.1.2.5.2.1. Méthodes basées sur le gain de poids	145
3.1.2.5.2.3. Méthode de Wang et Fuller	147
3.1.2.5.3. Analyse des courbes doses-réponses	149
3.1.2.5.3.1. Régressions linéaires	149
3.1.2.5.3. Besoins quantitatifs en protéines et en acides aminés	152
3.1.2.5.4. Relation entre besoins en acides aminés et pathologie des tissus	154
3.1.3. Besoins en lipides	155
3.1.3.1. Rôles divers	155
3.1.3.2. Sources de lipides	156
3.1.3.3. Evaluation des besoins en lipides et en acides gras	157
3.1.4. Evaluation des besoins en sels minéraux	159
3.1.5. Evaluation des besoins en vitamines	159
<b>3.2. Recherches expérimentales</b>	<b>162</b>
3.2.1. Rations alimentaires des alevins de perche fluviale	162
3.2.1.1. Matériel et méthodes	163
3.2.1.1.1. Installations expérimentales	163
3.2.1.1.2. Origine des poissons et types d'aliments expérimentaux	163

3.2.1.1.3. Protocoles expérimentaux	165
3.2.1.1.4. Analyses des résultats	165
3.2.1.2. Résultats	166
3.2.1.2.1. Poids de 0,3 g	166
3.2.1.2.2. Poids de 1 g	168
3.2.1.2.3. Poids de 3 g	170
3.2.1.2.4. Poids de 22 g	172
3.2.1.2.5. Estimation de la ration optimale de la perche fluviatile	174
3.2.1.3. Discussion	175
3.2.2. Besoins en protéines de la perche fluviatile	178
3.2.2.1. Matériel et méthodes	178
3.2.2.1.1. Installations expérimentales	178
3.2.2.1.2. Origine des poissons expérimentaux	178
3.2.2.1.3. Aliments expérimentaux	179
3.2.2.1.4. Mise en place des expériences	183
3.2.2.1.5. Conduite de l'élevage	183
3.2.2.1.6. Analyses biochimiques	184
3.2.2.1.7. Analyses statistiques des paramètres zootechniques	185
3.2.2.1.8. Modélisations mathématiques des croissances	186
3.2.2.2. Résultats	186
3.2.2.2.1. Pour les alevins de 3 g	186
3.2.2.2.2. Pour les alevins de 16 g	190
3.2.2.2.3. Pour les alevins de 0,3 g	194
3.2.2.3. Discussion	197
3.2.3. Effets du niveau de protéines de l'aliment sur sa digestibilité chez la perche fluviatile	201
3.2.3.1. Matériel et méthodes	201
3.2.3.1.1. Dispositif expérimental	201
3.2.3.1.2. Les poissons expérimentaux	201
3.2.3.1.3. Les aliments expérimentaux	201
3.2.3.1.4. Conduite de l'expérience	202
3.2.3.1.5. Dosage de l'oxyde de chrome dans aliments et fèces	202
3.2.3.1.6. Dosage des protéines dans les aliments et fèces	203
3.2.3.1.7. Calcul du taux de digestibilité apparente de l'aliment et des protéines.	203
3.2.3.1.8. Analyses statistiques	204
3.2.3.2. Résultats et discussion	204
3.2.4. Evaluation des besoins en acides aminés de la perche	207
3.2.4.1. Effets de la composition en acides aminés de l'aliment sur la qualité protéique de la perche fluviatile produite	207
3.2.4.1.1. Dosage des acides aminés	207
3.2.4.1.2. Résultats	208
3.2.4.2.3. Discussions	217
3.2.4.2.3.1. Profil en acides aminés des alevins de référence	217

3.2.4.2.3.2. Examen comparé de la qualité protéique des aliments naturels et artificiels	219
3.2.4.2. Estimations des besoins alimentaires en acides aminés chez la perche fluviatile	223
3.2.4.2.1. Démarche scientifique	223
3.2.4.2.2. Résultats	225
	228
3.2.4.2.3. Discussion	229
<b>3.3. Conclusion</b>	<b>231</b>
<b>DISCUSSION GENERALE</b>	<b>233</b>
<b>RESUME ET CONCLUSIONS</b>	<b>240</b>
<b>SUMMARY AND CONCLUSIONS</b>	<b>243</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>245</b>
<b>ANNEXES 1 - 12</b>	<b>283</b>

# **Introduction**

## Introduction

L'art d'élever le poisson est une science vieille de plusieurs millénaires (Micha, 1981; Verreth, 1994). En effet, l'aquaculture est née en Chine en l'an 1135 a.c. avec Wen Fang qui construisit des étangs dans la province de Honan pour y étudier le comportement et la croissance des poissons (Brown, 1977 in Micha, 1981). Elle fut ensuite exportée dans d'autres parties du monde, où elle a été longtemps pratiquée à l'échelle artisanale. Cependant, depuis quelques décennies, elle a pris le caractère d'une véritable entreprise agricole dans certaines régions du monde dont notamment la Chine (8,6 millions tonnes par an), l'Inde (1,4 million tonnes par an), le Japon (0,81 million tonnes par an) et l'Indonésie (0,6 million tonnes par an). Dès lors la production de protéines d'origine aquicole est devenue à l'instar des autres élevages, la résultante d'un bilan bioénergétique, fonction de l'alimentation quantitative et qualitative utilisée comme intrant. A présent, plus de 300 différentes espèces de poisson à besoins alimentaires variés sont élevées à travers le monde avec différents aliments inertes (Watanabe, 1988). Pour que cette expansion de l'aquaculture soit à jamais irréversible, la nécessité d'une amélioration continue des formulations et des technologies alimentaires s'impose. Mais pour être performant en pisciculture, l'aliment doit satisfaire d'une part, les besoins nutritionnels de l'espèce cultivée en terme d'énergie, de protéines, de lipides, de vitamines et de sels minéraux, et d'autres parts, les ingrédients qui le composent doivent être disponibles, facilement accessibles, moins onéreux et assez digestibles (Wilson, 1989; Watanabe, 1988; Cowey, 1993; Kaushik et Médale, 1994). C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude où nous nous proposons d'utiliser les méthodologies utilisées en nutrition animale en vue d'une meilleure connaissance des besoins nutritionnels d'une nouvelle espèce (la perche commune *Perca fluviatilis* L.) en aquaculture intensive. L'exemple de la perche comme espèce cible de cette étude nous semble essentiel pour donner à cette stratégie toute son originalité et toute sa fiabilité, étant donné l'annualité de sa reproduction, la précarité de sa larviculture et les caractéristiques déplorables de ses juvéniles (cannibalisme, voracité, nanisme, sensibilité aux bactéries etc.).

En effet, la perche *Perca fluviatilis* L. apparaît actuellement comme l'un des poissons d'eau douce fort appréciés du continent européen du point de vue qualité de sa chair. Sa faible teneur en graisse (Grzimek's, 1973) lui confère une qualité gastronomique exceptionnelle avec des facilités de transformation agro-alimentaire et de congélation de longue durée sans altération de son goût et de sa saveur. Le marché actuel de la perche sur le continent européen dépasse 5000 tonnes par an (Tamazouzt et al., 1993) et pourrait s'élargir davantage si l'offre n'était point limitée aux seules captures des pêcheurs dans les lacs et cours d'eau naturels. Le prix de vente à la pêche s'élève à présent à 200 FB kg<sup>-1</sup> et d'environ 500 FB kg<sup>-1</sup> chez les détaillants. Ces avantages: qualité, prix



qui garantissent le développement durable et rentable de toutes entreprises, semblent essentiels pour s'investir dans l'étude des possibilités d'élevage intensif de la perche.

Comme tout système aquacole, le succès de la perche dépendra certes de plusieurs facteurs dont l'un des plus importants sera la source d'approvisionnement en juvéniles nécessaires pour le grossissement en taille marchande (Calbert, 1977). Et puisqu'une espèce n'est réellement domestiquée que lorsque l'on maîtrise son cycle biologique complet, la connaissance de son cycle de reproduction s'impose et sa larviculture aussi bien que son alevinage apparaissent indispensables.

La facilité de reproduction en captivité de la perche même pêchée à l'état sauvage et sa fécondité relativement élevée (130.000 - 140.000 oeufs/kg de poids de femelle (Parageorgiou, 1977) nous ont permis de nous intéresser très tôt à sa larviculture et à son alevinage. Cependant, la reproduction synchronisée de cette espèce limite sa larviculture dans le temps. De plus, la faible taille des larves à l'éclosion (inférieure à 1 mg) et leur fragilité extrême constituent de véritables difficultés dans le développement de leur élevage. La question fondamentale qu'on se pose à la vue des larves de perche nouvellement écloses est:

Quel doit être le diamètre et la qualité des particules alimentaires à apporter et en quelle quantité pour satisfaire leurs besoins nutritionnels?

L'élevage des larves de poissons marins dont les tailles sont très similaires à celle des larves de la perche reste encore aléatoire et très onéreux. Il est impérieux de fournir très tôt à des larves de cette taille, une alimentation de base pouvant couvrir leurs besoins nutritionnels et énergétiques afin de les maintenir en vie et leur permettre une croissance rapide de manière à limiter la durée de la phase larvaire. A cet effet, l'utilisation de zooplancton tels que rotifères, *Artemia*, cladocères, copépodes et autres aliments vivants de base proches de ceux des milieux naturels a donné de bons résultats. Ces aliments vivants sont choisis en fonction de la taille des larves ou de l'ouverture de leur bouche. Toutefois, grâce à leur taille et leur facilité de culture ou de récolte, rotifères et *Artemia* sont les nourritures vivantes les plus cultivées pour l'élevage larvaire.

Le succès significatif de l'utilisation des nourritures vivantes dans le domaine de la larviculture est dû à la combinaison des facteurs suivants:

- la sélection de souches appropriées de nourritures vivantes;
- l'application des techniques de cultures améliorées;
- la manipulation des valeurs nutritionnelles des nourritures vivantes à travers des méthodes d'enrichissement;
- des méthodes zootechniques améliorées et le contrôle de l'hygiène (Komis, 1992).

Cependant, la culture et l'entretien des nourritures vivantes, de même que l'ajustement du niveau optimal de leurs valeurs nutritionnelles aux besoins des larves, se révèlent assez difficiles et très onéreux. Le recours à une préparation d'aliment inerte de base était donc apparu nécessaire pour simplifier l'alimentation des larves et leur assurer une survie et une croissance satisfaisantes et de là, augmenter la rentabilité de l'élevage. Ces dernières années, des essais de grossissement des larves avec des particules alimentaires inertes de formulation et de présentation adaptées aux besoins des larves de poisson et de crustacés ont vu le jour.

Une telle préparation d'aliment inerte pour larves ou juvéniles d'une espèce donnée nécessite la connaissance de ses besoins nutritionnels en général, et en particulier, ceux en protéines, les protéines étant les éléments essentiels de la croissance et les facteurs de production piscicole les plus onéreux (Watanabe, 1988). Les besoins en protéines sont souvent estimés à partir de l'analyse comparée des paramètres de croissance et d'utilisation d'aliments isoénergétiques à différents niveaux de protéines. Les essais de détermination des besoins nutritionnels exigent un nombre minimum de 6 régimes alimentaires et un temps d'alimentation variant de 6 à 16 semaines (Cowey, 1993).

La stratégie de la présente étude est d'exploiter au mieux toutes les approches nutritionnelles existantes en vue de préciser les besoins nutritionnels des larves et alevins de perche et permettre la mise au point d'un schéma d'alimentation pour une perche intensive. Les différentes articulations de cette étude sont les suivantes:

- Données biologiques et état actuel de la pisciculture de la perche;
- Etudes des capacités zootechniques et digestives de la perche au cours de son ontogenèse et détermination de la taille effective de passage à un aliment artificiel inerte;
- Détermination de la ration alimentaire et des besoins en protéines et en acides aminés chez la perche à différents stades de son développement.

**Biologie et pisciculture de  
la perche fluviatile**

**Biologie et pisciculture de  
la perche fluviatile**

# 1. Biologie et pisciculture de la perche fluviatile

Le milieu aquatique est peuplé d'une multitude d'êtres vivants qui sont en relation permanente entre eux et avec leur espace de vie. Ils exercent différentes fonctions (nutrition, croissance, locomotion, reproduction...) qui permettent de caractériser leur vie propre dans l'ensemble. En observer un seul dans cet ensemble complexe de mangeurs-mangés est déjà un apprentissage exigeant, mais nécessaire à sa domestication. L'objectif de ce chapitre est donc de connaître la perche fluviatile à travers sa morphologie, sa classification taxinomique et ses exigences écologiques dans le milieu naturel, de même que les échecs et les succès des tentatives de son élevage. Ces informations nous aideront dans les dispositions utiles à prendre pour son élevage intensif.

## 1.1. Données biologiques

### 1.1.1. Présentation de l'espèce

La perche *Perca fluviatilis* L. (photo 1) est une espèce d'eau douce de taille moyenne dont le corps est plus ou moins allongé et latéralement comprimé avec des écailles cténoïdes. Elle a une tête lisse ou partiellement recouverte d'écailles et porte deux nageoires dorsales distinctes. La première nageoire dorsale la plus grande comporte 13 à 15 rayons épineux acérés et porte une tache noire sur sa partie postérieure. La postérieure plus petite porte des rayons mous assez courts. Les nageoires caudale, anale et ventrales ont une couleur orangée, ourlée de rouge sang. La partie dorsale du corps bien arquée est d'une couleur turquoise foncée qui s'étend sur les flancs par 5 à 9 bandes (Craig, 1987). Elle possède des flancs jaunes verts et le ventre blanc. On distingue la perche bien colorée des eaux peu profondes et riches en végétation et la perche peu colorée des eaux profondes. La perche tire sa couleur en grande partie de son alimentation, notamment des caroténoïdes contenus dans les crustacés (Craig, 1987). L'opercule se termine par une ou plusieurs épines fortes. La ligne latérale est présente et porte 56 à 77 écailles (Craig, 1987). La vessie natatoire est sans canal pneumatique (Muus et Dahltröm, 1991). La perche possède 41 à 43 vertèbres (Spillmann, 1961). A l'âge de 8 à 10 ans dans le milieu naturel, elle a une taille moyenne de 25 cm et pèse 200 g, mais dans de rares cas des individus de tailles de 40 à 50 cm (soit 2,5 à 4 kg) sont pêchés (Grizimek, 1973; Muus et Dahltröm, 1991). Des individus de tailles de 30 à 40 cm (soit 1,5 à 2 kg) ont été pêchés dans la Meuse belge (présente étude).



Photo 1. La perche fluviale *Perca fluviatilis* L.

### 1.1.2. Position systématique

Une synthèse des classifications taxinomiques de l'ichthyofaune faites par Collette et Banarescu (1977), Nelson (1984), Craig (1987) et Lévêque *et al.* (1990) nous a permis de classer la perche de l'Eurasie (*Perca fluviatilis* L.) comme appartenant au:

- Règne ANIMALIA
- Phylum des CHORDATA
- Subphylum des CRANIATA (= VERTEBRATA)
- Super-classe des GNATOSTOMA (présence de mâchoire)
- Grade des PISCES
- Classe des OSTEICHTHYES (osseux)
- Sous-classe des ACTINOPTERYGII (présence de nageoires dorsales, anale et plaque gulaire)
  - Infra-classe des NEOPTERYGII
  - Division des HALECOSTOMI
  - Subdivision des TELEOSTEI
  - Infra-division des EUTELEOSTEI
  - Superordre des ACANTHOPTERYGII (absence de weber)
  - Ordre des PERCIFORMES
  - Sous ordre des PERCOIDEI
  - Famille des PERCIDAE
  - Sous famille des PERCINAE
  - Tribu des PERCINI
  - Genre *Perca* .

Un arbre généalogique (Figure 1.1) présentant de façon schématique les relations entre les sous-familles, les tribus et les genres de la famille des Percidés a été retracé par Collette et Banarescu (1977).

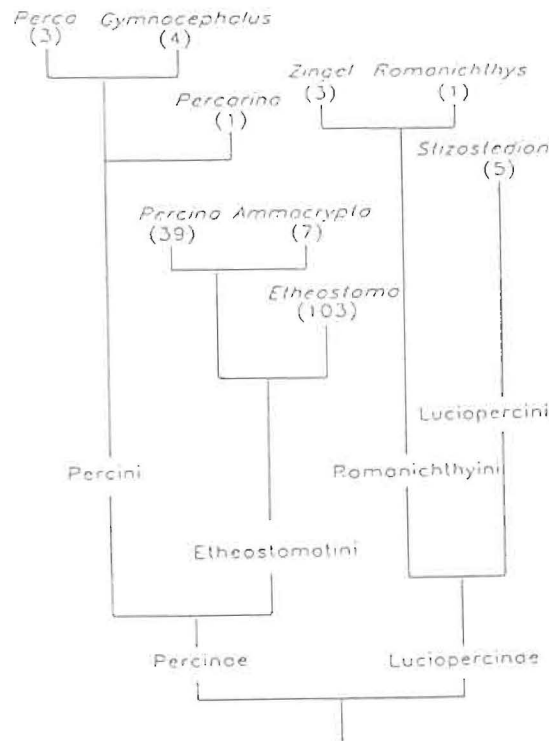


Figure 1.1. Relations entre sous-familles, tribus et genres au sein de la famille des Percidae. Le nombre d'espèces composant chaque genre est entre parenthèse (Collette & Banarescu, 1977)

Selon ces auteurs, le genre *Perca* compte également deux autres espèces : *Perca flavescens* M. et *Perca schrenki* K. différentes de *Perca fluviatilis* par quelques caractéristiques anatomiques. L'os prédorsal est localisé en avant de la première épine neurale chez *Perca fluviatilis* L. comme chez *Perca schrenki* et entre la première et la seconde épine neurale chez *Perca flavescens* M. Aussi, le ptérigiophore qui supporte la première épine dorsale est localisé entre la première et la seconde épine neurale chez *Perca fluviatilis* L. et *Perca schrenki* K. alors qu'il est entre la seconde et la troisième épine neurale chez *Perca flavescens* M. (Collette et Banarescu, 1977).

### 1.1.3. Distribution géographique

Au nombre des 73 familles composant le sous ordre des Percoidés, les Percidés constituent l'une des rares familles représentées dans les eaux douces des régions tempérées et subarctiques de l'Amérique du Nord et de l'Eurasie (Nelson, 1984). Certaines espèces ont été introduites dans l'hémisphère sud. Les fossiles de Percidés retrouvés dans les deux hémisphères datent de l'Oligocène (Romer, 1966). On trouve particulièrement la perche commune (*Perca fluviatilis*) en Europe et en Asie. En Europe, les îles anglaises et la Norvège constituent la limite Nord de sa distribution (Hoestlandt, 1979) et l'Italie sa limite Sud (Goubier, 1990) tandis que les Pyrénées empêchent son extension en Espagne (Collette et Banarescu, 1977). Elle fut introduite dans d'autres parties du monde telles que : Açores, Afrique du Sud, Tasmanie, Nouvelle Zélande, Australie, Lac Victoria, Nouvelle Gall du Sud (Figure 1.2, Thorpe, 1977 in Craig, 1987). En Europe, elle s'est répandue même dans les eaux d'où elle était originellement absente, par exemple en Ecosse (Goubier et Marchandise, 1990).

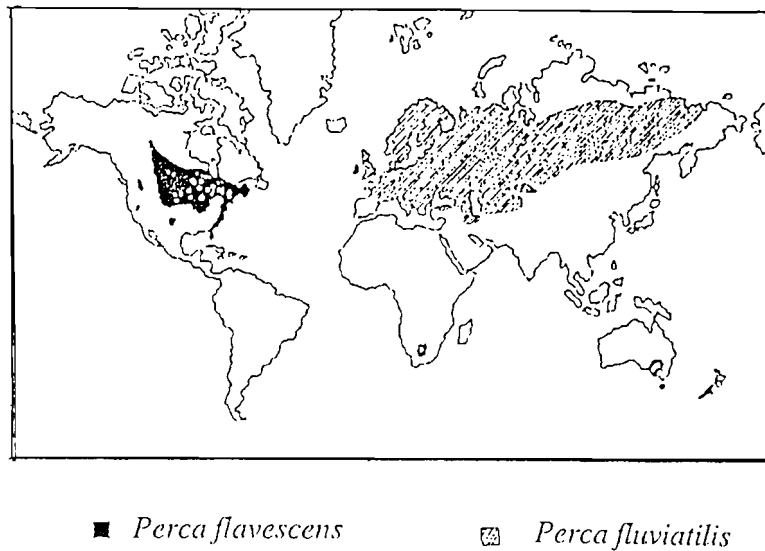


Figure 1.2. Distribution géographique de la perche *Perca fluviatilis* (Thorpe, 1977).



## 1.1.4. Exigences écologiques

### 1.1.4.1. Habitats

Cette espèce est assez répandue dans les lacs et étangs à bonnes conditions d'oxygénation des pays peu élevés. On la trouve parfois localement à des altitudes de 1000 m, dans des cours d'eau à courant rapide et même dans l'eau saumâtre, par exemple le long des côtes de la Baltique et dans les détroits danois (Muus et Dahlström, 1991). La perche est un poisson assez sédentaire, qui vit souvent en bancs composés d'individus de différentes tailles. Toutefois, des migrations de 100 km à l'est et 300 km à l'ouest de sa zone de déversement ont été rapportées (Böhling, 1995).

### 1.1.4.2. Température

La température de l'eau est connue comme un facteur environnemental très important qui influence les processus physiologiques chez les animaux poikilothermes. Son rôle dans le contrôle de l'alimentation, de la digestion, de la croissance, de la mortalité, du développement des gonades et des embryons, des infections parasitaires et autres fonctions vitales chez les percidés pourtant eurythermes (Tableau 1.1), est particulièrement significatif (Craig, 1987; Appelberg et Angström, 1995; Golovanov *et al.*, 1995, Grignard *et al.*, 1995).

Tableau 1.1. Températures physiologiques optimum, limites supérieures minimum létale et maximum critique (°C) chez *Perca* et *Stizostedion* (Hokanson, 1977)

Espèces	Optimum physiologique (°C)	Limite minimum supérieure létale (°C)	Limite maximum supérieure critique (°C)
<i>S. canadense</i>	22,0	30,4	*
<i>S. vitreum</i>	22,6	31,6	*
<i>S. lucioperca</i>	27,0	34,3-35,0	37,0
<i>P. flavescens</i>	24,7	29,2-34,0	33,4
<i>P. fluviatilis</i>	25,4	31,4-33,5	35,5-35,9

(\*non déterminée).

Chez *Perca fluviatilis*, Svirsky (1995) a rapporté récemment que ses préférences thermiques sont assez variables d'une saison à une autre en fonction de sa taille. Ainsi, en hiver, certains jeunes (< 1 an) sélection-

naient encore leurs températures préférées de l'été qui étaient de 25-26°C pendant que 7 % de la même population préféraient la température hivernale de 5°C. Chez les plus âgés (1 à 3 ans), la moitié de la population testée avait toujours son thermopréféréndum à 24-25°C d'été et l'autre préférait les températures de 6-7°C. Tous les individus âgés de 4 ans et plus préféraient les températures de 7 à 8°C en hiver contrairement au préféréndum de 23°C l'été. La température létale supérieure rapportée par l'auteur est de 33°C chez les larves de 2 semaines, de 35°C chez les juvéniles et de 32°C chez les adultes.

La température optimum de croissance de la perche fluviatile en captivité se situe entre 22 et 24°C d'après les résultats des multiples essais effectués par Mélard et Kestemont (1994) et Mélard et al. (1995). A des températures plus élevées (27 °C), ces auteurs ont obtenu une baisse de croissance et une augmentation de la mortalité due à la prolifération d'un ectoparasite (*Epistylis*).

La température optimum pour une bonne alimentation de la perche a été observé à 29 °C pour les jeunes alevins et à 23 °C pour les juvéniles et les adultes (Kitchell et al., 1977).

#### 1.1.4.3. Photopériode

Chez la perche, les activités journalières de déplacement et de capture de proies varient avec la photopériode saisonnière, soit de 9 heures en hiver à 19 heures en été (Guma'a, 1978; Svirsky, 1995). Dabrowski (1982) a par exemple observé qu'une réduction de l'intensité lumineuse par rapport à la lumière diurne, entraîne une diminution des activités alimentaires des alevins de la perche fluviatile.

D'après les résultats des études effectuées par Craig (1987), les perches sont aux jeunes stades très phototactiques et sont facilement capturées à l'aide de la lumière. Cependant, elles deviennent au stade adulte assez sensibles à la lumière vive et restent cachées au fond de l'eau, dans les végétations immergées pour s'alimenter.

#### 1.1.4.4. Oxygène

Il est impossible à la perche de prospérer dans une eau qui contient moins de 3 ml d'oxygène au litre (Muus et Dahlström, 1991). Les percidés ont en général, un appareil respiratoire bien développé qui leur impose un milieu riche en oxygène. Ils parviennent cependant à s'adapter à de faibles concentrations d'oxygène grâce à leurs faibles activités motrices et migratoires (Craig, 1987). Les concentrations minimums en oxygène dissous rapportées pour la perche fluviatile sont de 1,1 - 1,3 mg par litre à 16 °C et de 2,25 mg par litre à 20 - 26 °C (Jones, 1964).

Par ailleurs, Fry (1957) avait rapporté que les activités de la perche diminuent à partir d'une concentration minimum de 7 mg par litre à 20 °C, bien qu'elle soit capable de survivre à 0,25 mg par litre à 2,4 - 4 °C.

#### 1.1.4.5. pH de l'eau

L'acidification des lacs influence négativement la population des perches, entraînant une modification importante de leurs caractéristiques physiologiques, biochimiques et morphologiques (Komov *et al.*, 1995). Les perches constituent de ce fait, d'excellents indicateurs piscicoles de l'acidité des eaux. A pH inférieur à 5 (4,4 - 4,6), elles sont généralement absentes. Les individus résistants perdent complètement les stries de leurs écailles (Komov *et al.*, 1995).

Par ailleurs, des études antérieures (McWilliams, 1982; Rahel, 1983 et Rask, 1984) ont montré que la perche développe une adaptation à son milieu acide. En effet, le stress causé par le milieu acide interfère avec la perméabilité et le transport des électrolytes à travers la surface de ses branchies, entraînant de ce fait, une perte de ses électrolytes, notamment le sodium. Il s'établit ainsi progressivement, un équilibre 'acide - base' après une série d'ajustements au cours des échanges d'ions avec son milieu extérieur. McWilliams (1982) a par exemple noté que les perches non habituées à l'eau acide, ont des branchies à faible perméabilité aux ions hydrogène et sodium ( $H^+$  et  $Na^+$ ). Aussi, Rahel (1983) a observé dans le sang des perches (*Perca flavescens*) pêchées dans un lac acide de Wisconsin (pH = 4,6, Na = 13 méq l<sup>-1</sup> et K 11 méq l<sup>-1</sup>), de faibles concentrations en sodium et potassium, comparées à celles dosées dans le sang des perches issues d'une eau à forte salinité (pH 7,6, Na = 70 méq l<sup>-1</sup> et K = 18 méq l<sup>-1</sup>).

D'autre part, Rask (1984) a rapporté que les larves des perches du genre *Perca* issues d'oeufs pondus dans un milieu acide par des géniteurs bien habitués à ce milieu, sont en général résistantes au pH acide.

#### 1.1.4.6. Salinité de l'eau

Les espèces du genre *Perca* vivant dans de l'eau salée ont la propriété de concentrer des ions  $Na^+$  dans leur sérum sanguin. Par exemple, les perches pêchées dans la rivière Volga dont la concentration en sodium est de 1,07 méq par litre d'eau ont montré une concentration en ions  $Na^+$  de  $150 \pm 8$  méq par litre de sérum. Celles capturées dans le lac Baikal en URSS où la concentration sodique est de 0,18 méq par litre d'eau renfermaient  $114 \pm 6$  méq d'ions sodiques par litre de sérum sanguin (Natochin et Lavrova, 1974). Des tests de tolérance à la salinité ont montré une parfaite adaptation de la perche *Perca fluviatilis* à des concentrations allant de 0 à 10‰ (Berzin, 1949; Lutz, 1972). Cependant, des transferts brus-

ques d'eaux douces à eaux fortement salées, entraînent souvent la mort de cette espèce. Cette mortalité rapide résulte d'un déséquilibre ionique et une hydratation excessive de ses cellules qui éclatent (Neacsu *et al.*, 1981). Les perches préfèrent toutefois des salinités de 1,8 à 3,5‰ (Keup et Bayless, 1964).

### 1.1.5. Reproduction

La reproduction est un processus physiologique très énergivore par lequel l'espèce se multiplie, assurant de ce fait sa descendance. Sa réalisation nécessite le développement et la spécialisation des organes génitaux, de l'énergie en excès sur celle nécessaire à l'entretien et au catabolisme cellulaire et des facteurs environnementaux assez favorables. Ce processus varie d'une espèce à une autre en fonction de sa vitesse de croissance, de son mode d'alimentation et de ses préférences écologiques. En ce qui concerne la perche *Perca fluviatilis*, elle se reproduit en général dans les milieux mésotrophes (Leach *et al.*, 1977) bien qu'elle semble très bien se développer également dans les eaux à caractère oligotrophe (Lessmark, 1983; Linlokken, 1995).

#### 1.1.5.1. Développement gonadale et Ponte

L'identification du sexe chez la perche reste obscure jusqu'à la période des pontes, où la femelle devient plus ronde et plus volumineuse dans sa partie abdominale. Une étude récente a rapporté un dimorphisme sexuel non apparent chez cette espèce. Il s'agit de mesurer l'épaisseur de la peau qui est plus développée chez le mâle que chez la femelle à partir de l'âge d'un an (Lindesjö, 1994). L'âge à la première maturité chez le mâle et la femelle de *Perca fluviatilis* selon différents auteurs est de I+ et II+ (Thorpe, 1977; Papageorgiou, 1977), 0+ et I+ (Hoestlandt, 1980), 0+ et 0+ en élevage (Mélard et Philippart, 1984) et III+ et III+ - V+ (Böhling, 1995).

D'après Mezhnin (1978), la différenciation sexuelle commence chez la perche à une taille de 10 à 12 mm. En considérant que la perche fluviatile a le même développement ovocytaire que la perchaude, on peut dire conformément aux observations de West et Leonard (1978), que les perches mâles mûrent à une taille moyenne de 108 mm et les femelles à 158 mm. Chez la perchaude élevée en captivité, l'ovogenèse débute à la taille moyenne de 35 mm et la vitellogenèse et la spermatogenèse débutent à 85 mm (Malison *et al.*, 1986). Les facteurs environnementaux les plus importants qui contrôlent la reproduction chez la perche sont : la température de l'eau, la photopériode, les substrats, le niveau et la vitesse de l'eau. A ces facteurs, s'ajoutent les parures nuptiales et la production de phéromones sexuelles (Craig, 1987). Des températures inférieures à 6°C

pendant une période de 185 jours semblent nécessaires pour produire des pontes de très bonne qualité (rubans non fragmentés) avec des ovules à taux élevé de viabilité (Hokanson, 1977). C'est une espèce à reproduction synchrone (Figure 1.3, Treasurer et Holliday, 1981) et printanière (Jamet, 1990). La figure 1.3, présentant une coupe histologique d'un ovaire gravide, montre que les ovules sont au même stade de développement.

L'essentiel des stades de développement sexuel chez la perche est résumé dans les tableaux 1.2 et 1.3. Signalons que la maturation des gonades (testicules et ovaires) et la gamétogenèse débutent peu de temps après la libération des ovules et des spermatozoïdes dans l'eau (avril à mai en général). Ainsi, on peut assimiler l'étape d'immaturité des ovaires et des testicules à la période de mai à août et celle de leur maturité à août - septembre (Tableaux 1.2 et 1.3). Ces périodes correspondent à la croissance corporelle des géniteurs. Le développement proprement dit des gonades commence à partir de septembre-octobre au détriment de la croissance corporelle, quand la température de l'eau commence à diminuer. En novembre - décembre, les testicules atteignent leur taille maximale tandis que les ovocytes continuent leur croissance jusqu'à la période des pontes. Le frai a souvent lieu après une période d'augmentation de la température de l'eau. Selon Jones (1982), environ 80 % des pontes survivent entre 6 et 16 °C, mais les températures les plus favorables se situeraient plutôt entre 8 et 11 °C.

L'indice gonado-somatique varie de 20 à 31 % chez la femelle et de 8 à 15 % chez le mâle de *Perca flavescens* (Heidinger and Kayes, 1993). La fraie a lieu près du bord à une profondeur de 0,5 à 8 m dans un endroit riche en végétation, en racines, en petites branches ou pourvu de cailloux, préalablement sélectionné par les mâles (Craig, 1987). Les ovules d'une taille comprise entre 2 et 2,5 mm sont déposés en long ruban enroulé sur les substrats, entre mars et juin mais souvent à partir d'avril, où la température de l'eau varie de 7 à 10° C (Muus and Dahlström, 1991). La fécondité relative rapportée chez la femelle de *Perca flavescens* varie de 80 000 à 220 000 oeufs par kg et la concentration en spermatozoïdes de la laitance du mâle est proche de 40 milliards par ml (Ciereszko and Dabrowski, 1993). Chez *Perca fluviatilis*, la fécondité relative observée chez 20 femelles de 370 mm de taille moyenne, pêchées à l'état sauvage pendant la période de reproduction était de 95 000 à 100 000 oeufs par kg (observations personnelles). Chez *Perca fluviatilis*, la laitance des mâles contient environ 76 milliards de spermatozoïdes par ml (Piironen and Hyvarinen, 1983).

Tableau 1.2. Les apparences extérieures et histologiques de chaque stade de développement ovarien chez *Perca fluviatilis* (Treasurer & Holliday, 1981).

Stade de maturité	Apparences externes	Apparences histologiques
Ovaire immature	Petit filament transparent en dessous de la vessie, pas d'ovocytes visibles	2 ovaires primordiaux séparés par une couche de cellules épithéliales; cellules germinales (3,3-6,7 $\mu$ ), des ovogonies (13,3-20,0 $\mu$ ) et des ovocytes primaires (13,3-60,0 $\mu$ ), membrane ovarienne (4,2-10,4 $\mu$ g).
Maturation	Petits organes en forme de poire, ovocytes non encore visibles	Organisation interne avancée : ovaires avec lamelles ovigères, ovocytes primaires à 20,0-116,6 $\mu$ de diamètre et la membrane 13,3-30,0 $\mu$ d'épaisseur.
Début de développement	Ovaire opaque rougeâtre avec capillaires sanguins, oeufs visibles à l'oeil nu, blanchâtres et granuleux; ovaire occupant la moitié de l'abdomen	Développement des ovocytes (162-346 $\mu$ ); follicules avec thèque et granulosa; chorion avec tunica et zona radiata striée; formation de vésicule vitelline; membrane ovaire à 40-97 $\mu$ d'épaisseur.
Développement avancé	Ovaire rougeâtre et ovules opâques; ovaire occupant les 2/3 de la cavité abdominale	Distinction apparente entre ovocytes en développement et ceux en régression (773 $\mu$ de diamètre); cytoplasme rempli de vésicules vitellines; chorion assez large.
Gravidité	Cavité ventrale remplie par l'ovaire; ovules rondes et translucides quelques jours avant la ponte	Présence de cellules hyalines, le vitellus apparaît comme une masse homogène remplissant l'ovocyte.
Frai	Les oeufs sont émis par striping, ils sont translucides	Histologiquement identiques au stade gravidité, intense vasodilatation; paroi de l'oviducte plus mince.
Récupération	Ovaire vide, rouge et flasque, occupe environ 2/3 de la cavité abdominale; paroi de l'ovaire épaisse et dure, quelques ovocytes résiduels visibles	Lamelles ovigères désorganisées, follicules contractées et repliées; membrane pliée et plus volumineuse; ovocytes résiduels occasionnels en résorption.
Réorganisation	Ovaire gris-rouge plus ferme qu'au stade récupération, long d'environ la moitié de la cavité abdominale, rares ovocytes résiduels visibles	Reprise variable du cycle; organisation normale des lamelles ovigères en cours, reste folliculaire arrangé autour de l'assise des lamelles ovigères, augmentation du nombre des ovocytes, les plus développés forment une assise de granulosa.

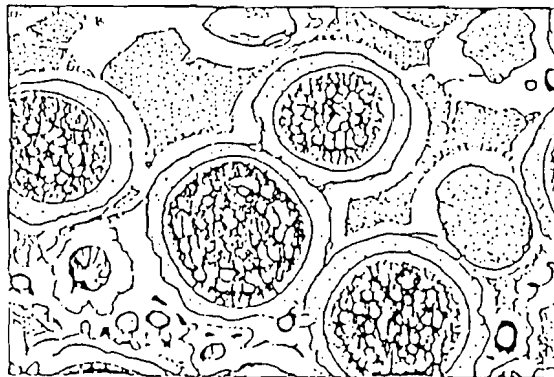


Figure 1.3. Schéma d'une coupe histologique d'un ovaire mur montrant des ovocytes hyalines (Treasurer & Holliday, 1981 in Craig, 1987).

Tableau 1.3. Les apparences externes de chaque stade de développement testiculaire chez *Perca fluviatilis* (Craig, 1987).

Stades de maturation	Apparences externes
Testicules immatures	Très petits organes pairés transparents liés sous la colonne vertébrale
Maturation sexuelle	Translucide et long d'environ la moitié de la cavité ventrale.
Début de développement	Opaque et rougeâtre avec des vaisseaux sanguins. Ils occupent environ la moitié de la cavité ventrale.
Développement avancé	Couleur rougeâtre-blanche. Les testicules occupent environ les 2/3 de la cavité ventrale. Pas de production de laitance sous pression abdominale.
Gravidité	Les testicules occupent toute la longueur de la cavité ventrale. Ils sont blancs et spermiantes sous pression abdominale.
Spermiation	Comme pour le stade de gravidité, mais l'éjaculation est plus spontanée à la moindre pression abdominale.
Résorption	Les testicules commencent par résorber, la laitance transparente et rougeâtre.
Réorganisation	Les testicules translucides ont une longueur inférieure à la moitié de la cavité ventrale.

### 1.1.5.2. Incubation et embryogenèse

Comme sus-indiqué, la température de l'eau joue un rôle capital dans le développement de l'embryon (Figure 1.4) et la durée totale de l'incubation des oeufs. Ainsi, le développement de l'embryon en fonction de la température d'après Guma'a (1978) est schématisé de la façon suivante :

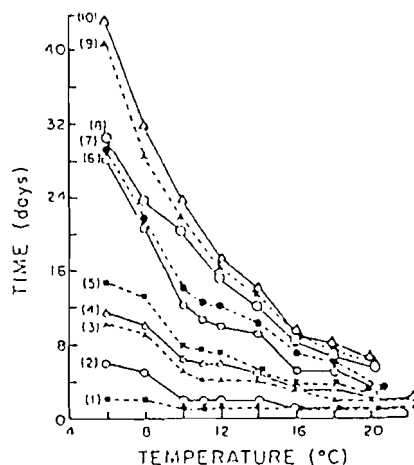


Figure 1.4 : L'effet de la température sur le développement de l'embryon chez *Perca fluviatilis*. Le temps de développement d'un stade à un autre est la moyenne de six observations. Les stades observés sont : (1) blastula complet, (2) gastrula complet, (3) ébauche de l'embryon, (4) embryon sans queue, (5) embryon mouvant mais avec yeux non pigmentés, (6) yeux pigmentés et développés, (7) début de l'éclosion, (8) 10 % d'oeufs éclos, (9) 50 % d'éclosion, (10) 90 % d'éclosion. (Guma'a, 1978).

La durée totale d'incubation est représentée par les fonctions suivantes :

$$\bullet H = D.(T_i - T_{\min})^{-1} \text{ (Guma'a, 1978)}$$

$$\bullet D.T_i^{1.72} = 1039 \text{ (Hoestlandt et Devienne, 1980)}$$

où, H est la durée d'incubation en degré jour, D le temps d'incubation en jour,  $T_i$  la température d'incubation ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_{\min}$  la température minimale d'incubation ( $T_{\min} = 6^{\circ}\text{C}$  chez la perche *Perca fluviatilis*).

Le temps total d'incubation apparaît comme une fonction décroissante de la température. Une durée d'incubation de 97 à 101 degrés jours est recommandée pour *P. fluviatilis* avec une efficacité de 50 à 90 % d'éclosion (Guma'a, 1978).



### 1.1.6. Alimentation

Connaître les comportements et les habitudes alimentaires d'une espèce sauvage dans son milieu naturel est d'un grand secours dans sa domestication. Les habitudes alimentaires de la perche en milieu naturel, ci-dessous présentés nous guideront dans la détermination de ses besoins nutritionnels en captivité.

Une étude bibliographique nous renseigne donc que la perche est un prédateur pélagique diurne (Guma'a, 1982), parfois crépusculaire (Kogan *et al.*, 1981). C'est un véritable chasseur visuel qui dépense beaucoup d'énergie dans la recherche et la capture de ses proies. Les perches aiment se tenir près du fond, au voisinage des buissons, des groupes de rochers. Ce sont des poissons sociaux : ils vivent en groupes, poursuivent leurs proies en groupes. Les plus jeunes forment les plus gros bancs. Suivant son âge et la disponibilité des ressources alimentaires des différents milieux, *P. fluviatilis* se nourrit de zooplancton, de macroinvertébrés et de poissons (Allen, 1935; Chappaz *et al.*, 1989; Guti, 1993). La quantité d'aliment ingérée par les larves de *P. fluviatilis* en une journée représente 12 à 16 % de leur poids (Spanovskaya et Grygorash, 1977). Les besoins sont donc très importants aux jeunes stades. Des observations des contenus stomacaux (Chappaz *et al.*, 1989 dans le lac de Sainte Croix) ont montré que les jeunes perches se nourrissent en abondance de zooplancton de grande taille (Tableau 4). La fraction planctonique des sujets de 4 à 10 cm est constituée en hiver de 80 % en nombre et 98 % en biomasse de cladocères (*Sida cristallina* et *Simocephalus vetulus*) et de copépodes (*Macrocyclops albidus*). Les larves de Chironomes, les Ephéméroptères et les poissons sont les proies les mieux représentées dans les contenus stomacaux des perches de plus de 10 cm. Durant la saison chaude, l'ichtyophagie sur les alevins de Cyprinidés est plus marquée mais les Chironomes et les Ephéméroptères sont aussi présents dans presque tous les estomacs de perche examinés. Cette étude rapporte également la présence de grands décapodes du genre *Astacus* dans l'estomac des perches de grandes tailles (35 à 45 cm).

Les résultats d'une étude similaire conduite par Guti (1993) sur des jeunes perches pêchées dans le fleuve Danube sont en parfaite adéquation avec ceux rapportés par Chappaz *et al.*(1989). On peut remarquer sur la figure 1.5 qui montre l'abondance et la diversité spécifique des proies ingérées au cours du développement de *Perca fluviatilis*, que les alevins de Cyprinidés sont présents en toutes saisons dans les estomacs de toutes les tailles capturées (même chez les sujets inférieurs à 10 cm). Le cannibalisme est chose courante, même les larves de quelques semaines s'attaquent.

Tableau 1.4. Composition des contenus stomacaux des perches (*Perca fluviatilis*) capturées dans le lac de Sainte-Croix.  $P_i$ ,  $M_i$ , sont respectivement les pourcentages en nombre et en biomasse des différents types de proies,  $n$  = nombre de poissons examinés et  $L_f$  = longueur à la fourche (Chappaz et al., 1989).

Proies	HIVER				ETE			
	<u>Lf&lt;10cm n=75</u>		<u>Lf&gt;10cm n=45</u>		<u>Lf&lt;10cm n=17</u>		<u>LF&gt;10cm n=22</u>	
	$P_i$	$M_i$	$P_i$	$M_i$	$P_i$	$M_i$	$P_i$	$M_i$
Oligochètes	0,45	-	0,27	-	-	-	-	-
Crustacés								
Cladocères	25,45	1,00	0,40	-	7,70	0,15	-	-
Copépodes	29,75	0,20	1,70	-	33,40	0,10	-	-
Ostracodes	0,80	-	0,10	-	-	-	-	-
Amphipodes	0,30	2,00	2,30	1,12	0,02	0,09	0,80	0,50
Isopodes	0,10	0,40	0,40	1,30	-	-	0,16	0,06
Décapodes	-	-	0,30	5,60	-	-	-	-
Insectes								
Odonates	0,30	1,20	0,20	0,05	0,80	2,00	0,20	0,07
Tricoptères	1,10	2,20	4,00	0,60	-	-	4,20	0,70
Ephéméroptères	3,10	7,60	27,70	4,36	0,60	1,50	30,80	5,75
Coléoptères	0,40	1,32	0,10	-	0,01	-	-	-
Hétéroptères	6,40	0,53	0,20	-	19,20	0,96	0,20	-
Chironomes	19,70	4,35	52,20	0,73	5,80	0,74	34,40	0,60
Autres	0,20	-	8,00	0,11	31,40	4,05	27,80	0,40
Poissons	0,54	79,20	2,00	86,00	1,00	90,40	2,30	92,90

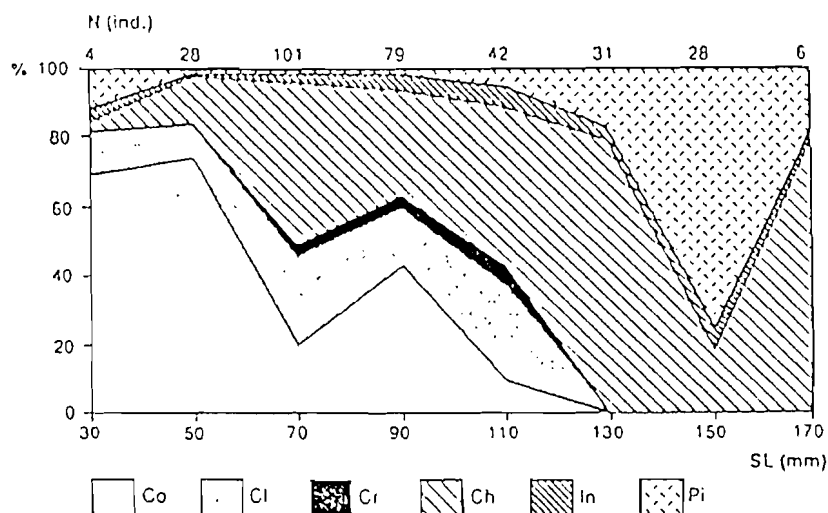


Figure 1.5. Composition du régime alimentaire de *Perca fluviatilis* en fonction de sa taille; N = nombre d'individus, SL = longueur standard, Co = Copépodes, Cl = Cladocères, Cr = autres crustacés, Ch = Chironomidae, In = autres insectes; Pi = Pisces (Guti, 1993).

### 1.1.7. Croissance

Elle est fonction de son habitat et des compétitions intraspécifiques et interspécifiques en présence (Chapaz *et al.*, 1989; Guti, 1993). Une relation entre le poids (P) et la longueur à la fourche (Lf) de type :

$$P = 108.10^{-4} Lf^{3.102}$$

avec un coefficient de corrélation  $r = 0,99$  a été établie par Chappaz *et al.* (1989) sur un échantillon de 180 individus pêchés dans le lac Sainte-Croix sur le Verdon. Ce lac est caractérisé par une abondante population de gardons et d'ablettes très friands du zooplancton comme les perches. Ces auteurs ont observé une faible croissance des perches qu'ils ont attribué à la compétition avec les gardons et les ablettes pour le zooplancton. Guti (1993) a fait des observations similaires sur la croissance des individus de la même espèce dans la rivière Danube. Selon ce dernier, la faible croissance des perches serait due à la forte densité des cyprins planctivores et au temps de refuge très court des groupes d'âges élevés en basse eau. Cet auteur a aussi noté un dimorphisme sexuel assez marqué au niveau de la croissance de cette espèce, les femelles se développant beau-

coup plus vite que les mâles. Il a en plus observé que leur croissance était plus faible dans les biotopes lenticques où elles étaient plus abondantes.

Bein et Ribí (1994) ont aussi observé à l'issue d'une expérience de tests de résistance des larves de perche *Perca fluviatilis* à différentes concentrations de sel que la croissance était nettement meilleure dans les lots de faible densité où l'effet du sel n'était pas significatif. Cet effet négatif de la densité sur la croissance est confirmé récemment par Mélard *et al.* (1996). Par contre, Fiogbé *et al.* (1994) ont noté en élevage extensif dans un étang fertilisé à développement abondant de zooplancton, une croissance quasi-exponentielle des larves de cette espèce (Poids (mg) =  $2,21 \cdot 10^{0,045 \text{ temps (jours)}}$ ). Fiogbé *et al.* (1995) ont fait ces mêmes observations en élevage intensif (SGR = 20 % jour<sup>-1</sup>) des larves de perche nourries en excès avec des rotifères et *Artemia*. Une croissance non négligeable a été également rapportée par Mélard *et al.* (1995) en élevage intensif des alevins de 48 g dans des étangs bâches (0,91 g ind<sup>-1</sup> J<sup>-1</sup>).

### 1.1.8. Dynamique de population

Comme tous les ovipares, les œufs de la perche aussitôt pondus et les progénitures qui en découlent, voire les géniteurs eux-mêmes, sont sujets à la mortalité dont le taux varie d'un stade à un autre de la vie du poisson. Cette mortalité qui intègre tous les termes de disparition de poisson apparaît comme une fonction de temps annuel. Le terme de mortalité instantanée est souvent utilisé quand le nombre  $N_{(t+1)}$  de la population au temps (t+1) est dépendant du nombre de la population au temps t. Ainsi :

$$N_{(t+1)} = N_t e^{-Z} \text{ et } Z = F + M.$$

Où Z peut représenter 2 composantes : la mortalité naturelle (M) et la mortalité par pêche (F).

Dans une population exploitée, la mortalité liée à la pêche représente une part très importante de la mortalité totale.

Plusieurs modèles basés sur divers paramètres ont été utilisés pour décrire la dynamique et la structure de population de la perche dans le temps et dans l'espace. Nous présenterons entre autres, quelques uns basés sur les paramètres comportementaux et environnementaux qui ont une implication directe en pisciculture.

- Le modèle intégrateur de "prédateur - proie" (Forney, 1977)

Ce modèle a été utilisé par Forney (1977) pour décrire la variation de la population de perchaude dans le lac Oneida de New York State aux USA en fonction de la population de walleye en présence. Ainsi, le nombre de perchaude au jour t est représenté par :

$$P_t = P_0 - \sum_{i=1}^t 0,000186 (9,5) B_i$$

Où  $P_0$  est la densité initiale de perchaude par ha,  $B_t$  la biomasse de walleye (entant que prédateur) en Kg par ha et 9,5 est la mortalité de perchaude par jour.

- Le modèle de (Menshutkin et Zhakov, 1964)

C'est un modèle intégrateur du cannibalisme utilisé par Thorpe (1977) pour étudier la dynamique de population de la perche fluviale dans le lac Tyulen en URSS. Il définit le nombre de perche d'âge  $t$   $N_t$  survivante l'année suivante  $t+1$  par :

$$N_{t+1} = N_t (1-\mu t) (1-nt) (1-vt)$$

Où  $\mu t$ ,  $nt$  et  $vt$  sont des probabilités de mortalités dues au cannibalisme, au jeûne et causes naturelles respectivement.

- Le modèle de Kipling (1984)

La structure de population de la perche fluviale du lac Windermere (le plus grand lac de l'Angleterre) a été étudiée à l'aide de ce modèle. Ainsi, le recrutement ( $R$ ) de la perche fluviale de 2 ans d'âge a été illustré en fonction de la température ( $T$ ), de la biomasse des perches adultes ( $P$ ) et de l'intensité des classes d'âge ( $Y$ ) du brochet *Exos lucius* par :

$$\ln(R) = C_0 + C_1(T) + C_2(P) + C_3 \ln(Y)$$

Où  $T$  est la température mesurée en degré jour au delà de 14 °C. Trois températures ont été sélectionnées pour l'étude : 150, 350 et 500 degré jours.

- Le modèle intégrateur de la compétition (Crowder et al., 1981)

Le modèle est basé sur le principe selon lequel les larges populations de perche ont une faible croissance et que toute réduction du nombre d'individus composant la population se traduit par une amélioration de la croissance. Il s'agit ici de la compétition à la fois interspécifique et intraspécifique, et donc beaucoup plus compliquée à mesurer que la prédation. Ce modèle est représenté par le modèle :

$$C_{xy} = \sum_{i \min} (P_{xi} \cdot P_{yi})$$

Où  $C_{xy}$  est le facteur de similarité proportionnelle utilisé pour comparer l'utilisation d'aliments et d'habitats par la perche et autre espèce présente dans le milieu,  $P_{xi}$  et  $P_{yi}$  sont les proportions relatives de la ressource  $i$  et de la ressource  $y$  utilisées respectivement par l'espèce  $x$  et l'espèce  $y$ . Ce modèle a été testé avec efficacité dans la zone littorale du lac Memphremagog au Québec par (Crowder et al., 1981).

Il existe d'autres modèles plus compliqués qui intègrent plusieurs variables à la fois. Par exemple, la dynamique des captures et celle de la population de perches examinées dans dix lacs suisses (inclus le lac Constance) sont caractérisées par de fortes fluctuations qui les rendent compliquées et imprédictibles. Tyutyunov *et al.* (1993) ont rapporté à cet

effet qu'il est presque impossible d'étudier la dynamique de la population de perche dans le milieu naturel. La seule façon d'aborder cette étude avec fiabilité chez la perche selon ces auteurs est de la baser sur des modèles mathématiques appliquées à des populations expérimentales réelles, suivies par un système vidéo-informatisé. Ils ont proposé un modèle qui intègre le rôle des mécanismes compensatoires (cannibalisme, les croisances liées à la densité, la prédation dépendante de la taille, les compétitions intra-cohortiques pour les ressources critiques), les fécondités élevées, les grandes variations du taux de mortalité, les interactions entre les conditions environnementales et les récoltes (notamment la température). Leur modèle se représente par l'équation :

$$\bullet N_{(t+\Delta t)} = aNE \exp\{-b \sum_{t_i}^{t+\Delta t} N(t_i)\} \text{ où :}$$

$N_{(t+\Delta t)}$  est le nombre d'individus au temps  $(t+\Delta t)$

$N_{(t_i)}$  est le nombre d'individus au temps  $t_i$

$a$  est le coefficient de survie,

$b$  est le paramètre exprimant la compétition et le cannibalisme,

$NE$  est le nombre total d'oeufs pondus dans l'année.

Dans la retenue de Sainte-Croix (lac oligotrophe monomictique chaud) sur le Verdon en France, Chappaz *et al.* (1989) ont observé que la dynamique de population de la perche est sous la dépendance de la température et de la densité de la population, de l'abondance du zooplancton et des invertébrés, du statut trophique de la retenue et de la concurrence avec d'autres espèces et notamment le gardon. Dans cette dernière situation, le modèle de Tyutyunov *et al.* (1993) pourrait s'avérer efficace.

## 1.2. Etat actuel de la pisciculture de la perche

Contrairement à la carpe commune, la truite, le saumon, l'esturgeon, le poisson chat, le bar etc., la perche fluviatile ne fait pas encore l'objet d'exploitations piscicoles rationnelles, aux résultats régulièrement prédictifs et assurés. Le souci de sa domestication à grande échelle ne date que des années 1990 à la suite des résultats prometteurs obtenus pour des essais d'élevage intensif de la perche américaine (Kayes, 1977; Heidinger et Kayes, 1986; Malison *et al.*, 1986; Malison et Held., 1992), espèce longtemps considérée identique à la perche de l'Eurasie (Craig, 1987). En conséquence, nous ne présenterons ici que l'état d'avancement des recherches expérimentales sur l'étude des possibilités d'élevage intensif de la perche fluviatile, espèce dont les caractères demeurent actuellement plus sauvages que domestiques. Par souci de clarté, nous présenterons ce chapitre en deux volets principaux : la reproduction de la perche et son grossissement en milieu artificiel avec les structures et l'équipement mis en

oeuvre. Les résultats obtenus seront régulièrement comparés avec ceux de la perchaude.

### 1.2.1. Reproduction artificielle

Mis à part quelques essais de maturation, d'induction de la ponte et de fécondation des oeufs en conditions contrôlées, la reproduction de la perche *Perca fluviatilis* demeure en grande partie dépendante du milieu naturel. La plupart des travaux de reproduction portent sur des chapelets d'oeufs ramassés pendant la période de reproduction (mars à juin) sur les végétaux submergés des plans d'eau naturels, ou sur des géniteurs mûrs pêchés quelques jours avant la période de reproduction.

#### 1.2.1.1. Induction de la ponte et fécondation

##### 1.2.1.1.1. Stabulation des reproducteurs

Dans la plupart des cas de reproduction artificielle réalisée chez la perche, les géniteurs sont pêchés dans le milieu naturel et y retournent à la fin de la période de reproduction (Mélard et Philippart, 1984; Goubier et Marchandise, 1990; Vlavourou, 1991). Il est toutefois assez fréquent de voir se reproduire spontanément des poissons d'élevage en grossissement (observation personnelle). Pour éviter de stresser les géniteurs et garantir par cette occasion des taux de fécondation et d'éclosion élevés, il est recommandé de procéder à leur capture assez tôt, 2-3 mois avant la période de ponte et de les stocker dans de bonnes conditions d'alimentation et de qualité d'eau (Livertoux, 1995). En effet, il n'est pas toujours évident de pêcher des femelles prêtes à pondre; et si l'on presse par imprudence l'abdomen d'une femelle non mûre, les oeufs obtenus sont non fécondables et le résultat d'éclosion médiocre. Un volume d'eau de 300 l à 3 m<sup>3</sup> ouvert au milieu naturel, avec une profondeur de 0,5 à 1 m est estimé nécessaire au stockage d'une dizaine de géniteurs (Livertoux, 1995). Une photopériode d'environ 14 heures, une température de 14°C et une densité de stabulation de 3 femelles pour 8 à 9 mâles pour un volume d'eau de 300 litres, une manipulation minimale, une concentration en ions N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> inférieure à 0,5 mg.l<sup>-1</sup> et un pH neutre doivent conduire à la maturité naturelle des ovules (Goubier, 1990).

Dans le cadre du présent travail, des essais similaires de stabulation ont été réalisés dans deux catégories de bassins (deux carrés de 0,5 m<sup>3</sup> avec 0,5 m de profondeur et un circulaire de 2,3 m<sup>3</sup> et une profondeur de 1 m), avec des géniteurs pêchés dans la Meuse en fin février de la saison précédente. La densité de stockage était de une femelle pour deux mâles (rapport des sexes = 1 : 2) et les bassins étaient en circuit ouvert avec une température et une photopériode identiques à celles du milieu naturel (9-

11°C et 8-10 heures), une concentration en oxygène de 10 à 12 mg.l<sup>-1</sup> et un pH de 7 à 7,5. Les premières pontes de très bonne qualité ont été enregistrées chez les géniteurs du grand bassin circulaire. Les reproducteurs des bassins carrés n'ont pondu que quand ils ont été transférés plus tard dans le grand bassin, et les oeufs étaient de qualité inférieure (ruban fragile, faible taux de fécondité, éclosion prématurée). Pendant la première quinzaine de ponte (12-27 avril), la fécondité relative (100 000 - 120 000 ovules.kg<sup>-1</sup> de femelle), était bien comparable à celle citée dans la littérature (Kayes, 1977; Jamet *et al.*, 1990). Elle a baissé par la suite pour n'atteindre que 75 000 ovules.kg<sup>-1</sup> en fin de ponte (15 mai). Cette baisse de la fécondité et de la qualité des oeufs en fin de période de reproduction, observée en 1993, n'était pas seulement liée aux conditions de stockage des géniteurs, car des résultats similaires ont été obtenus les années suivantes (1994 et 1995). Cette baisse de la qualité des oeufs en ponte tardive a été étudié chez le turbot (*Scophthalmus maximus* L.) par Devauchelle *et al.* (1988) et récemment chez le flétan (*Hippoglossus hippoglossus* L.) par Parrish *et al.* (1993) et Evans *et al.* (1996) par le suivi de la composition biochimique des oeufs en fonction du temps. Des résultats de leurs investigations, il était apparu que les concentrations des oeufs en lipides totaux (% de MS) augmentaient du début vers la fin de la période de reproduction. Autrement dit, les oeufs trop murs étaient très riches en lipides avec un taux élevé en phospholipides. C'est probablement la cause de la mauvaise qualité des pontes tardives observées au cours de la présente étude chez la perche *Perca fluviatilis*. En effet, les oeufs tardifs récoltés, formaient une masse colloïdale sans rubans distincts comme en début de saison de reproduction, d'où ruisselait une pellicule de graisse qui couvrait la surface de l'eau du bac dans lequel ils étaient incubés.

Des essais d'asynchronisation ou de décalage de la ponte de cette espèce ont été effectués sans succès significatifs. Dans le cadre de ces travaux de thèse, des géniteurs de perche exposés à photopériode constante se sont soldés par des pontes médiocres et même la mort de quelques individus, probablement dues à un bouleversement physiologique (observation personnelle). A l'Université de Nancy, Tamazouzt *et al.* (1994) ont tenté en vain de décaler la période de reproduction des géniteurs de *Perca fluviatilis* en les soumettant à une température constante de 22-23°C. Leur recherche mérite d'être poursuivie, car ils ont au moins réussi à inhiber la gamétogenèse des femelles et augmenter l'indice gonado-somatique des mâles. Des géniteurs de perchaude exposés à température et photopériode graduellement décroissantes de septembre à octobre, puis croissantes à partir de novembre, ont atteint leur indice gonadosomatique maximum (14 %) en février contre 22 % en avril chez les groupes témoins (Dabrowski *et al.*, 1995). Cette accélération s'est traduite par une faible viabilité des oeufs (36,5±34,3 %) contre 81,7±21,2 % chez les témoins.



### 1.2.1.1.2. Induction de la ponte et fécondation

La plupart des techniques utilisées pour induire la ponte chez *Perca fluviatilis* sont tirées de celles mises au point chez sa cousine américaine (*Perca flavescens*).

Se référant à ses zones de frayères naturelles souvent constituées de végétation et de brindilles (Craig, 1987), nous avons pensé que l'installation de supports similaires dans les bassins de stabulation pourrait stimuler les pontes, mais hélas. Les pontes étaient étalées dans le temps et les chapelets d'oeufs se retrouvaient toujours allongés contre les parois du bassin, sous les branchages ou partagés entre la paroi et les branches. La conclusion était que, non seulement les substrats artificiels ne stimulaient pas les pontes, mais rendaient difficile la récolte des oeufs. Ce même constat a été fait par Vlavanou (1991), qui avait installé dans le bassin de stabulation, des tôles en PVC de forme rectangulaire (70 X 45 cm), reposant sur 2 supports latéraux de 5 cm de hauteur reliés à un flotteur en polystyrène pour faciliter la relève. Suivant son rapport, seulement 50 % des femelles avaient pondu et les oeufs étaient récoltés en dehors des supports. Ces résultats confirment la thèse de Kayes (in Livertoux, 1995) selon laquelle, ce sont les courants d'eau qui entraînent les chapelets d'oeufs vers les supports. Toutefois, les oeufs doivent être récoltés le plus vite possible pour éviter l'étouffement des embryons.

La technique d'induction hormonale de la ponte utilisée avec succès chez la carpe, semble connaître chez la perche un bon succès, mais limité exclusivement à la période de reproduction. Elle n'est applicable que si les femelles sont parfaitement mûres (Goubier, 1990). Son intérêt réside donc essentiellement dans la synchronisation des pontes. Deux injections successives (deux après-midi successifs) de l'extrait de glande pituitaire de la carpe commune à la dose de  $1 \mu\text{g.g}^{-1}$  ou de la gonadotropine chorionique de l'homme à  $0,23 \text{ UI.g}^{-1}$  induisent la ponte au bout de 12 heures après la seconde injection à  $14^\circ\text{C}$  (Kayes, 1977).

L'injection d'hormone "luteinizing hormone-releasing hormone" à *P. flavescens* en une seule dose de  $100\text{-}300 \mu\text{g.kg}^{-1}$ , ou en une faible dose de  $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$  suivie d'une dose plus forte de  $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ , synchronise les pontes au bout de 6 à 8 jours après l'injection à  $15^\circ\text{C}$ , et contrôle l'incubation des oeufs (Dabrowski *et al.*, 1994; 1995). Ce même traitement chez les mâles a entraîné une augmentation de la production de laitance (6 % du poids corporel), avec la possibilité de deux prélèvements (par pression abdominale) par géniteur deux jours après l'injection. Les mâles de *Perca* n'ont généralement pas besoin de traitement, car ils ont suffisamment de laitance pendant la période de reproduction. Ces auteurs ont néanmoins jugé utile de rechercher des techniques de préservation de la laitance et d'augmenter sa production (Ciereszko *et al.*, 1993; Dabrowski *et al.*, 1994). Ainsi, la cryopréservation de la laitance de *Perca flavescens* dans une solution contenant 125 mM de sucrose, 6,5 mM de glutathion réduit, 100 mM de potassium bicarbonate et 8 % du diméthyl sulfoxyde (DMSO) (Ciereszko *et al.*, 1993) semblait assez prometteuse,

bien que son pouvoir fécondant soit significativement plus faible (23,5 %) que celui du sperme frais (53,5 %).

Les deux voies de fécondation artificielle couramment utilisées en aquaculture (méthodes sèche et humide) ont été essayées avec succès chez la perche fluviatile (Mélard et Philippart, 1984; Craig, 1987; Flajshans and Göndör, 1989; Goubier, 1990; Jouan, 1991; Arnal, 1993; Wang et Eckmann, 1994), quoi qu'aucun de ces chercheurs n'ait atteint le taux de fécondation de 95 à 100 % des oeufs que nous avons observés dans nos bassins de stabulation par ponte et fécondation spontanée.

Vu la facilité de reproduction en captivité de cette espèce, avec une fécondité assez élevée (130.000 - 140.000 oeufs.kg<sup>-1</sup>), nous avons préféré concentrer nos efforts sur la qualité des oeufs et des larves à travers une alimentation appropriée plutôt que sur l'induction artificielle de la ponte.

### 1.2.1.2. Incubation des oeufs

Toutes structures d'écloserie pouvant assurer l'étalement des oeufs et faciliter un renouvellement d'eau et d'oxygénation à travers ses mailles, semblent bien appropriées pour l'incubation des oeufs de perche, pourvu que la température de l'eau varie au-dessus de 10°C et que les larves puissent s'y libérer aisément sans la moindre manipulation.

Notre matériel d'incubation dans le cadre de cette étude se résume en claies disposées dans des bacs allongés, clayettes disposées dans des bacs ou aquarium d'expérimentation et cages installées dans des étangs d'alevinage.

Le système d'incubation sur claies a été expérimenté par Terver (1980) et Jouan (1991) sans le même succès que nous. Ces auteurs posent le problème de gangue gélatineuse qui bouche les mailles des claies provoquant un étouffement des oeufs. Leurs difficultés seraient probablement dues à une mauvaise circulation d'eau au travers des rubans. Wang et Eckmann (1994) ont utilisé à une petite échelle avec succès (89,1-91,2 % d'éclosion et 82,5-84,2 % de larves mobiles) des bouteilles de 300 ml (76-125 oeufs par bouteille) aérées à l'aide de pipettes pasteurs, pour des incubations à 16-18 °C. D'autres par contre, ont été déçus par l'usage de bouteilles de Zoug, dans lesquelles le courant ascendant n'était pas suffisamment fort pour empêcher l'entassement des oeufs (Arrignon, 1976). D'autres infrastructures telles que le système d'incubation à double grillage de Jouan (1991) et l'écloserie piscicole intégrée commerciale (Terver, 1980; Livertoux, 1995) ont été utilisées avec succès.

## 1.2.2. Systèmes d'élevage de la perche

Puisqu'il s'agit d'une espèce encore sauvage pour laquelle aucune technique d'élevage n'est encore parfaitement définie, tous les essais étaient encouragés, même ceux de niveaux techniques douteux et ceux réalisés avec des moyens de bord les plus modestes. Le but de ce chapitre n'est certes pas de critiquer les acteurs pionniers de la perche, mais de tirer leçons de nos succès comme de nos échecs pour une amélioration toujours croissante des infrastructures et techniques d'élevage de cette espèce, nouvelle candidate pour la pisciculture intensive. Les différents essais sont classés suivant le type de pisciculture :

- extensive où l'alimentation est exclusivement naturelle et dépendante du milieu de culture,
- semi-intensive quand il y a apport d'aliments exogènes par le pisciculteur en plus de l'alimentation naturelle endogène du milieu,
- et intensive lorsque l'alimentation en quantité et en qualité dépend entièrement du pisciculteur.

### 1.2.2.1. Pisciculture extensive

Mis à part certaines régions piscicoles de France, de Pologne, de Roumanie et de Belgique qui produisent la perche de façon séculaire comme espèce d'accompagnement en étang (Tamazouzt *et al.* 1993), aucune donnée de pisciculture extensive de *Perca fluviatilis* en étang n'est disponible. Nos résultats d'essais de production en étangs fertilisés constituent les seules données de base de cette forme de perche, quoi que réalisés dans des conditions assez modestes.

#### 1.2.2.1.1. Production de juvéniles de la perche en étangs

Des essais successifs ont été effectués en étangs fertilisés à production contrôlée en zooplancton à des densités variables de mise en charge (10.000 à 60.000 oeufs oeillés par are) susceptibles de créer des conditions d'alimentation différentes et d'évaluer leurs impacts sur la croissance des alevins. Les oeufs embryonnés proches de l'éclosion ont été déposés dans des cages flottantes (0,4 m x 0,4 m x 0,4 m) munies de mailles de 1,5 mm permettant le passage aisé des larves tout en retenant les oeufs non éclos et réparties dans chaque étang 10 jours après la première fertilisation. Ce qui a permis de limiter les mortalités importantes qui apparaissent durant les premiers jours qui suivent l'éclosion lorsque les larves sont manipulées.

Différents paramètres abiotiques et biotiques ont été suivis régulièrement d'année en année (3 ans durant) de manière à déterminer précisément les conditions de stockage des larves de perches. Ainsi :

- tous les jours entre 10 heures et 11 heures du matin, la température et l'oxygène dissous ont été mesurés à l'aide d'un oxy-thermomètre (Ysi modèle 58) et le pH avec un pH-mètre (WTW E56), et ont varié respectivement entre 10 et 23°C, 5,8 et 15 mg.l<sup>-1</sup> et 7 et 10,
- les concentrations en ions N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ont été mesurées de façon hebdomadaire par spectrophotométrie (type Spectronic 21 Bausch & Lomb) par la méthode de Golterman et Clymo (1969), avec des variations respectives de 50 à 1375 µg.l<sup>-1</sup> et 12 à 78 µg.l<sup>-1</sup>,
- la concentration en phytoplancton a été mesurée par dosage de la "chlorophylle a" suivant la méthode de Pechar (1987) à partir d'un prélèvement d'1 litre d'eau par étang tous les 3 jours et a montré des variations de 4 à 42 µg de chl a par litre,
- la concentration en zooplancton a été mesurée tous les 3 jours par prélèvement de 20 litres d'eau par étang et filtration à travers des filtres de 63 µm, avec des variations de 0 à 2600 rotifères.l<sup>-1</sup>, 5 à 175 cladocères.l<sup>-1</sup> et 0 à 110 copépodes.l<sup>-1</sup>.

Les étangs ont été vidangés deux mois et demi après le début de chaque expérience, ce qui a permis d'estimer d'année en année la survie dans chaque étang. Ces différentes expériences ont tendance à indiquer qu'il n'est possible de produire en étang qu'un maximum de 1000 à 1500 perches juvéniles (de 0,5 - 1,5 g après 2,5 mois) par are, indépendamment de la densité de mise en charge (Fiogbé *et al.*, 1994). Il est cependant impossible de déterminer à quel moment ont eu lieu les mortalités puisqu'aucun suivi de la densité de larves n'a pu être effectué durant leur phase d'élevage en étang. La survie est toutefois comparable à celle obtenue aux USA avec la perchaude *Perca flavescens* (7,5 %) dans des conditions de bonne gestion de la productivité naturelle (Kayes, 1977). Les productions de perchaude et de walleye (*Stizostedion vitreum*) atteignent en effet 50 000 à 150 000 poissons/ha lorsque ceux-ci sont récoltés à une taille de 35-65 mm. Des essais récents réalisés par des chercheurs du Wisconsin ont montré qu'une récolte précoce de juvéniles de perches (longueur moyenne = 17-20 mm) permettait d'atteindre des survies nettement supérieures avec des productions de 500 000 ind./ha (Malison et Held, 1992).

Les captures régulières de larves mises en charge dans les étangs, nous ont permis de suivre la croissance des poissons au cours de l'élevage. Le taux de croissance spécifique (SGR = 38 % jour<sup>-1</sup>) obtenu la première semaine pour des larves de perche élevées en étang était supérieur à celui obtenu en condition intensive au laboratoire (SGR = 36 % jour<sup>-1</sup>). Durant les 50 premiers jours d'expérience en étang, une relation exponentielle du type  $y = a 10^{bx}$  a pu être utilisée pour modéliser la croissance en poids en fonction du temps (Figure 1.6). Au delà de cette période, la croissance

ralentit pour atteindre un poids de 0.85 g après 75 jours d'élevage. En conditions extensives où la croissance des poissons dépend essentiellement de la productivité naturelle de l'étang, la croissance des perches est relativement homogène (faible écart-type autour de la moyenne) durant la première période mais l'hétérogénéité de croissance augmente en fin d'expérience, au moment où les conditions d'alimentation deviennent limitantes. Les différences de poids entre individus sont toutefois nettement inférieures à celles observées en élevage intensif, mais aucun contrôle du cannibalisme n'a pu être possible dans ces conditions d'élevage. Il est donc probable que les petits individus aient été soumis à une prédation importante, d'autant plus qu'en milieu naturel, le cannibalisme peut représenter jusqu'à 95,4 % du poids d'aliment consommé par la perche (Smith et Reay, 1991). Le cannibalisme est par ailleurs considéré comme un facteur de contrôle de la disparité des tailles au sein d'une même classe d'âge. Les croissances obtenues dans cette expérience après 56 jours (le poids moyen = 0,49 g et la longueur totale = 35,2 mm) sont similaires à celles rapportées par Dabrowski *et al.* (1993) dans le cadre d'une expérience comparable effectuée sur la perchaude (longueur totale = 42 mm) dans des conditions thermiques plus favorables (Ohio, USA). Le taux de croissance spécifique est élevé en début d'expérience ( $23 \% j^{-1}$ ) et est encore  $10 \% j^{-1}$  après 75 jours (Figure 1.7).

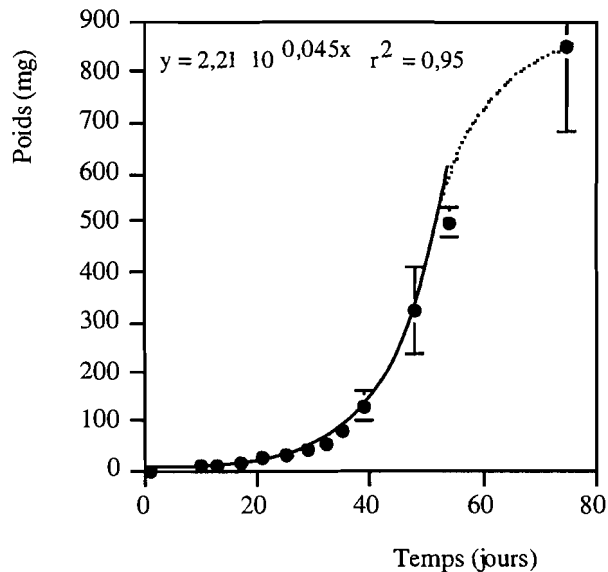


Figure 1.6. Croissance en poids de *Perca fluviatilis* à partir du stade larvaire en étang fertilisé contenant une abondante quantité de zooplancton.

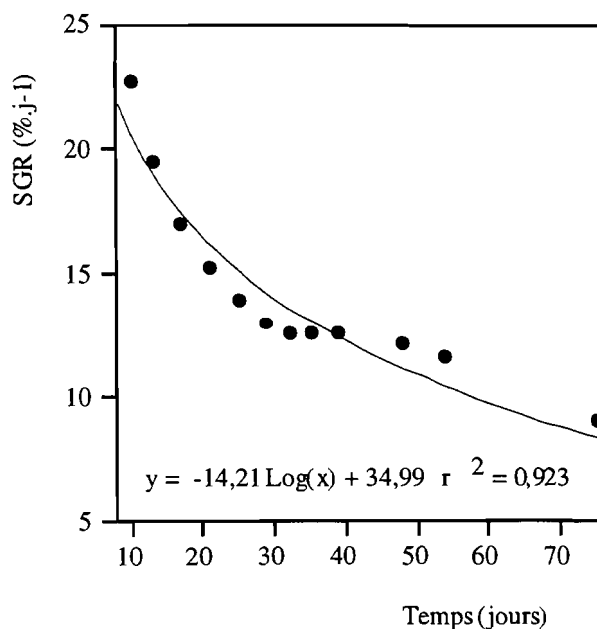


Figure 1.7 Taux de croissance spécifique (SGR) de *Perca fluviatilis* dans un étang fertilisé contenant de zooplancton en abondance.

### 1.2.2.2. Pisciculture semi-intensive

Des essais de production semi-intensive réalisés dans des aquariums (observations personnelles), étangs et bassins bâchés (Mélard et Kestemont, 1994) offrent de réelles perspectives d'avenir de l'élevage de la perche.

#### 1.2.2.2.1. Elevage larvaire en aquariums

Nous appelons ce système d'élevage, semi-intensif parce que, la production initiale de rotifères avant la mise en charge des oeufs œillés est considérée comme un apport d'aliments exogènes aux larves écloses. En plus de cet apport exogène, il y a possibilité d'une prolifération endogène d'autres aliments vivants (algues, ciliés et autres rotifères). Cette expérience a été réalisée au laboratoire dans trois aquariums de 160 litres chacun. Le milieu de culture était essentiellement composé de la culture d'algue microscopique (*Dichthyosphaera chlorelloides*)ensemencée par une culture de rotifères d'eau douce (*Brachionus calyciflorus* P.). Les densités de rotifères à la mise en charge des larves étaient respectivement de 100, 65 et 40 rotifères par millilitre et celles des larves étaient de 30, 25 et 12 poissons par litre. La mise en charge a été réalisée à partir

d'oeufs oeillés, préalablement incubés dans une claie installée dans un bac rectangulaire (2,54 x 0,45 x 0,23 m) en circuit ouvert. Les oeufs étaient déposés sur des claiettes dont les mailles de 1 mm de diamètre libéraient les larves écloses dans le milieu de culture où se développèrent les rotifères. La température de l'eau dans les aquariums variait de 19 à 23,3°C, l'oxygène dissous oscillait entre 6 et 8,9 mg.l<sup>-1</sup>, le pH de 7,6 à 8,2 et la conductivité de 328 à 347 µs.cm<sup>-1</sup>. Malgré une oxygénation inadéquate pour la mise en suspension des cellules algales et un manque de renouvellement d'eau entraînant une baisse rapide de la densité des rotifères dans les aquariums d'élevage, les larves d'un poids initial de 0,9 mg à l'éclosion ont atteint les tailles de 2,5 à 4 mg au bout de 5 jours, soit un taux de croissance spécifique variant entre 19 et 28 %·jour<sup>-1</sup> avec une survie allant de 10,5 à 27,5 %. Cette faible survie était toutefois prévisible compte tenu de la rusticité des conditions d'élevage. Cependant, les résultats préliminaires de croissance obtenus ont montré la haute performance nutritive des rotifères pour les larves de la perche fluviatile. Pendant les trois premiers jours de disponibilité de rotifères dans les aquariums, les larves avaient un poids similaire de 2,5 mg. Au delà de trois jours, seules les larves du premier aquarium qui contenait encore de rotifères en nombre significatif (13 individus.l<sup>-1</sup>) ont augmenté de poids pour atteindre 4 mg le cinquième jour, soit 4 fois leur poids initial. Des résultats similaires étaient obtenus par Awaïss *et al.* (1992) en culture intensive des larves de perche dans de petits aquariums en PVC de 10 litres (2 replicas) nourries avec des rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* P. pendant 7 jours. Ils avaient en effet obtenu un taux de croissance spécifique (SGR) de 19,3 ± 0,6 % jour<sup>-1</sup> avec un taux de survie de 83,5 ± 6,4 % et un indice de conversion alimentaire de 0,8. Les faibles taux de survie enregistrés pour la présente étude comparés à ceux rapportés par Awaïss *et al.* (1992) seraient probablement dus à une augmentation de gaz carbonique dans le milieu d'élevage à cause de la respiration nocturne des algues.

#### 1.2.2.2. Elevage larvaire en bassins bâches

Mélard et Kestemont (1994) et Mélard *et al.* (1995) avaient testé différents modes d'alimentation des larves de perche en bassins bâchés. Ce système est considéré ici comme semi-intensif, car, en dehors de la production endogène de zooplancton induite dans les bassins par une fertilisation organique de départ (une semaine avant la mise en place des œufs), il y a un apport régulier d'aliments exogènes vivants et sec (nauplii d'*Artemia* et aliment Seabream). Les paramètres examinés par ces auteurs furent : la densité de peuplement, les proportions d'aliment vivant (*Artemia*) et sec (Seabream). Les résultats étaient évalués en terme de survie, de croissance, du taux de cannibalisme et du taux d'alevins sevrés.

Les bassins bâches sont de petits bassins rectangulaires en béton, de 10 m<sup>2</sup> sur 45 cm de profondeur, recouverts chacun d'une bâche en PVC. Ils sont préalablement fertilisés (fumier de vache) et maintenus à une température de 20 à 23 °C au moyen d'un échangeur de chaleur avec

l'eau de la centrale. Les larves ont été mises en charge à des densités de 400 à 4000 poissons.m<sup>2</sup> une semaine après la mise sous eau des bassins en vue de permettre un développement optimal du zooplancton. Un renouvellement d'eau est réalisé à partir de la troisième semaine pour éviter une augmentation du taux de nitrites et d'ammoniaque. Le schéma de rationnement présenté à la figure 1.8 montre que la nourriture est constituée au départ, de zooplancton endogène aux bassins et d'un apport exogène de nauplii d'*Artemia*. Ces aliments vivants de base sont remplacés progressivement par de l'aliment sec du commerce. On arrive à un sevrage complet en fin d'élevage.

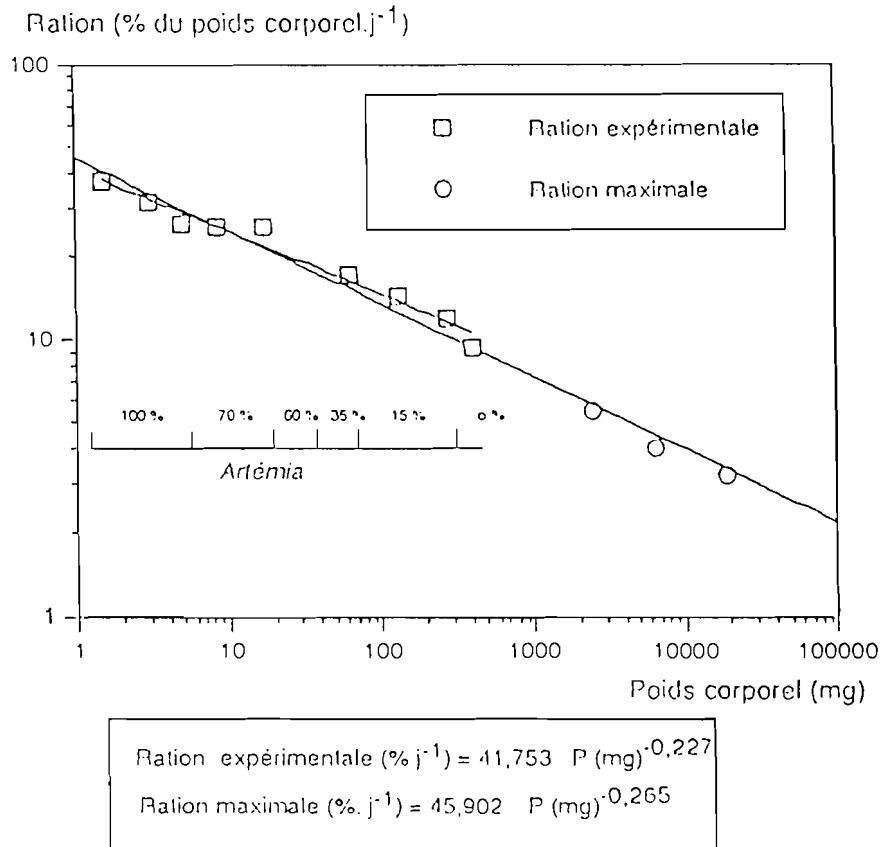


Figure 1.8. Ration alimentaire en fonction du poids et variation des proportions d'*Artemia* et d'aliment sec au cours de l'élevage larvaire en bassins bâchés à 22-23 °C (Mélard et Kestemont, 1994).

L'essentiel des résultats obtenus avec ce système semi-intensif de production d'alevins de perche apparaissent aux figures 1.9, 1.10 et 1.11. La croissance la plus forte (13,2 mg ind<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup>) a été enregistrée dans les



bassins à basse densité (400 poissons par  $m^2$ , Figure 1.9). Les meilleurs taux de survie (33-39 %) après 44 jours d'élevage étaient obtenus dans les bassins de densités élevées (2.000 à 4.000 individus. $m^2$ ). Les auteurs ont attribué cette différence significative de survie et de croissance au cannibalisme qui était plus développé dans les populations à faible densité (Figure 1.11).

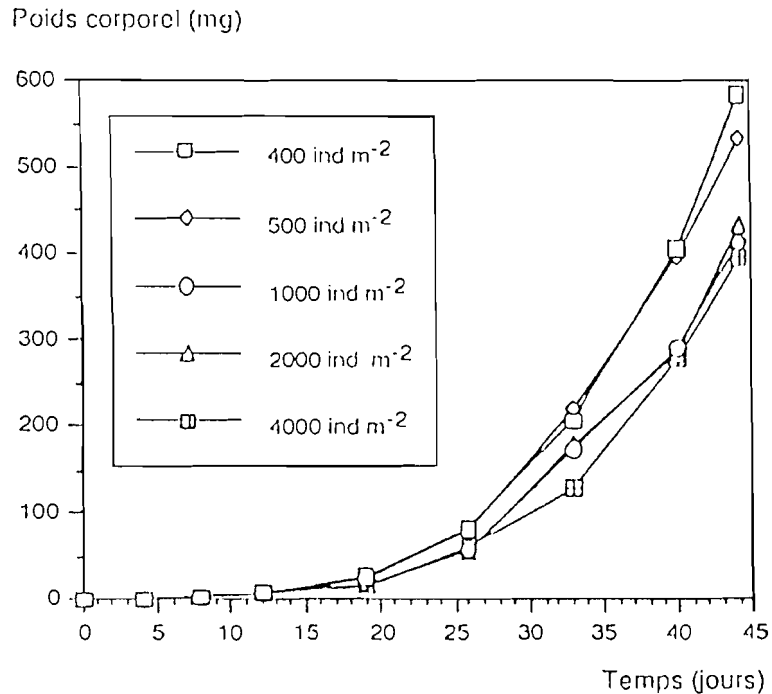


Figure 1.9. Courbes de croissance pondérale des larves de perche *Perca fluviatilis* élevées en bassin de  $10 m^2$  à la température de 22-23 °C (Mélard et Kestemont, 1994).

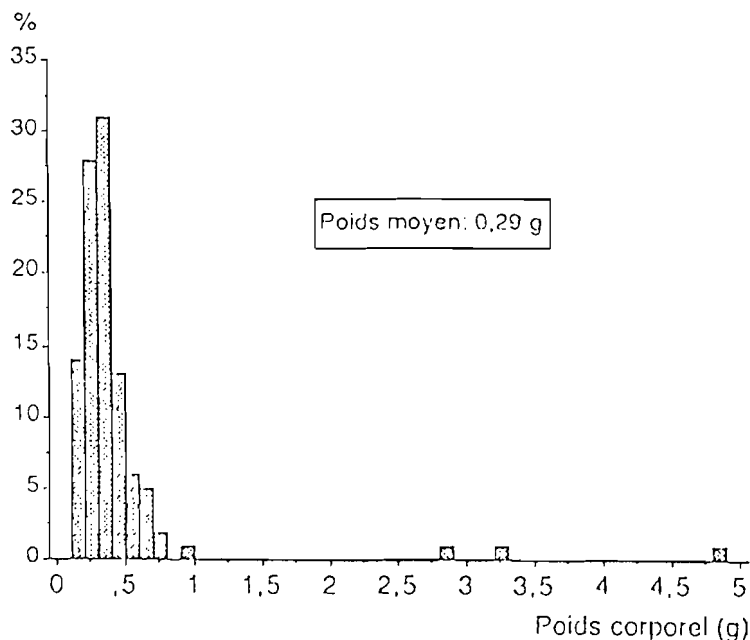


Figure 1.10. Distribution des poids corporels d'alevins de perche *Perca fluviatilis* en fin d'élevage larvaire de 44 jours à 22-23 °C, densité de peuplement initiale = 4000 ind.m<sup>-2</sup> (Mélard et Kestemont, 1994).

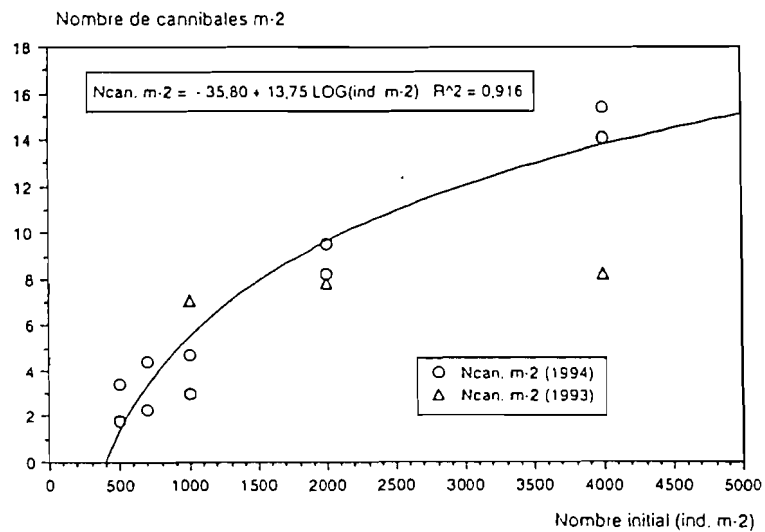


Figure 1.11. Effet de la densité de peuplement sur le nombre de poissons cannibales pendant la phase d'élevage larvaire chez la perche *Perca fluviatilis* (Mélard et Kestemont, 1994).

### 1.2.2.3. Pisciculture intensive

La plupart des essais d'alevinage intensif de la perche menés avec succès portent sur des aliments vivants (Wang et Eckmann, 1994; Fiogbé *et al.*, 1994, 1995; Mélard *et al.*, 1995; Kestemont *et al.*, 1995; Vlavourou *et al.*, 1995). Les seules expériences relatives à un aliment sec de démarrage larvaire sont celles conduites avec déception par Awaiss *et al.* (1992) et Tamazouzt (1995). Des expériences préliminaires de grossissement en bassins et cages avec des granulés ont été effectuées avec des résultats assez probants (Mélard *et al.*, 1994; Kestemont *et al.*, 1995; Tamazouzt, 1995).

Plus de 80 % des larves *et* alevins utilisés dans nos différentes expérimentations ont été produits en intensif dans un système original. En effet, les oeufs aussitôt ramassés dans le bassin de stabulation des géniteurs, sont étalés dans des claies carrées de 40 cm de côté et 10 cm de hauteur et mis en incubation dans des bacs allongés (2,54 x 0,45 x 0,23 m). L'alimentation en eau des bacs est faite en circuit ouvert à partir d'un puits. La température de l'eau dans les bacs était identique à celle du milieu naturel (9 à 12 °C). Lorsque les oeufs arrivent au stade yeux embryonnés, ils sont transférés après acclimatation dans des bacs identiques aux précédents (densité = 60 - 200 larves.litre<sup>-1</sup>), en circuit contrôlé, semi-ouvert, où la température de l'eau est maintenue à 19-20 °C. L'éclosion a généralement lieu un à deux jours après le transfert. A partir du deuxième jour après l'éclosion, les larves sont nourries en continu à l'aide d'une pompe péristaltique, avec une abondante quantité de rotifères (500-1000 rotifères/larves) et/ou de nauplii d'*Artemia* (8 - 16 % de la biomasse des larves par bac). Les rotifères sont apportés pendant les 3-5 premiers jours d'alimentation, en vue de permettre aux larves dont l'ouverture de la bouche est inférieure à la taille des nauplii d'*Artemia* de s'alimenter. Au-delà d'une semaine de vie (7-10 mg), les larves sont nourries quotidiennement avec des nauplii d'*Artemia* pour être sevrées progressivement avec un aliment artificiel (seabream start) à partir de 15 jours d'âge (30-50 mg). La survie obtenue au début du sevrage est généralement de 60-70 % et celle en fin de sevrage est d'environ 10 à 15 %.

Des essais en circuit semi-ouvert à 23°C, de prégrossissement et de grossissement (poids initiaux = 8,7 mg, 0,2, 2,9 et 15 g) ont été effectués sur aliments artificiels avec des résultats de survie (12; 70, 81,3, 90,2 % respectivement), de croissance (SGR = 10,6; 5,4, 1,2 et 0,3 % J<sup>-1</sup>) et d'utilisation d'aliment (4,6; 1,6-2,8, 3,8-4,6, 2,8-6,1) assez prometteurs (Fiogbé *et al.*, 1995; 1996). L'analyse approfondie de ces résultats est réservée aux chapitres 2 et 3.

A Tihange, un système constitué de paniers (0,34 m<sup>2</sup> et 110 l) disposés dans un circuit fermé de 6 m<sup>2</sup>, maintenu à ± 23 °C et équipé de lampe UV, a été expérimenté pour l'alevinage intensif des perches. Trois régimes alimentaires : 100 % *Artemia*, 75 % *Artemia* + 25 % aliment sec et 50 % *Artemia* + 50 % aliment sec, furent testés avec duplication des lots. Selon le rapport de Mélard et Kestemont (1994), les meilleures per-

formances de croissance ( $12,0 \text{ mg ind}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) et de survie (33 %) sont obtenues avec les lots nourris à 100 % *Artemia* (Figure 1.12). Un essai d'intensification de l'élevage de la perche en bassin avec de l'aliment sec a été fait par ces mêmes auteurs, à deux températures différentes (22,9 et 26,5 °C). L'essai s'est déroulé dans des bassins et a porté sur des alevins de 1,9 g de poids initial préalablement sevrés à l'aliment artificiel sec. A l'issue de leur investigation, ils n'ont pas pu montrer qu'il existe une différence significative entre les deux températures d'élevage pour la croissance (Mélard *et al.*, 1995). Cependant, les lots soumis à 26,5°C ont été infectés par des ciliés ectosymbiotiques (*Heteropolaria*) qui ont réduit considérablement leur taux de survie (83,2 % à 26,5 °C contre 91,5 % à 22,9 °C).

D'autres auteurs ont focalisé toutes leurs observations sur l'alevinage intensif des perches avec des aliments vivants (Wang et Eckmann, 1994; Vlavourou *et al.*, 1995). Le mérite de Wang et Eckmann (1994) est d'avoir su préciser les densités de proies vivantes nécessaires au bon développement des larves de perche : 600 rotifères par litre suivi de 400-800 copépodes par litre d'eau à 20 °C (Tableaux 1.5 et 1.6), pour des densités de 6-8 poissons par litre d'eau, sous une photopériode fixée à 2600 lux pendant 13 heures par jour. Ses observations méritent toutefois d'être affinées avec des densités beaucoup plus élevées (par exemple 50 à 100 larves par litre).

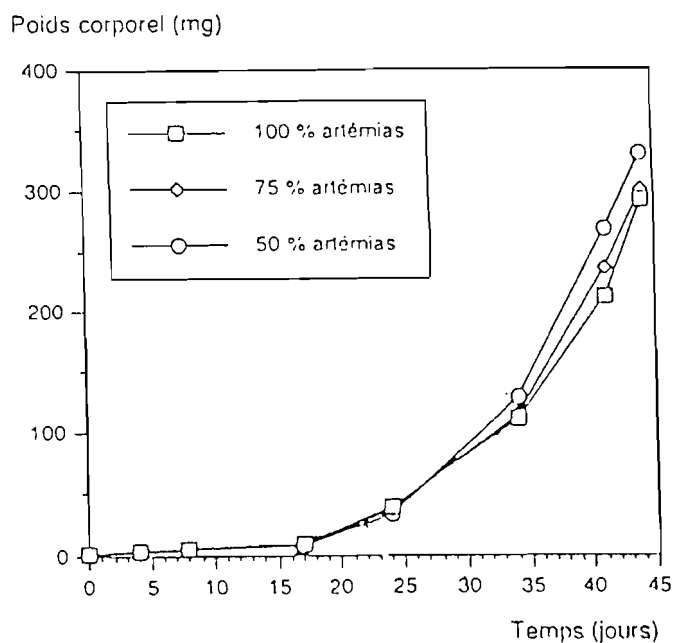


Figure 1.12. Courbe de croissance des larves de perche élevées en panier (Mélard et Kestemont, 1994).

Tableau 1.5. Taux cumulatif de survie et taille des larves de perche après 13 jours d'élevage intensif à différentes températures et densités de rotifères (Wang and Eckmann, 1994)

Densité de rotifères (nombre.l <sup>-1</sup> )	Taux de survie (%)		Longueur totale (mm)	
	15°C	20°C	15°C	20°C
0	0	0	-	-
500	9,3±2,2	8,1±0,2	7,6±0,2	7,4±0,7
3000	15,6±1,7	19,8±0,3	7,6±0,5	7,9±0,8
6000	11,8±11,8	41,7±2,3	7,9±0,7	8,7±0,9
9000	3,1±3,1	14,3±5,7	6,8±0,3	7,6±0,6
12000	0	16,2±5,5	-	7,8±0,7

Tableau 1.6. Croissance des larves de perche à différentes températures et densités de copépodes du 12<sup>e</sup> au 24<sup>e</sup> jour après l'éclosion (Wang et Eckmann, 1994)

Densité de copépodes (nombre.l <sup>-1</sup> )	Longueur totale (mm)		Poids humide (mg)	
	15°C	20°C	15°C	20°C
50	11,4±1,6	11,0±1,1	7,5±4,2	6,9±4,5
100	10,7±1,5	11,5±1,2	5,8±3,4	9,1±4,0
200	11,3±1,8	11,9±1,3	7,5±5,0	9,6±4,7
400	11,6±1,6	13,8±1,8	8,6±4,5	15,8±6,6
600	12,2±1,8	13,4±2,2	10,4±5,8	15,5±8,8
800	12,7±1,9	15,0±2,5	11,9±6,6	22,4±12,8
1000	12,2±1,8	15,1±2,4	10,6±6,0	23,9±11,6

Vlavenou *et al.* (1995) ont mis en évidence le temps effectif d'apport du premier aliment exogène aux larves de perche (2 jours après l'éclosion) et la période de vie où le cannibalisme est manifeste dans les populations de perche (15 jours après éclosion). Il a recommandé, à l'issue de ses investigations, *Artemia salina* "variété petite taille" comme seul aliment de départ, et la prise en compte du cannibalisme dans l'alevinage intensif de perche jusqu'au sevrage total des alevins. Seulement, il se trouve que sa première recommandation souffre d'une précision du moment d'apport de ce premier aliment et d'une analyse économique, car cette variété d'*Artemia* est 2 fois plus coûteuse que la normale et 20 fois plus que la production de rotifères.

Les résultats (Tableau 1.7) obtenus par Awaïss *et al* (1992) à partir d'essai d'alimentations comparées de rotifères, d'aliment sec micronisé et d'un mélange de 50 % rotifères + 50 % d'aliment sec, ont indiqué que le

régime à 100 % rotifères était zootechniquement plus performant et que celui à 100 % aliment sec était nul.

Quant à Tamazouzt (1995), bien qu'il soit déçu par une survie évoluant inévitablement vers zéro (26 % en 2 semaines) et une croissance quasi-stationnaire (2-3 mg de poids final), il a pu déterminer le diamètre de particules alimentaires sèches que la larve de perche est capable d'ingérer (<125 µm) durant les dix premiers jours de vie sous éclairage de 800 lux. Il a été d'ailleurs le premier qui ait essayé d'expérimenter l'élevage intensif des alevins (Pmi = 24,8 g) de perche en cage avec des granulés. Ses résultats préliminaires de survie, de croissance (gain de poids) et de conversion alimentaire à température de 22,5 à 16°C, qui étaient respectivement de 70-78,6 %, 23-24 g et 3-4,1, ont tendance à montrer la possibilité de développer une véritable pisciculture intensive de l'espèce *Perca fluviatilis* en cage.

Tableau 1.7. Performances zootechniques comparées de rotifères, d'aliment sec micronisé (*Nippai shrimp feed*) et 50 % rotifères + 50 % aliment sec micronisé (*Awaïss et al., 1992*)

Régimes alimentaires	Rotifères	Aliment sec micronisé	50 % rotifères + 50 % aliment sec
Taux de survie (%)	83,5±6,4	4,0±0,0	42,5±2,1
Taux de croissance (% j <sup>-1</sup> )	19,3±0,6	1,2±1,1	17,2±1,1
(mg j <sup>-1</sup> )	0,44±0,03	<0,01	0,34±0,05
TC	0,80±0,01	56,9±18,6	1,22±0,05
PER	2,21±0,04	<0,10	1,71±0,07
Durée (jour)	10	7	10

TC : taux de conversion alimentaire; PER : efficacité de rétention de protéine.

Kestemont *et al.* (1995) ont effectué d'autres essais en cages de 2,5 m<sup>3</sup> à proximité du barrage des lacs de l'Eau d'Heure en Belgique. Les données zootechniques de leur premier essai en cage sont synthétisées dans le tableau 1.8 précédé par la figure 1.13 qui montre les variations de la température d'élevage. Cette période d'expérimentation a été divisée en 2 sous-périodes correspondant à des conditions thermiques nettement différentes.

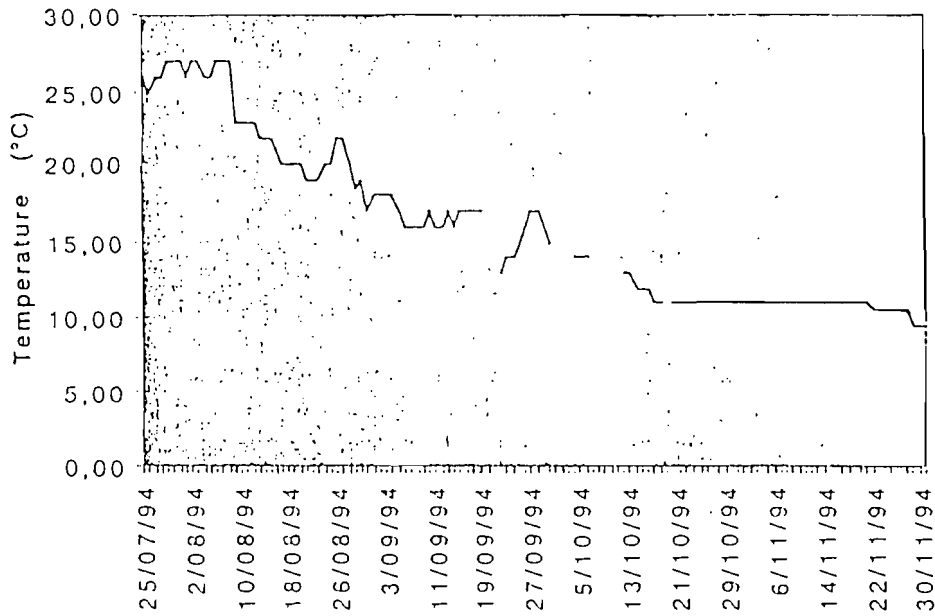


Figure 1.13. Variation de la température de l'eau du lac (Kestemont et al., 1995).

Une période chaude durant laquelle la température a été supérieure à 15°C suivie d'une période froide où elle avoisinait 10°C. La variation de la température représentée à la figure 1.13 et les taux de croissances repris au tableau 1.8 montrent l'effet de la température sur la croissance des perches. Une augmentation de poids a été enregistrée durant le début du mois d'octobre où la température oscillait entre 15 et 10°C), puis la croissance a fortement chuté lorsque la température est égale ou inférieure à 10°C. Durant cette période, la ration alimentaire était probablement excédentaire, ce qui a conduit à des taux de conversion très élevés.

Tableau 1.8. Synthèse des données de survie et croissance dans différents lots d'alevins de perche élevés en cage (Kestemont *et al.*, 1995)

Paramètres	cage 1	cage 2	cage 3	cage 4
Mise en charge	26/7	26/7	26/8	8/9
Biomasse initiale (kg)	14,9	15,5	11,9	14,9
Poids moyen initial <sup>1</sup> (g)	29	27,6	19,3	54,6
Densité (kg.m <sup>-3</sup> )	6	6,2	4,8	6
<b>Contrôle 30/9/94 - durée (j)</b>	<b>6 5</b>	<b>6 5</b>	<b>3 4</b>	<b>2 1</b>
Biomasse finale (kg)	23,9	26,8	13,9	16,9
Production (g.m <sup>-3</sup> .J <sup>-1</sup> )	55,4	74,5	23,5	38,1
Poids moyen final <sup>1</sup> (g)	51,6	47,6	28,8	68
Croissance (g ind <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )	0,35	0,31	0,12	0,64
SGR (% j <sup>-1</sup> )	0,88	0,84	1,18	1,05
Aliment distribué (kg)	15,5	17,6	4,6	4,2
Taux de conversion	1,72	1,55	2,23	2,1
Survie (%)	96,7	96,8	97,4	99,6
<b>Période du 30/9 au 1/12/durée : 61 jours</b>				
Biomasse finale (kg)	24,93	28,5	10,90	18,91
Production (g m <sup>-3</sup> J <sup>-1</sup> )	6,75	11,15	-	13,18
Poids moyen final <sup>1</sup> (g)	58,0	56,9	30,2	74,9
Croissance (g ind <sup>-1</sup> j <sup>-1</sup> )	0,10	0,15	0,02	0,11
SGR (% j <sup>-1</sup> )	0,19	0,29	0,08	0,16
Aliment distribué (kg)	6,3	7,0	3,0	4,6
Taux de conversion	6,1	4,1	-	2,3
Survie (%)	99,6	97,2	78	99,8

1. Calculé sur un échantillon de 50 poissons par cage

#### 1.2.2.4. Parasitisme

La perche semble très sensible au parasitisme en captivité, comme dans son milieu naturel. De nombreux cas d'épidémiologie causée par des variations physico-chimiques de son milieu de vie (notamment la température) ont été rapportés (Craig, 1987; Kestemont *et al.*, 1995; Mélard *et al.*, 1995; Livertoux, 1995). Il est nécessaire de les connaître pour que des dispositions curatives soient mises en route pour les combattre en vue d'éviter des surprises désagréables qui s'annoncent déjà dans les expérimentations. L'essentiel des cas de parasitisme est synthétisé dans le tableau 1.9.



Tableau 1.9. Récapitulation des différents parasites observés chez la perche fluviale

Parasites	Site	Auteur
<b>Zooparasites</b>		
Protozoaires et Myxosporidés		
<i>Ambiphrya</i> sp.	tout le corps	Stoskopf, 1993
<i>Apiozoma</i> sp.	intestin	Kennedy, 1974
<i>Dermocystidium percae</i>	peau	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Eimeria perca</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Glossatella campanulata</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Eimeria rivierei</i>	foie	Markevich, 1963
<i>Ichthyosphthirius multifiliis</i>	peau, nageoires	Bauer, 1962
<i>Ichthyobodo necator</i>	tout l'organisme	Valtonen & Koskivaara, 1994
<i>Myobonus sandrae</i>	tout le corps	Grignard <i>et al.</i> , 1995
<i>Myxobolus carassi</i>	foie, intestin	Markevich, 1963
<i>M. ellipsoides</i>	gencive	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>M. mulleri</i>	gencive	Kennedy, 1974
<i>M. branchialis</i>	gencive	Markevich, 1963
<i>M. dujardini</i>	gencive	Markevich, 1963
<i>Trypanosoma acerinae</i>	sang	Jastrzebski, 1984
<i>T. percae</i>	sang	Margolis & Arthur, 1979
Monogènes et Trematodes		
<i>Ancyrocephalus creplin</i>	gencive	Markevich, 1963
<i>A. perca</i>	gencive	Chubb, 1977
<i>Bolboforus confusus</i>	caeca pylorique	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Clinostomum farionis</i>	intestin	Margolis & Arthur, 1979
<i>Cyrodactylus longiradix</i>	gencive	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Dactylogyrus tenuis</i>	gencive	Margolis & Arthur, 1979
<i>Diplostomulum clavatum</i>	yeux	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>D. volvens</i>	gencive	Deufel, 1961
<i>Hemiurus appendiculatus</i>	tube digestif	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Hysteromorpha triloba</i>	tube digestif	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Neascus brevicaudatus</i>	yeux	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
Monogènes et Trématodes (suite)		
<i>Petasiger folium</i>	vessie urinaire	Margolis & Arthur, 1979
<i>P. cuticola</i>	vessie urinaire	Margolis & Arthur, 1979
<i>Sphaerostoma bramae</i>	intestin	Hoffman, 1967
<i>Tetracotyle percafluviatilis</i>	vessie natatoire	Markevich, 1963

Parasites	Site	Auteur
<i>Tylodelphys clavata</i>	gencive	Margolis & Arthur, 1979
Cestodes		
<i>Bothriocephalus</i> sp.	caeca pylorique	Kennedy, 1974
	intestin	Margolis & Arthur, 1979
<i>Cyathocephalus truncatus</i>	caeca pylorique	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
	intestin	Margolis & Arthur, 1979
<i>Diphyllobothrium latum</i>	cavité corporelle	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
	viscère, muscle, sang	Margolis & Arthur, 1979
<i>Eubothrium crassum</i>	tube digestif	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Proteocephalus cernuae</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Proteocephalus dubius</i>	intestin	Markevich, 1963
<i>Proteocephalus percae</i>	intestin	Markevich, 1963
Nematodes		
<i>Capillaria salvelina</i>	intestin	Kennedy, 1974
<i>Contracaecum aduncum</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Contracaecum squalii</i>	cavité corporelle	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Contracaecum truttae</i>	intestin	Kennedy, 1974
<i>Desmidocercella numidica</i>	intestin	Chubb, 1980
<i>Eustrongylides excisus</i>	intestin	Chubb, 1980
<i>Eustrongylides mergorum</i>	intestin, viscère	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
	ovaire	Chubb, 1980
<i>Gnathostoma</i> sp.	ovaire	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Ichthyobronema conoura</i>	intestin	Markevich, 1963
<i>Ichthyobronema gnedini</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Ichthyobronema tenuissima</i>	estomac	Markevich, 1963
<i>Porrocaecum reticulatum</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Raphidascaris acus</i>	intestin	Chubb, 1980
<i>Raphidascaris cristata</i>	intestin	Kennedy, 1974
Acanthocephala		
<i>Acanthcephalus anguillae</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Acanthcephalus clavula</i>	intestin	Kennedy, 1974
<i>Acanthcephalus lucii</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Corynosoma semerme</i>	cavité corporelle	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Corynosoma strumosum</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Echinorhynchus</i> sp.	intestin	Kennedy, 1974
<i>Metechinorhynchus salmonis</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964

Parasites	Site	Auteur
<i>Neochinrhynchus rutili</i>	intestin	Margolis & Arthur, 1979
<i>Pomphorhynchus laevis</i>	intestin	Kennedy, 1974
<i>Pseudoechinorhynchus clavula</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<b>Hirudinoidea</b>		
<i>Hemicleipsis marginata</i>	intestin	Bykhovskaya <i>et al.</i> , 1964
<i>Piscicola geometra</i>	peau	Markevich, 1963
<b>Mollusque</b>		
<i>Anodonta anatina</i>	peau	Campbell, 1974
<b>Champignons</b>		
<i>Achlya sp.</i>	peau	Bucke <i>et al.</i> , 1979
<i>Aphanomyces sp.</i>	peau	Bucke <i>et al.</i> , 1979
<i>Leptolegnia sp.</i>	peau	Bucke <i>et al.</i> , 1979
<i>Leptomitus sp.</i>	peau	Bucke <i>et al.</i> , 1979
<i>Pythiopsis sp.</i>	peau	Bucke <i>et al.</i> , 1979
<i>Saprolegnia sp.</i>	peau	Bucke <i>et al.</i> , 1979
<b>Bactéries</b>		
<i>Aeromonas sp.</i>	tout l'organisme	Grignard <i>et al.</i> , 1995
<i>Aeromonas veronii</i>	tout l'organisme	Grignard <i>et al.</i> , 1995
<i>Aeromonas hydrophila</i>	tout l'organisme	Grignard <i>et al.</i> , 1995
<i>Streptococcus sp.</i>	tout l'organisme	Grignard <i>et al.</i> , 1995
<i>Heteropolaria sp.</i>	tout l'organisme	Grignard <i>et al.</i> , 1995
<b>Virus</b>		
<i>Vibrio fluviatilis</i>	tout l'organisme	Craig, 1987

### 1.3. Conclusions

Originnaire d'Europe et d'Asie, la perche *Perca fluviatilis* est aujourd'hui assez répandue dans le monde, avec des habitats très variés, allant des eaux douces aux eaux salées (0 à 12‰). Elle appartient à l'ordre des Perciformes, à la famille des Percidés et au genre *Perca*. Le genre *Perca* contient 2 autres espèces *Perca flavescens* et *Perca schrenki* desquelles se distingue *Perca fluviatilis* par la position de l'os prédorsal et celle du ptérigiophore. C'est une espèce à reproduction synchrone. Sa fécondité est assez élevée dans les milieux mésotrophes (130 - 140 oeufs g<sup>-1</sup> de femelle). La perche *Perca fluviatilis* est un prédateur pélagique diurne, parfois crépusculaire.

De tous les systèmes expérimentés pour la production de juvéniles de perche, la production semi-intensive en bassins bâches semble la plus

fiable de par l'examen des paramètres zootechniques. Elle reste cependant dépendante de l'utilisation excessive d'*Artemia salina* dont le prix d'achat des cystes ne cesse de grimper.

La production extensive en étangs fertilisés est très alléchante pour le travail minime qu'elle demande, et serait de loin la plus intéressante, si des efforts techniques peuvent être faits pour améliorer la survie des alevins sevrés en fin d'alevinage.

# **Caractéristiques de la perche au cours de son ontogenèse**

---

# **Caractéristiques de la perche au cours de son ontogenèse**

## 2. Caractéristiques de la perche au cours de son ontogenèse

La production en masse d'alevins sevrés à l'aliment artificiel avec un taux de survie élevé est d'une importance économique capitale dans une entreprise piscicole moderne. A cet effet, la révolution aquacole des deux dernières décennies caractérisée par des recherches concertées en écologie, en biochimie et en histochimie en a accordé une attention particulière. Il ressort de cet héritage de données scientifiques que :

- le canal alimentaire de la larve du poisson est souvent morphologiquement, histologiquement et physiologiquement moins élaboré que celui du juvénile ou de l'adulte (Weatherley, 1972; Dabrowski, 1986; Dabrowski et Bardega, 1984; Govoni *et al.*, 1986; Mitchell *et al.*, 1986; Loewe et Eckmann, 1988; Dabrowski et Culver, 1991; Bengtson, 1993; Segner *et al.*, 1993; Brown, 1995; Bisball et Bengtson, 1995), il varie d'un simple tube chez les larves des Cyprinidés à une différenciation assez avancée chez les Salmonidés;
- la structure morphologique de la larve donne des indications sur la taille des particules alimentaires vivantes ou inertes qu'elle est capable d'ingérer (Weatherley, 1972; Dabrowski et Bardega, 1984; Craig, 1987);
- les habitudes alimentaires de la larve varient avec sa croissance et s'accompagnent de changements morphologiques remarquables du tube digestif (Nikolskii, 1969; Guti, 1993);
- la structure morphologique simplifiée du tube digestif de la larve est en corrélation étroite avec sa faible sécrétion d'enzymes digestives (Dabrowski, 1979; Lauff et Hofer, 1984);
- les difficultés rencontrées dans l'élevage des larves avec des aliments secs seraient dues à leur faible capacité digestive et à l'absence dans les aliments secs d'enzymes (exogènes) et d'activateurs de zymogènes du tube digestif de la larve (Dabrowski et Glogowski, 1977; Lauff et Hofer, 1984; Köck et Hofer, 1989; Dabrowski *et al.*, 1992);
- l'augmentation de protéines ou d'acides aminés dans l'aliment entraîne une augmentation des activités protéolytiques du tube digestif (Kawai et Ikeda, 1972, 1973; Zambonino Infante et Cahu, 1994);
- chez la larve du poisson, le processus de maturation digestive commence durant le développement post-natal comme chez les mammifères (Buddington et Diamond, 1989; Walford et Lam, 1993; Zambonino Infante et Cahu., 1994). Un sevrage (transfert d'aliment vivants à aliment sec) inadéquat le modifie ou l'inhibe (Henning *et al.*, 1994; Cahu et Zambonino Infante, 1994; Zambonino Infante *et al.*, 1996);

- les aliments vivants contiennent des enzymes protéolytiques qui facilitent leur digestion et servent aussi d'activateurs des zymogènes inactifs du tube digestif de la larve (Lauff et Hofer, 1984; Walford et Lam, 1993).

Malgré tous ces efforts, l'élevage des larves de poisson n'apparaît toujours pas assuré. Les installations et l'alimentation de base qu'il exige, restent onéreuses. Les mortalités sont toujours élevées dans les élevages larvaires et toutes les thèses semblent privilégier la cause de la malnutrition (O'Connell, 1976; Hjelmeland *et al.*, 1984; Clemmesen, 1988; Sieg *et al.*, 1989; Ueberschär, 1993; Walford et Lam, 1993). Cependant, aucune étude n'a encore permis d'éviter la mortalité massive qui survient à partir de la deuxième semaine dans les élevages larvaires. Beaucoup de contradictions subsistent encore pour les quelques succès rapportés. Par exemple, Anwand *et al.* (1976) ont rapporté la possibilité d'élever les larves de carpe commune de 3 jours avec de l'aliment artificiel, suivi de Jirasek (1976), Albrecht *et al.* (1977) et de Bryant et Matty (1981) qui ont démontré que le poids effectif de passage des larves de cette espèce à un aliment artificiel sec est respectivement de 30, 20 et 15 mg, alors que Lukowicz (1981) a déconseillé l'usage d'aliment artificiel pour l'élevage de ces larves.

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude où nous nous proposons d'élaborer une méthodologie nutritionnelle pour l'élevage larvaire de la perche *Perca fluviatilis*. Notre démarche passe par deux points principaux :

- une brève synthèse bibliographique sur la problématique de la nutrition larvaire qui sera essentiellement consacrée à la source, la qualité et la quantité de l'aliment endogène (vitellus), et aux capacités morphologiques, physiologiques et digestives des larves face aux aliments exogènes;
- une série d'expériences d'alimentation larvaire pour déterminer :
  - les effets comparés de différents aliments (vivants et inertes) sur le comportement, la survie et la croissance des larves de perche,
  - l'effet de la taille au sevrage sur la survie, la croissance et les activités protéolytiques. Les enzymes protéolytiques et notamment la trypsine, la chymotrypsine et la pepsine sont en effet connues comme de bons indicateurs de l'état nutritionnel des larves de poisson (Hjelmeland *et al.*, 1984; Dabrowski *et al.*, 1992; Walford and Lam, 1993; Zambonino *et al.*, 1996). Cette hypothèse dérive probablement du fait que les protéines sont les nutriments essentiels de la croissance chez l'être vivant. La capacité de la larve de perche à survivre et à croître pourrait donc logiquement être attribuée à sa capacité de digérer les protéines de sa ration alimentaire. Cette dernière considération nous amène à penser que l'examen des activités des enzymes protéolytiques (la trypsine, la chymotrypsine et la



pepsine) pourrait nous aider à préciser l'âge ou la taille effectif de sevrage des larves de perche fluviale à un aliment artificiel.

## 2.1. Recherches bibliographiques

### 2.1.1. Alimentation endogène

Nous allons d'abord chercher à retracer le mécanisme par lequel les nutriments composant l'aliment endogène sont mobilisés, afin d'aider à comprendre leur disponibilité et leur accessibilité à la larve du poisson dans le temps et dans l'espace ou leurs rôles nutritionnels de l'embryogenèse au développement larvaire. Nous n'avons toutefois pas l'ambition de proposer une synthèse exhaustive sur la physiologie et la biochimie du transfert d'énergie dans la reproduction de l'ichtyofaune. Nous voulons seulement indiquer les résultats essentiels de quelques travaux importants.

#### 2.1.1.1. Effort de reproduction

L'effort de reproduction d'une espèce donnée est défini comme étant l'ensemble des investissements de son organisme au profit de sa reproduction. Abordant la question sous une base physiologique, Calow (1979) a mis en évidence qu'il y a une compétition dans le vivant entre son bien être physique et/ou moral et sa reproduction pour les apports limités d'énergie et autres ressources nutritives. Cette théorie fut très tôt révisée par Hirshfield (1980) qui définit l'effort de reproduction comme étant la relation entre l'énergie des oeufs et l'énergie consommée. Cependant, Hirshfield était parti d'une base empirique non fiable où aucune information n'était donnée sur l'aliment utilisé. Ce n'est que plus tard que l'effort de reproduction fût illustré par la relation entre l'énergie dépensée dans les gamètes (Pr) et celle utilisée dans la croissance corporelle (Pg) (Kamler *et al.*, 1982; Khmeleva et Baichorov, 1987; Dabrowski *et al.*, 1987). L'effort de reproduction se trouvait ainsi caractériser par un indice appelé "effort net de reproduction". Cet indice est défini par l'équation :

$$\text{Pr} \times 100 / (\text{Pg} + \text{Pr}) (\%) = \text{Pr} \times 100 / \text{P} (\%)$$

où P = (Pg + Pr), Pr et Pg sont exprimés en joules ou en mg de matière par individu par heure. Bien que cette expression semble négliger toutes les autres formes de dépenses indirectement associées à la reproduction (sécrétion de phéromones sexuels et du mucus, métabolisme associé au processus de maturation et de gravidité, parures nuptiales, migration pour la ponte...), elle reste la seule façon fiable d'illustrer la source de l'aliment endogène de l'embryon et de la larve du poisson. L'effort net de reproduction varie toutefois avec l'espèce (Khmeleva et Golubev, 1987), les

soins parentaux (Balon, 1977), l'âge à la maturation (Garcia et Brana, 1988), la température de l'eau (Streit, 1975), la disponibilité de nourriture (Wootton, 1985) et la stratégie de reproduction (ponte unique, ponte multiple ou ponte continue; Mc Evoy et Mc Evoy, 1992).

Les pondeurs uniques comme la perche, (*Perca fluviatilis*) concentrent leur potentiel de reproduction sur une seule ponte annuelle alors que d'autres répartissent leur effort de reproduction sur plusieurs pontes. Ces derniers poissons sont moins dépendants des conditions environnementales pour leur reproduction.

### 2.1.1.2. Ressources alimentaires et vitellogenèse

La vitellogenèse peut se définir par la mise en réserve de matière organique destinée à la nutrition de l'embryon et souvent, de la jeune larve. Ces réserves nutritives constituent le vitellus et leur accumulation au cours de la dernière phase de l'ovogenèse, avant la méiose, est appelée la vitellogenèse. Les molécules constitutives du vitellus de l'oeuf sont diverses : protéines, acides aminés libres, lipides, glucides et lactate (Mellinger, 1994). Toutefois, Mazabraud *et al.* (1992) considèrent comme vitellus, seules les substances organiques préalablement stockées dans l'ovocyte et effectivement utilisées pour la nutrition du descendant, excluant ainsi celles dont le rôle est purement informatif telles que l'ADN, l'ARN et les protéines associées. Le lactate semble renfermer tous les éléments essentiels à la vie et constitue le premier aliment de l'embryon du poisson (Paynter *et al.*, 1991).

Retenons brièvement que la vitellogenèse se déroule en deux étapes principales : la vitellogenèse endogène ou prévitellogenèse (Shackley et King, 1977; Kestemont, 1989) et la vitellogenèse exogène ou vitellogenèse vraie (Bun NG et Idler, 1983; Heine, 1994).

La vitellogenèse endogène aux ovocytes est caractérisée par des processus d'auto-synthèse de matériel vitellin sous dépendance hormonale (oestrogènes, progestérones). Les gouttelettes lipidiques composées de phospholipides et les vésicules de vitellus de nature mucopolysaccharidique ou glycoprotéique sont les éléments essentiels de la vitellogenèse endogène (Mellinger, 1994). Kestemont (1989) a observé chez le gougeon *Gobio gobio*, deux stades de vitellogenèse endogène : un stade où les ovocytes sont de taille relativement petite et présentant une série d'inclusions glycoprotéiques en couronne disposées sur 2 ou 3 rangées au maximum et un deuxième stade qui présente l'accumulation centripète progressive en nombre significatif de ces inclusions.

La vitellogenèse exogène se caractérise essentiellement par l'induction oestrogénique de la production de vitellogénine (lipoglycophosphoprotéine) par les cellules hépatiques et son incorporation par endocytose dans le vitellus de l'ovocyte en croissance, via la circulation sanguine (Mellinger, 1994). La vitellogénine est d'abord fixée par un

récepteur membranaire spécifique, puis séquestrée dans les vésicules d'endocytose et dans les plaquettes vitellines, globules vitellins ou vacuole vitelline qui en dérivent, où elle subit des clivages enzymatiques (Figure 2.1). Les produits de stockage ou vitellines, résultant de cette transformation enzymatique sont : la lipovitelline riche en lipides, la phosvitine et les phosvettes riches en phosphoryles. En dehors de cette endocytose pilotée par un récepteur spécifique, l'ovocyte incorpore diverses protéines plasmatiques banales telles que les acides aminés libres, les glycogènes et des immunoglobulines d'origine maternelle, auxquelles on attribue une fonction de défense immunitaire non spécifique (Takemura, 1993).

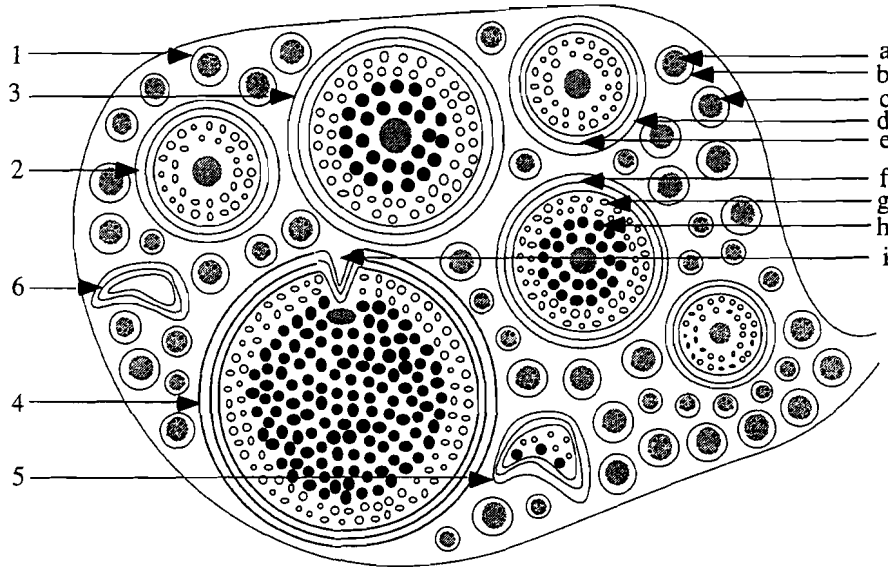


Figure 2.1. Représentation schématique d'un ovaire de poisson téléostéen ovipare. 1 : ovocyte protoplasmique; 2 : ovocyte en vitellogenèse endogène; 3 : ovocyte en vitellogenèse exogène; 4 : ovocyte en maturation finale; 5 : follicule atrétique préovulatoire; 6 : follicule atrétique postovulatoire. a : noyau; b : cytoplasme; c : nucléole; d : thèque; e : granulosa; f : membrane basale; g : vésicule de vitellus; h : globule de vitellus; i : micro-pyle (Rinchar, 1994).

### 2.1.1.3. Qualités nutritionnelles du vitellus

La structure et la taille des oeufs des Téléostéens, de même que la fluidité, l'abondance et la composition du vitellus qu'ils renferment, varient d'une espèce à une autre, et souvent d'un milieu à un autre ou d'une saison à une autre pour une même espèce (Kamler, 1987). Par ailleurs, la taille du vitellus et sa richesse en nutriments diminuent avec le dévelop-

pement de l'embryon pour s'épuiser quelques jours après l'éclosion. Le développement progressif du pré-embryon (fertilisation de l'oeuf) au post-embryon (jeune larve) n'est donc que la transformation progressive du vitellus de l'oeuf en matière vivante (témoin la loi de Lavoisier, 1783). Mellinger (1994) a préféré la notion de lécithotrophie à la viviparité matrotrophe (Wourms, 1988) ou maternotrophe (Mellinger, 1989) pour qualifier cette conversion exogène du vitellus en larve vivante chez les poissons ovipares. Dans ce cas de lécithotrophie où le transfert de substances organiques de la mère à l'embryon n'est pas direct comme celui de la matrotrophie, les conditions d'incubation sont les seuls facteurs de conversion. C'est en cela que l'incubation apparaît comme une forme de soins aux oeufs, propre aux espèces ovipares, qui consiste à les mettre à l'abri des prédateurs et à créer les conditions physico-chimiques nécessaires pour réaliser le transfert miraculeux de l'inerte (vitellus) au vivant (embryon ou jeune larve).

Cette brève esquisse nous impose la nécessité de connaître les caractéristiques physiques et nutritionnelles spécifiques du vitellus des poissons et mettre en relation avec leur composition corporelle et leur capacité d'adaptation à la vie exogène (croissance, survie et comportement au sevrage). Ces relations vitellus-embryon à larves pourraient permettre de comprendre les comportements de la jeune larve de perche à l'éclosion et guider dans le choix de la qualité des proies à lui apporter comme premiers aliments exogènes.

#### 2.1.1.3.1. Caractéristiques nutritionnelles du vitellus

##### 2.1.1.3.1.1. Structure et qualité

Le vitellus du poisson comprend des plaquettes vitellines (ou globe vitellin) et des gouttelettes lipidiques. Les plaquettes vitellines sont généralement de forme ronde ou ovale (Figure 2.2) avec une face aplatie et une longueur variable de 4 à 15  $\mu\text{m}$ . Elles ont une largeur proportionnelle à la taille des oeufs (Grodzinski, 1973), mais varie aussi à l'intérieur du même oeuf en fonction de leur position. Les plaquettes du centre sont plus larges que celles des extrémités ou des périphéries (Hamlett et Wourms, 1984). Chaque plaquette vitelline est composée d'un fourreau extérieur semi-perméable à 2 couches membranaires enveloppant un noyau central (Figure 2.2., Grodzinski, 1973). L'enveloppe externe contient des mucopolysaccharides (Ohno *et al.*, 1964) et le noyau est constitué de lipovitelline et des phosvitines équivalentes à des lipoprotéines et des phosphoprotéines (Jared et Wallace, 1968).

Les gouttelettes lipidiques presque toujours rondes sont situées entre les plaquettes et contiennent principalement des triglycérides. Cependant, chez certains poissons (truite arc en ciel, grogneur rouge), il a été mis en évidence dans les gouttelettes, la présence de protéines, des esters et des pigments de caroténoïdes (Heming, 1988).

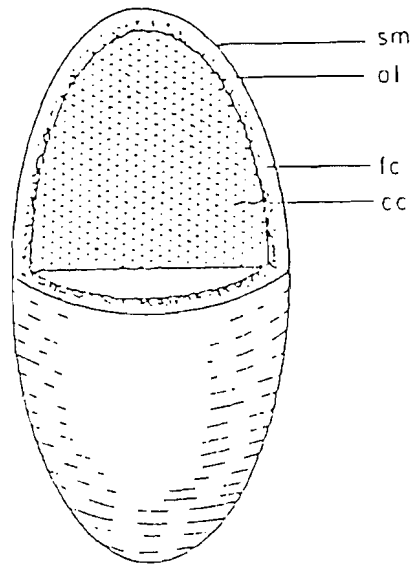


Figure 2.2. Un modèle de plaquette vitelline "sm : membrane superficielle, ol : couche superficielle amorphe, fc : cortex fibreux, cc : noyau cristallin" (Grodzinski, 1973).

#### 2.1.1.3.1.2. Composition quantitative

La composition quantitative du vitellus en nutriments par rapport à celle de l'oeuf entier est illustrée par les résultats du tableau 2.1 obtenus chez le saumon atlantique (Hamor et Garside, 1977).

Tableau 2.1. Distribution des constituants de l'oeuf frais du saumon atlantique (*Salmo salar*)

Constituants	Poids total (mg)	% Poids total		
		Membranes de l'oeuf	Liquide périvitellin	Vitellus
Eau	88,3	5,2	23,3	71,8
Matière sèche	49,7	0,8	16,9	82,1
Protéines	26,0	0,3	22,7	76,9
Lipides	18,0	0,1	7,7	92,2
Glucides	0,5	48,0	46,0	2,0
Cendre	1,4	7,1	7,1	85,7

Hamor et Garside (1977)

Remarquons que les protéines et les lipides sont les nutriments essentiels de l'oeuf et sont presque en totalité contenus dans le vitellus et sa membrane. Les hydrates de carbone apparaissent sous forme de trace et sont surtout localisés dans les membranes de l'oeuf et du vitellus. On ne

commet donc pas d'erreurs significatives en considérant la composition totale de l'oeuf entier en protéines, acides aminés, lipides et acides gras comme celle du vitellus. Synthétisons quelques résultats bibliographiques et d'observations personnelles sur la richesse nutritive de l'oeuf du poisson dans les tableaux 2.2 et 2.3 pour montrer le rôle capital que joue l'oeuf dans la vie primaire du poisson.

Tableau 2.2. Composition en nutriments de l'oeuf de quelques poissons

Espèces	M. S.(%)	Pourcentage de matière sèche				Auteurs
		Protéines	Lipides	Glucides	Cendre	
<i>Cyprinus carpio</i> (carpe)	10,2	58,3- 59,2	5,4- 29,3	1,5- 6,2	6,3	Moroz et Luzhin (1976)
<i>Eleginus navaga</i> (navaga)	22,1	66,4	20,5	-	2,1	Lapin et Matsuk (1979)
<i>Salmo gairdneri</i> (truite arc en ciel)	33,8	59,8- 71,3	11,4	0,6	3,8- 3,9	Satia <i>et al.</i> (1974)
<i>Salmo salar</i> (saumon atlantique)	36	52,2	36,1	1	2,8	Hamor et Garside (1977a)
<i>Sardinops caerulea</i> (sardine du Pacific)	29,3	71,6	13	<1	7	Lasker (1962)
<i>Coregonus albula</i> (coregone)	36,8	52,5	28,4	2,7	5,4	Kamler (1992)
<i>Perca fluviatilis</i> (perche européenne)	22 7,1	41 66,8	16 -	2,4 -	7,7 -	Craig (1977) Fiogbé <i>et al.</i> (1994)
<i>Stizostedion</i> <i>lucioperca</i> (sandre)	29,4	54,7	29,9			Kamler (1992)

Les grandes variations intraspécifiques observées dans ce tableau pour les compositions en nutriments des oeufs (le taux de glucides pour carpe et les taux de matière sèche et/ou de protéines pour la truite et la perche) seraient probablement dues aux conditions biotiques du milieu ou à l'étape d'évolution des oeufs en éclosion pendant l'échantillonnage. En général, les oeufs incubés absorbent rapidement d'eau et deviennent plus gros. La composition nutritive de l'oeuf varie aussi d'une espèce à une autre. Selon certains auteurs, ces variations de la qualité des oeufs sont fonction de l'âge, du poids, de l'alimentation ou de l'état physiologique des géniteurs (Kamler, 1976; Dehasque *et al.*, 1995; Delbare *et al.*, 1995).

Tableau 2.3. Composition en acides aminés essentiels de l'oeuf comparée à celle de la larve ou du juvénile chez quatre poissons téléostéens

Acides aminés	<i>Ictalurus punctatus</i>		<i>Salmo salar</i>		<i>Dentex dentex</i>		<i>Perca fluviatilis</i>	
	Oeuf	30 g	Oeuf	Larve	Oeuf	Larve	Oeuf	Larve
Arg	5,47	6,67	7,7	4,8	7,2	6,6	6,9	7,1
His	2,29	2,17	2,2	2,5	2,6	1,9	2,6	2,9
Ile	5,24	4,29	6,0	5,3	4,9	5,6	5,8	5,2
Leu	9,95	7,40	9,3	8,8	8,1	8,1	7,2	7,8
Lys	7,83	8,51	7,5	7,7	8,3	6,7	5,7	8,6
Met + Cys	3,51	3,78	3,5	3,0	2,7	1,3	3,8	3,0
Phe + Tyr	7,94	7,42	6,8	6,7	4,9	4,1	8,7	8,3
Thr	6,10	4,41	5,5	5,2	5,0	5,6	5,3	5,5
Trp	-	0,78	0,8	0,3	-	-	-	-
Val	6,07	5,15	8,3	7,1	5,6	6,3	5,8	5,8
Références	Wilson &Poe (1985)		Srivastava <i>et al.</i> (1995)		Tulli & Tibaldi (1995)		Observation personnelle	

On peut remarquer sur le tableau 2.3 que la composition en acides aminés essentiels de l'oeuf est numériquement similaire ou supérieure à celle de la larve ou du juvénile, à l'exception de l'arginine chez le poisson chat et la lysine chez la perche.

#### 2.1.1.3.2. Mécanismes d'absorption du vitellus

Chez les poissons élasmobranches et les téléostéens, l'absorption du vitellus est assurée par un tissu spécialisé appelé le syncytium du vitellus. A l'origine, le syncytium apparaît dans l'oeuf fertilisé comme un périlablaste au stade unicellulaire (Yamamoto, 1982). Il a évolué par la suite avec la formation et la différenciation du sac vitellin résultant du clivage méroblastique. A la suite du clivage, il y a d'abord apparition des nucléotides libres dans le périlablaste disposés en forme d'assise cellulaire. C'est cette assise de nucléotides qui va se transformer en un vrai syncytium. Dans les oeufs de poissons téléostéens, le syncytium forme avec les autres assises de cellules endodermiques et ectodermiques une enveloppe autour du vitellus : cet ensemble est communément appelé le sac du vitellus (Figure 2.3). Un système de vaisseaux sanguins se développe dans le sac vitellin pour assurer la circulation du vitellus. Dans certains cas, la paroi endothéliale des vaisseaux capillaires est incomplète et le sang embryogénique reste en contact direct avec le syncytium (Shimizu et Yamada, 1980). L'absorption du vitellus se caractérise par l'endocytose du syncytium suivi par la digestion intrasyncytiale, la synthèse progressive des tissus de l'embryon et l'évacuation des métabolites dans la circulation

vitelline. Lorsque les réserves vitellines sont épuisées, le syncytium est aussitôt résorbé (Yamamoto, 1982).

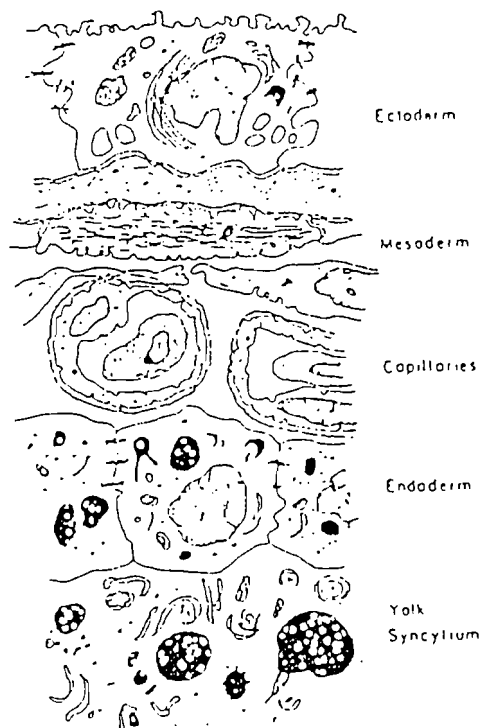


Figure 2.3. Une illustration de l'organisation cellulaire dans une préimplantation du sac vitellin chez le requin. Elle a une structure identique à celle des téléostéens mise à part l'absence de l'endoderme chez ces derniers (Hamlett et Wourms, 1984).

On distingue deux régions principales (Figure 2.3) dans l'ultrastructure du syncytium (Shimizou et Yamada, 1980; Hamlett et Wourms, 1984). Il y a une région composée du réticulum endoplasmique lisse, de quelques mitochondries et de granules de glycogène, qui est responsable du métabolisme des hydrates de carbone et/ou des lipides. Cette région est répartie dans l'ensemble du syncytium. La seconde région constituée par le réticulum endoplasmique rugueux et les complexes de Golgi forme une structure stratifiée dans des portions du syncytium. Cette deuxième partie est responsable de la synthèse et du transport des substances protéiques (Heming, 1988). Amirante (1972) a suggéré que les protéines du vitellus sont solubilisées sous l'action du calcium et de la phosphoprotéine phosphatase. D'autres ont pensé que les complexes syn-



cytiaux de Golgi seraient probablement la source d'approvisionnement en hydrolases qui dégradent les plaquettes vitellines (Hamlett *et al.*, 1987). Il a été également rapporté qu'en plus de l'assise syncytiale, le vitellus même renferme des enzymes qui décomposent ses constituants en nutriments (Hamor et Garside, 1973).

#### 2.1.1.3.3. Vitesse d'absorption du vitellus

Le taux d'absorption du vitellus est défini comme étant la vitesse de diminution de ses constituants par unité de temps. Il peut être déterminé en suivant les variations de l'énergie, du poids sec, du poids humide, du volume ou de la surface du vitellus. Chacune de ces méthodes a ses limites de validité dépendante des contraintes et de la fiabilité des mesures effectuées. Les mesures de volume et de surface du vitellus sont généralement faites dans des espaces à seulement deux dimensions, induisant ainsi des erreurs non détectables (Heming, 1988). Ces techniques nécessitent la vision nette du vitellus, ce qui n'est pas toujours possible. Elles doivent aussi prendre en compte l'influence des facteurs environnementaux (par exemple la salinité; Alderdice *et al.*, 1979) sur le volume, la surface et le poids du vitellus et les conditions de préservation des échantillons (Heming et Preston, 1981). Ce sont là quelques contraintes qui limitent le champ d'application de ces deux méthodes.

L'approche énergétique basée sur la mesure en continu de la quantité totale de calories du vitellus semble la plus fiable, même si elle est très laborieuse à cause de la fréquence élevée des observations et mesures qu'elle impose (Kamler, 1992).

Somme toute, le taux d'absorption du vitellus varie énormément dans le temps durant l'embryogenèse et est assez influencé par les caractéristiques physiques et chimiques de l'oeuf et du milieu (Blaxter et Hempel, 1963; Rombough, 1985; Heming, 1988; Delbare *et al.*, 1995). La variation du poids sec du vitellus au cours du temps est illustrée par la figure 2.4. On observe sur cette figure trois phases d'absorption du vitellus correspondant respectivement à :

- La phase d'embryogenèse où le taux d'absorption est faible mais efficace, les plaquettes et les gouttelettes vitellines sont consommées au même rythme.
- La phase post-éclosion pendant laquelle le taux d'absorption croît rapidement, probablement en réponse à une augmentation du métabolisme du syncytium vitellin et de sa surface d'absorption due à la nouvelle forme prise par le sac vitellin à la sortie de l'oeuf. Cette phase marque le début de l'absorption larvaire. Pendant cette phase, les plaquettes vitellines sont préférentiellement utilisées (Quantz, 1985).
- La phase terminale marque la fin de l'absorption vitelline qu'on pourrait attribuer à une tendance à l'épuisement des plaquettes vitellines qui

deviennent un facteur limitant pour l'absorption des autres gouttelettes vitellines.

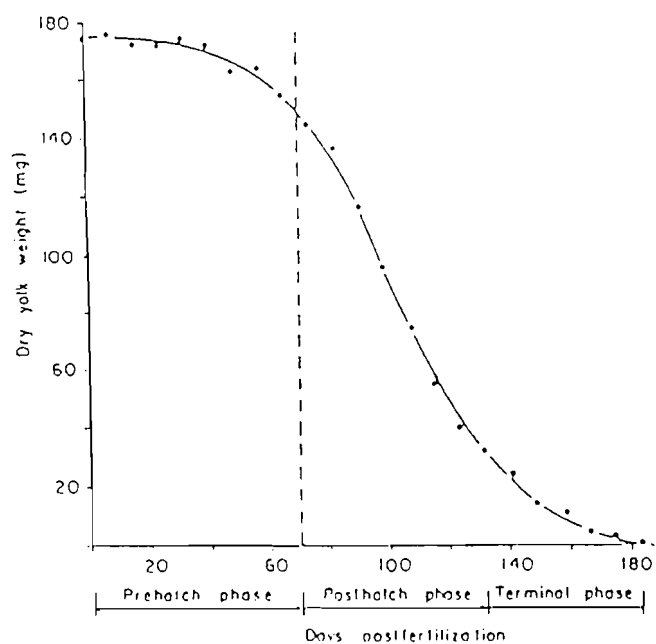


Figure 2.4. Variations du poids sec du vitellus chez les poissons téléostéens. Model basé sur des observations faites chez le saumon *Oncorhynchus tshawytscha* (Heming, 1988).

La figure 2.5 et le tableau 2.4 expriment les relations entre la vitesse relative d'absorption du vitellus et le poids ou le volume initial de l'oeuf ou de son vitellus. De l'observation de cette figure, il ressort clairement que la vitesse d'absorption du vitellus est une fonction linéaire du poids ou du volume relatif de l'oeuf entier quelque soit l'espèce. On peut constater globalement que l'absorption augmente avec la taille de l'oeuf, probablement à cause d'une surface absorbante proportionnellement plus large.

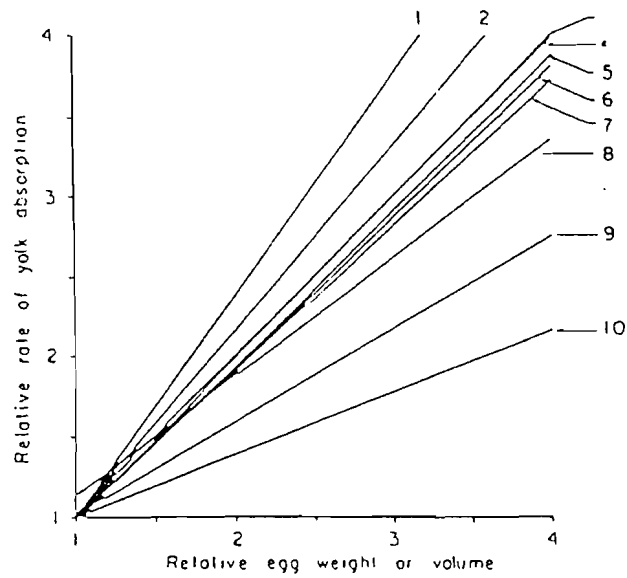


Figure 2.5. Relation entre la vitesse d'absorption et la taille initiale de l'oeuf du poisson : (1) *Onchorhynchus keta*; (2) *O. keta*; (3) *O. kisutch*; (4) *Salvelinus alpinus*; (5) *O. gorbuscha*; (6) *Salmo salar L.*; (7) *O. mykiss G.*; (8) *O. tshawytscha*; (9) *Gadus morrhua L.* (D'après Heming, 1988).

La vitesse d'absorption du vitellus est positivement corrélée à la température du milieu chez l'*O. tshawytscha* et *O. mykiss* (Tableau 2.4).

Tableau 2.4. Effet de la taille de l'oeuf et de la température sur la vitesse moyenne d'absorption de l'énergie du vitellus, de la fertilisation à l'éclosion (F-E) et de l'éclosion à la résorption complète du vitellus (E-R) (Kamler, 1992).

Espèces	Energie initiale du vitellus (J.individu <sup>-1</sup> )	Température (°C)	Taux d'absorption (%jour <sup>-1</sup> )	
			(F-E)	(E-R)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	276	12	0,8	18,7
	280	12	0,8	18,7
	674	12	0,8	13,0
	871	12	0,4	8,0
<i>O. mykiss</i>	674	9	0,3	-
	674	10	0,6	7,2
	674	12	0,8	13,0
	674	14	1,2	15,5
<i>O. tshawytscha</i>	4784	6	0,2	4,7
	4784	8	0,3	5,9
	4784	10	0,5	6,4
	4784	12	0,4	7,6

Source: Kamler (1992)

#### 2.1.1.3.4. Efficience d'utilisation du vitellus

L'efficience d'utilisation du vitellus peut être définie comme étant le gain de poids sec ou d'énergie de l'embryon par unité de poids sec ou d'énergie du vitellus consommé (Blaxter, 1969). L'efficience d'utilisation du vitellus n'est jamais égale à 100 %, car elle ne supporte pas que la croissance, mais aussi la différenciation, l'entretien et les activités cellulaires. Ehrlich et Muszynski (1982) ont rapporté que le maximum de l'efficience d'utilisation du vitellus chez le poisson varie entre 60 et 90 % de matière sèche ou d'énergie. Cependant, lorsqu'elle a été calculée en terme d'énergie cumulée, l'efficience d'utilisation du vitellus a varié entre 62 et 99 % à 9, 10, 12 et 14°C chez l'embryon de *O. mykiss* (Kamler et Kato, 1983), et de 70 à 98 % chez l'embryon de *S. trutta* (Raciborski, 1987). Le taux de croissance de l'embryon dépend entre autres de la composition du vitellus (Roger et Westin, 1981) et du pouvoir digestif du syncytium. Ce dernier est fortement influencé par les facteurs biotiques (Marr, 1966) et abiotique tels que : pH (Nelson, 1982), température (Beacham et Murray, 1985; Winberg, 1987), oxygène dissous (Kamler, 1992).

L'efficacité d'utilisation du vitellus au cours de l'alimentation endogène caractérisée par l'absence de défécation, peut être exprimée par l'équation suivante:

$$C_y = P + R + U \text{ (Ricker, 1968)}$$

- où  $C_y$  est l'énergie totale du vitellus consommée (Kcal),  
 $P$  est la production d'énergie ou gain de poids (Kcal)  
 $R$  est l'énergie d'entretien (Kcal) et  
 $U$  est l'excrétion non fécale (Kcal).

Signalons que les protéines du vitellus assument deux fonctions primaires : elles apportent des acides aminés pour la croissance des tissus et de l'énergie via les processus du catabolisme. L'embryon du poisson se développe donc au détriment des acides aminés libérés par les protéines du vitellus qui subissent des dégradations continues (Monroy *et al.*, 1961).

Au cours du développement embryonnaire, les lipides sont convertis en composantes structurales et assurent la fluidité membranaire et la production d'énergie. Le catabolisme des lipides vitellins augmente avec la croissance du poisson, mais reste insignifiant jusqu'à l'éclosion (Heming, 1988).

Les hydrates de carbone sont en très faible proportion dans le vitellus lorsqu'on les compare aux protéines et lipides, mais ils sont, tout de même, relativement les plus utilisés au cours de l'embryogenèse. Plus de 63 % du glycogène de l'oeuf du grogneur rouge (*Sciaenops ocellata* L.) sont utilisés entre la fertilisation et l'éclosion (Vetter *et al.*, 1983). Moroz et Luzhin (1976) ont noté aussi chez la carpe commune un catabolisme intense des hydrates de carbone du vitellus après la fertilisation des oeufs. Plus curieux encore est l'accumulation du glycogène observée dans le foie de l'embryon du saumon peu avant l'éclosion (Takahashi *et al.*, 1978). Cette réserve d'hydrates de carbone a fait croire aux auteurs, qu'elle serait l'importante source d'énergie durant la phase d'hypoxie tissulaire où le métabolisme aérobique des lipides n'était pas encore possible.

Quelques exemples de l'efficacité d'utilisation du vitellus en terme d'énergie, de protéines, de lipides et d'hydrates de carbone sont synthétisés dans le tableau 2.5 (Kamler, 1992).

Tableau 2.5. Comparaison de l'efficacité de conversion de l'énergie et de la matière de l'oeuf en tissu chez des larves non encore alimentées

Espèces	Tempé- rature (°C)	Efficacités (%) de conversion en tissu larvaire de				
		Energie	Protéines	Lipides	Glucides	Cendres
<i>Cyprinus carpio</i> (f)	23±2	38,1	38,1	35	17,5	135
<i>Onchorhynchus mykiss</i> (f)	-	44,2	43,1	45,9	-	102,5
<i>Lepomis macrochirus</i> (f)	23,5	45,4	58,6	-	-	-
<i>Hemiramphus sajori</i> (s)	19-21	55,9	66	41,2	34,9	111,6

Source: Kamler (1992), f: poisson d'eau douce; s: poisson de mer

Les efficacités d'utilisation cumulée de l'énergie, de protéines et de lipides sont, en général élevées et presque égales chez les 4 espèces considérées isolément (Tableau 2.5). Les faibles efficacités d'utilisation cumulée des hydrates de carbone, de la fertilisation à la résorption du sac vitellin montrent leur faible utilisation à partir de l'éclosion. Les valeurs particulièrement élevées (>100) des efficacités de conversion des cendres de l'oeuf en cendres de la larve sont admises, car elles montrent que la matière de l'oeuf est différente de celle de la larve. Par ailleurs, les cendres sont composées de sels minéraux qui sont des nutriments régulateurs et non des nutriments constructeurs ou énergétiques comme les protéines, les lipides et les glucides.

## 2.1.2. Point de non retour et alimentation mixte

### 2.1.2.1. Point de non retour

Le point de non retour est un stade physiologique à partir duquel bon nombre de larves non encore alimentées deviennent trop faibles pour se nourrir et restent non réanimables. Ce point de non retour se situe entre la résorption vitelline et l'apport d'aliment exogène, et est caractérisé par un processus de catabolisme corporel irréversible avec une forte perte d'azote et une utilisation élevée d'oxygène (Blaxter et Ehrlich, 1974; Kaushik *et al.*, 1982; Dabrowski et Luczynski., 1984). Il correspond à la limite d'intolérance de la larve au jeûne et varie d'une espèce à l'autre. Les larves de *Clupea harengus* L. et de *Pleuronectes platessa* L. ont leur point de non retour à mi-chemin entre la fin du vitellus et la mort (Blaxter et Ehrlich, 1974). Une extrême dépendance de l'aliment exogène a été rapporté chez les larves de *Engraulis mordax* L. dont le point de non retour se situe seulement à 36 heures après la résorption du sac vitellin (Lasker *et al.*, 1970). Il se situerait entre 4 et 6 jours après l'éclosion chez les larves de perche (*Perca fluviatilis*) élevées à 18 - 22°C (observations personnelles). Signalons toutefois, que cette période criti-

que ou d'épuisement physique des larves ne correspond pas toujours à un point de non retour à la vie normale. Autrement dit, certaines espèces n'ont pas de point de non retour. Par exemple, les larves du bar rayé (*Morone saxatilis* W.) survivantes à un jeûne accompagnant la fin du vitellus se sont alimentées et ont retrouvé une croissance identique aux témoins (Roger et Westin, 1981). Les mêmes observations ont été faites chez les larves de *Leuresthes tenuis* survivantes après 80 % de mortalité dans la population en élevage (May, 1971). Chez *Onchorhynchus mykiss* par contre, un minimum de jeûne apparaît comme stimulant d'une meilleure croissance ultérieure (Escaffre et Bergot, 1985).

### 2.1.2.2. Alimentation mixte

Ce préalable était nécessaire pour comprendre la notion de l'alimentation mixte chez les larves du poisson et envisager les conséquences de sa mauvaise application en élevage intensif. En effet, l'alimentation mixte se définit comme étant la période à laquelle les réserves vitellines sont significativement réduites ou nutritionnellement déséquilibrées et méritent d'être complémentées avec un aliment exogène. La problématique de l'alimentation mixte est différemment perçue par les pisciculteurs en fonction des espèces élevées.

Pour les uns, il s'agit de prévenir la fin souvent imprévisible du vitellus, évitant ainsi le jeûne généralement insupportable pour les larves, à cause de leur métabolisme élevé (Blaxter et Hempel, 1963; Lasker *et al.*, 1970; Tulli et Tibaldi, 1995). Ceux qui travaillent sur des espèces qui éclosent à un stade physiologique et nutritionnel avancé sont les plus concernés. Chez les espèces marines telles que *Ammodytes personatus* Yar. (Yamashita et Aoyama, 1985) et *Scophthalmus maximus* L. (Quantz, 1985), le temps qui sépare l'éclosion du début de l'alimentation exogène est plus court que celui qui sépare le début de l'alimentation de la résorption complète du vitellus. Les rapports de temps rapportés pour ces deux espèces sont respectivement de 1/3,5 et de 1/2). Laurence (1978) a généralisé en définissant le début de l'alimentation mixte comme approximativement égal à 25 % de la durée totale de l'éclosion à la résorption totale de la vésicule vitelline.

Pour d'autres, l'alimentation mixte n'est pas destinée à prévenir le jeûne des larves, mais à développer chez elles une qualité nutritionnelle considérée comme précurseur de leurs futures performances zootechniques (croissance, conversions d'aliments et de nutriments). Ceux-ci estiment que pour garantir une bonne croissance et une survie élevée des larves, le moment d'apport du premier aliment doit correspondre nécessairement à l'habileté de la larve à nager pour rechercher activement l'aliment, et à la tendance à l'épuisement de son sac vitellin (Elliot, 1984; Appelbaum, 1989; Ribeiro et Planas, 1995). De par la résistance significative de leurs larves au jeûne, les poissons d'eau douce tels que *Micropterus salmoides* La. (Laurence, 1969), *Onchorhynchus mykiss*

(Kamler et Kato, 1983; Escaffre et Bergot, 1985), *Salmo trutta* W. (Raciborski, 1987) et certains poissons marins tels que *Morone saxatilis* (Eldridge *et al.*, 1981a), *Scophthalmus maximus* L. (Ribeiro et Planas, 1995) ont longtemps servi d'espèces expérimentales à la confirmation de cette hypothèse. Cette capacité tardive à s'alimenter et cette résistance au stress du jeûne semblent spécifiques et très dépendantes de la température d'élevage (Kamler, 1992).

### 2.1.2.3. Préadaptation des larves à l'alimentation mixte

Une nouvelle approche de l'alimentation mixte, presque concilia-trice des deux premières, se développe ces dernières années, avec pour objectif d'induire une vitellogenèse capable de stimuler l'habileté précoce de la larve à nager et à vouloir s'alimenter et sa résistance aux stress divers, y compris le jeûne (Dabrowski *et al.*, 1995; Tay *et al.*, 1995; Abi-ayad *et al.*, 1995; Delbare *et al.*, 1995; Dhert *et al.*, 1995; Parrish *et al.*, 1995). Cette nouvelle approche consiste à soumettre les géniteurs à un traitement spécifique au cours de la vitellogenèse ou pendant l'induction de la ponte. Un tel traitement consiste généralement à enrichir l'aliment du géniteur en certains nutriments tels que : les acides gras polyinsaturés (DHA et EPA), la vitamine C, la vitamine E etc. La supplémentation par exemple du régime de la perche *Perca fluviatilis* en acides gras polyinsaturés du groupe (n-3) a amélioré considérablement la résistance au choc thermique et au jeûne des larves (Tableau 2.6, Abi-ayad *et al.*, 1995). Le meilleur taux de survie (37,5 %) et la meilleure résistance (9,5 jours) sont obtenus en élevage avec les larves soumises au régime R3 contenant 0,63 % d'acide gras éicosapentanoïque (EPA) et 0,7 % d'acide docosahexanoïque (DHA).

Parrish *et al.* (1995) ont aussi observé une étroite corrélation ( $r = 0,62$ ,  $p < 0,01$ ,  $N = 21$ ) entre la composition en acides gras polyinsaturés du lipide polaire de l'oeuf de flétan atlantique, *Hippoglossus hippoglossus* L. et la survie des larves. Des relations similaires ont été établies entre la concentration totale en acides gras polyinsaturés de l'oeuf de walleye, *Stizostedion vitreum* et la viabilité des embryons et des larves (Czesny et Dabrowski, 1995). Les supplémentations du régime des géniteurs en vitamine C (Dabrowski *et al.*, 1995 chez la perchaude, *Perca flavescens*) ou en un mélange d'acides gras polyinsaturés, de vitamine C et de vitamine E (Dhert *et al.*, 1995 chez le turbot, *Scophthalmus maximus*) ont eu des effets positifs sur l'habileté précoce des larves à se déplacer dans la colonne d'eau et sur leur taux de survie.



Tableau 2.6. Résistance des larves de perche fluviale issues de géniteurs à régimes différemment supplémentés en acides gras polyinsaturés

Composantes	Composition des régimes expérimentaux			
	R1	R2	R3	
Protéines	45	45	45	
Lipides	10,4	10,4	10,4	
Cellulose	2	2	2	
Cendre	10	10	10	
Humidité	10	10	10	
18:3n-3	0,14	0,71	0,49	
20:5n-3	0,46	0,44	0,63	
22:6n-3	0,47	0,54	0,7	
Total n-3	1,3	1,7	1,8	
Total n-6	1,1	1,2	1,2	
n-3/n-6	1,2	1,4	1,5	
	Larves de R1	Larves de R2	Larves de R3	Larves du milieu naturel
Survie (%) après choc osmotique	0	2,1	37,5	37,1
Résistance (jour) des larves au jeûne	8	5,5	9,5	10

Source: Abi-ayad *et al.* (1995)

En fonction des multiples variations interspécifiques et intraspécifiques, tant dans la qualité physico-chimique des oeufs ou vitellus, que dans l'aptitude physique et physiologique des larves à réagir devant l'aliment, nous pensons qu'il est plus prudent d'apporter, le plus tôt possible, de l'aliment vivant exogène aux larves. Le risque éventuel qu'on pourrait courir en le faisant serait insignifiant face à celui qui consisterait à apporter l'aliment avec retard. La précocité d'apport d'aliments vivants bien avant la fin du vitellus pourrait stimuler l'envie à la nage, à la chasse et prévenir le jeûne souvent inévitable chez les premières larves écloses. Quant au problème de faible croissance ultérieure provoquée par l'apport précoce d'aliment rapporté par certains auteurs (Escaffre et Bergot, 1985; Hung *et al.*, 1992), pour lequel nous sommes dubitatifs, il devrait en principe être résolu par le phénomène de croissance compensatoire suite à une alimentation bien équilibrée des juvéniles.

### 2.1.3. Alimentation exogène

Indépendamment des habitudes alimentaires des géniteurs (herbivores, omnivores et carnivores) ou de leur milieu de vie (eau douce, eau salée et eau saumâtre), toutes les larves de poissons sont à l'origine zooplanctonophages (Gerking, 1994). Cependant leurs comportements alimentaires (vision, sélection, consommation) varient d'une espèce à une autre en fonction de leur taille à l'éclosion et de la densité et diversité spécifique des proies. Il est toutefois rapporté que des larves particulièrement minuscules, en l'occurrence celles de certains poissons marins tels *Pleuronectes platessa* L., *Scophthalmus maximus* L. (Scott et Middleton, 1979; Sommer *et al.*, 1990; Gerking, 1994) s'alimentent d'abord avec des algues avant de devenir zooplanctonophages pour être sevrées plus tard à un aliment artificiel. Il n'est pas rare de rencontrer également des espèces de larves qui acceptent l'aliment artificiel sec dès l'ouverture de la bouche (les salmonidés, Escaffre et Bergot, 1985, carpe commune, Radunz Neto *et al.*, 1996). Le développement remarquable de la pisciculture de ces deux dernières décennies repose en grande partie sur la possibilité de produire en qualité et en quantité une multitude d'aliments vivants et inertes.

#### 2.1.3.1. Aliments vivants

Les pisciculteurs ont compris depuis quelques années qu'il faut apporter aux larves de poisson, tout au début de leur alimentation, du zooplancton qu'elles ont l'habitude de chasser dans leur habitat naturel. Il s'agit notamment de rotifères, de cladocères, de copépodes et autres organismes vivants de la même taille (différentes variétés d'*Artemia*). Nous n'aborderons ici que leurs effets sur l'habituation des larves de poisson à l'alimentation exogène et leurs qualités nutritives.

##### 2.1.3.1.1. Rotifères

Les rotifères sont des métazoaires de taille souvent comprise entre 100 et 300  $\mu\text{m}$ . Ils sont caractérisés par l'existence d'une structure ciliaire propre localisée à la partie antérieure du corps qui leur sert à la fois de locomotion et/ou à la récolte de nourriture. Il existe plusieurs variétés de rotifères d'eau douce, d'eau saumâtre et peu d'eau salée. L'espèce la plus cultivée pour la nutrition larvaire est *Brachionus plicatilis* Muller (Figure 2.6) qui est une espèce euryhaline. Quelques travaux ont également montré l'intérêt de produire l'espèce d'eau douce *Brachionus calyciflorus* Pallas (Figure 2.7).

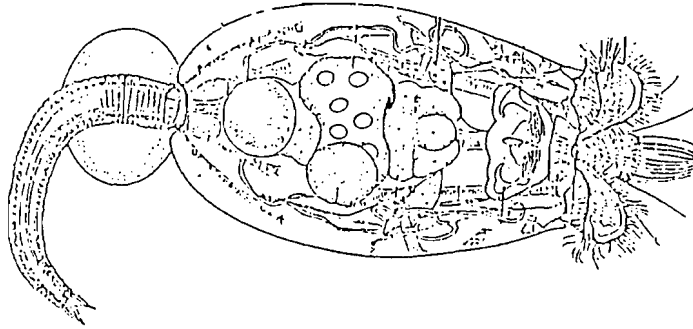


Figure 2.6. Schéma de *Brachionus plicatilis* Muller (Segers, 1994)

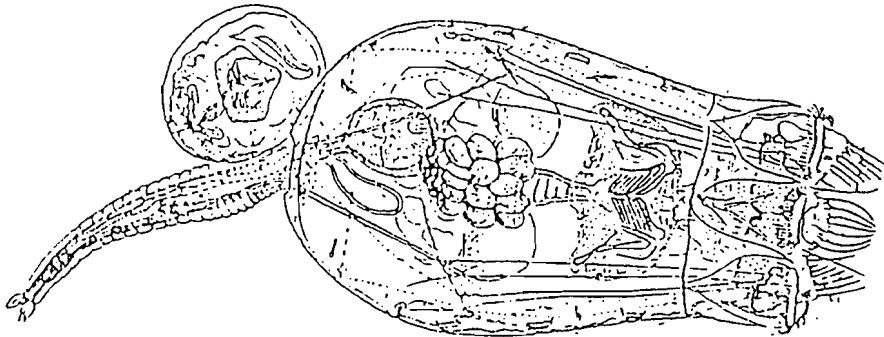


Figure 2.7. Schéma de *Brachionus calyciflorus* Pallas (Durand et Lévêque, 1980)

### *Brachionus plicatilis*

La taille adulte de *Brachionus plicatilis* varie de 200 à 300  $\mu\text{m}$ . Les souches sont prélevées à partir de population naturelle, où des femelles myctiques sont isolées au microscope afin de sélectionner les clones à reproduction parthénogénétique exclusive. Le taux de renouvellement de la population de rotifères est très élevé avec ce type de reproduction. Les japonais sont les pionniers de son utilisation en pisciculture comme premier aliment exogène des larves de poissons marins de taille comprise entre 2,3 mm et 7 mm (Ito, 1960; Fujita, 1973; Watanabe *et al.*, 1982; Fukusho, 1985; Nagata, 1985). Cependant, sa valeur nutritive pour la larve du poisson est fonction de son alimentation en culture ou de sa supplémentation (Watanabe *et al.*, 1978a; Watanabe, 1983; Whyte et Nagata, 1990). Les tableaux 2.7 et 2.8 présentent des exemples concrets de cette variabilité qualitative en acides aminés et en acides gras des rotifères.

Tableau 2.7. Composition en acides aminés du rotifère *Brachionus plicatilis* produit avec différents régimes composés de levure et/ou de chlorella (Watanabe, 1988)

Acides aminés (%)	Aliments en 1975				Aliments en 1976		
	Levure Saccharomyces	Levure + Chlorella marine	Chlorella marine	Chlorella l'eau douce	Levure Saccharomyces	Levure + Chlorella marine	Chlorella marine
Isoleucine	2,9	2,8	3,1	3,4	4,4	4,0	4,0
Leucine	5,5	5,3	5,6	6,1	6,9	6,1	6,2
Méthionine	0,8	0,8	0,8	0,8	1,0	0,9	0,9
Cystine	0,7	1,1	0,8	0,6	0,7	0,7	0,7
Phénylalanine	3,5	3,4	3,5	3,9	4,5	4,1	4,1
Tyrosine	3,0	3,0	3,2	3,1	3,0	2,8	2,9
Thréonine	3,5	3,1	3,4	3,2	4,0	3,5	3,4
Tryptophane	1,1	1,2	1,2	1,2	1,1	1,1	1,2
Valine	3,6	3,5	3,8	4,2	4,4	4,0	4,2
Lysine	5,7	5,8	5,8	6,1	6,6	6,0	6,0
Arginine	4,2	4,5	4,6	4,6	5,1	4,6	4,8
Histidine	1,4	1,4	1,4	1,5	1,7	1,5	1,7
Alanine	3,2	3,2	3,7	3,8	3,9	3,5	3,5
Aspartate	7,7	7,5	8,0	8,0	9,8	8,9	8,8
Glutamate	8,9	8,8	9,3	9,8	10,1	9,7	9,5
Glycine	2,9	2,9	3,1	3,1	3,6	3,1	3,2
Proline	5,2	5,9	5,8	6,7	5,0	4,8	4,9
Serine	3,7	3,7	3,9	4,0	3,7	3,6	3,7

 Tableau 2.8. Composition en acides gras du rotifère *Brachionus plicatilis* produit avec la levure et 4 espèces de phytoplancton

	Régimes alimentaires									
	Levure (Saccharomycètes)		<i>Thalassiosira pseudonana</i>		<i>Isochrysis galbana</i>		<i>Tetraselmis suecica</i>		<i>Chlorella saccharophila</i>	
	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
Saturés	14,7	13,3	22,0	18,5	21,2	24,2	19,5	14,8	28,7	42,1
Monoéthyléniques	66,3	80,5	22,5	29,8	27,6	17,4	21,0	22,9	24,8	9,8
Polyéthyléniques	11,6	4,0	48,8	46,2	48,4	52,8	53,2	53,3	46,3	42,0
Σ4-6n3/poly.	49,2	19,7	78,6	72,9	67,6	57,2	50,5	53,0	9,3	4,7
20:5n3/poly.	0,0	0,0	42,1	50,5	4,6	1,6	9,3	11,2	1,5	0,0
22:6n3/poly.	6,7	0,0	12,3	9,3	17,6	20,5	2,6	0,0	0,0	0,0

Données tirées de Whyte et Nagata (1990), R = Rotifères, A = Aliment.

Ainsi, on peut remarquer qu'en 1975, ce sont les rotifères nourris avec les cellules de chlorella d'eau douce qui ont montré les concentrations les plus élevées en acides aminés essentiels, alors qu'en 1976, c'est plutôt les rotifères nourris avec la levure qui ont été les plus concentrés en ces acides aminés (Tableau 2.7). Par ailleurs, les rotifères nourries avec les phytoplanctons sont en général riches en acides gras polyinsaturés, notamment, ceux nourris avec *Thalassiosira pseudonana*, *Isochrysis galbana* et *Tetraselmis suecica* qui sont particulièrement concentrés en EPA et DHA (Tableau 2.8).

### *Brachionus calyciflorus*

La méthode de sélection des souches est identique à celle du *Brachionus plicatilis*. Cependant, sa culture n'a connu de véritable succès qu'avec les algues microscopiques (Starkweather et Gilbert, 1977a, 1977b; Mourelatos *et al.*, 1990; Guisande et Mazuelos, 1991; Awaïss *et al.*, 1992). Sa valeur nutritive est de ce fait fonction du milieu de culture de l'algue qui l'a alimenté. Le tableau 2.9 présente sa composition comparée en acides aminés essentiels lorsqu'il est nourri avec du *Dictyosphaerium chlorelloides* cultivé sur le milieu de Provasoli (Awaïss *et al.*, 1992) et le milieu de Schlösser (observation personnelle).

Tableau 2.9. Composition comparée du Rotifère *Brachionus calyciflorus* produit avec les cellules de *Dictyosphaerium chlorelloides* issues de deux milieux différents

Acides aminés	Milieu de culture algale	
	Provasoli	Schlösser
Thréonine	5,69±0,42	4,11±0,56
Alanine+Histidine	8,61±0,94	6,85±0,55
Arginine	8,26±0,14	6,31±0,57
Valine	8,55±0,28	6,95±0,36
Méthionine	2,25±0,10	2,96±0,16
Isoleucine	5,06±0,01	6,45±0,67
Phénylalanine	4,53±0,11	7,74±0,80
Tryptophane	7,72±0,46	-
Lysine	6,88±0,56	8,04±0,77
Leucine	8,51±0,13	10,15±0,91
<b>Auteur</b>	Awaïss <i>et al.</i> (1992)	Observation personnelle

Remarquons que sa richesse en acides aminés reste très appréciable dans ces deux cas de culture. Toutefois, les rotifères cultivés avec les cellules de chlorella issues du milieu de Schlösser sont très riches en leucine, lysine et phénylalanine, comparés à ceux produits avec les cellules de chlorella du

milieu de Provasoli qui ont un profil plus équilibré en acides aminés essentiel (Tableau 2.9).

#### 2.1.3.1.2. Cladocères

Les cladocères sont caractérisés par une carapace bivalve chitineuse transparente enveloppant le corps et 5 à 6 paires d'appendices thoraciques. Ils sont de taille généralement supérieure à 500  $\mu\text{m}$ . Mis à part les *Podonidae* et les *Cercopagidae* qui comprennent des espèces marines, les Cladocères sont dulçaquicoles. La reproduction se fait le plus souvent par parthénogenèse (Goulden, 1968). Ils sont très appréciés par les poissons à partir de la taille de 7 mm (Fujita, 1977; Jesus, 1983; Guti, 1993). Les espèces cultivées en pisciculture comme aliments larvaires sont :

- *Daphnia magna* Straus reconnaissable par les valves de sa carapace se prolongeant par une épine assez développée et une crête sur la surface antérieure de la tête (Figure 2.8 a).
- *Moina dubia* marquée par une tête large, l'absence d'ocelle, des valves sans carène et l'abdomen réduit (Figure 2.8 b).
- *Bosmina longirostris pellucida* reconnaissable par les antennules non soudées à leur base et non divergeantes (Figure 2.8 c).

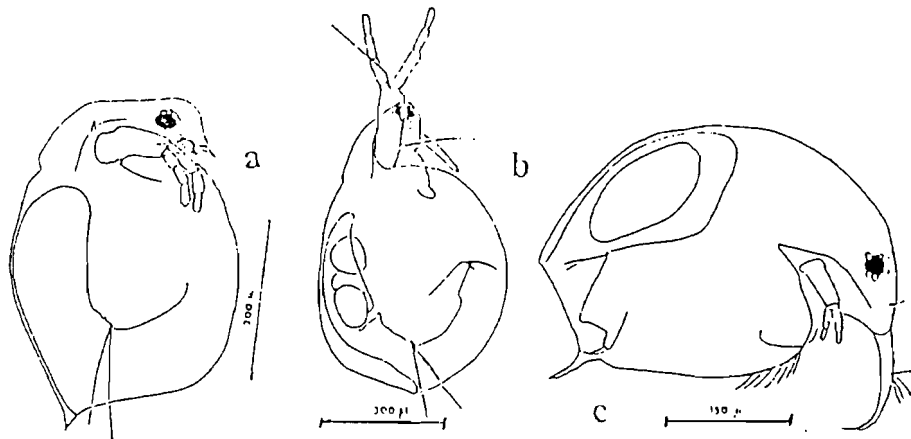


Figure 2.8. Schémas des espèces de Cladocères cultivées pour la nutrition larvaire, (a) *Daphnia magna*, (b) *Moina dubia*, (c) *Bosmina longirostris pellucida* (Durand et Lévêque, 1980).

Ces trois espèces sont considérées comme des phytophages mais aussi bactériophages ou détritivores dans leur milieu naturel (Smirnov, 1968; Jesus, 1983). Elles constituent des sources de nutriments très importantes pour les larves de poisson (Tableau 2.10).

Tableau 2.10. Composition en acides aminés chez deux espèces de Cladocère

Acides aminés (% du total)	Moina sp. cultivés sur la levure	Daphnia sp. récoltés en étang fertilisé
Isoleucine	2,50	4,78±0,25
Leucine	6,00	8,06±1,51
Méthionine	1,00	2,78±0,06
Cystine	0,60	-
Phénylalanine	3,60	5,90±0,23
Tyrosine	3,30	5,51±0,36
Thréonine	3,80	4,66±0,12
Tryptophane	1,20	-
Valine	3,20	6,99±0,27
Lysine	5,80	5,75±0,32
Arginine	5,10	4,26±0,05
Histidine	1,60	5,04±0,02
Alanine	4,90	6,12±0,02
Acide aspartique	8,30	5,58±1,38
Acide glutamique	9,80	9,42±0,86
Glycine	3,70	2,33±0,01
Proline	4,20	5,56±0,33
Serine	4,00	3,84±0,07
<b>Auteur</b>	Watanabe (1988)	Observation personnelle

Remarquons sur ce tableau que les *Daphnia* sp. sont plus concentrés en acides aminés essentiels que les *Moina* sp, probablement à cause de la valeur nutritive des algues ingérées par les premiers dans l'étang fertilisé.

#### 2.1.3.1.3. Copépodes

Les Copépodes sont de petits crustacés de 0,3 à 8 mm de taille. On les reconnaît par leur corps fusiforme constitué de trois parties distinctes dont une antérieure à 6 segments soudés (Céphalosome), une médiane ou thorax composée de 5 segments porteurs de 2 appendices natatoires ou préhensiles et une partie postérieure ou abdomen à 5 segments dont 2 soudés en un segment génital. Suivant la forme du corps et les particularités des segments et des appendices, on distingue trois types de Copépodes dans la faune aquatique libre d'eau douce : le type *Calanoïda* planctonique, le type *Cyclopoïda* planctonique et/ou benthique et le type *Harpacticoïda* benthique (Figure 2.9).

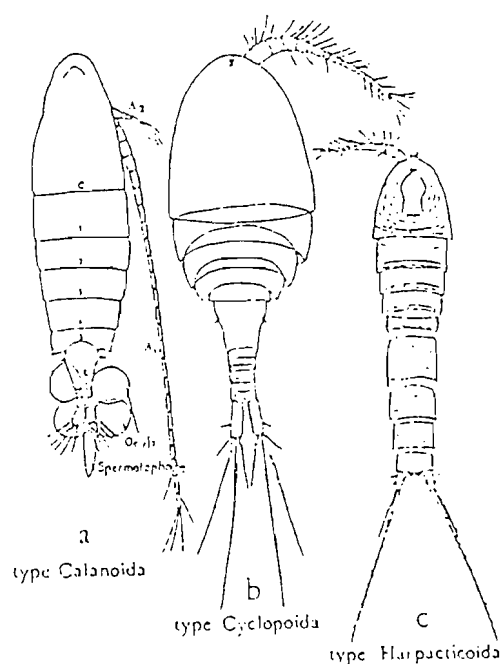


Figure 2.9. Représentation schématique des trois types de Copépodes d'eau continentale (Durand et Lévêque, 1980).

Les Copépodes ont une reproduction sexuée et leur développement se fait par métamorphoses successives. L'oeuf donne naissance à une larve nauplienne qui, après 5 métamorphoses successives rapides devient une larve copépodite segmentée, capable de s'alimenter. Les Copépodes sont généralement cultivées dans des étangs à partir de fertilisation minérale ou organique où elles sont récoltées avec filet à plancton.

Il existe des variétés marines reconnues très intéressantes en aquaculture pour leur qualité nutritionnelle. Il s'agit notamment des genres :

### *Tigriopus*

L'espèce *Trigriopus japonicus* fut longtemps cultivée au Japon avec du *Chlorella minutissima*, du son de soja ou de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*).

### *Acartia*

L'*Acartia clausi* a été expérimentée en culture pour sa richesse en acides aminés (Fujita, 1973; Watanabe, 1978).



## 2.1.3.1.4. Crustacé branchiopode

*Artemia*

L'espèce *Artemia salina* L. est un petit crustacé branchiopode d'eau salée, de l'ordre des *Anostracés* et de la famille des *Astemiidés*. Elle est intensément utilisée en aquaculture comme aliment larvaire, à cause de la disponibilité de ses cystes, de sa facilité de culture et de récolte. La quantité de cystes d'*Artemia salina* importée par le Japon seul pour sa production aquicole était estimée en 1980 à plus de 100 tonnes par an, soit 40 % de sa production mondiale en cette année là (Sorgeloos, 1980). Watanabe *et al.* (1980) et Triantaphyllidis *et al.* (1995) ont classé les *Artemia* en deux types suivant leur teneur en acides gras polyinsaturés, fonction de l'origine géographique de leur souche (Tableau 2.11).

Tableau 2.11. Composition en acides eicosapentanoïques (EPA), en acides gras hautement insaturés ((n-3)HUFA) total et la taille de différentes souches d'*Artemia*

Souche d' <i>Artemia</i>	EPA (mg.g <sup>-1</sup> MS)	Σ(n-3)HUFA ≥20:3n-3	Taille (µm)
Toliara, Madagascar	24,5	24,7	490
San Francisco Bay, USA	11,8	14,6	428-431
Great Salt Lake (GSL), USA	0,5-4,3	1,9-6	486-489
Citros, Grèce	5,3	9,8	483
Megalon Embolon, Grèce	3	7,9	479
Kalloni, Grèce	11,8	14,4	521
Inner Mongolia, R.P. China	1,4-4,1	1,8-5	-
GSL enrichie avec SELCO pendant 24h	21,3	37,4	800

Source : Triantaphyllidis *et al.* (1995).

Ainsi, ils appelaient "type d'eau douce", les *Artemia* riches en 18:3w3 et "type marin", celles qui sont riches en 20:5w3. En effet, les poissons d'eau douce présentent les mêmes performances de croissance et de survie quelque soit le type d'*Artemia* consommée, pourvu que leur bouche soit suffisamment grande pour l'ingérer (Tableau 2.12). Ils ont en effet la faculté de convertir les acides gras 18:3w3 généralement élevés chez tous les *Artemia* en w3 HUFA (20:5w3 et 22:6w3) révélés essentiels chez les poissons marins dépourvus de cette faculté (Fukusho, 1974; Fujii *et al.*, 1976; Takeuchi *et al.*, 1980). Les *Artemia* dénommées "type d'eau douce" entraînaient de forte mortalité chez les larves de poissons marins tels que *Pleuronectes platessa* (Owen *et al.*, 1972) et *Pagrus major* (Fujii *et al.*, 1976) lorsqu'on les leur servaient sans supplémentation préalable en w3 HUFA. Quelques exemples de performances zootechniques des larves de poissons nourries avec de l'*Artemia* enrichie en w3 HUFA de différentes sources sont présentés dans le Tableau 2.12.

Tableau 2.12. Performances zootechniques comparées des larves de quelques poissons nourries avec de l'*Artemia* enrichie en w3 HUFA de différentes sources

Produits de supplémenta- tion	w3 HUFA dans Arte mia (%)	Longueur totale du corps (mm)		Poids total du corps (mm)		Taux de survie (%)	Taux de larves actives (%)
		Initiale	Finale	Initial	Final		
<b>Daurade rouge (9 jours d'alimentation), Watanabe (1988)</b>							
Levure de Baker	0,12	14,7	22	35,2	151,9	58,9	23
Huile du foie de morue	0,21	14,7	23,7	35,2	188,9	76,3	86,5
Concentrée de w3 HUFA	0,71	14,7	23,4	35,2	178,7	72	99,3
<b>Daurade rouge (7 jours d'alimentation), Watanabe (1988)</b>							
Levure de Baker	0,09	8,9	12,5			32	21,4
Huile du foie de morue	0,3	8,9	13,4			53,4	67,9
Concentrée de w3 HUFA	1,01	8,9	14,1			52	96,7
<b>Perche fluviatile (22 jours d'alimentation), Fiogbé et al. (1995)</b>							
Concentrée de w3 HUFA							
(Super Selco)							
				7,6	100	71,7	
Sans supplémentation							
				7,6	135,3	75,8	

Les suppléments d'*Artemia* avec des concentrés d'acides gras hautement polyinsaturés (w3 HUFA) et l'huile du foie du poisson étaient apparues les plus performantes pour les poissons marins. Par contre, la perche qui est un poisson d'eau douce n'a pas présenté une croissance meilleure suite à l'enrichissement des nauplii d'*Artemia*.

Des cystes d'autres variétés d'*Artemia* dites de petite taille (enrichie et non enrichie en HUFA), de taille similaire à celle des Rotifères sont commercialisés depuis ces dernières années (à partir de 1993). Ces dernières variétés sont malheureusement très onéreuses comparées aux types de taille standard dont le prix apparaissait déjà inquiétant. L'examen des valeurs nutritionnelles comparées des *Artemia* avec d'autres zooplancton moins utilisés (Tableau 2.13), montre que l'utilisation importante des *Artemia* en aquaculture, malgré leur coût élevé n'est pas seulement due à leur valeur nutritionnelle, mais surtout à leur facilité de culture. Les concentrations particulièrement élevées en acides aminés essentiels observées dans nos *Artemia* (Tableau 2.13) seraient probablement liées à la souche que nous avons cultivé (Triantaphyllidis *et al.*, 1995).

Tableau 2.13. Valeur nutritionnelle comparée des *Artemia* avec d'autres zooplancton.

Acides aminés (% du total)	<i>Artemia*</i> <i>salina</i>	<i>Artemia**</i>	<i>Acartia*</i> <i>clausi</i>	<i>Trigriopus*</i> <i>japonicus</i>	<i>Copépodes**</i> <i>d'eau douce</i>
Isoleucine	2,6	6,4±0,6	3,5	2,5	4,3±0,1
Leucine	6,1	12,7±1,5	5,5	5,0	7,7±0,2
Méthionine	0,9	7,9±1,2	1,5	1,1	1,8±0,2
Cystine	0,4	1,5±0,2	0,8	0,7	0,2±0,2
Phénylalanine	3,2	7,8±0,8	3,7	3,5	4,7±0,02
Tyrosine	3,7	7,3±0,01	3,6	4,0	8,8±0,06
Thréonine	1,7	3,7±0,4	4,2	3,8	4,1±0,02
Tryptophane	1,0	-	1,1	1,1	-
Valine	3,2	6,4±1,5	4,5	3,3	5,2±0,14
Lysine	6,1	6,2±0,6	5,4	5,7	8,1±0,04
Arginine	5,0	6,3±0,3	4,3	5,2	9,9±0,04
Histidine	1,3	1,7±0,2	1,9	1,6	3,5±0,1
Alanine	4,1	5,1±0,7	5,4	4,9	5,8±0,03
Acide aspartique	7,5	5,6±0,9	9,0	9,0	8,8±0,16
Acide glutamique	8,8	9,9±1,6	9,5	10,8	13,9±0,25
Glycine	3,4	3,01±0,3	4,6	4,5	3,1±0,05
Proline	4,7	4,4±0,4	4,6	4,8	5,3±0,02
Serine	4,6	4,0±0,2	3,3	4,3	4,6±0,1

\*Watanabe (1988), \*\* observations personnelles

### 2.1.3.2. Aliments inertes secs

Il est commercialisé depuis quelques années, des aliments artificiels secs (Seabream start, Lansy, Ewos...) conçus pour être utilisés comme premiers aliments larvaires en remplacement des aliments vivants dont les productions sont devenues très onéreuses et/ou laborieuses. Cependant, l'incapacité des larves à digérer les aliments secs à ce stade de vie (se traduisant par une mortalité massive) oblige souvent à transiter d'abord par les aliments vivants, mettant ainsi l'apport d'aliments secs au second ordre. Ce changement de goût, d'appétence, voire même de l'état nutritionnel du poisson nécessite de nouvelles stratégies, fonctions du temps et de l'espèce (capacité physiologique). Les différents aliments secs actuellement disponibles sur le marché aquicole peuvent être classés en trois catégories.

#### 2.1.3.2.1. Fabrication de paillettes alimentaires

La fabrication d'aliment larvaire sous forme de paillettes ou de microgranulés nécessite des liants. Les ingrédients sont mélangés ensemble avec le liant, et la pâte homogène et tendre résultant du mélange est séchée puis pulvérisée en microgranulés. La gélatine, l'agar et l'alginate sont des liants très efficaces (Teshima *et al.*, 1982). Kyowa (1988) a mis par exemple au point des microgranulés "Kyowa A-B-C" de granulométries respectives 250  $\mu\text{m}$ , 400  $\mu\text{m}$  et 700  $\mu\text{m}$  qui ont connu un grand succès pour l'élevage larvaire de *S. aurata* en substitution du *Brachionus* et d'*Artemia*. Les données de survie et de croissance ne sont malheureusement pas rapportées pour nous permettre de soutenir cette information.

#### 2.1.3.2.2. Microencapsulation

Ce processus nécessite la mise en suspension dans des solutions spécifiques ou des colloïdes, des ingrédients finement broyés. Le mélange homogène de solution - ingrédients est pulvérisé sous forme de fines particules recouvertes d'une membrane non toxique, imperméable et digestible. Le matériel d'encapsulation qui n'est rien d'autre que la solution ou le colloïde de dilution peut être un aliment complet ou des nutriments de supplémentation alimentaire tels que les vitamines, les protéines ou les acides gras. On utilise généralement une nylon-protéine, un glycopeptide, de la gélatine-acacia, de l'oeuf entier, une huile ou du chitosan (Hardy, 1989).

#### 2.1.3.2.3. Enrobage des microgranulés

Cette opération consiste à fabriquer des paillettes alimentaires (microgranulés) et à les enduire avec des colloïdes de lecithine cholestérol (Teshima *et al.*, 1982), de zéine ou de gluten de maïs modifié (Kanazawa *et al.*, 1982). On renforce ainsi leur résistance au lessivage (perte de nutriments par dissolution partielle dans l'eau).

#### 2.1.3.3. Facteurs influençant le comportement de la larve

Comme chez tous les animaux, l'acceptabilité des particules alimentaires chez les larves de poisson est contrôlée par des réponses sensorielles. Ces réponses incluent la vision, l'électrodétection, la réception mécanique (sons et turbulences) et la chimioréception (Hyatt, 1979). L'essentiel de ces stimulants peut être résumé comme suit :

#### 2.1.3.3.1. Stabilité de l'aliment dans l'eau

Une des caractéristiques importantes de l'aliment larvaire est qu'il puisse rester intact dans l'eau pendant une période spécifique de temps, sans perdre des nutriments. Si des composants de l'aliment se détachent par lessivage avant l'ingestion, ils représentent une perte nutritionnelle et organoleptique pour les larves et une perte économique pour le producteur. Selon le degré de perte de la qualité organoleptique de l'aliment, les larves peuvent l'accepter ou le rejeter. A cet effet, la nourriture larvaire doit être fabriquée ou enrobée avec des ingrédients susceptibles de rester stables dans l'eau pendant des heures.

#### 2.1.3.3.2. Densité des particules alimentaires

La densité des particules de l'aliment larvaire est très importante pour le contrôle de leur position dans l'eau. A l'instar des géniteurs, certaines larves se nourrissent à la surface (salmonidés), d'autres se nourrissent dans la colonne d'eau (tilapia, carassin, perche) et d'autres au fond de l'eau (clarias, carpe). Il est donc indispensable d'adapter la densité des particules alimentaires au type de larves à élever.

#### 2.1.3.3.3. Couleurs et contrastes

La perception visuelle des particules alimentaires par les larves peut être améliorée par pigmentation de la nourriture afin de stimuler l'ingestion. On peut faire aussi usage de colorants comme produits additifs inertes ou composés volatiles pour augmenter l'attraction des particules alimentaires par réfraction lumineuse. A cet effet, l'usage du diméthyl- $\beta$ -propriohtetine comme attractant de la nourriture, était apparu assez efficace dans l'élevage des larves du carassin doré (Nakajima *et al.*, 1988).

#### 2.1.3.3.4. Odeur de l'aliment

L'odeur de l'aliment sert aussi d'attractant dans la nutrition larvaire. Chez le poisson chat par exemple, ce sont les acides aminés (et spécialement l'alanine) qui servent d'attractants (Meyers, 1979). Chez l'anguille (*Anguilla anguilla* L.), ce sont plutôt les érythrocytes et les contenus cellulaires du sang bovin qui se sont révélés très efficaces comme attractants. Chez d'autres poissons, l'huile de poisson est un attractant très efficace. Les cyprinidés (carpe commune, carpe herbivore, carpe argentée) par contre réagissent beaucoup plus à la couleur et à la forme des particules alimentaires qu'à leur odeur.

### 2.1.3.3.5. Texture, structure et forme des particules

La texture est importante dans le contrôle de la densité, de l'absorption d'eau et le lessivage des particules alimentaires, de même que tout autre facteur physique, susceptibles d'altérer leur acceptabilité.

Le diamètre de l'oesophage par exemple chez les larves de la carpe argentée au commencement de l'alimentation exogène est d'environ 50 micromètres. A cette étape, toute particule alimentaire de plus de 50 micromètres, même appétente pour les larves ne peut leur être disponible.

Par ailleurs, la géométrie des particules aussi bien que leur texture et leur composition conditionnent leur lessivage au contact de l'eau. Les particules extrêmement petites et instables, offrent une grande surface de lessivage par unité de poids d'aliment. Aussi, les particules irrégulières ont plus de surface de contact que les rondes.

Au début de l'alimentation exogène, correspondant à des tailles respectives de  $6,37 \pm 0,34$  mm pour la carpe argentée,  $6,81 \pm 0,21$  mm pour la carpe herbivore et  $7,71 \pm 0,3$  mm pour la carpe marbrée, les tailles des particules alimentaires ( $\mu\text{m}$ ) sont présentées dans le tableau 2.14.

Tableau 2.14. Tailles des particules alimentaires en fonction de l'ouverture de la bouche chez 3 espèces de carpe (Dabrowski et Bardega, 1984)

Espèces	Taille (mm)	Angle d'ouverture de la bouche	
		45°	90°
Carpe argentée	$6,37 \pm 0,34$	53 $\mu\text{m}$	89 $\mu\text{m}$
Carpe herbivore	$6,81 \pm 0,21$	96 $\mu\text{m}$	148 $\mu\text{m}$
Carpe marbrée	$7,71 \pm 0,3$	151 $\mu\text{m}$	271 $\mu\text{m}$

45° = ouverture normale de la bouche pour ingérer des particules alimentaires et  
90° = ouverture maximale.

### 2.1.3.3.6. Stockage de l'aliment

Comme chez l'homme, le meilleur aliment de la larve du poisson est celui qui est fraîchement préparé chaque jour. Cependant, ceci n'est pas possible en élevage intensif. Toutefois, il est nécessaire que l'aliment garde toutes ses qualités organoleptiques pendant la période de stockage pour ne pas devenir indésirable ou nuisible aux larves. Il est préférable de garder l'aliment bien séché dans un récipient sec, au sein d'une chambre froide. On évite ainsi la dégradation de certains nutriments à faible stabilité tel que la vitamine C.

#### 2.1.3.3.7. L'environnement aquacole

Plusieurs facteurs de l'environnement aquacole méritent d'être pris en compte dans la préparation de l'aliment. Il s'agit notamment de la température de l'eau et de son gradient dans le temps, la vitesse d'écoulement de l'eau, la salinité, la turbidité, la profondeur, la périodicité jour/nuit, la forme et le fond du matériel d'élevage, la densité des larves et leur stade de développement etc.

Tous ces facteurs ont un impact majeur sur l'ingestion d'aliment et par conséquent sur l'efficacité de la nutrition larvaire et le coût d'élevage.

#### 2.1.4. Capacités de digestion larvaire des aliments

Les aliments vivants ou inertes ingérés ne seront transformés en énergie et en gain de poids, assurant ainsi la mobilité ou viabilité et la croissance des larves que s'ils sont digérés et métabolisés. Cette conversion alimentaire est sous l'influence de plusieurs facteurs. Nous ne citerons ici que les plus importants souvent rapportés.

##### 2.1.4.1. Différenciation morphologique du tube digestif

Le canal alimentaire des larves est moins élaboré que celui des adultes. Il varie d'un simple filament chez les cyprinidés à presque un véritable tube digestif chez les salmonidés, en passant par les corégones qui ont une forme intermédiaire (Figure 2.10). Chez les larves de cyprinidés, la différenciation morphologique et physiologique du tube intestinal est un processus de développement continu, sans aucun changement brusque comme chez les autres familles de poisson. Les corégones et notamment les salmonidés présentent d'après la figure 2.10, un développement périodique du tube digestif avec des changements rapides. Ainsi, chez les larves de ces dernières familles, l'estomac et les caecae pyloriques ne sont reconnaissables qu'après métamorphose (Dabrowski, 1984a).

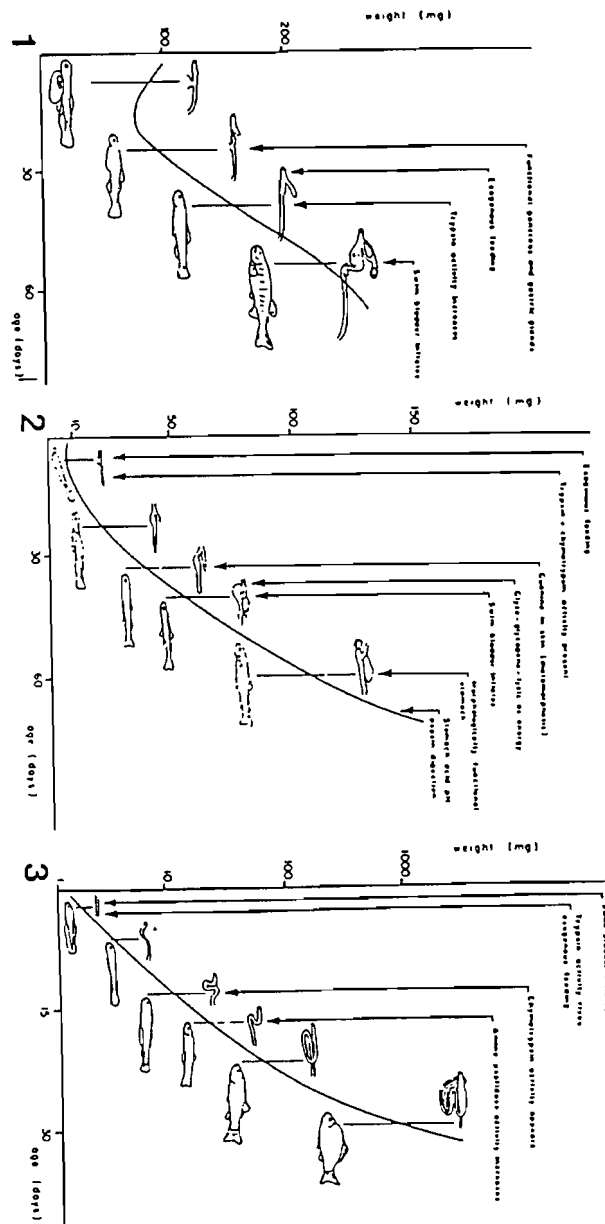


Figure 2.10a. Différenciations comparées du tube digestif et du corps des cyprinidés, des corégones et des salmonidés (Dabrowski, 1984a).



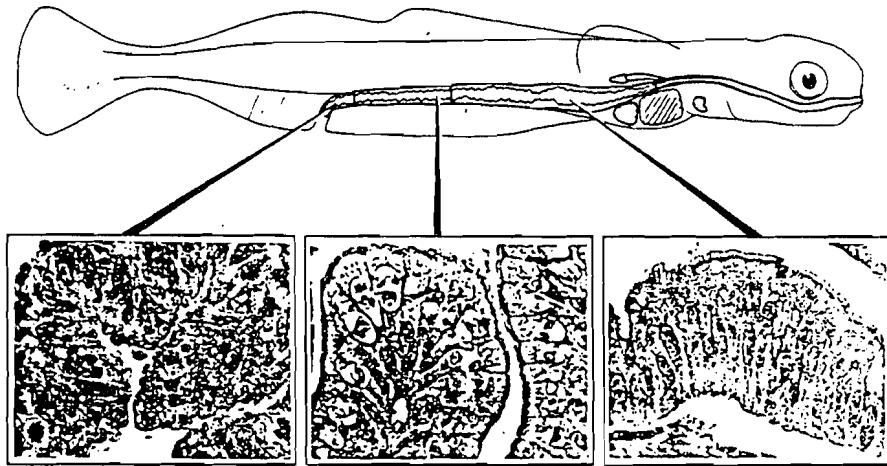


Figure 2.10b. Différenciations morphologique et histologique de l'intestin des corégones au stade larvaire (Stroband et Dabrowski, 1981).

La perche ressemble aux corégones pour l'ontogenèse de son tube digestif. L'intestin des poissons de ce groupe apparaît comme un simple tube, mais en réalité très complexe du point de vue histologique (Figure 2.10b). Des changements histologiques s'opèrent dans le tube digestif avant même le début de l'alimentation exogène (Stroband et Dabrowski, 1981). L'intestin possède déjà à ce stade 3 segments à différentes structures et fonctions (Figure 2.10b). On note dans la première partie de l'intestin, de larges gouttelettes lipidiques dans des entérocytes. Elles sont plus nombreuses dans les membranes de la muqueuse. Dans le second segment, on observe des cellules absorbantes qui montrent de larges vacuoles supranucléaires avec beaucoup de vésicules de pinocytose. Seul le dernier segment ou rectum ne joue pas un rôle important à ce stade. On note seulement la présence de petits microvillosités.

Après la première prise d'aliment chez la perche fluviatile, les replis de la muqueuse intestinale se développent d'avantage et la différenciation longitudinale devient plus apparente (Kestemont et al., 1996). Vers son extrémité postérieure, un sphincter se forme et le rectum se différencie. D'après les observations faites par Verreth (1991) sur les larves du poisson chat (*Clarias gariepinus*), l'absorption des lipides et des acides aminés libres se déroule dans l'intestin antérieur, la pinocytose des protéines (digestion intracellulaire) a lieu dans l'intestin moyen et l'eau et les sels minéraux sont absorbés dans le postérieur. Au moment où les "gouttelettes d'huile" disparaissent, l'intestin de la larve de perche forme

ses premières boucles (Craig, 1987). Vers 100 mg, l'intestin de la perche *Perca fluviatilis* est comparable à celui de l'adulte (Craig, 1987). La perche a un court intestin et le conduit le reliant à la vessie natatoire reste fermé (cfr. poisson physocliste).

La description illustrée du développement morphologique du canal alimentaire de la perche américaine *Perca flavescens* (Figure 2.11, Dabrowski, 1991) est en parfaite adéquation avec celle rapportée chez la perche de l'Eurasie (Figure 2.12). Comme l'ont rapporté Craig (1987) et Kestemont *et al.* (1996), l'estomac de la perche fluviatile n'est pas fonctionnel avant la taille de 40 mg, même si sa structure morphologique semble déjà complète entre 10-20 mg. Il y a trois caeca pyloriques chez la perche, situés à la fin de l'intestin antérieur (Craig, 1987). Ils apparaissent simultanément chez la perchaude vers 20-30 mg en fonction de la valeur nutritive de son régime alimentaire (Dabrowski *et al.*, 1993). D'après Bergot (1981), les caeca pyloriques des poissons sont des évaginations de la paroi de l'intestin antérieur. Leur position "duodénale" à proximité du pylore et du lieu de déversement des sécrétions biliaire et pancréatique, les distingue des différentes structures rencontrées à la jonction de l'intestin grêle et du gros intestin chez d'autres vertébrés. Il existe une variabilité interspécifique considérable du nombre de caeca. Sur 150 espèces japonaises d'eau douce et d'eau de mer étudiées par (Suyehiro, 1942 in Bergot, 1981), environ 1/3 sont dépourvues de caeca, 1/6 possèdent de 1 à 10 caeca, 1/3 de 10 à 100 caeca et 1/6 un nombre plus élevé, qui peut aller jusqu'à 1000. Bien qu'ils servent aussi souvent de réservoirs de stockage d'enzymes, leur rôle n'est pas de sécréter des enzymes mais de stocker des aliments et d'allonger le temps du transit intestinal (Fänge et Grove, 1979). Après un repas, les caecae apparaissent gonflés, plus larges et plus courts que chez les poissons à jeun.

Chez les larves en général, un foie et un pancréas existent déjà à l'éclosion, mais ne deviennent fonctionnels qu'à la fin de la résorption de la vésicule vitelline (Bisbal et Bengtson, 1995; Brown, 1995). Vers la fin de la période larvaire, ils fusionnent en un hépato-pancréas (juxtaposition de deux tissus différents). Quant à la vésicule biliaire, elle se forme un peu plus tard.

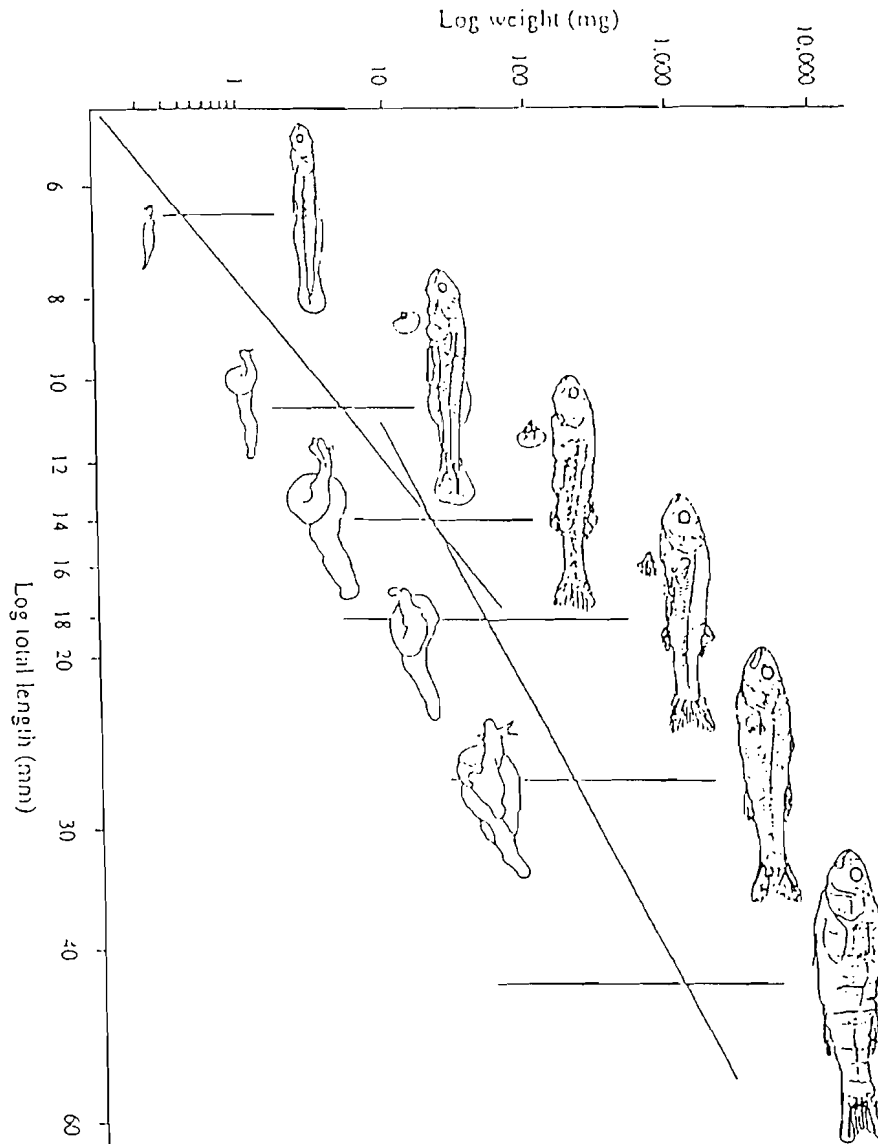


Figure 2.11. Différenciations comparées du tube digestif et du corps de la perche *Perca flavescens* (Dabrowski et Culver., 1991).

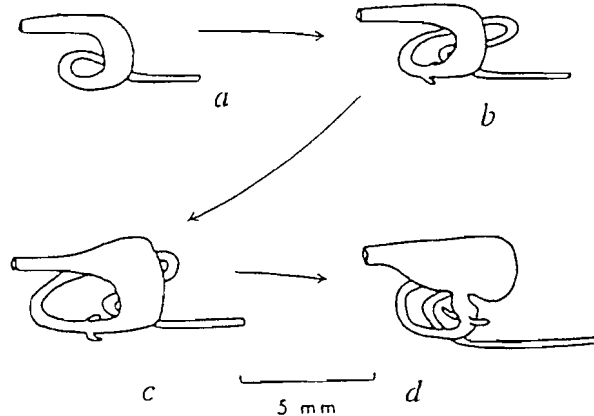


Figure 2.12. Différenciation du tube digestif de la perche *Perca fluviatilis* a, b, c et d = 1, 2, 3 et 4 semaines d'âge (Smyly, 1952).

## 2.1.4.2. L'ontogénie des enzymes digestives

### 2.1.4.2.1. Les activités trypsiques et chymotrypsiques

Les observations faites par différents auteurs semblent indiquer que les larves possèdent déjà à l'éclosion des systèmes enzymatiques protéolytiques dont les activités sont mesurables. Les larves semblent donc avoir à l'éclosion un mécanisme de digestion des protéines, assuré principalement par des enzymes analogues à la trypsine ou à la chymotrypsine. Leurs activités maximales se situent dans la zone de pH alcalin (7,9 à 9). Il existe des fluctuations de ces activités protéolytiques qui sont à relier aux périodes critiques de forte mortalité. La trypsine et la chymotrypsine sont des endopeptidases stockées dans les cellules pancréatiques sous formes de granules de zymogènes (trypsinogène et chymotrypsinogène) inactives. La trypsinogène est transformée en trypsine active dans la lumière intestinale par des protéases (entérokinases) produites par les cellules de la muqueuse intestinale. Cette activation résulte de l'hydrolyse de la liaison lysine-isoleucine de la trypsinogène. Elle atteint ses activités optimales à des pH d'environ 7. La trypsine joue le rôle d'activateur d'autres zymogènes dans l'intestin. Elle clive les liaisons entre les peptides dont les groupes carboniques proviennent de l'arginine ou de la lysine (Fänge and Grove, 1979).

La chymotrypsinogène est convertie en chymotrypsine dans l'intestin sous l'effet de la trypsine. C'est aussi une endopeptidase qui attaque les

liaisons des peptides dont les chaînes carbonyles sont d'origine aromatique (tyrosine, tryptophane, phénylalanine). Elle est mise en évidence chez tous les poissons qui contiennent de la trypsine.

### Les activités trypsiques

- Chez la larve de carpe commune par exemple, les activités trypsiques sont élevées dans l'oeuf (à pH 9) juste avant l'éclosion et décroissent rapidement après l'éclosion suggérant le rôle probable de la trypsine dans l'éclosion de cette espèce (Kawai et Ikeda, 1973). Elles augmentent de nouveau régulièrement à partir du deuxième ou troisième jour de vie (Figure 2.13a).
- Chez la daurade (*Lates calcarifer* L.), les activités des enzymes du type trypsine diminuent comme chez la carpe jusqu'au septième jour après l'éclosion, puis augmentent significativement pendant 10 jours avant de chuter à nouveau (Figure 2.13b, Walford et Lam, 1993)
- Chez la morue (*Gadus morhua* L.), une augmentation de la quantité totale de trypsine/trypsinogène (mesurée par la technique radioimmunologique) a été observée pendant les 4 premiers jours après éclosion (Figure 2.13c, Hjelmeland *et al.*, 1984). A partir du cinquième jour, une chute importante de trypsine/trypsinogène a été notée chez cette espèce indépendamment de l'alimentation. Ces auteurs ont aussi remarqué que le début de la croissance en poids coïncide très bien avec la production d'activités trypsiques.
- Chez la daurade noire (*Acanthopagrus schlegelii* L.) carnivore, les activités des enzymes du type trypsine augmentent de façon linéaire à partir de l'éclosion jusqu'au trentième jour (Figure 2.13d, Kawai et Ikeda, 1973). C'est aussi le cas chez la daurade rouge (*Pagrus major*) où l'augmentation des activités des enzymes du type trypsine dure 36 jours.
- Chez le bar (*Dicentrarchus labrax* L.) carnivore, les activités trypsiques augmentent de l'éclosion au dixième jour, puis décroissent jusqu'au quinzième jour et augmentent de nouveau jusqu'au vingt-troisième jour où elles deviennent stables. Zambonino Infante et Cahu (1994) n'ont décelé ces activités chez la même espèce qu'à partir du quatrième jour.

### Les activités chymotrypsiques

Les activités chymotrypsiques augmentent régulièrement de l'éclosion au trentième jour chez le bar (Alliot *et al.*, 1977; Zambonino Infante et Cahu, 1994). Cette évolution est semblable à celle observée chez la sole (*Solea solea* L.) chez qui, ces activités augmentent de l'éclosion à la métamorphose (Alliot, 1980).

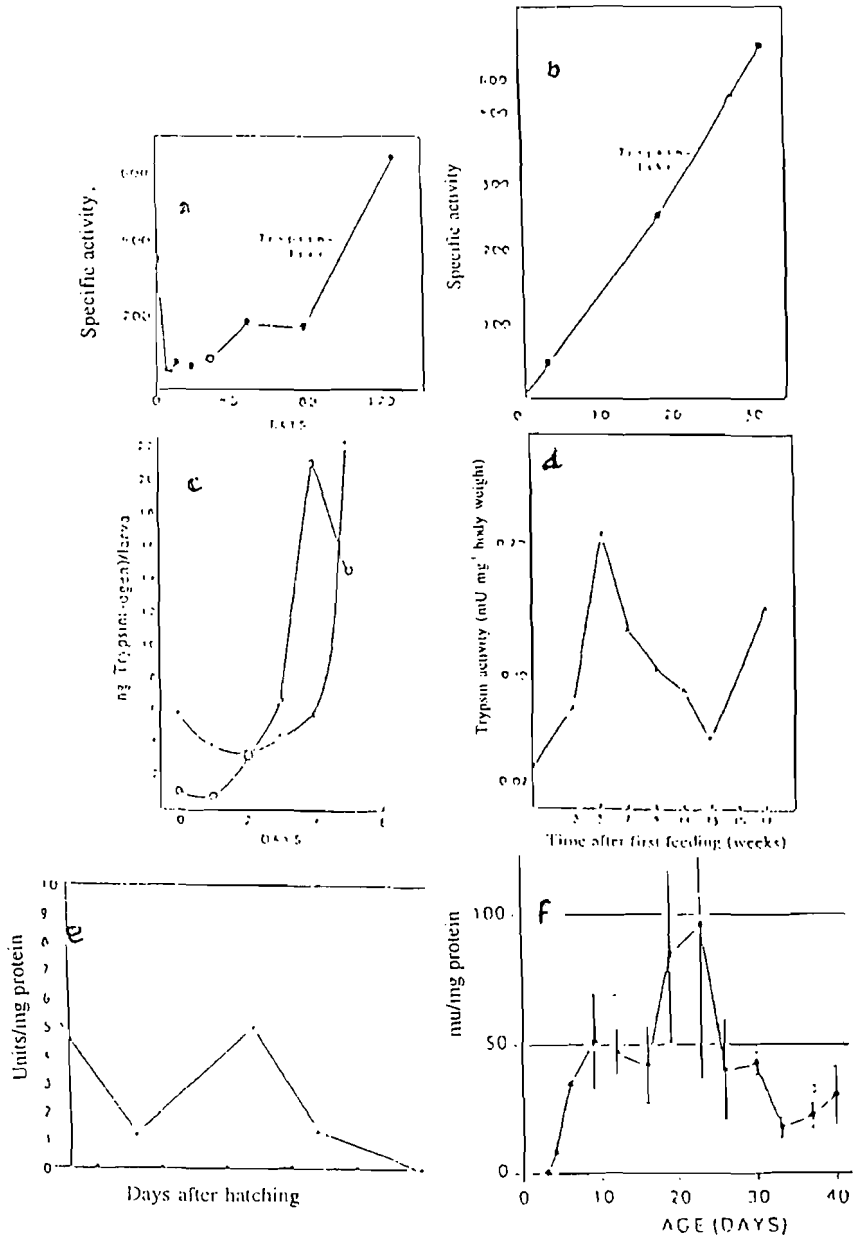


Figure 2.13. Développement des activités trypsiniques après éclosion chez la carpe (a) Kawai et Ikeda (1973), chez la daurade noire (b) Kawai et Ikeda (1973), chez la morue (c) Hjelmeland et al. (1984), chez l'ombre chevalier (d) Dabrowski et al. (1992), chez la daurade rouge (e) Walford et Lam (1993), chez le bar (f) Zambonino Infante et Cahu (1994).

Précisons que Hjelmeland et al. (1984) ont suivi le développement de la trypsine et de la trypsinogène chez la morue *Gadus morhua* par la technique de radioimmuno-essai. Cette technique de dosage quantitatif des enzymes a l'avantage d'être plus sensible que celles basées sur l'utilisation des substrats synthétiques qui sont souvent influencées par des inhibiteurs et les enzymes analogues.

#### 2.1.4.2.2. Les activités pepsiques

Les enzymes analogues à la pepsine ne commencent par jouer un rôle prépondérant dans la digestion des protéines qu'après la métamorphose des larves. La pepsine est indubitablement la protéase acide la plus importante. Elle est sécrétée sous forme de pepsinogène inactive par les cellules de la glande gastrique. La conversion de la pepsinogène en pepsine active a lieu en milieu acide sous l'effet de la pepsine. La pepsine est une endopeptidase dont la particularité est de cliver les liens peptidiques formés par des acides aminés des groupes aromatiques et acides. Elle attaque surtout les protéines, mais pas les mucines, les spongines, les conchiolines, les kératines ou les peptides de faible poids moléculaires (Fänge et Grove, 1979). Passons en revue quelques observations faites chez les larves de poisson.

- Chez la carpe commune, les activités pepsiques sont faibles dans les œufs et ne croissent pas avant l'apparition des glandes gastriques (Figure 2.14 a; Kawai et Ikeda, 1973).
- Chez la daurade noire, elles sont assez élevées dans les œufs, décroissent après l'éclosion (Figure 2.14 b) et augmentent 3 semaines après celle-ci, quand l'estomac s'est différencié. C'est à ce moment que les larves ingèrent du zooplancton de plus grande taille. Cela indiquerait que la digestion est surtout accomplie grâce à la trypsine les 20 premiers jours, et ce n'est qu'après que la pepsine prend le relais (Figure 14 c ; Kawai et Ikeda, 1973). Tanaka (1972) ont toutefois rapporté chez cette espèce que les activités pepsiques apparaissent au quinzième jour, moment où débute la métamorphose.
- Chez la daurade rouge, les activités pepsiques sont faibles à l'éclosion, comme chez la carpe. Elles n'augmentent que vers le huitième jour (Figure 2.14b). Les faibles activités décelées à l'éclosion seraient probablement dues aux activités des protéases lysosomiales souvent impliquées aussi dans la digestion intracellulaire de l'intestin postérieur. Elles pourraient simplement provenir d'autres enzymes situées hors du tube digestif qui ont contaminé l'homogénat dosé (Walford et Lam, 1993).
- Chez le bar, ces activités pepsiques n'apparaissent vraiment que 25 jours après l'éclosion et chez la sole, qu'après 10 jours, à pH 2,5 (Alliot, 1980).

- Chez l'ayu (*Plecoglossus altivelis* L.), les activités spécifiques de la pepsine sont plus ou moins stables jusqu'à la métamorphose qui débute vers le quinzième jour (Kawai et Ikeda, 1973).

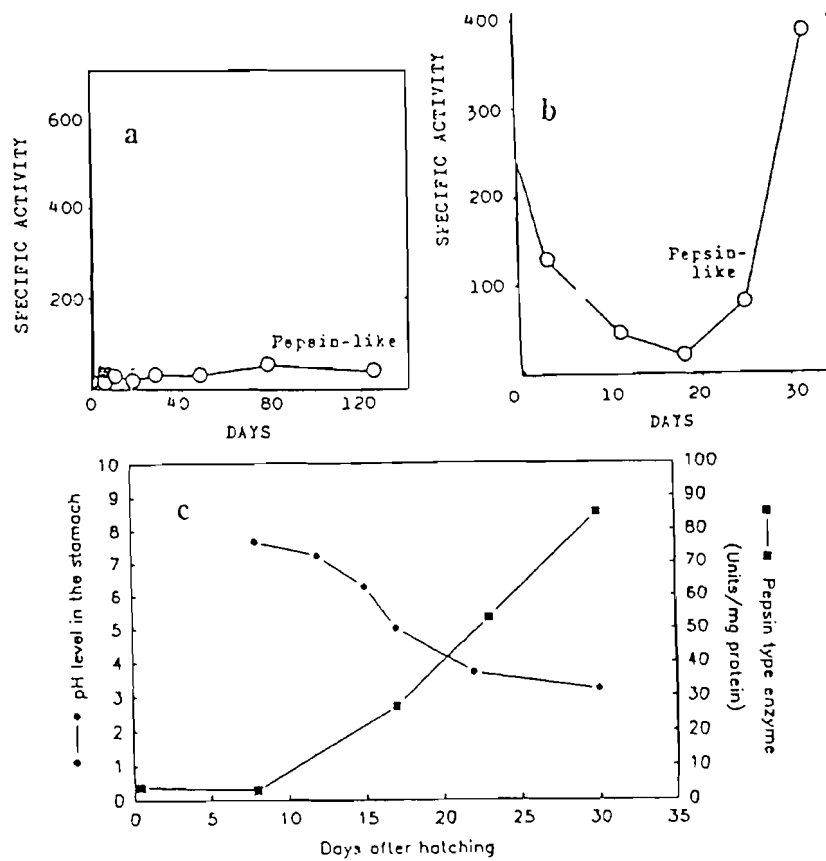


Figure 2.14. Développement des activités pepsiques après éclosion chez la carpe commune (a) Kawai et Ikeda (1973), chez la daurade noire (b) Kawai et Ikeda (1973), chez la daurade rouge (c) Walford et Lam (1993).

### 2.1.4.2.3. Les activités amylasiques

De l'ensemble des résultats obtenus par différents chercheurs, il semble que les activités amylasiques existent chez les larves de poisson, quel que soit le régime alimentaire des espèces considérées. Cependant, son origine ne semble pas bien définie. Chez les poissons téléostéens qui se nourrissent de plante telle que le *Tilapia mossambica*, l'amylase a été dosée dans toutes les parties du tube digestif (Nagase, 1964). Chez la



perche (*Perca fluviatilis*) un poisson carnivore au contraire, elle a été trouvée dans les tissus diffus de connection pancréatiques entourant l'intestin. Elle a des activités optimales aux alentours de pH 6,71. En général, les activités amylasiques augmentent parallèlement à la croissance des poissons.

Chez la carpe, les activités de la maltase et de l'amylase ont pu être mises en évidence à partir du septième jour après l'éclosion (Kawai et Ikeda, 1973). Person-Le Ruyet *et al.* (1989) et Zimbonino Infante et Cahu. (1994; 1996) ont observé de fortes activités amylasiques chez le bar (*Dicentrarchus labrax* L.) de l'éclosion jusqu'au delà du vingt cinquième jour. Les activités amylasiques ne sont en général pas affectées par la métamorphose, et chez la plupart des espèces, augmentent parallèlement à la croissance, jusqu'au niveau de celles des jeunes poissons.

#### 2.1.4.2.4. Les activités lipidiques

Tanaka (1972), en étudiant le développement d'une vingtaine d'espèces de Téléostéens au laboratoire ou dans la nature, souligne l'importance des lipides dans l'alimentation des larves qui viennent de résorber leur vésicule vitelline. Les larves les plus actives ont les plus grandes chances de survie. Les lipides semblent être les facteurs nutritifs les plus efficaces pour fournir l'énergie nécessaire à l'activité (Watanabe *et al.*, 1982). Aussi, les auteurs observent une concordance entre l'abondance des gouttelettes lipidiques dans les cellules de l'intestin antérieur et la croissance des larves. Cependant, aucune précision n'a été apporté à l'existence d'une lipase spécifique chez la larve de poisson. La présence des activités lipasiques semble plus probable dans le pancréas que dans les autres parties du tube digestif (Kapoor *et al.*, 1975).

Les quelques études réalisées sur les poissons adultes font apparaître deux types d'activités lipasiques du pancréas. Ces activités sont différentes l'une de l'autre, par l'existence ou non d'une hydrolyse en l'absence de sels biliaries. Cependant, on ne sait pas encore si les deux types d'activités sont le fait de deux enzymes fondamentalement distinctes.

#### 2.1.4.2.5. Autres enzymes

Beaucoup d'autres enzymes ont été identifiées dans la lumière de l'intestin des poissons : aminopeptidases, di et tripeptidases, nucléosidases, polynucléosidases, lécithinases etc. (Fange et Grove, 1979). Zimbonino Infante et Cahu (1994) ont dosé dans l'intestin du bar (*Dicentrarchus labrax* L.) des activités de l'alkaline phosphatase, de la leucine aminopeptidase et du  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase similairement croissantes du quatrième au vingtième jour après éclosion (Figure 2.15).

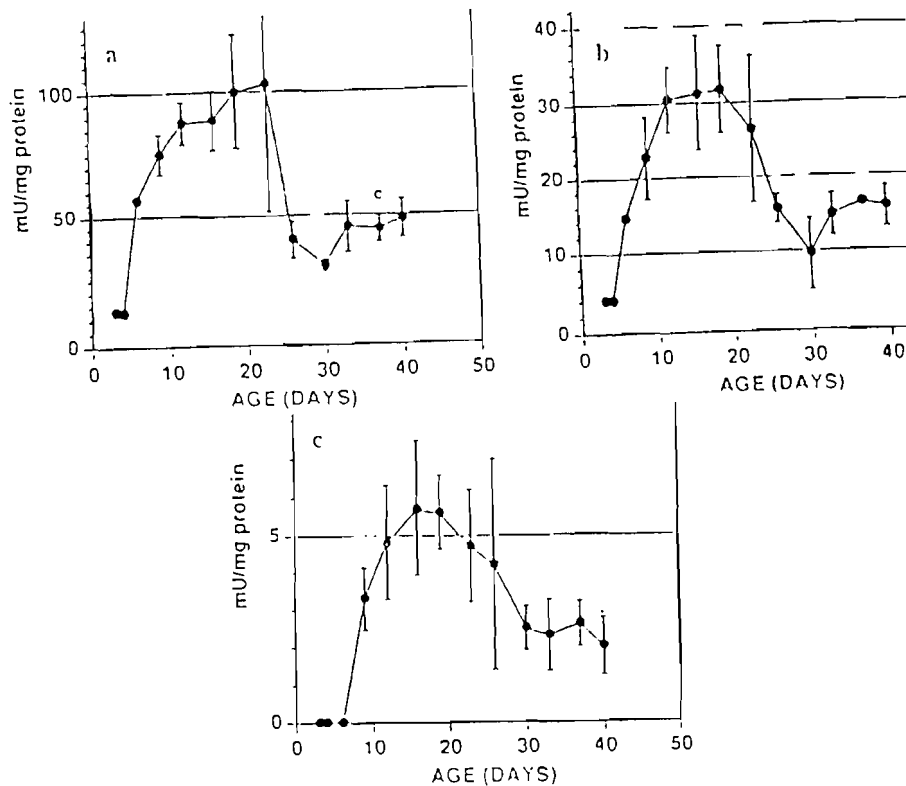


Figure 2.15. Développement des activités de l'alkaline phosphatase (a), de la leucine aminopeptidase (b) et du  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (c) (Zambonino Infante et Cahu, 1994).

#### 2.1.4.2.6. Quelques observations préliminaires chez la perche

Des analyses préliminaires lors de la présente étude ont montré la présence de quelques protéases digestives (trypsine, chymotrypsine et pepsine) dans l'œuf et dans le tube digestif de la larve de perche à différents stades précoces de développement. Ainsi, les quelques résultats préliminaires obtenus par des techniques de dosage basées sur des substrats synthétiques (Benzoyl-L-Arginine-P-Nitroanilide pour la trypsine, Glutaryl-phényl-Alanine-P-Nitroanilide pour la chymotrypsine et l'hémoglobine bovine pour la pepsine) sont synthétisés comme suit :

---

Echantillon	Activités des protéases digestives (U mg protéines)		
	Trypsine	Chymotrypsine	Pepsine
Oeuf de 10 h	5,67±1,40	88,14±1,49	3,68±1,20
Oeuf de 24 h	12,74±0,07	158,62±2,42	3,11±1,25
Oeuf de 34 h	3,20±1,25	81,32±12,5	49,84±5,60
Larves de 0,9 mg	31,11±4,75	77,56±8,39	7535,18±478,5
Larves de 12 mg	36,49±4,10	92,82±10,18	6588,50±485,5
Larves de 35 mg	5,00±1,53	12,12±2,34	9340,20±1327,25

Ces observations ont été faites chez des larves nourries avec des nauplii d'*Artemia*. Vu la taille très faible des échantillons des tubes digestives des larves à ce stade, ces résultats méritent d'être affinés avec des techniques plus sensibles (immuno-essai par exemple) où les enzymes ne pourront pas être influencées par des inhibiteurs et autres enzymes de même type.

---

## 2.2. Recherches expérimentales

### 2.2.1. Effets du type d'aliment

Différentes expériences ont été réalisées, visant à déterminer les conditions optimales de la production en masse d'alevins de la perche *Perca fluviatilis*. Les exigences alimentaires des poissons varient au cours de leur développement, différentes tailles de larves ont fait l'objet de cette étude et les aliments vivants (rotifères et *Artemia*) ou secs (Seabream start) reconnus performants en larviculture ont été apportés en abondance. Toutes les expériences se sont déroulées dans des bacs installés en batteries dans des circuits semi ouverts.

#### 2.2.1.1. Performances zootechniques comparées

L'objectif de cette expérience est de déterminer l'efficacité de différents aliments vivants sur la survie et la croissance des larves de perche. Des études réalisées précédemment sur l'appétence de certains aliments vivants (Awaiss *et al.*, 1992) ont prouvé que les organismes de petites tailles (rotifères: 100 - 300  $\mu\text{m}$ , nauplii d'*Artemia*: 400 - 500  $\mu\text{m}$ ) sont plus accessibles aux larves à l'éclosion en attendant que leur bouche ait une ouverture nécessaire pour capter les proies de grande taille (métanaupliis d'*Artemia* : 800 - 1500  $\mu\text{m}$  ou copépodes: 1000 - 2000  $\mu\text{m}$ ). Des essais ont donc été effectués à partir d'un apport régulier de proies vivantes telles que les rotifères d'eau douce (*Brachionus calyciflorus*) et les nauplii d'*Artemia*.

##### 2.2.1.1.1. Matériel et méthodes

###### 2.2.1.1.1.1. Installations expérimentales

L'expérience a été réalisée dans 4 bacs rectangulaires (2,54 x 0,45 x 0,23 m) de volume utile 170 litres, superposés dans deux circuits parallèles, semi-ouverts, équipés chacun d'un bac de filtration et d'une lampe U.V.. Les circuits sont périodiquement approvisionnés en eau de ville, préalablement stockée et aérée dans une cuve de 2000 litres. Le renouvellement de l'eau dans les 4 bacs d'élevage se fait de façon continue, en circuit fermé, à l'aide d'une pompe de refoulement qui draine l'eau décantée et biologiquement filtrée au travers d'un réseau de tuyaux flexibles en amont duquel se trouve une lampe de désinfection à lumière ultraviolette. Le bac de décantation et de filtration est composé d'un mélange de billes d'argex et de graviers calcaires sur lesquels se développent des bactéries nitrifiantes. Il est relié à un système d'ultrafiltration mécanique constitué par du charbon actif et une toile moustiquaire à fines mailles qui retiennent les microparticules.

L'alimentation des larves est assurée par une pompe péristaltique raccordée en amont à 4 bouteilles plastiques dans lesquelles sont versées les solutions de Rotifères ou de nauplii d'*Artemia* et en aval aux bacs d'élevage. La pompe fonctionne sur minuterie. Son débit et sa fréquence de distribution sont programmés en fonction de la ration, de la taille et de la biomasse des larves à nourrir.

#### 2.2.1.1.2. Production en masse de rotifères

Le système de culture en bêche (Awaïss, 1991) est essentiellement utilisé dans la production en masse des Rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* utilisé dans cette expérience. Le principe de cette technique est de cultiver en grand volume des algues microscopiques unicellulaires quasi-stériles et d'inoculer avec une souche pure de femelles amictiques de Rotifère, préalablement acclimatées à cette source de milieu algal. L'algue utilisée dans le cadre de cette étude était le *Dictyosphaerium chlorelloïdes* de souche pure cultivée avec le milieu de Schlösser (1982) dont la composition est présentée en annexe 11. La pureté de la souche a été assurée par des cultures renouvelées (une semaine de fréquence) en petits volumes de 0,5 l à 10 l dans des ballons ou bouteilles à 100 % stériles (autoclavés). Lorsque ces cultures d'algues stériles atteignaient la densité de 30-40 millions de cellules par ml, elles étaient utilisées pour inoculer des milieux de culture identiques réalisés en grands volumes (25 l) dans des sacs en polyéthylène, à la densité de 1,2-1,6 millions de cellules par ml de milieu de culture. Avant la mise en culture des algues dans les sacs, ceux-ci étaient d'abord désinfectés avec l'eau de javel (1 ml/10 l) qu'on laissait agir pendant au moins une heure avant de la neutraliser avec du thiosulfate de sodium concentré (250 g.l<sup>-1</sup>) à la même concentration. Quand le développement des algues en grands volumes avoisinait la concentration de 14 millions de cellules par ml, on les inoculait avec les Rotifères, à des densités variables (2 à 10 ind.ml<sup>-1</sup>) en fonction du temps prévu pour l'éclosion des oeufs de perche. Le mélange continu des différentes cultures était assuré par un renouvellement constant d'air dans les récipients, évitant ainsi la sédimentation des algues et la prolifération des bactéries et des ciliés qu'elle pourrait favoriser. Dans de bonnes conditions physico-chimiques (lumière = 2000 lux, température = 25±1 °C, oxygène dissous > 10 mg.l<sup>-1</sup> et respect rigoureux de la formule minérale du milieu de Schlösser), les cultures d'algues atteignaient leurs densités optimales au bout de 4 à 7 jours et les concentrations des rotifères en cultures étaient multipliées par 5 tous les jours jusqu'à insuffisance des densités algales. La récolte des Rotifères se faisait sur un tamis fin de 63 µm.

#### 2.2.1.1.3. Production de nauplii d'*Artemia*

Les nauplii d'*Artemia* ont été obtenus à partir de l'incubation de cystes secs procurés dans le centre "INVE Aquaculture Belgium". Le matériel d'incubation était composé de 4 cuves coniques en polyéthylène de volume utile 40 l équipés d'une vanne de sortie et d'un tuyau d'aménagé

d'air raccordé à un aérateur. L'incubation se faisait dans de l'eau salée par du chlorure de sodium à la concentration de 25 g l<sup>-1</sup>, maintenue à température constante de 25 °C, fortement oxygénée et illuminée. La masse de cystes incubés par jour était estimée au tiers du besoin quantitatif en nauplii pour les larves de poisson le jour suivant. L'éclosion avait lieu au bout de 24 heures et les nauplii étaient récoltés sur un tamis de 100 µm. Quinze minutes environ avant la récolte, les cystes non éclos déposés au fond de la cuve étaient évacués par un jeu rapide d'ouverture et de fermeture de la vanne de sortie, on arrêtait ensuite l'aération et on déplaçait la lampe vers le bas, en vue d'attirer les nauplii phototactiles vers le fond de la cuve pour les récolter.

#### 2.2.1.1.1.4. Origine des larves

Les larves étaient issues d'oeufs pondus en captivité par des géniteurs pêchés dans le milieu naturel quelques jours avant la saison de reproduction et alimentés avec des ablettes. Les oeufs ont été d'abord incubés dans une eau de même température (10 °C) que celle de stockage des géniteurs, où ils ont évolué jusqu'au stade yeux (1 à 2 jours avant éclosion). A ce stade, les oeufs ont été répartis au hasard, par pesée et comptage dans les bacs d'élevage à la densité de 10 000 oeufs par bac (soit 60 œufs l<sup>-1</sup>). Cette procédure nous a permis d'éviter les fortes mortalités qu'engendre la manipulation des larves de la perche fluviatile.

#### 2.2.1.1.1.5. Protocole expérimental

Les larves ont été soumises à deux régimes alimentaires différents : 50 % de Rotifères + 50 % d'*Artemia* pendant 5 jours suivi de 100 % d'*Artemia* pendant 9 jours d'une part et 100 % d'*Artemia* exclusivement pendant 14 jours d'autre part. Les traitements alimentaires étaient dupliqués avec une ration identique fixée en excès à 30 % de la biomasse totale de manière à éviter toute interférence entre la qualité et la quantité d'aliments servis. Un contrôle de croissance des larves était effectué tous les deux jours par prélèvement au hasard et pesée de 10 larves par bac. En fin d'élevage (15<sup>ème</sup> jour), un comptage systématique de toutes les larves a été effectué en vue d'évaluer l'effet des traitements sur la survie des larves. Les poids vifs initiaux et finaux ont été estimés à partir de 20 larves prélevées au hasard par bac, soit 40 larves par régime.

Les différents paramètres de croissance ont été calculés de la façon suivante :

$$\bullet \text{ SGR} = 100 (\text{Ln}P_2 - \text{Ln}P_1) \cdot \Delta t^{-1}$$

SGR = taux de croissance spécifique (%.j<sup>-1</sup>),

LnP<sub>1</sub> = logarithme népérien du poids initial

LnP<sub>2</sub> = logarithme népérien du poids final

P<sub>1</sub> et P<sub>2</sub> = poids moyens initial et final des poissons (mg),

$$\bullet \text{ TC} : P_A (B_{m2} - B_{m1})^{-1}$$

TC = taux de conversion alimentaire,

$B_{m1}$  et  $B_{m2}$  = biomasses initiale et finale de poissons par bassin (mg),

$P_A$  = poids sec d'aliment distribué par bassin (mg).

#### 2.2.1.1.2. Résultats

Une observation visuelle a montré qu'environ 30 % des larves élevées avec le régime à 100 % *Artemia* se sont alimentées le premier jour (2 jours après éclosion) contre plus de 50 % dans les groupes soumis au régime Rotifères + *Artemia*. Au sixième jour d'alimentation, toutes les larves étaient déjà sous régime 100 % *Artemia* et l'observation a montré que les larves des lots qui ont reçu préalablement un mélange de Rotifères et de nauplii d'*Artemia* sont plus homogènes (3 - 6 mg) et ont toutes le tube digestif rempli, alors que plus de 5 % des groupes sous 100 % *Artemia* ne se sont pas encore alimentées et sont immobiles au fond des bacs. Ces larves immobiles qui ont certainement atteint leur point de non retour ont disparu par la suite. A cette même période (Figure 2.16), une hétérogénéité de tailles se faisait sentir dans ce dernier lot (0,8 - 6,6 mg). Ces observations préliminaires ont été confirmées au terme des 14 jours d'alimentation des larves des 2 différents groupes. Ainsi le tableau 2.15 montre un taux de survie et une biomasse significativement élevés ( $p < 0,01$ ) pour les larves nourries avec Rotifères + *Artemia*. Nous n'avons toutefois pas pu montrer qu'il existe une différence significative pour le poids vif et le taux de croissance spécifique moyens entre les deux régimes testés ( $p > 0,05$ ). Cependant, la comparaison des variations de poids des larves des deux populations, par le test de  $\chi^2$  a montré une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ). Les deux régimes présentent de faibles taux de conversion alimentaire (0,43 pour 100 % *Artemia* et 0,36 pour Rotifères + *Artemia*), indiquant qu'ils ont été bien utilisés par les larves.

Des relations de type exponentiel ont été utilisées pour modéliser la croissance des larves de perche sous ces deux régimes d'aliments vivants (Figure 2.16) avec des coefficients de corrélations de 0,997 pour le régime 100 % *Artemia* et 0,994 pour le régime Rotifères + nauplii d'*Artemia*.

Tableau 2.15. Performances de croissance des larves de perche fluviatile nourries avec 100 % Artemia et Rotifères + Artemia

Paramètres de croissance	100 % Artemia		Rotifère +Artemia	
Nombre initial	10000a	±0,00	10000a	±0,00
Nombre final	3428,00a	±1340,67	5019,50b	±1718,98
Survie (%)	34,28a	±13,41	50,19b	±17,19
Poids initial (mg)	1,15	±0,04	1,15	±0,04
Poids final (mg)	20,88a	±4,37	17,86a	±0,61
Biomasse initiale (mg)	11450,00	±353,55	11450,00	±353,55
Biomasse finale (mg)	68647,32a	±13013,20	89125,61b	±27648,50
Aliment distribué (mg)	24606,25	±3314,56	25867,50	±0,00
Taux de conversion alimentaire	0,43a	±0,04	0,36a	±0,13
SGR (%jour <sup>-1</sup> )	20,66a	±1,73	19,62a	±0,02

Poids sec d'un rotifère = 0,00021 mg, poids sec *Artemia* estimé à 1/16 poids frais, différentes lettres sur une même ligne impliquent que les valeurs sont significativement différentes.

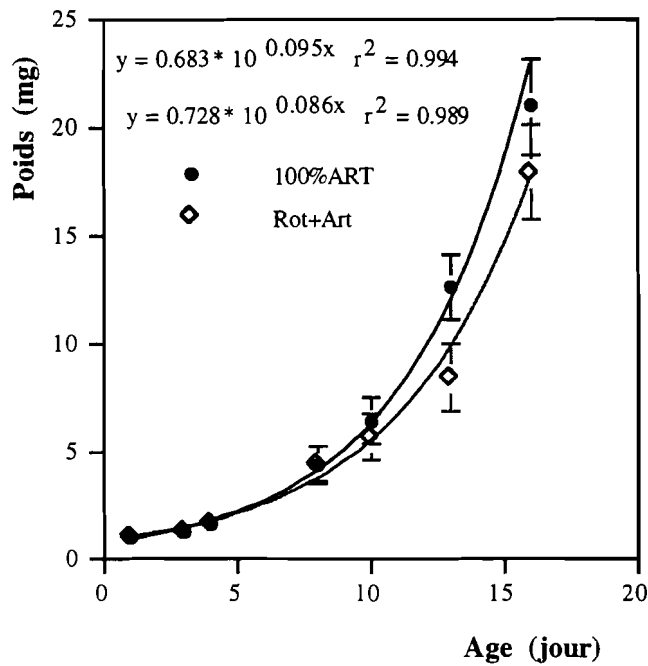


Figure 2.16. Croissances comparées des larves de perche fluviatile élevées avec 100 % Artemia et Rotifères + Artemia



### 2.2.1.1.3. Discussion

La forte densité de mise en charge des larves (60 ind l<sup>-1</sup>) lors de la présente étude et leur remarquable sensibilité aux manipulations observée précédemment ne nous ont pas permis de dénombrer rigoureusement chaque jour la mortalité. Nous avons toutefois constaté une plus forte mortalité dans tous les groupes en général à partir du septième jour après éclosion jusqu'à la fin de l'expérience (seizième jour après éclosion). Une observation similaire a été faite récemment par Wang et Eckmann (1994) qui ont su localiser cette forte mortalité entre le septième et le neuvième jour à 20°C chez la même espèce. Ces auteurs ont qualifié cette période de critique, pendant laquelle, la survie et même la croissance des larves de perche fluviatile sont affectées. Les courbes représentées à la figure 2.16 correspondantes aux effets des différents régimes sur la croissance sont en parfaite adéquation avec cette hypothèse. Remarquons que jusqu'au septième jour, la croissance est restée faible et indépendante du régime. L'effet du régime ne devient apparent qu'au-delà de neuf jours après éclosion. Wang et Eckmann (1994) ont attribué cette mortalité au jeûne car, jusqu'à cette date, ils ont observé qu'il y avait 20 à 30 % de larves qui ne s'alimentaient pas encore malgré l'abondance des Rotifères. Dans la présente étude, toutes les larves du régime (Rotifères + *Artemia*) ingéraient l'aliment et c'est à peine 5 % des larves soumises au régime 100 % *Artemia* qui ne s'alimentaient pas encore à cette période, mais pourtant la période critique est restée identique à celle rapportée par Wang et Eckmann (1994). Des études réalisées dans le milieu naturel ont tendance à démontrer que cette période critique de forte mortalité des larves de la perche fluviatile correspond à une pénurie de proies vivantes (Menshutkin *et al.*, 1968; Craig, 1987) ou à une fluctuation de la température (Klipling, 1976). Cette hypothèse est à exclure de la présente étude, car la température de l'eau d'élevage a été fixée à 23 °C, optimum recommandée pour la perche. Aussi, les aliments vivants (rotifères et nauplii d'*Artemia*) à haute valeur nutritive pour les larves de poissons étaient apportés en abondance. Ribí (1992) a observé dans des expériences similaires que ce sont les larves de perche qui n'ont pas leur vessie natatoire remplie d'air qui font l'objet de cette mortalité. Son hypothèse est aussi à exclure ici, puisque le nombre de larves immobiles dans les bacs d'élevage semblait bien négligeable comparé à la mortalité journalière observée pendant notre expérience. Par ailleurs, les larves immobiles étaient toutes très maigres (homogènes) et certaines survivaient encore au début des fortes mortalités. Ces constatations font penser que la période critique des larves de perche correspondrait à leur étape de métamorphose et serait sous la dépendance de certains facteurs endogènes. Cette forte mortalité peut probablement être l'effet direct ou indirect de carences nutritionnelles. En effet, la période de métamorphose exige des besoins élevés en nutriments, notamment en nutriments constructeurs et énergétiques tels que les acides aminés et les acides gras essentiels. Il est par exemple bien établi que des carences alimentaires en lysine (Mazid *et al.*, 1978; Walton *et al.*, 1984) ou en acide gras linoléique (Takeuchi *et al.*, 1990, 1991; Watanabe *et al.*, 1989) se manifestent par une mortalité massive dans les

populations de poissons. Aussi, la carence en acides gras essentiels se traduit par la baisse du pouvoir immunitaire des larves de poisson et les expose aux maladies diverses, surtout celles d'origine bactérienne (Peck, 1994). On pourrait aussi imaginer, qu'en raison de leurs besoins élevés en nutriments pendant la période de métamorphose, à cause d'une vitesse de synthèse des tissus plus élevée (Houlihan, 1991), les larves ont consommé plus de proies; et cette surconsommation instantanée a nécessité brusquement une demande en oxygène, supérieure à la concentration disponible dans l'eau d'élevage, entraînant de ce fait, une mortalité élevée. Lorsqu'on observe les résultats de Wang et Eckmann (1994), il apparaît clairement de fortes mortalités (83,8 et 100 %) et de faible croissance (0 et 6,8 mm) à 15 et 20°C pour la plus forte densité de Rotifères (12 000.l<sup>-1</sup>) comparées à celles obtenues à 6000 Rotifères l<sup>-1</sup> (89,2 et 58,3 % pour les mortalités, 0 et 7,8 mm pour les croissances) pour les mêmes températures. La quantité de Rotifères seule apportée par jour au cours de cette expérience était de 6 000 000 pour 2 x 160 litres d'eau (soit 18 750 Rotifères .l<sup>-1</sup>), ce qui apparaît déjà (les *Artemia* non comprises) supérieure à la ration maximale critique de Wang et Eckmann (1994).

Cependant, les taux de conversion alimentaire (TC) obtenus dans notre étude (0,36 - 0,43) montrent que les aliments ont été très bien utilisés, suggérant ainsi que les causes de la forte mortalité temporaire seraient probablement d'origine exogène (parasites ou facteurs physiques et chimiques). Ces valeurs de TC calculées ici sont nettement meilleures comparées à celle rapportée (0,80) par Awaïss *et al.* (1992) sous un régime de 7 000 Rotifères.l<sup>-1</sup> d'eau par jour pendant 10 jours à 25°C à des larves de perche fluviatile. Le taux de croissance spécifique (19,3 %.J<sup>-1</sup>) obtenu par ces auteurs est très similaire à ceux obtenus dans la présente étude (19,6 - 20,7 %.J<sup>-1</sup>), mais la survie de leurs larves (83,5 %) est nettement meilleure à celles observées dans la présente étude (34,3-50,2 %). Le taux de survie particulièrement élevé observé par Awaïss *et al.* (1992) serait dû au fait que leur expérience soit arrêtée au début de la période critique des larves, ou probablement parce que la densité des proies était au niveau optimum requis. En effet la meilleure densité de proies recommandée par Wang et Eckmann (1994) est de 6 000 Rotifères par litre à 20°C.

En conclusion, cette expérience a montré que l'apport de Rotifères améliore considérablement la survie et réduit de façon significative l'hétérogénéité des classes de tailles communément observées dans les populations de perche fluviatile. Beaucoup d'efforts restent cependant à faire pour clarifier les causes de la forte mortalité qui survient chez cette espèce au début de la deuxième semaine de vie.

### 2.2.1.2. Alimentation des larves prégressies

La production d'alevins apparaît comme un des problèmes majeurs dans l'intensification de la culture commerciale des Percidés (Heidinger et Kayes, 1986). La finesse et la fragilité des larves, de même que leur dé-

pendance vis-à-vis des proies vivantes constituent des facteurs limitants essentiels de leur élevage. Dans le milieu naturel, les besoins des larves de perche fluviatile varient au cours de leur croissance avec la taille des proies vivantes (des rotifères aux petits cyprins, Craig, 1987; Guti, 1993). Ces exigences alimentaires de la perche peuvent aussi varier en captivité avec le stade de croissance du poisson. Si les besoins en aliment vivant semblent très importants en phase de démarrage, le poisson est susceptible d'accepter de l'aliment inerte après quelques jours, voire de l'aliment artificiel. Des études récentes portant sur la détermination des besoins en acides gras essentiels chez les larves du poisson ont montré que les acides gras hautement polyinsaturés (HUFA) de la série n-3 (eicosapentanoïque, EPA et docosahexanoïque, DHA) jouent un rôle important dans le développement des larves de poissons marins comme d'eau douce (Ashraf *et al.*, 1993). Les percidés semblent particulièrement concernés par cette hypothèse parmi les poissons d'eau continentale, étant données les fortes concentrations de n-3 HUFA observées dans le corps des larves de la perchaude (Dabrowski *et al.*, 1991) et de la perche européenne adulte (Vacha *et al.*, 1993). Chez les larves de poissons marins, les exigences en HUFA de la série n-3 sont comblés par un enrichissement de la concentration en ces acides gras des nauplii d'*Artemia* par bioencapsulation à l'aide de préparations spécifiques. Cet enrichissement nécessitant une incubation des nauplii durant 24 heures conduit à l'obtention de méta-nauplii Instar III d'une taille de 800  $\mu\text{m}$ , soit 2 fois plus grands que les nauplii fraîchement écloses (Instar I : 450  $\mu\text{m}$ ).

La méthode de bioencapsulation à l'aide d'une solution aqueuse de Selco (*Artemia* System, INVE, Belgique) a été utilisée dans le cadre d'expérience d'alimentation des larves prégressives (7-8 mg). L'expérience visait à évaluer l'efficacité d'*Artemia* enrichies en HUFA n-3 sur la survie et la croissance des larves de perche et à comparer les résultats avec des poissons nourris avec des *Artemia* vivantes non enrichies, des *Artemia* congelées ou de l'aliment artificiel (Seabream, Nippai Shrimp Feed, Japon).

#### 2.2.1.2.1. Matériel et méthodes

##### 2.2.1.2.1.1. Installations expérimentales

Les circuits d'alimentation en eau étaient identiques aux précédents. Les seules différences se situaient au niveau des bacs de décantation qui étaient distinctes des bacs de filtrations, et les unités d'élevage qui étaient composées de 6 couples de bacs (un petit bac disposé à l'intérieur d'un plus grand). Les bacs internes de dimensions 0,4 x 0,3 x 0,3 m et de volume utile 25 litres ont pour rôle de contenir les larves. Ces bacs sont équipés de grandes ouvertures latérales recouvertes de toile ablutée dont la taille des mailles (de 250 à 1000  $\mu\text{m}$ ) est adaptée à la taille des larves en nourrissage. Ces ouvertures offrent une grande surface d'évacuation de l'eau, limitant ainsi les risques d'obturation des filtres et assurent par con-

séquent un bon renouvellement de l'eau d'élevage. Le niveau inférieur et le fond des bacs intérieurs ne sont pas perforés afin de maintenir un volume d'eau minimum dans ceux-ci lors de la vidange des bacs extérieurs.

Le rôle des bacs extérieurs de dimensions 0,5 x 0,35 x 0,35 m était de maintenir un niveau d'eau satisfaisant dans le bac intérieur. Un système de trop-plein assurait l'évacuation de l'eau vers le compartiment de décantation situé au niveau central. Ce dispositif permettait le transfert journalier des larves d'un bac interne usagé vers un autre de même type propre. Le bac usagé présentait en effet, très rapidement un encroûtement de ses parois, provoqué par un développement d'algues et de bactéries filamenteuses, avec comme conséquence le piégeage et la décomposition des matières nutritives. Après siphonnage des déchets, les larves étaient transférées sans encombre et sans manipulation directe vers un nouveau bac. Le bac encroûté est alors nettoyé facilement au jet d'eau chaude.

Chaque couplage de bacs d'élevage est équipé d'une alimentation en eau individuelle, avec réglage du débit, et un système d'aération également réglable.

Ce dispositif inspiré du système I.N.R.A. de Saint Pée sur Nivelles en France (Charlon et Bergot, 1984; 1986), nous permet de maintenir les larves dans des conditions optimales d'hygiène durant toute leur phase de grossissement.

#### 2.2.1.2.1.2. Origine des larves

Les larves ayant servi à cette expérience ont été initialement pré-grossies de 0,8 mg à 7-8 mg dans des bacs allongés de 170 litres, avec une alimentation en excès composée d'un mélange de rotifères (*Brachionus calyciflorus*) et de nauplii d'*Artemia*.

#### 2.2.1.2.1.3. Protocole expérimental

Lorsque les larves ont atteint une taille moyenne de 7.6 mg au bout de dix jours, elles ont été réparties au hasard dans 12 bacs de 25 litres à la densité de 700 individus par bac (soit 28 poissons par l). La température et l'oxygène dissous de l'eau mesurés quotidiennement ont varié respectivement de 19 à 21°C et de 6 à 7 mg.l<sup>-1</sup>. La photopériode était maintenue constante à 16 heures d'éclairage (7 à 23 heures). Tous les lots de poissons étaient nourris quatre fois par jour avec une ration alimentaire qui était fixée en fonction de leur poids vif moyen et de leur biomasse. La ration fixée au début de l'expérience à 40 % de biomasse a été régulièrement diminuée de 5 % tous les 3 ou 4 jours. Elle n'était donc que de 10 % de biomasse par bac (2 bacs par traitement) à la fin de l'expérience. Les poissons nourris à l'aliment artificiel ont été d'abord habitués à ce régime par un changement progressif en 4 jours des nauplii d'*Artemia* au régime 100 % artificiel. Le schéma d'alimentation suivi pour ce sevrage préexpérimental peut être représenté comme suit:

jour 1 = 75 % *Artemia* + 25 % aliment sec

jour 2 = 50 % *Artemia* + 50 % aliment sec

jour 3 = 25 % *Artemia* + 75 % aliment sec

jour 4 = 100 % aliment sec

Aliment sec était du Seabream initial 1 (500-800  $\mu\text{m}$ ) ou 2 (1-2 mm) Nippai Shrimp Feed, Japan dont la teneur en protéines brutes dosée par chromatographie gazeuse à l'aide du "CARLO-ERBA 1500" est de (57,9 $\pm$ 0,7) % de matière sèche.

La teneur en protéines brutes des nauplii d'*Artemia* dosée par la même méthode est de 45,2 $\pm$ 0,5 % de matière sèche.

Au début de l'expérience, leur nombre a été réajusté. Les contrôles de croissance des différents groupes de larves traitées ont été effectués tous les 3 jours, par prélèvement et pesée de 10 poissons par bac et les rations étaient recalculées en fonction des nouveaux poids et biomasses obtenues. Au début et à la fin de l'expérience, un échantillon de 10 larves était pris au hasard par bac pour des analyses biochimiques corporelles. La durée totale de l'expérience était de 21 jours.

Les analyses de matière sèche ont été effectuées par séchage de 3 poissons pris au hasard par lot à 110°C pendant 24 heures.

Les protéines brutes (N x 6,25) ont été analysées par un analyseur de carbone et d'azote (CARLO-ERBA 1500) après lyophilisation et broyage des échantillons.

Les paramètres de croissance ont été calculés de la même manière que précédemment à partir de 10 poissons prélevés au hasard par bac, au début et à la fin de l'expérience, soit 30 poissons par traitement. Ceux d'utilisation des protéines ont été calculés comme suit :

- Coefficient d'efficacité protéique (CEP) :  $(Bm_2 - Bm_1) \cdot P_p^{-1}$
- Valeur productive des protéines (VPP) :  $100 (BmP_2 - BmP_1) \cdot P_p^{-1}$

où  $P_p$  est le poids (mg) de protéines distribuées par bassin,  $BmP_1$  et  $BmP_2$  sont les biomasses initiale et finale en protéines (mg) par bassin

Les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de variance à un critère de classification (ANOVA 1) suivie d'une comparaison multiple des moyennes par des contrastes orthogonaux (Dagnelie, 1975).

En dehors des poids vifs moyens calculés sur 30 poissons par traitement (10 poissons par bac), les moyennes des autres paramètres (biomasse, survie, TC, CEP, VPP) représentent celle des 3 bacs par traitements.

## 2.2.1.2.2. Résultats

Les meilleurs taux de croissance et de survie étaient obtenus avec les métanauplii d'*Artemia* standard (non enrichie) (Tableau 2.16 et Figure 2.17). Cependant, nous n'avons pas pu montrer qu'il existe une différence significative ( $p > 0,05$ ) entre la survie du lot nourri avec l'*Artemia* enrichie et celle du lot nourri avec *Artemia* non enrichie.

Les profils des taux de survie représentés à la figure 2.17 montrent une nette différence entre l'*Artemia* congelée et l'aliment artificiel. Cependant, le profil de la survie du lot nourri avec *Artemia* congelée est assez similaire de celui du lot soumis au régime *Artemia* vivante, exceptée la forte mortalité ( $8 \%.j^{-1}$ ) observée entre le septième et le dixième jour. Une mortalité élevée ( $6,8 \%.j^{-1}$ ) est également observée dans le lot nourri avec l'aliment artificiel entre le deuxième et le douzième jour. Après cette période, la mortalité a considérablement baissé dans tous les groupes. Les poissons survivants du lot soumis à l'aliment artificiel se sont très bien adaptés par la suite à cet aliment sec, avec un taux de croissance spécifique semblable à celui observé chez les poissons élevés avec les métanauplii enrichis. Compte tenu des différences importantes existant au niveau de la survie, le taux de conversion alimentaire est nettement meilleur chez les poissons recevant des *Artemia* vivantes que chez les poissons nourris avec de l'aliment inerte. La teneur élevée en protéines brutes de l'aliment artificiel (57,9 % MS) comparée à celle des *Artemia* (44,9-45,2 % MS) n'a pas modifié la teneur en protéines corporelles chez les perches, ce qui conduit, étant donné le taux de conversion élevé, à un faible taux d'utilisation (0,4) des protéines de cet aliment (Tableau 2.16).

Tableau 2.16 Performances de croissance des larves de perches recevant des métanauplii d'*Artemia* non enrichis, enrichis ou congelés ou de l'aliment artificiel (moyenne de 3 réplicats). Durée = 21 jours

Paramètres	Régimes alimentaires			
	Artemia	Artemia+Selco	Artemia congelée	Seabream
Nombre initial	700	700	700	700
Nombre final	530	502	319	84
Survie (%)	75,8 <sup>a</sup>	71,7 <sup>a</sup>	45,6 <sup>b</sup>	12,0 <sup>c</sup>
Poids initial (mg)	7,6	7,6	7,6	8,7
Poids final (mg)	135,3 <sup>a</sup>	100,0 <sup>b</sup>	55,3 <sup>c</sup>	90,2 <sup>b</sup>
SGR ( $\%.j^{-1}$ )	12,5 <sup>a</sup>	11,2 <sup>b</sup>	8,5 <sup>c</sup>	10,6 <sup>b</sup>
TC	1,31 <sup>a</sup>	1,41 <sup>a</sup>	3,32 <sup>b</sup>	4,58 <sup>c</sup>
CEP	1,91 <sup>a</sup>	1,75 <sup>b</sup>	0,74 <sup>c</sup>	0,40 <sup>d</sup>
VPP (%)	22,6 <sup>a</sup>	19,0 <sup>b</sup>	8,6 <sup>c</sup>	5,6 <sup>d</sup>

SGR : taux de croissance spécifique, TC : taux de conversion alimentaire, CEP : coefficient d'efficacité protéique, VPP : valeur productive des protéines. Les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

Des relations du type exponentiel ont pu être utilisées pour modéliser la croissance pondérale en fonction du temps (Figure 2.17).

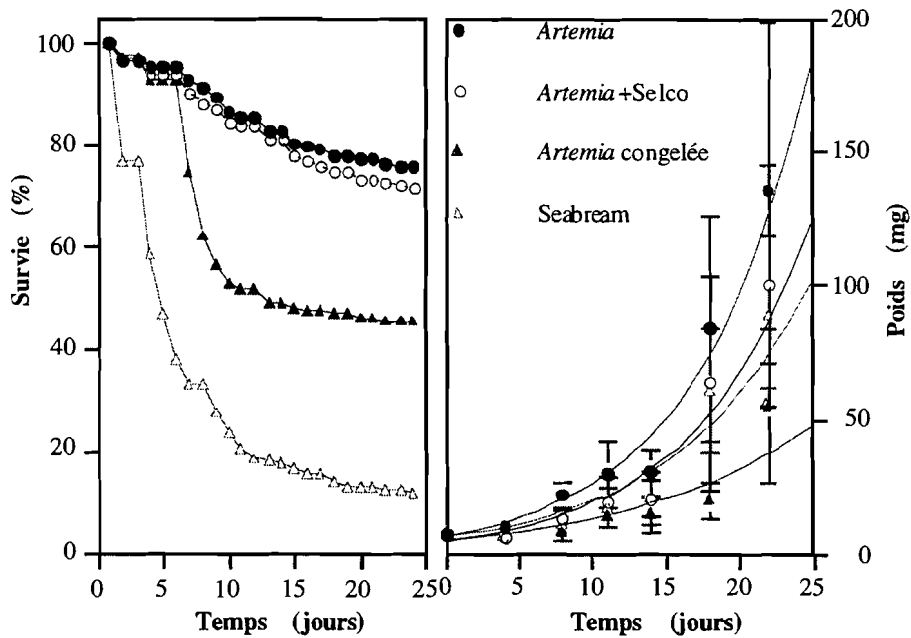


Figure 2.17: Evolution de la survie (%) et du poids (mg) des larves de perche *Perca fluviatilis* ( $P_i = 7,6-8,7$  mg) sous différents régimes alimentaires.

Ainsi, le poids moyen (en mg) des larves de perche fluviatile nourries avec les différents régimes *Artemia* standard, *Artemia* enrichie en (n-3) HUFA, *Artemia* congelée et aliment artificiel sec varie suivant les relations mathématiques suivantes :

$$\text{Artemia standard } Y_1 = 6,81 \cdot 10^{0,057x} \text{ avec } r^2 = 0,972$$

$$\text{Artemia enrichie } Y_2 = 5,13 \cdot 10^{0,056x} \text{ avec } r^2 = 0,929$$

$$\text{Artemia congelée } Y_3 = 5,42 \cdot 10^{0,038x} \text{ avec } r^2 = 0,866$$

$$\text{Aliment artificiel } Y_4 = 6,34 \cdot 10^{0,048x} \text{ avec } r^2 = 0,910$$

où  $Y_1, Y_2, Y_3, Y_4$  sont les poids (mg) et  $x$  = temps (jours)

### 2.2.1.2.3. Discussion

La bonne appétence des nauplii d'*Artemia* congelés pour les larves de perche mise en rapport avec la faible croissance de ces dernières, fait penser à un lessivage partiel des nutriments (probablement les acides

aminés) de ces proies congelées avant leur ingestion. Une suggestion similaire a été faite par Grabner *et al.* (1981) qui ont comparé du zooplancton vivant et congelé du milieu naturel en alimentation larvaire du poisson. Ce lessivage pourrait être partiellement amorti en augmentant la fréquence de distribution des proies congelées et même des aliments artificiels secs, sans pour autant changer la ration journalière. Le temps total de distribution des repas serait ainsi augmenté et l'intervalle de temps entre les repas serait réduit. Ces résultats de croissance et de survie montrent toutefois la possibilité d'élever les larves de perche fluviatile avec des aliments secs, même si beaucoup d'efforts restent encore à faire pour améliorer l'appétence et réduire les pertes. On peut par exemple allonger la période de transfert de l'aliment vivant à l'aliment sec.

Le meilleur taux de croissance spécifique des larves alimentées à l'*Artemia* standard comparé à celui calculé chez les larves élevées avec l'*Artemia* enrichie, semble confirmer l'hypothèse selon laquelle les larves de poissons d'eau douce ont en général de faibles besoins alimentaires en acides gras hautement polyinsaturés du groupe n-3 (n-3 HUFA), comparativement à celles des poissons marins. Bon nombre de poissons d'eau douce ont en effet une capacité élevée de convertir les acides gras 18:3w3 généralement en concentration élevée dans les *Artemia* en 20:5w3 et 22:6w3, comparés aux poissons marins (Fujii *et al.*, 1976; Takeuchi *et al.*, 1980; Watanabe, 1993). C'est probablement la cause de la forte concentration corporelle en n-3 HUFA rapportée chez les larves de la perchaude (Dabrowski *et al.*, 1991). Cette capacité de conversion de 18:3w3 en 20:5w3 et en 22:6w3 pourrait aussi justifier la non amélioration des performances de croissance des larves de perche fluviatile nourries avec l'*Artemia* enrichie, comparées à celles nourries avec l'*Artemia* standard, ces deux espèces de la famille des *Percidae* étant biologiquement semblables. Une observation similaire faite chez les larves de *Clarias gariepinus* par Verreth (1994) lui a fait penser que les larves ont au début de l'alimentation exogène, des "réserves" qui leur permettent de couvrir leurs besoins en nutriments essentiels en attendant la différenciation fonctionnelle de leur tube digestif. Les valeurs significativement élevées ( $p < 0,05$ ) de l'efficacité d'utilisation de protéines (PER) et de la valeur productive de protéines (VPP) chez les larves nourries avec *Artemia* standard, comparées à celles des larves nourries avec *Artemia* enrichie, indiquent une mauvaise utilisation des protéines par les larves du dernier groupe, à cause de l'excès d'acides gras polyinsaturés, les taux de conversion alimentaires étant similaires (Tableau 2.16). Cette suggestion est en parfaite adéquation avec celles rapportées par Bromley (1980) et Caceres-Martinez *et al.* (1984) chez les juvéniles de turbot (*Scophthalmus maximus*). Takeuchi et Watanabe (1979) ont rapporté de tels effets négatifs (baisse de la croissance et mauvais taux de conversion alimentaire) chez la truite nourrie avec un régime contenant un mélange de 18:3w3, 20:5w3 et 22:6w3, excédant 4 fois le besoin en n-3 HUFA de cette espèce.

Somme toute, les résultats de la présente étude montrent que la source d'*Artemia* utilisée ne devrait pas être enrichie en n-3 HUFA. La



perche fluviatile possède probablement comme la plupart des poissons d'eau douce, la capacité de désaturation et d'élongation des chaînes carbonées de l'acide gras linoléique 18:3w3 qui constitue l'essentiel des acides gras polyinsaturés des deux types d'*Artemia* (type d'eau douce et type d'eau marine, Watanabe et al., 1978b) communément utilisés en pisciculture. Mieux encore, des études récentes effectuées par des chercheurs de l'université de Gent et l'institut de sciences maritimes de Toliara Madagascar (Triantaphyllidis *et al.*, 1995) ont montré que la souche d'origine Malgache qui est la nôtre dont les cystes sont commercialisés par "INVE Aquaculture Belgium" est particulièrement riche en (n-3) HUFA (24,7 %). Ce taux est largement supérieur à celui qui est recommandé jusque là chez les poissons même marins (Koven *et al.*, 1990; Watanabe, 1993; Gordon Bell *et al.*, 1995).

## 2.2.2. Effets de la taille au sevrage

Certains poissons à grosse vésicule vitelline tels le saumon atlantique (*Onchorynchus mykiss*) et la carpe commune (*Cyprinus carpio*) semblent capables d'ingérer et de métaboliser l'aliment artificiel sec dès la fin de la résorption vitelline (Escaffre et Bergot, 1985; Radunz-Neto *et al.*, 1996). Chez d'autres par contre, notamment les percidés à petite vésicule, l'apport d'aliments vivants (Rotifères et nauplii d'*Artemia*) avant l'épuisement du vitellus (alimentation mixte, Kamler, 1992) apparaît comme une nécessité. Dans ce dernier cas, l'aliment sec ne doit pas être distribué avant la différenciation complète du tube digestif des larves (Dabrowski, 1993). L'objectif de la présente étude est donc d'examiner les effets de la taille au sevrage des larves de la perche fluviatile sur leur croissance et leur survie, en vue de préciser la taille optimale de leur sevrage à un aliment artificiel.

L'expérience a été réalisée en deux années consécutives, compte tenu de la nécessité de préciser les résultats obtenus la première année face à l'impossibilité d'obtenir des larves de perche deux fois la même année, la fréquence de reproduction de la perche fluviatile étant annuelle.

### 2.2.2.1. Matériel et méthodes

#### 2.2.2.1.1. Installations expérimentales

Elles sont identiques à celles précédemment décrites mise à part quelques adaptations fonctionnelles. Le dispositif de nourrissage est composé de petits pots plastiques pendus à une barre de fer au-dessus de chaque bac d'élevage (un pot par bac). La barre de fer est retenue en l'air à l'aide d'une petite poulie commandée par un moteur de type rôtisserie dont la fréquence de rotation est réglée sur une minuterie à raison de 15 rotations par heure pendant 16 heures (7 - 23 heures).

### 2.2.2.1.2. Protocole expérimental

Les larves de perche ont été élevées dans des bacs allongés avec un excès d'apport de Rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus* et/ou de nauplii d'*Artemia salina* comme précédemment décrit, jusqu'à ce qu'elles aient approchées la taille minimale fixée pour le sevrage à l'aliment artificiel sec (Seabream Nippon). Arrivée au bout d'une semaine à la taille de 5 mg pour la première expérience et au bout de 28 jours à la taille de 37,4 mg pour la deuxième expérience, les larves ont été réparties dans les bacs d'élevage (25 l). La densité de mise en charge était de 250 larves par bac (soit 10 ind l<sup>-1</sup>) la première année et de 500 larves par bac (soit 20 ind l<sup>-1</sup>) la deuxième année. Le transfert du régime 100 % nauplii d'*Artemia* à 100 % aliment sec a été fait graduellement en 4 jours suivant le schéma précédent (chapitre 2.2.1.2.1.3.). Pour la première expérience, les tailles de transfert à un aliment artificiel ont été fixées à 5, 10, 50 et 100 mg en fonction des données de la littérature (Dabrowski, 1984b; Watanabe, 1988). Pour la deuxième expérience, les tailles ont été fixées à 50, 100, 150, 300 et 500 mg en fonction des résultats obtenus la première année. Les traitements étaient respectivement dupliqués avec dans chaque cas, 2 bacs témoins de larves non sevrées ayant reçu du début à la fin 100 % d'*Artemia*. Les rations alimentaires en terme de matières sèches ont été fixées à 50, 25, 20, 15 et 10 % de la biomasse par bac pour les larves de poids moyens inférieurs à 10, 20, 100, 300 et 500 mg respectivement. Les larves mortes étaient quotidiennement dénombrées et enlevées des bacs. La température de l'eau était mesurée chaque jour à l'aide d'un thermomètre à mercure et a varié de 19,5 à 22 °C au cours des expériences. L'oxygène dissous était aussi contrôlé avec un oxymètre de type PHOX 62 TE et avait varié de 7 à 8 mg.l<sup>-1</sup>. Les concentrations en ions nitrites étaient périodiquement contrôlées à l'aide d'une trousse de terrain à spectrophotomètre et ont varié de 0,33 à 0,39 mg.l<sup>-1</sup>.

Des contrôles hebdomadaires de croissance ont été effectués dans les différents lots par prélèvement et pesée de 10 poissons pris au hasard par bac et les rations étaient recalculées en fonction des nouvelles tailles et biomasses obtenues. Ces échantillons de 10 larves pris au hasard par bac ont été répartis dans des tubes identifiés et transportés dans de l'azote liquide du centre d'expérimentation au laboratoire où ils étaient conservés à -80°C pour les analyses des activités enzymatiques. Les larves étaient prélevées à jeun (10 heures après la dernière distribution de la veille). La durée totale de l'expérience était de 27 jours la première année et de 36 jours la deuxième. En fin d'élevage, un comptage du reste des larves survivantes a été effectué en vue d'évaluer l'effet des traitements sur la survie. Le taux de croissance spécifique (SGR, en % j<sup>-1</sup>), le taux de survie (%), le taux de conversion alimentaire (TC), le cannibalisme (%) et les activités spécifiques (U.mg<sup>-1</sup> de protéines) des enzymes protéolytiques (trypsine, chymotrypsine et pepsine) sont les paramètres essentiels utilisés dans l'appréciation des différentes tailles de sevrage des larves de perche fluviatile à l'aliment artificiel sec. Précisons que seuls les échantillons de la deuxième expérience ont fait l'objet d'analyses enzymatiques fiables, les

premiers ayant servis à la mise au point des techniques de dosage. Les très faibles taux de survie observés au niveau des tailles de sevrage inférieures à 50 mg ont mis en évidence que le dosage des enzymes n'était pas nécessaire pour conclure à l'incapacité des larves de la perche fluviatile à digérer des aliments secs à ces tailles.

### 2.2.2.1.3. Dosage des enzymes

#### 2.2.2.1.3.1. Préparation des échantillons

4 poissons ont été choisis au hasard par traitement, puis mesurés (mm), pesés (mg) et disséqués individuellement sur de la glace sous binoculaire. Les tubes digestifs sont ensuite pesés (mg) et broyés dans 2 à 3 ml d'acide chlorhydrique frais de normalité 0,001 (HCl 0,001N) conformément aux recommandations de Worthington (1993). Le broyage est effectué à l'aide d'un "potter" en verre borosilicate équipé d'un piston strié de même matière monté sur une foreuse de type AEG sbe 500 rt. Les broyats successivement conservés au frais dans des tubes à essai en polypropylène au cours des opérations "pesée-dissection-broyage" sont centrifugés par lot de 28 tubes à 20 000 g pendant 20 mn à 4°C. Aussitôt après la centrifugation, les surnageants sont respectivement récupérés tube après tube et répartis dans 3 eppendorfs portant la même identité, puis conservés à -80°C. Cette triplication des échantillons a constitué pour nous une mesure de sécurité lors du dosage et nous a ainsi évité de recongeler un même échantillon décongelé dont le dosage aurait été raté.

#### 2.2.2.1.3.2. Activités trypsiques et chymotrypsiques

##### Principe

Les dosages de la trypsine et de la chymotrypsine ont été faits par spectrophotométrie suivant la méthode de Dabrowski *et al.* (1992). Le principe de la méthode est de faire réagir un substrat spécifique synthétique, le Benzoyl-L-Arginine-P-Nitroanilide 2,5 mM (BAPA) avec la solution de trypsine ou le N Glutaryl-phenyl-Alanine-P-Nitroanilide (GPNA) avec la solution de chymotrypsine, à pH 8,5 et à température de 25°C en présence de CaCl<sub>2</sub> 200mM. L'absorbance de la coloration jaunâtre de l'élément chromogène "Nitroanilide" qui résulte de l'attaque de l'arginine du substrat BAPA par la trypsine, ou de l'attaque du Glutaryl du substrat GPNA par la chymotrypsine a été mesurée au spectrophotomètre (BECKMAN DU640) à une longueur d'onde de 385 nanomètres en mode cinétique de 5 minutes à une fréquence de 20 secondes.

##### Préparation des solutions

###### 1- Le tampon buffer Tris-HCl 0,1M pH 8,5

Sa préparation consiste à dissoudre 6,05 g de Tris-buffer ((HOCH<sub>2</sub>)CNH<sub>2</sub> de MM = 121,14 g) dans environ 400 ml d'eau bidistillée que l'on ramène à pH 8,5 avec de l'HCl 0,1 M avant de ramener à

500 ml dans un ballon jaugé. Ce tampon a été filtré (0,45 µm) et conservé au frais (4°C) pendant toute la durée du dosage et renouvelé toutes les deux semaines.

#### 2- Le substrat BAPA

Le substrat est préparé en deux étapes. La première étape consiste à dissoudre 21,8 mg de N $\alpha$ -Benzoyl-DL-Arginine-P-Nitroanilide (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>.HCl, MM = 434,9 g) dans 2 ml de diméthyl sulfoxyde (DMSO, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>SO MM = 78,13). Cette solution se conserve à la température ambiante au-delà d'un mois. La deuxième étape de la préparation du BAPA consiste à mélanger 0,5 ml de la solution obtenue à la première étape avec 10 ml du tampon Buffer Tris-HCl 0,1M. Cette dernière solution se fabrique juste avant les mesures et ne se conserve que quelques heures (4 heures au maximum).

#### 3- Le substrat GPNA

Il est préparé exactement de la même façon que le BAPA, à la seule différence que les 21,8 mg de N $\alpha$ -Benzoyl-DL-Arginine-P-Nitroanilide sont remplacés par 20,4 mg de N Glutaryl-phenyl-alanine-P-Nitroanilide (GPNA).

#### 4- Chlorure de calcium CaCl<sub>2</sub> 200 mM

On obtient cette solution par dissolution de 2,2 g de CaCl<sub>2</sub> (MM = 111,02 g) dans 100 ml d'eau bidistillée. Cette solution a été filtrée comme le tampon et conservée à 4°C pendant toute la période du dosage. Les ions calcium favorisent l'activation de la trypsinogène et de la chymotrypsinogène et retardent l'autolyse de la trypsine ou de la chymotrypsine active durant tout le processus de la digestion in-vitro réalisée dans les cuvettes de mesure (Worthington, 1993).

#### 5- Réaction et mesure

Le spectrophotomètre (type BECKMAN DU640) utilisé étant capable de faire simultanément 6 mesures, les solutions à mesurer étaient préparées (en 2 x 3 échantillons) dans 6 cuvettes de mesure de 1 ml (type SARSTEDT) suivant la séquence ci-après :

+ 350 µl du tampon Tris-buffer pH 8,5

+ 50 µl du surnageant (enzyme)

+ 50 µl du CaCl<sub>2</sub>

On incube ce mélange réalisé par cuvette à 25°C pendant 10 mn et on y ajoute 50 µl du substrat BAPA ou GPNA selon qu'il s'agit de déceler des activités trypsiques ou chymotrypsiques et on procède immédiatement aux mesures après un second mélange.

### 2.2.2.1.3.3. Dosage des activités pepsiques

#### Principe

Les activités pepsiques ont été dosées par la méthode de Anson (1938) actualisée par Ryle (1985). Le principe du dosage est de faire digérer ou dénaturer in-vitro les protéines de l'hémoglobine bovine par de la pepsine pendant un temps déterminé (30 mn). Les protéines non dégradées sont précipitées par l'acide trichloroacétique (TCA) à 4 % et débarrassées de la solution par centrifugation à 20 000 g pendant 15 mn. L'absorbance du surnageant, constitué de TCA et de produits solubles provenant de l'hydrolyse de l'hémoglobine, est alors mesurée par spectrophotométrie à 280 nm (Ryle, 1985; Worthington, 1993).

#### Préparation des solutions et réactifs

##### 1- Tampon Buffer Glycine 0,2M pH 2,5

Ce tampon se prépare par dissolution de 1,5 g de glycine ( $C_2H_5NO_2$ , MM = 75,07 g) dans environ 80 ml d'eau bidistillée que l'on ramène à pH 2,5 avec de l'HCl 0,1 M avant de compléter à 100 ml dans un ballon jaugé. Cette solution a été filtrée et conservée au frais pour une durée maximum de deux semaines afin de lui conserver sa pureté.

##### 2- Substrat hémoglobine bovine

On pèse 2,5 g d'hémoglobine bovine que l'on fait dissoudre dans le tampon glycine 0,2M pH 2,5 de façon à réaliser un mélange homogène de volume final 100 ml. Cette solution a aussi été filtrée et conservée à 4°C durant la période de dosage.

##### 3- Acide trichloroacétique 4 % (TCA 4 %)

La dilution 25 fois de l'acide trichloroacétique 100 %, nous donne l'acide trichloroacétique 4 % (soit 96 ml d'eau distillée + 4 ml de TCA 100 %). Ce réactif se conserve parfaitement à la température ambiante.

##### 4- Réaction et mesure

Deux séries de 28 tubes à essai ont été mis en place dans deux portoirs disposés parallèlement dont une série sert de témoins et l'autre de tests. On a pipeté dans tous les tubes 900 µl du substrat (solution d'hémoglobine). On a pipeté ensuite dans les tubes témoins de la première série 2 ml de TCA 4 % dont le rôle était d'empêcher l'enzyme d'attaquer le substrat. On a pipeté par la suite dans les tubes des deux séries 100 µl de la solution d'enzyme (surnageants frais des viscères de larves broyées) à raison de deux tubes par série pour un même échantillon. Les contenus des tubes ont été ensuite mélangés au "mixer" et incubés dans un bain Marie à 25°C pendant 30 mn. Au terme de l'incubation, on a pipeté 2 ml de TCA 4 % dans les tubes tests pour arrêter la digestion pepsique.

L'ensemble des tubes (56) a été alors centrifugé à 20 000 g pendant 20 mn et les surnageants ont été respectivement mesurés dans le même ordre d'addition des réactifs au spectrophotomètre à 280 nm.

**2.2.2.1.3.4. Calcul des activités enzymatiques**

L'unité de mesure est la différence d'absorbance par minute que l'on convertit en unités enzymatiques à partir des équations de droites d'étalonnage préalablement établies avec des gradients de concentrations de trypsine, de chymotrypsine et de pepsine pures (Figure 2.18).

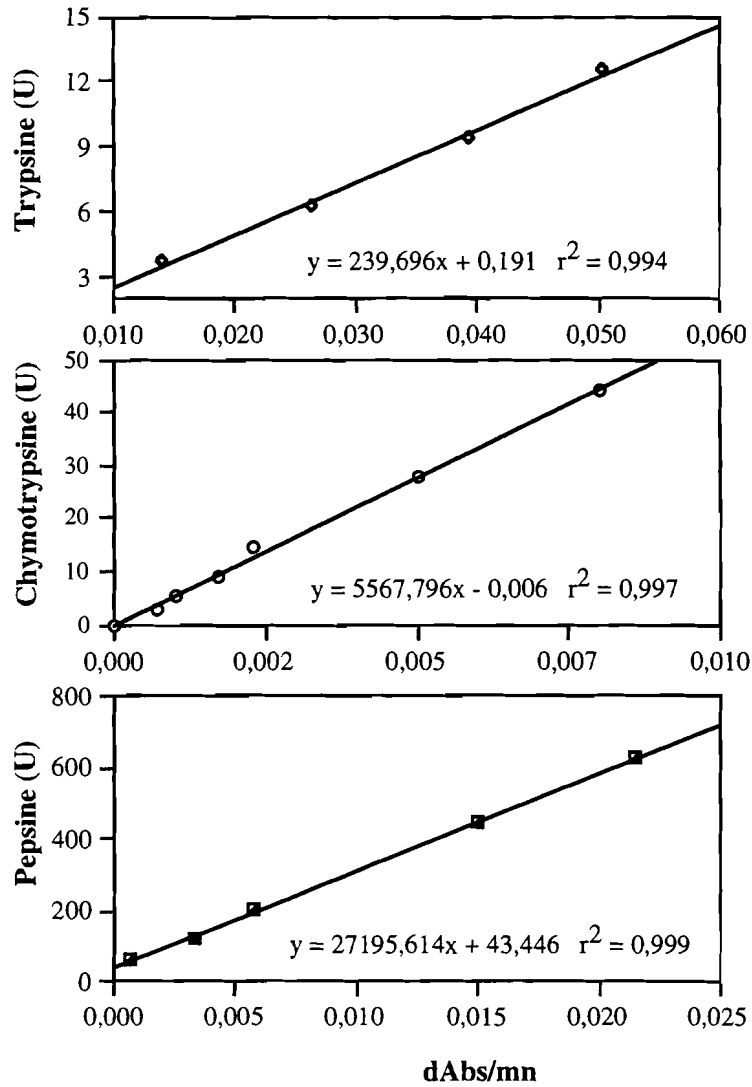


Figure 2.18. Représentation graphique des droites d'étalonnage de la trypsine, de la chymotrypsine et de la pepsine.

Remarquons que pour le dosage de la trypsine et de la chymotrypsine, la différence d'absorption par minute (dAbs/mn) est intégrée directement par l'ordinateur du spectrophotomètre, après définition de la zone de linéarité des mesures d'absorbance effectuées. Pour le dosage de la pepsine, la différence d'absorption par mn est calculée plus tard, par la différence d'absorbances entre chaque tube test et son témoin divisée par 30 mn. En prenant en compte le volume total de chaque surnageant et sa dilution favorable aux mesures, on calcule les activités totales (U) de trypsine, de chymotrypsine ou de pepsine de chaque échantillon dosé.

Les activités totales ainsi obtenues sont converties en activités spécifiques (U / mg protéines) par dosage de protéines totales de chaque homogénat à l'aide de la méthode de Folin.

## 2.2.2.2. Résultats

### 2.2.2.2.1. Paramètres zootechniques

Abordant la première expérience où les larves de perche fluviatile ont été transférées des nauplii d'artémie à l'aliment sec seabream à des tailles de 5, 10, 50 et 110 mg, il apparaît en général, un effet significatif ( $p < 0,05$ ) de la taille au sevrage sur les paramètres zootechniques (Tableau 2.17).

Tableau 2.17. Influence du poids individuel au sevrage sur la survie, la croissance et les paramètres d'utilisation de l'aliment chez les larves de la perche fluviatile

Paramètres	Contrôle	Poids au sevrage (mg)			
		5	10	50	110
Survie théorique (%)	72,0±8,7 <sup>a</sup>	28,8±2,5 <sup>b</sup>	58,8±3,5 <sup>c</sup>	59,2±3,5 <sup>c</sup>	65,2±1,1 <sup>a</sup>
Survie réelle (%)	35,6±4,1 <sup>a</sup>	5,0±1,1 <sup>b</sup>	10,0±1,4 <sup>c</sup>	26,0±1,4 <sup>d</sup>	35,2±7,6 <sup>a</sup>
Cannibalisme (%)	36,4±9,1 <sup>a</sup>	23,4±2,1 <sup>b</sup>	48,8±2,1 <sup>c</sup>	33,2±2,4 <sup>a</sup>	30,0±4,3 <sup>a</sup>
Poids final (mg)	397±111 <sup>a</sup>	39,7±12 <sup>b</sup>	79,6±39 <sup>c</sup>	166,0±52 <sup>d</sup>	229,0±73 <sup>c</sup>
Biomasse finale (g)	35,3±10,1 <sup>a</sup>	0,5±0,14 <sup>b</sup>	2,0±0,8 <sup>b</sup>	10,8±2,5 <sup>c</sup>	20,2±6,5 <sup>d</sup>
SGR individuel (%.J <sup>-1</sup> )	12,7±2,1 <sup>a</sup>	4,8±0,4 <sup>b</sup>	6,8±1,7 <sup>b</sup>	9,5±1,2 <sup>c</sup>	10,7±1,5 <sup>ac</sup>
SGR biomasse (%.J <sup>-1</sup> )	8,9±1,0 <sup>a</sup>	-	-	4,5±0,3 <sup>b</sup>	6,8±0,4 <sup>c</sup>
TC	1,6±0,4 <sup>a</sup>	-	-	6,8±0,6 <sup>b</sup>	3,0±0,5 <sup>c</sup>
PER	1,38 <sup>a</sup>	-	-	0,34 <sup>b</sup>	0,73 <sup>c</sup>

Les valeurs portant différentes lettres sur une même ligne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ), SGR = taux de croissance spécifique, TC = taux de conversion alimentaire, PER = efficacité de rétention des protéines.

Hormis le cannibalisme qui semble indépendant du poids au sevrage, on observe une amélioration croissante des paramètres de crois-

sance, allant du poids au sevrage de 5 mg à celui de 110 mg et aux larves non sevrées. En effet, le cannibalisme calculé dans le groupe contrôle (non sevré) est aussi élevé que celui dans les groupes sevrés à 50 et 110 mg, et même supérieur à celui du groupe sevré à 5 mg. La figure 2.19 montre une diminution remarquable du poids individuel moyen à chaque transfert sur 100 % aliment sec. Un retard de croissance n'est toutefois pas apparent pendant le temps de transfert de l'aliment vivant à l'aliment inerte (Figure 2.19). La décroissance du poids individuel des larves sur régime 100 % aliment sec s'est traduite par une augmentation du taux de conversion alimentaire (TC) et une faible utilisation des protéines de l'aliment (Tableau 2.17). Les croissances sensibles pendant les phases de transition (Figure 2.19) font penser qu'un temps de sevrage plus long pourrait permettre une meilleure ingestion et utilisation de l'aliment sec par les larves sevrées à la taille de 50 mg. Par ailleurs, l'amélioration croissante de la survie avec l'augmentation du poids au sevrage pour la première expérience laisse présager qu'il pourrait exister au-delà de 100 mg un poids individuel qui produirait une survie nettement meilleure.

Compte tenu donc de ce qui précède, des poids de 50 à 500 mg ont fait l'objet du sevrage lors de la deuxième expérience, avec un temps de transition de l'aliment vivant vers l'aliment sec plus long (6 jours). L'essentiel des résultats zootechniques est présenté sur le tableau 2.18 et la figure 2.19.

Tableau 2.18. Influence du poids individuel au sevrage sur la survie, la croissance et les paramètres d'utilisation de l'aliment chez les larves de la perche fluviatile

Paramètres	Contrôle	Poids au sevrage (mg)				
		50	100	150	300	500
Mortalité (%)	21,9±4,9 <sup>a</sup>	50,3±6,1 <sup>b</sup>	65,4±6,8 <sup>c</sup>	44,2±9,1 <sup>d</sup>	46,8±6,6 <sup>d</sup>	9,8±7 <sup>c</sup>
Survie réelle (%)	78,0±4,8 <sup>a</sup>	39,6±1,1 <sup>b</sup>	31,3±2,7 <sup>c</sup>	45,3±4,9 <sup>d</sup>	49,1±3,2 <sup>d</sup>	90,2±7 <sup>c</sup>
Cannibalisme (%)	0,1±0,1 <sup>a</sup>	10,1±4,9 <sup>b</sup>	3,3±4,1 <sup>c</sup>	10,5±4,1 <sup>b</sup>	4,1±3,3 <sup>c</sup>	0,0±0 <sup>a</sup>
Poids initial (mg)	37,4	37,4	37,4	37,4	37,4	37,4
Poids final (mg)	547,0±8,6	574,7±98	421,4±237	433,2±29	440,1±57	472±37
BI (g)	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7
BF (g)	204,7±16	81,3±11	40,8±18	88,8±18	92,7±19	165±26
SGR ind. (%J <sup>-1</sup> )	6,7±0,0 <sup>a</sup>	6,8±0,4 <sup>a</sup>	5,8±1,5 <sup>a</sup>	6,1±0,2 <sup>a</sup>	6,2±0,3 <sup>a</sup>	6,3±0,2 <sup>a</sup>
SGR biom. (%J <sup>-1</sup> )	6,6±0,2 <sup>a</sup>	4,1±0,4 <sup>b</sup>	2,0±1,3 <sup>c</sup>	4,3±0,0 <sup>b</sup>	4,4±0,6 <sup>b</sup>	6,0±0,4 <sup>a</sup>

BI, BF : biomasse initiale/finale; SGR ind./bioma. : taux de croissance spécifique calculé avec poids individuels moyens ou avec biomasses par bac. Les valeurs portant différentes lettres sur une même ligne sont significativement différentes (p<0,05).



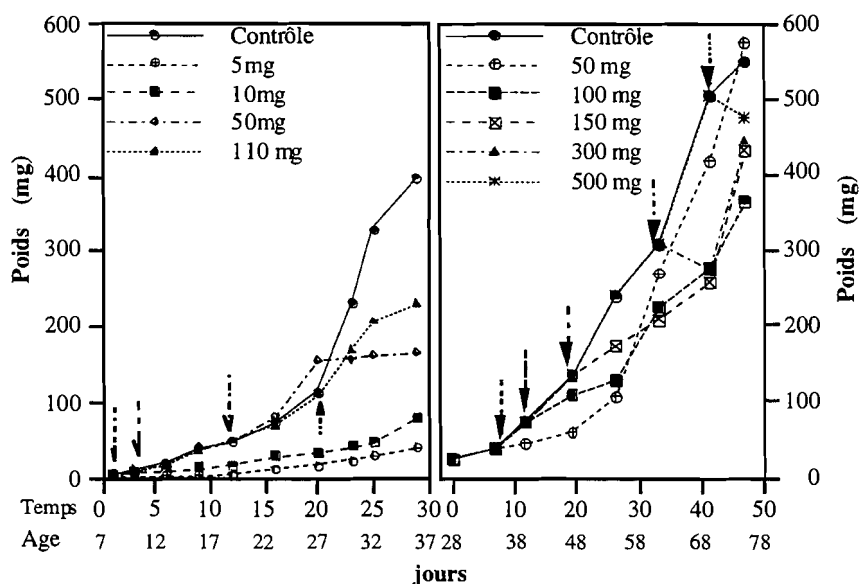


Figure 2.19. Variation du poids (mg) chez des larves de perche fluviale sevrées à différents poids moyens.

Comme pour la première expérience, une baisse de croissance s'observe à chaque passage à l'aliment artificiel, du moins pendant la première semaine. Cependant, on remarque ici un phénomène de croissance compensatrice inversement proportionnelle à la taille au sevrage. Ce qui se traduit par un poids final plus élevé au niveau du sevrage à 50 mg au terme des 36 jours d'élevage. Le poids au sevrage a un effet significatif sur le poids final ( $p < 0,05$ ) et sur le taux de croissance spécifique calculé en terme de biomasse ( $p < 0,01$ ). Nous n'avons toutefois pas pu montrer qu'il existe une différence significative entre les différentes tailles de sevrage pour le taux de croissance spécifique calculé en terme de poids individuel. La deuxième expérience est en parfaite adéquation avec la première pour l'effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ) du poids au sevrage sur le taux de survie avec une amélioration à des poids de sevrage plus élevés. On observe pour la deuxième expérience que le cannibalisme est devenu négligeable au sevrage tardif (500 mg).

#### 2.2.2.2.2. Activités des protéases digestives

Les activités spécifiques ( $U \text{ mg}^{-1}$  protéines) des protéases digestives dosées chez ces jeunes perches, diminuent en général avec l'âge ou la croissance. Cette décroissance paraît assez logique quand on sait que la croissance spécifique du poisson au stade larvaire est de 20 à 50 % de son

poids par jour et que la synthèse de protéines représente l'essentiel de la croissance à ce stade. Cependant, les variations des activités enzymatiques dans le temps nous paraissent plus déterminantes dans la définition de l'état nutritionnel des poissons sevrés que les quantités d'activités enzymatiques obtenues. Définissons donc dans les moindres détails les variations des activités des protéases (trypsine, chymotrypsine et pepsine) analysées pour essayer de comprendre avec les résultats bibliographiques s'il y a une explication à ces variations.

Les variations des activités enzymatiques en fonction de l'âge sont présentées à la figure 2.20.

Chez les larves maintenues sous régime 100 % nauplii d'*artémie* du début jusqu'à la fin de l'expérience, les variations des activités des diverses enzymes dosées sont assez similaires. Mise à part quelques différences mineures, elles décroissent du vingt-huitième (70 mg) au trentecinquième jour (130 mg) et du quarante-neuvième (300 mg) au cinquante-sixième jour (412 mg) après éclosion. On peut noter une augmentation des activités tryptiques de l'âge 35 jours à l'âge 49 jours et une augmentation des activités chymotrypsiques suivie d'une diminution pendant ces mêmes périodes. Les activités de ces deux enzymes deviennent stables à partir de l'âge 56 jours (412 mg). Les activités pepsiques par contre, diminuent régulièrement jusqu'à l'âge 42 jours (235 mg), puis augmentent brusquement avec un pic à l'âge 49 jours et chutent de nouveau (Figure 2.20). Cette brusque variation serait probablement due à une part importante d'activités des enzymes de type pepsique apportées par les nauplii d'*Artemia* ingérés.

Remarquons que pour le sevrage à 50 et 100 mg, les activités de ces protéases digestives montent au début du transfert des poissons sur régime 100 % aliment sec. Ces pics d'activités enzymatiques, correspondant à une baisse de croissance et à une forte mortalité (Figure 2.19 et tableau 2.18), pourraient être expliqués par un stress physiologique de l'organisme de ces larves en réponse à un apport d'aliment inadéquat à ce stade de leur développement. Ainsi, chez les larves sevrées à 50 mg, les activités enzymatiques baissent en général avec une stabilisation à partir de l'âge 49 jours (270 mg) pour la trypsine et la chymotrypsine et à partir de l'âge 56 jours (414 mg) pour la pepsine. Dans les lots sevrés à 100 mg, les activités tryptiques et chymotrypsiques montrent un pic (respectivement 8,2 et 169,2 U / mg protéines) au début du sevrage à 100 % seabream (soit 35 jours d'âge et 108 mg), puis baissent drastiquement pour atteindre en fin d'expérience 1,96 et 3,79 U / mg protéines (64 jours d'âge et 360 mg de poids). Par ailleurs, les activités pepsiques sont restées relativement stables une semaine durant la phase de transition (3047 - 2900 U / mg protéines), puis ont chuté à 719 U / mg protéines en fin d'élevage.

Au sevrage à 150 mg, les activités enzymatiques tryptiques et chymotrypsiques ont respectivement baissé de 2,4 à 1,7 et de 33,7 à 5,6 U / mg protéines (soit 42-64 jours d'âge et 170 - 430 mg de poids). Les

activités pepsiques ont aussi chuté de 2238 à 509 U / mg protéines puis sont restés relativement stables par la suite.

Dans le groupe des larves sevrées à 300 mg, alors que les activités pepsiques diminuent régulièrement de 2978 à 419 U / mg protéines (49-64 jours d'âge et 270-440 mg de poids), les activités trypsiques et chymotrypsiques varient dans le temps de 3,9 à 1,2 U / mg protéines pour la trypsine et de 56 à 21,9 U / mg protéines pour la chymotrypsine.

Transférées à 500 mg (56 jours d'âge) sur 100 % aliment artificiel sec, les larves de perche fluviatile présentent les activités de types pepsiques similaires à celles observées chez les non sevrées. Par contre, les activités de types chymotrypsiques sont plus élevées que celles dosées chez les larves non sevrées alors que les activités de types trypsiques sont restées inférieures à ces dernières et stables quand les larves sont sous le régime à 100 % aliment sec (1 U / mg protéines).

Comme l'hétérogénéité des classes de tailles ne permet pas toujours d'avoir une bonne correspondance entre l'âge et le poids dans les populations de la perche fluviatile, nous avons jugé nécessaire de comparer dans le temps (par intervalle de 7 jours) à partir de chaque taille de sevrage, les activités enzymatiques entre larves sevrées et non sevrées de même poids. Ainsi, les figures 2.21, 2.22 et 2.23 nous permettent de voir la différence entre larves sevrées et larves non sevrées de même poids, pour les activités des enzymes trypsiques, chymotrypsiques et pepsiques. De l'analyse statistique des données ayant servi à la représentation de ces figures (test de Student), il apparaît que pour un même poids, les activités enzymatiques des poissons maintenus sur 100 % *Artemia* sont significativement supérieures ( $p < 0,001$ ) à celles des poissons transférés sur aliment artificiel, probablement à cause des enzymes des aliments vivants. On note cependant quelques exceptions qui pourraient être liées au stress provoqué par le changement du régime, à savoir :

- des activités trypsiques des larves de 50, 100 et 625 mg pour le sevrage à 50 mg et des larves de 100 mg pour le sevrage à 100 mg (Figure 2.21),
- des activités chymotrypsiques des larves de 100 mg pour le sevrage à 100 mg, des larves de 310 mg pour le sevrage à 300 mg et celles sevrées à 500 mg (Figure 2.22),
- des activités pepsiques des larves de 50 et 100 mg pour le sevrage à 50 mg et celles des larves de 425 et 625 mg pour le sevrage à 500 mg (Figure 2.23).

Dans l'ensemble, les activités de types trypsique et chymotrypsique diminuent durant la croissance des larves, indépendamment de l'aliment distribué. Les activités trypsiques sont en général plus faibles chez les poissons nourris avec l'aliment artificiel, comparées à ceux nourris avec les nauplii d'*Artemia*. Seuls les poissons sevrés précocement (50 mg et 100 mg montrent le contraire en début de sevrage (Figure 2.21).

Les activités des enzymes pepsiques d'origine gastrique sont très élevées, comparées à celles des enzymes trypsiques et chymotrypsiques d'origine pancréatique (Figure 2.23). Elles augmentent chez les larves nourries avec l'aliment vivant (100 % *Artemia*) jusqu'à un pic correspondant au poids de 300 mg comme pour la figure 2.20 (à l'âge 49 jours), puis décroissent régulièrement avec la croissance. Ce pic d'activités pepsiques observé à 300 mg, indique probablement que la perche possède à ce stade de son développement, toute sa capacité digestive. Remarquons que le sevrage effectué à un stade précoce provoque une augmentation des activités pepsiques (Figure 2.23), comme dans le cas des activités trypsiques et chymotrypsiques (Figure 2.21 et Figure 2.22). Les poissons habitués à leur nouvel aliment ou sevrés plus tard, ont par contre des activités pepsiques inférieures à celles des poissons non sevrés.

Les valeurs finales des activités enzymatiques en fonction du poids au sevrage sont représentées à la figure 2.24. Soumises à une analyse de variances à un critère de classification (ANOVA 1) suivie par des comparaisons multiples entre différents poids au sevrage à l'aide des contrastes orthogonaux, il apparaît une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre l'ensemble des activités des protéases digestives obtenues chez les larves sous l'effet du poids au sevrage. Nous n'avons cependant pas pu montrer qu'il existe une différence significative ( $p < 0,05$ , Annexe 4) entre les poids au sevrage : 50 et 100 mg puis 300 et 500 mg pour les activités de types trypsiques d'une part et 50 et 150 mg pour les activités de types chymotrypsiques d'autre part. Cependant, aucune similitude possible n'a pu être mise en évidence pour les activités de types pepsiques induites par les différents poids au sevrage.

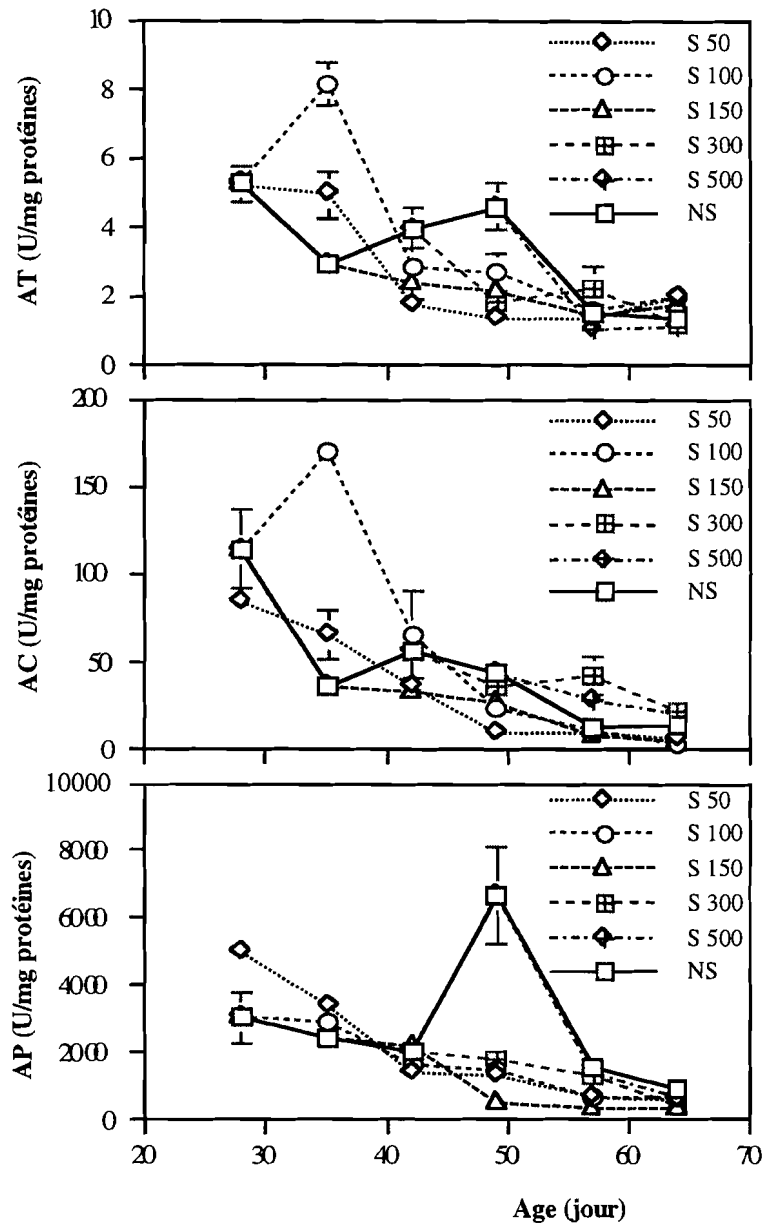


Figure 2.20. Variation des activités trypsiques (AT), des activités chymotrypsiques (AC) et des activités pepsiques (AP) en fonction de l'âge chez la perche fluviatile sevrée à différentes tailles à l'aliment sec. S x = larves sevrées à l'aliment artificiel à x mg, NS = larves non sevrées.

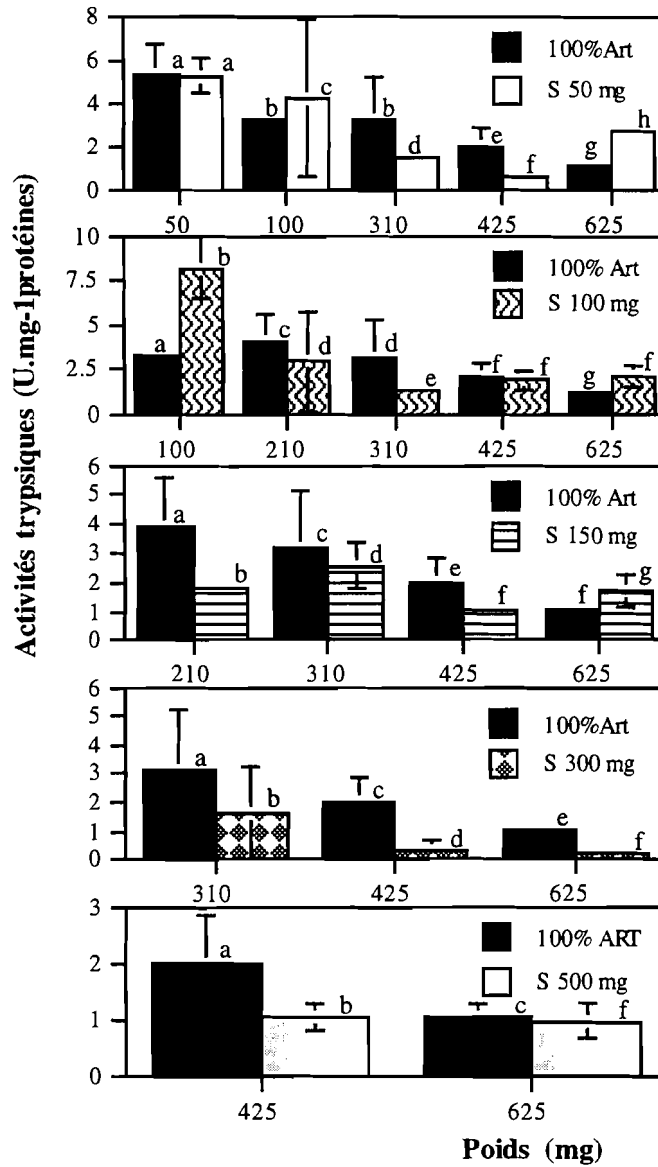


Figure 2.21. Variation comparée des activités trypsiques en fonction du poids entre les larves sevrées et non sevrées de la perche fluviatile (S x mg = sevrées à x mg de poids, 100 % Art = maintenues sur Artemia, différentes lettres a, b, c, d, e, f, g, h impliquent qu'il y a une différence significative,  $p < 0,05$ ).

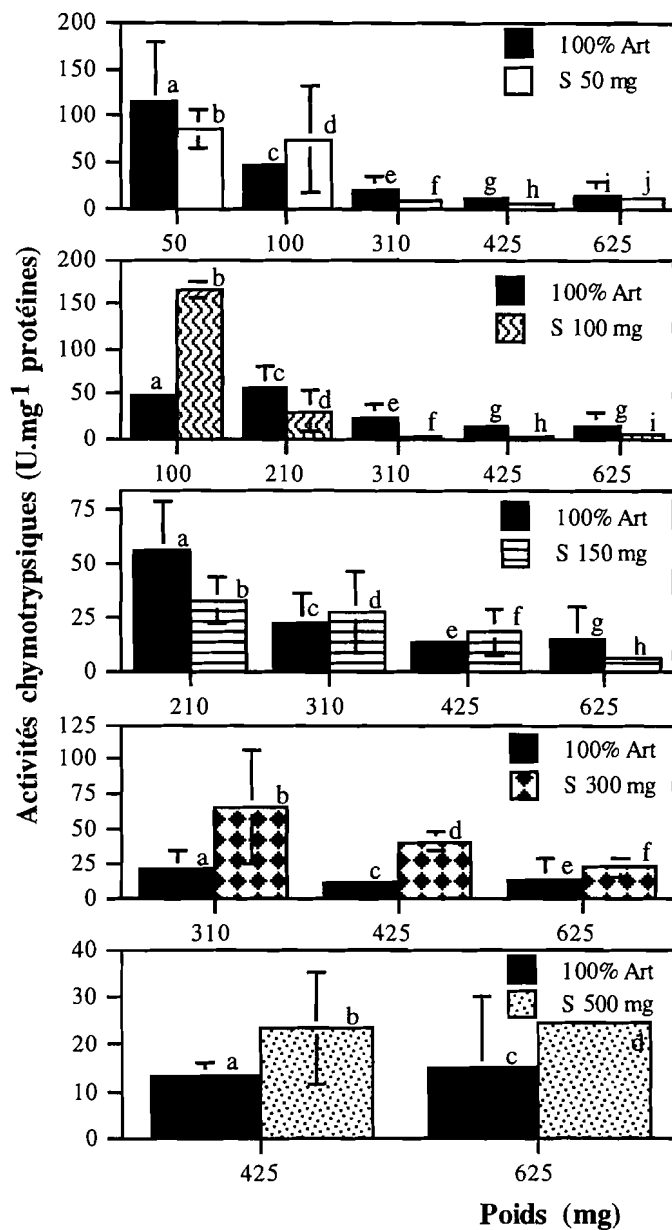


Figure 2.22. Variation comparée des activités chymotrypsiques en fonction du poids entre les larves sevrées et non sevrées de la perche fluviatile (S x mg = sevrées à x mg de poids, 100 % Art = maintenues sur Artemia, différentes lettres a, b, c, d, e, f, g, h, i, j impliquent qu'il y a une différence significative,  $p < 0,05$ ).

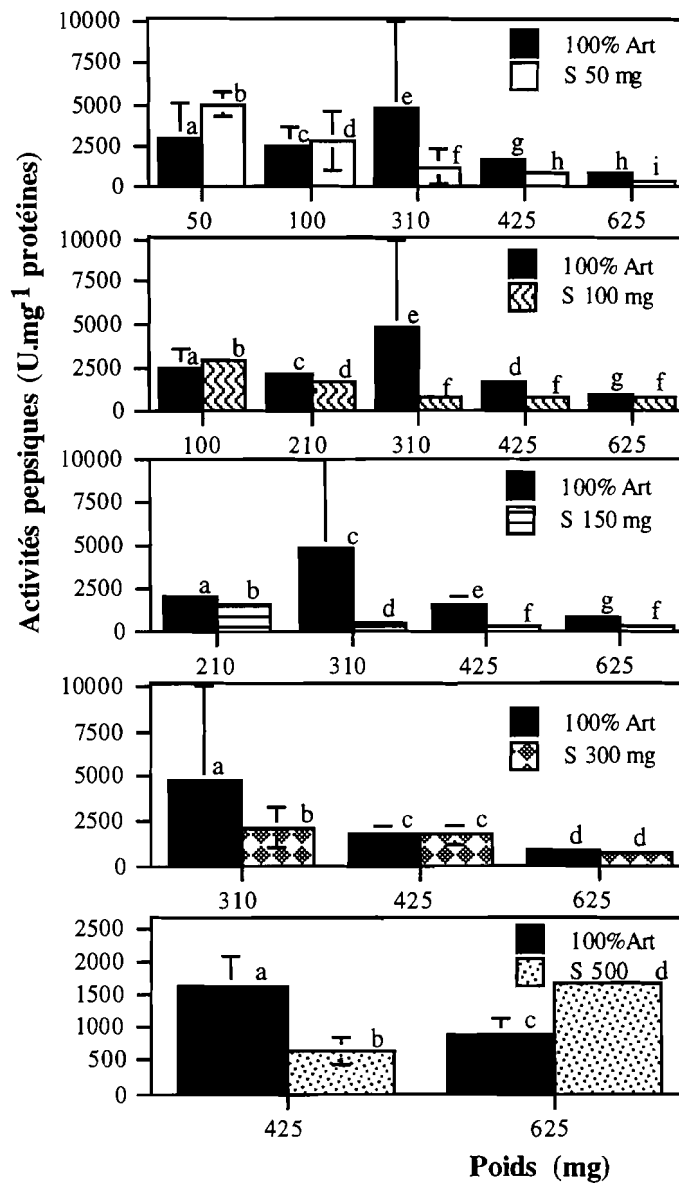


Figure 2.23. Variation comparée des activités pepsiques en fonction du poids entre les larves sevrées et non sevrées de la perche fluviatile (S x mg = sevrées à x mg de poids, 100 % Art = maintenues sur Artemia, différentes lettres a, b, c, d, e, f, g, h, i, impliquent qu'il y a une différence significative,  $p < 0,05$ ).



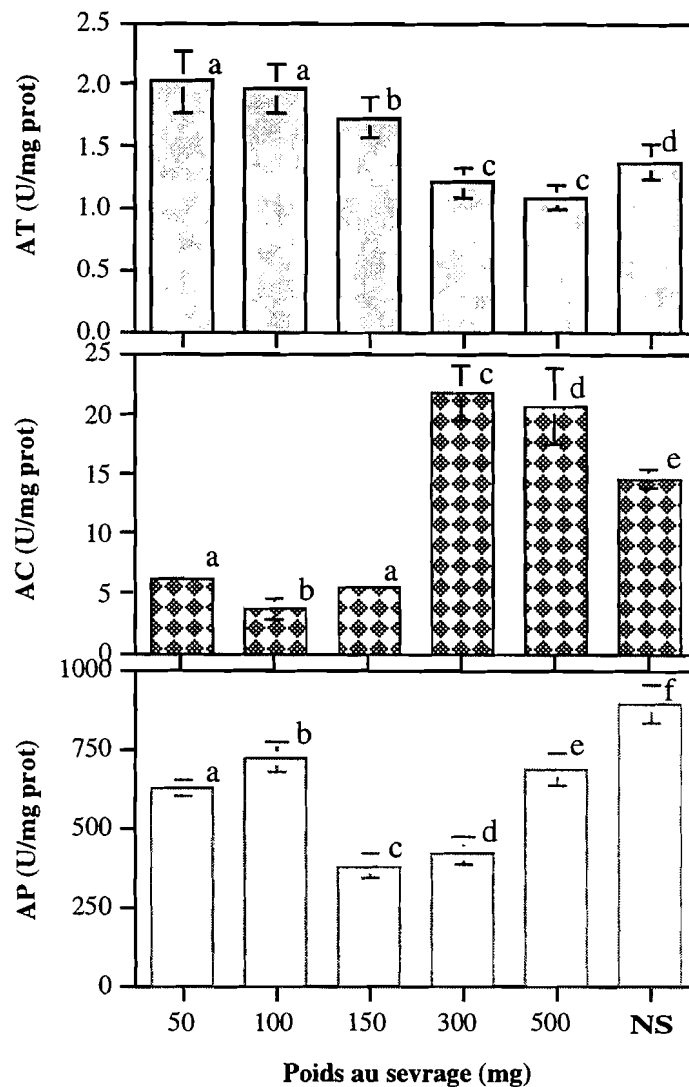


Figure 2.24. Effet du poids individuel au sevrage sur les activités trypsiques (AT), les activités chymotrypsiques (AC) et les activités pepsiques (AP) des larves de la perche fluviatile (NS : non sevrées, différentes lettres a, b, c, d, e, f impliquent qu'il y a une différence significative,  $p < 0,05$ ).

Puisque l'objectif est de préciser le poids optimal de sevrage à un aliment artificiel, c'est à dire le poids à la fois intéressant pour une survie et une croissance optimales et qui n'influence pas négativement l'état nutritionnel des larves sur l'aliment exclusivement artificiel, nous avons pensé qu'il serait intéressant de comparer ces deux paramètres avec les activités des protéases. Ainsi, les figures 2.25 et 2.26 nous permettent de

comparer les variations des différentes protéases étudiées avec respectivement la survie et le taux de croissance spécifique.

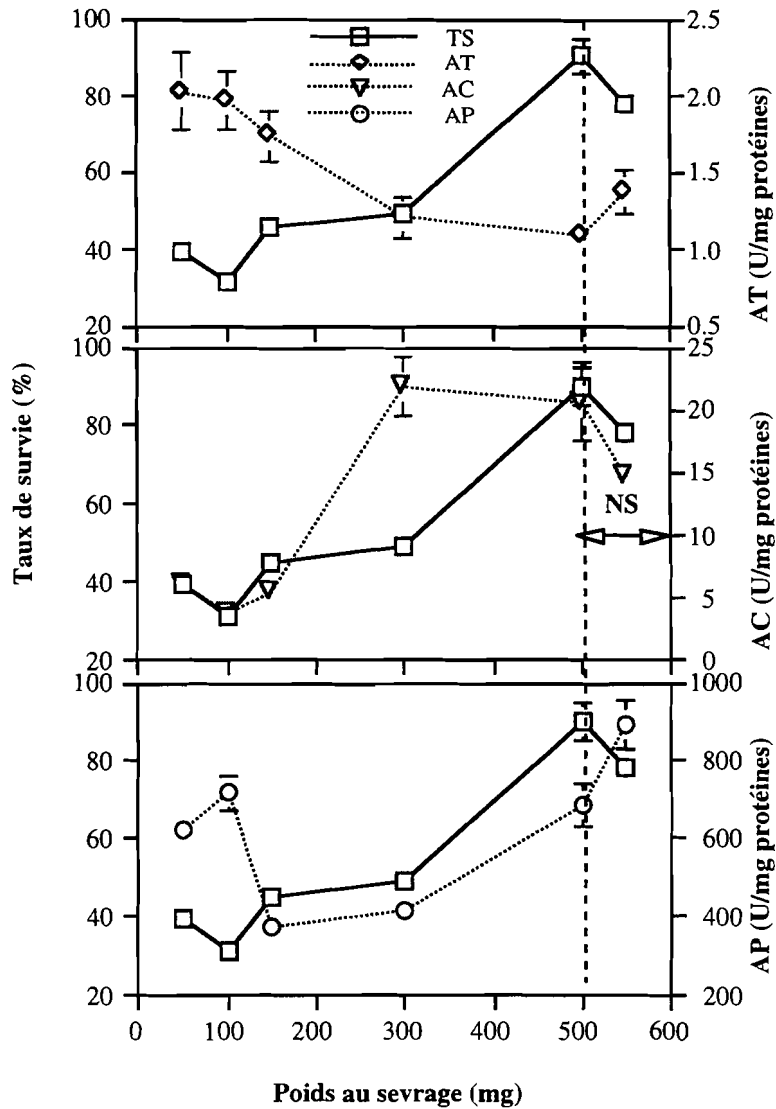


Figure 2.25. Variations comparées du taux de survie (TS) et des activités moyennes trypsiques (AT), chymotrypsiques (AC) pepsiques (AP) de la perche fluviatile en fonction du poids au sevrage.

Remarquons que la décroissance des activités trypsiques pour les poids au sevrage allant de 50 à 300 mg correspond à de faibles taux de survie (Figure 2.25) et à une baisse ou stagnation du taux de croissance spécifique (Figure 2.26). Au delà de cette période de poids du sevrage,

on note une moindre variation des activités trypsiques qui coïncide avec une amélioration de la survie (Figure 2.25) et une augmentation significative du taux de croissance spécifique (Figure 2.26).

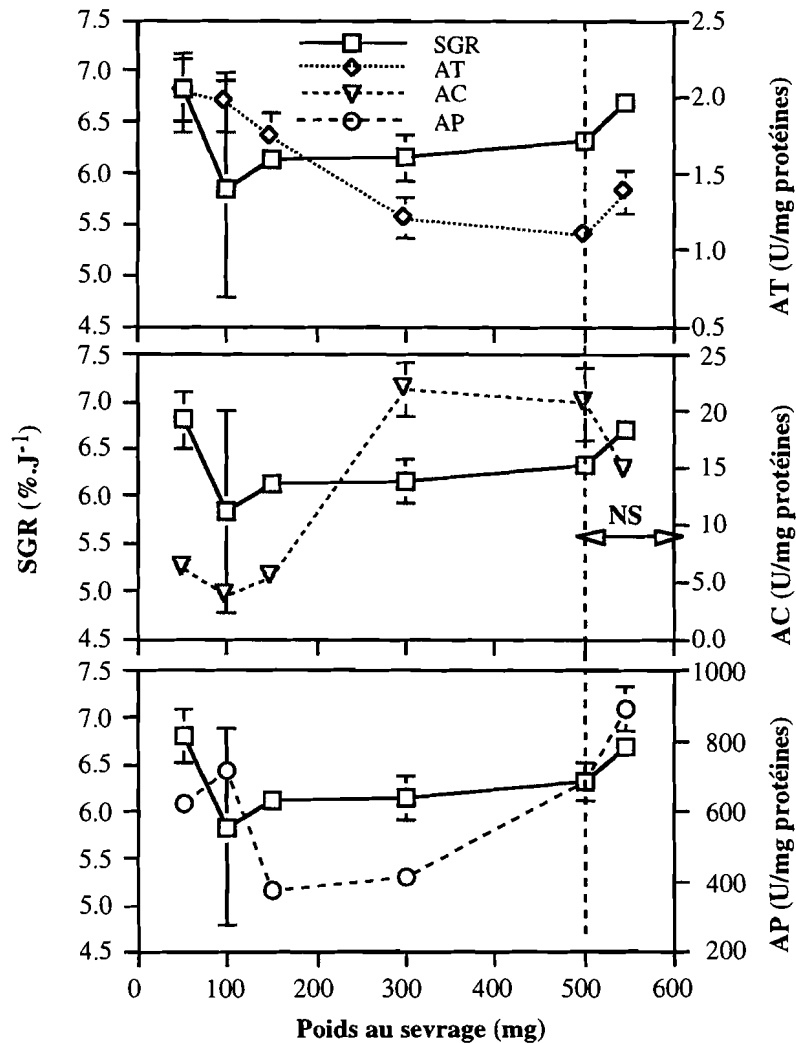


Figure 2.26. Variations comparées du taux de croissance spécifique avec les activités moyennes trypsiques (AT), chymotrypsiques (AT) et pepsiques (AP) de la perche fluviatile en fonction du poids au sevrage.

Les activités chymotrypsiques diminuent avec la survie (Figure 2.25) et le taux de croissance spécifique (Figure 2.26) de la taille au sevrage 50 mg à celle de 100 mg, puis croissent de façon exponentielle jusqu'à la taille au sevrage 300 mg, pour devenir stables comme les activités trypsiques. Les activités pepsiques varient en sens inverse avec la

survie et la croissance spécifique de 50 à 150 mg, puis augmentent parallèlement avec ces deux paramètres jusqu'à la taille au sevrage de 500 mg.

### 2.2.2.3. Discussion

#### 2.2.2.3.1. Performances de croissances

Plusieurs tentatives d'alimentation précoce des larves de perche ont été vouées à l'échec (Best, 1981; Awaïss *et al.*, 1992; Tamazouzt, 1995). Après 7 jours d'alimentation, les larves de cette espèce de 0,8 mg de poids initial, n'ont présenté que 4 % de survie pour un poids final de 0,9 mg (Awaïss *et al.*, 1992). Tamazouzt (1995) a obtenu 25 % de survie au bout de 15 jours pour un poids initial identique et un poids final de 2,6 mg avec la certitude que les particules alimentaires étaient bien ingérées. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude pour le sevrage à 5 mg (5 % de survie et 39,7 mg de poids final en 27 jours) sont en conformité avec ceux rapportés par ces différents auteurs. Au sevrage à 10 mg, la mortalité avait atteint déjà 90 % au bout de 20 jours après le sevrage, mais la croissance des 10 % restants tendait vers une phase semi-exponentielle en fin de l'expérience. Cette nouvelle adaptation fait penser que pour un temps d'élevage plus long, les éventuelles larves survivantes pourraient atteindre un poids final (Pf) très important. Cependant, la biomasse finale (Bf) resterait toujours faible, voire nulle pour une période de temps plus longue, puisque le nombre final (Nf) de survivants serait négligeable ou nul (Bf étant  $Pf \times Nf$ ). On constate que les taux de croissance obtenus ici pour les faibles poids moyens au sevrage (5 et 10 mg) sont supérieurs à ceux rapportés chez les larves de la carpe commune de 4 à 15 mg (Bryant et Matty, 1981; Dabrowski, 1984), chez les larves de carpe argentée de 5,2 à 6,8 mg et chez les larves de carpe herbivore de 4 à 8,7 mg (Dabrowski 1984) et les larves du clarias africain de 18 mg (Verreth et Tongeren, 1989). Les survies obtenues ici (5 - 10 %) restent toutefois largement en dessous de celles rapportées par ces différents auteurs (40 à 90 %). La perche américaine (*Perca flavescens*) qui devrait nous servir d'élément de comparaison fiable n'a malheureusement jamais fait l'objet d'une étude similaire.

Pendant la période de transition des nauplii d'artémie vers l'aliment 100 % sec des larves de 50 mg et 100 mg, la croissance était supérieure ou égale à celle des témoins maintenues exclusivement sur nauplii d'artémie (Figure 2.19). Une telle observation suggère qu'une alimentation mixte composée d'artémie et d'aliment artificiel sec pourrait être utilisée comme moyen efficace pour améliorer l'état nutritionnel des larves de la perche fluviatile jusqu'à un âge avancé avant de passer à l'aliment exclusivement artificiel. C'est probablement la clé du succès de la production en masse des alevins sevrés de cette espèce dans de l'eau verte (green water) en bassins bâches (Mélard *et al.*, 1995; Mélard *et al.*, 1996). En effet, ces auteurs partent toujours d'une alimentation vivante composée de Rotifères et de nauplii d'artémie qu'ils combinent très tôt (une semaine après éclo-

sion) avec une alimentation mixte composée de 75 % d'*Artemia* et de 25 % d'aliment sec "Seabream". Ils augmentent progressivement par la suite, le taux d'aliment sec au détriment de celui d'*Artemia* pour atteindre 100 % d'aliment sec au bout de 40 jours environ.

Des études précédentes portant sur l'alimentation artificielle des larves prégressées avec des nauplii d'artémie de 0,9 à 8,7 mg (Fiogbé *et al.*, 1995) ont montré une importante croissance compensatrice chez les jeunes perches survivantes au transfert sur aliment artificiel. En fin d'expérience (d'une durée de 21 jours), les larves survivantes au sevrage à l'aliment artificiel ont atteint une taille finale de 90,2 mg contre 100 mg chez les larves nourries avec *Artemia* vivante enrichie (Tableau 2.16). Dans la deuxième expérience de la présente étude, les larves sevrées à 50 mg montrent la même adaptation et exhibent une taille finale significativement supérieure à celles atteintes dans les groupes contrôles sous 100 % *Artemia*. Nous n'avons pas pu mettre en évidence ici, la croissance importante observée pendant la phase de transition lors de la première expérience, la fréquence de contrôle de croissance étant devenue hebdomadaire plutôt qu'une fois tous les 2 à 3 jours. Cependant un temps d'élevage plus long sur 100 % aliment sec, des larves sevrées à 50 mg a permis de se rendre compte d'une réadaptation fonctionnelle caractérisée par une augmentation de poids à la suite d'une décroissance assez marquée au départ (croissance compensatoire). Les résultats de ces deux expériences complémentaires montrent clairement que la survie peut être améliorée par un sevrage plus tardif. Des résultats similaires (survie croissante avec l'âge au sevrage) ont été rapportés par Cahu et Zambonino Infante (1994) chez le bar. Cependant, les taux de croissance calculés par ces auteurs étaient proportionnels aux taux de survie.

Puisque la croissance individuelle n'a de valeur pour le pisciculteur que si elle va de paire avec la biomasse et donc avec la survie, ce dernier facteur jouera probablement le rôle décisif dans la détermination de la taille effective de sevrage de la larve de perche à un aliment artificiel sec. Cette logique semble indiquer "500 mg" (Figure 2.19) comme taille effective de sevrage de la perche fluviale à un aliment sec, mais le facteur coût pourrait en décider autrement si rien n'est fait pour freiner le coût des cystes d'artémie qui ne cesse de monter (Watanabe, 1988; Triantaphyllidis *et al.*, 1995). Abordant ainsi le problème sous l'angle de l'équilibre entre coût de production et productivité, on voit par exemple (Tableau 2.18) que les larves sevrées à 150 mg ont quasiment la même biomasse finale (88,8 g) pour 360 g de nauplii frais d'artémie distribués que celles sevrées à 300 mg (92,7 mg) où 582 g d'artémie ont été distribués. Par contre, une biomasse finale de 165 g a été produite pour 822 g d'artémie distribués chez les larves sevrées à 500 mg. De cette observation économique, il découle que le sevrage à 300 mg a coûté 1.7 fois plus cher en *Artemia* que le sevrage à 150 mg pour la même production de jeunes perches sevrées. De la même manière, le sevrage à 500 mg a permis de produire 2 fois plus que celui à 150 mg pour un investissement en *Artemia* 2,5 fois plus élevé. Mieux encore, le sevrage à 50 mg est 24 fois

moins onéreux en coût d'*Artemia* pour une production 2,3 fois inférieure à celle du sevrage à 500 mg. En somme, tenant compte de la facilité de reproduction de la perche en captivité (Craig, 1987) et de son taux de fécondité élevé, le pisciculteur peut fixer librement à partir de 50 mg le poids au sevrage de ses larves en fonction de ses besoins en alevins pour l'année. Il doit cependant éviter d'aller en dessous du poids moyen de 50 mg pour les risques de mortalité totale imprévisible que ce choix pourrait engendrer. Par ailleurs, il peut tester parallèlement à une petite échelle, des sevrages plus précoces, dans le souci de créer à long terme des souches plus résistantes et zootechniquement plus performantes.

#### 2.2.2.3.2. Equipements enzymatiques

Remarquons que les activités spécifiques de toutes les enzymes diminuent au fur et à mesure que le poisson grandit. Cependant, cette tendance générale à la baisse des activités enzymatiques ne masque pas leurs variations qui nous permettront d'apprécier la capacité digestive des poissons nourris à différents stades. En effet, les enzymes sont aussi des protéines, d'où leur synthèse nécessite la synthèse des protéines. Par ailleurs, les enzymes sont indispensables au catabolisme des réactions chimiques et donc indispensables à la dégradation des aliments ingérés. Et comme l'ont rapporté Freedland et Briggs (1977), l'efficacité de cette dégradation dépend des activités enzymatiques, qui sont fonction de la quantité d'enzymes actives disponibles et de la présence de substrats (aliments), de co-facteurs, d'inhibiteurs et d'activateurs. Par conséquent, les multiples oscillations des activités enzymes obtenues dans cette étude sont inévitables et peuvent dépendre de 3 mécanismes de base :

- la synthèse et la dégradation des molécules d'enzymes,
- la modification des enzymes vers une forme active ou une forme inactive,
- les changements dans la concentration des substrats, co-facteurs, activateurs ou inhibiteurs.

Voyons donc en détail, à quoi peut on assimiler chaque variation spécifique.

##### 2.2.2.3.2.1. Activités spécifiques tryptiques

Les fortes activités tryptiques observées entre 42 et 49 jours d'âge (soit 235-300 mg de poids moyen) chez les larves sous régime 100 % *Artémia* seraient probablement liées à une plus forte consommation pendant cette période et donc à un apport plus important de trypsine exogène. Au delà de cette période, la taille des artémies était devenue trop petite et leur consommation en quantité adéquate nécessitait beaucoup plus d'effort. Ce qui se traduit par la baisse significative des activités tryptiques entre 49 et 63 jours d'âge (Figure 2.20). En effet beaucoup de

travaux (Dabrowski et Glogowski, 1977; Lauff et Hofer, 1984; Munilla-Moran *et al.*, 1990; Zambonino Infante *et al.*, 1996) ont montré que les enzymes contenues dans les proies vivantes sont d'un grand secours pour leur digestion chez les larves de poisson, notamment chez les poissons à court intestin comme la perche où la réabsorption enzymatique dans l'intestin antérieure est très faible (Hofer et Schiemer, 1981). Des études récentes ont indiqué que les larves ajustent leurs réponses enzymatiques à différents paramètres. Pedersen *et al.* (1990) et Pedersen et Andersen (1992) ont par exemple montré l'existence d'une relation étroite entre la sécrétion de trypsinogène et la taille des particules alimentaires chez les larves de hareng (*Clupea harengus* L.). De même, Zambonino Infante et Cahu (1994) ont démontré expérimentalement qu'il y a un réajustement quantitatif des enzymes pancréatiques et intestinales en fonction de la composition de l'aliment ingéré par les larves du bar (*Dicentrarchus labrax* L.). Leur constat paraît confirmer par la forte augmentation des activités trypsiques observée dans la présente étude au passage des larves de 100 mg sur aliment sec (Figures 2.20, 2.21) et la valeur encore élevée de ces activités en fin d'expérience (Figure 2.24). Cette augmentation des activités enzymatiques peut être expliquée par un stress physiologique des larves, caractérisée par une survie et une croissance qui étaient plus faibles dans ces groupes (Figure 2.25 et Figure 2.26). Cependant, les larves sevrées à 50 mg ont montré au début de leur transfert sur aliment sec (âge = 28 jours et poids = 44,5 mg), une indifférence du point de vue activités trypsiques à l'apport de cet aliment probablement due à la granulométrie des particules alimentaires qui étaient de taille similaire à celle des nauplii d'*Artemia* (500 µm). Cette stabilité des activités trypsiques est suivie d'une inhibition significative correspondant au changement de la taille des particules alimentaires à partir du 35<sup>ème</sup> jour d'âge (59 mg), avec simultanément une baisse de la croissance et de la survie (Figures 2.20, 2.25 et 2.26). Les activités trypsiques sont devenues plus ou moins constantes au 42<sup>ème</sup> jour avec une tendance à la hausse à partir du 49<sup>ème</sup> jour cumulativement avec une croissance redevenue exponentielle. Pour les sevrages tardifs (300 - 500 mg), il y a une décroissance significative des activités trypsiques au début du régime 100 % aliment sec, qui coïncide chaque fois avec une baisse de croissance et une mortalité significative. Cette corrélation étroite entre activités trypsiques et état nutritionnel (performances zootechniques) des larves était déjà rapportée par plusieurs auteurs (Govoni *et al.*, 1986; Ueberschär, 1993). Seul le sevrage à 150 mg n'a pas montré une baisse aussi remarquable des activités trypsiques et la croissance en poids n'était pas aussi affectée (Figure 2.25 et Figure 2.26). Comme l'ont su mettre en évidence Cahu et Zambonino (1994) chez les larves du bar (*Dicentrarchus labrax* L.), l'apport précoce d'aliment sec inhibe les activités trypsiques. Cette tendance se manifeste ici aussi chez les larves de la perche indépendamment de la taille au se-

vrage. Cependant, une réadaptation fonctionnelle s'observe dans ce cas pour les tailles testées, suggérant que les larves sevrées plus tard ont une bonne résistance à la mortalité alors que celles sevrées plutôt ont un taux de survie faible, mais les survivants montrent plus tard une bonne croissance et des activités trypsiques très élevées (Figure 2.25 et Figure 2.26). Remarquons à cet effet, que les larves des groupes sevrés à 50 et 100 mg et prélevées lorsqu'elles ont atteint les poids de 300 et 600 mg étaient bien adaptées à l'aliment artificiel avec des activités trypsiques supérieures à celles des larves de même poids non sevrées ou sevrées tardivement (Figure 2.21). Cette observation fait penser qu'on pourrait se servir du sevrage précoce comme une technique d'appoint dans la production de souches de géniteurs de perche fluviatile génétiquement résistantes et zootechniquement performantes.

#### 2.2.2.3.2.2. Les activités chymotrypsiques

Les activités chymotrypsiques ont des variations en fonction de l'âge et du poids similaires à celles des activités trypsiques (Figure 2.20 et Figure 2.22), mais leurs valeurs finales restent relativement proportionnelles à la taille au sevrage des larves (Figure 2.24 et Figure 2.25). Remarquons à cet effet que ces activités augmentent avec la survie sans qu'aucune relation logique possible ne puisse être établie entre elles et la croissance spécifique (Figure 2.26). Toutefois, une complémentarité des informations apportées par les figures 2.24, 2.25 et 2.26 semble indiquer la taille de 300 mg comme celle effective pour le sevrage des larves de perche fluviatile. Les preuves en sont que les activités chymotrypsiques maximales sont obtenues au sevrage à 300 mg (Figure 2.24), elles sont restées stables entre le sevrage à 300 mg et celui à 500 mg correspondant à une phase de survie exponentielle (Figure 2.25) et à une phase de croissance optimale et stationnaire sur aliment artificiel (Figure 2.26). Cette hypothèse rejoint celle émise par Zambonino Infante *et al.* (1996) lorsqu'ils expliquèrent la période de forte variation des activités amylasiques chez les larves du bar comme celle pendant laquelle elles s'efforcent de s'adapter à l'aliment sec et que la stabilité des activités correspond à la période de maturité de leur état nutritionnel.

#### 2.2.2.3.2.3. Pepsine

Les activités pepsiques augmentent chez les larves nourries avec de l'aliment vivant jusqu'à la taille de 300 mg, puis décroissent régulièrement avec l'augmentation du poids (Figure 2.23), indiquant que la larve possède à ce stade (300 mg) toute sa capacité digestive. Les activités pepsiques les plus élevées sont obtenues en général au niveau des larves non sevrées à l'aliment artificiel suivies de celles qui ont survécues aux sevrages à 50 mg et 100 mg et celles qui venaient d'être sevrées à 500 mg (Figure 2.23 et Figure 2.24). Les fortes activités pepsiques retrouvées au 49<sup>ème</sup> jour chez les larves non sevrées (Figure 2.20) et qui s'affichaient encore en fin d'expérience dans ces mêmes groupes seraient probable-



ment dues à l'apport exogène souvent significatif des nauplii d'artémie ingérés comme observé pour les activités trypsiques (Lauf et Hofer, 1984). Les autres augmentations des activités pepsiques peuvent s'expliquer par la réponse de l'organisme à l'apport d'un aliment inadéquat, soit à cause de la précocité du sevrage (50 et 100 mg), ou du temps de sevrage devenu trop court pour le passage tardif sur l'aliment artificiel (500 mg).

Des activités pepsiques similaires ont été rapportées chez les larves de la daurade (Kawai et Ikeda, 1973) et du turbot (Ueberschar, 1993) de 30 jours d'âge. Ces auteurs ont obtenu des activités pepsiques de 500 unités par mg de protéines contre (892±60) unités par mg de protéines obtenues ici chez les larves de la perche fluviatile de 64 jours d'âge. Chez la carpe commune au contraire, les activités pepsiques et trypsiques sont élevées au début de l'alimentation exogène, puis décroissent à partir de l'âge 40 jours (Kawai et Ikeda, 1973; Dabrowski et Glogowski, 1977).

Une croissance continue des activités pepsiques s'observe à partir du sevrage à 300 mg (Figure 2.24 et Figure 2.25) parallèlement à la survie et la croissance, indiquant ainsi que la taille effective de sevrage des larves de perche fluviatile devrait être choisie à partir de cette taille (300 mg). Les activités pepsiques ont été souvent utilisées comme un bon indicateur de l'état fonctionnel de l'estomac chez les larves de poissons carnivores tels que la daurade noire et le turbot (à partir de l'âge 20 jours, Kawai et Ikeda, 1973; Ueberschar, 1993). Comme l'ont rapporté Craig (1987) et Kestemont *et al.* (1996), l'estomac de la perche fluviatile ne prend sa forme complète qu'à 3 ou 4 semaines d'âge. Cependant, il ne devient capable d'assumer ses fonctions gastriques que plus tard, à la suite de la formation complète de ses 3 caecae pyloriques. Les variations des activités pepsiques observées dans la présente étude chez la larve de la perche fluviatile peuvent être valablement expliquées par cette différenciation morphologique de son estomac. Ainsi, on observe sur la figure 2.20 que le pic des activités pepsiques se trouve entre 42 et 56 jours d'âge (235-412 mg de poids moyen) sur aliment vivant et que pendant cette même période, ces activités pepsiques sont stables en général chez les larves sevrées à l'aliment artificiel et spécialement chez celles de 300 mg qui sont sevrées précisément pendant cette période.

### 2.3. Conclusions

De l'ensemble des résultats bibliographiques et expérimentaux, il ressort que les larves de la perche *Perca fluviatilis* possèdent des potentialités zootechniques et digestives non négligeables. Nourries précocement avec des proies vivantes avant l'épuisement de leur petite vésicule vitelline, leur croissance suit une fonction exponentielle en fonction du temps. Les proies vivantes de très petites tailles telles que rotifères diminuent significativement l'hétérogénéité des classes de taille souvent fréquente dans les

populations de jeunes perches. Elles possèdent déjà à l'éclosion toutes les enzymes digestives, même si celles-ci sont encore assez variables à ce premier stade de vie. Cependant, beaucoup d'efforts restent à faire pour extérioriser ces potentialités des larves de perche fluviatile. A cet effet, il est nécessaire de renforcer la résistance des larves à la faim et aux stress souvent provoqués par les manipulations et les variations des paramètres biotiques et abiotiques de l'environnement. La supplémentation des régimes alimentaires des géniteurs avec des acides gras polyinsaturés (EPA, DHA) et/ou de la vitamine C pourrait conduire à la production des larves plus résistantes. Le sevrage tardif à l'aliment artificiel sec augmente significativement le taux de survie, mais aussi le coût de production des alevins. Le sevrage à 300 mg réduit considérablement la mortalité et le coût de production sans affecter la croissance et la capacité digestive des larves et apparaît de ce fait comme le poids individuel optimal de sevrage à un aliment artificiel sec. Des sevrages plus précoces peuvent toutefois être envisagés par le pisciculteur si ses besoins en alevins ne sont pas très importants.

**Alimentation et besoins nu-  
tritionnels de la perche  
fluviale**

**Alimentation et besoins nu-  
tritionnels de la perche  
fluviale**

### 3. Alimentation et besoins nutritionnels de la perche fluviatile

L'aliment représente le facteur de production le plus onéreux des frais d'exploitation ( $\pm 50\%$ ) dans une entreprise de pisciculture intensive. Il influence directement la croissance et la santé des poissons et est par conséquent l'élément le plus déterminant de la productivité et de la rentabilité de l'élevage (Watanabe, 1988; Bai et Gatlin, 1994). Dès lors, la formulation d'un aliment bien équilibré et sa distribution quantitative et méthodique adéquate aux jeunes perches contribuera en grande partie au succès de la perculture. Cependant, pour être effective, la formulation et la fabrication de l'aliment doivent prendre en compte d'une part, les besoins nutritionnels de l'espèce en termes d'énergie, de protéines, de lipides, de vitamines et de sels minéraux, et d'autre part, la disponibilité des ingrédients, leur coût, leur digestibilité et la régularité de leur approvisionnement (Watanabe, 1988; Wilson, 1989; Cowey, 1994; Kaushik et Médale, 1994). Remarquons toutefois que la complexité de ces travaux implique des recherches expérimentales, un contrôle de qualité et une évaluation biologique et nécessite, de ce fait, des expertises concertées et surtout une durée qui fait évidemment défaut dans le cadre de ce travail. Notre contribution s'est donc limitée à l'estimation de la ration alimentaire optimale et à des essais de détermination des besoins quantitatifs et qualitatifs en protéines chez la perche à différents stades de son développement. Les besoins en acides aminés ont été estimés à partir de la méthode d'Ogino (1980), modifiée par des approches nutritionnelles plus fiables basées aussi sur la fixation corporelle journalière de chaque acide aminé. L'objectif était d'assurer la meilleure croissance possible à la perche, tout en minimisant les gaspillages de protéines et d'énergie.

### 3.1. Recherches bibliographiques

#### 3.1.1. Besoins énergétiques

Tout comme les vertébrés supérieurs, le poisson a besoin d'un apport régulier d'énergie pour être en bonne santé, se déplacer, voir, écouter, goûter, sentir, combattre, effectuer ses parures nuptiales, grossir, se reproduire etc. Toutes ces fonctions et autres encore sont assurées si la ration alimentaire du poisson contient en quantité et en qualité l'énergie nécessaire, complétée par des quantités optimales de vitamines et de sels minéraux (Cho *et al.*, 1982; Cho et Kaushik, 1990; Kaushik et Médale, 1994). Sans rentrer dans le détail des unités de mesure d'énergie qui font souvent l'objet de controverses (Freedland et Briggs, 1977; De Silva et Anderson, 1995), passons à l'examen du flux d'énergie (toutes catégories confondues) dans le vivant pour essayer de comprendre sa répartition dans les différentes fonctions vitales. Et puisque la croissance nous semble la fonction énergétique la plus importante en élevage, nous étudierons comment agir sur la qualité de l'énergie pour privilégier la part à lui allouer.

##### 3.1.1.1. Schéma global de l'utilisation de l'énergie

Age et Krogh (1914) furent les premiers chercheurs à avoir étudié le bilan bioénergétique au niveau du poisson, sur la base de la relation entre température et échange respiratoire. Révisant plus tard les principes de la bioénergétique, Brody (1945) a mis en évidence qu'ils sont gouvernés par les lois de la thermodynamique. Il était arrivé à la conclusion que la vie est un ensemble de processus physiques et que le catabolisme des aliments est organisé dans l'animal de façon à conserver de l'énergie libre sous forme d'ATP (adénosine triphosphate) pour les processus d'anabolisme et d'autres fonctions vitales. Signalons à cet effet, que le cycle d'acide citrique est le site primaire de production d'ATP et son hydrolyse est la source d'énergie à l'échelle cellulaire. Dans les conditions physiologiques, l'hydrolyse d'une molécule d'ATP libère environ 8 kcal (Smith, 1989). Des applications beaucoup plus ciblées des principes du bilan bioénergétique se sont multipliées par la suite. Nous pouvons citer, entre autres, les travaux de Brett (1962) chez le saumon atlantique, de Beamish (1974, 1979) chez le bar à grande bouche (*Micropterus salmoides* L.) et chez le requin (*Petromyzon marinus* L.) ainsi que les travaux de Cho et Slinger (1980), Kaushik et Luquet (1983), Kaushik et Oliva (1986) et Storebakken *et al.* (1991) chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss* W.).

L'équation globale de la répartition d'énergie dans le système animal d'après ces différents auteurs est :

$$EI = EF + EBr + EU + EG + ES + EH + ER \text{ où}$$

EI = énergie totale contenue dans l'aliment ingéré (MJ),

EF = énergie fécale (MJ) représente les éléments indigestes comme la cellulose),

EBr = énergie perdue par les branchies (MJ),

EU = énergie perdue par les urines (MJ),

EG = énergie perdue sous forme de gaz ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_4$ ) (MJ). Elle est négligeable chez le poisson

ES = énergie perdue par transpiration ou par mues (MJ),

EH = production de chaleur (MJ). C'est la partie de l'énergie métabolisée par le poisson qui est utilisée pour maintenir une certaine température à l'intérieur de son tube digestif afin de faciliter la digestion (Smith, 1989) et pour assurer son déplacement, sa migration, ses combats, le catabolisme et l'anabolisme de ses cellules, etc. Cette énergie chaleur intègre le métabolisme basal, qui est par définition la production de chaleur du corps dans un état post-absorptif et au repos dans un milieu thermoneutre (Freedland et Briggs, 1977; Watanabe, 1988; De Silva et Anderson, 1995).

ER = énergie retenue dans les tissus (croissance ou produits de reproduction tels que gamètes, lait, etc.) (MJ). Ainsi, lorsque l'énergie consommée excède l'énergie dépensée, il y a stockage et donc gain de poids. Au contraire, lorsque l'énergie ingérée est inférieure à l'énergie dépensée, les substances corporelles compensent le déficit et il y a perte de poids.

Le rôle du nutritionniste en aquaculture est de maximiser ER et de minimiser EF, EU, EG, EBr, ES et EH. D'après Smith (1989), l'importance de chaque catégorie d'énergie dépend de la quantité totale d'énergie consommée par le poisson et de son habileté à digérer et à utiliser cette énergie. La figure 3.1 illustre les différentes répartitions possibles de cette énergie en fonction du niveau d'alimentation. Ainsi, le niveau d'alimentation augmente de la gauche vers la droite, de zéro au maximum d'ingestion volontaire. La ligne verticale en traits discontinus représente le niveau d'alimentation pour couvrir l'énergie d'entretien. A gauche de cette ligne verticale, l'énergie ingérée est inférieure au besoin d'entretien et il y a perte de poids. Au fur et à mesure qu'on avance vers la droite de la ligne verticale, la part de l'énergie qui revient à la croissance augmente. Cependant, lorsqu'on s'approche de la consommation maximale d'aliment, l'efficacité de digestion de l'aliment diminue et limite la part de l'énergie pour la croissance. L'efficacité maximale de digestion se situe à un niveau de consommation inférieur au maximum appelé le niveau optimal de consommation.

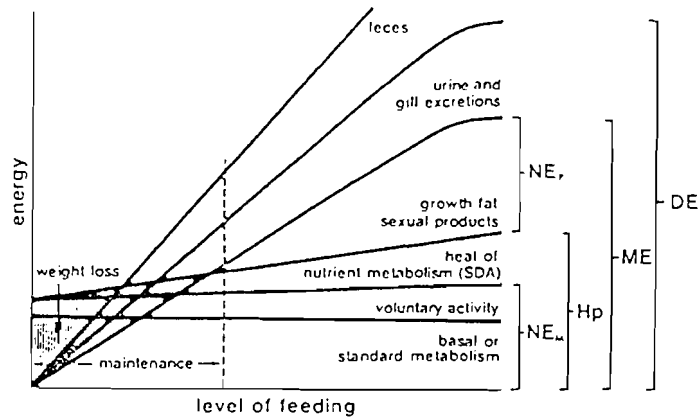


Figure 3.1. Distribution de l'énergie de l'aliment ingéré suivant différents besoins et processus;  $NE_p$  : réserve énergétique pour la croissance, la reproduction et l'engraissement,  $NE_u$  : perte de chaleur due au métabolisme basal et activités volontaires, SDA : activités dynamiques spécifiques, Hp : production de chaleur, ME : énergie métabolisable, DE : énergie digestible (Smith, 1989)

### 3.1.1.2. Sources d'énergie

Les lipides, les hydrates de carbones et les protéines constituent les principales sources d'énergie (Cho *et al.*, 1982). L'apport d'énergie alimentaire pour tous les animaux y compris le poisson est estimé à  $4,1 \text{ Kcal g}^{-1}$  ( $0,017 \text{ MJ g}^{-1}$ ) pour les hydrates de carbone,  $9,1 \text{ Kcal g}^{-1}$  ( $0,038 \text{ MJ g}^{-1}$ ) pour les lipides et  $5,5 \text{ kcal g}^{-1}$  ( $0,023 \text{ MJ g}^{-1}$ ) pour les protéines. Rappelons que :

$$1 \text{ MJ (mégajoule)} = 1000 \text{ KJ (kilojoules)} = 239 \text{ Kcal (soit } 1000/4,18)$$

En terme de kilocalorie servie aux poissons, les protéines sont les sources d'énergie les plus onéreuses. A cet effet, le rôle fondamental du nutritionniste du poisson est de chercher constamment à maximiser l'utilisation des protéines pour la croissance au détriment des dépenses énergétiques, par une combinaison adéquate des différentes sources d'énergie. On constate malheureusement qu'un taux modéré de protéines conduit souvent à un dépôt excessif de graisse dans la carcasse et donc à une qualité médiocre des poissons produits. Le taux effectif de protéines dans l'alimentation du poisson est celui qui permet une bonne croissance (et



donc une bonne synthèse de protéines) tout en limitant le dépôt de graisse dans la carcasse. Le rapport protéines : énergie apparaît donc déterminant dans l'appréciation des performances zootechniques d'un aliment. Ce rapport est estimé en moyenne à 22 g de protéines par MJ d'énergie pour les poissons d'élevage (De Silva et Anderson, 1995). Il varie toutefois d'une espèce à une autre, soit de 17 g.MJ<sup>-1</sup> pour le tilapia *Oreochromis niloticus* (De Silva *et al.*, 1989) à 28,7 g.MJ<sup>-1</sup> pour le poisson chat américain *Ictalurus punctatus* (Reis *et al.*, 1989).

En raison de leur valeur énergétique élevée, les lipides sont utilisés comme source d'énergie pour épargner les protéines. Il convient de signaler ici aussi, qu'au delà d'une certaine limite d'incorporation de lipides dans l'aliment, il y a réduction de la consommation ou de l'utilisation des autres composantes de l'aliment (Lovell, 1979). Leur niveau de tolérance dans le régime varie énormément d'une espèce à une autre. Au delà de 8 % dans le régime du bar, les lipides entraînent une baisse de la croissance (Nematipour *et al.*, 1992), alors que certains poissons tels la morue *Gadus morhua* (Lie *et al.*, 1988) et le tilapia *Oreochromis niloticus* (De Silva *et al.*, 1991) tolèrent des taux d'incorporation allant jusqu'à 15-18 % du régime.

Les hydrates de carbones constituent les sources d'énergie les moins onéreuses, mais malheureusement à usage assez limité dans l'alimentation des poissons, que ce soit pour fournir de l'énergie de qualité ou pour épargner des protéines. Le niveau optimal d'hydrates de carbones digestibles dans le régime du poisson varie d'une espèce à l'autre. Chez les poissons d'eaux froides et les poissons marins, il est inférieur ou égal à 20 % alors que chez les poissons d'eaux douces et tempérées, il est nettement supérieur (Wilson, 1994). Par ailleurs, l'utilisation des hydrates de carbone varie intraspécifiquement en fonction de leur source. Par exemple, le tilapia *Tilapia zillii* G. (El-Sayed et Garling, 1988) et le bar hybride (Nematipour *et al.*, 1992) utilisent efficacement la dextrine comme source d'énergie, tandis que le saumon *Oncorhynchus tshawytscha* utilise par ordre décroissant d'efficacité à 20 % de matière sèche, le glucose, le maltose, le sucrose, la dextrine et le fructose (Buhler et Halver, 1961).

### 3.1.1.3. Evaluation des besoins énergétiques

#### 3.1.1.3.1. Relations entre rations alimentaires et besoins énergétiques

Tout comme les vertébrés supérieurs, le poisson a besoin d'un apport continu en énergie pour assurer ses fonctions de premières nécessités vitales et grossir. Un poisson à jeun obtient son énergie d'entretien du catabolisme de ses réserves corporelles de graisse et de protéines, tandis qu'un poisson alimenté tire son énergie d'entretien et de croissance du catabolisme de son aliment consommé.

La détermination de la ration appropriée pour une espèce doit prendre en compte son poids, la température de l'eau et la biomasse totale

de poisson dans le récipient d'élevage. La figure 3.2 montre chez les alevins de saumon *Oncorhynchus nerka* les variations des besoins d'entretien et de consommation totale d'aliment en fonction de différentes combinaisons de température et de ration (Brett *et al.*, 1969). Ainsi, la ration alimentaire nécessaire pour produire n'importe quel taux de croissance à une température donnée peut être rapidement déterminée en choisissant la combinaison appropriée.

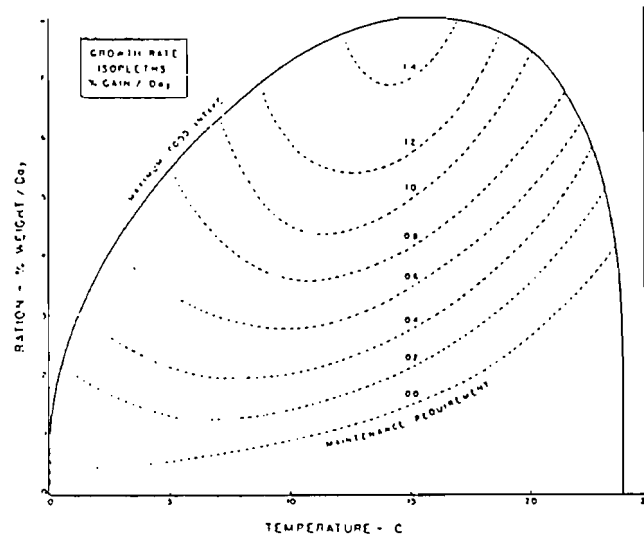


Figure 3.2. Courbes isométriques de croissance établies chez des alevins de saumon *Oncorhynchus nerka* montrant le taux de croissance spécifique (% jour<sup>-1</sup>) qui peut être espéré à partir d'une combinaison de rations et de températures (Brett *et al.*, 1969).

Pour une température fixe et un poids donné, la relation entre la croissance spécifique, le taux de conversion alimentaire et le niveau d'alimentation, illustrée à la figure 3.3 a été recommandée par De Silva et Anderson (1995) pour déterminer les rations alimentaires nécessaires pour couvrir les besoins énergétiques d'entretien ou de croissance optimale. Cette dernière figure montre que le taux de croissance spécifique augmente rapidement avec le niveau d'alimentation jusqu'à la ration optimale. Après ce niveau, l'augmentation du taux de croissance spécifique par unité de taux de ration diminue. Aussi, le niveau optimal d'alimentation correspond à la tangente à la courbe de croissance spécifique et au plus faible taux de conversion alimentaire. Le taux de conversion alimentaire ou "Food conversion ratio" est par définition la quantité d'aliment (g) nécessaire pour produire 1 g de poisson.

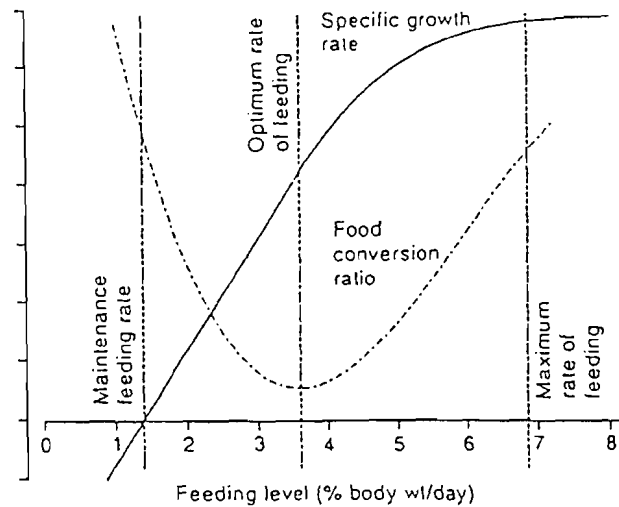


Figure 3.3. Relation théorique entre le taux de croissance spécifique (SGR), le taux de conversion alimentaire (TC) et le niveau d'alimentation chez le poisson (De Silva et Anderson, 1995)

Une relation mathématique plus simple entre le taux de croissance spécifique et le niveau de ration avait été déjà proposée par Brett *et al.* (1969). Dans ce cas, le taux de croissance spécifique (SGR) apparaît comme une fonction polynomiale de second degré de la ration alimentaire (Figure 3.4).

Ainsi, la ration d'entretien correspond graphiquement comme pour la figure 3.3 à un SGR égal à zéro, c'est à dire au point d'interception de la courbe avec la droite des abscisses. La ration optimale est celle qui correspond au point d'interception de la tangente à la courbe passant par le point d'origine de coordonnées (0,0). Elle correspond à la plus petite ration qui produit la meilleure croissance, c'est la ration la plus efficace. La ration maximale est celle qui correspond simplement à la croissance la plus élevée. Elle est définie graphiquement, par la projection orthogonale sur la droite des abscisses, du point d'interception de l'asymptote à la courbe passant par la croissance maximale.

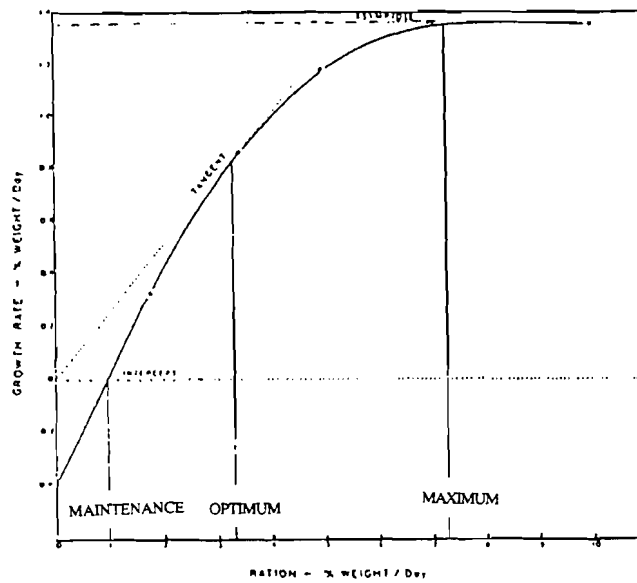


Figure 3.4. Détermination géométrique des rations alimentaires (Brett *et al.*, 1969).

### 3.1.1.3.2. Besoins énergétiques pour l'entretien

L'énergie d'entretien est estimée à  $56 \cdot 10^{-3}$  MJ / kg / jour à 20°C pour la truite arc-en-ciel de 47 g (Cho et Slinger, 1980) et à  $42 \cdot 10^{-3}$  MJ / kg / jour à 18°C chez l'esturgeon de 30 g (Médale et Kaushik, 1991). Brett (1972), Kaushik et Médale (1994) ont montré que l'énergie d'entretien des animaux à sang chaud (mammifères terrestres par exemple) qui ont besoin de maintenir la température de leur corps à 37°C, est 10 à 30 fois plus élevée que celle des animaux poikilothermes (Tableau 3.1). On peut constater sur ce tableau, que les oiseaux ont un besoin d'énergie pour l'entretien plus élevé que les herbivores et les omnivores, leur température corporelle étant très élevée ( $\pm 42^\circ\text{C}$ ).

Les besoins énergétiques pour l'entretien varient chez le poisson en fonction du poids et avec la température de l'eau pour une taille donnée. Smith *et al.* (1978) ont déterminé chez des truites arc-en-ciel de 0,85 à 57 g des besoins d'entretien allant de 54 à  $136 \cdot 10^{-3}$  MJ / kg / jour à 15°C. Ils ont montré chez cette espèce que les besoins d'entretien ( $10^{-3}$  MJ / jour) varient en fonction du poids (kg) suivant l'équation :

$$\text{Besoin d'entretien (MJ / jour)} = 204 W^{0,75} \quad (r = 0,92)$$

où W est le poids (Kg)

Par ailleurs, Cho et Slinger (1980) ont montré chez des truites de poids de 47-136 g, des besoins d'entretien de 18, 37, 61 et  $56.10^{-3}$  (MJ / Kg / jour) à des températures respectives de 7,5, 10, 15 et 20°C.

Tableau 3.1. Besoins comparés en énergie d'entretien chez quelques animaux terrestres et les poissons (Kaushik et Médale, 1994)

Espèce animale	Energie d'entretien (MJ.kg <sup>0.75</sup> .jour <sup>-1</sup> )
Vache	0,32
Porc	0,31
Mouton	0,29
Oiseau	0,36
Rat	0,30
Poulet	0,36
Homme	0,29
Moyenne des animaux terrestres	0,27
Différents poissons	0,01-0,07

### 3.1.1.3.3. Besoins énergétiques pour la croissance

L'énergie métabolisable qui n'a pas été dissipée sous forme de chaleur dans l'entretien et les processus physiques et biochimiques de transformations alimentaires est retenue comme nouveaux éléments de tissus corporels. Chez les jeunes poissons, cette rétention se fait sous formes de protéines et de graisses, tandis que chez le poisson qui approche la taille de maturité, il y a une proportion croissante de graisse dans cette énergie retenue. Les proportions relatives de protéines et de graisse dans l'énergie retenue dépend avant tout de l'excédent énergétique après les dépenses caloriques et de la disponibilité des acides aminés nécessaires pour la construction des protéines (Cho *et al.*, 1982; Kaushik et Médale, 1994). Elles peuvent se calculer à partir de l'énergie contenue dans le gain de matière corporelle du poisson (Gropp *et al.*, 1993).

Une quantité de 14-17 MJ d'énergie digestibles par kg d'aliment sec ou 17-20 MJ d'énergie brute par kg d'aliment sec sont nécessaires pour assurer une bonne croissance chez les Salmonidés (Cho et Kaushik, 1990). Smith (1989) n'en a proposé que 13 MJ par kg d'aliment sec ou 19 MJ par kg de gain de poids pour la même espèce. Pour la truite arc-en-ciel de 37 g de poids initial élevée à 18°C, les besoins énergétiques pour la croissance sont estimés à 17,5 MJ par kg de gain de poids (Kim et Kaushik, 1992). Cho (1992) estime que la jeune truite a besoin de moins d'énergie par gain de poids que la truite âgée. Il a proposé des valeurs de 10 et 18 MJ par kg de gain de poids pour l'alevin et le géniteur (5 Kg) de la truite. Watanabe *et al.* (1979) ont recommandé un régime de 35 % de

protéines et de 15 à 20 % de graisse pour une croissance maximale de cette espèce. Les besoins pour la croissance augmentent avec la température. D'après Cho et Slinger (1980), pour un régime de 38 % de protéines et de 9 % de graisse, l'énergie retenue par la truite arc-en-ciel était par exemple de 44, 49, 53 et 58 % de l'énergie totale ingérée à des températures respectives de 7,5; 10; 15 et 20°C.

Contrairement aux vertébrés supérieurs chez lesquels il y a suffisamment de données sur les besoins énergétiques pour différentes productions spécifiques (croissance, engraissement, gestation, lactation, etc.), très peu de travaux ont été effectués sur les besoins quantitatifs en énergie chez le poisson à différents stades physiologiques. Il existe cependant beaucoup de données sur les variations énergétiques durant la maturation gonadale (Phillips, 1969) et les activités de nage (Brett, 1972; Brett et Grove, 1979; Beamish, 1980). Pendant la phase de migration du saumon à la recherche du site propice pour la ponte, près de 60 % de ses réserves énergétiques sont mobilisées dans les gonades (Kaushik et Médale, 1994). Ces mêmes auteurs ont montré qu'il y a  $27 \cdot 10^{-3}$  MJ d'énergie par g de matière sèche de l'œuf de la truite arc-en-ciel, indépendamment de la taille de l'œuf. Takeuchi *et al.* (1981) ont par ailleurs suggéré à la suite de plusieurs années de travaux sur cette même espèce qu'un régime contenant 35 % de protéines et près de 17 MJ d'énergie digestible par kg de matière sèche semble nécessaire pour lui assurer une bonne reproduction. L'énergie utilisée pour la nage réduit celle qui doit être retenue et dans certains cas, dépasse même l'énergie brute totale (Cho *et al.*, 1982; Watanabe, 1988).

### 3.1.2. Besoins en protéines

#### 3.1.2.1. Rôles divers

Les types de protéines qu'on retrouve dans le corps du poisson peuvent être classés suivant leurs fonctions ou leur solubilité (Lovell, 1989). On distingue :

- les protéines fibreuses qui sont des protéines très insolubles et indigestes constituées par les collagènes, les élastines et les kératines. Les collagènes sont contenus dans les tissus de connexion, dans les matrices osseuses, les écailles, les nageoires, les opercules, les branchies et les vaisseaux sanguins. Les élastines se trouvent dans les tendons artériels et autres tissus élastiques. Les kératines constituent les cheveux et les poils des animaux supérieurs et les barbillons chez le poisson;
- les protéines contractiles tels que l'actine, la tropomyosine B et la myosine qui sont les protéines complexes du muscle. Ce sont des protéines très digestibles à haute valeur nutritionnelle;

- les protéines globulaires extractibles des tissus avec de l'eau ou de solutions alcalines. Elles représentent les enzymes, les hormones protéiques et le sérum soluble du sang.

### 3.1.2.2 Sources

Les protéines quelle que soit leur source, sont capables de satisfaire tout au moins partiellement les besoins en protéines et en acides aminés chez les poissons. Même les poissons carnivores tels que la truite, le saumon, la perche utilisent assez bien les protéines végétales lorsqu'ils sont élevés en captivité (Phillips, 1969; Morale *et al.*, 1994; Gomes *et al.*, 1995; Fiogbé *et al.*, 1996). Comme l'a souligné (Remacle, 1995), il n'y a pas de bonnes et de moins bonnes protéines, mais l'essentiel est de savoir les mélanger dans des proportions telles que les déficits des unes en acides aminés soient comblés par les excès des autres. Malheureusement, jusqu'à une date récente, la tendance pour les entreprises de production d'aliments commerciaux pour poissons a été d'utiliser les farines de poisson comme unique source de protéines. L'utilisation de farines de poisson pour l'aquaculture a été évaluée en 1992 à 733.000 tonnes dont 660.000 tonnes (90 %) ont servi à la production des poissons carnivores qui ne représentaient que 12 % de la production totale (Tacon, 1994). Face à cette utilisation abusive des poissons de la pêche au détriment de la consommation humaine, la nécessité de rechercher des produits de substitution des farines de poisson s'est fait sentir ces dernières années (Tacon, 1983; Tacon et Jackson, 1985; Stafford et Tacon, 1988; Kaushik, 1990; De Verga et Bohm, 1992). Il existe depuis quelques années une multitude d'autres sources de protéines de substitution des farines de poissons, même si elles sont plus utilisées à l'échelle des laboratoires que dans les entreprises de fabrication d'aliments pour poisson. L'essentiel de ces sources peut être synthétisé dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2. Différentes sources de protéines pouvant servir de substituants des farines de poisson

Ingrédients	PB (% MS)	NIR (%)	Références
<b>Origines végétales</b>			
Farine d'algue ( <i>Spirulina maxima</i> , <i>Chlorella</i> )	58,6	1-10	Watanabe <i>et al.</i> (1990); Cysewski (1992)
Concentrées de protéines de feuilles (gazon de seigle)	57,7	-	Rosenlund (1986); Johanson <i>et al.</i> (1991)
Farine de gluten de céréales	42,7	4-20	Shimeno <i>et al.</i> (1993)
Concentrées protéiques de patate	78,1	5-30	Moyano <i>et al.</i> (1989)
Tourteau de graines du lupin	40,0	10-35	Robaina <i>et al.</i> (1991; 1995)
Tourteau de graines du pois	22,5	10-35	Gouveia <i>et al.</i> (1993)
Tourteau de graines du coton	41-41.2	15-35	Atay (1989)
Tourteau de graines du soja	42,9-49,7	15-35	Fiogbé (1990); Kaushik (1990); Kissil (1991)
Tourteau de graines du tournesol	23,3-46,3	10-35	Martinez (1986)
Tourteau de graines du colza	35,6-37,0	15-35	Wjno (1992)
Levure ( <i>Candida</i> , <i>Torula</i> , <i>Saccharomyces</i> )	44-56	10-50	Fiogbé (1985); Steffens (1990); Rumsey (1994)
<b>Origines animales</b>			
Bactéries ( <i>Methanobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Micrococcus</i> )	73,1	15-35	Voss (1988); Kiessling & Askbrandt (1993)
Mixture de zooplancton	60-95	-	De Verga & Bohm (1992)
Farine de ver de terre	56,4	15-35	Cardenete <i>et al.</i> (1993)
Farine de plumes de volailles	84,9	5-20	Hughes (1991)
Farine de viande de volaille	58,7	10-35	Voss (1988); Kissil (1991)
Farine de sang	79,8-85,6	4-30	Fowler (1990)
Farine de foie	66,0	10-50	Foscarini (1988); Arai (1991)
Farine de viande du bétail	51,4	15-50	Shimeno <i>et al.</i> (1993)
Farine de viande et d'os	50,4	5-35	Shimeno <i>et al.</i> (1993)

PB = protéine brute, NIR = niveau d'incorporation recommandé

### 3.1.2.3. Métabolisme

Le métabolisme des protéines se résume en celui des acides aminés qu'elles contiennent. Les acides aminés résultant de la digestion des protéines entrent dans le sang via l'intestin et sont incorporés dans le pool métabolique où ils se retrouvent mélanger avec les acides aminés libres provenant du catabolisme de divers tissus corporels (Figure 3.5).



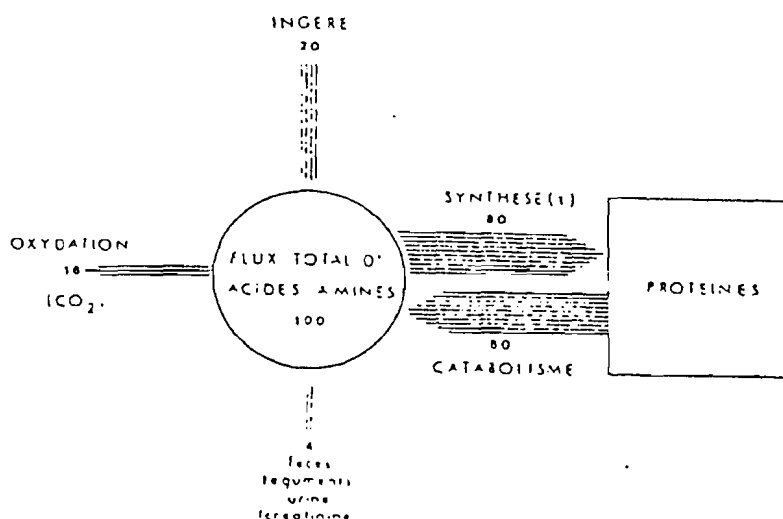
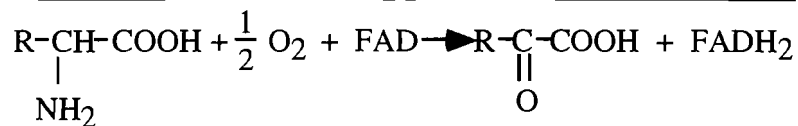
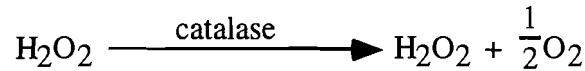
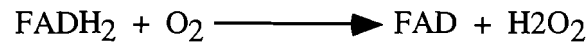
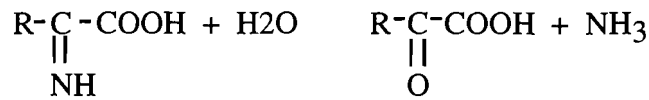
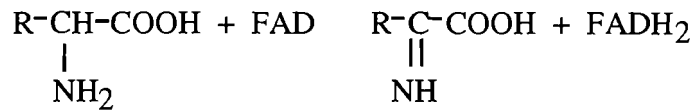


Figure 3.5. Composantes (%) du flux total d'acides aminés quotidien dans un organisme adulte (Millward et al., 1976).

Ce pool complexe et dynamique d'acides aminés emprunte différentes voies métaboliques à savoir :

1. Ils peuvent servir à la synthèse des protéines de tissus (remplacement des protéines catabolisées et gain de nouvelles protéines);
2. Ils peuvent servir à la synthèse de certains constituants azotés des tissus tels que les acides nucléiques, les hormones et les enzymes;
3. Une partie peut être décomposée par déamination oxydative en chaînes carbonées et en groupes aminés. Dans ce cas, les chaînes carbonées sont soit converties en saccharides et en graisses, ou soit recombinaées à des groupes aminés (transaminase) pour former d'autres acides aminés (acides aminés non essentiels). Les groupes aminés libres restants sont alors excrétés par l'urine sous forme d'ammoniaque et d'urée.

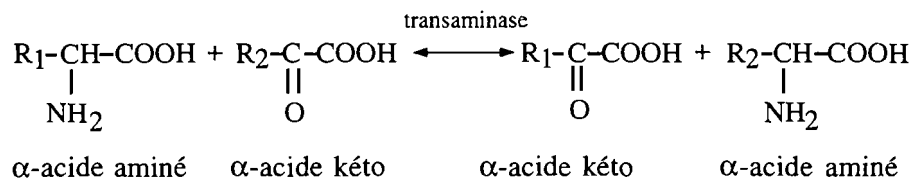
La déamination est catalysée par L- et D-amino acides oxidases dont les coenzymes sont respectivement la flavine mononucléotide et la flavine adénine dinucléotide. La réaction intègre à la fois la déamination et l'oxydation avec la production de kéto acide et d'ammoniaque. Ces réactions de déamination et d'oxydation peuvent être schématisées comme suit :



α-acide aminé

α-acide kéto

La transamination se réalise par la liaison du groupement amine (NH<sub>2</sub>) d'un acide aminé avec l'acide α-kéto provenant d'un autre acide aminé. La réaction est catalysée par l'aminotransférase avec la pyridoxal-phosphate comme coenzyme. La réaction de transamination peut être schématisée comme suit :



Les détails de ces différents processus de synthèse peuvent être consultés dans les travaux de Watanabe (1988) et de De Silva et Anderson (1995).

### 3.1.2.4. Synthèse des protéines

Les protéines de l'organisme sont continuellement synthétisées et dégradées et la différence entre le taux de synthèse et le taux de dégradation constitue l'élément déterminant du gain de protéines et dans bien des cas, de la croissance du corps entier (Fauconneau, 1983; Houlihan, 1991). Par exemple, une relation de type linéaire a été mise en évidence entre

l'efficacité de rétention de protéines (%) et le gain de protéines corporelles (% $\cdot$ j $^{-1}$ ) chez la morue *Gadus morrhua* L. (Houlihan *et al.*, 1990).

Cette relation est restée identique d'un tissu à l'autre, malgré la grande variation de synthèse de protéines entre les différents tissus. Chez le poisson, les muscles blancs contribuent pour 30-40 % de la synthèse totale de protéines et constituent le site important de fixation de protéines (Fauconneau, 1983, 1985; Houlihan *et al.*, 1986, Houlihan, 1991). En effet, plus de 90 % des protéines synthétisées dans le foie ou les branchies participent au processus de renouvellement des protéines, alors que dans le muscle, cette proportion n'est que de 50 %. Cependant, le taux de synthèse de protéines (fraction de protéines synthétisées dans un tissu par unité de temps) dans le muscle est 10 à 20 fois plus faible que dans le foie et le tube digestif (Houlihan, 1991).

La synthèse des protéines est influencée par beaucoup de facteurs dont notamment :

- la taille du corps : le taux de synthèse de protéines diminue avec l'augmentation de la taille, indifféremment de l'espèce et des sites de synthèse (Dabrowski, 1986, Fauconneau, 1985). Selon Dabrowski (1986), cette tendance pourrait s'expliquer par la taille relative des viscères plus élevée chez les jeunes poissons, les taux de synthèse de protéines étant plus élevés dans ces derniers tissus;
- le jeûne caractérisé par les niveaux de base (minimum) de synthèse de protéines (Figure 3.6) et de forts taux de dégradation de protéines corporelles après un jeûne prolongé (Watt *et al.*, 1988 in Houlihan, 1991);
- la température de l'eau est considérée comme l'un des facteurs les plus importants de la synthèse des protéines (Fauconneau, 1983; Houlihan, 1991).

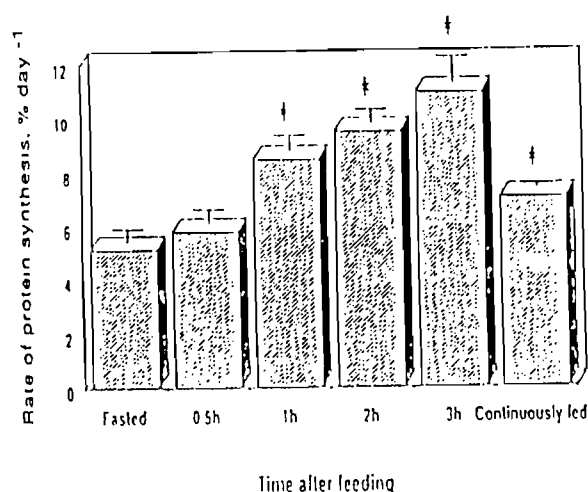


Figure 3.6. Taux de synthèse de protéines dans la mitochondrie du foie de la truite du jeûne au nourrissage, à différentes périodes de temps (Houlihan, 1991).

### 3.1.2.5. Evaluation des besoins en protéines et en acides aminés

#### 3.1.2.5.1. Méthodes de détermination des besoins en protéines

Les besoins en protéines sont actuellement bien connus chez plusieurs espèces de poissons. Nous pouvons citer parmi tant d'autres : les juvéniles du poisson chat *Ictalurus punctatus* R. (Garling et Wilson, 1976), les larves de la carpe herbivore *Ctenopharyngodon idella* Val (Dabrowski, 1977), les juvéniles de la carpe commune *Cyprinus carpio* L. (Ogino, 1980), les juvéniles du Tilapia *Sarotherodon mossambicus* P. (Jauncey, 1983), les larves du carassin doré *Carassius auratus* L. (Fiogbé et Kestemont, 1995), les juvéniles du bar *Lates calcarifer* L. (Catacutan et Colosso, 1995), les juvéniles de la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* W. (Morales *et al.*, 1994).

Dans tous les cas, la méthode utilisée a été la mesure du gain de poids en réponse à des régimes à taux croissants de protéines brutes et contenant les autres nutriments en suffisance. Par ailleurs, les régimes ont été formulés de façon à contenir le même niveau d'énergie métabolisable ou digestible. Une durée de 6 à 16 semaines pour les juvéniles et 3 semaines ou plus pour les larves avec un minimum de 6 niveaux différents de protéines ont souvent été nécessaires pour obtenir des résultats fiables. Il est recommandé de doser les protéines corporelles totales des poissons au début et en fin d'expérience pour s'assurer que les gains de poids sont

en adéquation avec les protéines fixées dans les carcasses (Cowey, 1993). Et puisque les protéines apportent à l'organisme des acides aminés, une attention particulière doit être apportée à la composition en acides aminés et à la digestibilité de la source de protéines utilisées. Toutefois, la caséine et la farine de poisson sont les sources de protéines les plus utilisées en expérimentation, avec souvent une supplémentation en acides aminés cristallisés de manière à obtenir des profils en acides aminés similaires à celui de l'oeuf (Arai, 1981; Ketola, 1982), du muscle (Cowey et Tacon, 1983) ou du corps entier de l'espèce en cause (Ogino, 1980; Wilson et Poe, 1985). Wilson et Poe (1985) ont montré chez le poisson chat *Ictalurus punctatus* qu'il existe une forte corrélation entre le profil en acides aminés du corps entier  $y$  et le profil des besoins  $x$  ( $y = 0,28 + 6,63 x$ ,  $r = 0,96$ ) où  $y$  est exprimé en g / 100 g acides aminés et  $x$  en % de protéines brutes de l'aliment. Cette observation fut confirmée plus tard par celle de Mambrini et Kaushik (1993) qui ont procédé à une analyse factorielle multivariée par correspondance de 136 profils en acides aminés de ces 3 groupes de protéines (oeuf, muscle et carcasse) tirés de 27 travaux différents de détermination de besoins en protéines chez le poisson.

Les résultats des besoins en protéines déterminés par cette voie peuvent être affectés par différents facteurs. Mis à part les facteurs de l'environnement tels que température, oxygène dissous, pH, salinité etc., on peut énumérer :

- le taux de croissance doit être comparé au maximum rapporté pour l'espèce étudiée. Lorsque la croissance est à son taux élevé, les besoins en protéines et en acides aminés pour l'entretien sont à leurs justes valeurs et sont généralement faibles (Cowey, 1993);
- la ration (% du poids vif) et la fréquence de distribution de l'aliment empêchent souvent l'espèce d'atteindre sa croissance maximale si elles ne sont pas bien fixées. Cet effet se perçoit bien à travers les travaux de Ogino (1980) sur la carpe commune et la truite arc-en-ciel (Figure 3.7). Les besoins en protéines nécessaires pour une rétention maximale de protéines chez la carpe ont augmenté de 35 % à 50 % de matière sèche lorsque la ration est abaissée de 3,5 % à 2,5 % de la biomasse;
- le rapport Protéine / Energie (g protéines.MJ<sup>-1</sup> d'énergie du régime) doit être bien équilibré pour éviter que les protéines soient converties en énergie au détriment de la croissance (Cho *et al.*, 1982);
- la méthode utilisée pour l'analyse des résultats obtenus est aussi très importante. On utilise souvent en nutrition des poissons la méthode de la ligne brisée (Jauncey, 1983), la régression polynomiale de second degré (Brett *et al.*, 1969; Brett, 1979) et le modèle de Iwama et Tautz (1981) plus spécifique des salmonidés, basé sur la racine au cube du poids corporel.

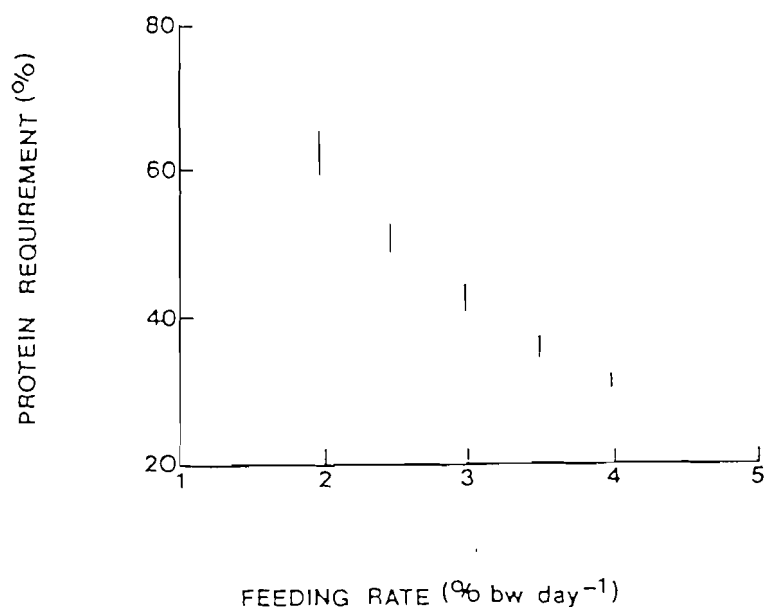


Figure 3.7. Relation entre ration alimentaire (% poids vif) et besoins en protéines brutes alimentaires chez la carpe commune et la truite arc-en-ciel (Ogino, 1980), chaque ligne verticale représente les limites combinées des besoins en protéines pour les deux espèces pour chaque ration donnée.

### 3.1.2.5.2. Méthodes de détermination des besoins en acides aminés

#### 3.1.2.5.2.1. Méthodes basées sur le gain de poids

Comme pour les protéines, les besoins en acides aminés ont été longtemps étudiés par les courbes doses-réponses où le gain de poids a représenté la réponse mesurée. Toutes les exigences expérimentales (6 doses de l'acide aminé étudié, 6 à 16 semaines d'expérimentation, protéines de haute valeur nutritive, régimes isoénergétiques, etc.) sont aussi valables. Deux tests d'alimentation sont souvent nécessaires pour affiner les résultats. Pour composer les régimes à doses croissantes d'un acide aminé, on part de 50 % de la quantité totale de protéines nécessaires et on complète avec des acides aminés purifiés (sous forme de cristaux) de façon à obtenir respectivement pour tous les autres acides aminés outre que celui en étude, des profils identiques à ceux du corps entier de l'espèce. Cependant, l'incorporation de grande quantité d'acides aminés purifiés entraîne souvent une baisse significative de la croissance des poissons nourris, comparée à celle des poissons nourris avec un régime contenant de protéines en entier (Cowey et Luquet, 1983). Cet effet négatif des acides aminés cristallins a été évité par Cho *et al.* (1992) qui les ont préala-

blement enrobés avec de l'agar avant leur incorporation dans les aliments lors de leur étude des besoins en arginine chez la truite arc-en-ciel. Pour limiter l'apport massif d'acides aminés cristallins, d'autres auteurs ont utilisé des sources de protéines déficientes en certains acides aminés (y compris celui étudié). Par exemple, Halver *et al.* (1958) ont utilisé le gluten du maïs comme protéine de base dans leur étude de besoin en lysine chez le saumon *Oncorhynchus tshawytscha* W. et Dabrowski (1981) a utilisé de la zéine lors de son étude du besoin en tryptophane chez la carpe commune.

Par ailleurs, Ogino (1980) a quantifié les besoins en acides aminés essentiels chez la carpe commune et le saumon atlantique en mesurant le gain de chaque acide aminé dans la carcasse des poissons nourris pendant 14 à 28 jours avec des régimes contenant des protéines à haute valeur biologique. Le gain quotidien de chaque acide aminé par 100 g de poids corporel est considéré comme étant approximativement le besoin du poisson. Cette méthode quoique très utile dans l'établissement rapide des besoins en acides aminés, a été longtemps critiquée pour sa combinaison des besoins d'entretien et de croissance. Cependant, en ajoutant aux traitements un régime sans protéine ou à très faible niveau de protéines, Kaushik *et al.* (1991) et Fiogbé et Kestemont (1995) ont pu estimer par cette même méthode des quantités d'acides aminés du régime alimentaire pouvant couvrir les besoins d'entretien respectivement des juvéniles de l'esturgeon sibérien *Acipenser baeri* R. et des larves du carassin doré *Carassius auratus* L..

### 3.1.2.5.2.2. Méthodes subsidiaires ou de confirmation

#### a. Méthodes basées sur les études d'oxydation

Ces techniques sont basées sur l'hypothèse selon laquelle, un acide aminé limitant ou déficient dans le régime alimentaire est en grande partie utilisé pour la synthèse de protéines et seulement une faible quantité s'accumule dans le plasma pour être oxydée en gaz carbonique. Au contraire, lorsqu'il est en excès dans le régime, et ne constitue donc pas un facteur limitant pour la synthèse des protéines, sa concentration augmente dans le plasma et une forte proportion est disponible pour l'oxydation.

- Oxydation directe

Des études basées sur l'oxydation directe ont été faites à la fin des tests d'alimentation dans le but de confirmer les besoins obtenus par dose réponse (Were, 1989; Kim *et al.*, 1992). Ces études consistent à marquer au  $^{14}\text{C}$  la chaîne carbonée de l'acide aminé étudié et à injecter par voie péritonéale les différentes doses ingérées lors du test doses-réponses. On procède ensuite à la mesure du gaz carbonique marqué ( $^{14}\text{CO}_2$ ) expiré par les poissons traités. A des doses très inférieures à l'acide aminé testé, on observe une faible oxydation, et lorsque les doses sont proches du besoin, on note des augmentations rapides de l'oxydation de l'acide aminé testé. Cette technique a été utilisée avec succès pour confirmer les besoins en lysine chez la truite arc-en-ciel (Walton *et al.*, 1984). Ces auteurs ont

trouvé un besoin de 19 g de lysine par Kg d'aliment contre 20 g de lysine par Kg d'aliment obtenu par la technique de dose-réponse.

Cependant, vu l'interférence de l'acide aminé testé marqué au  $^{14}\text{C}$  avec ceux de même type non marqués du plasma, dans la production de  $\text{CO}_2$  expiré, Kim *et al.* (1992) ont émis l'idée que, l'utilisation de l'oxydation directe comme technique de détermination des besoins en acides aminés chez les poissons serait probablement inappropriée. Le besoin en tryptophane déterminé par ces auteurs chez la truite arc-en-ciel par la technique d'oxydation directe est d'environ 2 contre 2,5 g/ kg d'aliment obtenu par la technique de dose-réponse.

- Oxydation indirecte

La méthode d'oxydation indirecte a été utilisée par Were (1989) pour étudier le besoin en tryptophane chez la truite arc-en-ciel. A la fin des tests doses-réponses, il a alimenté les poissons avec les mêmes granulés contenant de la phénylalanine marquée au  $^{14}\text{C}$ , et a mesuré en continu la quantité de  $^{14}\text{CO}_2$  expiré. De ses observations, il est apparu, qu'aux faibles doses de tryptophane, l'oxydation de la phénylalanine est rapide, parce que la déficience en tryptophane a limité la synthèse des protéines, entraînant un excès de ( $^{14}\text{C}$ )phénylalanine qui est oxydé. L'augmentation du niveau du tryptophane dans le régime s'est traduite par une diminution de l'oxydation du ( $^{14}\text{C}$ )phénylalanine qui a atteint son minimum lorsque le niveau du tryptophane dans le régime a coïncidé avec le besoin de la truite (0,5 % protéine).

b. Concentration des acides aminés libres dans le sang et les tissus

Cette méthode est basée sur l'examen de la relation entre les niveaux d'acides aminés libres du plasma sanguin et les quantités d'acides aminés ingérés avant de tirer une conclusion sur l'étude du besoin en un acide aminé par la technique de doses-réponses. Dans certains cas, la concentration de l'acide aminé étudié reste négligeable dans le plasma aux faibles doses ingérées, puis croit brusquement à une dose ingérée donnée au-delà de laquelle elle augmente de façon linéaire. Ce point d'inflexion est considéré comme le besoin du poisson (Cowey, 1993). Cependant, cette relation n'est pas toujours observée. Dans certaines expériences, on observe une adéquation entre le besoin en l'acide aminé étudié et le point d'inflexion de la courbe "acide aminé libre du tissu - acide aminé ingéré". Dans d'autres expériences, le point d'inflexion de la courbe "acide aminé libre du tissu - acide aminé ingéré" n'est pas observé, probablement dû à la complexité du pool d'acides aminés. Pour les 10 acides aminés étudiés chez le poisson chat *I. Punctatus*, seulement la lysine (5,1 % protéines), la thréonine (2,3 % protéines), l'histidine (1,5 % protéines) et la méthionine (2,3 % protéines) du sérum sanguin ont permis de confirmer les besoins déterminés par dose-réponse (Wilson, 1989).

### 3.1.2.5.2.3. Méthode de Wang et Fuller

Wang et Fuller (1989) et Fuller *et al.* (1989) ont développé chez le porc une nouvelle approche de détermination d'un profil optimal de be-



soins alimentaires en acides aminés chez les porcelets en croissance. Cette méthode était basée sur le concept selon lequel, quand un acide aminé est limitant dans le régime, le taux de synthèse des protéines corporelles est directement fonction de l'apport de cet acide aminé. Réciproquement, la réduction de la quantité d'un acide aminé non limitant n'aurait pas d'effet sur la rétention azotée. Ils avaient composé un régime de base avec un mélange de caséine et d'acides aminés cristallins, duquel les proportions de chaque acide aminé étaient régulièrement diminuées et leurs effets sur la rétention azotée étaient mesurés. Si la diminution du niveau d'un acide aminé n'a pas d'effet sur la rétention azotée, cela implique que la proportion enlevée était en excès. La figure 3.8 illustre bien le principe de cette méthode de détermination des besoins en acides aminés par déduction.

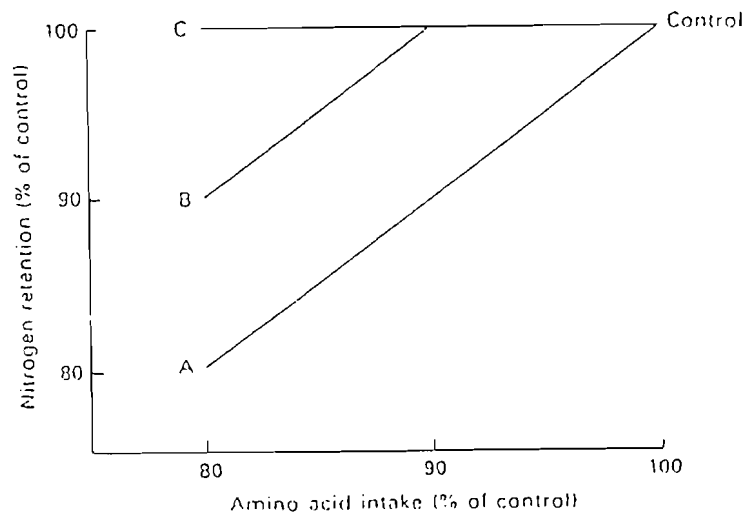


Figure 3.8. Schéma du principe de la méthode de détermination des besoins en acides aminés par déduction (Wang et Fuller, 1989).

Ainsi, si A est le premier acide aminé limitant, B et C sont les acides aminés qui sont respectivement à 10 et à plus de 20 % en excès proportionnellement à A.

Cette méthode semble applicable aux poissons depuis que les travaux de Kim *et al.* (1992) sur la truite arc-en-ciel et de Brown *et al.* (1995) sur la perchaude ont prouvé que les poissons peuvent utiliser efficacement les acides aminés cristallins. Il reste cependant à prendre des dispositions utiles pour mesurer avec précision les quantités d'aliment ingérées. Cowey (1993) a rapporté que si cette dernière condition peut être remplie, cette méthode apparaît comme une approche d'avenir en nutrition des poissons pour déterminer efficacement les besoins en acides aminés des alevins.

### 3.1.2.5.3. Analyse des courbes doses-réponses

#### 3.1.2.5.3.1. Régressions linéaires

Les besoins en acides aminés ont été longtemps estimés par simples relations linéaires entre les doses et les réponses. Bien que les besoins déterminés par cette méthode n'aient jamais fait l'objet d'analyse statistique acceptable, la méthode reste encore appréciée dans la littérature (Cowey, 1993). Une simple ANOVA-régression permet l'analyse statistique et la représentation graphique rapides des réponses en fonction des doses appliquées. Ces méthodes ont donc l'avantage d'être facilement applicable, mais moins fiables car les réponses des organismes vivants à des traitements ne peuvent pas être indéfiniment linéaires.

#### 3.1.2.5.3.2. Modèles non linéaires

D'autres modèles mathématiques plus objectifs ont été appliqués aux données doses-réponses par certains nutritionnistes de poisson. Les plus couramment utilisés sont : Le modèle de ligne brisée "broken ligne" (Zeitoun *et al.*, 1976; Robbins *et al.*, 1979), la relation polynomiale de second degré (Brett *et al.*, 1969; Brett, 1979), le modèle descriptif de cinétique de saturation à 4 ou 5 paramètres (Morgan *et al.*, 1975; Mercer, 1982; Mercer *et al.*, 1989).

- La méthode de ligne brisée "broken ligne"

Elle est représentée par l'équation générale :

$$y = L + U(R - X_{LR})$$

où L est l'ordonnée (ou la réponse en g) et R est l'abscisse (ou la dose en g) du point d'inflexion. R est considéré comme l'estimateur du besoin,  $X_{LR}$  signifie X inférieur à R (X less than R) et U est la pente de la droite des  $X_{LR}$ . Par définition  $R - X_{LR} = 0$  quand  $X > R$ . Elle a été utilisée par Zeitoun *et al.* (1976) pour déterminer les besoins en protéines chez la truite arc-en-ciel (Figure 3. 9).

- La régression quadratique ou polynomiale de second degré

Elle est représentée par l'équation :

$$y = aX^2 + bX + c$$

où y est la réponse (g), X la dose g / Kg aliment) et a, b, c sont des constantes caractéristiques du système. Ce modèle est assez utilisé pour sa facilité d'application et son explication détaillée du système auquel il s'applique (Figure 3.4, Brett *et al.*, 1969). Il indique aisément la dose de réponse maximale, la dose de réponse optimale et la dose d'entretien.

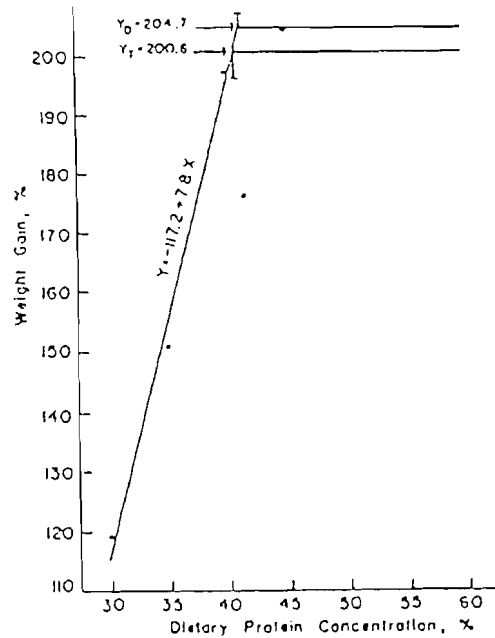


Figure 3.9. Détermination de besoin en protéines chez la truite arc-en-ciel par le modèle de ligne brisée (Zeitoun et al., 1976)

• Le modèle descriptif de cinétique de saturation à 4 paramètres

Il est représenté par l'équation :

$$y = \frac{(bK + Y_{lim}X^n)}{(K + X^n)}$$

où  $y$  est la vitesse de saturation de la fraction (réponse en g),  $b$  est le point d'interception avec l'axe des ordonnées (axe des réponses),  $Y_{lim}$  est la vitesse asymptote (réponse maximale en g),  $X$  est la concentration du substrat (la dose g / Kg aliment),  $n$  est le degré apparent de cinétique de la vitesse,  $K$  est une constante caractéristique du système dont la propriété est telle que :

$$\text{quand } X = K^{1/n}, y = \frac{Y_{lim}}{2}$$

Ce modèle (Figure 3.10, Mercer, 1982) décrit la dose du maximum d'efficacité en terme de réponse ( $Ime$ ), la dose du maximum de pente ( $Ims$ ), c'est à dire la dose à laquelle tout ajout du nutriment se traduit par

une augmentation de la réponse et la dose qui donne une réponse nulle (I<sub>ro</sub>).

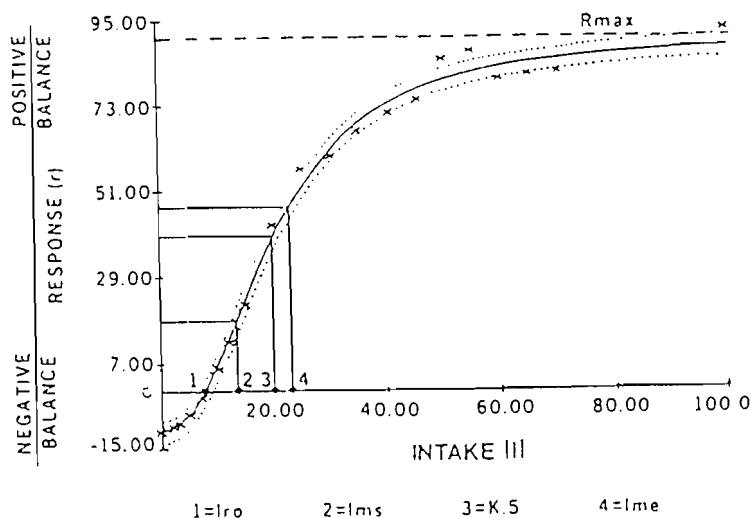


Figure 3.10. Courbe théorique illustrant le modèle descriptif de cinétique de saturation à 4 paramètres (Mercer, 1982)

• Le modèle descriptif de cinétique de saturation à 5 paramètres

Le modèle de Mercer (1982) à 4 paramètres a été actualisé de façon à décrire la zone de la courbe des réponses, située à droite du plateau inhibé par des doses élevées du nutriment considéré. Ce modèle a été utilisé par Mercer *et al.* (1989) pour suivre la variation du gain de poids chez des rats nourris avec un régime contenant différentes doses de caséine (Figure 3.11). Ce dernier modèle est représenté par l'équation :

$$Y = \frac{b (K_{.5})^n + Rmax (I)^n + bI^{2n} / (K_{.5})^n}{(K_{.5})^n + (I)^n + I^{2n} / (K_{.5})^n}$$

- où
- Y est la réponse de l'organisme à une dose du nutriment (g),
  - I est la dose du nutriment ingéré (g)
  - Rmax est la réponse maximale (asymptote) (g),
  - K<sub>.5</sub> est l'ingestion du nutriment lorsque R = (Rmax - b) / 2
  - n est l'ordre cinétique apparent,
  - b est la réponse lorsque I est égal à 0,

$K_s$  est la concentration en nutriment à mi-chemin entre la réponse la plus élevée et la réponse d'inhibition la plus faible.

Dans ce cas, l'ingéré qui maximise la réponse, c'est à dire le besoin B est :

$$B = (K_s \times K_s)^{0.5}$$

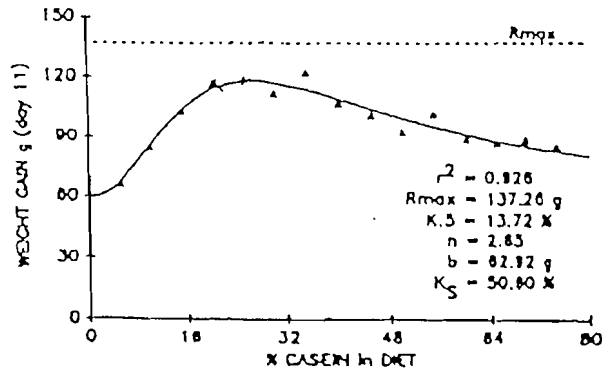


Figure 3.11. Gain de poids du rat en fonction de la concentration en caséine de son régime (Mercer et al., 1989)

Il est aussi possible de définir à gauche ( $I_g$ ) et à droite ( $I_d$ ) de la réponse maximale, les ingérés correspondant à 95 % de la réponse maximale et de calculer un indice de toxicité qui est le rapport  $I_d / I_g$ .

Quoique d'applications limitées en nutrition de poisson à cause de la complexité des calculs qu'ils exigent, ces modèles descriptifs ont le mérite d'indiquer au pisciculteur, des doses économiques du nutriment à incorporer dans le régime de ses poissons. Ce sont des modèles qui interviennent dans la prise de décision du pisciculteur. Ils peuvent l'amener à faire un compromis entre la croissance et le coût de l'aliment ou adapter la dose du nutriment à la durée de l'élevage.

### 3.1.2.5.3. Besoins quantitatifs en protéines et en acides aminés

Les besoins en protéines varient suivant les différents stades du cycle de vie du poisson. Les petits poissons à croissance rapide ont des besoins en protéines plus élevés que les gros qui ont une faible croissance (Phillips, 1969; Jauncey et Ross, 1982; Lovell, 1989; Dabrowski, 1993). Par exemple les besoins en protéines chez le poisson chat *Ictalurus punctatus* varient de 1,64 à 0,43 g / 100 g poisson / jour quand son poids varie de 3 à 266 g (Tableau 3.3). Comme indiqué dans ce tableau, les besoins en protéines varient de la même façon que les besoins en énergie.

Cependant, le rapport énergie digestible sur protéines (Kcal / g) varie beaucoup moins et en sens inverse.

Comme pour l'énergie, beaucoup de facteurs influencent les besoins en protéines chez les poissons. Les besoins en protéines chez les poissons augmentent avec la température de l'eau (Cowey, 1994). Ils augmentent pour des régimes déficients en énergie et diminuent pour les régimes trop énergétiques (faible ingestion de l'aliment et donc de protéines). Aussi, quand les poissons sont sous nourris, leurs besoins en protéines augmentent (Lovell, 1989). Cependant, les besoins en acides aminés (% de protéines) varient peu d'une espèce de poisson à une autre (Tableau 3.4).

Tableau 3.3. Besoins en protéines et en énergie digestible (ED) chez le poisson chat *I. Punctatus* à différents poids (Lovell, 1989)

Poids du poisson (g)	Protéines (g / 100 g de poisson / jour)	ED (Kcal / 100 g de poisson / jour)	ED / Protéines ratio (Kcal / g)
3	1,64	16,8	10,2
10	1,11	11,4	10,3
56	0,79	9,0	11,4
198	0,52	6,1	11,7
266	0,43	5,0	11,6

Tableau 3.4. Besoins en protéines (% MS) et en acides aminés essentiels (% protéines) de 5 espèces de poisson à habitudes alimentaires différentes

	<i>Anguilla</i> <sup>1</sup> <i>japonicus</i>	<i>Cyprinus</i> <sup>1</sup> <i>carpio</i>	<i>Ictalurus</i> <sup>2</sup> <i>punctatus</i>	<i>O.</i> <sup>1</sup> <i>mykiss</i>	<i>O.</i> <sup>1</sup> <i>tshawytsch</i>	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>
Protéines	44,5	38	32-36	40	40	30
Arg	4,5	4,4	4,3	4,0	6,0	4,2
His	2,1	1,5	1,5	1,8	1,8	1,7
Ile	4,0	2,6	2,6	2,8	2,2	3,1
Leu	5,3	4,8	3,5	5,0	3,9	3,4
Lys	5,3	6,0	5,1	6,0	5,0	5,1
Met +Cys	5,0	2,7	2,3	3,3	4,0	3,2
Phe + Tyr	5,8	5,7	5,0	6,0	5,1	5,7
Thr	4,0	3,8	2,0	4,1	2,2	3,6
Trp	1,1	0,8	0,5	0,6	0,5	1,0
Val	4,0	3,4	3,0	3,6	3,2	2,8

<sup>1</sup>Watanabe (1988), <sup>2</sup>Lovell (1989)

Remarquons que les acides aminés essentiels : histidine, lysine et phénylalanine + tyrosine ne varient presque pas d'une espèce à une autre.

#### 3.1.2.5.4. Relation entre besoins en acides aminés et pathologie des tissus

La déficience des acides aminés se manifeste généralement par une réduction du gain de poids, mais dans certains cas, elle se traduit par des pathologies. Quelques cas de pathologie dues aux déficiences en certains acides aminés essentiels (Tableau 3.5) ont été rapportés par Tacon (1992). Ainsi, on peut noter que les signes de déficience de la lysine sont plus sévères que ceux de la méthionine et du tryptophane.

Tableau 3.5. Signes de déficience en acides aminés essentiels AAE (Tacon, 1992)

EAA limitant	Espèces de poisson	Signes de déficience
Lysine	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Erosion des nageoires dorsales et caudales, mortalité croissante
	<i>Cyprinus carpio</i>	Augmentation de la mortalité
Méthionine	<i>O. mykiss</i>	Cataracte
	<i>Salmo salar</i>	Cataracte
Tryptophane	<i>O. mykiss</i>	Scolioses, lordoses, calcinosis rénal, cataracte, baisse de la teneur en lipide de la carcasse, montée des teneurs en Ca, Mg, Na et K de la carcasse
	<i>Oncorhynchus nerka</i>	Scolioses, cataracte
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	Scolioses

Chez certains poissons, la déficience en tryptophane ou en méthionine fait apparaître des pathologies dont les incidences amènent à mieux définir les besoins. Par exemple, un régime contenant moins de 0,16 % de tryptophane (le besoin étant de 0,29 % du régime) a entraîné des signes de scolioses chez 53 à 84 % de la population d'alevins de saumon *Oncorhynchus keta* W. (Akiyama *et al.*, 1985). Avec 0,32 % de tryptophane dans le régime, seulement 1,5 % de scolioses fut décelé. Aussi, chez la truite arc-en-ciel, la déficience en méthionine s'était traduite par des signes de cataracte atteignant 95 % des poissons, mais lorsqu'ils étaient nourris avec un régime contenant 0,76 % de méthionine (besoin déterminé par les données de gains de poids), aucun signe de cataracte n'était observé (Cowey *et al.*, 1992).

### 3.1.3. Besoins en lipides

Par définition, les lipides sont des substances organiques d'origines animales ou végétales, insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants non polaires tels que l'alcool, l'éther, le chloroforme et le benzène (Briggs et Calloway, 1973; Freedland et Briggs, 1977; Watanabe, 1988; Lovell, 1989; De Silva et Anderson, 1995). Watanabe (1988) les a classés en trois groupes : les lipides simples (triglycéride, glycéryl-éther, cholestérol, vitamines A ou D, esters, etc.), les lipides composés (phospholipides et cérebrosides) et les lipides dérivés (acides gras). Selon De Silva et Anderson (1995), on distingue 5 classes majeures de lipides : les acides gras, les triglycérides, les phospholipides, les stérols et les sphingolipides. Beaucoup de poissons apparaissent très différents des animaux terrestres de part leur richesse en acides gras  $w3$  hautement polyinsaturés ( $w3$  HUFA) (Watanabe, 1988).

#### 3.1.3.1. Rôles divers

- Rappelons que l'acide linoléique ( $C18=2w6$ ) reconnu essentiel chez les vertébrés supérieurs est aussi essentiel chez les poissons d'eaux douces, dotés de capacités de désaturation et d'élongation de sa chaîne carbonée. Les acides gras polyinsaturés : l'acide linoléique ( $C18=3w3$ ), l'acide eicosapentaénoïque EPA ( $C20=5w3$ ) et l'acide docosahexaénoïque DHA ( $C22=6w3$ ) sont aussi essentiels chez les poissons marins dépourvus de ces capacités (Takeuchi et Watanabe, 1976, 1977). Ces acides gras essentiels sont nécessaires au maintien de la structure et de la fluidité membranaire des cellules et constituent des métabolites pour la formation des hormones de type prostaglandines (Freedland et Briggs, 1977).
- Ils jouent le rôle de transporteurs des vitamines liposolubles A, D, E, K et aident à leur absorption intestinale (Lovell, 1989).
- Les lipides constituent la principale source d'énergie de haute valeur digestible et sont par conséquent de bons épargnants de protéines alimentaires pour le poisson (Dabrowski, 1993). Ils sont d'importants mobilisateurs des stocks de graisse, source potentielle d'énergie corporelle du poisson (Cho *et al.*, 1982; Peck, 1994a).
- Les réserves lipidiques corporelles interviennent dans le contrôle à long terme des ingestions volontaires chez les animaux (Paquay, 1978).
- De par leur odeur, ils jouent le rôle d'attractant dans les aliments pour poisson.
- Les lipides jouent un rôle très important dans les défenses immunitaires des poissons. Ils altèrent par exemple les profils de phospholipides



des leucocytes telles les lymphocytes, les macrophages et les cellules polymorphonucléaires (Peck, 1994a, 1994b).

- Les réserves lipidiques du vitellus de l'oeuf du poisson servent de source d'énergie dans la  $\beta$ -oxydation des acides gras en ATP, et de précurseurs dans la biosynthèse des membranes de l'embryon (Mourante et Odriozola, 1990).

### 3.1.3.2. Sources de lipides

Les plantes synthétisent en général tous leurs acides gras. Les animaux y compris les poissons sont aussi capables d'en synthétiser un maximum mise à part ceux qui leur sont essentiels, mais leurs compositions en acides gras sont toujours le reflet de celles de leur source d'alimentation en lipides (Kayama *et al.*, 1963; Peck, 1994b). Quelques aliments, sources de lipides sont sélectionnés et classés par ordre décroissant suivant leur teneur en acide linoléique dans le tableau 3.6. Ainsi, les huiles végétales sont plus riches en acides gras polyinsaturés que les huiles d'origine animale (Briggs et Calloway, 1973).

Tableau 3.6. Composition en graisse totale (%) et en acides gras majeurs (%) de quelques aliments riches en lipides classés par ordre décroissant de leur teneur (%) en acide linoléique (Briggs et Calloway, 1973).

Aliments	Graisse totale (%)	Acides gras saturés (%)	Acides gras insaturés	
			Oléique (%)	Linoléique (%)
<b>Huiles végétales</b>				
Huile de tournesol	100	11	14	74
Huile de céréale	100	13	26	55
Huile de graine de coton	100	23	17	54
Huile de soja	100	14	25	50
Huile de sésame	100	14	38	42
Huile d'arachide	100	18	47	29
Huile d'olive	100	11	76	7
Huile de noix de coco	100	80	5	1
Graisses végétales	100	23	23	6-23
Beurre	81	46	27	2
<b>Graisses animales</b>				
Volaille	100	30	40	20
Boeuf, mouton, porc	100	45	44	2-6
Poisson entier (saumon)	9	2	2	4

### 3.1.3.3. Evaluation des besoins en lipides et en acides gras

Tous les animaux y compris les poissons ont besoin d'acides gras polyinsaturés du groupe w6 et w3 dans leur régime alimentaire. Les signes de déficience chez le poisson sont particulièrement sévères (Tableau 3.7, Tacon, 1992) comparés aux déficiences en acides aminés essentiels (Tableau 3.5).

Tableau 3.7. Symptômes de déficiences en acides gras essentiels chez les poissons (Tacon, 1992)

Espèces de poisson	Signes de déficience
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Augmentation de mortalité et de la teneur en eau du muscle, érosion de la nageoire caudale par des <i>Flexibacterium</i> sp, faiblesse, baisse du volume du taux d'hémoglobine, dégénérescence du foie, baisse de fécondité et de taux de survie des larves
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	Foie pâle et enflé, augmentation du taux de graisse du foie et du taux de mortalité
<i>Oncorhynchus keta</i>	Foie pâle et enflé, augmentation du taux de graisse du foie et du taux de mortalité
<i>Cyprinus carpio</i>	Augmentation du taux de graisse du foie et du taux de mortalité
<i>Anguilla japonicus</i>	Augmentation de la mortalité
<i>Oreochromis niloticus</i>	Foie pâle et enflé, augmentation du taux de graisse du foie
<i>Pagrus major</i>	Baisse du taux de fécondité et de la viabilité des larves, baisse de l'appétit, montée du taux de lipide du foie et de mortalité
<i>Lates calcarifer</i>	Baisse de la croissance et de l'efficacité alimentaire, rougeur des nageoires
<i>Scophthalmus maximus</i>	Augmentation de la mortalité, baisse de la croissance, dégénérescence de l'épithélium branchial
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Baisse de la croissance et de l'efficacité alimentaire, foie pâle et enflé, augmentation de la mortalité, lordoses, faiblesse
<i>Pseudocaranx dentex</i>	Baisse de l'appétit et des activités de nage, baisse de la croissance et de l'efficacité alimentaire, forte mortalité
<i>Coregonus lavaretus</i>	Baisse de la croissance, de l'efficacité alimentaire et de la survie, foie pâle et enflé.

Cependant, compte tenu de la variabilité des fonctions accomplies par ces acides gras et des interactions entre eux et les monosaturés et saturés, les besoins en ces acides gras n'ont jamais été parfaitement définis chez aucune espèce (Sargent, 1993). Les besoins en acides gras varient d'une espèce à une autre en fonction de la capacité de chacune à convertir C18=2w6 en C20=4w6 puis en C22=4w6, et C18=3w3 en C20=5w3 puis en C22=6w3 (Takeuchi *et al.*, 1983; Sargent, 1993). Par ailleurs, les besoins en acides gras polyinsaturés (w6 et w3) varient d'un stade à un autre du cycle de vie de l'espèce, à cause des différences importantes entre la

structure et la fluidité des membranes des tissus de différents stades, que ces acides gras maintiennent. Par exemple, les larves ont des besoins élevés en C22=6w3 pour le développement des tissus neuraux et en C20=4w6 pour les tissus endovasculaires (Sargent, 1993). Les dispositifs expérimentaux et les méthodes d'analyse des résultats (doses-réponses) mis en oeuvre dans l'estimation des besoins en lipides et en acides gras des poissons sont similaires à ceux de détermination des besoins en protéines et en acides aminés (Takeuchi *et al.*, 1983; Davis et Robinson, 1986). Plus spécifiquement, un minimum de six régimes iso-azotés et iso-énergétiques contenant différents niveaux de lipides semble indiqué pour l'estimation des besoins en lipides (Davis et Robinson, 1986). Synthétisons quelques estimations des besoins en lipides et en acides gras rapportées chez différentes espèces dans le tableau 3.8.

Tableau 3.8. Besoins en acides gras essentiels chez des juvéniles de quelques Téléostéens (Mellinger, 1995)

Espèces	Milieu	Acides gras essentiels
Milkfish ( <i>Chanos chanos</i> )	EM	C18=3w3 (1 %) + EPA (0,5 %) + DHA (0,5 %)
Truite arc-en-ciel ( <i>O. mykiss</i> )	ED	C18=3w3 (20 % des lipides) ou EPA + DHA (10 %)
Saumon coho ( <i>O. kisutch</i> )	ED	C18=3w3 (1-2,5 %)
Saumon keta ( <i>O. keta</i> )	ED	C18=2W6 (1 %) + C18=3w3 (1 %)
Carpe commune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	ED	C18=2w6 (1 %) + C18=3w3 + EPA + DHA (1 %)
Carpe herbivore ( <i>Ctenopharyngodon idella</i> )	ED	C18=2w6 (1 %), C18=3w3 (1 %) ou EPA + DHA (0,5 %)
Anguille du Japon ( <i>Anguilla japonicus</i> )	ED	C18=2w6 (0,5 %) + C18=3w3 + EPA + DHA (0,5 %)
Tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	ED	C18=2w6 (1 %)
Sériole ( <i>Seriola quinqueradiata</i> )	EM	mélange de w3 : EPA, DHA, etc. (22 % des lipides)
Daurade géante ( <i>Pagrus major</i> )	EM	mélange de w3 : EPA, DHA, etc. (20 % des lipides)
Caranx rayé ( <i>Pseudocaranx dentex</i> )	EM	DHA (1,7 %), EPA (0,8 %)
Corégone ( <i>Coregonus larvaretus maraena</i> )	ED	mélange de w3 : EPA, DHA, etc. (1 %)
Grogneur rouge ( <i>Sciaenops ocellatus</i> )	ES	mélange de w3 : EPA, DHA, etc. (0,5 %) (7 % des lipides)
Bar hybride ( <i>Morone chrysops X M. saxatilis</i> )	ED	mélange de w3 : EPA, DHA, etc. (20 % des lipides)

EM : eau de mer, ED : eau douce, ES : eau saumâtre, EPA : acide eicosapentaénoïque, et DHA : acide docosahexaénoïque.

### 3.1.4. Evaluation des besoins en sels minéraux

Environ vingt éléments inorganiques sont nécessaires pour assurer les fonctions structurales et métaboliques des vertébrés. Les éléments minéraux reconnus nécessaires chez les poissons sont : Ca, P, Mg, Na, K et Cl comme éléments majeurs, et Zn, Cu, Fe, Mn, Se et I comme oligo-éléments (Schwarz, 1993). Les minéraux ont un métabolisme différent de celui des lipides, des hydrates de carbone et des protéines : ils ne sont ni produits, ni consommés par l'organisme (Watanabe, 1988). Les multiples interactions des minéraux et leur absorption branchiale et cutanée à partir de l'eau d'élevage, rendent difficile l'estimation des quantités ingérées lors des études de détermination de leurs besoins chez les poissons. D'autres facteurs tels que le poids, l'âge, les performances de croissance (gain du poids), la composition de l'aliment (vitamines, sels minéraux) et la conductivité de l'eau doivent être pris en compte dans les installations expérimentales et les méthodologies des études de besoins en sels minéraux (Schwarz, 1993). La technique de dose réponse (Papoutsoglou *et al.*, 1993) et la méthode factorielle, c'est à dire le calcul de besoin basé sur la rétention et la perte (Schafer *et al.*, 1993; Heinsbroek *et al.*, 1993) sont souvent utilisés dans l'estimation des besoins en éléments minéraux chez les poissons. Les signes de déficience ou de toxicité sont souvent sévères (Tacon, 1992; De Silva et Anderson, 1995). Les besoins des poissons en sels minéraux sont en général faibles laissant penser que seuls les aliments purifiés peuvent conduire à des signes de déficience aigus (Watanabe, 1988).

### 3.1.5. Evaluation des besoins en vitamines

Les vitamines sont des composés organiques complexes de faible poids moléculaire (<1000) que beaucoup d'organismes sont incapables d'élaborer (Watanabe, 1988; Wilson, 1991). Ils sont nécessaires sous forme de traces pour assurer les fonctions de croissance, d'entretien et de reproduction des animaux en général. On distingue les vitamines liposolubles (les vitamines A, D, E et K) et les vitamines hydrosolubles (les vitamines du groupe B et la vitamine C). Chacune de ces vitamines ont un rôle bien précis dans l'organisme des animaux et la pathologie résultant de leur déficience ou de leur excès reste souvent liée à leur fonction biochimique (Remacle, 1981). Le tableau 3.9 résume bien les fonctions enzymatiques des différentes vitamines. Les signes de déficience et de toxicité en vitamines chez les poissons sont suffisamment détaillés par Tacon (1992) et De Silva et Anderson (1995) et peuvent se résumer essentiellement en hémorragie, retard de croissance, lésions et déformations corporelles, voire toxicité pour les excès de vitamines liposolubles non excrétables par l'urine.

Tableau 3.9. Principales vitamines et leur forme enzymatique (Remacle, 1981)

Vitamine	Coenzyme ou forme active	Fonction
<b>Hydrosolubles</b>		
Vitamine B1	Thiamine pyrophosphate (TPP)	Transfert de fonction aldéhyde
Vitamine B2	Flavine mononucléotide (FMN) Flavine adénine dinucléotide (FAD)	Transfert d'atomes d'hydrogène
Acide nicotinique	Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP)	
Acide panthoté- nique	Coenzyme A (CoA)	Transfert de groupes acyle
Vitamine B6	Pyridonal phosphate	Transfert de fonctions amine
Biotine	Biocytine	Transfert de groupes carboxyl
Acide folique	Acide tétrahydrofolique	Transfert de radicaux à 1 carbone
Acide lipoiqque	Lipoxyllisine	Transfert de H et de groupe acyle
Vitamine B12	Coenzyme B12	Déplacement de 1, 2 atomes d'H
Vitamine C	Acide ascorbique	Cofacteurs dans les hydroxyla- tions
<b>Liposolubles</b>		
Vitamine A	11-cis-Rétinal	Cycle visuel
Vitamine D	1,25-Dihydroxycholecalciférol	Métabolisme du Ca et du P
Vitamine E	-	Antioxydant
Vitamine K	-	Biosynthèse de la prothrombine

Halver (1993) a retracé les effets des différentes doses des deux groupes de vitamines suivant la figure 3.12. On observe des effets de toxicité pour des doses de vitamines liposolubles supérieures aux besoins de croissance maximale. Pour les vitamines hydrosolubles, les doses légèrement supérieures aux besoins pour une croissance maximale du poisson se traduisent par des activités élevées des enzymes et les extra-doses par des stockages.

Les besoins en vitamines restent encore non déterminés chez la plupart des espèces piscicoles. On se contente en général d'appliquer aux formules alimentaires des poissons, les besoins en vitamines déterminés chez la carpe commune, les salmonidés et le poisson chat américain (Lovell, 1989). Ainsi, les besoins en vitamines des Salmonidés sont plus élevés que ceux du poisson chat et ceux de la carpe commune.

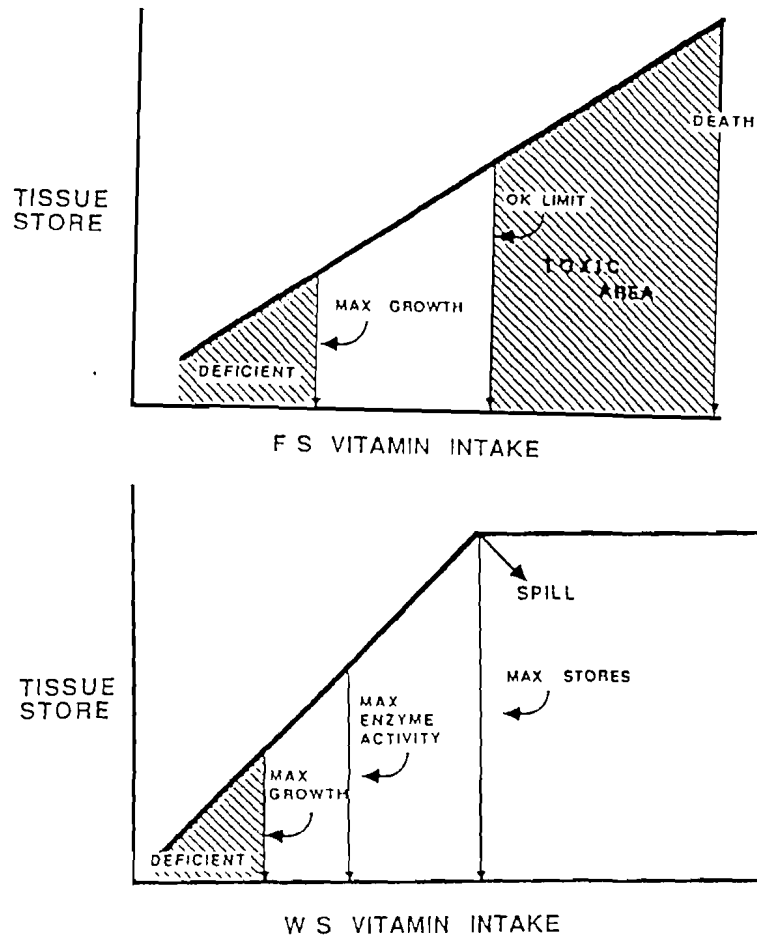


Figure 3.12. Schémas représentatifs des réponses corporelles aux différentes doses de vitamines, F S = vitamines liposolubles, W S = vitamines hydrosolubles (Halver, 1993).

## 3.2. Recherches expérimentales

Différentes expériences ont été effectuées pour évaluer chez la perche fluviatile :

- les effets de différents niveaux d'alimentation sur ses performances zootechniques au cours de son développement,
- ses besoins quantitatifs en protéines alimentaires à différents stades de son développement,
- ses besoins en acides aminés à partir des effets comparés de différentes protéines alimentaires sur ses compositions corporelles en acides aminés.

### 3.2.1. Rations alimentaires des alevins de perche fluviatile

Les performances de croissance du poisson dans son habitat naturel sont largement influencées par la température et la disponibilité de la nourriture (Keckeis et Schiemer, 1992). En milieu contrôlé, dans les conditions optimales d'élevage intensif (préférendums écologiques et besoins nutritionnels remplis), la croissance est positivement corrélée avec la consommation (Condrey, 1982). Cependant, il existe certains facteurs relatifs à la fréquence et à la quantité massique des repas qui définissent la quantité totale d'aliment ingérée par jour ou la ration (Brett et Groves, 1979). Les plus importants de ces facteurs sont : la durée de distribution de l'aliment ou temps de satiété, la consommation individuelle (capacité de l'estomac), le temps qui s'écoule entre chaque repas ou temps de retour d'appétit. A ces facteurs s'ajoute la taille du poisson. Les larves sont nourries à une fréquence très élevée, comparées aux adultes qui ont besoin d'un temps plus important pour digérer leur nourriture (surtout les carnivores). Selon Brett et Groves (1979), la demande primaire de nourriture par le poisson lui est imposée par ses besoins d'entretien, et sa demande secondaire lui est dictée par ses potentialités de croissance (influencées par les hormones de croissance). La résultante de ces deux demandes définit les limites de la quantité de nourriture librement ingérée à chaque repas, et par conséquent la ration journalière.

La présente étude a pour objectif de définir la ration alimentaire optimale de la perche à différents stades de développement. Quatre classes de poids ont fait l'objet de la présente étude, à savoir : 0,3, 1, 3 et 22 g. Le poids moyen 0,3 g est choisi comme étant le poids optimal de passage des jeunes perches à un aliment artificiel. Les poids moyens de 1, 3 et 22 g ont été aussi testés pour vérifier s'il y a ou non une différence significative entre les besoins alimentaires de la perche sevrée, à différents stades de son développement. Cette observation permettra de montrer

l'intérêt de faire varier les besoins quantitatifs de la perche au cours de sa croissance.

### 3.2.1.1. Matériel et méthodes

#### 3.2.1.1.1. Installations expérimentales

Pour les alevins de 0,3, 1 et 3 g de poids moyens (soit 0,2-0,4 g, 0,7-1,5 g et 1,5-3,7 g), les expériences de détermination de rations alimentaires se sont déroulées dans des installations identiques à celles décrites au chapitre 2.2.1.2.1.1., c'est à dire 3 circuits autonomes, semi-ouverts, à trois niveaux superposés. Le niveau supérieur est équipé de bacs de 25 l prévus pour l'élevage, les niveaux central et inférieur sont constitués de bacs allongés de 170 litres destinés respectivement à la décantation et à la filtration (photo 2).

L'expérience de détermination des rations chez les alevins de 22 g de poids moyen (soit 18,5-24,6 g) a nécessité des bassins de plus grand volume (160 l), pour éviter l'effet de confinement qui se manifeste par l'inhibition de la croissance des poissons d'élevage. De nouvelles installations d'élevage ont donc été réalisées à cet effet. Il s'agit d'un circuit fermé avec la possibilité de fonctionner en circuit semi-ouvert (possibilité de renouvellement de l'eau du circuit). Ce circuit est composé d'un ensemble de 18 bacs d'élevage de 160 litres, disposés en 3 séries de 6 bacs chacune. Les eaux usées d'élevage passent successivement dans 2 bacs de décantation plus grands (500 l environ), pour être filtrées biologiquement dans 2 colonnes de filtration équipées de substrats bactériens (photo 3). Au-dessus de chaque bassin d'élevage est suspendu un nourrisseur automatique rotatoire, similaire à celui d'élevage larvaire, mais de contenance 3 fois plus élevée (environ 100 cm<sup>3</sup>).

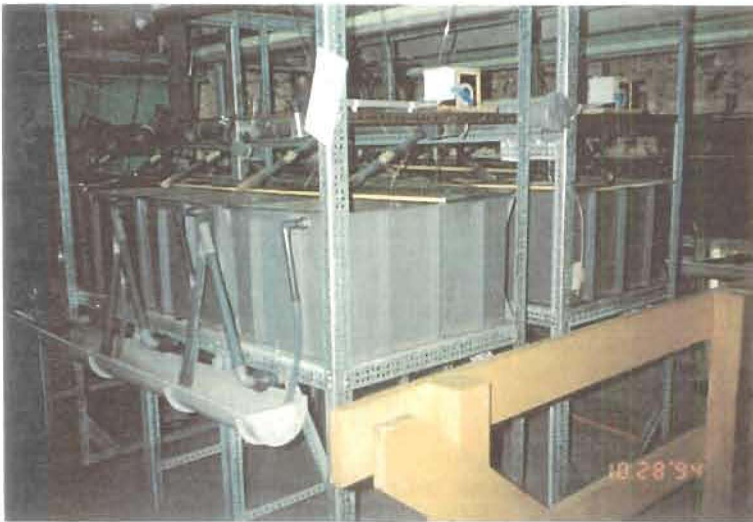
#### 3.2.1.1.2. Origine des poissons et types d'aliments expérimentaux

Les alevins de 0,3 g, 1 g et 3 g de poids moyens sont issus d'expériences de sevrage à l'aliment artificiel. Comme présenté au chapitre 2.2.2, ces alevins proviennent de larves prégressées avec des rotifères et nauplii d'*Artemia* et sevrées avec un aliment artificiel (Seabream Nippai Shrimp feed). Ceux de poids supérieurs (22 g) sont issus d'élevage en eau verte dans les étangs bâchés de "CERER Aquaculture" de l'Université de Liège) où ils ont été parfaitement sevrés au même type d'aliment artificiel. Une semaine avant le démarrage de chaque expérience, les alevins ont été triés suivant les poids désirés et stockés ensemble de façon à avoir des lots homogènes. Ils ont été progressivement habitués à l'aliment expérimental (aliment artificiel de commerce "Trouvit" de granulométrie conforme à la taille de la bouche des poissons expérimentaux). Cet aliment contient entre autres 56 % de protéines brutes, 12 % de lipides et 3 % de cendres.





*Photo 2 . Installations d'élevage de poissons de poids vifs inférieurs à 10 g*



*Photo 3 . Installations d'élevage d'alevins de poids vifs supérieurs à 10 g*

### 3.2.1.1.3. Protocoles expérimentaux

Pour chaque expérience, les poissons préalablement stockés ensemble et habitués à l'aliment expérimental, sont prélevés au hasard à l'aide d'une épuisette, puis comptés dans les bacs d'élevage ci-dessus présentés. Dans le cas des essais concernant les poids de 0,3, 1 et 3 g, 12 bacs de 25 litres (volume utile = 20 l) ont été successivement utilisés pour l'élevage à raison de 2 bacs pour chaque niveau de ration fixé, avec des densités de mise en charge respectives de 100, 50 et 50 poissons par bac (soit 5 et 2,5 individus.l<sup>-1</sup>). Pour les alevins de 22 g de poids moyen, 18 bacs de 160 litres (120 l de volume utile) ont servi à l'expérience à raison de 3 bacs par niveau de ration, compte tenu de la variabilité de poids dans cette population, avec une densité de 61 poissons par bac (soit environ 1 individu par 2 l d'eau). Les niveaux de ration alimentaire testés sont : 2, 4, 8, 12, 16 et 20 % de biomasse pour les alevins de 0,3 g, 1, 2, 3, 4, 6, 8 % de biomasse pour les alevins de 1,1 g, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 % pour les alevins de 3 g et 0,3, 1, 1,5, 2, 2,5 et 3 % de biomasse pour les alevins de 22 g. Ces rations alimentaires ont été fixées de manière à déterminer les rations d'entretien, optimale et maximale de la perche à ces différents stades selon le modèle de Brett et Grove (1979).

La température était en moyenne de 23±1 °C pour les expériences concernant les alevins de 0,3 à 3 g et de 21,5±1,0 °C au cours de l'élevage des alevins de 22 g. Les lots de poissons sont soumis aléatoirement aux taux de ration alimentaire (tirage au sort des bacs). L'oxygène dissous a varié entre 6,5 et 8,2 mg.l<sup>-1</sup> et le taux de nitrites de l'eau entre 0,26 et 0,54 mg.l<sup>-1</sup> au cours des expériences. Les expériences ont duré respectivement 14, 21, 30 et 28 jours pour les alevins de 0,3, 1, 3 et 22 g. Lors des expériences, il y a un dénombrement quotidien des poissons morts par bac, en vue de se rendre compte de la survie et du cannibalisme en fin d'élevage. Aussi, tous les poissons ont été globalement pesés et comptés par bac tous les 7 jours et les rations ont été réajustées.

### 3.2.1.1.4. Analyses des résultats

En fin d'expérience, les performances de croissance et d'utilisation de l'aliment par les alevins de perche sous différentes rations ont été comparées par analyse de variance à un critère de classification, suivi de comparaisons multiples à l'aide de la méthode de Newman et Keuls (Feytmans, 1991). Les rations d'entretien, optimale et maximale, ont été graphiquement estimées par le modèle de Brett et Grove (1979) où le taux de croissance spécifique est une fonction polynomiale de second degré du niveau de la ration journalière (Figure 3.4).

Les paramètres zootechniques essentiels qui ont fait régulièrement l'objet de comparaisons des niveaux de ration testés sont : taux de survie réelle (Sr en %), taux de survie théorique (St en %), taux de conversion alimentaire (TC), le cannibalisme (Can.en %), taux de croissance spécifique (SGR en % jour<sup>-1</sup>). En dehors des poids vifs moyens calculés sur 20

poissons par traitement (10 poissons par bac), les moyennes des autres paramètres (biomasse, survie, TC, CEP, VPP) représentent celle des 2 bacs par traitements.

- $Sr = Nf \times 100 / Ni$
- $St = (Ni - Nm) \times 100 / Ni$
- $TC = As / Bf - Bi$
- $Can = Sr - St$
- $SGR^1 = (\ln(Bf) - \ln(Bi)) \times 100 / \Delta t$  ou
- $SGR = (\ln(Pf) - \ln(Pi)) \times 100 / \Delta t$

où, Nf : nombre final, Ni : nombre initial, Nm : nombre de poissons morts, As : aliment servi (g) Bi et Bf : biomasses initiale et finale (g), Pi et Pf : poids moyens initial et final (g),  $\Delta t$  : durée d'alimentation (jour), Ln : logarithme népérien,  $SGR^1$  : taux de croissance spécifique calculé avec les biomasses initiale et finale.

### 3.2.1.2. Résultats

#### 3.2.1.2.1. Poids de 0,3 g

Les résultats du tableau 3.10 montrent que les survies des larves de 0,22 à 0,42 g sont assez similaires pour les rations variant de 4 à 20 % de la biomasse. Seule la ration de 2 % de biomasse a produit une survie significativement inférieure ( $p < 0,05$ ) comparée aux autres. Le cannibalisme est en général faible (1-5 %) contrairement à ce qui est attendu, avec une variation qui semble indépendante du niveau de la ration alimentaire. Le cannibalisme le plus élevé est en effet observé dans les lots de larves nourries à 16 % de la biomasse alors que les larves nourries à 8 % présentent le plus faible taux de cannibalisme. Nous n'avons cependant pas pu montrer qu'il existe une différence significative entre les poids finaux obtenus pour les différents groupes.

Le taux de conversion alimentaire (TC) qui n'a pu être calculé que pour les lots soumis à des rations supérieures à 12 % (la biomasse finale étant inférieure à l'initiale pour les autres lots), est très élevé. La mauvaise conversion de cet aliment chez les alevins de la perche fluviatile serait probablement due à ses caractéristiques physiques non encore parfaitement adaptées aux capacités digestives de la perche à ce stade (0,2 g de poids initial) de son développement.

Le taux de croissance spécifique, calculé à partir des poids moyens, augmente avec le taux de rationnement de -0,16 % jour<sup>-1</sup> jusqu'à un maximum de 5,06 % jour<sup>-1</sup> à la ration 16 %. Celui calculé à partir des biomasses est resté négatif jusqu'à la ration de 8 %, les biomasses finales

de ces groupes étant inférieures aux initiales à cause d'une mortalité élevée de larves dans ces groupes.

Une relation polynomiale de second degré a pu être établie entre le taux de croissance spécifique calculé à partir des poids moyens individuels initiaux et finaux de chaque groupe et le taux de ration journalière (Figure 3.13). Ainsi la ration alimentaire d'entretien des alevins de perche de 0,3 g est de 1,7 % du poids par jour et celles de croissance optimale et maximale sont respectivement de 7,4 et 17,6 % du poids par jour.

Tableau 3.10. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (0,3 g) soumis à différents niveaux d'alimentation

Paramètres	Rations journalières (% biomasse.jour <sup>-1</sup> )					
	2	4	8	12	16	20
Sr (%)	47,5±6,4 <sup>a</sup>	69,5±4,9 <sup>b</sup>	67,5±2,1 <sup>b</sup>	74,0±2,8 <sup>b</sup>	66,0±7,1 <sup>b</sup>	76,0±7,1 <sup>b</sup>
St (%)	51,5±7,8 <sup>a</sup>	72,5±2,1 <sup>b</sup>	68,5±3,5 <sup>b</sup>	78,5±3,5 <sup>b</sup>	71,0±1,4 <sup>b</sup>	78,5±3,5 <sup>b</sup>
Can. (%)	4,0±1,4 <sup>a</sup>	3,0±2,8 <sup>ab</sup>	1,0±1,4 <sup>b</sup>	4,5±0,7 <sup>a</sup>	5,0±5,7 <sup>a</sup>	2,5±3,5 <sup>ab</sup>
Bi (g / 20l)	21,9±0,2 <sup>a</sup>	21,6±1,7 <sup>a</sup>	21,5±0,2 <sup>a</sup>	22,5±0,6 <sup>a</sup>	21,7±0,1 <sup>a</sup>	20,4±0,4 <sup>a</sup>
Bf (g / 20l)	10,2±1,1 <sup>a</sup>	18,6±3,1 <sup>b</sup>	21,0±0,3 <sup>bc</sup>	26,9±3,6 <sup>c</sup>	27,6±1,2 <sup>c</sup>	27,6±1,1 <sup>c</sup>
T.C.	-	-	-	11,6±10 <sup>a</sup>	7,3±1,4 <sup>b</sup>	7,4±1,7 <sup>b</sup>
Pi (g)	0,22±0,0 <sup>a</sup>	0,22±0,0 <sup>a</sup>	0,21±0,0 <sup>a</sup>	0,23±0,0 <sup>a</sup>	0,22±0,0 <sup>a</sup>	0,20±0,0 <sup>a</sup>
Pf (g)	0,22±0,0 <sup>a</sup>	0,27±0,0 <sup>a</sup>	0,31±0,0 <sup>a</sup>	0,37±0,0 <sup>a</sup>	0,42±0,0 <sup>a</sup>	0,37±0,1 <sup>a</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	-0,16±0,1 <sup>a</sup>	1,62±0,1 <sup>ab</sup>	2,93±0,3 <sup>bc</sup>	3,67±1,5 <sup>bc</sup>	5,06±0,5 <sup>c</sup>	4,45±1,2 <sup>c</sup>
SGR <sup>1</sup> (%j <sup>-1</sup> )	-5,92±0,9 <sup>a</sup>	-1,19±0,7 <sup>b</sup>	-0,09±0,0 <sup>bc</sup>	1,35±1,2 <sup>c</sup>	1,84±0,3 <sup>c</sup>	2,32±0,5 <sup>c</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Can. : cannibalisme, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, T.C. : taux de conversion alimentaire, Pi : poids moyen initial, Pf : poids moyen final, SGR : taux de croissance spécifique individuelle, SGR<sup>1</sup> : taux de croissance spécifique calculé sur les biomasses, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a différence significative (p<0,05) entre les valeurs qui les précèdent.

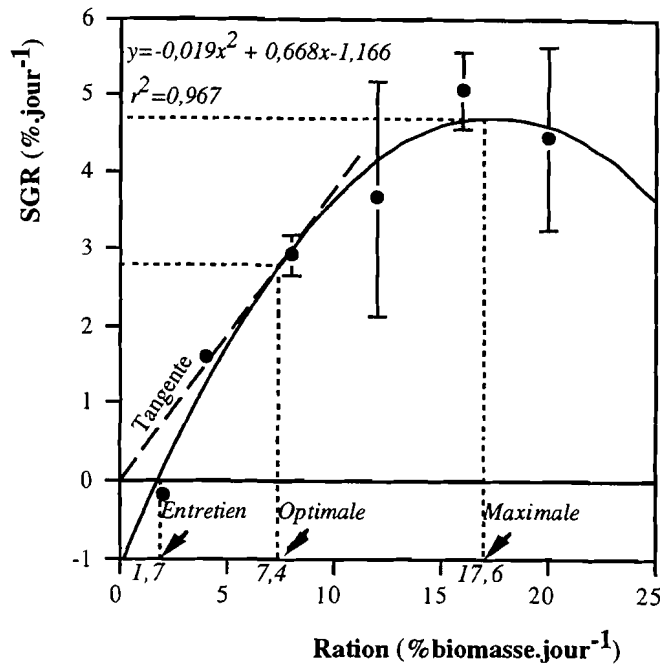


Figure 3.13. Variation du taux de croissance spécifique des alevins de perche (0,3 g) élevés à 23°C en fonction du niveau de la ration alimentaire.

#### 3.2.1.2.2. Poids de 1 g

Conformément aux résultats du tableau 3.11, aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a pu être statistiquement montrée entre les taux de survie (réelle et théorique) des différents lots d'alevins soumis aux différentes rations alimentaires. Cependant, le cannibalisme apparaît dans ces différents lots comme dépendant du taux de rationnement. Mis à part la ration de 6 %, il diminue en général de façon significative ( $p < 0,05$ ) avec l'augmentation du niveau de la ration alimentaire de 22 % à 0 %. Les meilleures biomasses finales (49 g) et taux de conversion de l'aliment (2,2) sont obtenus chez les alevins nourris à 4 % de biomasse. Nous n'avons toutefois pas pu montrer qu'il existe une différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les taux de conversion alimentaire pour les niveaux de ration supérieurs ou égaux à 3 %, et entre les biomasses finales pour les niveaux de ration supérieurs ou égaux à 2 % (Annexe 5). Le poids individuel final et les taux de croissance spécifique (calculés à partir du poids moyen individuel ou biomasse par lot) augmentent en général avec le niveau de la ration. Il n'a cependant pas été possible de montrer qu'il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les rations supérieures ou égales à 3 % pour ces 3 paramètres (Tableau 3.11).

Tableau 3.11. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (1 g) soumis à différents niveaux d'alimentation

Paramètres	Rations journalières (% biomasse.jour <sup>-1</sup> )					
	1	2	3	4	6	8
Sr (%)	59,0±15,6 <sup>a</sup>	63,0±4,2 <sup>a</sup>	69,0±9,9 <sup>a</sup>	79,0±7,1 <sup>a</sup>	65,0±7,1 <sup>a</sup>	77,0±9,9 <sup>a</sup>
St (%)	81,0±7,1 <sup>a</sup>	71,0±7,1 <sup>a</sup>	72,0±5,7 <sup>a</sup>	80,0±8,5 <sup>a</sup>	68,0±2,3 <sup>a</sup>	77,0±9,9 <sup>a</sup>
Can. (%)	22,0±22,6 <sup>a</sup>	8,0±11,3 <sup>b</sup>	3,0±4,2 <sup>c</sup>	1,0±1,4 <sup>d</sup>	3,0±4,2 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>
Bi (g / 20l)	36,0±2,8 <sup>a</sup>	37,7±1,8 <sup>a</sup>	36,7±4,4 <sup>a</sup>	35,4±1,1 <sup>a</sup>	35,2±2,5 <sup>a</sup>	37,4±3,2 <sup>a</sup>
Bf (g / 20l)	24,4±2,2 <sup>a</sup>	33,3±2,3 <sup>ab</sup>	42,0±5,5 <sup>ab</sup>	48,9±6,6 <sup>b</sup>	47,8±10,2 <sup>b</sup>	59,4±16,5 <sup>b</sup>
T.C.	-	-	3,8±0,3 <sup>a</sup>	2,2±0,8 <sup>a</sup>	3,8±2,1 <sup>a</sup>	3,0±1,2 <sup>a</sup>
Pi (g)	0,72±0,06 <sup>a</sup>	0,75±0,04 <sup>a</sup>	0,73±0,09 <sup>a</sup>	0,71±0,02 <sup>a</sup>	0,70±0,05 <sup>a</sup>	0,75±0,07 <sup>a</sup>
Pf (g)	0,87±0,30 <sup>a</sup>	1,06±0,15 <sup>ab</sup>	1,22±0,01 <sup>ab</sup>	1,24±0,06 <sup>ab</sup>	1,46±0,15 <sup>b</sup>	1,53±0,23 <sup>b</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	0,75±1,32 <sup>a</sup>	1,62±0,42 <sup>ab</sup>	2,43±0,63 <sup>b</sup>	2,64±0,08 <sup>b</sup>	3,47±0,16 <sup>b</sup>	3,39±0,31 <sup>b</sup>
SGR <sup>1</sup> (%j <sup>-1</sup> )	-1,84±0,05 <sup>a</sup>	-0,59±0,10 <sup>ab</sup>	0,64±0,06 <sup>bcd</sup>	1,51±0,51 <sup>cd</sup>	1,41±0,68 <sup>cd</sup>	2,12±0,92 <sup>d</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Can. : cannibalisme, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, T.C. : taux de conversion alimentaire, Pi : poids moyen initial, Pf : poids moyen final, SGR : taux de croissance spécifique individuelle, SGR<sup>1</sup> : taux de croissance spécifique calculé sur les biomasses, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a différence significative (p<0,05) entre les valeurs qui les précèdent.

Comme pour les poids de 0,3 g, une relation polynomiale de second degré a pu être établie entre le taux de croissance spécifique calculé avec la biomasse et le taux de ration alimentaire (Figure 3.14). Le modèle de Brett et Grove (1979) appliqué à cette courbe polynomiale, indique clairement que les rations d'entretien, optimale et maximale de la perche de 1 g sont respectivement de 2,1, 5,1 et 6,8 % de son poids.

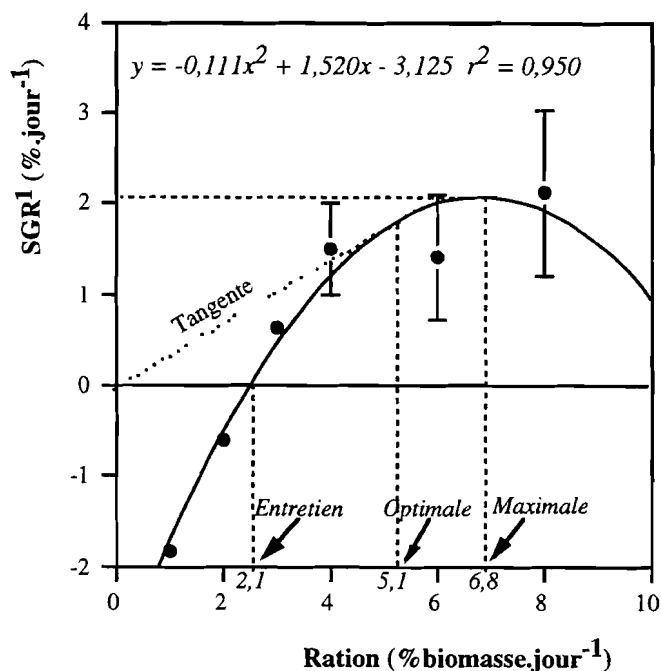


Figure 3.14. Variation du taux de croissance spécifique SGR<sup>1</sup> calculée sur les biomasses initiale et finale des alevins de perche (1 g) élevés à 23°C en fonction du niveau de la ration alimentaire.

### 3.2.1.2.3. Poids de 3 g

Le taux de survie réel significativement ( $p < 0,05$ ) le plus bas (46 %) est noté au niveau des alevins soumis à la ration de 1 %. Cette différence semble liée au cannibalisme qui est apparemment très élevé dans ce même groupe. Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a pu statistiquement être mise en évidence entre les différentes rations pour le cannibalisme et le taux de survie théorique (Tableau 3.12). Aussi, la méthode de comparaison multiple de Newman et Keuls n'a pas montré de différence significative entre les biomasses finales, les poids moyens finaux et les taux de croissance spécifique pour les rations allant de 4 à 8 % de la biomasse. Le meilleur taux de conversion alimentaire (1,86) apparaît cependant chez les lots nourris à 4 % de leur biomasse.

Tableau 3.12. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (3 g) soumis à différents niveaux d'alimentation

Paramètres	Rations journalières (% biomasse.jour <sup>-1</sup> )					
	1	4	6	7	8	10
Sr (%)	46,0±14,1 <sup>a</sup>	72,0±8,5 <sup>b</sup>	65,0±1,4 <sup>ab</sup>	68,0±2,8 <sup>ab</sup>	69,0±7,1 <sup>b</sup>	57,0±12,7 <sup>ab</sup>
St (%)	72,0±2,8 <sup>a</sup>	75,0±9,9 <sup>a</sup>	76,0±11,3 <sup>a</sup>	77,0±7,1 <sup>a</sup>	72,0±2,8 <sup>a</sup>	64,0±8,5 <sup>a</sup>
Can. (%)	26,0±17,0 <sup>a</sup>	3,0±1,4 <sup>a</sup>	11,0±12,7 <sup>a</sup>	9,0±9,9 <sup>a</sup>	3,0±4,2 <sup>a</sup>	7,0±4,2 <sup>a</sup>
Bi (g / 20l)	76,2±1,0 <sup>a</sup>	77,7±1,0 <sup>a</sup>	78,7±0,1 <sup>a</sup>	77,8±0,1 <sup>a</sup>	77,4±0,4 <sup>a</sup>	76,5±0,3 <sup>a</sup>
Bf (g / 20l)	59,8±2,3 <sup>a</sup>	128,0±12,8 <sup>b</sup>	117,5±7,2 <sup>bc</sup>	127,1±1,6 <sup>b</sup>	122,3±6,9 <sup>b</sup>	95,3±13,4 <sup>c</sup>
T.C.	-	1,86±0,34 <sup>a</sup>	3,34±0,42 <sup>b</sup>	3,18±0,00 <sup>b</sup>	3,90±0,42 <sup>b</sup>	13,43±8,32 <sup>c</sup>
Pi (g)	1,52±0,02 <sup>a</sup>	1,55±0,02 <sup>a</sup>	1,58±0,00 <sup>a</sup>	1,56±0,00 <sup>a</sup>	1,55±0,01 <sup>a</sup>	1,53±0,01 <sup>a</sup>
Pf (g)	2,71±0,73 <sup>a</sup>	3,56±0,06 <sup>ab</sup>	3,62±0,30 <sup>b</sup>	3,74±0,20 <sup>b</sup>	3,55±0,17 <sup>ab</sup>	3,38±0,28 <sup>ab</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	1,86±0,95 <sup>a</sup>	2,76±0,10 <sup>a</sup>	2,77±0,27 <sup>a</sup>	2,92±0,17 <sup>a</sup>	2,77±0,17 <sup>a</sup>	2,63±0,29 <sup>a</sup>
SGR <sup>1</sup> (%j <sup>-1</sup> )	-0,81±0,09 <sup>a</sup>	1,66±0,29 <sup>b</sup>	1,33±0,20 <sup>bc</sup>	1,64±0,03 <sup>b</sup>	1,52±0,17 <sup>b</sup>	0,71±0,46 <sup>ac</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Can. : cannibalisme, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, T.C. : taux de conversion alimentaire, Pi : poids moyen initial, Pf : poids moyen final, SGR : taux de croissance spécifique individuelle, SGR<sup>1</sup> : taux de croissance spécifique calculé sur les biomasses, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a différence significative (p<0,05) entre les valeurs qui les précèdent.

Le taux de croissance spécifique calculé à partir des biomasses varie en fonction de la ration journalière suivant une fonction polynomiale de second degré ( $r^2 = 0,927$ ). Le modèle de Brett (1979) appliqué à cette courbe (Figure 3.15) indique que les rations d'entretien, optimale et maximale de la perche fluviatile de poids d'environ 3 g sont 1,8, 4,5 et 6,4 % du poids.



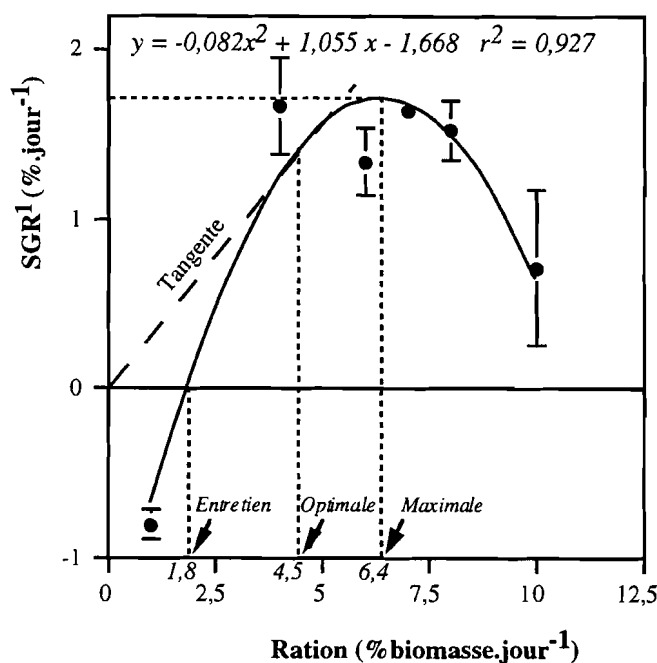


Figure 3.15. Variation du taux de croissance spécifique SGR<sup>1</sup> calculée sur les biomasses initiale et finale des alevins de perche (3 g) élevés à 23°C en fonction du niveau de la ration alimentaire.

#### 3.2.1.2.4. Poids de 22 g

Les taux de survie sont en général très élevés (88,5-98,4) et statistiquement homogènes ( $p > 0,05$ ) pour toutes les rations alimentaires testées (Tableau 3.13). Remarquons également qu'à cette taille (22 g), le cannibalisme a complètement disparu de tous les lots nourris. La biomasse finale, le poids final et les taux de croissance spécifique augmentent respectivement avec le niveau de la ration alimentaire. Nous n'avons cependant pas pu montrer qu'il existe une différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les rations alimentaires 2 à 3 % pour ces 4 paramètres zootechniques. Il en est de même pour le taux de conversion alimentaire. Ici aussi, le taux de croissance spécifique SGR suit parfaitement une courbe polynomiale du second degré en fonction de la ration alimentaire (Figure 3.16). Ainsi, les rations d'entretien, optimale et maximale nécessaires à des alevins de perche fluviale de cette gamme de poids sont respectivement de 0,8, 2,2 et 3,7 % du poids individuel.

Tableau 3.13. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (22 g) soumis à différents niveaux d'alimentation

Paramètres	Rations journalières (% biomasse.jour <sup>-1</sup> )					
	0,3	1	1,5	2	2,5	3
Sr (%)	91,8±0,0 <sup>a</sup>	91,8±4,3 <sup>a</sup>	88,5±2,8 <sup>a</sup>	95,6±3,8 <sup>a</sup>	98,4±0,0 <sup>a</sup>	96,2±0,9 <sup>a</sup>
St (%)	91,8±0,0 <sup>a</sup>	91,8±4,3 <sup>a</sup>	88,5±2,8 <sup>a</sup>	95,6±3,8 <sup>a</sup>	98,4±0,0 <sup>a</sup>	96,2±0,9 <sup>a</sup>
Can. (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Bi (kg / 120l)	1,14±0,07 <sup>a</sup>	1,15±0,05 <sup>a</sup>	1,15±0,06 <sup>a</sup>	1,13±0,19 <sup>a</sup>	1,18±0,06 <sup>a</sup>	1,14±0,09 <sup>a</sup>
Bf (kg / 120l)	0,94±0,10 <sup>a</sup>	1,09±0,07 <sup>ab</sup>	1,17±0,02 <sup>bc</sup>	1,30±0,09 <sup>bcd</sup>	1,36±0,21 <sup>cd</sup>	1,45±0,09 <sup>d</sup>
TC	-	-	-	3,30±1,95 <sup>a</sup>	2,05±0,01 <sup>a</sup>	2,39±0,28 <sup>a</sup>
Pi (g)	18,67±1,10 <sup>a</sup>	18,93±0,08 <sup>a</sup>	18,87±0,10 <sup>a</sup>	18,52±0,31 <sup>a</sup>	19,37±0,11 <sup>a</sup>	18,78±1,41 <sup>a</sup>
Pf (g)	16,76±1,85 <sup>a</sup>	19,41±0,44 <sup>b</sup>	21,67±0,74 <sup>bc</sup>	22,23±1,20 <sup>cd</sup>	24,63±0,14 <sup>cd</sup>	24,66±1,50 <sup>d</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	-0,46±0,22 <sup>a</sup>	0,10±0,08 <sup>b</sup>	0,58±0,12 <sup>c</sup>	0,76±0,23 <sup>cd</sup>	1,00±0,0 <sup>cd</sup>	1,14±0,09 <sup>d</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	-0,82±0,22 <sup>a</sup>	-0,26±0,24 <sup>ab</sup>	0,07±0,08 <sup>b</sup>	0,57±0,25 <sup>cd</sup>	0,93±0,00 <sup>d</sup>	0,98±0,13 <sup>d</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Can. : cannibalisme, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, T.C. : taux de conversion alimentaire, Pi : poids moyen initial, Pf : poids moyen final, SGR : taux de croissance spécifique individuelle, SGR<sup>1</sup> : taux de croissance spécifique calculé sur les biomasses, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a différence significative (p<0,05) entre les valeurs qui les précèdent.

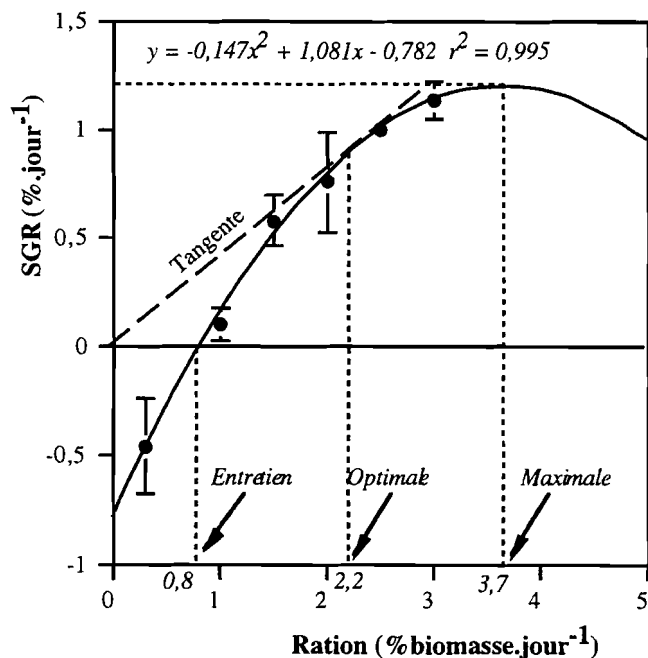


Figure 3.16. Variation du taux de croissance spécifique SGR calculé sur base des poids moyens des alevins de perche (18,5-24,6 g) élevés à 21°C en fonction du niveau de la ration alimentaire.

### 3.2.1.2.5. Estimation de la ration optimale de la perche fluviatile

A partir des rations optimales déterminées graphiquement par le modèle de Brett (1979) pour les poids moyens 0,3, 1, 3 et 22 g, une relation mathématique du type linéaire a pu être établie entre Log de la ration optimale et Log du poids de la perche fluviatile à 23 °C (Figure 3.17). L'équation de cette relation est la suivante :

$$\text{Log (Ropt (\%))} = -0,283 \text{ Log (P)} + 0,734 \text{ avec } r^2 = 0,987$$

Où Ropt = ration optimale (% de la biomasse)

P = poids vif moyen (g)

Dans le souci de rendre cette relation accessible aux futurs perche-culteurs, elle peut être simplifiée de la façon suivante :

$$\text{Ration optimale (\%)} = 5,42 \text{ Poids (g)}^{-0,283}$$

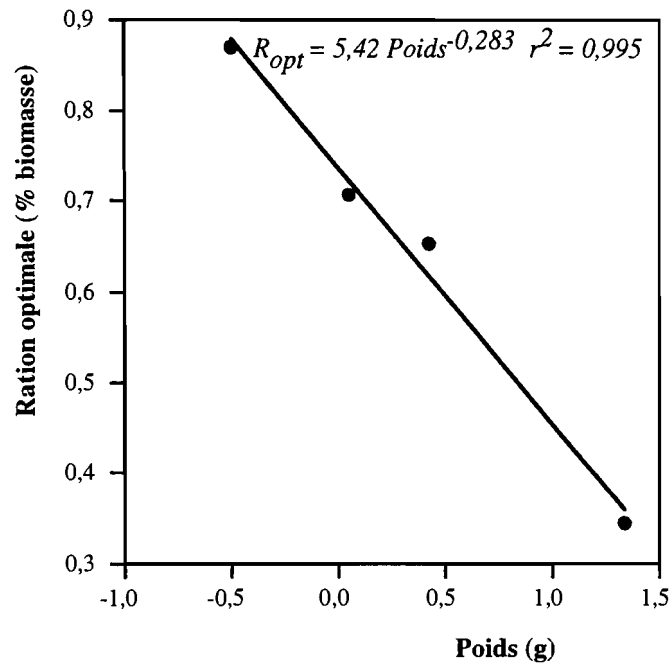


Figure 3.17. Relation mathématique entre la ration optimale et le poids de la perche fluviatile en élevage intensif à  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### 3.2.1.3. Discussion

Les taux de survie élevés dans tous les cas, montrent la bonne adaptation de la perche fluviatile à un aliment sec pour tous les poids expérimentés. On observe toutefois une amélioration croissante de la survie avec le stade de développement. Elle varie de 47,5 à 76 % chez les alevins de 0,3 g nouvellement sevrés à l'aliment artificiel à 88,5 à 98,4 % chez ceux de 22 g bien habitués à cet aliment. Cependant, cette adaptation à l'aliment sec ne justifie pas les taux de conversion alimentaire qui sont en général élevés et particulièrement médiocres chez les alevins de 0,3 g. Ces mauvaises conversions alimentaires peuvent être attribuées à la composition en nutriments de l'aliment Trouvit n° 2, notamment à ses teneurs en protéines (56 %) qui sont largement supérieures aux besoins de la perche fluviatile (Fiogbé *et al.*, 1996). L'élimination des excès de protéines ou le stockage des excès de graisses sont des processus biochimiques très énergivores qui réduisent considérablement à cet effet l'énergie destinée à la croissance (Houlihan, 1991). Une mauvaise appétence de l'aliment trouvit au démarrage de l'expérience pour les alevins de 0,3 g (0,2 g de poids initial) peut aussi être à la base du mauvais taux de conversion alimentaire observé à ce stade.

Pour les quatre expériences de détermination de rations alimentaires chez la perche fluviatile à différents stades de son développement, on peut remarquer que le taux de croissance spécifique augmente de 0 à partir de la ration d'entretien à un maximum (soit 4,8; 2,1; 1,7; 1,2 % jour<sup>-1</sup> respectivement, pour les poids de 0,3; 1, 3 et 22 g ) correspondant à une ration intermédiaire (soit 17,6; 6,8; 6,4; 3,7 % biomasse, respectivement pour les poids de 0,3; 1, 3 et 22 g puis baisse de nouveau. Des variations similaires de la croissance en fonction du niveau d'alimentation ont été déjà rapportées par plusieurs auteurs. On peut citer entre autres les travaux de Rafail (1968) sur les alevins de *Pleuronectes platessa* L., Brett *et al.* (1969) sur les alevins de *Oncorhynchus nerka* W., Carline et Hall (1973) sur les alevins de *Oncorhynchus kisutch* W et Méléard *et al.* (1995) sur les alevins de la perche fluviatile. Cette baisse significative de la croissance au delà de la ration maximale a longtemps attiré l'attention des nutritionnistes qui l'interprètent différemment. Selon Warren (1971), un déséquilibre à la fois de l'action dynamique spécifique, des activités ou de l'efficacité d'assimilation suite à l'augmentation des rations alimentaires pourrait causer la chute de la croissance. Abondant dans ce même sens, Brett et Grove (1979) ont rapporté pour les carnivores, au terme de l'analyse de plusieurs résultats expérimentaux, que lorsque le niveau de ration tend vers la consommation maximale journalière, l'efficacité de la digestion diminue et limite l'allocation d'énergie destinée à la croissance. Par ailleurs, ces mêmes auteurs ont remarqué que toute ration en dessous de celle d'entretien entraîne une perte de poids. Aussi, toute ration comprise entre celle d'entretien et la maximale se traduit par un gain de poids, où le meilleur gain du poids par unité de ration ajoutée est obtenu avant la ration maximale (au niveau de ration optimale). Les croissances obtenues dans la présente étude pour les alevins de la perche fluviatile sont en parfaite adéquation avec les conclusions de Brett et Grove (1979).

Indépendamment des poids auxquels notre étude de rationnement s'applique, on peut constater aisément que toute ration en-dessous de l'entretien se traduit effectivement par une perte de poids (Figures 3.13 à 3.16). Pour Kerr (1971), la diminution du taux de croissance au-delà de la ration maximale s'explique simplement par une augmentation des activités spontanées (volontaires) des poissons au détriment de la croissance. Chez les animaux terrestres, la croissance la plus efficace correspond généralement au maximum d'ingestion (Smith, 1989). Cette observation n'est pas vérifiée chez les poissons pour lesquels la ration optimale est souvent inférieure à la maximale (Figure.3.1 d'après Smith, 1989 et Figure 3.3 d'après De Silva et Anderson, 1995).

Pour nos expériences, le rapport taux de croissance spécifique optimal sur ration optimale pour les alevins de 0,3, 1, 3 et 22 g est respectivement de 0,38, 0,35, 0,31 et 0,41 contre 0,27, 0,31, 0,27 et 0,34 respectivement pour le rapport taux de croissance spécifique maximal sur ration maximale. Ces résultats montrent bien l'importance économique du

choix de la ration optimale en pisciculture, contrairement à la ration maximale souvent préférée en alimentation des vertébrés supérieurs.

Les différentes rations (entretien, optimale et maximale) obtenues dans la présente étude sont en général supérieures à celles estimées pour les mêmes poids à partir des équations mises au point par Mélard *et al.* (1995) à la même température d'élevage. Par exemple pour la taille de 22 g, ces rations (% biomasse) sont de 0,8, 2,2 et 3,7 respectivement contre 0,5, 1,6 et 3 d'après Mélard *et al.* (1995). Ces différences non négligeables peuvent probablement être attribuées aux conditions d'élevage qui ne sont pas les mêmes. Au cours de la présente étude, les expériences ont été conduites en circuits fermés avec un apport hebdomadaire d'eau extérieure, susceptible de modifier temporairement la température de l'eau d'élevage. Étant donné le rôle important que joue la température dans la digestion des aliments et l'assimilation des nutriments (Cho *et al.*, 1982; Santulli *et al.*, 1993), cette différence dans les rations alimentaires pourraient logiquement être la cause des variations instantanées hebdomadaires de la température (19,5 à 24°C) observées dans notre circuit.

La relation  $R_{opt} = 5,42X^{-0,283}$  avec  $r^2 = 0,995$  observée dans la présente étude entre la ration optimale et le poids vif des alevins de la perche fluviatile (Figure 3.17) est assez similaire à celles simulées par Mélard *et al.* (1995) à une température de 23 °C ( $R_{opt} (\%) = 3,30 \text{ Poids (g)}^{-0,24}$   $r^2 = 0,85$ ).

### 3.2.2. Besoins en protéines de la perche fluviatile

La détermination de la taille effective de sevrage de la perche fluviatile à un aliment artificiel et celle des rations alimentaires chez des alevins sevrés à différents stades de leur développement ont été basées sur des aliments commerciaux généralement destinés à l'élevage des truites. Or, des résultats récents obtenus aux USA (Garling Michigan State University, unpublished data, in Brown *et al.*, 1995) montrent que les besoins en protéines brutes chez la perchaude *Perca flavescens* (26-28 %) considérée comme cousine de la perche fluviatile, sont inférieurs à ceux de la truite. Ces valeurs paraissent excessivement faibles compte tenu du régime alimentaire de la perche qui est essentiellement piscivore. Vu le rôle de premières importances (zootechnique et économique) que jouent les protéines dans l'alimentation animale en général (D'Mello, 1994) et celle des poissons en particulier, cette information à priori très intéressante mérite d'être validée au niveau de la perche fluviatile. C'est pourquoi une série d'expériences de nutrition ont été conduites afin de déterminer quels sont les besoins protéiques de la perche fluviatile au cours de son développement. Pour cela, des tests de croissance comparatifs ont été entrepris à partir de différents poids de poissons nourris avec des aliments expérimentaux semi-purifiés à teneur croissante en protéines conformément aux recommandations de Cowey (1993). Les essais ont été effectués avec des juvéniles sevrés de poids moyen initial respectif de 0,3, 3 et 16 g.

#### 3.2.2.1. Matériel et méthodes

##### 3.2.2.1.1. Installations expérimentales

Les installations expérimentales sont identiques à celles décrites précédemment (photos 2 et 3), c'est à dire 3 circuits autonomes semi ouverts équipés entre autres de bacs d'élevage de 20 l de volume utile pour des expériences de nutrition des poissons de moins de 10 g et un autre presque identique conçu pour des expériences avec des poissons de plus de 10 g, équipé de bacs de 120 l de volume utile.

##### 3.2.2.1.2. Origine des poissons expérimentaux

Comme précédemment (3.2.1.1.), les alevins de poids 0,3 et 3 g sont issus d'oeufs incubés au laboratoire à température variant de 10 - 18°C, grossis avec une alimentation composée de rotifères et de nauplii d'*Artemia* et parfaitement habitués à l'aliment artificiel. Ceux de plus de 15 g ont été produits en eau verte, dans des étangs bâchés au CERER Aquaculture, Université de Liège à Tihange. Ils ont été également nourris avec des nauplii d'*Artemia* et habitués à l'aliment artificiel (Seabream puis Trouvit).

### 3.2.2.1.3. Aliments expérimentaux

La méthode de combinaison des différents ingrédients est inspirée de celle utilisée pour des études similaires par Jauncey (1983) chez le tilapia (*Sarotherodon mossambicus* P.), Kaushik *et al.* (1991) chez l'esturgeon sibérien (*Acipenser baeri* R.) et Fiogbé et Kestemont (1995) chez le carassin doré (*Carassius auratus* L.).

Ainsi, nous nous sommes fixés un niveau énergétique suffisamment élevé pour couvrir largement les besoins des alevins de la perche ( $\pm 20$  MJ.Kg<sup>-1</sup>), les besoins rapportés pour les Salmonidés étant de 17-20 MJ.Kg<sup>-1</sup> d'aliment (Cho et Kaushik, 1990). Nous nous sommes ensuite fixés des niveaux croissants de protéines, compris entre 0 à 60 % de matière sèche de l'aliment et enfin des niveaux correspondants de glucides et de lipides pouvant nous permettre de maintenir tous les régimes alimentaires au même niveau énergétique sans réduire leur digestibilité.

Les ingrédients sont en général semi purifiés et sélectionnés en fonction de leur composition, leur digestibilité pour les Salmonidés (Watanabe, 1988) et leur qualité, de façon à limiter les variabilités souvent liées à la qualité des ingrédients. Aussi, dans les formulations, les ingrédients qui sont susceptibles d'introduire d'autres variabilités dans les qualités des régimes, outre les protéines, sont maintenus à des taux constants (levure du lait et farine de morue pour leur taux de lipides, vitamines, minéraux et liant). La dextrine est introduite à des proportions de 10 à 20 % dans nos régimes expérimentaux, excepté le régime sans protéines, conformément aux recommandations de Wilson (1994) pour les Salmonidés.

Les différentes formules alimentaires sont présentées aux tableaux 3.14 à 3.16. Remarquons que, pour les premières formules alimentaires (Tableau 3.14), le facteur de variation des protéines brutes est la caséine du lait et celui des lipides est l'huile de soja.

D'autres informations nous ont amené à modifier les formules alimentaires pour la suite des travaux concernant les alevins de poids 16 et 0,3 g. Selon ces informations, la caséine est généralement déficiente en arginine et la gélatine particulièrement riche en cet acide aminé (Cowey, 1993). Aussi, les huiles d'origine végétale sont plus digestibles que celles d'origine animale (Briggs et Calloway, 1973). D'où la nécessité pour nous de standardiser la qualité de ces deux sources de nutriments (protéines et lipides) afin de s'assurer que la seule source de variabilité de nos régimes expérimentaux est effectivement le niveau de protéines.

Par ailleurs, les alevins de 3 g n'ayant pas pu supporter le régime sans protéines (pas de survivants en fin d'expérience), nous n'avons plus jugé nécessaire de tester ce régime pour les autres stades de développement de la perche.



Tableau 3.14. Régimes expérimentaux pour la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 3 g

	Protéines brutes (% matière sèche)					
	0,00	20,00	30,00	40,00	50,00	60,00
Théorique	0,00	20,00	30,00	40,00	50,00	60,00
Réel	2,70	20,80	32,10	40,10	51,50	58,40
Ingrédients (% de matière sèche)						
Caséine	0,00	0,00	10,80	21,60	32,40	43,10
Levure du lait	0,00	14,00	14,00	14,00	14,00	14,00
Farine de morue	0,00	14,00	14,00	14,00	14,00	14,00
Dextrine	48,00	20,00	20,00	20,00	10,00	2,90
Glucose	19,00	21,00	14,00	6,40	8,60	5,00
Huile de foie de morue	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Huile de soja	12,00	10,00	6,20	3,00	0,00	0,00
Lipides	22,00	20,00	16,20	13,00	10,00	10,00
Prémélange de vitamines	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Prémélange de sels	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Carboxyméthylcellulose	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Energie brute (Kcal / 100 g)	481,22	486,50	484,33	485,11	486,67	502,90
Energie brute (MJ / 100 g)	2,01	2,04	2,03	2,03	2,04	2,10
Protéines / Energie (g / MJ)	1,34	10,22	15,84	19,76	25,29	27,75

Les formules de vitamines et de sels minéraux sont identiques pour l'ensemble des régimes expérimentaux. Elles correspondent aux recommandations de NRC (1978) et ont été utilisées avec succès chez la perche *Perca flavescens* par Ramseyer (1992).

Les régimes alimentaires ont été préparés en dix étapes successives que nous pouvons schématiser comme suit :

- broyage des ingrédients grossiers avec la moulinette à café (pâte de morue concassée),
- tamisage des poudres obtenues avec le tamis de 100 µm,
- pesée des proportions des ingrédients (en poudre) régime par régime en tenant compte de leur teneur en matière sèche,
- mélange des ingrédients pesés pour chaque régime jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène,

- mélange de façon homogène de la poudre ainsi obtenue avec les proportions d'huile de soja et d'huile de foie de morue fixées dans les formules alimentaires,
- réalisation d'une pâte assez tendre par mélange de cette poudre homogène avec de l'eau,
- les pâtes finales assez homogènes obtenues sont étalées dans des plateaux, puis séchés à l'air libre ou à l'étuve à basse température (<40°C),
- après séchage, elles sont ensuite concassées à la main et broyées avec la moulinette à café,
- les granulés de tailles adaptées à l'ouverture de la bouche des alevins à nourrir sont séparées des grains moulus, par tamisage,
- les différents régimes alimentaires ainsi fabriqués sont versés dans des bocaux préalablement bien séchés, puis conservés au frais pendant toute la durée de l'expérience.

Tableau 3.15. Régimes expérimentaux pour la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 16 g

	Protéines brutes (% de matière sèche)					
	20,00	25,00	30,00	35,00	40,00	45,00
Théorique	20,00	25,00	30,00	35,00	40,00	45,00
Réel	20,10	25,28	31,24	35,80	39,95	45,26
Ingrédients (% de matière sèche)						
Source de protéines	23,00	28,72	34,50	40,20	45,95	51,70
Dextrine	34,00	29,78	25,00	24,80	20,80	20,00
Glucose	18,50	18,50	18,50	15,00	14,25	10,30
Lipides	15,50	14,00	13,00	11,00	10,00	9,00
Prémélange de vitamines	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Prémélange de sels	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Carboxyméthylcellulose	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Energie brute (Kcal)	482,50	482,20	483,70	480,28	481,70	483,30
Energie brute (MJ)	2,02	2,02	2,02	2,01	2,02	2,02
Protéines / Energie (g / MJ)	9,91	12,39	14,82	17,42	19,85	22,25

Source de protéines = 35 % de caséine + 35 % de farine de morue + 15 % de levure + 15 % de gélatine; lipides = 60 % d'huile de foie de morue + 40 % d'huile de soja.

Tableau 3.16. Régimes expérimentaux pour la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 0,3 g

	Protéines brutes (% de matière sèche)					
	35,00	40,00	45,00	50,00	55,00	60,00
Théorique	35,00	40,00	45,00	50,00	55,00	60,00
Réel	35,80	39,95	45,26	51,21	54,81	61,63
Ingrédients ( % de matière sèche de l'aliment)						
Source de protéines	40,20	45,95	51,70	57,40	63,18	68,92
Dextrine	24,80	20,80	20,00	20,00	18,00	16,08
Glucose	15,00	14,25	10,30	6,10	2,82	-
Lipides	11,00	10,00	9,00	7,50	7,00	6,00
Prémélange de vitamines	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Prémélange de sels	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Carboxyméthylcellulose	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Energie brute (Kcal / 100 g)	480,28	481,75	483,30	482,34	486,35	487,86
Energie brute (MJ / 100 g)	2,01	2,01	2,02	2,02	2,03	2,04
Protéines / Energie (g / MJ)	17,42	19,90	22,26	24,78	27,09	29,41

Source de protéines = 35 % de caséine + 35 % de farine de morue + 15 % de levure + 15 % de gélatine; lipides = 60 % d'huile de foie de morue + 40 % d'huile de soja.

Tableau 3.17. Compositions des prémélanges de vitamines et de sels minéraux

Vitamines	mg / g	Sels minéraux	g / kg
Choline-Cl	450	CaHPO <sub>4</sub> -2H <sub>2</sub> O	366,046
Niacine	100	CaCO <sub>3</sub>	261,714
Inositol	20	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	176,834
Acide ascorbique	15	NaCl	106,1
Vitamine K	12	MgSO <sub>4</sub>	53,05
Calcium pantothenate	6	KCl	17,683
Pyridoxine	1,5	FeSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	8,842
Riboflavine	1,5	MnSO <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O	6,189
Thiamine-Hcl	1,5	ZnCO <sub>3</sub>	2,653
Antioxydant (BHT)	1	CuSO <sub>4</sub> -5H <sub>2</sub> O	0,531
Folacin (acide folique)	0,5	KIO <sub>3</sub>	0,177
Biotine	0,15	NaMoO <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O	0,147
Vitamine B12	0,003	CoCl <sub>2</sub>	0,03
Autres vitamines	IU / g	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0,004
Vitamine A	500		
Vitamine D3	200		
Vitamine E	5		

Les formules sont complétées avec de la cellulose

#### 3.2.2.1.4. Mise en place des expériences

Au début de chaque expérience, les alevins de perche fluviatile ont été répartis au hasard dans les bacs d'élevage préalablement lavés et alimentés en eau préaérée. Les traitements ont été dupliqués dans le cas de l'essai avec les alevins de 0,3 g de poids assez homogènes et tripliqués pour les autres expériences réalisées avec des alevins de poids plus élevés et moins homogènes (3 et 16 g). Après une semaine d'habituance aux aliments expérimentaux suivie d'une journée de jeûne, les alevins ont été soumis aux différents régimes alimentaires à raison de 2 ou 3 bassins choisis au hasard (1 par série) pour un même régime. L'habituance des poissons aux aliments expérimentaux a consisté à réaliser un mélange de tous ces aliments dans des proportions égales, que l'on utilise comme substituant progressif de leur aliment "Trouvit" de base.

#### 3.2.2.1.5. Conduite de l'élevage

Au cours des expériences, les bacs d'élevage sont siphonnés et/ou nettoyés tous les jours et les poissons morts sont comptés, pesés et enlevés des bacs. Un contrôle de croissance s'effectue tous les 7 jours au cours duquel tous les poissons sont pesés et comptés par bac. Aussi, 10 poissons sont prélevés au hasard dans chaque bac et pesés individuellement en vue de se rendre compte de la variabilité de poids au sein des différents groupes traités. La ration est ajustée à chaque contrôle de croissance en fonction des nouvelles biomasses. La ration a été fixée en excès (entre l'optimale et la maximale) conformément aux recommandations de EIFAC (1993), soit à 10 % de biomasse pour les poissons de 0,3 g, 5 % pour les poissons de 3 g et 1,7 % pour ceux de 16 g. Au début de chaque expérience, un échantillon de 5 poissons a été prélevé au hasard dans le stock de départ, puis pesé et congelé à -20°C. De la même manière, à la fin des expériences, fixée à 21, 75 et 66 jours respectivement pour les alevins de 0,3, 3 et 16 g, tous les lots de poissons qui ont reçu le même traitement, ont été mélangés et un échantillon de 5 alevins a été prélevé dans chaque mélange, puis pesé et congelé pour les analyses biochimiques.

La température moyenne de l'eau était de  $23 \pm 1$  °C lors des expériences avec les alevins de 0,3 et 3 g et de  $21 \pm 1$  °C pour celle avec les poissons de 16 g. L'expérience portant sur les poissons de 16 g a été réalisée dans une nouvelle installation (Photo 3) où il était difficile au départ de stabiliser la température de l'eau à 23 °C comme dans la première installation.

Le pH a varié entre 7,5 et 8,3 pour l'ensemble des expériences.

La concentration en oxygène a oscillé entre 7,1 et 8,7 mg l<sup>-1</sup> pour l'essai avec les alevins de 0,3 g, entre 5 et 7 pour l'essai avec les alevins de 3 g et entre 4,9 et 6,9 mg l<sup>-1</sup> pour celui réalisé avec les alevins de 16 g.

Les nitrites ont varié de 0,066 à 0,1 mg l<sup>-1</sup> lors de l'expérience avec les poissons de 0,3 g, de 0,07 à 0,33 mg l<sup>-1</sup> pour celle avec les poissons de 3 g et de 0,09 à 0,1 mg l<sup>-1</sup> avec un pic accidentel de 1,18 mg l<sup>-1</sup> pour celle avec les poissons de 16 g.

Les concentrations en ammoniacque étaient environ de 0,055 mg l<sup>-1</sup> pour l'ensemble des expériences.

### 3.2.2.1.6. Analyses biochimiques

Au moment des différentes analyses (protéines et acides aminés), les poissons prélevés ont été séchés à l'étuve à température inférieure à 40°C. Après séchage, ils ont été finement écrasés et les poudres sont prélevées et stockées à -20°C pour les différents dosages.

#### 3.2.2.1.6.1 Dosage des matières sèches des aliments et des poissons

Nous avons pesé au dix millièmes près 3 échantillons de 1-2 g de chaque matière à doser (aliment ou poisson) dans de petites boîtes de pétri en verre de 3 cm de diamètre sur 1 cm de hauteur et séché à l'étuve à 110°C pendant 24 heures. Ainsi, les taux d'humidité (T.H.) et de matière sèche (M.S.) sont calculés dans chaque échantillon comme suit :

$$\text{T.H.}(\% \text{ du poids frais}) = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Pi}} \times 100$$

$$\text{M.S.}(\% \text{ du poids frais}) = 100 - \text{T.H.}$$

où Pi est le poids initial (g),

Pf est le poids final (g)

#### 3.2.3.1.6.2. Dosage des protéines

Ces mesures ont été effectuées à l'aide d'un analyseur CARLO ERBA NA 1500 dont le principe est le suivant : les échantillons sont complètement oxydés à très haute température (1020°C) avec formation du CO<sub>2</sub> et un mélange NO-NO<sub>2</sub>. Les oxydes d'azote sont réduits en N<sub>2</sub> dans une colonne de réduction. Les gaz transportés par l'hélium (He), sont ensuite séparés par chromatographie en phase gazeuse. La détection des gaz est réalisée par catharométrie.

Les échantillons préalablement séchés sont pesés (1 à 10 mg) dans de petites nacelles en étain à raison de 3 nacelles pour un même échantillon. Ces nacelles sont ensuite transformées en boulettes pour analyse à l'aide de pinces et d'une plaque métallique tapissée de petits trous.

Cette méthode implique le passage de "blanc" (nacelles en étain vides) et un étalonnage avec des quantités d'acétanilide comprises dans une gamme de 1 à 10 mg requise pour les mesures.

Une fois la calibration établie, l'analyse des échantillons s'effectue de façon automatique, suivant un programme défini au niveau de l'intégrateur, où l'on spécifie notamment les temps de rétention des pics correspondant au carbone et à l'azote. Les concentrations en carbone et en azote (C et N) des échantillons sont exprimées en % de leur poids sec. Les taux de protéines sont obtenus en multipliant les taux d'azote par le coefficient 6,25.

$$\text{Protéines (\% de M.S.)} = \text{Azote (\% de M.S.)} \times 6,25$$

où M.S. est la matière sèche

### 3.2.2.1.7. Analyses statistiques des paramètres zootechniques

Les données de survie, de croissance et d'utilisation de l'aliment et de ses protéines sont analysées par ANOVA à un critère de classification (niveau de protéines) suivie systématiquement par des tests de comparaisons multiples à l'aide de la méthode de Newman et Keuls (Feytmans, 1991). Les poids vifs moyens sont calculés sur 30 ou 20 poissons par traitement (soit 10 poissons par bac), les moyennes des autres paramètres (biomasse, survie, TC, CEP, VPP) représentent celle des bacs par traitements (3 pour les alevins de 3 et 16 g et 2 pour les alevins de 0,3 g).

En dehors du taux de survie, du taux de cannibalisme, du taux de croissance spécifique et du taux de conversion alimentaire, deux autres paramètres zootechniques sont pris en compte ici pour apprécier les effets du niveau de protéines du régime alimentaire de la perche fluviatile sur sa croissance. Il s'agit du coefficient d'efficacité protéique (CEP) et de la valeur productive de protéines (VPP) dont les équations de détermination sont les suivantes :

$$\text{CEP} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Qpi}}$$

$$\text{VPP (\%)} = \frac{\text{Qpr}}{\text{Qpi}} \times 100$$

où Pf est le poids moyen final (g), Pi : poids moyen initial (g),

Qpr sont les protéines retenues ou gain de protéines (g),

Qpi sont les protéines ingérées (g)

### 3.2.2.1.8. Modélisations mathématiques des croissances

Trois modèles mathématiques communément utilisés en nutrition animale ont été appliqués aux taux de croissance spécifique à l'aide des programmes informatiques SAS (1985) et "CA-Cricket Graph III" pour estimer les besoins en protéines de la perche fluviatile aux trois différents poids étudiés. Il s'agit du modèle cinétique de saturation à quatre paramètres de Morgan *et al.* (1975) et Mercer (1982), du modèle de la ligne brisée 'broken line method' de Robbins *et al.* (1979) et du modèle de Brett (1979). Ces méthodes sont décrites au chapitre 3.1.2.5.3.

### 3.2.2.2. Résultats

#### 3.2.2.2.1. Pour les alevins de 3 g

Le niveau de protéines alimentaires a un effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ) sur la survie des alevins de perche de 3 g (Tableau 3.18). Le taux de survie des groupes d'alevins traités avec les régimes allant de 40 à 60 % de protéines (entre 79,1 et 82,9 %) est significativement plus élevé que celui des groupes d'alevins traités avec des régimes contenant 20 et 30 % de protéines (45,7 et 42,9 % respectivement).

Tableau 3.18. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (3 g) soumis à différents niveaux de protéines alimentaires

Paramètres	Niveaux de protéines brutes (% matière sèche)					
	2,7	20,8	32,1	40,1	51,5	58,4
Sr (%)	11,4±5,7	35,2±4,4 <sup>a</sup>	40,0±8,6 <sup>a</sup>	70,5±4,4 <sup>b</sup>	71,4±4,9 <sup>b</sup>	76,2±3,3 <sup>b</sup>
St (%)	17,1±8,6	45,7±8,6 <sup>a</sup>	42,9±11,4 <sup>a</sup>	79,1±8,7 <sup>b</sup>	82,9±4,9 <sup>b</sup>	81,9±8,2 <sup>b</sup>
Can. (%)	5±8	10±8 <sup>a</sup>	3±3 <sup>a</sup>	9±12 <sup>a</sup>	11±5 <sup>a</sup>	6±5 <sup>a</sup>
Bi (g)	105,3±20,4 <sup>a</sup>	104,1±18,5 <sup>a</sup>	94,4±13,9 <sup>a</sup>	94,7±15,4 <sup>a</sup>	103,2±9,7 <sup>a</sup>	102,0±14,1 <sup>a</sup>
Bf (g)	11,0±6,7	37,5±11,8 <sup>a</sup>	57,6±8,2 <sup>a</sup>	146,3±22,3 <sup>b</sup>	174,0±19,4 <sup>bc</sup>	193,9±12,6 <sup>c</sup>
TC	-	22,8±10,1 <sup>a</sup>	7,6±1,7 <sup>b</sup>	4,6±0,7 <sup>b</sup>	3,9±1,0 <sup>b</sup>	3,8±0,5 <sup>b</sup>
Pi (g)	3,01±0,6 <sup>a</sup>	2,97±0,5 <sup>a</sup>	2,70±0,4 <sup>a</sup>	2,71±0,4 <sup>a</sup>	2,95±0,3 <sup>a</sup>	2,91±0,4 <sup>a</sup>
Pf (g)	2,40±0,6	3,01±0,6 <sup>a</sup>	4,18±0,6 <sup>a</sup>	5,95±1,0 <sup>b</sup>	6,96±0,6 <sup>b</sup>	7,28±0,6 <sup>b</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	-0,39±0,09	0,01±0,42 <sup>a</sup>	0,60±0,11 <sup>b</sup>	1,08±0,15 <sup>bc</sup>	1,18±0,16 <sup>c</sup>	1,26±0,20 <sup>c</sup>
CEP	-	-0,01±0,42 <sup>a</sup>	0,42±0,08 <sup>b</sup>	0,55±0,09 <sup>b</sup>	0,52±0,13 <sup>b</sup>	0,46±0,06 <sup>b</sup>
VPP (%)	-	-4,33±6,27 <sup>a</sup>	4,03±1,17 <sup>b</sup>	7,00±1,28 <sup>b</sup>	7,30±1,97 <sup>b</sup>	5,95±0,95 <sup>b</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Can. : cannibalisme, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, TC : taux de conversion alimentaire, Pi : poids initial, Pf : poids final, SGR : taux de croissance spécifique, CEP : coefficient d'efficacité protéique, VPP : valeur productive de protéines, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les valeurs qui les précèdent.

Cependant, aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a pu être mise en évidence au sein de ces deux groupes pour la survie (Annexe 6). Des résultats similaires sont observés pour le taux de croissance spécifique. Le poids moyen final le plus élevé (7,3 g) est noté chez les alevins nourris avec un régime à 60 % de taux de protéines, tandis que les poissons nourris avec le régime à 20 % n'ont atteint que 3 g en fin d'élevage (Tableau 3.18). Indépendamment du niveau de protéines du régime alimentaire, une dominance s'est rapidement développée dans tous les bacs. Les poissons dominants sont territoriaux et ont le privilège d'accéder prioritairement à la nourriture. Ce qui s'est traduit par une hétérogénéité de tailles très marquée dans chaque lot, et particulièrement dans les groupes nourris avec un régime à faible taux de protéines.

En effet, le coefficient de variation du poids moyen final (Ecartype  $\times$  100 / moyenne) est de 20 % chez les poissons nourris à 20 % protéines et de 8,3 % chez ceux nourris à 60 % protéines (Tableau 3.18). L'analyse statistique des résultats par ANOVA 1 a indiqué que le taux de protéines brutes du régime a un effet significatif sur les paramètres de croissance (Annexe 6). Le taux de croissance spécifique a augmenté avec le niveau de protéines (0 à 60 %) du régime alimentaire suivant une courbe polynomiale de second degré (Figure 3.19a). Le modèle de Brett (1979) appliqué à cette courbe polynomiale, a indiqué que les besoins en protéines brutes maximum, optimum et d'entretien de la jeune perche de 3 g sont respectivement 56,5, 43,6 et 20,6 % (Figure 3.19a). En utilisant le modèle de Mercer (1982) pour caractériser la relation entre le taux de croissance spécifique et le niveau de protéines brutes alimentaires, on a observé que le niveau de protéines le plus efficace (optimum) était de 36,8 %, celui d'entretien était de 20,4 % et le niveau à partir duquel, l'organisme des poissons devient très sensible à toute addition de protéines était de 24,9 % (Figure 3.19b). Par ailleurs, lorsqu'on a utilisé la méthode de ligne brisée 'broken ligne method' (Robbins *et al.*, 1979) pour modéliser le taux de croissance spécifique en fonction du niveau de protéines, le besoin optimum de protéines brutes pour ces alevins de perche fluviatile était de 43,1 % (Figure 3.19c). Ces résultats sont confirmés par les variations du coefficient d'efficacité protéique et de la valeur productive de protéines qui ont leurs valeurs maximales entre 40 et 50 % de protéines (Figure 3.20). Les pertes de protéines endogènes calculées chez les poissons nourris avec le régime sans protéines étaient de 1,11 mg par poisson par jour à 23°C.



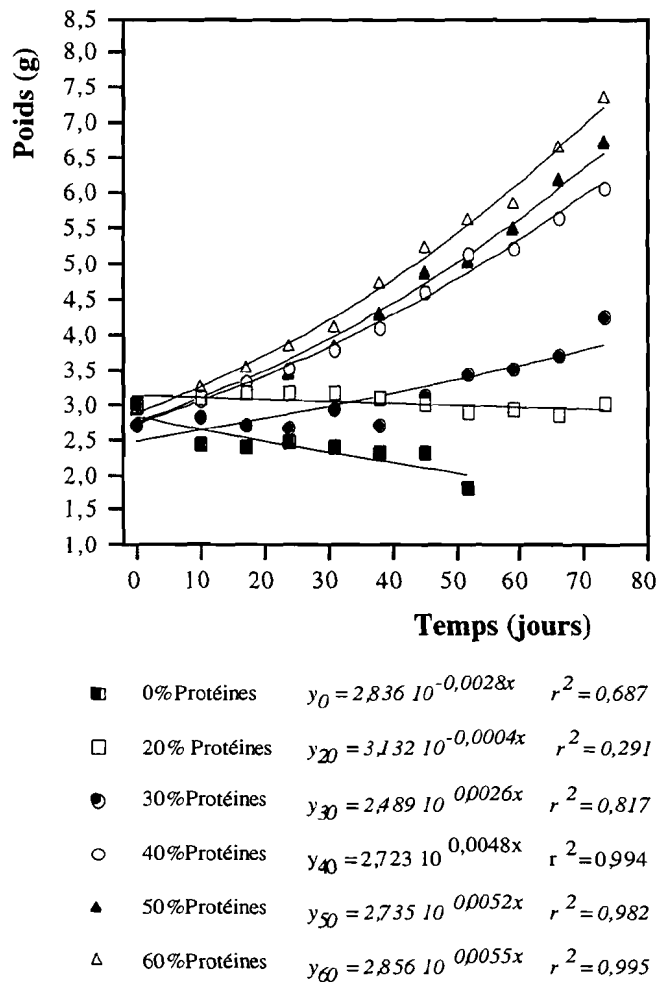


Figure 3.18. Evolution du poids des alevins de la perche fluviatile de 3 g nourris avec des aliments à différents niveaux de protéines.

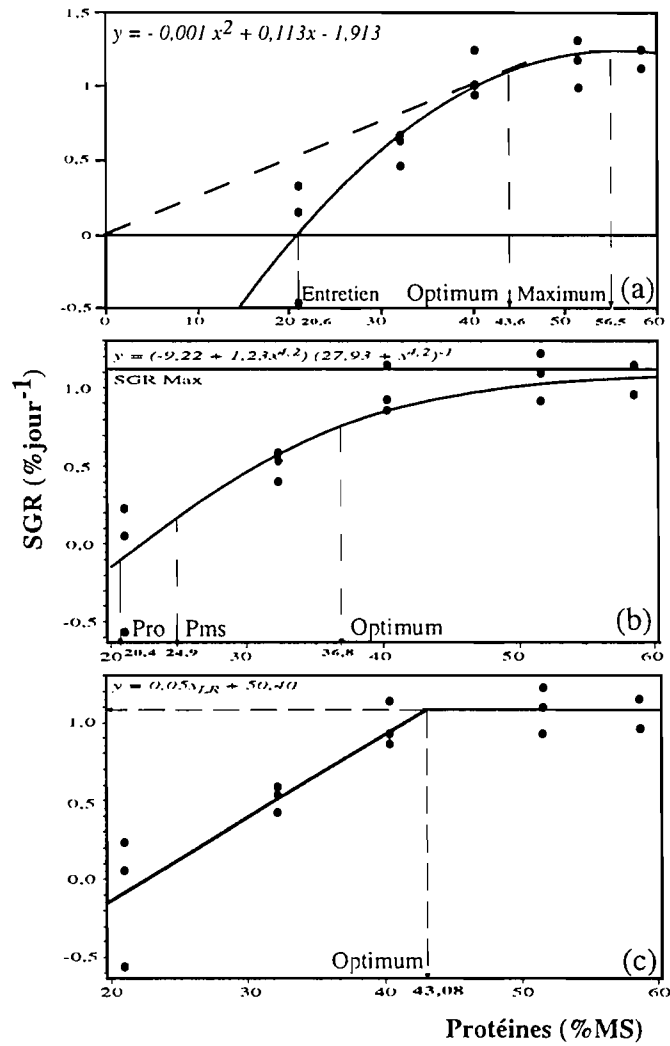


Figure 3.19. Variation de la croissance spécifique de la perche fluviatile de 3 g en fonction du niveau de protéines de son régime alimentaire, suivant le modèle de Brett (a), le modèle de Mercer (b) et le modèle de la ligne brisée (c), Pro : besoin d'entretien, Pms : taux de protéines pour une pente maximale,  $X_{LR}$  : tout X inférieur à R.

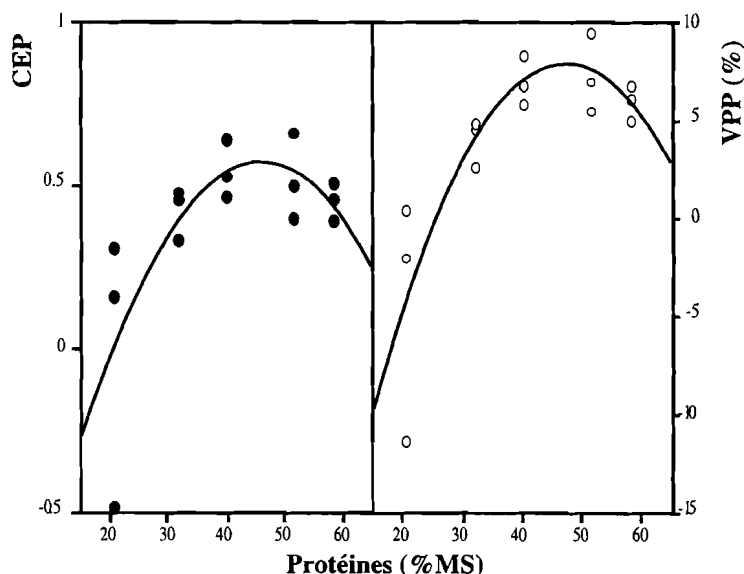


Figure 3.20. Variations du coefficient d'efficacité protéique (CEP) et de la valeur productive de protéines (VPP) chez les alevins de la perche fluviatile de 3 g nourris avec des aliments à différents niveaux de protéines.

#### 3.2.2.2.2. Pour les alevins de 16 g

Tout comme pour les alevins de 3 g, le niveau de protéines du régime alimentaire a un effet significatif ( $p < 0,05$ ) sur la survie et la croissance des alevins de 16 g de poids moyen (Tableau 3.19). Cependant, la survie est en général très satisfaisante ici (92,3 à 97,8 %). Il n'y a pas de dominance, ni d'agressivité au sein des bacs d'élevage. Le cannibalisme est à cet effet nul dans tous les lots et s'est traduit par une faible hétérogénéité de poids des poissons traités. Le poids et le taux de croissance spécifique des poissons nourris augmentent avec le niveau de protéines de leur régime (Figures 3.21 et 3.22). On note une amélioration croissante dans l'utilisation de l'aliment et de ses nutriments suivant le niveau de protéines qu'il contient. Le taux de conversion alimentaire varie par exemple de 11,5 pour 31 % de protéines à 2,84 pour 45 % de teneur en protéines. Le coefficient d'efficacité protéique et la valeur productive des protéines ont cette même tendance à l'amélioration croissante avec le niveau de protéines (Tableau 3.19 et Figure 3.23). Nous n'avons cependant pas pu montrer qu'il existe une différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les régimes 40 et 45 % pour l'ensemble des paramètres zootechniques (Tableau 3.19).

Tableau 3.19. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (16 g) soumis à différents niveaux de protéines alimentaires

Paramètres	Niveaux de protéines brutes (% matière sèche)					
	20	25	30	35	40	45
Sr = St (%)	92,6±1,0 <sup>ab</sup>	92,3±3,4 <sup>ab</sup>	95,4±3,0 <sup>abc</sup>	95,8±1,8 <sup>abc</sup>	97,9±2,1 <sup>c</sup>	97,5±1,6 <sup>bc</sup>
Bi (kg)	1,50±0,02 <sup>a</sup>	1,53±0,03 <sup>a</sup>	1,52±0,05 <sup>a</sup>	1,52±0,02 <sup>a</sup>	1,51±0,04 <sup>a</sup>	1,53±0,02 <sup>a</sup>
Bf (kg)	1,35±0,04 <sup>a</sup>	1,55±0,14 <sup>b</sup>	1,63±0,09 <sup>bc</sup>	1,73±0,11 <sup>bcd</sup>	1,86±0,08 <sup>cd</sup>	1,90±0,06 <sup>d</sup>
TC	-	-	11,51±6,17 <sup>a</sup>	6,09±4,43 <sup>ab</sup>	3,05±1,13 <sup>ab</sup>	2,84±0,78 <sup>ab</sup>
Pi (g)	15,82±0,21 <sup>a</sup>	16,13±0,30 <sup>a</sup>	16,06±0,53 <sup>a</sup>	15,98±0,26 <sup>a</sup>	15,93±0,46 <sup>a</sup>	16,10±0,23 <sup>a</sup>
Pf (g)	15,74±0,29 <sup>a</sup>	17,71±1,04 <sup>b</sup>	17,94±0,49 <sup>bc</sup>	19,02±0,9 <sup>bcd</sup>	19,99±1,22 <sup>cd</sup>	20,49±0,86 <sup>d</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	-0,01±0,05 <sup>a</sup>	0,14±0,09 <sup>b</sup>	0,17±0,02 <sup>bc</sup>	0,27±0,08 <sup>bc</sup>	0,35±0,13 <sup>c</sup>	0,37±0,08 <sup>c</sup>
CEP	-	-	0,25±0,07 <sup>a</sup>	0,53±0,33 <sup>ab</sup>	0,75±0,14 <sup>b</sup>	0,75±0,15 <sup>b</sup>
VPP (%)	-	-	5,00±2,77 <sup>a</sup>	6,60±4,62 <sup>a</sup>	13,09±6,36 <sup>a</sup>	11,78±3,58 <sup>a</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, TC : taux de conversion alimentaire, Pi : poids initial, Pf : poids final, SGR : taux de croissance spécifique, CEP : coefficient d'efficacité protéique, VPP : valeur productive de protéines, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a de différence significative (p<0,05) entre les valeurs qui les précèdent.

Le modèle de Brett (1979) appliqué au taux de croissance spécifique a montré que les besoins en protéines maximums, optimums et d'entretien des alevins de perche fluviatile de 16 g de poids moyen sont respectivement de 56, 42 et 20 % de la matière sèche de l'aliment (Figure 3.22a). Lorsque le taux de croissance spécifique en fonction de la teneur de protéines de l'aliment est modulé suivant la méthode de Mercer (1982), le niveau de protéines alimentaires le plus efficient (optimum) pour les performances zootechniques des alevins de perche de 16 g est de 39,6 %. Le besoin en protéines pour l'entretien (Pro) de ces mêmes alevins est indiqué à 19,8 %. D'après ce modèle, le niveau à partir duquel toute augmentation de protéines dans l'aliment des alevins de cette taille se traduit par une croissance proportionnelle (Pms) est de 22,9 % (Figure 3.22b). Le besoin optimum en protéines obtenu avec la méthode de ligne brisée (39,4 % Figure 3.22c) est très proche de celui indiqué par le modèle de Mercer.

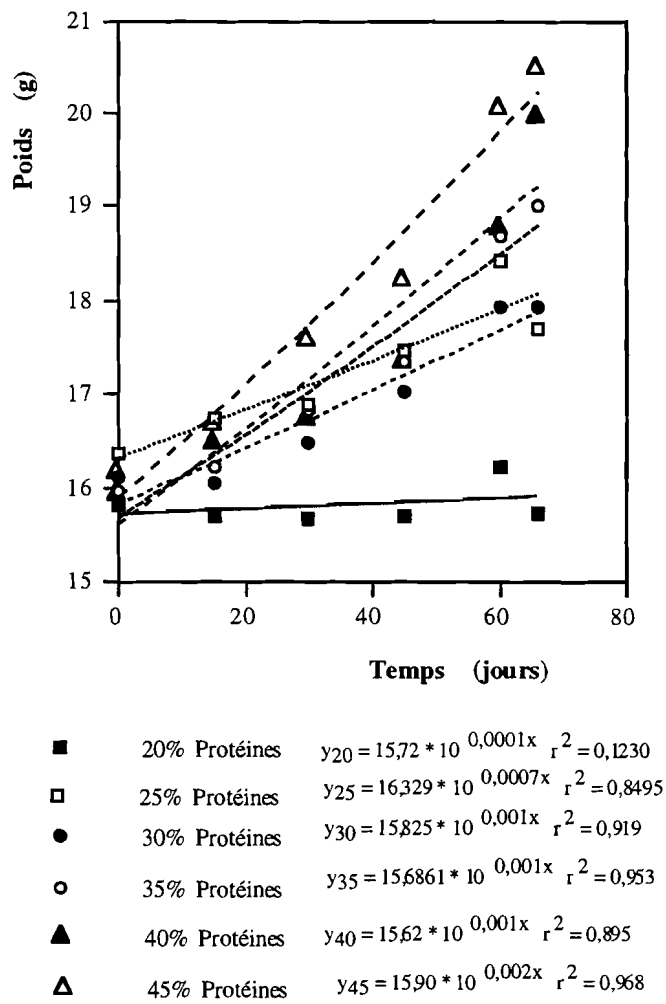


Figure 3.21. Evolution du poids des alevins de la perche fluviatile de 16 g nourris avec des aliments à différents niveaux de protéines.

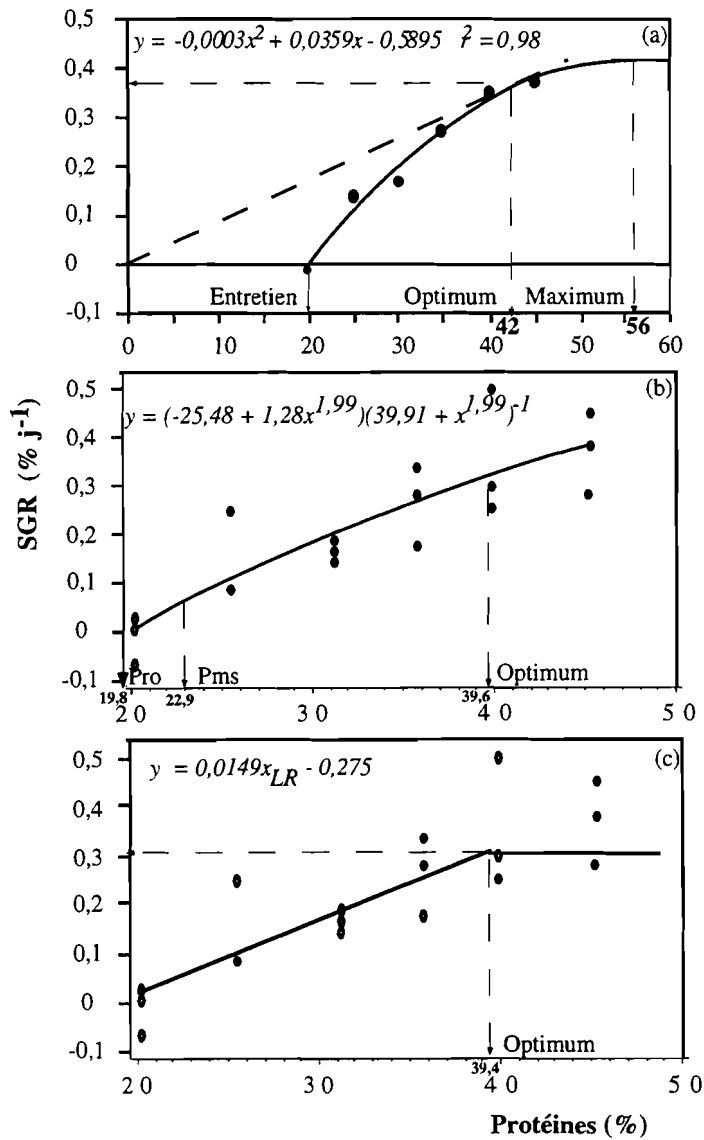


Figure 3.22. Variation de la croissance spécifique de la perche fluviatile de 16 g en fonction du niveau de protéines de son régime alimentaire, suivant le modèle de Brett (a), le modèle de Mercer (b) et le modèle de la ligne brisée (c), Pro : besoin d'entretien, Pms : taux de protéines pour une pente maximale,  $X_{LR}$  : tout X inférieur à R.

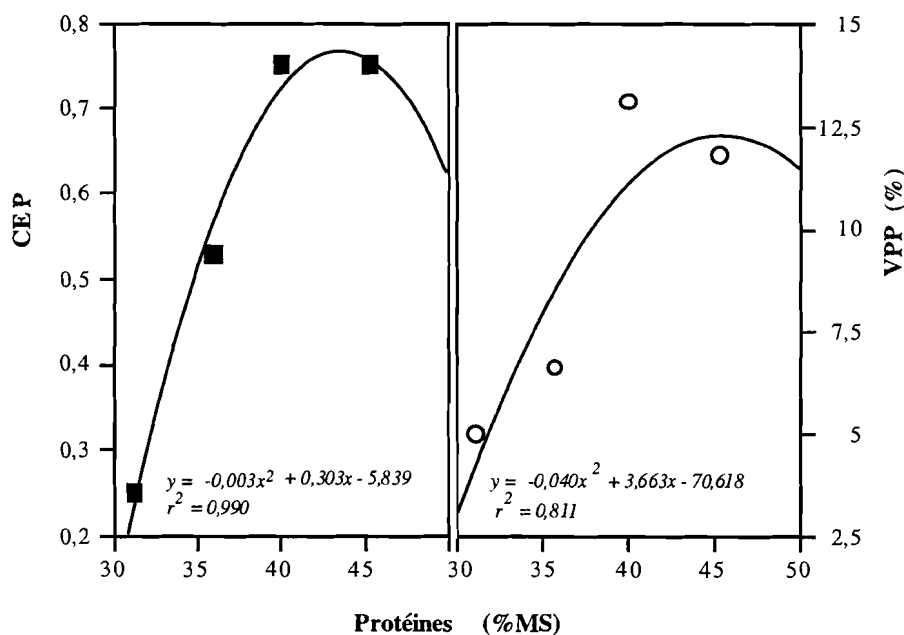


Figure 3.23. Variations du coefficient d'efficacité protéique et de la valeur productive de protéines chez les alevins de la perche fluviatile de 16 g nourris avec des aliments à différents niveaux de protéines

### 3.2.2.2.3. Pour les alevins de 0,3 g

Les performances zootechniques de la perche fluviatile au stade 0,3 g de poids moyen sous régimes à différents niveaux de protéines (Tableau 3.16) sont présentées dans le tableau 3.20.

Remarquons que les survies sont en général bonnes (66,4-83,6 %) et significativement différentes ( $p < 0,05$ ) pour l'ensemble des régimes. Elles semblent cependant indépendantes du niveau de protéines du régime alimentaire. Ainsi, nous n'avons pas pu montrer par exemple qu'il existe de différences significatives (95 % de confiance) entre les taux de survie des alevins soumis aux régimes 35, 45, 55 et 60 % de protéines. Par ailleurs aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les différents régimes pour les paramètres : cannibalisme, poids final et taux de croissance spécifique. Les taux de conversion alimentaire sont en général faibles avec le meilleur (1,6) au niveau de l'aliment à 50 % de protéines. Le meilleur coefficient d'efficacité protéique et la meilleure valeur productive de protéines alimentaires sont notés au niveau de l'aliment qui a le plus faible taux de protéines.

Tableau 3.20. Paramètres zootechniques des alevins de perche fluviatile (0,3 g) soumis à différents niveaux de protéines alimentaires

Paramètres	Niveaux de protéines brutes (% matière sèche)					
	35	40	45	50	55	60
Sr (%)	81,3±3,2 <sup>ab</sup>	66,41±7,4 <sup>b</sup>	75,4±1,1 <sup>ab</sup>	83,6±2,1 <sup>a</sup>	70,9±5,3 <sup>ab</sup>	66,42±11,6 <sup>ab</sup>
St (%)	83,6±2,1 <sup>ab</sup>	76,1±2,1 <sup>bc</sup>	77,6±0,0 <sup>ab</sup>	87,3±1,1 <sup>a</sup>	74,6±2,1 <sup>bc</sup>	70,9±5,3 <sup>c</sup>
Can. (%)	2,2±1,1 <sup>a</sup>	9,7±9,1 <sup>a</sup>	2,2±1,1 <sup>a</sup>	3,7±1,1 <sup>a</sup>	3,7±3,2 <sup>a</sup>	4,5±6,3 <sup>a</sup>
Bi (g)	19,4±1,3 <sup>a</sup>	19,7±2,4 <sup>a</sup>	19,7±2,1 <sup>a</sup>	19,7±3,5 <sup>a</sup>	20,1±1,3 <sup>a</sup>	18,7±1,0 <sup>a</sup>
Bf (g)	40,6±0,3 <sup>a</sup>	35,6±4,9 <sup>a</sup>	43,8±1,5 <sup>ab</sup>	54,3±6,4 <sup>b</sup>	43,0±3,9 <sup>ab</sup>	37,2±1,8 <sup>a</sup>
TC	2,04±0,16 <sup>a</sup>	2,79±0,15 <sup>b</sup>	2,13±0,25 <sup>a</sup>	1,60±0,26 <sup>c</sup>	2,27±0,08 <sup>ab</sup>	2,42±0,02 <sup>ab</sup>
Pi (g)	0,29±0,02 <sup>a</sup>	0,29±0,04 <sup>a</sup>	0,29±0,03 <sup>a</sup>	0,29±0,00 <sup>a</sup>	0,30±0,002 <sup>a</sup>	0,28±0,01 <sup>a</sup>
Pf (g)	0,74±0,03 <sup>a</sup>	0,80±0,02 <sup>a</sup>	0,87±0,04 <sup>a</sup>	0,97±0,09 <sup>a</sup>	0,91±0,15 <sup>a</sup>	0,85±0,11 <sup>a</sup>
SGR (%j <sup>-1</sup> )	4,73±0,58 <sup>a</sup>	4,99±0,48 <sup>a</sup>	5,44±0,29 <sup>a</sup>	5,96±0,46 <sup>a</sup>	5,53±0,50 <sup>a</sup>	5,54±0,90 <sup>a</sup>
CEP	1,37±0,10 <sup>a</sup>	0,90±0,05 <sup>bdc</sup>	1,04±0,12 <sup>abc</sup>	1,23±0,20 <sup>ab</sup>	0,80±0,03 <sup>cd</sup>	0,67±0,00 <sup>d</sup>
VPP (%)	20,70±1,26 <sup>a</sup>	14,35±0,99 <sup>bc</sup>	17,04±1,90 <sup>ab</sup>	20,44±3,04 <sup>a</sup>	12,03±0,31 <sup>c</sup>	11,94±0,43 <sup>c</sup>

Sr : survie réelle, St : survie théorique, Can. : cannibalisme, Bi : biomasse initiale, Bf : biomasse finale, TC : taux de conversion alimentaire, Pi : poids initial, Pf : poids final, SGR : taux de croissance spécifique, CEP : coefficient d'efficacité protéique, VPP : valeur productive de protéines, différentes lettres a, b, c, d, e, f sur une même ligne impliquent qu'il y a de différence significative (p<0,05) entre les valeurs qui les précèdent.

Les variations dans le temps du poids des alevins de 0,3 g élevés avec les différents régimes sont représentées par la figure 3.24. Des relations exponentielles ont pu être utilisées pour caractériser les variations des poids moyens par traitement en fonction du temps. Cette similarité dans l'évolution des poids des alevins des différents groupes de traitement est en conformité avec les résultats du tableau 3.20.



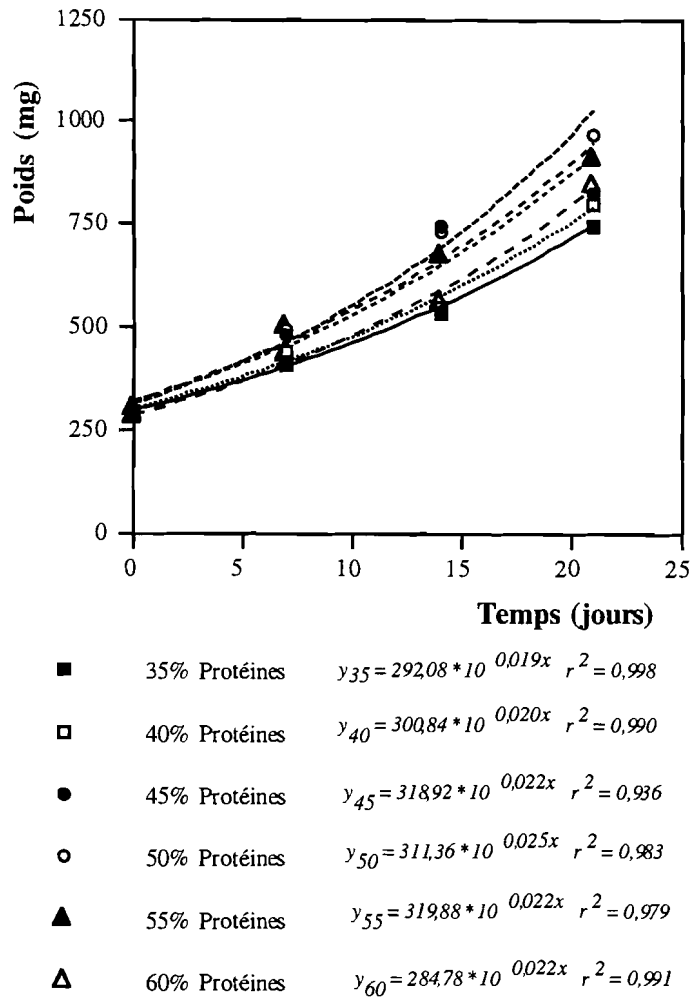


Figure 3.24. Evolution du poids des alevins de 0,3 g de la perche fluviatile nourris avec des aliments à différents niveaux de protéines.

La variation de la croissance spécifique des jeunes alevins en fonction du niveau de protéines du régime alimentaire a été modulée suivant le modèle de cinétique de saturation de Morgan *et al.* (1975) et Mercer (1982) et suivant la méthode de la ligne brisée de Robbin *et al.* (1979). Ces modulations ont permis d'estimer respectivement à 48,5 et 49,4 % de matière sèche de l'aliment, les besoins en protéines de la perche à ce stade (Figure 3.25).

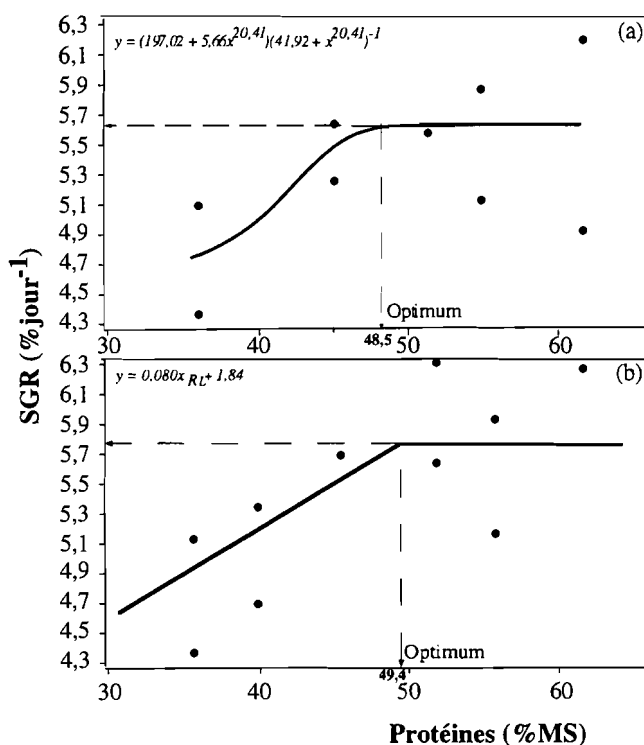


Figure 3.25. Variation de la croissance spécifique de la perche fluviatile de 0,3 g en fonction du niveau de protéines de son régime alimentaire, suivant le modèle de Brett (a) et suivant le modèle de la ligne brisée (b),  $X_{LR}$  : tout X inférieur à R.

### 3.2.2.3. Discussion

Ce travail constitue la première étude de nutrition de la perche fluviatile en condition contrôlée, même si des études nutritionnelles récentes ont été rapportées chez la perchaude (Brown *et al.*, 1995). A cet effet, très peu d'informations sont disponibles pour servir de guide dans la formulation d'aliments pouvant couvrir effectivement ses besoins nutritionnels. Comme l'a d'ailleurs rapporté Brown *et al.* (1995), les aliments artificiels utilisés jusqu'ici dans les études nutritionnelles de la perchaude sont composés à partir des modifications apportées aux formules alimentaires de la truite ou du saumon. Une étude préliminaire effectuée sur cette base a estimé les besoins en protéines de la perchaude à 26-28 % de son régime alimentaire (Garling, résultats non publiés, in Brown *et al.*, 1995). Ces niveaux de protéines alimentaires excessivement bas et même inférieurs à ceux des poissons non carnivores (30-38 % pour la carpe commune et 30-35 % pour le tilapia *O. niloticus* (Watanabe, 1988)), apparaissent à

priori très intéressants, mais sont assez douteux. Les résultats de la présente étude indiquent des besoins plus élevés en protéines alimentaires chez la perche fluviatile, avec des valeurs assez similaires de celles rapportées chez les autres poissons carnivores.

Bien que la croissance ait augmenté en général avec le niveau de protéines du régime alimentaire pour les trois stades testés, les tests de comparaisons multiples de Newman et Keuls n'ont pas indiqué une différence entre les niveaux de protéines testés chez les alevins de 0,3 g. De la même manière, ces tests n'ont pas montré une différence de croissance entre les poissons de 3 g traités avec les régimes contenant 40 à 60 % protéines (soit 40,1-58,4 % de taux réels) et ceux de 16 g soumis à des régimes contenant 35 à 45 % protéines (soit 35,8-45,3 % de taux réels). De cette analyse préliminaire des résultats, il était apparu que les besoins en protéines de la perche fluviatile au cours de son développement devraient se situer dans la gamme de 35 à 60 % de son régime alimentaire. Cependant, vu la valeur des protéines dans le coût de l'aliment pour poisson (plus de 50 %), des analyses beaucoup plus approfondies des résultats de croissance ont été effectuées à l'aide de méthodes mathématiques. Malgré une alimentation en excès (supérieure à la ration optimale) conformément aux recommandations de EIFAC (1993), avec une fréquence de distribution élevée (une fois par heure), des comportements territoriaux et de dominances se sont développés parmi les poissons expérimentaux. Ces comportements ont entraîné une hétérogénéité au sein des différents groupes de poissons nourris, de même que le cannibalisme qui était assez élevé dans les populations de poissons de 0,3 et 3 g. Mis à part quelques individus qui ont eu leur nageoire caudale coupée, probablement à cause d'une agressivité ou d'une nécrose, il n'y a pas eu de disparition liée au cannibalisme dans les groupes de 16 g de poids initial. Les comportements territoriaux observés lors de ces expériences seraient probablement dus aux faibles densités de mise en charge, comme l'ont constaté Mélard *et al* (1995) à l'issue d'une évaluation de l'effet de la densité de peuplement de la perche sur son comportement d'agressivité. Des comportements similaires étaient rapportés chez d'autres espèces élevées à faibles densités tel que le saumon *Salvelinus fontinalis* M.(Vijayan et Leatherland, 1988).

Les premières formulations d'aliments expérimentaux semi purifiés étaient celles destinées à la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 3 g (Tableau 3.14). Les variations du taux de protéines de ces aliments étaient basées sur des niveaux croissants de caséines. Cependant, des études nutritionnelles ont démontré chez la perchaude que la caséine seule représente une source de protéines de qualité inférieure à celle de caséine supplémentée avec de l'arginine cristalline ou d'aliment contenant uniquement des acides aminés cristallins (Cowey, 1993; Brown *et al.*, 1995). Ces informations nous ont amené à modifier la source de protéines des formules alimentaires pour les expériences concernant la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 16 et 0,3 g de poids moyens (Tableaux 3.15 et 3.16). Ainsi, la gélatine qui est très riche

en arginine et pauvre en tous les autres acides aminés a été mélangée à la caséine pour améliorer sa qualité nutritionnelle. La levure en tant que source de protéines unicellulaires riches en vitamines du groupe B (vitamines de croissance) et la farine de morue purifiée ont été ajoutées pour réaliser un mélange parfait de qualité supposée excellente pour répondre aux exigences de EIFAC (1993) vis-à-vis des études de besoins en protéines chez les poissons.

D'après les modèles mathématiques utilisés (Brett, 1979; Mercer, 1982 et Robbins et al., 1979) pour déterminer les besoins en protéines chez les trois stades d'alevins de perche fluviatile étudiés, le niveau optimal de protéines brutes du régime alimentaire qui produit une croissance maximale aux alevins de 0,3, 3 et 16 g est compris respectivement entre 48,5 et 49,4 %, 36,8 et 43,6 %, 39,4 et 42 % de matière sèche. Ce qui correspond à un rapport protéines sur énergie compris respectivement entre 24,01-24,45 g.MJ<sup>-1</sup>, 18,13-21,48 g.MJ<sup>-1</sup>, 19,50-20,79 g.MJ<sup>-1</sup>. Ces résultats sont assez proches de ceux rapportés chez d'autres poissons carnivores tels que les juvéniles du saumon atlantique (44 %, Austreng, 1977), les juvéniles de la truite arc-en-ciel (40-45 %, Zeitoun *et al.*, 1976; Wilson, 1989) ou les larves de truite fario (48-53 %, Arzel *et al.*, 1995) et les alevins du bar hybride (36-40 %, Brown *et al.*, 1992).

Le mérite de l'usage des modèles mathématiques dans l'appréciation des résultats expérimentaux réside dans leur précision d'analyse statistique et prédictive et leur habileté à suggérer d'autres approches expérimentales (Mercer, 1982). D'un point de vue biologique, le modèle cinétique de saturation de Mercer (1982) et celui de Brett *et al.* (1969) apparaissent les plus appropriés. Toutefois, le modèle à 4 paramètres de Mercer (1982) apportent une information complémentaire très intéressante. Il précise le niveau de protéines à partir duquel l'organisme devient sensible à toute augmentation de protéines ingérées (niveau de protéines pour une pente maximale).

Dans le souci de maintenir les aliments expérimentaux au même niveau énergétique, les concentrations en huiles ont été augmentées dans les aliments à faible taux de protéines, atteignant 11 à 22 % dans les aliments contenant 35 à 0 % de protéines. Cependant, des études récentes ont tendance à prouver chez le bar hybride (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) que les taux de lipides alimentaires supérieurs à 8 % réduisent la croissance (Nematipour *et al.*, 1992). Cet effet dépressif potentiel des lipides mérite d'être investigué ultérieurement chez la perche fluviatile, car il est connu que l'excès de lipides peut réduire la consommation d'aliment ou l'utilisation d'autres composantes alimentaires (Lovell, 1979; Watanabe, 1988). L'utilisation de cellulose comme substituant indigeste des protéines, à la place des lipides maintenus à taux constant, pourrait probablement permettre d'éviter cet effet dépressif. Les aliments contenant 20 à 30 % de protéines brutes ont entraîné de faibles croissances chez les alevins de perche fluviatile (Figures 3.18 et 3.19), probablement à cause du fait que l'essentiel des protéines aurait été utilisé pour l'entretien, les rendant ainsi non disponibles pour la croissance.

Les rapports protéines brutes sur énergie brute recommandés dans la présente étude soit : 24-24,5 g.MJ<sup>-1</sup> ou 3,8-3,9 g N MJ<sup>-1</sup> pour les alevins de 0,3 g, 18-21,5 g.MJ<sup>-1</sup> ou 2,9-3,5 g N MJ<sup>-1</sup> pour les alevins de 3 g et 19,5-20,8 g.MJ<sup>-1</sup> ou 3 g N MJ<sup>-1</sup> pour ceux de 16 g sont en parfaite adéquation avec ceux rapportés chez le saumon atlantique (3,4 g N MJ<sup>-1</sup>, Austreng, 1976; Austreng et Storebakken, 1984), la truite arc-en-ciel (2,4-5,1 g N MJ<sup>-1</sup>, Lee et Putnam, 1973; Takeuchi *et al.*, 1978) et le poisson chat américain *I. punctatus* (3,2-3,7 g N MJ<sup>-1</sup>, Garling et Wilson, 1976). Ils sont légèrement supérieurs à celui recommandé chez la carpe commune (2,8-3,2 g N MJ<sup>-1</sup>, Watanabe *et al.*, 1987, Takeuchi *et al.*, 1989), mais inférieurs à ceux recommandés chez le poisson chat africain *C. gariepinus* (3,7-5,8 g N MJ<sup>-1</sup>, Machiels et Henken, 1985, Degani *et al.*, 1989) et le poisson chat bleu *Ictalurus furcatus* (5,3 g N MJ<sup>-1</sup>, Webster *et al.*, 1995). Les coefficients d'efficacité protéique (CEP) et les valeurs productives de protéines (VPP) sont en général faibles pour toutes les trois expériences (Tableaux 3.18, 3.19, 3.20), probablement à cause d'une alimentation en excès conformément aux recommandations faites pour les études d'évaluation des besoins en protéines chez le poisson (EIFAC, 1993). Bien que les valeurs de CEP et de VPP soient en conformité avec les besoins en protéines déterminés à partir des taux de croissance spécifique, elles pourraient être améliorées par une réduction du niveau d'alimentation.

### 3.2.3. Effets du niveau de protéines de l'aliment sur sa digestibilité chez la perche fluviatile

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de la teneur en protéines de l'aliment sur sa digestibilité et celle de ses protéines. Etant donné le rôle fondamental que joue la digestibilité de l'aliment sur les performances de croissance des poissons nourris, cette étude était apparue nécessaire pour vérifier si la digestibilité de nos aliments expérimentaux varie d'un niveau de protéines à un autre. La méthode utilisée est celle de Furukawa et Tsukahara (1966) et Watanabe (1988) basée sur le marquage des aliments expérimentaux à l'oxyde de chrome.

#### 3.2.3.1. Matériel et méthodes

##### 3.2.3.1.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé pour la conduite des tests est un circuit fermé composé de 6 bacs de forme circulaire à fond conique avec une capacité en eau de 30 litres. Les 6 bacs sont soutenus par un support en fer de 3 mètres de long, 0,55 mètre de large et de 1,35 mètre de hauteur. Chaque bac est équipé de tuyaux d'alimentation, d'évacuation et de contrôle du niveau d'eau. La sortie des bacs est protégée par un grillage qui empêche la sortie des poissons. Une vanne permet la vidange ou la collecte des fèces. Le circuit est alimenté par l'eau de ville préaérée dans un bac rectangulaire (0,75 x 0,5 x 0,5) qui sert de stockage et de décantation de l'eau usée. Une pompe rotative (EHEIM 1032) d'un débit maximum de 3,1 l / mn assure en continu la circulation de l'eau entre le grand bac et les bacs circulaires. L'oxygénation des bacs d'élevage est assurée par une pompe à air.

##### 3.2.3.1.2. Les poissons expérimentaux

Trois classes d'alevins de perche fluviatile (0,3 g, 3 g et 16 g) de source identique à ceux qui ont servi à l'étude de détermination des besoins en protéines ont été triées et réparties au hasard dans les bacs d'élevage. Les stades ont été choisis pour être en relation avec les résultats des tests effectués pour la détermination des besoins en protéines.

##### 3.2.3.1.3. Les aliments expérimentaux

Les aliments expérimentaux sont identiques à ceux utilisés pour la détermination des besoins en protéines dans lesquels nous avons incorporé 0,5 % d'oxyde de chrome. Ces aliments en granulés ont été réduits d'abord en poudre comme l'oxyde de chrome, afin de permettre un mé-

lange homogène avec ce dernier. Les mélanges homogènes aliment-oxyde de chrome sont humidifiés et soigneusement malaxés pour réaliser des pâtes assez tendres. Les pâtes obtenues ont été séchées à température ambiante (20-25°C) jusqu'au séchage complet (2 à 3 jours). Elles ont été ensuite concassées, écrasées et tamisées en différentes granulométries désirées.

En raison du nombre limité de bacs, trois niveaux de protéines ont été retenus pour les études. Il s'agit de 20, 42,5 et 60 % de protéines pour les alevins de 3 et 16 g et de 35, 42,5 et 60 % de protéines pour les alevins de 0,3 g

#### 3.2.3.1.4. Conduite de l'expérience

Pour chaque test, une journée de jeûne et trois jours d'habituations des poissons aux aliments expérimentaux ont été observés, ces poissons étant déjà sevrés à un aliment sec (Seabream). La quantité d'aliment distribuée par jour et par bac a été calculée en fonction de la biomasse de poisson, à raison de 2 % de la biomasse pour les poissons de 16 g, 5 % pour les poissons de 3 g et 10 % pour les poissons de 0,3 g. Les aliments ont été distribués manuellement trois fois par jour : entre 9 - 10 h, 17 - 18 h et 21 h - 22 h. A la fin de chaque distribution, une attente d'environ 5 minutes a été nécessaire pour permettre la sédimentation de l'aliment non consommé qui est retiré des bacs par ouverture de la vanne du fond.

La collecte des fèces a systématiquement précédé le nourrissage. Tout comme pour la distribution des aliments, trois collectes de fèces ont été effectuées par jour (8 h - 9 h, 16 h - 17 h et 20 h - 21 h). Lors de chaque opération de collecte, la vanne d'alimentation en eau est fermée 5 minutes durant pour faciliter la décantation des fèces qui sont recueillies dans des pots en ouvrant la vanne du fond. Elles sont ensuite filtrées. Egouttées et séchées, les fèces ont été réduites en poudre et conservées à -20°C pour les analyses biochimiques.

#### 3.2.3.1.5. Dosage de l'oxyde de chrome dans les aliments et les fèces

Bien que le taux théorique d'oxyde de chrome dans les différents régimes ait été déterminé lors de la préparation des aliments, nous avons vérifié ces taux afin d'avoir les taux réels. La procédure de dosage est celle de Watanabe (1988) à savoir :

Une quantité (0,1 à 0,2 g) de l'échantillon à doser (aliment ou fèces) a été pesée dans un erlen meyer de 100 ml à bout allongé; 5 ml d'acide nitrique concentré y ont été ajoutés; le mélange échantillon et acide a été chauffé légèrement pendant 30 mn et laissé refroidir. Après refroidissement, 3 ml d'acide perchlorique à 70 % y ont été ajoutés. Nous avons ensuite procédé à un autre chauffage léger jusqu'à l'obtention d'une fumée blanche suivie d'un virage de la solution au jaune. Le chauffage est

arrêté dix minutes après le virage de la solution. Après refroidissement complet, le liquide est versé dans un ballon jaugé de 100 ml et ramené à volume avec de l'eau distillée. Cette solution est bien homogénéisée et l'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 350 nm.

Avant de faire les mesures pour les différents échantillons, nous avons procédé à l'établissement d'une droite d'étalonnage à partir de l'oxyde de chrome pur. L'équation de cette droite d'étalonnage est la suivante :

$$Y = 0,20999 X - 0,028616 \text{ avec } r^2 = 0,997$$

où Y est l'absorbance lue sur le spectrophotomètre

X est la quantité d'oxyde de chrome (mg)

C'est à partir de l'équation de la droite d'étalonnage que nous avons déterminé le pourcentage d'oxyde de chrome dans les aliments et dans les fèces.

### 3.2.3.1.6. Dosage des protéines dans les aliments et fèces

Les taux de protéines dans les fèces et dans les aliments ont été dosés à l'aide d'un analyseur carbone azote "Carlo Erba NA 1500 Nitrogen / Carbon / Analyzer" dont le principe et la méthode de mesure sont précédemment décrits. Les échantillons ont été préparés en triplicats par bac d'élevage, soit 6 échantillons d'aliment et 6 de fèces par niveau de protéines.

### 3.2.3.1.7. Calcul du taux de digestibilité apparente de l'aliment et des protéines.

Le principe de calcul énoncé par Watanabe (1988) est basé sur la nature indigeste de l'oxyde de chrome lors de son passage à travers le tube digestif. Connaissant le taux d'oxyde de chrome et de protéines dans les aliments ainsi que dans les fèces, la digestibilité apparente de l'aliment (DAA) et celle des protéines (DAP) sont calculées comme suit :

$$\text{(DAA en \%)} = 100 - 100 \times \frac{(\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ dans aliment})}{(\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ dans fèces})}$$

$$\text{DAP (\%)} = 100 - 100 \times \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ dans aliment}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ dans fèces}} \times \frac{\% \text{protéines dans fèces}}{\% \text{protéines dans aliment}}$$



### 3.2.3.1.8. Analyses statistiques

Les résultats de digestibilité d'aliments et de protéines obtenus ont été soumis à une analyse de variance à un critère de classification suivie de test de comparaison multiples de Newman et Keuls (Feytmans, 1991).

### 3.2.3.2. Résultats et discussion

L'ensemble des résultats de dosage de protéines, d'oxyde de chrome et de calculs de digestibilité des aliments et des protéines sont récapitulés dans le tableau 3.21.

Tableau 3.21. Digestibilité de l'aliment ou de ses protéines en fonction de son niveau de protéines et du poids de l'alevin de la perche fluviale

Poids		Niveaux de protéines de l'aliment (% MS)			
		20	35	42,5	60
	Théorique				
	Réel	19,1	35,4	43,0	57,8
0,3 g	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> de l'aliment (%)		0,46±0,00	0,46±0,01	0,48±0,01
	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> des fèces (%)		5,52±0,00	8,72±0,01	5,02±0,2
	Protéines fèces (%MS)		15,2±0,1 <sup>a</sup>	20,7±0,7 <sup>b</sup>	25,7±3,0 <sup>c</sup>
	Digestibilité aliment (%)		90,9±0,1 <sup>a</sup>	94,6±0,1 <sup>a</sup>	90,2±0,4 <sup>a</sup>
	Digestibilité protéines (%)		96,4±0,1 <sup>a</sup>	97,5±0,1 <sup>a</sup>	95,7±0,5 <sup>a</sup>
3 g	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> de l'aliment (%)	0,43±0,02		0,40±0,00	0,46±0,00
	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> des fèces (%)	2,91±0,00		4,25±0,01	5,12±0,01
	Protéines fèces (%MS)	28,7±2,6 <sup>a</sup>		25,8±3,1 <sup>b</sup>	26,6±1,9 <sup>b</sup>
	Digestibilité aliment (%)	83,1±8,0 <sup>a</sup>		90,6±0,5 <sup>b</sup>	91,1±0,4 <sup>b</sup>
	Digestibilité protéines (%)	75,7±2,7 <sup>a</sup>		94,2±0,4 <sup>b</sup>	95,8±0,2 <sup>b</sup>
16 g	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> de l'aliment (%)	0,46±0,01		0,48±0,01	0,49±0,00
	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> des fèces (%)	2,52±0,00		6,00±0,01	5,53±0,02
	Protéines fèces (%MS)	12,6±0,0 <sup>a</sup>		15,0±1,0 <sup>b</sup>	20,9±1,2 <sup>c</sup>
	Digestibilité aliment (%)	81,04±5,1 <sup>a</sup>		92,0±0,6 <sup>b</sup>	91,6±0,4 <sup>b</sup>
	Digestibilité protéines (%)	88,0±0,0 <sup>a</sup>		97,2±0,1 <sup>b</sup>	96,8±0,2 <sup>b</sup>

Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : oxyde de chrome

Les valeurs calculées pour la digestibilité des aliments et de leurs protéines sont en général élevées, allant de 75,7±2,7 à 97,5±0,1. Au niveau des alevins de 0,3 g, aucune différence significative ( $p>0,05$ ) n'a été observée entre les différents aliments concernant leur digestibilité et celle des protéines qu'ils renferment d'après le test de Newman et Keuls. Pour les alevins de 3 et 16 g, les valeurs obtenues pour ces digestibilités au niveau des aliments à 20 % de protéines sont significativement inférieures

à celles obtenues pour les aliments contenant 42,5 et 60 % de protéines. Cette différence pourrait probablement être attribuée à la forte teneur en lipides des aliments à 20 % de protéines (20 % pour celui des alevins de 3 g et 15 % pour les alevins de 16 g). Indépendamment de la taille des alevins, on note une forte corrélation linéaire ( $r^2 = 0,94 - 1,00$ ) entre la digestibilité de l'aliment et celle de leurs protéines (Figure. 3.26).

Une telle corrélation étroite entre digestibilité de l'aliment et digestibilité des protéines de l'aliment a déjà été mise en évidence chez le tilapia hybride *O. niloticus* x *O. aureus* (Viola *et al.*, 1994) et la carpe commune (Hofer, 1982). Pour les trois poids d'alevins de perche fluviatile qui ont fait l'objet d'études de besoins en protéines et de digestibilité des aliments expérimentaux et de leurs protéines, on peut remarquer qu'aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a pu être obtenue entre les aliments à 42,5 et 60 % de protéines pour les valeurs de digestibilité calculées. Cette observation est parfaitement conforme aux résultats de besoins en protéines déterminés pour ces trois poids d'alevins.

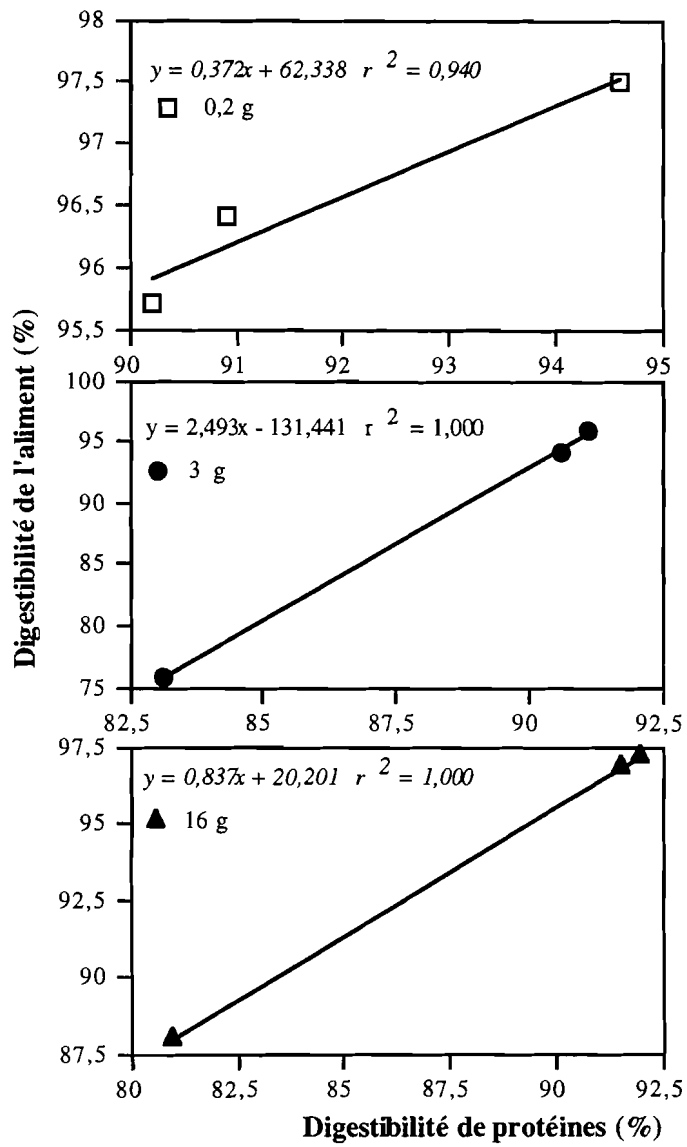


Figure 3.26. Relation possible entre digestibilité des protéines de l'aliment et digestibilité de l'aliment chez les alevins de la perche fluviatile.

### 3.2.4. Evaluation des besoins en acides aminés de la perche

Puisque le but du pisciculteur est de convertir de façon efficace les protéines de l'aliment en protéines corporelles, l'étude de la qualité des protéines de nos aliments expérimentaux a été effectuée à travers une série d'observations. L'essentiel de ces observations se rapportent à :

- effets de la composition en acides aminés de l'aliment sur la qualité protéique de la perche fluviatile produite,
- estimation des besoins en acides aminés de la perche fluviatile.

#### 3.2.4.1. Effets de la composition en acides aminés de l'aliment sur la qualité protéique de la perche fluviatile produite

Cette étude a nécessité une série d'analyses biochimiques d'acides aminés dans des aliments naturels (zooplancton), dans les aliments vivants cultivés au laboratoire (rotifères et nauplii *Artémia*), dans les aliments expérimentaux secs à différents niveaux de protéines utilisés pour l'étude des besoins en protéines chez différents stades d'alevins et dans les poissons nourris (Annexe 8). Elle a permis d'acquérir des informations complémentaires aux études présentées aux chapitres 1.2.2.1., 3.2.2 (performances de croissance de la perche en étang fertilisé et évaluation de ses besoins en protéines). Des approches biochimiques de la nutrition (Freedland et Briggs, 1977; Ng et Hung, 1994; 1995) ont été utilisées pour comparer les compositions en acides aminés des différents aliments et leurs effets sur celles des poissons traités. Les acides aminés limitants ou en excès dans les aliments expérimentaux ont ainsi été mis en évidence à travers les effets comparés des aliments vivants, considérés comme source de protéines de qualité idéale, et ceux des aliments expérimentaux sur la qualité des protéines des poissons produits.

##### 3.2.4.1.1. Dosage des acides aminés

Les acides aminés ont été dosés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), système PICO-TAG Millipore, en phase inverse après dérivation au phénylthiocyanate (PITC). En effet, en milieu alcalin, le PITC réagit avec tous les acides aminés primaires et secondaires pour donner des dérivés phénylthiocarbamyls (PTC). Ceux-ci peuvent être détectés en U.V. à 269 nm après séparation en phase inverse dans une colonne en  $C_{18}$  de 30 cm. Les acides aminés contenus dans les échantillons biologiques (aliments et poissons) sont libérés par hydrolyse acide (HCl 6N, 0,5 phénol, 115 °C pendant 22 heures) et dosés à l'échelle de la picomole en référence à des acides aminés standards (Asthephen et Wheat, 1993).

### 3.2.4.1.2. Résultats

Les compositions en acides aminés des différents échantillons analysés sont présentés par catégories, allant de celles des aliments à celles du corps entier des poissons nourris (Figure 3.27 à Figure 3.36 et Annexe 8). Nous avons présenté respectivement la qualité protéique des aliments et celle des poissons nourris.

#### 3.2.4.1.2.1. Aliments vivants

Ainsi, les résultats des figures 3.27 et 3.28 et de l'annexe 8.1 indiquent que les protéines des copépodes sont plus riches en arginine (ARG), en acide aspartique (ASP) et en acide glutamique (GLU) et plus pauvres en cystéine (CYS) que celles des autres aliments vivants. Les protéines des cladocères sont particulièrement concentrées en proline (PRO) et en histidine (HIS), mais déficientes en cystéines. Les protéines des nauplii d'*Artemia* et des rotifères apparaissent bien équilibrées en tous les acides aminés, avec une teneur totale en acides aminés essentiels plus élevée que celle des acides aminés non essentiels. Les protéines des nauplii d'*Artemia* ont une teneur particulièrement élevée en méthionine et en leucine (LEU).

Le rapport, (somme des acides aminés essentiels / somme des acides aminés non essentiels) (Annexe 8.1) est plus élevé chez les nauplii d'*Artemia* (1,45), suivi des rotifères (1,24), puis les copépodes (0,98) et enfin les cladocères (0,93).

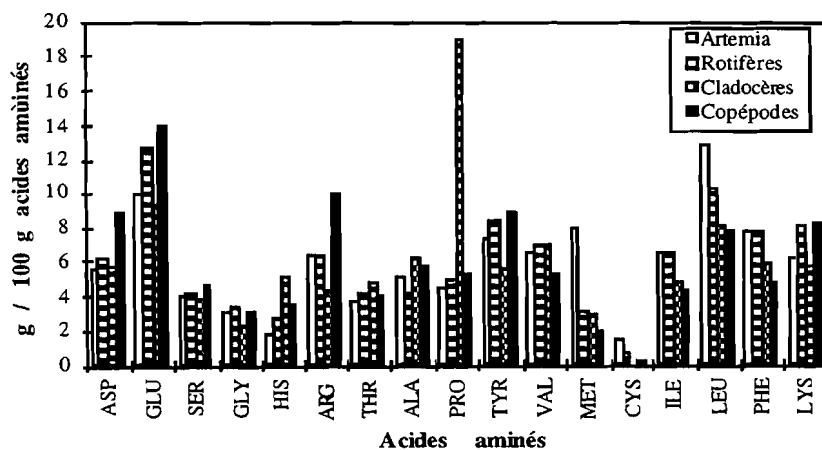


Figure 3.27. Composition en acides aminés (g / 100g d'acides aminés) de quelques aliments vivants de référence (*Artemia* et Rotifères, *Brachionus calyciflorus* ont été cultivés au laboratoire; Cladocères et Copépodes sont récoltés dans l'étang fertilisé).

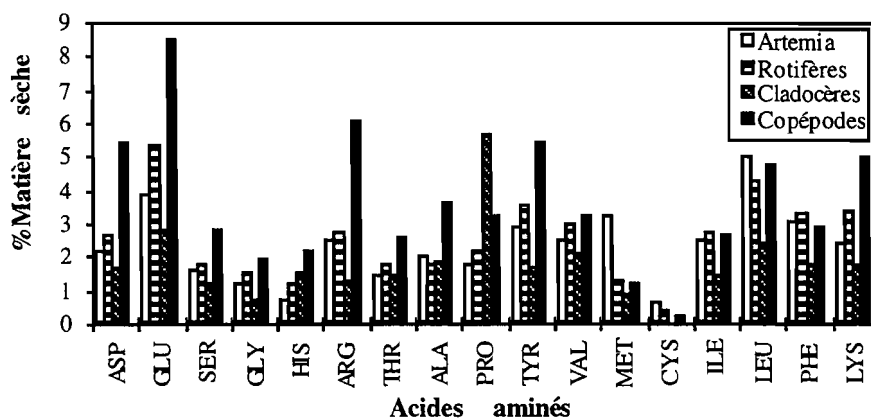


Figure 3.28. Composition en acides aminés (% de la matière sèche) de quelques aliments vivants de référence (*Artemia* et *Rotifères*, *Brachionus calyciflorus* ont été cultivés au laboratoire; *Cladocères* et *Copépodes* sont récoltés dans l'étang fertilisé).

**3.2.4.1.2.2. Composition corporelle de la perche fluviatile durant son développement précoce en étang fertilisé**

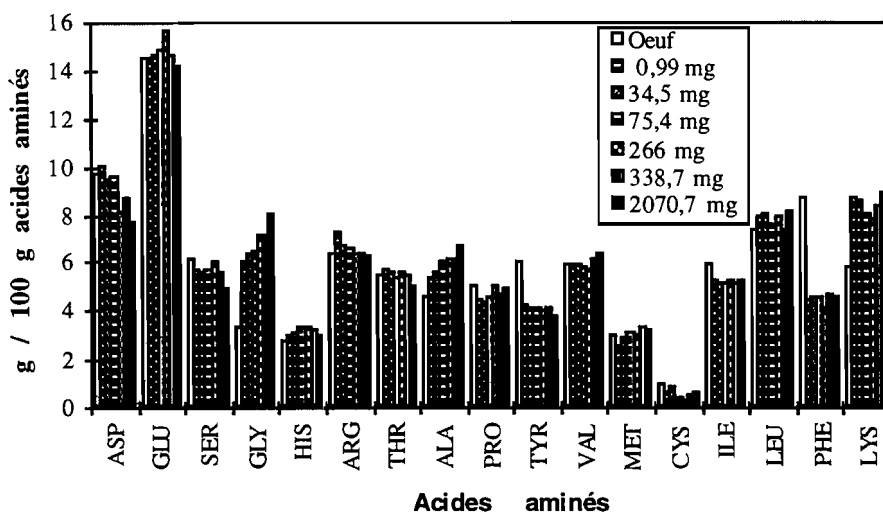


Figure 3.29. Composition corporelle en acides aminés (g / 100 g acides aminés) de la perche fluviatile durant son développement en étang fertilisé (œuf : œuf embryonné).

Mise à part le taux de glycine (GLY) qui a tendance à augmenter avec le poids (de 3,2 % dans l'oeuf embryonné à 8 % chez l'alevin de 2 g)

et les concentrations élevées en lysine (LYS) et en phénylalanine (PHE) de l'oeuf, la croissance des jeunes perches élevées en étang fertilisé, riche en zooplancton ne présente pas d'effet sur leur composition en acides aminés (Figure 3.29 et Annexe 8.2). Un équilibre parfait semble exister entre les acides aminés essentiels et les acides aminés non essentiels. Le rapport : (somme des acides aminés essentiels / somme des acides aminés non essentiels) est proche ou égal à 1 pour les différents stades (Annexe 8.2).

### 3.2.4.1.2.3. Aliments expérimentaux utilisés pour l'étude des besoins en protéines

#### a) Aliments expérimentaux pour alevins de 3 g

Les compositions en acides aminés des aliments expérimentaux qui ont servi à l'étude des besoins en protéines chez les alevins de 3 g, présentées à la figure 3.30 et en annexe 8.3, montrent également les mêmes profils en acides aminés pour les aliments contenant 20 à 60 % de protéines et spécialement en acides aminés essentiels. Signalons toutefois, une augmentation de l'acide glutamique avec le niveau de protéines et une valeur anormalement élevée de la méthionine dans l'aliment à 30 % de protéines. Cependant, on observe ici un gradient dans les proportions de chaque acide aminé exprimées en pourcentage de matière sèche de l'aliment lorsqu'on augmente le niveau de protéines (Figure 3.33). Les 3 acides aminés, l'arginine, la leucine et la lysine retrouvés après dosage dans l'aliment à 0 % (Annexe 8.3) seraient probablement issus d'une contamination pendant le malaxage de la pâte ou son séchage.

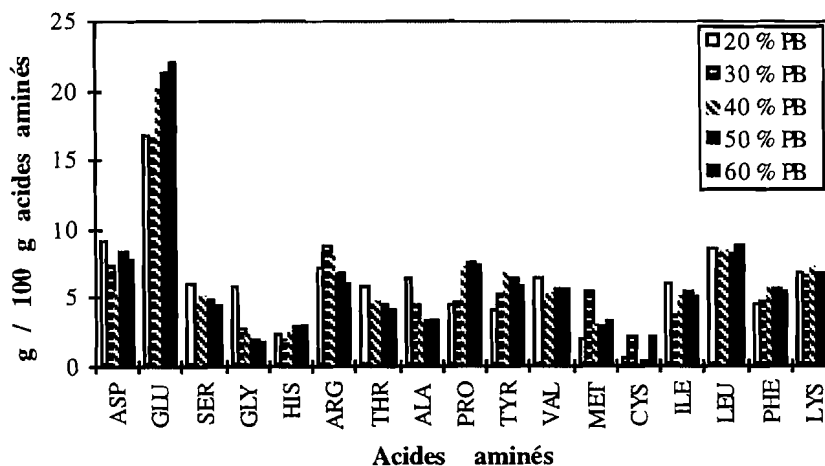


Figure 3.30. Composition en acides aminés (g / 100 g acides aminés) des aliments expérimentaux qui ont servi à la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 3 g.

**b) Aliments expérimentaux pour alevins de 16 g**

L'analyse biochimique des aliments expérimentaux formulés pour l'étude des besoins en protéines chez les jeunes perches de 16 g de poids moyens (Figure 3.31, Annexe 8.4) présente les mêmes niveaux d'acides aminés, exceptés l'acide aspartique, l'acide glutamique et la leucine qui diminuent avec l'augmentation du niveau de protéines. On observe ainsi, des valeurs très élevées d'acide glutamique dans les aliments à 20 et 25 % protéines (20,4 % et 19,31 %) et de leucine pour les aliments contenant 30 à 45 % protéines (30,1-22,7 %). Les acides aminés essentiels sont plus concentrés dans ces 3 derniers aliments, probablement à cause de leur teneur anormalement élevée en leucine. Ces valeurs douteuses obtenues pourraient être attribuées à une mauvaise élution de ces acides aminés lors du dosage. Le problème de piégeage des acides aminés par caramélisation des sucres peut aussi être à l'origine de ces résultats inattendus.

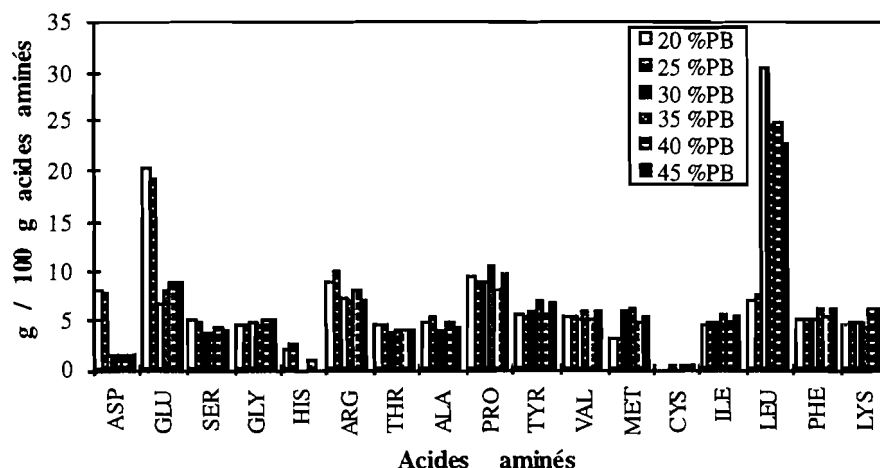


Figure 3.31. Composition en acides aminés (g / 100 g acides aminés) des aliments expérimentaux qui ont servi à la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 16 g.

**c) Aliments expérimentaux pour alevins de 0,3 g**

Les résultats des figures 3.32 et 3.33 et de l'annexe 8.5 indiquent que les protéines des différents régimes alimentaires qui ont servi à la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 0,3 g de poids moyen ont approximativement le même profil en acides aminés, à l'exception de l'acide aspartique, l'acide glutamique et la lysine qui augmentent et la leucine et la méthionine qui diminuent avec le niveau de protéines de l'aliment. Ainsi, l'acide aspartique, l'acide glutamique et la lysine augmentent respectivement de 1,36, 8 et 4 % pour l'aliment à 35 % protéines à 6,3, 20,9 et 8,2 % pour celui à 60 % de protéines, tandis que la leucine et la méthionine baissent de 24,6 et 5,8 % pour l'aliment à



35 % protéines à 6,5 et 2,6 % pour l'aliment à 60 % de protéines. Les 6 aliments expérimentaux sont pauvres ou déficients en cystéine et en histidine. La somme des acides aminés essentiels est très élevée dans les aliments à faibles taux de protéines, excédant 60 % pour les aliments contenant 35 à 45 % protéines. Elle baisse par la suite pour n'être que de 45 % pour l'aliment contenant 60 % de protéines (Annexe 8.5). Les variations anormales de ces acides aminés ont probablement les mêmes causes que celles évoquées pour les aliments formulés pour les alevins de 16 g. Cependant, quant on fait un rapprochement de ces résultats inattendus avec la source de protéines qui est identique pour ces deux séries d'aliments, on est tenté de dire que ces variations anormales proviendraient de la dénaturation d'une au moins des composantes de la protéine de base au cours de l'hydrolyse acide.

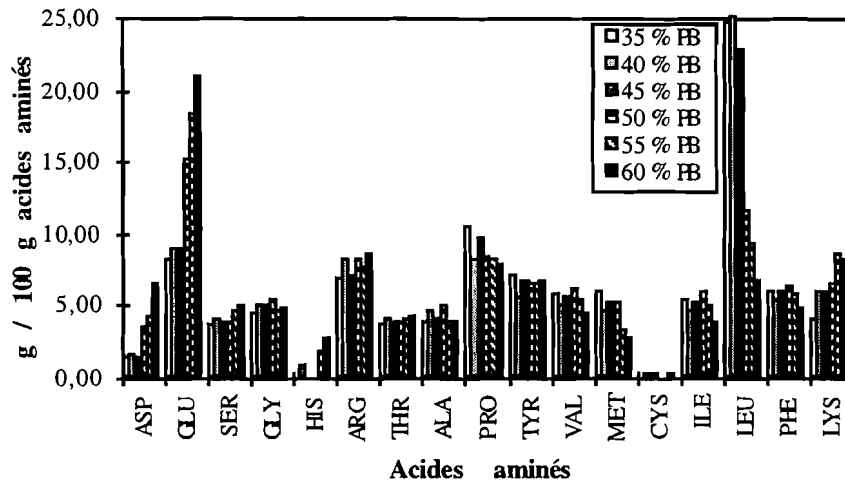


Figure 3.32. Composition en acides aminés (g / 100 g acides aminés) des aliments expérimentaux qui ont servi à la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 0,3 g.

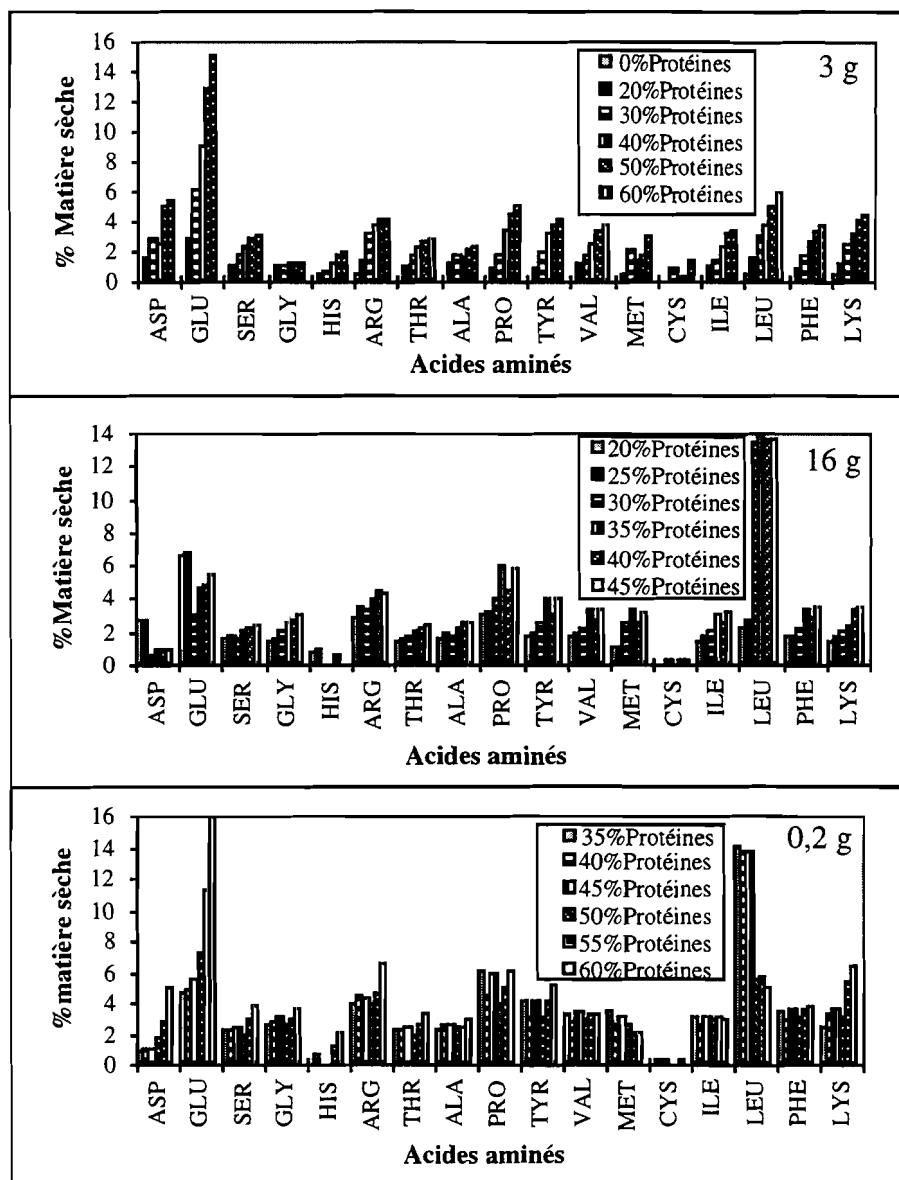


Figure 3.33. Composition en acides aminés (% de matière sèche) des différents régimes expérimentaux formulés en vue de la détermination des besoins en protéines chez la perche fluviatile à 3 poids différents (0,3, 3 et 16 g).

### 3.2.4.1.2.4. Composition corporelle des alevins nourris avec des aliments à teneurs croissantes en protéines brutes

On peut déduire des résultats des figures 3.34 et 3.35 que la composition en acides aminés de l'aliment a un effet apparent sur la composition corporelle en acides aminés des alevins de la perche fluviale de plus de 3 g. Les acides aminés corporels les plus susceptibles à cette variation de la qualité protéique de l'aliment sont l'arginine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la cystéine, la leucine et la proline.

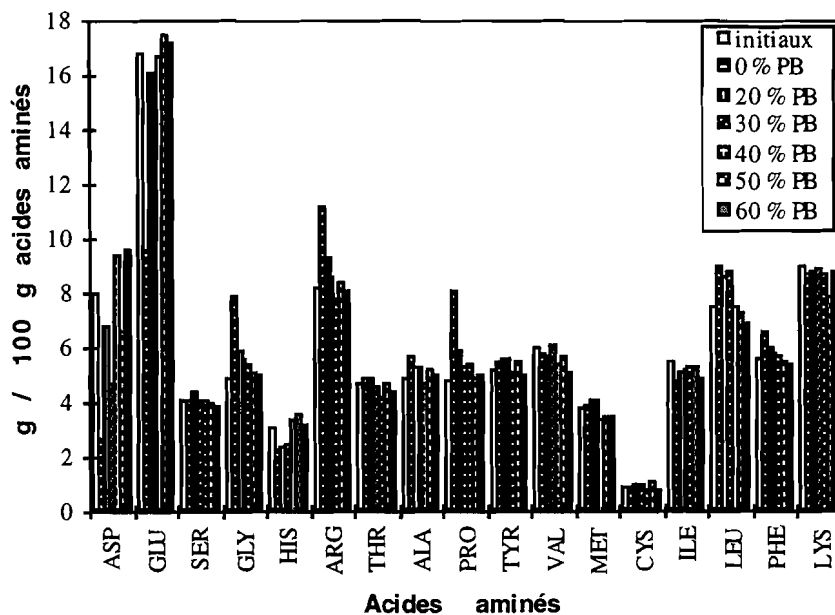


Figure 3.34. Composition corporelle en acides aminés (g/100g d'acides aminés) des alevins de perche fluviale ( $P_i = 3$  g) nourris avec des régimes à différents taux de protéines brutes, PB : protéines brutes, initiaux : poissons au début de l'expérience d'alimentation.

Remarquons que les variations de ces acides aminés se font surtout sentir au niveau des lots qui ont reçu des aliments à faibles taux de protéines. Ainsi, on observe une valeur nettement plus élevée de l'arginine dans le groupe des alevins de 3 g nourris avec un régime sans protéines (11,8 %) et dans les groupes des alevins de 16 g élevés avec des aliments contenant 20, 25 et 30 % de protéines brutes. L'acide glutamique présente aussi une valeur plus élevée chez les alevins de 3 g à régime sans protéines (Figure 3.34, Annexe 8.6) et chez ceux de 16 g soumis à des régimes contenant 20, 25 et 30 % de protéines (Figure 3.35, Annexe 8.7). Cependant, la plus forte concentration en acides aminés essentiels est notée chez les alevins de 3 g nourris avec le régime sans protéines (Annexe 8.6) alors que les alevins de 16 g élevés avec les aliments à faibles taux de

protéines (20, 25 et 30 %) présentent les faibles concentrations corporelles en acides aminés essentiels (Annexe 8.7).

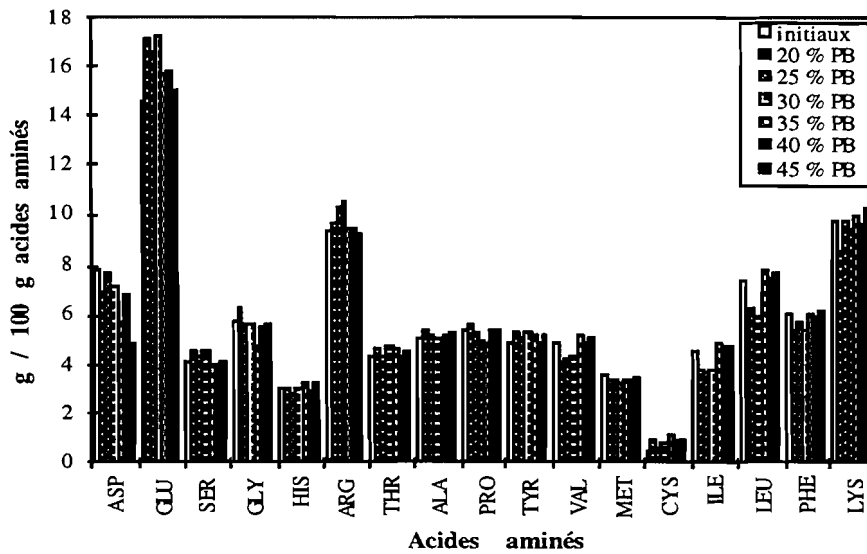


Figure 3.35. Composition corporelle en acides aminés (g / 100 g d'acides aminés) des alevins de perche fluviatile ( $P_i = 16$  g) nourris avec des régimes à différents taux de protéines brutes, PB : protéines brutes, initiaux : poissons au début de l'expérience d'alimentation.

Comme pour les poissons élevés avec du zooplancton en étang fertilisé, les compositions en acides aminés des jeunes alevins de perche fluviatile de 0,3 g de poids moyen initial nourris avec des aliments contenant 35 à 60 % de protéines brutes se révèlent très homogènes d'un groupe à un autre (Figure 3.36, Annexe 8.8).

Seule la cystéine présente une tendance à la baisse dans les groupes nourris avec des régimes composés de 55 et 60 % de protéines brutes, soit 0,34 % et 0,6 % respectivement. Cette homogénéité dans la composition corporelle en acides aminés des poissons se traduit dans les sommes des acides aminés essentiels et les acides aminés dispensables qui sont très proches.

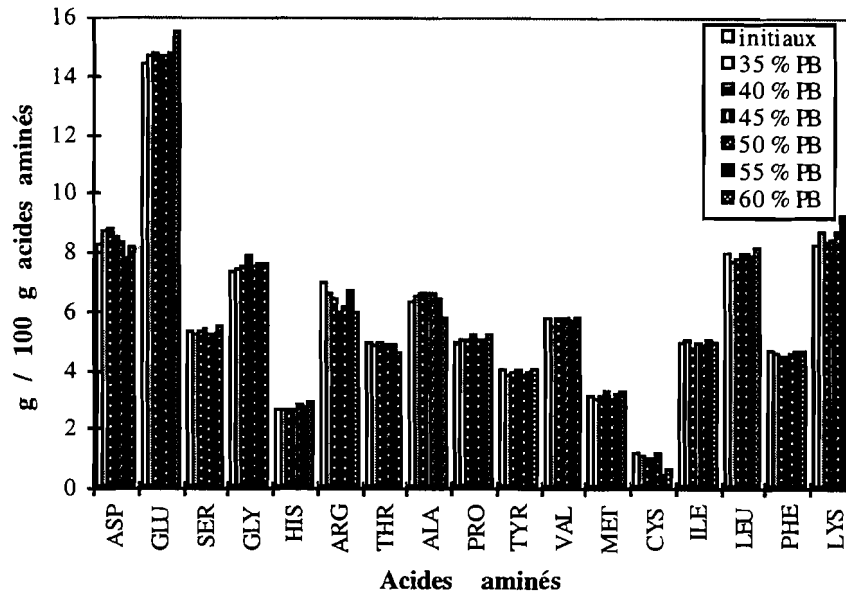


Figure 3.36. Composition corporelle en acides aminés (g / 100g d'acides aminés) des alevins de perche fluviatile ( $P_i = 0,3$  g) nourris avec des régimes à différents taux de protéines brutes, PB : protéines brutes, initiaux : poissons au début de l'expérience d'alimentation.

#### 3.2.4.1.2.5. Relation entre compositions corporelles en acides aminés des alevins de même stade nourris avec du zooplancton et l'aliment artificiel le plus performant

Les stades de développement de 266 et 2071 mg de poids moyens qui ont pu être pêchés en étang fertilisé et analysés ont été mis en rapport avec des stades correspondants (290 et 2875 mg) nourris avec des aliments artificiels à meilleur taux de protéines, soit l'aliment à 50 % de protéines brutes pour les alevins de 0,3 g et 40 % pour les alevins de 3 g. Ainsi, la figure 3.37 nous présente les compositions comparées en acides aminés de ces deux stades de la perche fluviatile élevée avec du zooplancton et avec des aliments artificiels dont les taux en protéines correspondent aux besoins en protéines de ces 2 stades.

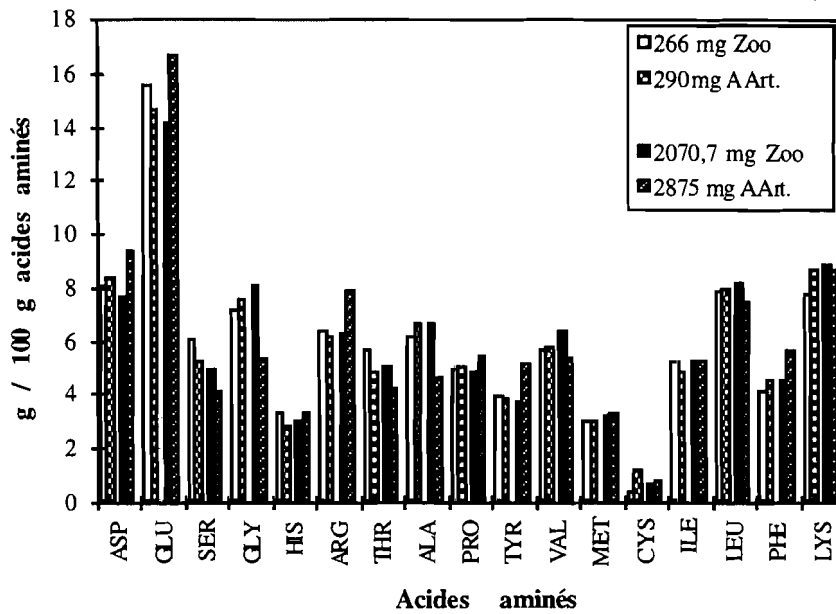


Figure 3.37. Compositions corporelles comparées en acides aminés de deux stades (0,3 et 3 g) de la perche fluviatile élevée dans du zooplancton (Zoo) et avec des aliments artificiels (A.Art.) dont les taux en protéines correspondent aux besoins en protéines de ces 2 stades (50 et 40% PB).

La figure 3.37 montre, que pour le stade de 0,3 g de poids moyen, le niveau corporel des acides aminés des poissons nourris avec du zooplancton est supérieur ou égal à celui des poissons nourris avec l'aliment artificiel le plus performant. Au stade de 3 g, on fait encore la même observation, à l'exception de l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'arginine et la proline qui présentent des niveaux plus élevés dans le corps des poissons nourris avec l'aliment artificiel. Cependant, les différences sont en général, numériquement négligeables (Annexes 8.2 et 8.6).

### 3.2.4.2.3. Discussions

#### 3.2.4.2.3.1. Profil en acides aminés des alevins de référence

En dehors des faibles concentrations en glycine et lysine et des teneurs élevées en phénylalanine et en tyrosine de l'oeuf au stade oeillé, les profils en acides aminés des alevins de la perche fluviatile aux différents stades de développement dans du zooplancton en étang fertilisé ne présentent pas de variation considérable (Figure 3.29, Annexe 8.2). Des observations similaires ont été faites par Wilson et Poe (1985) sur le poisson chat américain *Ictalurus punctatus* et Ng et Hung (1994) chez l'esturgeon

blanc *Acipenser transmontanus*. Wilson et Poe (1985) avaient obtenu des compositions numériquement très proches en acides aminés corporels chez des alevins de 30g, 330g et 863g, mais différentes de celles de l'œuf dont les concentrations en glycine et lysine étaient significativement ( $p < 0,05$ ) plus faibles. Il en est exactement de même pour les observations faites chez des alevins de l'esturgeon blanc de 20, 58, 180 et 535 g. Cette constance dans la qualité des protéines corporelles synthétisées au cours du développement de la jeune perche fluviatile témoigne de l'existence d'un équilibre biochimique entre le flux total d'acides aminés libres et la synthèse des protéines corporelles dans son organisme, soutenu par la disponibilité constante des acides aminés apportés par les protéines des aliments vivants ingérés. Puisque les acides aminés sont arrangés dans un ordre précis dans chaque type de protéine pour une espèce donnée, en se basant sur le schéma global de la répartition totale du flux d'acides aminés dans l'organisme vivant (Millward *et al.*, 1976), il n'y a normalement aucune raison de penser que la même espèce évoluant dans un même environnement trophique pourrait présenter des compositions différentes en acides aminés d'un stade à l'autre de son développement, sauf si elle aborde sa période de reproduction. En effet, pendant leur période de reproduction, les poissons développent des comportements spécifiques qui perturbent dans bien de cas leurs habitudes alimentaires. Comme l'ont rapporté Freedland et Briggs (1977) chez l'homme, Moughan (1994) chez le porc, Chen et Orskov (1994) chez le mouton, Oldham (1994) chez la vache et Cowey (1994) et Ng et Hung (1995) chez le poisson, la qualité des protéines alimentaires est appréciée par leur capacité à établir et maintenir l'équilibre entre le flux d'acides aminés libres et la synthèse des protéines corporelles, satisfaisant ainsi pleinement et en continu les besoins en acides aminés de l'espèce.

Les faibles taux de glycine et de lysine de l'œuf œillé comparés à ceux des alevins indiquent probablement une limitation de ces acides aminés pour l'embryon de l'œuf arrivé à ce stade de développement. Il est en effet bien établi que la lysine est utilisée en forte proportion dans la formation des tissus et faiblement utilisée dans l'entretien (Viola et Arieli, 1989). Et comme le développement embryonnaire de l'œuf correspond à une phase de formation active des tissus, il est normal que la lysine qui est l'acide aminé essentiel le plus utilisé devienne déficient dans la réserve initiale de nutriments mobilisés dans l'œuf par le géniteur. C'est probablement aussi le cas pour le stock de glycine de l'œuf dont les besoins sont très élevés à ce stade pour la production de la purine ou des bases puriques constituants des acides nucléiques (adénine, guanine, xanthine...). La glycine étant un acide aminé dispensable, sa limitation pour l'embryon dans l'œuf s'est traduite par une augmentation (probablement due à une synthèse compensatrice) dans l'organisme des alevins au cours de leur développement. Son taux de 3,2 % dans l'œuf œillé est passé à 5,9 % dans la larve de 0,99 mg pour atteindre 8,0 % chez l'alevin de 2 g (Figure 3.29, Annexe 8.2). La stabilité dans la qualité des protéines des alevins de perche élevés en étang avec du zooplancton, mise en rapport avec leur croissance exponentielle précédemment présentée (Figure 1.6)

justifie bien le rôle de poissons de référence qu'ils sont appelés à jouer dans l'estimation des besoins en acides aminés chez cette espèce. Il n'y a aucune oscillation possible dans leur croissance ou dans leur composition en acides aminés au cours du développement qui fait penser à une limitation éventuelle d'un acide aminé essentiel dans leur régime alimentaire, comme l'ont suggéré Freedland et Briggs (1977) dans leur synthèse des approches biochimiques de la nutrition.

Les fortes concentrations de l'œuf embryonné en phénylalanine et en tyrosine justifient très bien leurs faibles utilisations au stade embryonnaire du poisson. En effet, plus de 50 % des besoins en phénylalanine sont liés aux besoins en tyrosine sa dérivé hydroxyde (Briggs et Callo-way, 1973). Par conséquent, les besoins en phénylalanine sont réduits s'il y a assez de tyrosine dans l'organisme. D'autre part, la tyrosine est surtout utilisée dans la production de deux hormones : la thyrosine et l'épinephrine (adrénaline) et de la mélanine qui est le pigment noir de la peau des poissons. L'addition d'un second groupement hydroxyl (OH) à la phénylalanine forme le composé dihydroxyphénylalanine appelé DOPA qui se décarboxyle pour former un neurotransmetteur, la dopamine. Et quant on sait que toutes ces formations sont à peine ébauchées à cette étape de la vie embryonnaire, on comprend aisément pourquoi la phénylalanine et la tyrosine qui sont des acides aminés aromatiques précurseurs de leur production soient encore en concentrations élevées à quelques jours de l'éclosion (Figure 3.29, Annexe 8.2). Les fonctions de ces acides aminés des protéines du vitellus débutent probablement à l'éclosion. Leurs concentrations ont rapidement chuté de 8,7 et 6,0% juste avant éclosion à 4,4 et 4,1 le premier jour de l'éclosion, respectivement pour la phénylalanine et la tyrosine (Annexe 8.2). On a l'impression que ces acides aminés sont mobilisés dans l'oeuf pour jouer un rôle moteur dans la première adaptation de la larve au milieu extérieur.

#### **3.2.4.2.3.2. Examen comparé de la qualité protéique des aliments naturels et artificiels**

Les aliments vivants sont en général bien équilibrés en acides aminés (Figures 3.27 et Annexe 8.1) comparés aux aliments secs expérimentaux (Figures 3.30 à 3.33 et Annexes 8.3 à 8.5). Seuls les cladocères présentent un taux très élevé en proline et une absence totale de cystéine, probablement à cause d'une mauvaise élution de ces deux acides aminés. Il est connu que la cystéine et la méthionine sont partiellement réduites au cours de l'hydrolyse acide et le tryptophane entièrement détruite par ce type d'hydrolyse (MacDonald *et al.*, 1985; Allred et MacDonald, 1988). Cependant, en établissant nos droites d'étalonnage pour chaque acide aminé à partir de l'hydrolyse acide du standard d'acides aminés référencés, nous avons cru éliminer cet effet d'hydrolyse acide sur la quantification de la cystéine et de la méthionine. Seul le tryptophane n'a pu être analysé par manque de moyens nécessaire. Remarquons que certains aliments expérimentaux utilisés pour l'étude des besoins en protéines chez les alevins de 0,3 et 16 g ont une concentration totale élevée en acides aminés essentiels sans être pour autant équilibrés (Annexes 8.4 et 8.5).



On observe dans ces aliments des concentrations en leucine supérieures à 20 % de protéines et l'absence totale de cystéine et d'histidine. Cependant, les bonnes croissances des alevins nourris avec ces aliments indiquent que l'absence de cystéine et d'histidine pourrait simplement être due à leur dénaturation totale par la chaleur ou l'acide chlorhydrique au cours du processus d'hydrolyse. Par ailleurs, aucun cas de toxicité d'excès de leucine alimentaire n'a été rapporté. Wilson *et al.* (1980) ont même observé une concentration constante de leucine libre du plasma sanguin du poisson chat américain nourri avec un régime contenant des doses croissantes de leucine. Leur observation vient d'être confirmée par les résultats de la présente étude qui montrent clairement un taux maximum de leucine corporel de 8 % quelle que soit sa concentration dans le régime alimentaire.

Les aliments expérimentaux formulés pour la détermination des besoins en protéines chez les alevins de 3 g, soupçonnés de déficience probable en arginine, sont apparus numériquement plus équilibrés en acides aminés et plus stables du point de vue qualité des protéines (Figure 3.30, Annexe 8.3). Rappelons que l'augmentation de protéines dans ces aliments expérimentaux (Tableau 3.14) a été faite grâce à une augmentation du taux de caséine, maintenant ainsi les autres sources de protéines (levure et farine de morue) constantes. Or, la caséine seule est reconnue comme une source inférieure de protéines (Brown *et al.*, 1995). Cette augmentation de la caséine s'est traduite effectivement par une baisse apparente de l'arginine dans les aliments à taux élevé en protéines (de 8,7 à 5,8 % pour les taux de protéines de 30 à 60 %), mais cette baisse n'est pas drastique comme espérée. Mis à part les aliments à très faibles taux de protéines (0-35 %), tous les trois groupes d'aliments expérimentaux ont apparemment des profils en acides aminés essentiels supérieurs ou proches de celui des poissons de référence et semblent de ce fait présenter des qualités acceptables pour conduire à la détermination des besoins quantitatifs en protéines chez la perche fluviatile. Comme l'ont rapporté Wilson et Cowey (1985), Wilson et Poe (1985), Gatlin (1987), Cowey (1993) et Ng et Hung (1995), les protéines alimentaires simulées pour avoir les mêmes profils en acides aminés essentiels (AAE) que celui du corps entier de l'espèce à nourrir sont excellentes pour celle-ci.

$$\text{Profil en AAE} = \frac{\text{AAE}}{(\Sigma\text{AAE} + \text{Tyrosine} + \text{Cystéine})}$$

où AAE = acide aminé essentiel.

En comparant les effets combinés des différentes espèces du zooplancton ingérées par la perche dans l'étang, avec ceux de nos aliments artificiels les plus performants, sur sa composition corporelle en acides aminés, on se rend compte de l'excellente qualité des protéines de nos aliments artificiels (Figure 3.37). Cette dernière observation confirme que les variations douteuses de la composition en acides aminés de ces aliments expérimentaux avec l'augmentation du niveau de protéines seraient

dues à un problème de dosage. Les problèmes inhérents à l'obtention des échantillons homogènes à partir des granulés (Astéphen et Wheat, 1993) pourraient probablement en être la cause de ces mauvais résultats de dosage.

### 3.2.4.2.3.3. Acides aminés limitant des aliments expérimentaux

L'observation des profils en acides aminés essentiels de quelques aliments vivants (Figure 3.27 et Annexe 9) reconnus très appétents pour les jeunes alevins de la perche, montre que le déficit d'un acide aminé dans un de ces aliments peut être comblé par son excès dans un autre. On constate par exemple que les déficits des rotifères en histidine et en méthionine peuvent être comblés par leurs excès dans les copépodes et le déficit en méthionine des copépodes peut être comblé par les cladocères. C'est certainement la principale cause de la non variabilité de la composition corporelle en acides aminés de la perche au cours de son développement avec différentes espèces de zooplancton. Les alevins de 0,3 g nourris avec les aliments expérimentaux présentent des compositions identiques à ceux élevés en étang, avec aussi une constance dans la qualité des protéines corporelles au cours de la croissance, malgré les déficits apparents des aliments en plusieurs acides aminés essentiels. Au contraire, les alevins de 3 et 16 g soumis à des aliments expérimentaux identiques présentent des variations dans leur composition corporelle en acides aminés.

Ces différences notoires entre les poissons expérimentaux pour les variations des compositions en acides aminés au cours du temps sont probablement dues aux déficits en acides aminés essentiels des aliments expérimentaux et aussi au niveau de rationnement. Autrement dit, les déficits en acides aminés peuvent être comblés par la quantité totale de protéines ingérées par jour, et donc par le niveau de rationnement. En effet, si les protéines de l'aliment contiennent tous les acides aminés essentiels et une quantité suffisante des protéines est apportée au jeune animal pour lui fournir une quantité adéquate de tous les acides aminés limitants, il y a synthèse de protéines corporelles et donc croissance (Freedland et Briggs, 1977). Lorsqu'on réduit le taux de protéines alimentaires, on arrivera à un niveau où la plupart des acides aminés limitants deviendront insuffisants pour maintenir un taux élevé de synthèse de protéines corporelles et il y aura baisse de la croissance. On peut, dans ce cas, combler ce retard de croissance, en supplémentant l'aliment avec tous les acides aminés limitants. Cependant, si deux ou plusieurs acides aminés sont limitants au même degré, la supplémentation du régime en un seul, n'apportera aucune amélioration à la croissance, et pourrait même augmenter le degré d'insuffisance des autres. Dans le cas des protéines très riches en acides aminés essentiels comme celles de l'œuf, une réduction des protéines alimentaires limite la disponibilité de l'azote total nécessaire pour la synthèse des acides aminés non essentiels. Le retard de la croissance est comblé dans ce cas par une supplémentation du régime avec les

acides aminés non essentiels (Freedland et Briggs, 1977, De Silva et Anderson, 1995).

Compte tenu de tout ce qui précède, on comprend pourquoi les alevins de 0,3 g nourris à 10 % de leur poids avec des aliments déficients en 5 à 6 acides aminés essentiels ont conservé une même qualité de leurs protéines corporelles au cours du développement, alors que ceux de 3 g et 16 g nourris respectivement à 5 % et à 2 % de leur poids avec des aliments similaires en ont présenté une grande variabilité. Une comparaison des profils en acides aminés essentiels des poissons initiaux avec ceux calculés pour les différents aliments expérimentaux semi purifiés laisse percevoir quelques acides aminés limitants. Dans les régimes des alevins de 0,3 g (Annexe 8.5 et Annexe 9), les acides aminés essentiels limitants observés sont : l'histidine, l'arginine, la thréonine, l'isoleucine et la lysine pour les aliments contenant 35-50 % protéines. Ceux limitants pour les régimes des alevins de 3 g (Annexe 8.3 et Annexe 9) sont : l'histidine des aliments à 20-30 % protéines, l'arginine pour ceux à 50-60 % protéines, la méthionine des aliments à 20, 40, 50 et 60 % protéines, l'isoleucine pour l'aliment à 30 % protéines et la lysine pour l'ensemble. Dans les aliments composés pour les alevins de 16 g, les acides aminés essentiels limitants sont : l'histidine, l'arginine pour les aliments contenant 30-45 % protéines, la thréonine pour l'aliment à 30-45 % protéines, la valine pour celui à 30 et 40 % protéines, l'isoleucine et la proline pour l'aliment à 30 et 40 % protéines, la phénylalanine pour l'aliment à 30 % protéines et la lysine pour l'ensemble des aliments. Remarquons que la lysine est limitante pour tous les aliments composés, probablement due à sa susceptibilité à être détruite ou à se lier aux sucres au cours du séchage des pâtes alimentaires (Viola et Arieli, 1989; Craig et Gatlin III, 1992; Griffin *et al.*, 1992). La différence de compositions corporelles en acides aminés des alevins de perche d'un régime à un autre serait due aux différentes concentrations d'acides aminés libres dans leur plasma. Conformément à la loi du minimum qui conditionne la synthèse des protéines, les acides aminés limitants auraient entraîné l'excès d'autres acides aminés dans le plasma sanguins.

Quelques investigations ont en effet montré qu'il existe une forte corrélation entre la composition en acides aminés du sérum, du sang ou du muscle et celle du régime alimentaire (Wilson et Cowey, 1985; Wilson, 1989; Ng et Hung, 1995). L'hypothèse de base est que les concentrations en acides aminés du sérum seraient faibles jusqu'à la couverture des besoins, pour augmenter par la suite. Il convient tout de même de signaler que cette technique basée sur la relation entre la composition de l'aliment et celle du sérum ou du tissu du poisson n'a permis de confirmer les besoins en acides aminés que dans très peu de cas. Par exemple, pour les 10 acides aminés étudiés chez le poisson chat *I. punctatus*, seulement la lysine (Wilson *et al.*, 1977), la thréonine (Wilson *et al.*, 1978), l'histidine (Wilson *et al.*, 1980) et la méthionine (Harding *et al.*, 1977) du sérum sanguin ont été en parfaite adéquation avec les besoins en ces acides aminés pour cette espèce. La concentration en méthionine du sérum sanguin

du bar (*Dicentrarchus labrax* L.) a été utilisée efficacement pour déterminer le besoin en cet acide aminé (Thebault, 1985). Aussi, chez le tilapia (*Oreochromis niloticus*), les compositions en lysine, thréonine et isoleucine libres du muscle ont été utiles pour confirmer les besoins en ces acides aminés déterminés par doses-croissances (Santiago, 1985). L'auteur a rapporté que les autres acides aminés libres du muscle augmentaient avec leur concentration dans le régime alimentaire. Cette dernière observation a été faite chez le poisson chat américain (Robinson *et al.*, 1981) et chez la truite arc-en-ciel (Kaushik, 1979) pour l'arginine.

Somme toute, ces résultats préliminaires méritent d'être élucidés par des études plus approfondies et non une simple observation des compositions en acides aminés des régimes alimentaires et du corps entier des poissons nourris. La méthode classique de dose-réponse complétée par des études de déamination ou de transamination oxydatives et le phénomène de "turnover" des acides aminés de l'organisme pourraient par exemple mieux expliquer les relations acides aminés alimentaires et acides aminés corporaux chez la perche fluviatile.

### **3.2.4.2. Estimations des besoins alimentaires en acides aminés chez la perche fluviatile**

#### **3.2.4.2.1. Démarche scientifique**

Outre la longueur de temps et les dépenses élevées que nécessitent la détermination des besoins en acides aminés essentiels par doses-réponses, il existe d'autres problèmes inhérents tels que la faible croissance (inférieure à la normale) des jeunes poissons nourris avec un régime à base d'acides aminés cristallins (Cowey et Luquet, 1983) et le piégeage de certains acides aminés au cours de la fabrication des aliments expérimentaux (Freedland et Briggs, 1977). Pour contourner ces problèmes, certaines techniques ont été développées depuis quelques années permettant d'estimer rapidement les besoins en acides aminés du poisson. Nous avons, entre autres, la méthode dite d'Ogino (1980) basée sur l'accroissement journalier en chaque acide aminé. La grande insuffisance de cette méthode repose sur le fait qu'elle ignore complètement que c'est seulement 30-40 % des protéines ingérées qui sont retenues dans le poisson (NRC, 1993). Ainsi, on constate que cette méthode a sous estimé les besoins en acides aminés chez la carpe commune (Ogino, 1980) et chez le tilapia du Mozambique *T. mossambica* (Jauncey *et al.*, 1983), lorsque l'on compare les résultats à ceux obtenus par la méthode classique de doses-réponses. Toutefois, vu sa facilité d'application et la forte corrélation qu'on obtient entre le profil des besoins en acides aminés essentiels estimés et celui du poisson, la méthode a été améliorée par la suite. En utilisant par exemple des protéines de haute qualité et en considérant les pertes corporelles en chaque acide aminé, les besoins estimés apparaissent

plus vraisemblables (Kaushik *et al.*, 1991; Fiogbé et Kestemont, 1995; Ng et Hung, 1995).

Dans la présente étude, les besoins en acides aminés de la perche fluviatile sont estimés à partir de la méthode d'Ogino (1980) modifiée d'après NRC (1993), Arai et Ogata (1993), Ng et Hung (1995) sur la base des approches nutritionnelles assez rationnelles. Les principes de base des approches nutritionnelles intégrées dans la méthode d'Ogino sont :

- seulement 30-40 % de l'azote total ingéré par le poisson sont retenus dans son organisme (NRC, 1993),
- la somme totale des acides aminés essentiels fixés dans le corps entier du poisson, y compris la cystéine et la tyrosine représente 34 % des protéines digestibles ingérées (Ravi et Devaraj, 1991; Arai et Ogata, 1993; Borlongan et Coloso, 1993; Ng et Hung, 1995),
- les poissons élevés dans des conditions optimales conservent leur composition corporelle en acides aminés au cours du développement (Wilson et Poe, 1985 chez le poisson chat de 30-863 g; Scharwarz et Kirchdessner, 1988 chez la carpe commune de 200-1000 g; Ng et Hung, 1995 chez l'esturgeon blanc de 20-535 g).

Considérant que nos alevins élevés en étang avec du zooplancton ont évolué dans des conditions optimales de nutrition, nous avons calculé l'accroissement journalier en acides aminés de la perche à différents stades de son développement, puis ses besoins. Le calcul du gain corporel en chaque acide aminé nécessite la connaissance du poids corporel, de la matière sèche et de la composition en acides aminés (% matière sèche) de chaque stade.

Les gains quotidiens en acides aminés essentiels par 100 g de poids de poisson sont calculés comme suit :

$$AAA \text{ ( \%jour}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{FBWs} \times \text{FBC}) - (\text{IBWs} \times \text{IBC})}{\text{MBW} \times \Delta t} \times 100$$

où AAA est l'accroissement journalier en chaque acide aminé (% jour<sup>-1</sup>)

MBW (mg) = (IBW (mg) + FBW (mg)) / 2  
est la moyenne des poids frais des alevins aux temps t et (t+1)

IBW et FBW en mg sont les poids frais des alevins aux temps t et (t+1)

IBWs et FBWs en mg sont les poids secs des alevins aux temps t et (t+1)

IBC et FBC les compositions initiales et finales en acides aminés (% matière sèche) du corps entier des alevins aux temps t et (t+1)

$\Delta t$  (jours) est le temps de croissance de IBW à FBW

Les besoins en acides aminés (en % protéines de l'aliment) sont calculés de la façon suivante :

$$\text{Besoin (\% protéines)} = \frac{\text{AAA}}{\text{DPI}} \times 100$$

où : DPI (mg) est la quantité totale de protéines digestibles ingérées, (supposées être de la même qualité que celles du corps du poisson) par 100 mg de poids corporel du poisson au cours du temps  $\Delta t$  (jours).

- DPI est estimée d'une part à  $100 / 40$  soit 2,5 fois la somme totale des acides aminés fixés, y compris les acides aminés non essentiels pendant le temps  $\Delta t$  (NRC, 1993),
- et d'autre part à  $100 / 34$  soit 2,94 fois la somme totale des acides aminés essentiels plus la cystéine et la tyrosine fixés pendant le temps  $\Delta t$  (Ravi et Devaraj, 1991; Arai et Ogata, 1993; Borlongan et Coloso, 1993; Ng et Hung, 1995).

Les poids moyens 35, 266 et 2071 mg, 3 stades différents de développement en étang, sont choisis dans la présente étude pour vérifier si les besoins en acides aminés chez la perche fluviatile varient d'un stade à un autre. Aussi, les poids de 266 et 2071 mg correspondant à deux des stades (0,3 et 3 g) utilisés pour l'étude de détermination des besoins en protéines chez cette espèce nous permettront de compléter les observations concernant l'évaluation des besoins en protéines.

#### 3.2.4.2.2. Résultats

Les besoins en acides aminés de la perche fluviatile calculés à partir de ces deux approches biochimiques rapportées en nutrition du poisson sont affichés sur le tableau 3.22. Remarquons que les besoins estimés à partir de l'hypothèse selon laquelle le gain total d'acides aminés fixés est égal à 40 % de protéines digestibles ingérées, sont inférieurs à ceux calculés sur la base des rapports qui ont prouvé que la somme des acides aminés essentiels plus la cystéine et la tyrosine fixés est égale à 34 % des protéines digestibles ingérées. Cette différence serait probablement due au fait que la première hypothèse ignore le "turn-over" de l'organisme (la réutilisation des acides aminés des protéines dégradées pour la synthèse de nouvelles). Cependant, on observe que pour chacune de ces deux méthodes, les besoins exprimés en pourcentage de protéines digestibles restent numériquement très similaires d'un poids à un autre. Ce qui permet de calculer à partir de la ration journalière et les besoins en protéines digestibles, les besoins quantitatifs en acides aminés essentiels pour différents poids de la perche fluviatile.

Tableau 3.22. Estimations des besoins en acides aminés chez les larves et juvéniles de la perche fluviatile à partir de l'accroissement corporel quotidien en chaque acide aminé chez des alevins élevés en étang

AA	Composition (% MS)				Accroissement (%j <sup>-1</sup> )			<sup>1</sup> Besoins (%Prot)			<sup>2</sup> Besoins (%Prot.)		
	Poids (mg)				Poids (mg)			Poids (mg)			Poids (mg)		
	1	35	266	2071	35	266	2071	35	266	2071	35	266	2071
ASP	5,11	5,35	4,45	4,43	0,062	0,060	0,058	3,81	3,12	3,05	6,09	5,07	4,76
GLU	7,42	8,28	8,59	8,15	0,097	0,120	0,106	5,91	6,24	5,56	9,44	10,12	8,70
SER	2,87	3,12	3,29	2,78	0,036	0,046	0,036	2,23	2,40	1,86	3,55	3,89	2,91
GLY	3,03	3,60	3,92	4,61	0,042	0,055	0,062	2,57	2,87	3,24	4,11	4,65	5,06
HIS	1,47	1,85	1,81	1,67	0,022	0,025	0,022	1,32	1,30	1,13	2,11	2,11	1,77
ARG	3,66	3,64	3,49	3,57	0,042	0,048	0,047	2,59	2,51	2,46	4,14	4,07	3,85
THR	2,84	2,98	3,06	2,85	0,035	0,043	0,037	2,12	2,22	1,94	3,39	3,60	3,04
ALA	2,72	3,35	3,37	3,79	0,039	0,047	0,051	2,40	2,44	2,65	3,82	3,96	4,14
PRO	2,21	2,49	2,71	2,77	0,029	0,038	0,036	1,78	1,98	1,91	2,84	3,21	2,99
TYR	2,10	2,28	2,15	2,10	0,027	0,030	0,028	1,63	1,54	1,44	2,60	2,50	2,25
VAL	2,98	3,18	3,09	3,66	0,037	0,043	0,049	2,27	2,23	2,57	3,62	3,61	4,02
MET	1,28	1,69	1,60	1,80	0,020	0,022	0,024	1,21	1,15	1,26	1,93	1,87	1,96
CYS	0,26	0,22	0,15	0,33	0,003	0,002	0,005	0,15	0,10	0,25	0,25	0,17	0,39
ILE	2,65	2,84	2,84	2,96	0,033	0,039	0,039	2,02	2,05	2,05	3,23	3,33	3,21
LEU	4,00	4,20	4,36	4,66	0,049	0,061	0,062	3,00	3,16	3,23	4,78	5,13	5,05
PHE	2,23	2,54	2,25	2,59	0,030	0,031	0,035	1,81	1,60	1,82	2,89	2,59	2,84
LYS	4,42	4,47	4,31	5,10	0,052	0,060	0,069	3,18	3,10	3,59	5,07	5,02	5,61

AA : acides aminés, <sup>1</sup> somme totale des acides aminés fixés = 40 % des protéines digestibles ingérées, <sup>2</sup> somme totale des acides aminés essentiels + cystéine + tyrosine fixés = 34 % des protéines digestibles ingérées.

Ainsi, les besoins quantitatifs en acides aminés essentiels calculés pour les alevins de 0,3, 3 et 16 g sur la base de la seconde considération ( $\Sigma$ AAE + cystéine + tyrosine fixés = 34 % protéines digestibles ingérées) sont présentés sur le tableau 3.23. Ces besoins ainsi calculés représentent les composantes en acides aminés d'une protéine idéale pour la meilleure croissance possible de la perche fluviatile, car ils sont estimés à partir des acides aminés de son corps.

Tableau 3.23. Besoins quantitatifs en acides aminés (mg j<sup>-1</sup>) de la perche fluviatile à 3 poids différents

Acides aminés	Besoins (%protéines)	Besoins (mg d'acide aminé jour <sup>-1</sup> )		
		Poids des alevins (g)		
		0,3	3	16
ASP	5,31	0,22	1,62	5,24
GLU	9,42	0,39	2,87	9,31
SER	3,45	0,14	1,05	3,41
GLY	4,60	0,19	1,40	4,55
HIS	2,00	0,08	0,61	1,97
ARG	4,02	0,17	1,23	3,97
THR	3,34	0,14	1,02	3,30
ALA	3,98	0,17	1,21	3,93
PRO	3,01	0,13	0,92	2,98
TYR	2,45	0,10	0,75	2,42
VAL	3,75	0,16	1,14	3,71
MET	1,92	0,08	0,59	1,90
CYS	0,27	0,01	0,08	0,26
ILE	3,26	0,14	0,99	3,22
LEU	4,99	0,21	1,52	4,93
PHE	2,77	0,12	0,85	2,74
LYS	5,24	0,22	1,60	5,17

Des relations du type linéaire ont pu être établies entre les besoins quotidiens en chaque acide aminé et le poids du poisson (Figure 3.37).



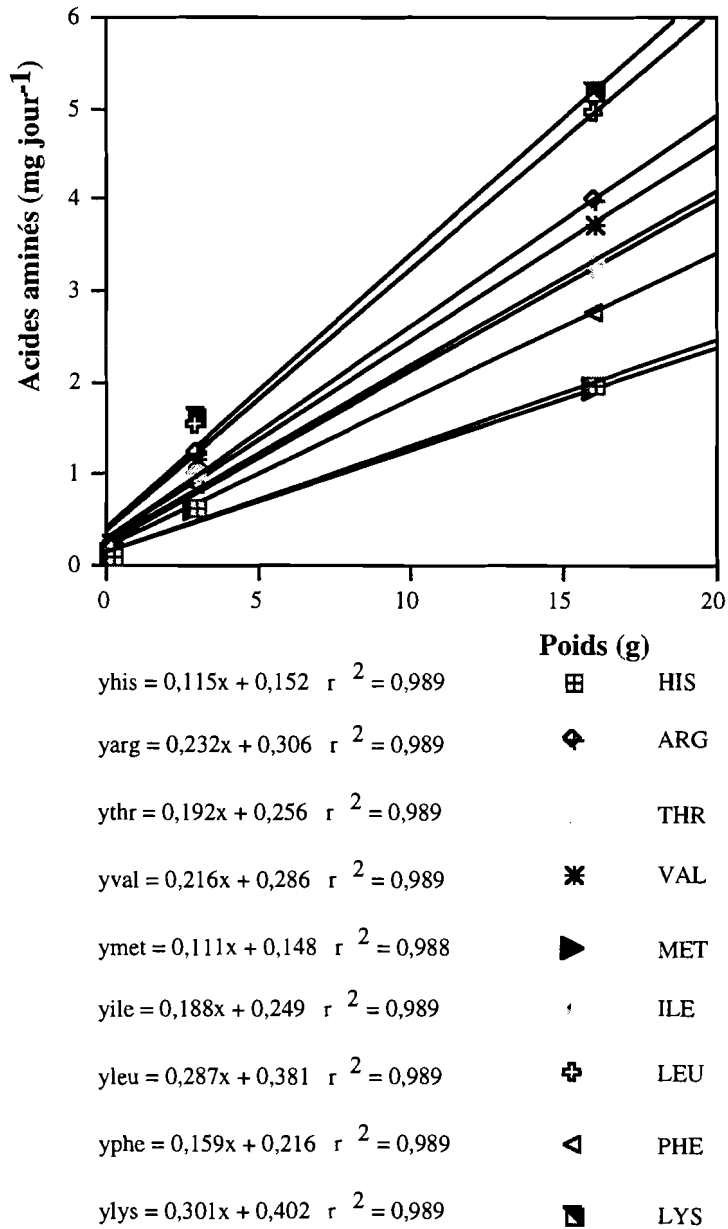


Figure 3.37. Besoins en acides aminés essentiels ( $mg\ jour^{-1}$ ) de la perche fluviale en fonction de son poids (g).

## 3.2.4.2.3. Discussion

Les besoins en acides aminés étant estimés dans la présente étude à partir de la composition en acides aminés du corps entier des alevins élevés dans des conditions optimales, il est évident qu'il y a une forte corrélation entre les deux profils en acides aminés (celui du corps entier et celui des besoins). Nos résultats sont donc à ce point de vue similaires aux observations de Wilson et Poe (1985), Cowey et Tacon (1983).

Par ailleurs, après avoir constaté une similarité entre les compositions en acides aminés du corps entier de certains poissons (la truite arc-en-ciel, le saumon atlantique, le saumon Coho, le saumon Cherry et le poisson chat américain), Wilson et Cowey (1985) ont conclu à une probabilité de besoins similaires en acides aminés essentiels chez ces poissons. L'analyse biochimique de la composition corporelle des alevins de la perche élevés en étang riche en zooplancton, a montré que la composition en acides aminés de leur corps entier est très proche de celles rapportées chez ces espèces de poissons (Tableaux 3.24).

Tableau 3.24. Comparaison de la composition en acides aminés du corps entier de la perche fluviatile avec celles d'autres espèces de même habitudes alimentaires

Acides aminés	Perche <sup>1</sup> fluviatile	Truite <sup>2</sup> arc-en-ciel	Saumon <sup>2</sup> atlantique	Saumon <sup>2</sup> coho	Saumon <sup>2</sup> cherry	Poisson <sup>2</sup> chat
Ala	6.56±0.02	6,57	6,52	6,08	6,35	6,31
Arg	6.18±0.20	6,41	6,61	5,99	6,23	6,67
Asp	7.63±1.62	9,94	9,92	9,96	9,93	9,74
Cys	0.58±0.22	0,8	0,95	1,23	1,34	0,86
Glu	14.10±0.12	14,22	14,31	15,25	15,39	14,39
Gly	7.97±0.32	7,76	7,41	7,31	7,62	8,14
His	2.88±0.02	2,96	3,02	2,99	2,39	2,17
Ile	5.13±0.20	4,34	4,41	3,7	3,96	4,29
Leu	8.06±0.31	7,59	7,72	7,49	7,54	7,4
Lys	8.83±0.34	8,49	9,28	8,64	8,81	8,51
Met	3.11±0.04	2,88	1,83	3,53	3,14	2,92
Phe	4.49±0.09	4,38	4,36	4,14	4,63	4,14
Pro	4.79±0.14	4,89	4,64	4,76	4,33	6,02
Ser	4.81±0.18	4,66	4,61	4,67	4,48	4,89
Thr	4.94±0.21	4,76	4,95	5,11	4,63	4,41
Trp	-	0,93	0,93	1,4	0,83	0,78
Tyr	3.64±0.14	3,38	3,5	3,44	3,53	3,28
Val	6.30±0.81	5,09	5,09	4,32	4,85	5,15

<sup>1</sup>Cette étude, <sup>2</sup>Wilson et Cowey (1985).

Les résultats des besoins en acides aminés (%protéines) que nous venons d'estimer chez la perche apparaissent aussi numériquement similaires à ceux déterminés chez ces espèces par la méthode classique de doses-réponses (Tableaux 3.25).

Tableau 3.25. Besoins en acides aminés (%protéines) de la perche fluviatile comparés à ceux du poisson chat, du saumon et de la truite

Acides aminés essentiels	Perche* fluviatile	Poisson** chat	Saumon** Chinook	Truite** arc-en-ciel
ARG	4,02	4,3	6	4
HIS	2	1,5	1,8	1,8
ILE	3,26	2,6	2,2	2,8
LEU	4,99	3,5	3,9	5
LYS	5,24	5,1	5	6
MET	1,92	-	-	-
(MET + CYS)	2,19	2,3	4	3,3
PHE	2,77	-	-	-
(PHE + TYR)	5,22	5	5,1	6
THR	3,34	2	2,2	4,1
TRYP	-	0,5	0,5	0,6
VAL	3,75	3	3,2	3,6

\*Cette étude, \*\*Lovell (1989)

Remarquons que les besoins en acides aminés de la perche fluviatile sont dans la même gamme que ceux rapportés pour ces trois espèces par la méthode classique de doses-réponses. Cependant, en considérant que toutes ces valeurs numériques sont obtenues avec une extrême précision, on peut en déduire que les besoins de la perche fluviatile sont plus proches de ceux de la truite arc-en-ciel que ceux du saumon et du poisson chat qui ont des besoins plus faibles en leucine, thréonine et valine. L'observation selon laquelle "la somme des acides aminés essentiels plus la cystéine et la tyrosine fixée par le poisson représente 34 % des protéines totales digestibles" apparaît suffisamment fiable pour servir de guide dans l'élaboration rapide de formule alimentaire pour les poissons. En l'absence d'informations sur les besoins quantitatifs chez l'esturgeon blanc, Ng et Hung (1995) ont utilisé avec satisfaction cette même approche nutritionnelle rapportée chez les poissons pour estimer les besoins en acides aminés chez cette espèce.

Les transformations subies par l'aliment depuis la bouche jusqu'à la fixation des nutriments étant très complexes et sensibles à des variations, cette approche nutritionnelle mérite quand même d'être confirmée par la méthode classique universelle de doses-réponses, du moins pour certains acides aminés essentiels. Sont particulièrement concernés, la lysine, la thréonine, l'histidine, la méthionine et l'isoleucine dont l'estimation des

besoins par les méthodes subsidiaires, donne toujours de mauvais résultats (Wilson, 1989). Par ailleurs, la confrontation des résultats des besoins en acides aminés estimés avec cette approche, à d'autres méthodes récentes proposées par Wang et ses collègues (Wang *et al.*, 1989) pourrait s'avérer très intéressante en nutrition du poisson en général et celle de la perche fluviatile en particulier. Comme l'a rapporté Cowey (1993), la méthode de Fuller nécessite l'utilisation parfaite par le poisson des aliments expérimentaux composés avec des acides aminés cristallins. Ce qui semble particulièrement applicable aux Percidés. La croissance et le taux de conversion alimentaire des jeunes alevins de perchaude de 5 et 51 g, (*Perca flavescens*) étaient similaires et même améliorées sous un régime alimentaire à base d'acides aminés cristallins comme source dominante de protéines, comparé à ceux des alevins nourris avec un régime à base de caséine supplémentée avec l'arginine ou la gélatine (Brown *et al.*, in press).

### 3.3. Conclusion

Après une brève esquisse de l'approche physiologique et biochimique de la nutrition animale en général et celle du poisson en particulier, nous avons tenté de présenter l'état d'avancement des recherches en nutrition du poisson, avant de nous attarder sur les méthodes qui nous ont guidé dans nos expérimentations et l'exploitation des résultats obtenus.

Le poisson quoi que meilleur utilisateur de l'énergie alimentaire dans le monde animal, à cause de sa nature poikilotherme, n'échappe pas à la règle universelle de thermodynamique en matière de bilan bioénergétique de son organisme. En plus de leurs rôles constructeurs, les protéines interviennent qualitativement dans la fourniture d'énergie aux côtés des graisses et des hydrates de carbones plus qualifiés pour cette tâche. Les graisses sont aussi les sources d'acides gras essentiels. Elles assurent la fluidité membranaire des tissus et servent à transporter les vitamines liposolubles. Les vitamines et les sels minéraux ne sont en général pas produits par l'organisme, mais interviennent en de faible quantité pour assurer diverses fonctions (entretien, croissance, reproduction, etc.). Ils sont donc aussi des nutriments essentiels. L'eau véhicule différents nutriments (acides aminés, sels minéraux, vitamines hydrosolubles, etc.) à travers l'organisme et assure l'équilibre ionique et l'excrétion des éléments toxiques.

Les résultats des travaux expérimentaux de détermination des besoins nutritionnels chez la perche fluviatile la situent bien dans sa catégorie de poissons carnivores. Ses besoins en protéines digestibles qui avoisinent les 40 % de matière sèche chez les alevins et même 50 % chez les jeunes sevrés se situent très bien dans la gamme rapportée chez les poissons carnassiers en général. Son rationnement, fonction de son poids suit une relation du type  $y = 5,42 x^{-0,283}$ . Sa composition corporelle en

acides aminés apparaît semblable à celles des salmonidés et du poisson chat. Mais, ses besoins estimés en acides aminés essentiels (AAE) à partir de la méthode originale d'Ogino (1980), modifiée par une approche nutritionnelle récente plus cohérente "gain de ( $\Sigma$ AAE + Cys + Tyr) = 34 % de protéines digestibles ingérées par le poisson" la rapproche beaucoup plus de la truite arc-en-ciel. Les besoins estimés par cette approche méritent toutefois d'être affinés pour certains acides aminés par la fastidieuse méthode de doses-réponses reconnue jusqu'à présent comme la plus fiable. La lysine souvent limitant et l'histidine et l'isoleucine qui ont ici des valeurs élevées, comparées à celles rapportées pour les autres carnivores peuvent faire l'objet de cet affinement.

## **Discussion générale**

## 4. Discussion générale

L'objectif de ce travail était d'étudier les besoins nutritionnels de la perche fluviatile à différents stades de son développement en vue de permettre la mise au point d'un schéma d'alimentation pour son élevage intensif. Le milieu aquatique étant peuplé d'une multitude d'êtres vivants qui sont en relation permanente entre eux et avec leur milieu, il fallait caractériser la vie propre que mène la perche fluviatile dans cet ensemble complexe de mangeurs-mangés, en nous basant essentiellement sur ses préférences écologiques, sa reproduction, la dynamique de sa population, sa migration etc., mais surtout sa nutrition. Ces informations diverses sur la biologie de la perche, tirées de la littérature, nous ont guidé dans la capture de ses géniteurs et les conditions nécessaires à leur mise en stabulation pour favoriser les pontes. Des indications ont été aussi données sur les premiers soins à apporter aux larves après éclosion. C'est alors que commencèrent nos observations en vue d'étudier les besoins nutritionnels quantitatifs et qualitatifs de cette espèce. Les résultats obtenus nous ont amené à proposer des perspectives de recherches et des recommandations pour une perculture intensive.

Puisque la perche fluviatile n'a jamais fait l'objet d'élevage intensif, la recherche de ces conditions optimales d'élevage était apparue nécessaire pour connaître ses performances zootechniques. Celles-ci nous ont permis de mieux apprécier l'efficacité des différents aliments expérimentaux testés lors des études d'évaluation de ses besoins nutritionnels. Les larves élevées en étang avec du zooplancton ont présenté un taux maximum de croissance spécifique de 38 % jour<sup>-1</sup> à des températures de 16-18 °C (soit 1,7 mg ind.<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup>) la première semaine, contre 36 % jour<sup>-1</sup> à 21 °C (1,5 mg ind.<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup>) chez celles nourries en captivité avec des nauplii d'*Artemia*. Calculée sur 40 jours, la croissance des larves de perche en étang est d'environ 12,5 mg de gain de poids par individu par jour à température variant de 15 à 26 °C, contre une croissance maximale de 13 mg par individu par jour à température de 22-23 °C en 44 jours obtenue chez des larves nourries en étang bâché avec des nauplii d'*Artemia* (Mélard et Kestemont, 1994). Des résultats similaires (12 mg ind.<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup>) ont été obtenus par ces mêmes auteurs en élevage intensif en panier avec des larves nourries avec un régime à 100 % *Artemia* à une température de 22-23 °C. Ces résultats nous indiquent que la meilleure croissance de la perche au stade larvaire est d'environ 12 mg ind.<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup> et que son maintien en confinement (une haute densité) ne modifie pas cette performance.

Cependant, le taux de survie obtenu en étang est assez faible (7 %) et n'a pu être suivi en continu comme en élevage intensif. Quelle que soit la densité de mise en charge des œufs oeillés en étangs fertilisés (5 000, 10 000, 20 000 et 60 000 œufs par are), le taux de survie maximum au bout de 2 mois d'élevage a toujours été inférieur ou égal à 7 %. Un taux de survie comparable a été observé aux USA pour la perchaude (7,5 %)

dans des conditions d'élevage similaires (Kayes, 1977). Les faibles taux de survie observés chez ces percidés en étang : 7 à 7,5 % (contre 33 à 39 % en étangs bâchés) seraient probablement dus au cannibalisme. En effet, le cannibalisme a été estimé dans les populations de perches à près de 95,4 % (Smith et Reay, 1991). Le cannibalisme étant un facteur de contrôle de la disparité des tailles, les alevins produits en étang ont l'avantage d'être homogènes et présentent ultérieurement une meilleure croissance après sevrage à un aliment artificiel sec, comparée à celle des alevins nourris au stade larvaire avec des nauplii d'*Artemia*. Kestemont *et al.* (1996) ont noté un taux de croissance spécifique de 2,1 % jour<sup>-1</sup> sur aliment artificiel, chez des alevins de perche issus d'élevage extensif en étang, contre 1,58 % jour<sup>-1</sup> chez ceux nourris en élevage intensif avec des nauplii d'*Artemia*. De plus ce système de production est moins onéreux pour un propriétaire d'étangs et ne nécessite aucun effort particulier, à part le renouvellement périodique des fertilisants, suite à un contrôle hebdomadaire des éléments nutritifs des algues, notamment le phosphore et l'azote. La production d'alevins de tailles homogènes en élevage intensif nécessite l'alimentation des larves avec un régime de base, composé de proies minuscules (60 - 150 µm) comme les rotifères pour permettre aux larves de petite taille (ne pouvant consommer les nauplii d'*Artemia*) de se nourrir. Ce mode d'alimentation freine l'hétérogénéité qui s'installe très tôt dans les populations de perche, et par conséquent diminue le cannibalisme et favorise une bonne survie. Un taux de survie de près de 50 % en 2 semaines, a été obtenu dans la présente étude pour ce mode d'alimentation, contre 34 % avec un régime 100 % *Artemia*.

D'après Chappaz *et al.* (1989) et Guti (1993), les proies consommées par la perche fluviatile varient en quantité et en diversité spécifique avec sa croissance. Cette information nous a fait penser que, les meilleures croissances de la perche obtenues en début d'élevage larvaire en étang pourraient changer avec son développement. C'est pour cette raison que des tests d'alimentations comparées des larves prégressées (7,8 mg), avec des métranauplii d'*Artemia* enrichis, non enrichis, congelés et d'aliment artificiel sec, ont été conduits en conditions contrôlées parallèlement à l'élevage en étang. Nous avons constaté, que pour la même période d'élevage (21 jours), les alevins en étang avaient atteint le poids vif moyen de 140 mg, soit un taux de croissance spécifique de 13 % jour<sup>-1</sup> contre 12,5 et 11,2 % jour<sup>-1</sup> pour les alevins nourris en conditions contrôlées avec des métranauplii d'*Artemia* non enrichis (135 mg) et enrichis (100 mg). On voit que les taux de croissance des alevins produits de façon onéreuse et laborieuse en conditions contrôlées sont comparables, voire inférieurs à celui des alevins élevés en étang fertilisé avec beaucoup moins d'effort. Ces taux de croissance spécifique obtenus dans la présente étude pour les larves de la perche fluviatile prégressées, sont presque identiques au meilleur taux de croissance spécifique (12,7 % jour<sup>-1</sup>) rapporté chez des larves du carassin doré *Carassius auratus* de 8,3 mg, élevées dans les mêmes conditions avec un aliment de haute valeur nutritive (Fiogbé et Kestemont, 1995).



Par ailleurs, les taux de survie (75,8 et 71,7 %) sont semblables pour les alevins nourris avec des *Artemia* enrichies et non enrichies. En situation de forte demande d'alevins de perche, on peut alors se passer de la technique d'enrichissement des *Artemia* en (n-3) HUFA communément utilisée en alevinage des poissons marins (Fujii *et al.*, 1976; Watanabe *et al.*, 1982). Le matériel utilisé pour l'enrichissement est en effet assez coûteux et la méthode d'enrichissement nécessite du temps et de la main d'oeuvre supplémentaire en élevage à grande échelle.

La grande variabilité des activités des enzymes digestives obtenues chez les larves au début de leur sevrage à un aliment artificiel est en parfaite adéquation avec celle rapportée chez les larves du bar *Dicentrarchus labrax* (Zambonino Infante et Cahu, 1994). Ces variabilités diminuent avec le développement de la perche fluviatile, comme chez les larves du bar. C'est probablement ce qui explique l'amélioration croissante des performances de croissance et de survie des larves de la perche à des sevrages tardifs. Les larves sevrées précocement ont un taux de survie très faible, mais les poissons survivants développent une adaptation sur l'aliment artificiel, supérieure à celle des poissons sevrés à des tailles plus élevées. Par exemple, les lots des poissons sevrés à 50 mg ont des taux de survie et de croissance spécifique de 39,6 % et de 6,8 % jour<sup>-1</sup> contre 90 % et 6,3 % jour<sup>-1</sup> respectivement, chez ceux sevrés à 500 mg. Une moindre variation des activités enzymatiques en général a été notée à partir du sevrage à 300 mg, correspondant à une amélioration importante de la croissance (6,2 % jour<sup>-1</sup>) et de la survie (49 %). Ce poids de 300 mg peut logiquement être considéré comme celui de passage effectif des larves de la perche fluviatile à un aliment artificiel, car il fait bien le compromis entre le coût de production, la survie et la biomasse des alevins produits. Pour le sevrage à 300 mg par exemple, 582 g d'*Artemia* ont été distribués contre 822 g au sevrage à 500 mg. Des sevrages plus précoces (100 à 150 mg par exemple) peuvent être envisagés pour faire des bénéfices, si le besoin en alevins n'est pas très élevé. Des sevrages plus sévères à des poids inférieurs à 50 mg peuvent être utilisés comme technique de production de souches de la perche fluviatile zootechniquement plus performantes.

La chronologie des travaux nous a été imposée par le caractère annuel de la reproduction de la perche. La campagne débute progressivement en janvier avec la constitution de stock d'algues microscopiques afin de produire en continu des rotifères pour nourrir les larves qui vont éclore en avril. On enchaîne ensuite avec les expériences de sevrage précoce à un aliment artificiel sec. Les larves sevrées sont aussitôt programmées pour les expériences d'évaluation des besoins nutritionnels (ration et besoins en protéines). Les analyses biochimiques ne sont possibles qu'en fin de campagne (septembre à décembre).

Cette contrainte dans l'enchaînement des travaux et/ou la réalisation simultanée de plusieurs expériences, nous a imposé parfois la conduite des tests d'alimentation en duplicats, plutôt qu'en triplicats, compte tenu du nombre limité des bacs d'élevage. La plupart des tests d'évaluation de

la ration alimentaire chez les alevins de moins de 5 g ont été par exemple réalisés en duplicat. Cependant, le temps relativement court (3 à 4 semaines maximum) que nécessite ces expériences d'évaluation de la ration et le suivi particulièrement rigoureux des paramètres de la qualité de l'eau d'élevage (température, oxygène dissous, pH, nitrites) que nous nous sommes imposés pendant l'élevage, nous ont amené à des résultats assez satisfaisants. Ces résultats obtenus isolément chez différents stades d'alevins, répondent ensemble à une relation de type :

$$\text{Log (ration optimale (\% \text{ poids}))} = -0,283 \text{ Log (poids (g))} + 0,734$$

avec une forte corrélation ( $r^2 = 0,987$ ) d'où

$$\text{ration}_{\text{opt}} (\%) = 5,42 \text{ poids (g)}^{-0,283}.$$

Cette relation est du même type que celle rapportée par Mélard *et al.* (1995) pour les mêmes stades de développement de la perche fluviatile ( $\text{ration}_{\text{opt}} (\%) = 3,30 \text{ poids (g)}^{-0,24}$ ).

Le protocole expérimental d'exécution des travaux d'évaluation des besoins en protéines chez la perche dans la présente étude est en parfaite conformité avec celui suivi pour la conduite de la plupart des travaux de même type (Kaushik *et al.*, 1991; Arzel *et al.*, 1995). Six niveaux croissants de protéines alimentaires ont été régulièrement testés et tous nos aliments expérimentaux ont le même taux d'énergie. Cependant, les recommandations de EIFAC (1993) n'ont pu être strictement respectées dans le cadre de cette étude à cause de l'impossibilité d'obtenir deux fois dans la même année, des alevins de mêmes poids issus de la même souche. D'après les recommandations de EIFAC (1993), les besoins en protéines chez les poissons doivent être réalisés en triplicats sur au moins 6 niveaux différents de protéines alimentaires et les résultats doivent être affinés par une répétition de l'expérience dans des conditions similaires. A l'exception de l'expérience de détermination des besoins en protéines chez les alevins de 0,3 g, démarrée avant la fin de celle du sevrage, et donc limitée par la disponibilité des bacs, tous les taux croissants de protéines brutes alimentaires testés pour les 2 autres stades (3 et 16 g), ont été tripliqués conformément à ces recommandations générales de EIFAC (1993). La même rigueur observée dans la conduite de l'élevage concernant l'évaluation des rations, a été adoptée pour le suivi de l'expérience de détermination des besoins en protéines chez les alevins de 0,3 g.

Par ailleurs, les aliments expérimentaux ont été formulés en se basant sur les résultats de besoins en protéines rapportés chez d'autres poissons carnivores, tels la truite arc-en-ciel (Zeitoun *et al.*, 1976; Wilson, 1989); le saumon atlantique (Austreng, 1977) et le poisson chat américain *I. punctatus* (Wilson et Poe, 1985). Or, des études nutritionnelles ont montré que les aliments formulés avec une source de protéines simulée pour avoir le même profil en acides aminés essentiels que celui du corps entier de l'espèce à étudier, sont de qualité excellente. Ce profil idéal en acides aminés essentiels de la source de protéines de

base n'a pu être réalisé au début de la formulation de nos aliments expérimentaux, le matériel de dosage des acides aminés ayant fait cruellement défaut à ce stade de notre travail. Cependant, à défaut de pouvoir définir par analyse la qualité idéale de nos aliments, nous avons choisi pour nos formules alimentaires, des ingrédients de haute qualité nutritionnelle. La caséine est reconnue comme riche en tous les acides aminés, excepté l'arginine (Brown *et al.*, 1995). En la combinant lors de nos premières formules alimentaires avec la levure et la farine de morue qui sont des sources de protéines assez équilibrées en acides aminés, nous avons probablement constitué une base de protéines de bonne qualité. Les alevins nourris avec les régimes à taux élevés en protéines (40 à 60% protéines) ont en effet doublé leur poids moyen, passant ainsi de 2,9 à 7 g. Le besoin en protéines brutes déterminé chez la jeune perche de 3 g à l'aide de ces aliments expérimentaux est d'environ 40 %, similairement aux besoins en protéines rapportés chez la truite arc-en-ciel, le saumon atlantique et le poisson chat américain (Wilson, 1989). La qualité des aliments expérimentaux a été améliorée pour les dernières formules alimentaires, par une combinaison de la caséine avec de la gélatine (riche en arginine) afin d'éliminer une éventuelle déficience en arginine dans les nouveaux aliments expérimentaux. Le meilleur taux de croissance spécifique de 6 % jour<sup>-1</sup> obtenu chez les alevins de 0,3 g nourris avec ces derniers aliments (Tableau 3.20) est comparable à celui de 6,2 % jour<sup>-1</sup> rapporté chez les alevins de *Oreochromis niloticus* de 41 mg nourris avec un régime bien équilibré (Santiago et Lovell, 1988). Cette croissance des alevins de perche, semblable à celle d'alevins de poids inférieur, du tilapia *O. niloticus* connu pour ses hautes performances zootechniques en pisciculture, témoigne bien que nos aliments sont d'une qualité excellente.

Les résultats des dosages en acides aminés des 2 séries d'aliments ont en fait montré, que les variations de la composition en acides aminés des premiers aliments étaient numériquement plus vraisemblables que celles des derniers (Figure 3.33). Les teneurs en acides aminés des premiers aliments, exprimées en pourcentage de matière sèche, augmentent logiquement avec le taux de protéines des aliments, la source des protéines étant identique.

Cependant, les compositions corporelles en acides aminés des poissons nourris avec les aliments expérimentaux contenant les meilleurs taux de protéines brutes, comparées avec celles des poissons nourris avec du zooplancton sont très semblables. Ces observations mises en rapport avec les précédentes laissent penser à un éventuel problème de dosage des derniers aliments. Mais, tenant compte de la très bonne résolution des pics de chromatographie (Figure 4.1), nous sommes tentés d'attribuer ce problème de dosage au piégeage de certains acides aminés comme la lysine par caramélisation des sucres lors du processus de fabrication des aliments. Les fortes quantités de glucose utilisées dans ces aliments (Tableaux 3.15 et 3.16) à la place de la cellulose souvent rapportée pourraient être une cause probable de ces piégeages.

L'objectif visé en utilisant le glucose était d'assurer une bonne digestibilité aux aliments expérimentaux. Cet objectif a été heureusement atteint, car la digestibilité des aliments est en général élevée (76 à 96 %).

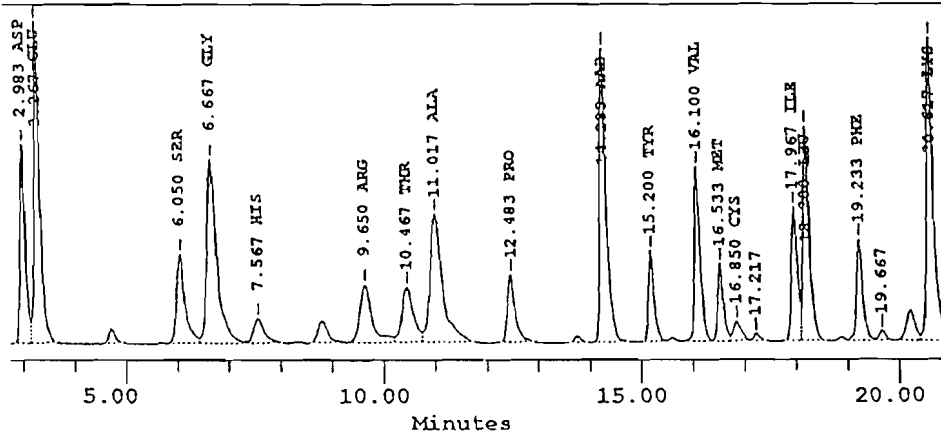


Figure 4.1. Exemple de pics de chromatographie obtenus en général au cours des éluions des acides aminés de nos échantillons

L'approche nutritionnelle utilisée ici pour estimer les besoins en acides aminés chez la perche fluviatile a été suffisamment testée et confirmée chez beaucoup d'espèces (NRC, 1993). Nous pouvons citer entre autres les travaux de Arai et Ogata (1994) chez le saumon *Oncorhynchus kisutch*, Akiyama et Arai (1993) chez le saumon *Oncorhynchus keta*, Borlongan et Coloso (1993) chez *Chanos chanos*. Les aliments ayant été distribués en excès dans le cadre des expériences de détermination des besoins en protéines conformément aux recommandations de EIFAC (1993) (les taux de conversion alimentaire élevés), les résultats ne sauraient être utilisés pour le calcul des besoins en acides aminés chez les perches nourries. Cette approche nutritionnelle est basé sur le principe selon lequel :

$(\Sigma \text{AAE} + \text{Cys} + \text{Tyr}) \text{ fixés} = 34 \% \text{ des protéines digestibles ingérées}$

Les besoins en acides aminés essentiels ont été calculés dans la présente étude avec cette approche, en nous basant sur les résultats des performances zootechniques et la composition corporelle en acides aminés des poissons élevés en étang avec du zooplancton (Tableau 3.22). Ces besoins en acides aminés essentiels estimés pour la perche fluviatile apparaissent assez comparables à ceux déterminés chez d'autres espèces de mêmes habitudes alimentaires (Tableau 3.23), avec la méthode classique de dose-réponse. Ils confirment par conséquent la crédibilité de cette approche. Les besoins en quelques acides aminés essentiels tels que

la lysine et l'histidine souvent déficients pourraient être déterminés par la méthode classique de dose-réponse pour vérifier la fiabilité de la méthode chez la perche fluviatile.

Somme toute, l'objectif que nous nous sommes fixés au début de la présente étude semble être atteint. Les résultats obtenus depuis l'habituation précoce des larves de la perche fluviatile à l'aliment artificiel jusqu'à la détermination de ses besoins alimentaires quantitatifs et qualitatifs, voire l'estimation de ces besoins en acides aminés essentiels, constituent des informations clés dans le cadre de la mise au point d'un schéma d'alimentation optimale pour son élevage intensif.

Des études supplémentaires peuvent toutefois être envisagées pour faire toute la lumière sur les besoins nutritionnels de la perche fluviatile et les possibilités de son élevage intensif. Il s'agira notamment :

- d'étudier ses besoins en lipides et en acides gras,
- de rechercher son niveau maximum de tolérance à l'incorporation des hydrates de carbones dans son alimentation en vue d'augmenter la marge bénéficiaire des periculteurs,
- et surtout de faire l'étude prévisionnelle de ses épidémies en élevage confiné et rechercher les mesures curatives possibles.

## **Résumé et conclusions**

## **Résumé et conclusions**

## 5. Résumé et conclusions

L'objectif de ce travail était d'étudier les besoins nutritionnels chez la perche fluviatile en vue de permettre la mise au point d'un schéma d'alimentation pour son élevage intensif.

La capacité importante d'adaptation de la perche fluviatile à un large éventail de paramètres écologiques nous a amené à rechercher les conditions optimales de son élevage. En effet, la croissance de la perche en élevage sera comme celle de toutes les autres espèces piscicoles, le résultat d'une série de processus comportementaux et physiologiques qui commencera par la consommation d'aliment et finira par le dépôt de substances corporelles (Brett, 1979). L'étude des besoins nutritionnels de la perche fluviatile nous impose donc la connaissance des conditions optimales (milieu d'élevage et préférendum écologiques) de sa croissance pour mieux apprécier les performances zootechniques des aliments à lui apporter. Il est connu par exemple que l'augmentation de la température accélère la vitesse de digestion et entraîne l'augmentation du taux d'ingestion de l'aliment. Aussi, une bonne oxygénation assure le métabolisme des aliments ingérés, et par conséquent une bonne croissance et survie des poissons (De Silva et Anderson, 1995).

Par ailleurs, la perche ne pouvant être élevée de façon rentable avec uniquement des proies vivantes comme dans son environnement naturel, la recherche de la taille effective de son passage précoce à un aliment artificiel a constitué une étude préalable à celle de ses besoins nutritionnels. Ainsi, toutes les recherches de besoins nutritionnels effectuées au cours de nos travaux sont exclusivement basées sur des jeunes perches parfaitement habituées à l'aliment artificiel sec. Pour une bonne gestion du temps dont nous avons disposé pour ces travaux, l'essentiel des études de besoins nutritionnels a porté sur la détermination de la ration journalière et sur les besoins en protéines et en acides aminés.

Somme toute, la production extensive d'alevins de perche fluviatile en étangs fertilisés apparaît intéressante pour son coût et le moindre effort qu'elle nécessite, mais la survie en fin d'élevage est très faible (7 %) et incontrôlable. Toutefois, la production semi-intensive ou intensive en eaux vertes dans des étangs bâches avec apport d'*Artemia* substituée progressivement par de l'aliment sec semble de loin la plus fiable. Elle permet une maîtrise de l'environnement aquacole (température, oxygène dissous, pH etc.) et un taux de survie élevé (40 %) (Mélard et Kestemont, 1994; Kestemont et al., 1995), contrairement à la production en étangs. Elle a cependant l'inconvénient d'être onéreuse pour sa consommation massive d'*Artemia*. De plus, la production intensive en bassins bâches entraîne parfois des épidémies d'origine bactérienne.

Les paramètres zootechniques obtenus en fin d'élevage pour les transferts à différents poids des larves de la perche fluviatile sur aliment artificiel sec, indiquent que le sevrage tardif améliore la survie. Le sevrage



précoce entraîne des mortalités massives, mais les poissons survivants montrent une adaptation importante caractérisée par une croissance comparable à celle des poissons élevés avec des aliments vivants. Le sevrage précoce peut, de ce fait, permettre de créer des souches résistantes de géniteurs et d'alevins en perculture. L'examen des capacités digestives des larves sevrées à différents poids, montre une bonne stabilité des enzymes digestives pour le transfert d'*Artemia* sur aliment sec à partir de 300 mg de poids moyen. Cette observation ajoutée aux taux de survie et de croissance élevés en fin d'élevage pour le transfert à ce poids (300 mg), indique qu'il peut représenter un poids effectif de sevrage de la perche fluviatile à un aliment artificiel sec.

Comme pour la plupart des poissons de pisciculture, le poids de la perche fluviatile a un effet sur sa ration optimale. Celle-ci varie avec son poids suivant l'équation :  $\text{Log}(\text{ration}_{\text{opt}}) = -0,283 (\text{Log}(\text{poids})) + 0,734$ .

D'où :  $\text{ration}_{\text{opt}} (\%) = 5,42 \text{ poids (g)}^{-0,283}$ .

Cette relation est du même type que celle rapportée par Mélard *et al.* (1995) pour les mêmes stades de développement de la perche fluviatile ( $\text{ration}_{\text{opt}} (\%) = 3,30 \text{ poids (g)}^{-0,24}$ ).

La teneur en protéines et en acides aminés de son régime alimentaire a un effet hautement significatif sur ses performances zootechniques et sa composition biochimique corporelle. Ses besoins en protéines étudiés à trois stades différents indiquent un taux de 50 % du régime sec pour les jeunes poissons de 0,5 g environ de poids moyen, mais à partir d'un poids moyen de  $\pm 3$  g et plus, ses besoins se stabilisent à  $\pm 40$  % de l'aliment sec.

La composition en acides aminés du corps entier des alevins de perche fluviatile élevés dans du zooplancton en étang fertilisé ne change pas au cours de son développement et est très similaire à celle de la truite arc-en-ciel, du saumon atlantique et du poisson chat américain. Toutefois, ses besoins estimés en acides aminés à partir d'une approche nutritionnelle assez fiable (le gain corporel en acides aminés essentiels y compris la tyrosine et la cystéine est égal à 34 % de la quantité totale de protéines digestibles consommées), la rapprochent plus de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).

Les différents résultats obtenus constituent des informations clés dans le cadre de la mise au point d'un schéma d'alimentation optimale pour l'élevage intensif de la perche fluviatile.

Des études supplémentaires sont toutefois nécessaires pour faire toute la lumière sur les besoins nutritionnels de la perche fluviatile et les possibilités de son élevage intensif. Il s'agira notamment :

- d'étudier ses besoins en lipides et en acides gras,
- de rechercher son niveau maximum de tolérance à l'incorporation des hydrates de carbones dans son alimentation en vue d'augmenter la marge bénéficiaire des periculteurs,

- et surtout de faire l'étude prévisionnelle de ses épidémies en élevage confiné et rechercher les mesures curatives possibles.

## 5. Summary and conclusions

The aim of the present work has been to design an feeding program for river perch in intensive culture conditions.

The good capacity of adaptation of the river perch *Perca fluviatilis* to a wide range of ecological conditions, led us to investigate for the optimal conditions of its rearing. Effectively the growth of the perch, like it is the case for other species, will be the result of a series of behavioral and physiological processes, which begin with the consumption of feed and ends with the synthesis of body matter (Brett, 1979). The study of nutritional needs in the river perch, implies the knowledge of the optimal conditions of its growth (breeding sites, ecological preferences) to better appreciate the quality of the nutrients foodstuffs to be given. It is known for example that an increase in temperature fastens the speed of digestion and so increases the ingestion rate of the food. A good oxygenation also facilitates the metabolism of the feed consumed, and favors both growth and survival of the fish (De Silva et Anderson, 1995). On the other hand, since the perch cannot be reared in a efficient way with only live preys, like it does in its natural environment, the size at which it can switch to an artificial feed had to be studied before its nutritional requirements could be investigated. So, all our studies on nutritional needs were done on young perches which are perfectly adapted to artificial dry diet. Considering the time we had for our study, our main work was based on the determination of the daily ration and on the proteins and amino acids requirements.

Overall, the extensive production of juveniles size of river perch in fertilized ponds seems attractive due to the little efforts it requires and to its low cost for those who have their own ponds, but the survival at the end of the breeding process is low (7%) and cannot be controled. But, semi-intensive or the intensive production in green water in canvas covered ponds using the live feed *Artemia*, progressively replaced by dry feed seems the more reliable method (Mélard et Kestemont, 1994; Mélard *et al.*, 1995). It allows a good control of the aquatic environment (temperature, dissolved oxygen pH etc.) and a higher survival rate (40%), which was not the case in pond production. They have the inconvenient to be too expensive because of the high consumption of *Artemia*. Also, the intensive production in canvas covered ponds is sensitive to the outbreak of bacteriological epidemics.

The zootechnical parameter obtained at the end of the breeding process for the weaning at different weight of the perch larvae to an artificial dry diet, showed that a late weaning improves the survival rate. Early weaning induced a high mortality, but the fishes which survived, showed a great adaptation, characterized by a growth rate similar to fishes reared with live prey. Early weaning can thus be used to select resistant strains for breeders and juveniles in perciculture. The study of the

digestive capacities of larvae weaned at different weights, showed that a good stability of digestive enzymes for the switch from *Artemia* to dry aliments is obtained from 300 mg of average weight on. This observation, combined with the high survival and growth rates at the end of breeding period for the switch at this weight (300 mg), shows that this is an effective weaning weight of the river perch to artificial dry diet.

Like other species of fish culture, the weight of the river perch has an effect on its optimal ration. The optimal ration varies with its weight following the equation :

$$\text{Log (optimal ration)} = -0.283 (\text{Log (weight)}) + 0.734 \text{ where :}$$

$$\text{Optimal ration (\%)} = 5,42 \text{ poids (g)}^{-0,283}$$

The contents in proteins and amino acids in its diet has a highly significant effect on its zootechnical performances and on its biochemical body composition. Its proteins requirement studied at three different stages, showed a rate of 50% of the dry feed in the young fish of 0.5 g of average weight, but from an average weight of  $\pm 3$  g and more, its need stabilized at  $\pm 40$  % of dry feed.

The composition of amino acids in the whole body of river perch juveniles, reared in fertilized ponds with zooplankton does not vary during its development and is very similar to the one recorded in rainbow trout, atlantic salmon and cat fish. But, its amino acids requirements estimated by the method of Ogino (1980), modified by other nutritional approaches which are more reliable, bring the river perch closer to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

The results obtained in this study can be used as accurate informations to establish an alimentation program for feeding of river perch in intensive breeding.

Further studies will be recommended to increase the knowledge of nutritional requirements of perch to ensure the possibilities of its intensive breeding. It can imply for example:

- the study of lipids and fatty acids requirements,
- research of the maximal rate of tolerance for incorporating carbohydrates in river perch feed, to increase the benefit of fish farmers
- and especially the predictive study of epidemic in closed breeding conditions of the river perch and the search for potential curative methods.

# **Bibliographie**

## 6. Bibliographie

- Abi-ayad S-M. E-A., and Kestemont P. (1994).** Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet. *Aquaculture*, 128 : pp. 163-173.
- Abi-ayad S-M. E-A., Mélard C. and Kestemont P. (1995).** Effect of n-3 fatty acid in European perch (*Perca fluviatilis*) broodstock diet on survival of larvae after stress tests. In : LARVI'95 - Fish & Shellfish symposium, P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 12-15.
- Age R. and Krogh A. (1914).** On the relation between the temperature and the respiratory exchange in fishes. *Int. Revue ges. Hydrobiol. Hydrogr.* 1 : pp. 48-55.
- Akiyama T., Arai S., Murai T. and Nose T. (1985).** Tryptophan requirement of chum salmon fry. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51 : pp. 1005-1008.
- Akiyama T. and Arai S. (1993).** Amino acid requirements of chum salmon fry and supplementation of amino acids to diet. In : Proceedings of the Thentieth U.S.-Japan Symposium on Aquaculture Nutrition (Collie. M.R. & McVey. J.P. eds). Pp.35-48. UJNR, Department of commerce. Newport, or USA.
- Albrecht M.L., Steffens W. and Schnicknick H. (1977).** In : Dabrowski K. (1984b). Influence of initial weight during the change from live to compound diet on the survival and growth of four cyprinids. *Aquaculture* 40 : pp. 27-40.
- Alderdice D.F., Rosenthal H. and Velsen F.P.J. (1979).** Influence of salinity and cadmium on the volume of Pacific herring eggs. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 32 : pp. 163-178.
- Allen K.R. (1935).** The food and migrations of the perch in Windermere. *J. Anim. Ecol.* 4 : pp. 264-273.
- Alliot E., Pastoureaud A. and Trelu J. (1977).** Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar *Dicentrarchus labrax*. Variation des protéinogrammes et des zymogrammes. *Actes de colloques CNEXO* 4 : pp. 85-91.
- Alliot E. (1980).** Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar *Dicentrarchus labrax*. Variation des protéinogrammes et des zymogrammes. *Biochimie (Paris)* 3 : pp. 441-445.
- Allred M.C. and MacDonald J.L. (1988).** Determination of sulfure amino acids and tryptophan in foods and feed ingredients : collaborative study. *J. Assoc. Off Anal Chem.*, Vol. 71, No. 3 : pp. 603-604.
- Amirante G.A. (1972).** Immunochemical studies on rainbow trout lipovitellin. *Acta Embryol. Exp. Suppl.* : pp. 373-383.
- Anson M.L. (1938).** The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Of General Physiol.* 22 : pp. 79-89.

- Anwand K., Mende R., Schlumpberger W., Hillendrand M. and Liebenau H. (1976).** In : Dabrowski K. (1984b). Influence of initial weight during the change from live to compound diet on the survival and growth of four cyprinids. *Aquaculture* 40 : pp. 27-40.
- Appelbaum S. (1989).** Can inert diets be used more successfully for feeding larval fish? (Thoughts based on indoor feeding behavior observations). *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 36 : pp. 435-437.
- Appelberg M. and Angström, C. (1995).** Individual growth of perch (*Perca fluviatilis*) as a measure of environmental stress in lakes. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts, pp. 13.
- Arai S. (1981).** A purified test diet for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, fry. *Bull. Jpn. Soc. sci. Fish.*, 47 : pp. 547-550.
- Arai S. (1991).** Eel, *Anguilla* spp. In R.P. Wilson (ed), *CRC Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*, pp. 69-75. Boca Raton : CRC Press, Boca Raton.
- Arai S. and Ogata H. (1993).** Quantitative amino acid requirements of fingerling coho salmon. In : Proceedings of the Thentieth U.S.-Japan Symposium on Aquaculture Nutrition (Collie. M.R. & McVey. J.P. eds). Pp.19-28. UJNR, Department of commerce. Newport, or USA.
- Arnal A. (1993).** Monographie : La Perche (*Perca fluviatilis*), le Sandre (*Lucioperca lucioperca*), le Brochet (*Esox lucius*). Diplôme d'Agronomie Approfondie : ENSA Rennes.
- Arrignon J. (1976).** Aménagement écologique et piscicole des eaux douces. 3è édition, Paris, Bordas : 340 pp.
- Arzel J., Métailler R., Kerleguer Ch., Le Delliou H. and Guillaume J. (1995).** The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry. *Aquaculture*, 130 : pp. 67-78.
- Ashraf M., Bengtson D.A. and Simpson K. (1993).** Effects of dietary fatty acid enrichment on survival, growth, and salinity-stress-test performance of inland silversides. *The Progressive Fish-culturist* 55 : pp. 280-283.
- Astephen N. And Wheat T. (1993).** An amino acid analysis method for assessing nutritional quality of infant formulas. Mettler-Toledo products PITCON BOOTH 4930, Circle reader service card No. 150 : pp. 24-27.
- Atay D. (1989).** Turkish protein sources and possibilities of use in fish rations. In N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors & N. Wilkins (eds), *Aquaculture - a biotechnology in progress* : 609-614. Bredene : European Aquaculture Society.
- Austreng E. (1976).** Fat and protein in diets for salmonid fishes. I. Fat content in dry diets for salmon parr, (*Salmon salar*, L.), *Meld. Norg. Landbr. Hogsk.*, 55, 1.
- Austreng E. (1977).** Fat and protein in diets for salmonoid fishes.IV. Protein content in dry diets for salmon parr (*Salmo salar*, L.). *Meld. Norg. Landbr. Hogsh.*, 56 : pp. 1-10.

- Austreng E. and Storebakken T. (1984).** Practical formulation of salmonid diets with emphasis on fat and protein. Acts of the Norwegian-French Workshop on Aquaculture, Brest, Dec. 5-8 1984.
- Awaïss A. (1991).** Eco-physiologie, production en masse et potentialités en larviculture du rotifère d'eau douce *Brachionus calyciflorus* Pallas. Tropicultura 9 (4) : pp.173.
- Awaïss A., Kestemont K. and Micha J.C. (1992).** Nutritional suitability of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas for rearing freshwater fish larvae. J. Appl. Ichthyol., 8 : pp. 263-270.
- Awaïss A., Kestemont P. and Micha J.C. (1992).** An investigation into the mass production of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. An eco-physiological approach to nutrition. Aquaculture 105 : pp. 325-336.
- Bai S.C. and Gatlin D.M. (1992).** Present and future use of computer linear programming for fish feed formulations in the United States. Korean J. of Anim. Nutr. Feedstuff, 16 : pp. 93-104.
- Bai S.C. and Gatlin D.M. (1994).** Effects of L-lysine supplementation of diets with different protein levels and sources on channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). Aquaculture and Fisheries Management, 25 : pp. 465-474.
- Balon E.K. (1977).** Early ontogeny of *Labeo trophus* Ahl, 1927 (Mbuna, Cichlidae, Lake Malawi), with a discussion on advanced protective styles in fish reproduction and development. Env. Biol. Fishes, 2 : pp. 147-176.
- Barrows F.T. and Lellis W.A. (1996).** Diet and nutrition. Pp. 315-321 in R.C. Summerfelt (Edit.). Walleye culture manual. NCRAC Culture Series 101. North Central Regional Aquaculture Center Publications Office, Iowa State University, Ames.
- Bauer O.N. (1962).** Ecology of the parasites of freshwater fish. Interrelationships between the parasite and its habitat. Israel Program Sci. Transl. Cat. No. 622 : pp. 149-170.
- Beacham T.D. and Murray C.B. (1985).** Effect of female size, egg size and water temperature on developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from the Nitinat River, British Columbia. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42 : pp. 1755-1765.
- Beamish F.W.H. (1974).** Apparent specific dynamic action of largemouth bass (*Micropterus salmonides*). J. Fish. Res. Bd Can. 31 : pp. 1763-1769.
- Beamish F.W.H. (1979).** Migration and spawning energetics of the anadromous sea lamprey (*Petromyzon marinus*). Env. Biol. Fish. 4 : pp. 3-7.
- Beamish F.W.H. (1980).** Swimming performance and oxygen consumption of the charrs. In Charrs (Edited by Balon E.K.), Vol. 1 : pp. 739-748.
- Beams H.W. and Kessel R.G. (1973).** Oocyte structure and early vitellogenesis in the trout *Salmo gairdneri*. Am. J. Anat., 136 : pp. 105-122.
- Bein R. and Ribí G. (1994).** Effects of larval density and salinity on the development of perch larvae (*Perca fluviatilis* L.). Aquatic Sciences 56/2 : pp. 97-105.



- Bengtson D.A. (1993).** A comprehensive program for the evaluation of artificial diets. *Journal of the World Aquaculture Society* Vol. 24, No. 2 : pp. 285-293.
- Bergot P. (1981).** Structure et fonctions des caecae pyloriques. In M. Fontaine (Ed.) *Nutrition des poissons, Actes de Colloque C.N.E.R.N.A. Paris mai 1979* : pp. 45-53.
- Berzins B. (1949).** On the biology of the Latvian perch (*Perca fluviatilis* L.). *Hydrobiologia* 2 : pp. 64-71.
- Best C.D. (1981).** Initiation of artificial feeding and the control of sex differentiation in yellow perch, *Perca flavescens*. Masters Thesis, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI : pp. 1-44
- Bisbal G.A. and Bengtson D.A. (1995).** Development of the digestive tract in larval summer flounder. *Journal of Fish Biology* 47 : pp. 277-291.
- Blaxter J.H.S. and Hempel G. (1963).** The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.) *J. Cons. perm. int. Explor. Mer.*, 28 : pp. 211-240.
- Blaxter J.H.S. (1969).** Development : Eggs and larvae. In "Fish Physiology" (W.S. Hoar and D.J. Randall, eds.), Vol. 3 : pp 177-252.
- Blaxter J.H.S. and Ehrlich K.F. (1974).** Changes in behaviour during starvation of herring and plaice larvae, in the early life history of fish (ed. J.H.S. Blaxter) Springer, Heidelberg : pp. 575-588.
- Böhling P. (1995).** Migrations of perch (*Perca fluviatilis*L.) in a Baltic Archipelago. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts : pp. 20.
- Borlongan I.G. and Coloso R.M. (1993).** Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids. *J. Nutr.* 123 : pp. 125-132.
- Brett J.R. (1962).** Some considerations in the study of respiratory metabolism in fish, particularly salmon. *J. Fish. Res. Bd Can.* 19 : pp. 1025-1038.
- Brett J.R., Shelbourn J.E. and Shoop C.T. (1969).** Growth rate and body composition of fingerling sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, in relation to temperature and ration size. *Fish. Res. Board Can.*, 26 : pp. 2363-2393.
- Brett J.R. (1972).** The metabolic demand for oxygen in fish, particularly salmonids and a comparison with other vertebrates. *Resp. Physiol.* 14 : pp. 151-170.
- Brett J.R. (1979).** Environmental factors and growth. In W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (Eds), *Fish physiology*, vol.8, 599-675. Academic Press, New York.
- Brett J.R. and Groves T.D.D. (1979).** Physiological energetics. In : W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (Eds), *Fish physiology*, vol.8, 279-352. Academic Press, New York.
- Briggs G.M. and Calloway D.H. (1973).** Nutrition and physical fitness. *Bogert's tenth edition.* Saunders college publishing Philadelphia : pp 1-369.

- Brody S. (1945).** Bioenergetics and growth, p. 1023. Reinhold, reprinted 1974 by Hafner Press, New York.
- Bromley P.J. (1980).** Effect of dietary protein, lipid and energy content on the growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 19 : pp. 359-369.
- Brown E.E. (1977).** World fish farming: cultivation and economics, AVI Publ. Cpy, In, Westport : 397p
- Brown M.L., Nematipour G.R. and Gatlin D.M., III (1992).** Dietary crude protein requirement of hybrid striped bass at different salinities. *Prog. Fish-Cult.*, 54 : pp. 148-156.
- Brown P., Dabrowski K. and Garling D. (1995).** Nutritional requirements and commercial diets for yellow perch. In : P. Kestemont and K. Dabrowski (Editors), Workshop on Aquaculture of Percids, Presses Universitaires de Namur, Belgium : pp 42-43.
- Brown P.B. (1995).** Physiological adaptations in the gastrointestinal tract of Crayfish. *Amer. Zool.*, 35 : pp. 20-27.
- Brown P., Dabrowski K. and Garling D. (1996).** Nutrition and feeding of yellow perch *Perca flavescens*. *J. Appl. Ichthyol.* (in press).
- Bryant P.L. and Matty A.J. (1981).** Adaptation of (*Cyprinus carpio*) larvae to artificial diet. Optimum feeding rate and adaptation age for a commercial diet. *Aquaculture*, 23 : pp. 275-286.
- Bryant P.L. and Matty A.J. (1981).** Adaptation of carp (*Cyprinus carpio*) larvae to artificial diets. Optimum feeding rate and adaptation age for commercial diet. *Aquaculture* 21 : pp. 203-211.
- Bucke D. Cawley G.D., Craig J.F., Pickering A.D. and Willoughby L.G. (1979).** Further studies of an epizootic of perch, *Perca fluviatilis* L. Of uncertain aetiology. *J. Fish Dis.* 2 (4) : pp. 297-311.
- Buddington R.K. and Diamond J.M. (1989).** Ontogenic development of intestinal nutrients transporters. *Ann. Rev. Physiol.*, 51 : pp. 601-619.
- Buhler D.R. and Halver J.E. (1961).** Nutrition of salmonoid fishes. IX. Carbohydrate requirements of chinook salmon. *J. Nutr.*, 74 : pp. 307-318.
- Bun NG T. and Idler D.R. (1983).** Yolk formation and differentiation in Teleost fishes. In : W.S. Hoar, D.J. Randall & E.M. Donaldson (Editors), *Fish physiology*, volume IX, Reproduction, part A, Endocrine tissues and Hormones : pp. 373-404.
- Bykhovskaya I.E., Gusev A.V., Dubinina M.N., Izyumova N.A., Smirnova T.S., Sokolovskaya I.L., Shtein G.A., Shulman S.S. & Epshtein V.M. (1964).** Key to Parasites of Freshwater Fish of the URSS. Israel Program Sci. Transl. Cat. No 1136 : pp. 149-162.
- Caceres-Martinez C., Cadena-Roa M. and Metailler R. (1984).** Nutritional requirements of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). I. A preliminary study of protein and lipid utilization. *J. World Maricult. Soc.*, 15 : pp. 191-202.

- Cahu C.L. and Zambonino J.L. (1994).** Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet : effect on digestive enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A : pp. 213-222.
- Calbert H.E. (1977).** The production of yellow perch fingerlings. In Proceeding of a conference held at the University of Wisconsin. December 12, 1977 : pp. 1-5.
- Calow P. (1979).** The cost of reproduction, a physiological approach. *Biol. Rev.*, 54 : pp. 23-40.
- Campbell J.S. (1974).** The parasites of fish in Loch Leven. *Proc. R. Soc. Edinburgh (B)*. 74 : pp. 347-364.
- Cardenete G., Garzon A., Moyano F. and De la Higuera M. (1993).** Nutritive utilization of earthworm protein by fingerling rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). In S.J. Kaushik & P. Luquet (eds), *Fish nutrition in practice*, Biarritz, France, 24-27 June 1991 : pp. 923-926.
- Carline R.F. and Hall J.D. (1973).** Evaluation of a method for estimating food consumption rates of fish. *J. Fish. Res. Board Can.* 30 : pp. 623-629.
- Catacutan M.R. and Coloso R.M. (1995).** Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 131 : pp. 125-133.
- Cetta C.M. and Capuzzo J.M. (1982).** Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Mar. Biol. (Berlin)* 71 : pp. 327-337.
- Chappaz R. Brun G., Olivari G. (1989).** Contribution à l'étude du régime alimentaire, de la croissance et de la fécondité de la perche (*Perca fluviatilis* L.) dans un lac oligotrophe de région tempérée. *Revue des Sciences de l'eau*, 2 (1989) : pp. 95 - 107.
- Charlon N. and Bergot P. (1984).** Rearing system for feeding fish larvae on dry diets. Trials with carp larvae, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 21 : pp. 203-212.
- Charlon N. and Bergot P. (1986).** An improved automatic dry food dispenser for fish larvae. *The progressive fish-culturist* 48 : pp. 156-158.
- Chen X.B. and Orskov E.R. (1994).** Amino acid nutrition in sheep. In J.P.F. D'Mello (Ed.), *Amino acids in farm animal nutrition*. Academic press, the Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK : pp 307-327.
- Cho C.J. and Slinger S.J. (1980).** Effect of water temperature on energy utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Pro. 8th Symp. on Energy metabolism*. Cambridge, U.K. (Edited by Mount L.E.), pp. 287-291. Butter-worth, London.
- Cho C.Y., Slinger S.J. and Bayley H.S. (1982).** Bioenergetics of salmonid fishes : energy intake, expenditure and productivity. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 73B. No. 1 : pp. 25-41.
- Cho C.Y. and Kaushik S.J. (1990).** Nutritional energetics in fish : protein and energy utilization in rainbow trout. *World Rev. Anim. Nutr.*, 61 : pp. 132-172.

- Cho C.Y. (1992).** Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. *Aquaculture*, 100 : pp. 107-123.
- Cho C.Y., Kaushik S.J. and Woodward B. (1992).** Dietary arginine requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 102A : pp. 211-216.
- Chubb J.C. (1980).** Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part III. Larval Cestoda and Nematoda. *Adv. Parasitol.* 18 : pp. 1-120.
- Ciereszko A. and Dabrowski K. (1993).** Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. *Aquaculture*, 109 : pp. 367-373.
- Ciereszko A., Ramseyer L. and Dabrowski K. (1993).** Cryopreservation of yellow perch semen. *Prog. Fish-Cult.*, 55 : pp. 261-264.
- Clemmesen C. (1988).** A RNA and DNA fluorescence technique to evaluate the nutritional condition of individual marine fish larvae. *Meeresforschung* 32 : pp. 134-143.
- Collette B.B. and Banarescu P. (1977).** Systematics and zoogeography of the fishes of the family Percidae. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34 : pp. 1450-1463.
- Condrey R.E. (1982).** Ingestion-limited growth of aquatic animals : the case for Blackman kinetics. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39 : pp. 1585-1595.
- Cowey C.B. and Luquet P. (1983).** Physiological basis of protein requirements of fishes. Critical analysis of allowances. In : M. Arnal, R. Pion and D. Bonin (Editors), *Protein metabolism and Nutrition*, Vol. I. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris : pp. 365-384.
- Cowey C.B. and Tacon A.G.J. (1983).** Fish nutrition relevance to invertebrates. In G.D. Pruder, C.J. Lagoon and D.E. Conklin (eds), *Proc of the 2nd Int'l Conf. on Aquaculture Nutr. : Biochemical and Physiological approaches to shellfish nutrition*. Louisiana state university, division of Continuing Education, Balton Rouge, LA, USA : pp. 13-30.
- Cowey C.B. (1992).** Nutrition : estimating requirements of rainbow trout. *Aquaculture*, 100 : pp. 177-189.
- Cowey C.B., Cho C.Y., Sivak J.G., Weerheim J.A. and Stuart D.D. (1992).** Methionine intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), relationship to cataract formation and the metabolism of methionine. *J. Nutr.*, 122 : pp. 1154-1163.
- Cowey C.B. (1993).** Protein and amino acid requirements. A critique of methods. Oral communication at Workshop on Methodology for Determination of Nutrient Requirements in Fish. Eichenau, Germany, 29 June - 1 July 1993.
- Cowey C.B. (1994).** Amino acid requirements of fish : a critical appraisal of present values. *Aquaculture* 124 : pp. 1-11.
- Craig J.F. (1987).** *The biology of the perch and related fish* Ed. Timber Press : 333p.

- Craig S.R. and Gatlin III D.M. (1992).** Dietary lysine requirement of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 23 : pp. 133-137.
- Crowder L.B., Magnuson J.J. and Brandt S.B. (1981).** Complementarity in the use of food and thermal habitat by Lake Michigan fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38 (6) : pp. 662-668.
- Cysewski G.R. (1992).** Feeds, foods and pigments from Spirulina. *J. Phycology*, 28 (supplement 3) : pp. 92.
- Czesny S. and Dabrowski K. (1995).** The effect of fatty acid concentration in walleye (*Stizostedion vitreum*) eggs on embryos viability. In : abstracts book of second international Percid fish Symposium Vaasa, Finland, august 21-25, 1995 : pp. 22.
- Dabrowski K. (1977).** Protein requirements of grass carp fry (*Ctenopharyngodon idella* Val). *Aquaculture* 12 : pp. 63-74.
- Dabrowski K. and Glogowski J. (1977).** The role of exogenic proteolytic enzymes in digestive processes in fish. *Hydrobiologia* 54 : pp. 129-134.
- Dabrowski K. (1979).** The role of proteolytic enzymes in fish digestion. In : E. Styczynsk-Jurewicz, T. Backiel, E. Jaspers and G. Persoone (Editors), *Cultivation of Fish Fry and its Live Food*. Maricult. Soc., Bredene, Belgium, Special Publ., 4 : pp. 107-126.
- Dabrowski K. (1981).** Tryptophan requirement of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry. *Z. Tierphysiol. Tierernahrg. Futtermittelkd.*, 46 : 64-71.
- Dabrowski K. (1982).** The influence of light intensity on feeding of fish larvae and fry II : *Rutilus rutilus* L. and *Perca fluviatilis* L. *Zool. Jb. Physiol.*, 86 : pp. 353-360.
- Dabrowski K. and Luczynski M. (1984).** Utilization of body stores in embryonated ova and larvae of two coregonid species (*Coregonus lavaretus* L; and *C. albus* L.). *Comp. Biochem. Physiol. A* 79A : pp. 329-334.
- Dabrowski K. (1984a).** The feeding of fish larvae : "state of the art" and perspectives. *Reprod. Nutr. Develop.*, 24 : pp. 807-833.
- Dabrowski K. (1984b).** Influence of initial weight during the change from live to compound diet on the survival and growth of four cyprinids. *Aquaculture* 40 : pp. 27-40.
- Dabrowski K. and Bardega R. (1984).** Mouth size and predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. *Aquaculture*, 40 : pp. 41-46.
- Dabrowski K. (1986).** Active metabolism in larval and juvenile fish : ontogenetic changes, effect of water temperature and fasting. *Fish Physiology and Biochemistry* vol. 1 no. 3 : pp 125-144.
- Dabrowski K. (1986).** Ontogenetic aspects of nutritional requirements in fish. *Comp. Biochem Physiol.* 85A : pp. 639-655.

- Dabrowski K., Luczynski M., Czczuga B. and Falkowski S. (1987).** Relationships among fish reproductive effort, carotenoid content in eggs and survival of embryos. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 79, 1 : pp. 29-48.
- Dabrowski K. and Culver D. (1991).** The physiology of larval fish : digestive tract and formulation of starter diets. *Aquaculture Magazine*, March/April, 1991 : PP 49-61.
- Dabrowski K., Krumschnabel G., Pauku M. and Labanowski J. (1992).** Cyclic growth and activity of pancreatic enzymes in alevins of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Journal of Fish Biology* 40 : pp. 511-521.
- Dabrowski K. (1993).** Comparative nutrition papers, mini review. Ecophysiological adaptations exist in nutrient requirements of fish : true or false ? *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 104A, No. 3 : pp. 579-584.
- Dabrowski K., Culver D.A., Brooks C.L., Voss A.C., Binkowski F.P., Yeo S.E., Balogun A.M. (1993).** Biochemical aspects of the early life history of yellow perch (*Perca flavescens*). *Fish Nutrition in Practice*, Biarritz (France), June 24-27, 1991 Ed. INRA, Paris 1993 (Les colloques, n°61) : pp. 531-535.
- Dabrowski K., Ciereszko A., Culver D. and Kestemont P. (1994).** Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture*, 120 : pp. 171-180.
- Dabrowski K., Ciereszko A. and Blom J. (1995).** Ascorbic acid (vitamin C) function in fish gametogenesis and fertility. In : LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). *European Aquaculture Society, Special Publication No. 24*, Gent, Belgium : pp. 11.
- Dabrowski K., Ciereszko R.E., Toth G., Ciereszko A. and Christ S. (1995).** Reproductive physiology of yellow perch (*Perca flavescens*) : environmental and endocrinological cues. In P. Kestemont & K. Dabrowski (Editors) : *First Meeting of the European Workgroup on Aquaculture of Percids*. Vaasa (Finland). August 23-24, 1995 : pp. 8-12.
- Dagnelie, R., 1975.** *Théorie et Méthodes Statistiques*, Vol. 2. Presses Agronomiques de Gembloux, Belgium ; 463 pp.
- Davis A.D. and Robinson E.H. (1986).** Estimation of the dietary lipid requirement level of the white crayfish *Procambarus acutus acutus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. Vol. 17 : pp. 1-4.
- De Silva S.S. and Gunasekera R.M. (1989).** Effect of dietary protein level and amount of plant ingredient (*Phaseolus aureus*) incorporated into diets on consumption, growth performance and carcass composition in *Oreochromis niloticus* L. fry. *Aquaculture*, 80 : pp. 121-133.
- De Silva S.S. and Gunasekera R.M. (1991).** An evaluation of the growth of Indian and Chinese major carps in relation to the dietary protein content. *Aquaculture*, 92 : pp. 237-241.

- De Silva S.S. and Anderson T.A. (1995).** Fish nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall Aquaculture series 1 : 319 p.
- De Verga V. and Bohm J. (1992).** The effect of freeze-dried zooplankton as a dry feed additive for Danube salmon (*Hucho hucho* L.) fry. Aquaculture, 108 : pp. 155-168.
- Degani G., Ben-Zvi Y. and Levanon D. (1989).** The effect of different protein levels and temperatures on feed utilization, growth and body composition of *Clarias gariepinus* (Burchell,1822). Aquaculture 76 : pp. 293-301.
- Dehasque M., Candreva P., Carrascosa M. and Laven P. (1995).** Comparison of an artificial and live food as broodstock maturation diets for seabream (*Sparus aurata*) : effects on spawning and egg quality. In : LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 16-21.
- Delbare P., Laven P. and Sorgeloos P. (1995).** Clownfish as a reference model for nutritional experiments and determination of egg/larval quality. LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 22-25.
- Devauchelle N., Alexandre J.C., le Corre N. and Letty Y. (1988).** Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. Aquaculture 69 : pp. 159-184.
- Deufel J. (1961).** In : Craig J.F. (1987). The biology of the perch and related fish Ed.Timber Press, 333p.
- Dhert Ph., Laven P., Bijmens R., Brunel A., Merchie G. and Sorgeloos P. (1995).** Effect of broodstock nutrition on the quality of turbot (*Scophthalmus maximus*) eggs and larvae. In : LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 26-29.
- D'Mello J.P.F. (1994).** Amino acids in farm animal nutrition. The Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK : 416p.
- Durand J.R. et Lévêque C. (1980).** Flore et faune aquatiques de l'Afrique Sahelo-Soudanienne Tome1, O.R.S.T.O.M : 389p.
- Ehrlich K.F. and Muszynski G. (1982).** Effects of temperature on interactions of physiological and behavioural capacities of larval *California grunion* : adaptations to the planktonic environment. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 60 : pp. 223-244.
- EIFAC (1993).** Report of the EIFAC Workshop on the methodology for determination of nutrient requirements in fish. Eichenau, Germany, 29 june - 1 july 1993 : 89p.
- El-Sayed A.M. and Gatlin D.L.Jr. (1988).** Carbohydrate-to-lipid ratios in diets for *Tilapia zillii* fingerlings. Aquaculture, 73 : pp. 157-163.
- Eldridge M.B., Whipple J.A. and Eng D. (1981a).** Exogenous energy sources as factors affecting mortality and development in striped bass (*Morone saxatilis*)

- eggs and larvae. Rapp.P. -v. Réun. Cons. perm. int. Explor. Mer, 178 : pp. 568-570.
- Elliot J.M. (1984).** Numerical changes and population regulation in young migratory trout, *Salmo trutta*, in Lake District stream, 1966-1983. J. Anim. Ecol., 53 : pp. 327-350.
- Escaffre A.M. and Bergot P. (1985).** Effet d'une alimentation précoce ou retardée sur la croissance d'alevins de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) issus d'oeufs de tailles différentes. Bull. Fr. Pêche Piscic., 296 : pp. 17-28.
- Evans R.P., Parrish C.C., Brown J.A. and Davis P.J. (1996).** Biochemical composition of eggs from repeat and first-time spawning captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 139 : pp. 139-149.
- Fänge R. and Grove D. (1979).** Digestion. In : W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (Eds). Fish physiology. Vol. 8, New-York, Academic Press : pp. 161-260.
- Fauconneau B. (1983).** La biosynthèse des protéines chez les poissons. Ichthyophysiol. Acta, 7 : pp. 34-75.
- Fauconneau B. (1985).** Protein synthesis and protein deposition in fish. In : C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (Eds), Nutrition and feeding in fish, Academic Press London.
- Feytmans E. (1991).** Notes de cours Statistique appliquée aux Sciences Biomedicales à l'usage des étudiants de Sciences Biologiques et de Sciences Vétérinaires. FUNDP : 171p.
- Fiogbé E.D. (1985).** Contribution à l'étude de l'alimentation du tilapia (*Oreochromis niloticus*) en enclos dans les lagunes du Sud Bénin. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome, Faculté des sciences agronomiques de l'Université Nationale du Bénin : 126 p.
- Fiogbé E.D. (1990).** Partial replacement of fish meal by soybean meal in the diet of tilapia (*Tilapia aurea*). Special certificate in general aquaculture. Kanagawa International Fisheries Training centre, JICA Japan : 63 p.
- Fiogbé E., Kestemont K., Micha J.C. and Mélard C. (1994).** Some physiological and biochemical characteristics of perch (*Perca fluviatilis*) development in a fertilized pond. Preliminary results. In: Measures for success- Metrology and instrumentation in aquaculture management (Muir and Sevilla, eds). EAS Spec. Publ., 21 : pp. 150-151.
- Fiogbé E.D. and Kestemont P. (1995).** An assessment of the protein and amino acid requirements in goldfish (*Carassius auratus*) larvae. J. Appl. Ichthyol. 11 : pp. 282-289.
- Fiogbé E., Kestemont K., Micha J.C. and Mélard C. (1995).** Comparative growth of *Perca fluviatilis* larvae fed with enriched and standard Artemia metanauplii and dry food. In : LARVI'95, Fish & Shellfish Larviculture Symposium. P. Lavens, E. Jasper and I. Roelants (Eds), European Aquaculture Society, Special Publication No 24 Gent, Belgium : pp. 166-169.



- Fiogbé E.D., Kestemont P., Mélard C. and Micha J.C. (1996).** The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 144 : pp. 239-249.
- Flajshans M. and Göndör R. (1989).** Artificial propagation of Perch (*Perca fluviatilis* L.). *Bulletin VJRH Vodnany*, 2 : pp. 10-13.
- Forney J.L. (1977).** Population dynamics of walleye and yellow perch in Oneida Lake. US Federal Aid in Fish Restoration. Report No. F-17-R. New York State : 19p.
- Foscarini R. (1988).** A review : intensive farming procedure for red sea bream (*Pagrus major*) in Japan. *Aquaculture*, 72 : pp. 191-246.
- Fowler L.G. (1990).** Feather meal as dietary protein source during parr-smolt transformation in fall chinook salmon. *Aquaculture*, 89 : pp. 301-314.
- Freedland R.A. and Briggs S. (1977).** A biochemical approach to nutrition. A Halsted Press Book, London Chapman and Hall : 63P.
- Fry F.E.J. (1957).** Aquatic respiration of fish. In : *The Physiology of Fishes*. I. (Ed. M.E. Brown). 1-63. Academic Press. London.
- Fujii M., Nakayama H. and Yone Y. (1976).** Effect of w3 fatty acids on growth, feed efficiency and fatty acid composition of red sea bream (*Pagrus major*). *Rept. Res. Lab. Kyushu Univ.*, 3 : pp. 65-86.
- Fujita S. (1973).** Importance of zooplankton mass culture in with *chlorella* sp. Before feeding. *Bull. Nagasaki Pref. Inst. Fish.*, No. 3 : pp. 152-154.
- Fukusho K. (1974).** *Artemia* nauplii as food for rock sea bream juveniles. *Suisan Zoshoku*, 21 : pp. 71-75.
- Fukusho K. (1985).** Present status and problems in culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* for fry production of marine fishes in Japan. *Symposium Internacional de Acuicultura*, Coquimbo, Chile, September 1983 : pp.361-374.
- Fuller M.F., McWilliam R., Wang T.C. and Giles L.R. (1989).** The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 2. Requirements for maintenance and for tissue protein accretion. *Brit. J. Nutr.*, 62 : pp. 255-267.
- Furukawa A. And Tsukahara H. (1966).** On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in study of digestibility of fish feeds. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 32 : pp. 502-508.
- Garcia A. and Brana F. (1988).** Reproductive biology of brown trout (*Salmo trutta* L.) in the Aller River (Asturias, Northern Spain). *Pol. Arch. Hydrobiol.* 35 : pp. 361-373.
- Garling D.L. and Wilson R.P. (1976).** The optimum dietary protein to energy ratio for channel catfish fingerlings. *J. Nutr.*, 106 : pp. 1368-1375.
- Gatlin, III D.M. (1987).** Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of goldfish, dolder shiner and fathead minnow. *Aquaculture*, 60 : pp. 223-229.

- Gerking S.D. (1994). Feeding ecology of fish. Academic press, San Diego : 416p.
- Golovanov V.K., Bazarov M.I., Poddubny S.A., Kudrjakov S.V. (1995). Percid thermal habitat in warm-gradient waters : experiments and natural realization. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts : pp. 32.
- Golterman H.L. and Clymo R. (1969). Methods of chemical analysis of fresh waters. IBP Handbook, 8, Blackwell Sc. Publ., Oxford : 166 pp.
- Gomes E.F., Rema P. and Kaushik S.J. (1995). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : digestibility and growth performance. Aquaculture 130 : pp. 117-186.
- Gordon Bell J., Castell J.D., Tocher D.R., MacDonald F.M. and Sargent J.R. (1995). Effects of different dietary arachidonic acid : docosahexaenoic acid ratios on phospholipid fatty acid compositions and prostaglandin production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Fish Physiology and Biochemistry vol. 14 no. 2 : pp. 139-151.
- Goubier J. et Marchandise B. (1990). Etude de faisabilité d'une pisciculture de perche. Rapport final de la convention du 5 avril 1989 entre la région Rhone - Alpes et l'institut régional de recherches appliquées en aquaculture : 70 p.
- Goubier V. (1990). Reproduction et élevage larvaire de la Perche (*Perca fluviatilis*). Aqua Revue, 31 : pp. 13-18.
- Goulden C.E. (1968). The systematics and evolution of the Moinidae. Trans. amer. philos. Soc., 58, 6 : 98p.
- Gouveia A., Oliva Teles A., Gomes E. and Rema P. (1993). Effect of cooking/expansion of three legume seeds on growth and food utilization by rainbow trout. In S.J.Kaushik & P. Luquet (eds), Fish nutrition in practice, Biarritz, France, 24-27 June 1991 : pp. 933-938.
- Govoni J.J., Boehlert W. and Watanabe Y. (1986). The physiology of digestion in fish larvae. Environmental Biology of Fishes Vol. 16 No. 1-3 : pp. 59-77.
- Grabner M., Wieser W. and Lackner R. (1981). The suitability of frozen and freeze-dried zooplankton as food for fish larvae : a biochemical test program. Aquaculture, 26 : pp. 85-94.
- Griffin M.E., Brown P.B. and Grant A.L. (1992). The dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass. J. Nutr. 122 : 1332-1337.
- Grignard J.C., Mélard C. and Kestemont K. (1995). Pathology of perch (*P. fluviatilis*) in intensive culture system : a preliminary list of pathogenic agents. In : P. Kestemont & K. Dabrowski (Editors) : First Meeting of the European Workgroup on Aquaculture of Percids. Vaasa (Finland). August 23-24, 1995 : pp. 56-59.
- Grignard J.C., Mélard C., Baras E., Poirier A., Philippart J.C. and Bussers J.C. (1995). Occurrence and impact of *Heteropolaria* sp. (*Protozoa : ciliophora*), on intensively cultured perch *Perca fluviatilis*. Second International Percid

Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts, p 33.

- Gropp J.M., Beck F. and Schuhmacher A. (1993).** A factorial approach to the estimation of metabolizable energy requirement of growing trout (*Oncorhynchus mykiss*). EIFAC Occasional Paper No. 29 : pp. 28.
- Grzimek B. (1973).** Animal life Encyclopedia 5; Fishes II Amphibians : pp. 74-123.
- Guisande C. and Mazuelos N. (1991).** Reproductive pattern of *Brachionus calyciflorus* Pallas at different food concentrations. Journal of Plankton Research Vol. 13 no.2 : pp. 279-286.
- Guma'a S.A. (1978).** The food and feeding habits of young perch, *Perca fluviatilis*, in Windermere. Freshwater Biol., 8 : pp. 177-187.
- Guma'a S.A. (1982).** Retinal development and retinomotor responses in perch (*Perca fluviatilis*), in Windermire. J. Fish. Biol., 20 : pp. 611-618.
- Guraya S.S. (1979).** Recent advances in the morphology, cytochemistry and function of Balbiani's vitelline body in animal oocytes. Int. Rev. Cytol., 59 : pp. 249-321.
- Guti G. (1993).** Mortality, growth and diet of perch *Perca fluviatilis* L. in the Cikola branch system of the Szigetköz area, River Danube. Arch. Hydrobiol. 128 (3) : 317-327.
- Halver J.E., DeLong D.C. and Mertz E. (1958).** Threonine and lysine requirements of chinook salmon. Fed. Proc., 17 : 1873 (Abstr.).
- Halver J.E. (1993).** Vitamin requirement study techniques. (Personnal communication) at EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish. Eichenau, Germany, 29 june - 1 july 1993.
- Hamlett W.C. and Wourms J.P. (1984).** Ultrastructure of the pre-implantation shark yolk sac placenta. Tissu Cell 16 : pp. 613-625.
- Hamlett W.C., Schwartz F.J. and Didio L.J. (1987).** Subcellular organization of the yolk syncytial-endoderm complex in the preimplantation shark yolk sac. Cell Tissue Res. 247 : pp. 275-285.
- Hamor T. and Garside E.T. (1973).** Peroxisome-like vesicles and oxidative activity in the zona radiata and yolk of the ovum of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Comp. Biochem. Physiol. B 45B : pp. 147-151.
- Hamor T. and Garside E.T. (1977a).** Quantitative composition of the fertilized ovum and constituent parts in the Atlantic salmon *Salmon salar* L. Can. J. Zool. 55 : pp. 1650-1655.
- Harding D.E., Allen O.W. Jr. and Wilson R.P. (1977).** Sulfur amino acid requirement of channel catfish : L-methionine and L-cystine. J. Nutr. 107 : pp. 2031-2035.
- Hardy R.W. (1989).** Diet preparation. In : Fish nutrition, second edition. John E. Halver (Editor). Academic press, Inc. New York, pp. 475-548.

- Hecht T. and Pienaar A.G. (1993).** A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. *J. World Aquacult. Soc.* 24 (2) : pp. 246-261.
- Heidinger R.C. and Kayes T.B. (1986).** Culture of nonsalmonid freshwater fishes : yellow perch. Yellow perch. Boca raton, FL : CRC Press, 7 : pp. 103-114.
- Heidinger R.C. and Kayes T.B. (1993).** Yellow perch, in Culture of non-salmonid freshwater fishes, Ed. R. Stickney. CRC Press, 7 : pp. 103-114.
- Heine R. (1994).** Etude comparative de la dynamique de la vitellogenèse chez les Cyprinidés pondreurs uniques et multiples. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Licencié en Sciences biologiques.
- Heinsbroek L.T.N., Tijssen P.A.T. and Hariati A.M. (1993).** The use of phosphorus budget studies to determine the phosphorus requirements of the European eel (*Anguilla anguilla* L.). EIFAC Occasional Paper No. 29. Report of the EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish : pp. 61.
- Heming and Preston (1981).** Differential effect of formalin preservation on yolk and tissue of young chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha* Walbaum). *Can. J. Zool.* 59 : pp. 1608-1611.
- Heming T.A. (1988).** Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In : W.S. Hoar and D.J. Randall (Editors), *Fish Physiology*, 11A, pp. 407-446. Academic Press, San Diego.
- Henning S.J., Rubin D.C. and Shulman R.J. (1994).** Ontogeny of the intestinal mucosa. In : L.R. Johnson (Ed.), *Physiology of the gastrointestinal tract*, 3rd edition. Raven Press, New York : pp. 571-610.
- Hirshfield M.F. (1980).** An experimental analysis of reproductive effort and cost in the Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Ecology*, 61 : 282-292.
- Hjelmeland K., Huse I., Jorgensen T., Molvik G. and Raa J. (1984).** Trypsin and trypsinogen as indices of growth and survival potential of cod (*Gadus morhua* L.) larvae. In : E. Dahl, D.S. Danielssen, E. Moksness and P. Solemdal (Editors), *The propagation of Cod Gadus morhua* L. Flodevigen rapportser., 1, 1984 : 189-202.
- Hoestlandt H. (1979).** Recherches biologiques sur la Perche *Perca fluviatilis* L., en France. Rapport du conseil sup. de la Pêche : 105p.
- Hoestlandt H. (1980).** La perche en France. Biologie et nanisme. *La Pisciculture Française*, 16, 60 : pp. 39-48.
- Hoestlandt H. & Devienne A. (1980).** Precision sur la relation entre la durée de l'incubation et la température chez le poisson téléostéen *Perca fluviatilis* L. *C.R Acad. SC. Paris*, 290, Série D : 1123-1125.
- Hofer R. and Schiemer F. (1981).** Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. *Oecologia (Berl)* 48 : pp. 342-345.

- Hofer R. (1982).** Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol., 72a, no. 1 : pp. 55-63.
- Hoffman G.L. (1967).** Parasites of North American Freshwater Fishes. University of California Press. Berkeley. Vii : 486p.
- Hokanson K.E.F. (1977).** Temperature requirements of some percids and adaptations to the seasonal temperature cycle. *J. Fish. Res. Board Can.*,34 : pp. 1524-1550.
- Houlihan D.F., McMillan D.N. and Laurent P. (1986).** Growth rates, protein synthesis and protein degradation rates in rainbow trout : effects of body size. *Physiol Zool* 59 : pp. 482-493.
- Houlihan D.F., McMillan D.M., Agnisola C., Trara Genoio T. and Foti I. (1990).** Protein synthesis and growth in *Octopus vulgaris*. *Mar Biol.* 106 : pp. 251-259.
- Houlihan D.F. (1991).** Protein turnover in Ectotherms and its relationships to energetics. *Advances in Comparative and Environmental Physiology* vol. 7. R. Gilles (ed.) : pp. 1-43.
- Hughes S.G. (1991).** Feather meal can displace fish meal in aquaculture rations. *Feedstuffs*, Sep 30 : pp. 11-13.
- Hung S.S.O., Conte F.S. and Hallen E.F. (1992).** Effect of feeding rates on growth, body composition and nutrient metabolism in striped bass (*Morone saxatilis*) fingerlings. *Aquaculture* 112 : pp. 349-361.
- Hyatt K.D. (1979).** Feeding strategy. In "Fish Physiology" (W.S. Hoar D.J. Randall and J.R. Brett, eds.), Vol. 8 : 71-113. Academic press, New York.
- Ito T. (1960).** On the culture of the mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller, in the sea water. *Rep. of Fac. Fish., Prefect. Univ. Mie*, 3:708-740.
- Iwama G.K. and Tautz A.F. (1981).** A simple growth model for salmonids in hatcheries. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38 : pp. 649-656.
- Jamet J.L., Garavaglia C., Molin R.D., et Sargos D. (1990).** Fécondité, croissance et régime alimentaire de la perche adulte (*Perca fluviatilis*L.) du lac De Monate (Italie du Nord). *Riv. Idrobiol.*, 29, 2, : pp. 597-615.
- Jared D.W. and Wallace R.A. (1968).** Comparative chromatography of the yolk proteins of teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.* 24 : pp. 437-443.
- Jastrzebski M. (1984).** Polymorphism of flagellates, Trypanosoma, occurring in blood of crucian carp, *Carassius auratus gibelio*, perch, *Perca fluviatilis*, and stone perch, *Acerina cernua*. *Wiad. Parazytol.* 30 (2) : pp. 172-182.
- Jauncey K. and Ross R. (1982).** A guide to tilapia feeds and feeding. Institute of aquaculture, University of Stirling Scotland : 111p.
- Jauncey K. (1983).** The effects of varying protein levels on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture* 27 : pp. 43-54.

- Jesus M. (1983).** Culture en masse de *Daphnia magna* STRAUS (Crustacea, Cladocera) sur déchets bio-industriels. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de docteur en Sciences : 223p.
- Jirasek J. (1976).** Possibilities of the initial feeding of carp fry with substitute feeds. Zivocisna Vyroba, 21 : pp. 871-879. In : Dabrowski K. (1984b). Influence of initial weight during the change from live to compound diet on the survival and growth of four cyprinids. Aquaculture 40 : pp. 27-40.
- Johansson L., Kiessling A. and Carlsson R. (1991).** Eating quality and growth of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) on feed with different admixtures of leaf nutrient concentrate. J. Sci. Food Agric., 57 : pp. 217-234.
- Jones J.R.E. (1964).** Fish and river pollution. Butterworths. London : 203p.
- Jones D.H. (1982).** The spawning of perch (*Perca fluviatilis* L.). In : Livertoux E. (1995). La perche fluviatile (*Perca fluviatilis*) : sa biologie, son élevage. (Synthèse bibliographique). Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Nantes : 278p.
- Jouan Y. (1991).** Essai de reproduction artificielle et semi-artificielle, et élevage larvaire de la perche commune, *Perca fluviatilis*. Rapport de stage d'ingénieur technologique en aquaculture continentale et aquariologie, Nancy, 05 Mars - 28 Mai 1991 : 50p.
- Kagawa H., Young G. and Nagahama Y. (1983).** Change in the plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish *Carassius auratus*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 49 : pp. 1783-1787.
- Kamler E. (1976).** Variability of respiration and body composition during early development stage of carp. Pol. Arch. Hydrobiol. 23 : pp. 431-485.
- Kamler E. and Malczewski B. (1982).** Quality of carp eggs obtained by induced breeding. Pol. Arch. Hydrobiol. 29 : pp. 599-606.
- Kamler E. and Kato T. (1983).** Efficiency of yolk utilization by *Salmo gairdneri* in relation to incubation temperature and egg size. Pol. Arch. Hydrobiol. 30 : pp. 271-306.
- Kamler E. (1987).** Comparison of energy contents in spawn of sea trout (*Salmo trutta* L.) from Rega, Slupia, Wieprza and Vistula Rivers. Pol. Arch. Hydrobiol., 34 : pp. 245-254.
- Kamler E. (1992).** Early life history of fish. An energetics approach. Chapman & Hall, London : 267p.
- Kanazawa A., Teshima S. and Sakamoto M. (1982).** Requirement of essential fatty acids for the larval Ayu. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 48 : pp. 195-199.
- Kanazawa A. and Teshima S. (1988).** Microparticulate diets for fish larvae. In : New and Innovative Advances in Biology / Engineering with Potential for Use in Aquaculture. A.K. Sparks, (Ed.). Natl. Mar. Fisheries Serv. Seattle, NOAA Techn. Rep. 70 : pp. 57-62.

- Kapoor B.G., Smit H. and Verghina I.A. (1975).** The alimentary canal and digestion in teleosts. *Adv. Mar. Biol.*, 13 : pp. 109-239.
- Kaushik S.J. (1979).** Application of a biochemical method for the estimation of amino acid needs in fish. Quantitative arginine requirements of rainbow trout in different salinities. In : K. Tiews and J.E. Halver (Editors), *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*, Vol. 1. Heeneman GmbH, Berlin : pp. 197-207.
- Kaushik S.J., Dabrowski K. and Luquet P. (1982).** Patterns of nitrogen excretion and oxygen consumption during ontogenesis of common carp (*Cyprinus carpio*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39 : pp. 1095-1105.
- Kaushik S.J. and Luquet P. (1983).** Relationship between protein intake and voluntary energy intake as affected by body weight with an estimation of maintenance needs in rainbow trout. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. u. Futtermittelkde.*, 51 : pp. 57-69.
- Kaushik S.J. and Oliva Teles, A. (1986).** Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. *Aquaculture*, 50 : pp. 89-101.
- Kaushik S. (1990).** Use of alternative protein sources for the intensive rearing of carnivorous fish. In R. Flos, L. Tors & P. Torres (eds), *Mediterranean aquaculture* : pp. 125-138. Chichester : Ellis Horwood.
- Kaushik S.J., Breque J. and Blanc D. (1991).** Requirement for protein and essential amino acids and their utilization by siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). P. Williot, Ed. *Acipenser*, CEMAGREF Publ. : pp. 25-39.
- Kaushik S.J. and Médale F. (1994).** Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. *Aquaculture* 124 : pp. 81-97.
- Kawai S. and Ikeda S. (1972).** Studies on digestive enzymes of Fishes-II. Effect of dietary change on the activity of digestive enzymes in carp intestine. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 38, 265-270.
- Kawai S. and Ikeda S. (1973).** Studies on digestive enzymes of Fishes-IV. Development of digestive enzymes of Carp and Black Sea Bream after hatching. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 39: pp. 877-881.
- Kayama M., Tsuchiya Y. and Mead J. (1963).** A model experiment of aquatic food chain with special significance in fatty acid conversion. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* vol. 29, No. 5 : pp. 452-458.
- Kayes T. (1977).** Reproductive Biology and artificial propagation method for adult perch. p6-23. In : *Perch Fingerling Production for Aquaculture*. University of Wisconsin Sea Grant College Program. Soderberg R.W.(Ed.) Advisory report n°421. : 77p.
- Keckeis H. and Schiemer F. (1992).** Food consumption and growth of larvae and juveniles of three cyprinid species at different food levels. *Environmental Biology of Fishes* 33 : pp. 33-45.
- Kennedy C.R. (1974).** A checklist of British and Irish Freshwater fish parasites with notes on their distribution. *J. Fish. Biol.* 6 : pp. 613-644.

- Kerr S.R. (1971).** Analysis of laboratory experiments on growth efficiency of fishes. *J. Fish. Res. Board Can.* 28 : pp. 801-808.
- Kestemont P. (1987).** Etude du cycle reproducteur du goujon, *Gobio gobio* L., variations saisonnières dans l'histologie de l'ovaire. Sonderdruck aus *Journal of Applied Ichthyology* Bd. 3, H. : pp. 145-157.
- Kestemont K., Fiogbé E., Micha J.C. and Mélard C. (1995).** Relationship between weaning size, growth, survival and cannibalism in the common perch larvae *Perca fluviatilis* : preliminary data. In : LARVI'95, Fish & Shellfish Larviculture Symposium. P. Lavens, E. Jasper and I. Roelants (Eds), European Aquaculture Society, Special Publication No 24 Gent, Belgium : pp. 285-288.
- Kestemont K., Fiogbé E., Pirmez L., Micha J.C., Mélard C., Abi-Ayad A., Grignard J.C., Baras E., Paelinck P., Kaiser L. et Philippart J.C. (1995).** Diversification de la pisciculture Wallonne, Mise au point de l'élevage intensif de nouvelles espèces de consommation et de repeuplement cyprinidés et percidés. Rapport de recherches à la Région Wallonne, Université de Liège, Facultés Universitaires N.D. de la Paix à Namur, Avril 1995, 58pp.
- Kestemont K., Fiogbé E., Pirmez L., Flahaux F., Vandeloise E., Micha J.C., Mélard C., Grignard J.C., Abi-Ayad A., Baras E., Paelinck P., Kaiser L. et Philippart J.C. (1996).** Mise au point et développement d'une technologie d'élevage intensif des percidés en Région Wallonne. Rapport annuel n°1 (avril 1995-avril 1996) : 74p.
- Kestemont P., Mélard C., Fiogbé E., Vlavonou R. and Masson G. (1996).** Nutritional and zootechnical aspects of Eurasian perch *Perca fluviatilis* larval rearing. *J. Appl. Ichthyol.*, 12 (in press).
- Ketola H.G. (1982).** Amino acid nutrition of fishes : requirements and supplementation of diets. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B : pp. 17-24.
- Keup L. and Bayless J. (1964).** Fish distribution at varying sediments in Neuse River Basin, North Carolina. *Chesapeake Sci.* 5 : pp. 119-123.
- Khmeleva N.N. and Baichorov V.M. (1987).** Comparative estimate of reproductive cycles in two relict, ecologically different mysid species. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 34 : pp. 321-329.
- Kiessling A. and Askbrandt S. (1993).** Nutritive value of two bacterial strains of single-cell protein for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 109 : pp. 119-130.
- Kim J.D. and Kaushik S.J. (1992).** Contribution of digestible energy from carbohydrates and estimation of protein/energy requirements for growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 106 : pp. 161-169.
- Kim K.I., Grimshaw T.W., Kayes T.B. and Amundson C.H. (1992).** Effect of fasting or feeding diets containing different levels of protein or amino acids on the activities of the liver amino acids degrading enzymes and amino acid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 107 : pp. 89-105.



- Kissil G.W. (1991).** Gilthead seabream, *Sparus aurata*. In R.P. Wilson (ed.), CRC Handbook of Nutrient Requirements of Finfish : 83-88. Boca Raton : CRC Press.
- Kitchell J.F., Stewart D.J. and Weininger D. (1977).** Applications of a bioenergetics model to yellow perch (*Perca flavescens*) and walleye (*Stizostedion vitreum*). J. Fish. Res. Board Can. 34 (10) : pp. 1922-1935.
- Klipling C. (1976).** Year-class strengths of perch and pike in Windermere. Rep. Freshwat. Biol. Assoc. 44 : pp. 68-75.
- Klipling C. (1984).** A study of perch (*Perca fluviatilis* L.) and pike (*Esox lucius* L.) in Windermere from 1941 to 1982. J. Cons int. Explor. Mer. 41 : pp.259-267.
- Köck G. and Hofer R. (1989).** The effect of natural and artificial diets upon tryptic activity of roach (*Rutilus rutilus*) and whitefish (*Coregonus* sp.) larvae. Pol. Arch. Hydrobiol. 36 : pp. 443-453.
- Kogan A.V., Nebrasova N.P., Popova I.K. (1981).** Feeding peculiarities of the young of the roach *Rutilus rutilus* L. and perch, *Perca fluviatilis* during downstream migration. USSR Academy of sciences, Moscou : pp. 106-113.
- Komis A. (1992).** Improved production and utilization of the rotifer *Brachionus plicatilis* Muller, in European sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus) larviculture. Thesis submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor in Agricultural Sciences : 277p.
- Komov V.T. and Matey V.E. (1995).** Scale morphology of perch as the indicator of lake acidification. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts : pp. 43.
- Koven W.M., Tandler A., Kissil G.Wm., Sklan D., Friezlander O. And Harel M. (1990).** The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. Aquaculture, 91 : pp. 131-141.
- Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. (1988).** Fry feed Kyowa A-B-C. A blended feed for fry fish. 1-6-1 Ohtemachi, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan. Company brochure
- Lapin V.I. and Matsuk V. (1979).** Utilization of yolk and change in biochemical composition of the eggs of the navaga, *Eleginus navaga*, during embryonic development. J. Ichthyol. (Engl. Transl.) 19 : pp. 131-136.
- Lasker R. (1962).** Efficiency and rate of yolk utilization by developing embryos and larvae of the Pacific sardine *Sardinops caerulea* (Girard). J. Fish. Res. Board Can. 19 : pp. 867-875.
- Lasker R., Feder H.M., Theilacker G.H. and May R.C. (1970).** Feeding, growth and survival of *Engraulis mordax* larvae reared in laboratory. Mar. Biol., 5 : pp. 345-353.
- Lauff M. and Hofer R. (1984).** Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. Aquaculture, 37 : pp. 335-346.
- Laurence G.C. (1969).** The energy expenditure of largemouth bass, *Micropterus salmoides*, during yolk absorption. Trans. Am. Fish. Soc., 98 : pp. 398-405.

- Laurence G.C. (1978).** Comparative growth, respiration and delayed feeding abilities of larval cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) as influenced by temperature during laboratory studies. *Mar. Biol.*, 50 : pp. 1-7.
- Leach J.H., Johnson M.G., Kelso J.R.M., Harmann J., Numann W., Entz B. (1977).** Responses of percids fishes and their habitats to eutrophication. *J. Fish. Bd. Can.*, 34 : pp. 1964-1971.
- Lee D.J. and Putnam G.B. (1973).** The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. *J. Nutr.* 103 : pp. 916-922.
- Lessmark O. (1983).** Competition between perch, *Perca fluviatilis* and roach *Rutilus rutilus* in south Swedish lakes. Doctoral dissertation 172 p., Université LUND.
- Lévêque C. Paugy D. and Teugels G.G. (1990).** Faune des poissons d'eaux douces et saumâtres d'Afrique de l'Ouest. Collection Faune tropicale n° XXVIII ; 384p.
- Lie O., Lied E. and Lambertsen G. (1988).** Feed optimization in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) : fat versus protein content in the feed. *Aquaculture* 69 : pp. 333-341.
- Lindesjö E. (1994).** Temporal variation and sexual dimorphism of the skin of perch *Perca fluviatilis* L. : a morphological study. *J. Appl. Ichthyol.* 10 : pp. 154-166.
- Linlokken A. (1995).** Density, growth and production of perch (*Perca fluviatilis*) in a heavily fished population. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts : pp. 48.
- Livertoux E. (1995).** La perche fluviatile (*Perca fluviatilis*) : sa biologie, son élevage. (Synthèse bibliographique). Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Nantes : 278p.
- Loewe H. and Eckmann R. (1988).** The ontogeny of the alimentary tract of coregonid larvae : normal development. *J. Fish Biol.* 33 : pp. 841-850.
- Lom J., Pike W.A. and Dyková I. (1991).** *Myxobolus sandrae* Reuss, 1906, the agent of vertebral column deformities of perch *Perca fluviatilis* in northeast Scotland. *Dis. Aquat. Org.* 12 : pp. 49-53.
- Lovell R.T. (1979).** Factors affecting voluntary feed consumption by channel catfish. *Proc. World Symp. Finfish Nutr. Fishfeed Technol.*, Hamburg, Germany, 1 : pp. 555-564.
- Lovell T. (1989).** Nutrition and feeding of fish. Academic Press, Auburn University : 260p.
- Lukowicz V.M. (1981).** In : Dabrowski K. (1984b). Influence of initial weight during the change from live to compound diet on the survival and growth of four cyprinids. *Aquaculture* 40 : pp. 27-40.
- Lutz P.L. (1972).** Ionic and body compartment responses to increasing salinity in the perch *Perca fluviatilis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 42 A, 711-717.

- MacDonald J.L., Krueger M.W. and Keller J.H. (1985).** Oxidation and hydrolysis determination of sulfur amino acids in food and feed ingredients : collaborative study. MacDonald *et al.* J. Assoc. Off. Anal. Chem., Vol. 68, No. 5 : pp 826-829.
- Machiels M.A.M. and Henken M. (1985).** Growth rate, feed utilization and energy metabolism of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), as affected by dietary protein and energy content. Aquaculture 44 : pp. 271-284.
- Malison J.A., Kayes T.B., Best C.D., Amundson C.H. and Wentworth B.C. (1986).** Sexual differentiation and the use of hormones to control sex in yellow perch (*Perca flavescens*). Can. J. Fish. Sci. 43 : 26-35.
- Malison J.A. and Held J.A. (1992).** Effects of fish size at harvest, initial stocking density and tank lighting conditions on the habituation of pond-reared yellow perch (*Perca flavescens*) to intensive culture conditions. Aquaculture 104 : 67-78.
- Mambrini M. and Kaushik S. (1993).** Indispensable amino acid requirements of fish : correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. EIFAC Occasional Paper No. 29 : pp. 34.
- Marchandise B. (1989).** Biologie de la perche en vue de son élevage. Rapport bibliographique. D.E.A. Univ. Lyon I : 37p.
- Margolis L. and Arthur J.R. (1979).** Synopsis of the parasites of fishes of Canada. Bull. Fish. Res. Board Can. 199 : pp. 1-269.
- Markevich A.P. (1963).** Parasitic Fauna of Freshwater Fish of the Ukrainian SSR. Israel Program Sci. Transl. Cat. No. 884 : pp. 149-162.
- Marr D.H.A. (1966).** Influence of temperature on the efficiency of growth of salmonid embryos. Nature, 212 : pp. 957-959.
- Martinez C.A. (1986).** Advances in the substitution of fishmeal and soybean meal by sunflower meal in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.). An. Inst. Cien. C. Mar Limnol. Univ. Nac. Auton. Mexico, 13(2) : pp. 345-352.
- May R.C. (1971).** Effects of delayed initial feeding on larvae of the grunion, *Leuresthes tenuis* (Ayres). Fish. Bull. nat. mar. Fish. Serv. U.S., 69 : pp. 411-425.
- Mazabraud A., Wegner M., Denis H. (1992).** Origin of several abundant proteins of amphibian oocytes. J. Mol. Evol., 35 : pp. 546-550.
- Mazid M.A., Tanaka Y., Katayama T., Simpson K.L. and Chichester C.O. (1978).** Metabolism of amino acids in aquatic animals. III. Indispensable amino acids for *Tilapia zilli*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44 : pp. 739-742.
- Mc Evoy L.A. and Mc Evoy J. (1992).** Multiple spawning in several commercial fish species and its consequences for fisheries management, cultivation and experimentation. J. Fish Biol., 41 : pp. 125-136.
- McWilliams P.G. (1982).** A comparison of physiological characteristics in normal and acid exposed populations of the brown trout, *Salmo trutta*. Comp. Biochem. Physiol. 72A. (3) : pp.515-522.

- Mélard C. et Philippart J.C. (1984).** Essai d'élevage semi-intensif en bassin d'alevinage de perche fluviatile (*Perca fluviatilis* L.) obtenus par reproduction artificielle. Cah. Ethol. Appl., 4(1) : pp. 59-66.
- Médale F. and Kaushik S.J. (1991).** Energy utilization by Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) from 3 age classes. P. Williot Ed. Acipenser, CEMAGREF Publ., 1991 : pp. 13-23.
- Mélard C. et Kestemont K. (1994).** Diversification de la pisciculture Wallonne, Mise au point de l'élevage intensif de nouvelles espèces de consommation et de repeuplement cyprinidés et percidés. Rapport de recherches à la Région Wallonne, Université de Liège, Facultés Universitaires N.D. de la Paix à Namur, mars 1994 : 68 pp.
- Mélard C., Abi-Ayad A., Grignard J.C., Baras E., Paelinck P., Kaiser L. Philippart J.C. Kestemont K., Fiogbé E., Pirmez L. et Micha J.C. (1995).** Diversification de la pisciculture Wallonne, Mise au point de l'élevage intensif de nouvelles espèces de consommation et de repeuplement cyprinidés et percidés. Rapport de recherches à la Région Wallonne, Université de Liège, Facultés Universitaires N.D. de la Paix à Namur, Avril 1995, 58pp.
- Mélard C., Baras E., Mary L. and Kestemont, P. (1995).** Relationships between growth, cannibalism and survival rate in intensively cultured larvae and alevins of perch (*Perca fluviatilis*). Abstract Percis II, Second International Percid fish Symposium. Vaasa, Finland, 21-25 August 1995 : pp. 53-54.
- Mélard C., Kestemont K. and Baras E. (1995).** Premiers résultats de l'élevage intensif de la perche Européenne (*Perca fluviatilis*) en bassin : effet de la température et du tri sur la croissance. Bull. Fr. Pêche Piscic. 336 : pp. 19-27.
- Mélard C., Abi-Ayad A., Grignard J.C., Baras E., Paelinck P., Kaiser L. Philippart J.C. Kestemont K., Fiogbé E., Pirmez L. et Micha J.C. (1996).** Mise au point et développement d'une technologie d'élevage intensif des percidés en Région Wallonne. Rapport annuel n°1 (avril 1995-avril 1996) : 74p.
- Mélard C., Baras E. Mary L. and Kestemont P. (1996).** Relationships between stocking density, growth, cannibalism and survival rate in intensively cultured larvae and juveniles of perch (*Perca fluviatilis*). Ann. Zool. Fennici 33 : pp. 9-17.
- Mellinger J., Wisez F., Leray C. and Haye B. (1989).** A comparison of egg and newborn lipids in the oviparous doddfishes, *Scyliorhinus canicula* and *S. stellaris* (Chondrichthyes). Preliminary data. Biol. Struct. Morphogenesis, 2 : pp. 44.
- Mellinger J. (1994).** La flottabilité des oeufs de Téléostéens. L'année Biol., 33 : pp. 117-138.
- Mellinger J. (1994).** Les réserves lipidiques de l'oeuf des poissons. Année biologique 33 : pp. 63-90.
- Mellinger J. (1995).** L'utilisation des lipides au cours du développement des poissons. Année Biologique : pp. 137-169.

- Menshutkin V.V., Zhakov L.A. (1964).** In : Craig J.F. (1987). The biology of the perch and related fish Ed. Timber Press : 333p.
- Menshutkin V.V., Zhakov L.A. and Umnov A.A. (1968).** A model method examination of causes of death among young perch. *Prob. Ichthyol. Am. Fish. Soc.*, 8 : pp. 704-712.
- Mercer L.P. (1982).** The quantitative nutrient-response relationship. *J. Nutr.*, 112 : pp. 560-566.
- Mercer L.P., May H.E. and Dodds S.J. (1989).** Mathematical modelling and the determination of nutritional requirements : sigmoidal and inhibited nutrient-response curves. *J. Nutr.*, 119 : pp. 1464-1474.
- Meyers S.P. (1979).** In "Finfish Nutrition and Fishfeed Technology" (J. Halver and K. Tiews, eds.) European Inland Fisheries Advisory Commission, Vol.2 : pp. 14-20. Berlin.
- Mezhnin F.I. (1978).** Development of the sex cells in the early ontogeny of the common perch, *Perca fluviatilis*. *J. Ichthyol.* 18 (1) : pp. 71-86.
- Micha J.C. (1981).** Aquaculture, potentialités actuelles et futures en eaux douces. *Bull. Fr. Piscic.*, 284 : pp. 178-188.
- Millward D.J., Garlick P.J., James W.P.T., Sender P.M. and Waterlow J.C. (1976).** Protein turnover dans "Protein metabolism and Nutrition" ed. Cole *et al.*, 1976, Butterworths, Londres : pp. 446-491.
- Mitchell L.G., Nickum J.G. and Long M.T. (1986).** Histochemical localization of some digestive enzymes in larval Walleyes. *The Progressive Fish-Culturist* 48 : pp. 279-281.
- Monroy A., Ishida M. and Nakano E. (1961).** The pattern of transfer of the yolk material to the embryo during the development of the teleostean fish *Oryzias latipes*. *Embryol.* 6 : pp. 151-158.
- Morales A.E., Cardenete G., De la Higuera M. and Sanz A. (1994).** Effects of dietary protein source on growth, feed conversion and energy utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 124 : pp. 117-126.
- Morgan P.H., Mercer L.P. and Flodin N.W. (1975).** General model for nutritional responses of higher organisms (bioassay / saturation kinetic / growth responses). *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 72 (11) : pp. 4327-4331.
- Moroz I.Y. and Luzhin B.P. (1976).** Dynamics of metabolism in the embryonic and early post-embryonic development of the carp *Cyprinus carpio*. *J. Ichthyol. (Engl. Transl.)* 16 : pp. 964-970.
- Moughan P.J. (1994).** Modelling amino acid absorption and metabolism in the growing pig. In J.P.F. D'Mello (Ed.), *Amino acids in farm animal nutrition*. Academic Press, the Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK : pp. 133-154
- Mourelatos S., Pourriot R. et Rougier C. (1990).** Taux de filtration du Rotifère *Brachionus calyciflorus* : comparaison des méthodes de mesure; influence de l'âge. *Vie Milieu*, 40 : pp. 39-43.

- Mourente G. and Odriozola J.M. (1990).** Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilhead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish Physiology and Biochemistry* vol. 8 no. 2 : pp. 93-101.
- Moyano F.J., Cardenete G., Sanz A. and De la Higuera M. (1989).** Use of several alternative protein sources in trout feeding : a general overview. In N. De Pauw, E. Jasper, H. Ackefors & N. Wilkins (eds), *Aquaculture - a biotechnology in progress* : pp. 181-183. Bredene : European Aquaculture Society.
- Munilla-Moran R., Stark J.R. and Barbour A. (1990).** The role of exogenous enzymes on the digestion of the cultured turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture* 88 : pp. 337-350.
- Muus B.J. and Dahlström P. (1991).** Guide des poissons d'eau douce et pêche. 4<sup>em</sup> Ed. : 223p.
- Nagahama Y. (1983).** The functional morphology of Teleost gonads. In *Fish Physiology*, vol. IX, part A, reproduction. W.S. Hoar, D.J. Randall & E.M. Donaldson (Editors). Acad. Press : pp. 223-276.
- Nagase G (1964).** Contribution to the physiology of digestion in *Tilapia mossambica* Peters : Digestive enzymes and the effect of diets on their activity. *Z. Vgl. Physiol.* 49 : pp. 270-284.
- Nagata W.D. (1985).** Long-term acclimation of a parthenogenetic strain of *Brachionus plicatilis* Muller to subnormal temperatures. II. Effect on clearance and ingestion rates. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 36 : pp. 1-11.
- Nakajima K., Uchida A. and Ishida Y. (1988).** Effect of supplemental dietary feeding attractant dimethyl- $\beta$ -propiothetin on Growth of goldfish. *Nippon suisan gakkaiishi. Famerly. Bull. Japan Soc. sci. fish.* 55 (7) : pp. 1291.
- Natochin Y.V. and Lavrova E.A. (1974).** The influence of water salinity and stage of life history on ion concentration of fish blood serum. *J. Fish Biol.* 6 : pp. 545-555.
- Neacsu I., Craciun V. et Craciun M. (1981).** L'équilibre hydro-minéral chez le sandre (*Stizostedion lucioperca* L.) transféré de l'eau douce en milieux mixomesohalins et inversement. *Cercet. Mar. Rech. Mar.*(14) : pp. 201-215.
- Nelson J.A. (1982).** Physiological observations on developing rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), exposed to low pH and varied calcium ion concentrations. *J. Fish Biol.* 20 : pp 359-372.
- Nelson, J.S. (1984).** *Fishes of the world* 2nd edition. A wiley interscience publication. John wiley and sons. New York : 523 P.
- Nematipour G.R., Brown M.L. and Gatlin D.M., III (1992).** Effects of dietary carbohydrate : lipid ratio on growth and body composition of hybrid striped bass. *J. World Aquaculture Soc.*, 23 : pp. 128-132.
- Ng W.K. and Hung S.S.O. (1994).** Amino acid composition of whole body, egg and selected tissues of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture* 126 : pp. 329-339.

- Ng W.K. and Hung S.S.O. (1995).** Estimating the ideal dietary indispensable amino acid pattern for growth of white sturgeon, *Acipenser transmontanus* (Richardson). *Aquaculture Nutrition* 1 : pp. 85-94.
- Nikolskii G.V. (1969).** "Theory of Fish Population Dynamics as the Biological Background for Rational Exploitation and Management of Fishery Resources." Oliver and Boyd, Edinburgh.
- NRC (1978).** Nutrient requirements of laboratory animals (3rd ed.). Nutrient requirements of domestic animals. No 10. National Academy of Sciences, Washington, D.C. 96p.
- NRC (1981).** Nutritional requirements of cold water fishes. Nutrient requirements of domestic animals No. 16. National Academy of Sciences, Washington, D.C. 63p.
- NRC (1993).** Nutrient requirements of domestic Animals. Nutrient requirements of fish. National Academy Press, Washington, DC.
- O'Connell C.P. (1976).** Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 25 : pp. 285-312.
- Ogino C. (1980).** Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46 : pp. 171-174.
- Ohno S., Karasaki S. and Takata K. (1964).** Histo- and cytochemical studies on the superficial layer of yolk platelets in *Triturus* embryo. *Exp. Cell Res.* 33 : pp. 310-318.
- Oldham J.D. (1994).** Amino acid nutrition of the dairy cow. In J.P.F. D'Mello (Ed.), *Amino acids in farm animal nutrition.* Academic press, the Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK : 416p.
- Owen J.M., Adron J.W., Sargent J.R. and Cowey C.B. (1972).** Studies on the nutrition of marine flatfish. The effect of the dietary fatty acids of the plaice, *Pleuronectes platessa*, *Mar. Biol.*, 13 : pp. 160-166.
- Papoutsoglou S.E., Tziha G., Barkas D. and Brettos X. (1993).** Effects of extra dietary iron supply on sea bream (*Sparus aurata*) growth rate, reared under reduced water oxygen levels. EIFAC Occasional Paper No. 29. Report of the EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish : pp. 63.
- Paquay R. (1978).** L'ingestion volontaire d'aliments et son contrôle. Extrait de la *Revue des Questions Scientifiques*, Tome 149, no. 2, avril 1978 : 173-195.
- Parageorgiou N.K. (1977).** Fecundity and reproduction of Perch (*Perca fluviatilis* L.) in lake Agios Vasiliou, Greece. *Freshw. Biol.*, 7 : pp. 559-565.
- Parrish C.C., Brown J.A., Daniel E.S. and Somerton D.C. (1993).** Lipid composition of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs over the spawning season. *Bull. Aquacult. Assoc. Can.*, 93-94 : pp. 35-37.
- Parrish C.C., Yang Z., Wells J.S., Castell J.D. and Brown J.A. (1995).** Egg fatty acid composition of captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*).

- sus*) in relation to larval survival. In : LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 30-33.
- Paynter K.T., Dimichele L., Hand S.C. and Powers D.A. (1991).** Metabolic implications of Ldh-B genotype during early development in *Fundulus heteroclitus*. J. Exp. Zool., 257 : pp. 24-33.
- Pechar T.T. (1987).** Use of acetone : methanol mixture for extraction and spectrophotometric determination of "chlorophyll a" in phytoplankton. Arch. Hydrobiol. Suppl. 78(1) Algological Studies 46 : pp. 99-117.
- Peck M.D.(1994a).** Interactions of lipids with immune function I : biochemical effects of dietary lipids on plasma membranes. J. Nutr. Biochem., vol. 5, October : pp.467-478.
- Peck M.D. (1994b).** Interactions of lipids with function II : experimental and clinical studies of lipids and immunity. J. Nutr. Biochem., vol. 5, November : pp. 514-520.
- Pedersen B.H., Ugelstad I. And Hjelmeland K. (1990).** Effects of a transitory, low food supply in the early life of larval herring (*Clupea harengus*) on mortality, growth and digestive capacity. Mar. Biol., 107 : pp. 61-66.
- Pedersen B.H. and Andersen K.P. (1992).** Induction of trypsinogen secretion in herring larvae (*Clupea harengus*). Mar. Biol. 112 : pp. 559-565.
- Person-Le-Ruyet J., Samain J.F. et Daniel J.Y. (1989).** Evolution de l'activité de la trypsine et de l'amylase au cours du développement chez la larve de bar (*Dicentrarchus labrax*). Effet de l'âge au sevrage. Océanis, vol., 15 : pp. 465-480.
- Phillips A.M.Jr. (1969).** Nutrition, digestion and energy utilization. In Fish Physiology (Edited by Hoar W.S. & Randall D.J.) pp. 391-432. Vol.1, Academic Press, New York.
- Piironen J. and Hyvarinen H.(1983).** Composition of milt of some teleost fish. J. Fish Biol., 22 : pp. 351-361.
- Quantz G. (1985).** Use of endogenous energy sources by larval turbot, *Scophthalmus maximus*. Trans. Am. Fish. Soc., 114 : pp. 558-563.
- Raciborski K. (1987).** Energy and protein transformation in sea trout (*Salmo trutta* L.) larvae during transition from yolk to external food. Pol. Arch. Hydrobiol., 34 : pp. 437-502.
- Radünz Neto J., Corraze G., Charlon N. and Bergot P. (1993).** Essential n-3 fatty acid requirements of carp (*Cyprinus carpio*) larvae. In : From discovery to commercialization, C. Carrillo, L. Dahle, J. Morales, P. Sorgeloos, N. Svennevig, J. Wyban (Eds). European aquaculture society. Special publication No.19 : pp.187.



- Radünz Neto J., Corraze G., Charlon N. and Bergot P. (1994).** Lipid supplementation of casein-based purified diets for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture*, 128 : pp. 153-161.
- Radunz Neto J., Corraze G., Bergot P. and Kaushik S. (1996).** Estimation of essential fatty acid requirements of common carp larvae using semi-purified artificial diets. *Arch. Anim. Nutr.*, 49 : pp. 41-48.
- Rafail S.Z. (1968).** A statistical analysis of ration and growth relationship of plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Fish. Res. Board Can.* 25 : pp. 717-732.
- Rahel F.J. (1983).** Population differences in acid tolerance between yellow perch *Perca flavescens*, from naturally acidic and alkaline lakes. *Can. J. Zool.* 61 (1) : pp. 147-152.
- Ramseyer L.J. (1992).** The optimal protein : metabolizable energy ratio and total protein requirement for yellow perch in single-pass, flow-through system. A thesis submitted to Michigan State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of science : 103p.
- Rask M. (1984).** The effect of low pH on perch, *Perca fluviatilis* L. 3. The perch population in a small, acidic, extremely humic forest lake. *Ann. Zool. Fenn.* 21 (1) : pp. 15-22.
- Ravi J. and Devaraj. K.V. (1991).** Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton). *Aquaculture* 96 : pp. 281-291.
- Reis L.M., Reutebuch E.M. and Lovell R.T. (1989).** Protein-to-energy ratios in production diets and growth, feed conversion and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 77 : pp. 21-27.
- Remacle J. (1981).** Besoins alimentaires. *Probio* 1981 : pp. 104-144.
- Remacle J. (1995).** Y a-t-il de bonnes et de moins bonnes protéines ? Séminaire sur la biochimie des aliments, Laboratoire de biochimie cellulaire, FUNDP, Namur Belgium.
- Ribeiro L. and Planas M. (1995).** Effect of first feeding delay on the early development of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. In : LARVI'95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp.386-389.
- Ribi G. (1992).** Perch larvae (*Perca fluviatilis* L.) survive better in dilute sea water. *Aquat. Sci.*, 54 : pp. 85-90.
- Ricker W.E. (1968).** Methods for assessment of Fish Production in Freshwaters (IBP Handbook No. 3) Blackwell Sci. Publ., Oxford.
- Rinchar J. (1994).** Etude comparative de la stratégie de reproduction chez les poissons à pontes unique et multiples. Rapport d'avancement de doctorat : 55p.
- Robaina L. Izquierdo M.S., Moyano F.J., Vergara Martin J.M., Fdez-Palacios H., Hernandez Cruz C.M., Salhi M. and Fdez-Palacios J.E. (1991).** Evaluation of soybean and lupin seed meals as protein sources for juvenile gilthead bream (*Sparus aurata*). Paper presented at the Fourth International

- Symposium on Fish Nutrition and Feeding 'Fish Nutrition in Practice', Biarritz, France, June 24-27 (Abstract book).
- Robaina L. Izquierdo M.S., Moyano F.J., Socorro J., Vergara J.M., Montero D. and Fernandez-Palacios H. (1995).** Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) : nutritional and histological implications. *Aquaculture* 130 : pp. 219-233.
- Robbins K.R., Norton H.W. and Baker D.H. (1979).** Estimation of nutrient requirements from growth data. *J. Nutr.*, 109 : pp. 1710-1714.
- Robinson E.H., Wilson R.P. and Poe W.E. (1981).** Arginine requirement and apparent absence of a lysine-arginine antagonism in fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, 111 : pp. 46-52.
- Roger B.A. and Westin D. (1981).** Laboratory studies on the effect of temperature and delayed initial feeding on development of striped bass larvae. *Trans Am. Fish. Soc.*, 110 : pp. 100-110.
- Rombough P.J. (1985).** Initial egg weight, time to maximum alevin wet weight, and optimal ponding times for chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*). *Can. J. Fish. aquat. Sci.*, 42 : pp. 287-291.
- Romer A.S. (1966).** *Vertebrate Paleontology*. 3rd Ed. University of Chicago Press : 468 p.
- Rosenlund G. (1986).** Comparisons between unconventional proteins and fishmeal as a dietary nitrogen source for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) : effects on in vitro muscle protein synthesis. *Fiskeridir. Skr.Ernaering.*, 2(6) : pp. 193-200.
- Rumsey G.L. (1994).** Fish feed ingredients : what is the future of fishmeal use ? *Feed International*, 15 : pp. 10-18.
- Ryle A. (1985).** Pepsins, gastricsins and their zymogens. Dans *Methods of enzymatic analysis*, Third edition. Vol V : Enzymes 3 : Pepsidases, Proteinases and their inhibitors. Eds H.U. Bergmeyer, J. Bergmeyer et M. Grabi.
- Santiago C.B. (1985).** Amino acid requirements of Nile tilapia. Ph.D. dissertation, Auburn University, Auburn, Alabama.
- Santiago C.B. and Lovell R.T. (1988).** Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutr.*, 118 : pp. 1540-1546.
- Santulli A., Modica A., Cusenza L., Curatolo A. and D'Amelio V. (1993).** Effects of temperature on gastric evacuation rate and absorption and transport of dietary lipids in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 105A, No. 2 : pp. 363-367.
- Sargent J.R. (1993).** Requirement criteria for essential fatty acids. EIFAC Occasional Paper No. 29. Report of the EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish : pp.51.
- SAS Institute, Inc. (1985).** *SAS/Graph User's Guide : Statistics*, version 5 Edition. Cary, NC, USA, 596 pp.

- Satia B.P., Donaldson L.R., Smith L.S. and Nightingale J.N. (1974). Composition of ovarian fluid and eggs of the University of Washington strain of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can. 31 : pp. 1796-1799.
- Schafer A., Koppe W.M., Meyer-Burgdorff K.-H. and Günther K.D. (1993). Effects of phosphorus-supply on growth and mineralization in carp. EIFAC Occasional Paper No. 29. Report of the EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish : pp. 60.
- Schlösser U.G. (1982). Sammlung von Algen Kulturen. (origin and function of the culture collection Bes. Deutsch. Bot. Ges. 95 : pp. 181 - 276.
- Schwarz F.J. and Kirchgessner M. (1988). Amino acid composition of carp (*Cyprinus carpio* L.) with varying protein and energy supplies. Aquaculture, 72 : pp. 307-317.
- Schwarz F.J. (1993). Minerals and trace elements, requirement and determination. EIFAC Occasional Paper No. 29. Report of the EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish : pp.59.
- Scott A.P. and Middleton C. (1979). Unicellular algae as a food for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae - the importance of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids. Aquaculture, 18 : pp. 227-240.
- Segers H. (1994). Introduction to the zooplankton : Cladocera, Copepoda, Rotifera. Lab. Of Animal Ecology and Zoogeography University of Ghent, Belgium : 23p.
- Segner H., Rösch R., Verreth J. and Witt U. (1993). Larval nutrition physiology : studies with *Clarias gariepinus*, *Coregonus lavaretus* and *Scophthalmus maximus*. Journal of the world Aquaculture Society, 24 (2) : pp. 121-144.
- Selman K. and Wallace R.A. (1981). Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. Zool. Sci., 6 : pp. 211-231.
- Shackley S.E. and King P.E. (1977). Oögenesis in a marine teleost, *Blennius pholis*. Cell Tiss. Res., 181 : pp. 105-128.
- Shimeno S.H., Masumoto T., Hugita T., Mina T. and Ueno S-I. (1993). Alternative protein sources for fish meal in diets of young yellowtail. Nippon Suisan Gakkaishi, 59(1) : pp. 137-143.
- Shimizu M. and Yamada J. (1980). Ultrastructural aspects of yolk absorption in the vitelline syncytium of the embryonic rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Ichthyol. 27 : pp. 56-63.
- Sieg A., Clemmesen C. and Ueberschär B. (1989). Comparison of biochemical and histological methods for the evaluation of the in situ nutritional condition of marine fish larvae. ICES C.M. L : 4 : pp. 11
- Smirnov N.N. (1968). On comparative functional morphology of limbs of *Chydoridae* (Cladocera). Crustacena, 14 : pp. 76-96.
- Smith S. (1957). Early development and hatching. In "The Physiology of Fishes" (M. E. Brown, ed.), Vol. 1 : pp. 323-359.

- Smith R.R., Rumsey G.L. and Scott M.L. (1978).** Net energy maintenance requirement of salmonids as measured by direct calorimetry : effect of body size and environmental temperature. *J. Nutr.* 108 : pp. 1017-1024.
- Smith R.R. (1989).** Nutritional energetics. In J.E. Halver (Editor), *Fish Nutrition*, 2nd edn. Academic Press, New York : pp. 1-30.
- Smith C. and Reay P. (1991).** Cannibalism in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1, 41 : pp. 41-64.
- Smyly W.J.P. (1952).** Observations on the food of Windermere. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 122 : pp. 407-416.
- Sommer T.R., Potts W.T. and Morrissy N.M. (1990).** Recent progress in the use of processed microalgae in aquaculture. *Hydrobiologia* 204/205 : pp. 435-443.
- Sorgeloos P. (1980).** The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture. pp.25-46. In : *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, and Use in Aquaculture. Persoone G., P. Sorgeloos, and E. Jasper (Eds). Unversa Press, Wetteren, Belgium : 456p.
- Spanovskaya V.D. and Grygorash V.A. (1977).** Development and food of âge 0 eurosian perch (*Perca fluviatilis* L.) in reservoirs near Moscow, USSR. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 34(10) : pp. 1551-1558.
- Spillmann Ch. J.(1961).** Faune de France n°65. Poissons d'eau douce. Ed. Paul Lechevalier, Paris : 303p.
- Srivastava K.R., Brown J.A. and Shahidi F. (1995).** Changes in the amino acid pool during embryonic development of cultured and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 131 : pp. 115-124.
- Stafford E.A. and Tacon A.G.J. (1988).** The use of earthworms as a food for rainbow trout *Salmo gairdneri*. In C.A. Edwards & E.F. Neuhauser (eds), *Earthworms in waste and environmental management* : pp. 193-208. The Hague : SPB Academic Publishing.
- Starkweather P.L. and Gilbert J.J. (1977a).** Feeding in the Rotifer *Brachionus calyciflorus*. II. Effect of food density on the feeding rates using *Euglena gracilis* and *Rhodotorula glutinis*. *Oecologia*, 28 : pp. 133-139.
- Starkweather P.L. and Gilbert J.J. (1977b).** Radiotracer determination of feeding in *Brachionus calyciflorus* : the importance of gut passage times. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 8 : pp. 261-263.
- Steffens W. (1990).** Effective usege of feeds in trout production. *Z. Binnenfisch.*, 37 : pp. 209-215.
- Storebakken T., Astreng E. and Steenberg K. (1981).** A method for determination of feed intake in salmonids using radioactive isotopes. *Aquaculture*, 24 : pp. 133-142.
- Storebakken T., Hung S.S.O., Calvert C.C. and Plisetskaya E.M. (1991).** Nutrient partitioning in rainbow trout at different feeding rates. *Aquaculture*, 96 : pp. 191-203.

- Stoskopf M.K. (1993).** Fish medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia : 882p.
- Streit B. (1975).** Experimentelle Untersuchungen zum Stoffhaushalt von *Ancylus fluviatilis* (Gastropoda - Basommatophora). 1. Ingestion, Assimilation, Wachstum und Eiablage. Arch. Hydrobiol. 47 (Supp, 4) : pp. 458-514. In : Kamler E. (1992). Early life history of fish. An energetics approach. Chapman & Hall, London : 267p.
- Stroband H.W.J. and Dabrowski K.R. (1981).** Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in fresh-water fish larvae. In M. Fontaine (Ed.) Nutrition des poissons, Actes de Colloque C.N.E.R.N.A. Paris mai 1979 : pp. 355-374.
- Suyehiro Y. (1942).** A study on the digestive system and feeding habits of fish. Jap. J. Zool., 10 : pp. 1-303. In : Bergot P. (1981). Structure et fonctions des caecae pyloriques. In M. Fontaine (Ed.) Nutrition des poissons, Actes de Colloque C.N.E.R.N.A. Paris mai 1979 : pp. 45-53.
- Svirsky A.M. (1995).** Adaptation of perch *Perca fluviatilis* to temperature and light cycles. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts : pp. 73.
- Tacon A.G.J. (1983).** The replacement of marine fish protein in salmonid diets, Part 1. Report to the Chief Scientist Group, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), London for the period April 1980 to June 1983. Inst. of Aquaculture, University of Stirling, 1983 : 120p.
- Tacon A.G.J. and Jackson A.J. (1985).** Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (Eds), Nutrition and feeding in fish : pp. 119-145 London : Academic Press.
- Tacon A.G.J. (1992).** Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. FAO Fisheries Technical Paper, 330 : 75p.
- Tacon A.G.J. (1994).** Feed ingredients for carnivorous fish species alternatives to fishmeal and other fishery resources. FAO Fisheries circular No. 881, 35p.
- Takahashi K., Hatta N., Sugawara Y. and Sato R. (1978).** Organogenesis and functional revelation of alimentary tract and kidney of chum salmon. Tohoku J. Agric. Res. 29 : pp. 98-109.
- Takemura A. (1993).** Change in an immunoglobulin M (IgM)-like protein during larval stage in tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Aquaculture, 115 : pp. 233-241.
- Takeuchi T. and Watanabe T. (1976).** Nutritive value of w3 highly unsaturated fatty acids in pollock liver oil for rainbow trout. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 42 : pp. 907-919.
- Takeuchi T. and Watanabe T. (1977).** The effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in pollock liver oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 43 : pp. 947-953.

- Tacheuchi T., Yokoyama M., Watanabe T. and Ogino C. (1978).** Optimum ratio of dietary energy to protein for rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Fish.* 44 : pp. 729-732.
- Takeuchi T. and Watanabe T. (1979).** Effect of excess amounts of essential fatty acids on growth of rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 45 : pp. 1517-1519.
- Takeuchi T., Arai S., Watanabe T. and Shimma Y. (1980).** Requirement of eel, *Anguilla japonica*, for essential fatty acids. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46 : pp. 345-353.
- Takeuchi T., Watanabe T., Ogino C., Saito M., Nishimura K. and Nose T. (1981).** Effects of low protein-high energy diets and deletion of trace elements from a fish meal diet on reproduction of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47 : pp. 645-654.
- Takeuchi T., Satoh S. and Watanabe T. (1983).** Essential fatty acids for *Tilapia nilotica*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49 : pp. 1127-1134.
- Tacheuchi T., Watanabe T., Satoh S., Martino R.C., Ida T., and Yaguchi M. (1989).** Suitable levels of protein and digestible energy in practical carp diets. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 : pp. 1839-1845.
- Takeuchi T., Arai S., Watanabe T. and Shimma Y. (1990).** Requirement of juvenile red seabream (*Pagrus major*) for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 : pp. 1263-1269.
- Takeuchi T., Arai S., Watanabe T. and Shimma Y. (1991).** Essential fatty acids of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 : pp. 467-473.
- 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. Thèse présentée à l'Université Henri Poincaré, Nancy-1 en vue de l'obtention du titre de Docteur. Spécialité : Biologie des organismes : 126pp.
- Tamazouzt L., Dubois J.P. et Fontaine P. (1993).** Production et marché actuels de la perche (*Perca fluviatilis*) en Europe. *Pisc. Franç.* 114 : pp. 4-8.
- Tamazouzt L., Fontaine P. et Terver D. (1994).** Décalage de la période de reproduction de la perche commune (*Perca fluviatilis* L.) en eau recyclée. *Ichthyophysiological Acta*, 17 : pp. 29-40.
- Tanaka M. (1972).** Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae. Changes in the epithelium related to fat absorption in the antero-medium part of the intestine after feeding. *Jpn. J. Ichthyol.* 19 : pp. 15-25.
- Tay H.C., Yong A.N., Goh J., Lim H.S., Chou R. and Lam T.J. (1995).** Effects of treatment of eggs with tri-iodothyronine and cortisol on the morphometry of newly hatched larvae and larval survival in the greasy grouper, *Epinephelus tauvina*. In : LARVI'95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 7-10.

- Terver D. (1980).** Une écloserie piscicole intégrée. *La Pisciculture Française*, 16<sup>ème</sup> année, 1er trimestre, 31 : pp. 31-37.
- Teshima S.I., Kanazawa A. and Sakamoto M., 1982.** Essential fatty acids of *Tilapia nilotica*. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.*, 31 : pp. 301-4.
- Thebault H. (1985).** In Wilson R.P. (1989). Amino acid and proteins, in *Fish Nutrition*, 2nd edn (ed. J.E. Halver), Academic Press, San Diego : pp. 111-151.
- Thorpe J.E. (1977).** Morphology, physiology, behavior and ecology of *Perca fluviatilis* L. and *Perca flavescens* Michill. *J.Fish Res. Bd. Can.*, 34(10) : pp. 1504-1514
- Treasurer J.W. (1981).** Some aspects of reproductive biology of *Perca fluviatilis* L. Fecundity, maturation and spawning behaviour. *J. Fish. Biology*, 18 : pp. 729-740.
- Treasurer J.W. and Holliday F.G.T. (1981).** Some aspects of the reproductive biology of perch *Perca fluviatilis* L. A histological description of the reproductive cycle. *J. Fish. Biol.*, 18, 3 : pp. 359-376.
- Triantaphyllidis G.V., Coutteau P., Miasa E. And Sorgeloos P. (1995).** *Artemia* from Madagascar reveals an exceptionally high n-3 highly unsaturated fatty acid content. In : LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 154-158.
- Tulli F. and Tibaldi E. (1995).** Changes in fatty acid and amino acid composition of *Dentex dentex* during early development. In : LARVI95 - Fish & Shellfish symposium , P. Laven, E. Jasper and I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication No. 24, Gent, Belgium : pp. 39-43.
- Tyutyunov Y., Arditi R., Büttiker B., Dombrovsky Y. and Staub E. (1993).** Modelling fluctuations and optimal harvesting in perch populations. *Ecological Modelling*, 69 : pp. 19-42.
- Ueberschär B. (1993).** Measurement of proteolytic enzyme activity : signification in larval fish research. In : B.T. Walther & H.J. Fyhn (Editors). *Physiological and biochemical aspects of Fish Development*. Univ. of Bergen, Norway : pp. 233-239.
- Vacha F.S., Vavreinova M., Holasova and Tvrzicka E. (1993).** Analysis of fish flesh of different freshwater fish species. In G. Barnabé and P. Kestemont (Eds) : *Production, Environment and Quality*. EAS Spec. Publ., 18 : pp. 314-324.
- Valtonen E.T. and Koskivaara M. (1994).** Relationships between the parasites of some wild and cultured fishes in two lakes and fish farm in central Finland. *Int. J. Parasitol.* 24 (1) : pp. 109-118.
- Verreth J. and Van Tongeren M. (1989).** Weaning time in *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. *Aquaculture* 83 : pp. 81-88.

- Verreth J. (1991).** Physiology of the digestive system. In Fish larvae Nutrition. First international course on Wageningen Agricultural Univ. Department of fish culture and Fisheries. Wageningen, The Netherlands.
- Verreth J.A., Torrele J.E., Spazier E., van der Sluiszen A., Rombout J.H.W.M., Booms R. and Segner H. (1992).** The development of a functional digestive system in the Africa catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). Journal of World Aquaculture Society 23 : pp. 286-298.
- Verreth J., 1994.** Nutrition and related ontogenetic aspects in larvae of the african catfish, *Clarias gariepinus*. Thesis Wageningen. ISBN 90-5485 -302-6 : 203p.
- Vetter R.D., Hodson R.E. and Arnold C. (1983).** Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40 : pp. 627-634.
- Vijayan M.M. and Leatherland J.F. (1988).** Effect of stocking density on the growth and stress-respond in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. Aquaculture, 75 : pp. 159-170.
- Viola S. and Arieli Y. (1989).** Changes in the lysine requirement of carp (*Cyprinus carpio*) as a function of growth rate and temperature. Part I. Juvenile fishes in cages. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgheh, 41(4) : pp. 147-158.
- Viola S., Angeoni H., Gur N. and Rimski Y. (1994).** Growth performance, protein and energy balances of hybrid tilapia fed two levels of lysine at three levels of proteins. The Israeli Journal of Aquaculture. Bamidgheh, 46 (4) : pp. 212-222.
- Vlavanou R.S. (1991).** Contribution à la maîtrise de l'élevage intensif de juvéniles de poissons carnassiers d'eaux douces : Perche (*Perca fluviatilis*) et Brochet (*Exos lucius*). Mémoire de D.E.A. en Sciences Agronomiques option hydrobiologie, Aquarium tropical du musée de Zoologie de Nancy, 04 octobre 1991 : 53p.
- Vlavanou R., Masson G. and Moreteau J.C. (1995).** Use of *Artemia salina* as unique starting food for cultured perch *Perca fluviatilis* larvae. Second International Percid Fish Symposium Vaasa, Finland, August 21-25, 1995. Symposium program, Abstracts : pp.79.
- Voss B. (1988).** Replacement of fishmeal in a diet for O-group turbot by a single cell protein Probion and a mixture of poultry offal and hydrolysed feathermeal respectively. Arch. Fischereiwiss., 38 : 203-213.
- Walford J. and Lam T.J. (1993).** Development of digestive tract and proteolytic enzymes activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. Aquaculture, 109 : pp. 187-205.
- Walton M.J., Cowey C.B. and Adron J.W. (1984).** The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Brit. J.Nutr., 52 : pp. 115-122.
- Walton T.C., Coloso R.M., Cowey C.B., Adron J.W. and Knox D. (1984).** The effects of dietary tryptophan levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Br. J. Nutr., 51 : pp. 279-287.



- Wang Y.L., Buddington R.K. and Dorshov S.I. (1987).** Influence of temperature on yolk utilization by the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. J. Fish Biol. 30 : pp. 263-271.
- Wang T.C. and Fuller M.F. (1989).** The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 1. Experiments by amino acid deletion. Br. J. Nutr., 62 : pp. 77-89.
- Wang N. and Eckmann R. (1994).** Effects of temperature and food density on egg development, larval survival and growth of perch (*Perca fluviatilis* L.). Aquaculture 122 : pp. 323-333.
- Warren C.E. (1971).** Biology and water pollution control. W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, and Toronto : 434p.
- Watanabe T., Kitajima C., Arakawa T., Fukusho K. and Fujita S. (1978a).** Nutritional quality of Rotifer, *Brachionus plicatilis*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44 : pp. 1109-1114.
- Watanabe T., Oowa F., Kitajima C. and Fujita S. (1978b).** Nutritional quality of brine shrimp, *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44 : pp. 1115-1121.
- Watanabe T., Takeuchi T. and Ogino C. (1979).** Studies on the sparing effect of lipids on dietary protein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Hamburg, Germany, Vol. 1 pp. 113-125.
- Watanabe T., Oowa F., Kitajima C. and Fujita S. (1980).** Relationship between dietary value of brine shrimp, *Artemia salina* and their content of w3 highly unsaturated fatty acids. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 : pp. 35-41.
- Watanabe T., Ohta M., Kitajima M. and Fujita S. (1982).** Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on w3 highly unsaturated fatty acids. Bull. Jan. Soc. Sci. Fish., 48 : pp. 1775-1782.
- Watanabe T. (1983).** Dietary value of live foods. pp. 94-101. In : The rotifer *Brachionus plicatilis* - Biology and Mass culture. Japan. Soc. Sci. Fish. (Ed). Koseisha-Koseikaku, Tokyo : 161p.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Satoh, S., Wang, K.W., Ida, T., Yaguchi, M., Nakada, M., Amano, T., Yoshijima, S. And Aoe, H. (1987).** Development of practical carp diets for reduction of total nitrogen loading on water environment. Nippon Suisan Gakkaishi, 53 : pp. 2217-2225.
- Watanabe T. (1988).** Fish Nutrition and Mariculture. JICA Textbook. The General Aquaculture Course. Kanagawa International Fisheries Training Centre, Japan International Cooperation Agency : 233p.
- Watanabe T. , Satoh S., and Takeuchi T. (1989).** Availability of minerals in fish meal to fish. Asian Fisheries Science, 1 : pp. 175-195.
- Watanabe T., Takeuchi T., Matsui M., Ogino C. and Kawabata T. (1989).** Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in

- terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack *Pseudocaranx dentex*. Nippon Suisan Gakkaishi, 55 : pp. 1977-1982.
- Watanabe T., Liao W.L., Takeuchi T. and Yamamoto H. (1990).** Effect of dietary Spirulina supplementation on growth performance and flesh lipids of cultured striped jack. Journal of the Tokyo University of Fisheries, 77 (2) : pp. 231-239.
- Watanabe T. (1993).** Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. Journal of the World Aquaculture Society 24 : pp. 152-161.
- Watt P.W., Marshall P.A., Heap S.P., Loughna P.T., Goldspink G. (1988).** Protein synthesis in tissues of fed and starved carp, acclimated to different temperatures. Fish Physiol Biochem 4 : pp. 185-173.
- Weatherley A.H. (1972).** Growth and ecology of fish population. Academic press, London, New york : 293p.
- Webster C.D., Tidwell J.H., Tiu L.S. and Yancey D.H. (1995).** Use of soybean meal as partial or total substitute of fish meal in diet for blue catfish (*Ictalurus furcatus*). Aqua. Living Resour., 8 : pp. 379-384.
- Were K.E. (1989).** Determination of the tryptophan requirement of juvenile rainbow trout using the indicator oxidation technique. M.Sc. Thesis, University of Guelph, Guelph. Canada : 199p.
- West G. and Leonard J. (1978). Culture of yellow perch with emphasis on development of eggs and fry, in selected coolwater Fishes of North America, Special Publ. No. 11, Kendall, R. L., Ed., American Fisheries Society, Washington, D.C. : pp. 172.
- Whyte J.N.C. and Nagata W.D. (1990).** Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast or phytoplankton. Aquaculture, 89 : pp. 263-272.
- Wilson R.P., Harding D.E. and Garling D.L. Jr. (1977).** Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish. J. Nutr., 107 : pp. 166-170.
- Wilson R.P., Allen O.W. Jr., Robinson E.H. and Poe W.E. (1978).** Tryptophan and threonine requirements of fingerling channel catfish. J. Nutr., 108 : pp. 1595-1599.
- Wilson R.P., Poe W.E. and Robinson E.H. (1980).** Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish. J. Nutr. 110 : pp. 627-633.
- Wilson R.P. and Cowey C.B. (1985).** Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and atlantic salmon. Aquaculture, 48 : pp. 373-376.
- Wilson R.P. and Poe W.E. (1985).** Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Comp. Biochem. Physiol., 80B : pp. 385-388.
- Wilson R.P. (1989).** Amino acid and proteins, in Fish Nutrition, 2nd edn (ed. J.E. Halver), Academic Press, San Diego : pp. 111-151.

- Wilson R.P. (ed.) (1991).** Handbook of Nutrient Requirements of Finfish, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Wilson R.P. (1994).** Review. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124 : pp. 67-80.
- Winberg G.G. (1987).** Effect of temperature on the rate of ontogenetic development, in, *Produksionno-gidrobiologicheskie Issledovaniya Vodnykh Ekosistem* (ed. A.F. Alimov) Trudy Zool. Inst. A.N. SSSR, 165 : pp. 5-34.
- Wojno T. (1992).** Studies on the use of rapeseed oil meal (obtained from double improved rape variety) in rainbow trout (*Salmo gairdneri* f. kamloops) feeding. Part 2. Utility and optimal content of rapeseed oil meal in the feed mixtures for rainbow trout fattening. *Archiwum Rybactwa Polskiego* (Poland, 1(11) : pp. 47-60.
- Woorms J.P., Grove B.D., Lombardi J. (1988).** The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. In : W.S. Hoar and D.J. Randall (Editors), *Fish Physiology*, 11B, pp. 1-134. Academic Press, San Diego.
- Wootton R.J. (1985).** Energetics of reproduction, in, *Fish Energetics : New Perspectives* (eds P. Tytler and P. Calow), Croom Helm, London, pp. 231-254.
- Worthington V. (1993).** Enzymes manual : enzymes and related biochemicals. Worthington Biochemical Corporation. Freehold, New Jersey, USA 07728 : 401p.
- Yamamoto K. (1982).** Periblast in the egg of eel, *Anguilla japonica*. *Jpn. J. Ichthyol.* 28 : pp. 423-430.
- Yamashita Y. and Aoyama T. (1985).** Hatching time, yolk sac absorption, onset of feeding, and early growth of the Japanese sand eel *Ammodytes personatus*. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, 51 : pp. 1777-1780.
- Zambonino Infante J.L. and Cahu C. (1994).** Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.*, 12 : pp. 399-408.
- Zambonino Infante J.L. and Cahu C.L. (1994).** Influence of diet on pepsin and some pancreatic enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A : 209-212.
- Zambonino Infante J.L., Cahu C.L., Péres A., Quazuguel P. and Le Gall M.M. (1996).** Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed different *Artemia* ration : growth, pancreas enzymic response and development of digestive functions. *Aquaculture* 139 : 129-138.
- Zeitoun, I.H., Ullrey, D. E. and Magee, W.T. (1976).** Quantifying nutrient requirements of fish. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 33 : pp. 167-172.

# **Annexes**

Annexe 1. Tableaux d'analyse de variance des poids comparés des larves de perche fluviale nourries avec 100% *Artemia* standard et (*Artemia* + Rotifères)

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

	100 % <i>Artemia</i>	Rotifères + <i>Artemia</i>
Mean	20,88	17,86
Variance	37,32589474	4,809894737
Observations	20	20
Hypothesized Mean Difference	1	
df	24	
t Stat	1,39168453	
P(T<=t) one-tail	0,088391578	
t Critical one-tail	1,710882316	
P(T<=t) two-tail	0,176783156	
t Critical two-tail	2,063898137	

F-Test Two-Sample for Variances

	100 % <i>Artemia</i>	Rotifères
Mean	20,88	17,86
Variance	37,32589474	4,809895
Observations	20	20
df	19	19
F	7,760231103	
P(F<=f) one-tail	2,09322E-05	
F Critical one-tail	2,16824958	

Annexe 2. Tableaux d'analyse de variance des paramètres de croissance comparés des larves de perche fluviale nourries avec *Artemia* standard, enrichie, congelées et aliment artificiel (Seabream start)

Taux de survie (%)						
Art vivante	Art enrichie	Art cong	Seabream			
78,57	78,57	43,71	18,33			
52,71	62,00	47,43	3,67			
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	4365,52	3,00	1455,17	9,93	0,03	6,59
Within Groups	586,06	4,00	146,51			
Total	4951,57	7,00				
Indice de consommation						
Art vivant	Art enrichi	Art cong	Seabream			
1,28	1,35	3,02	5,31			
1,11	1,40	3,74	5,50			
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	23,40	3,00	7,80	107,03	0,00	6,59
Within Groups	0,29	4,00	0,07			
Total	23,70	7,00				

**Poids moyen final (mg)**

Art vivant	Art enrichi	Art cong	Seabream
119,10	89,27	66,70	91,53
151,45	110,80	43,90	88,80

**ANOVA**

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	6493,45	3,00	2164,48	8,50	0,03	6,59
Within Groups	1018,69	4,00	254,67			
Total	7512,14	7,00				

**Croissance spécifique**

Art vivant	Art enrichi	Art cong	Seabream
11,96	10,71	9,44	10,39
13,01	11,65	7,62	10,26

**ANOVA**

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	16,49	3,00	5,50	8,27	0,03	6,59
Within Groups	2,66	4,00	0,66			
Total	19,15	7,00				

**Annexe 3. Dosage des enzymes digestives****Annexe 3.1. Pepsine**

Nature Echantillons	Temps (jour)	No Homo génats	No dosage	Poids (mg)	Activités totales (U)	Protéines (mg)	Activités spéc. (U/mgprot.)
100% ART.(15/5/95)	0	22	43	58,1	445,88	0,40	1112,04
100% ART.(15/5/95)	0		44	58,1	396,93	0,40	989,95
100% ART.(15/5/95)	0	23	45	81,8	771,96	0,26	2961,92
100% ART.(15/5/95)	0		46	81,8	761,08	0,26	2920,18
100% ART.(15/5/95)	0	24	47	54,7	657,74	0,37	1765,32
100% ART.(15/5/95)	0		48	54,7	777,40	0,37	2086,49
100% ART.(15/5/95)	0	25	49	40,4	744,76	0,12	6006,99
100% ART.(15/5/95)	0		50	40,4	810,04	0,12	6533,43
100% ART.(22/5/95)	7	26	51	129,5	967,77	0,49	1987,18
100% ART.(22/5/95)	7		52	129,5	940,58	0,49	1931,34
100% ART.(22/5/95)	7	27	53	158,8	1272,37	0,49	2612,63
100% ART.(22/5/95)	7		54	158,8	1326,76	0,49	2724,31
100% ART.(22/5/95)	7	28	55	111,9	646,86	0,40	1613,29
100% ART.(22/5/95)	7		56	111,9	853,55	0,40	2128,78
100% ART.(22/5/95)	7	29	57	109,5	842,67	0,37	2261,67
100% ART.(22/5/95)	7		58	109,5	1506,25	0,37	4042,68
100% ART.(29/5/95)	14	30	59	242	1065,68	0,55	1954,75
100% ART.(29/5/95)	14		60	242	1207,10	0,55	2214,15
100% ART.(29/5/95)	14	31	61	183,9	554,39	0,21	2697,26
100% ART.(29/5/95)	14		62	183,9	445,61	0,21	2168,00
100% ART.(29/5/95)	14	32	63	219,5	663,18	0,37	1779,92
100% ART.(29/5/95)	14		64	219,5	641,42	0,37	1721,53

100% ART.(29/5/95)	14	33	65	214,4	902,50	0,43	2101,37
100% ART.(29/5/95)	14		66	214,4	853,55	0,43	1987,39
100% ART.(5/6/95)	21	58	115	325,7	3301,19	0,29	11446,83
100% ART.(5/6/95)	21		116	325,7	3290,31	0,29	11409,11
100% ART.(5/6/95)	21	59	117	274,6	1114,63	0,60	1845,42
100% ART.(5/6/95)	21		118	274,6	1141,83	0,60	1890,45
100% ART.(5/6/95)	21	60	119	298,3	4263,93	0,47	9086,38
100% ART.(5/6/95)	21		120	298,3	4389,03	0,47	9352,97
100% ART.(5/6/95)	21	61	121	218,7	1751,02	0,40	4367,09
100% ART.(5/6/95)	21		122	218,7	1702,06	0,40	4245,00
100% ART.(13/6/95)	29	62	123	316,7	3230,48	1,51	2145,03
100% ART.(13/6/95)	29		124	316,7	3263,11	1,51	2166,70
100% ART.(13/6/95)	29	63	125	417,9	1761,90	1,40	1257,09
100% ART.(13/6/95)	29		126	417,9	1740,14	1,40	1241,57
100% ART.(13/6/95)	29	64	127	303,9	2082,81	2,64	788,53
100% ART.(13/6/95)	29		128	303,9	2028,42	2,64	767,94
100% ART.(13/6/95)	29	65	129	426,3	2925,88	1,44	2037,31
100% ART.(13/6/95)	29		130	426,3	2969,40	1,44	2067,61
100% ART.(19/6/95)	36	66	131	789,7	3589,47	3,98	901,64
100% ART.(19/6/95)	36		132	789,7	3709,13	3,98	931,70
100% ART.(19/6/95)	36	67	133	721,7	3758,08	4,15	904,77
100% ART.(19/6/95)	36		134	721,7	3654,74	4,15	879,89
100% ART.(19/6/95)	36	68	135	681	3763,52	3,39	1109,18
100% ART.(19/6/95)	36		136	681	3730,89	3,39	1099,56
100% ART.(19/6/95)	36	69	137	606,5	2789,90	4,15	671,68
100% ART.(19/6/95)	36		138	606,5	2681,12	4,15	645,49
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0	34	67	61,9	771,96	0,15	5111,42
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0		68	61,9	842,67	0,15	5579,61
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0	35	69	43	837,23	0,21	4073,34
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0		70	43	826,35	0,21	4020,42
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0	36	71	53,2	810,04	0,15	5363,52
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0		72	53,2	712,13	0,15	4715,26
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0	37	73	42,6	837,23	0,15	5543,60
Sevrées à 50 mg 15/5/95	0		74	42,6	858,99	0,15	5687,66
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7	38	75	88,5	1234,29	0,26	4735,83
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7		76	88,5	1234,29	0,26	4735,83
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7	39	77	102,3	712,13	0,15	4715,26
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7		78	102,3	603,35	0,15	3994,96
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7	40	79	61,5	771,96	0,29	2676,76
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7		80	61,5	712,13	0,29	2469,30
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7	41	81	74,2	1294,12	0,69	1866,08
Sevrées à 50 mg 22/5/95	7		82	74,2	1217,98	0,69	1756,27
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14	42	83	91,2	913,38	0,75	1211,32
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14		84	91,2	853,55	0,75	1131,98
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14	43	85	76,4	1038,48	0,40	2590,01
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14		86	76,4	1022,16	0,40	2549,31
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14	44	87	96,2	1060,24	1,54	687,87

Sevrées à 50 mg 29/5/95	14		88	96,2	1098,31	1,54	712,58
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14	45	89	102	1223,41	0,94	1301,53
Sevrées à 50 mg 29/5/95	14		90	102	1239,73	0,94	1318,89
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21	70	139	356,8	2186,15	3,05	716,59
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21		140	356,8	2104,56	3,05	689,84
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21	71	141	340,7	2126,32	3,05	696,98
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21		142	340,7	2099,13	3,05	688,06
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21	72	143	292,6	2202,47	0,72	3043,44
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21		144	292,6	2126,32	0,72	2938,21
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21	73	145	306,7	2153,52	2,82	763,83
Sevrées à 50 mg 5/6/95	21		146	306,7	2137,20	2,82	758,04
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29	74	147	623,3	1908,75	5,40	353,23
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29		148	623,3	1957,71	5,40	362,29
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29	75	149	708,7	2545,14	4,71	540,53
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29		150	708,7	2561,46	4,71	543,99
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29	76	151	428,2	1544,33	2,43	636,28
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29		152	428,2	1674,87	2,43	690,07
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29	77	153	475,1	3404,53	3,10	1098,83
Sevrées à 50 mg 13/6/95	29		154	475,1	3469,80	3,10	1119,90
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36	78	155	971,5	3437,17	5,26	653,81
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36		156	971,5	3562,27	5,26	677,61
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36	79	157	674,7	2077,37	3,98	521,82
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36		158	674,7	2055,61	3,98	516,35
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36	80	159	700,3	2931,32	4,15	705,73
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36		160	700,3	2893,25	4,15	696,56
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36	81	161	874,8	3768,96	6,29	598,84
Sevrées à 50 mg 19/6/95	36		162	874,8	3801,60	6,29	604,03
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7	46	91	78,9	815,20	0,21	3966,17
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7		92	78,9	833,33	0,21	4054,38
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7	47	93	97,6	880,74	0,26	3379,31
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7		94	97,6	804,60	0,26	3087,14
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7	48	95	136,1	587,03	0,26	2252,36
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7		96	136,1	527,20	0,26	2022,79
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7	49	97	137,3	559,83	0,26	2148,01
Sevrées à 100 mg 22/5/95	7		98	137,3	597,91	0,26	2294,10
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14	50	99	258,8	929,70	0,49	1909,00
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14		100	258,8	918,82	0,49	1886,67
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14	51	101	126,2	391,22	0,15	2590,38
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14		102	126,2	423,85	0,15	2806,47
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14	52	103	164,2	946,02	1,23	767,89
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14		104	164,2	951,45	1,23	772,30
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14	53	105	284	2664,80	2,30	1157,27
Sevrées à 100 mg 29/5/95	14		106	284	2164,40	2,30	939,95
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21	82	163	173,6	1103,75	1,17	946,89
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21		164	173,6	1092,87	1,17	937,56
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21	83	165	185,6	1185,34	0,57	2063,24
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21		166	185,6	1196,22	0,57	2082,18



Sevrées à 100 mg 5/6/95	21	84	167	221	815,47	0,66	1229,06
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21		168	221	848,11	0,66	1278,25
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21	85	169	187,2	706,69	0,46	1542,43
Sevrées à 100 mg 5/6/95	21		170	187,2	755,64	0,46	1649,28
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29	86	171	262,8	1169,02	1,61	724,91
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29		172	262,8	1228,85	1,61	762,01
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29	87	173	237,5	663,18	1,07	621,11
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29		174	237,5	663,18	1,07	621,11
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29	88	175	398,3	1495,37	2,14	698,37
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29		176	398,3	1533,45	2,14	716,15
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29	89	177	282,4	1169,02	1,51	776,23
Sevrées à 100 mg 13/6/95	29		178	282,4	1114,63	1,51	740,11
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36	90	179	337,9	1484,50	2,96	502,03
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36		180	337,9	1604,16	2,96	542,50
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36	91	181	451	1745,58	2,10	830,58
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36		182	451	1756,46	2,10	835,76
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36	92	183	552,2	2333,01	2,91	801,53
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36		184	552,2	2169,84	2,91	745,47
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36	93	185	693,5	2148,08	2,86	749,81
Sevrées à 100 mg 19/6/95	36		186	693,5	2131,76	2,86	744,11
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14	54	107	198,7	1114,63	0,63	1759,03
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14		108	198,7	1141,83	0,63	1801,95
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14	55	109	231,2	1054,80	0,66	1589,76
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14		110	231,2	1016,72	0,66	1532,38
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14	56	111	282,8	1277,81	0,52	2476,32
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14		112	282,8	1217,98	0,52	2360,37
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14	57	113	257,6	1712,94	0,55	3142,01
Sevrées à 150 mg 29/5/95	14		114	257,6	1767,33	0,55	3241,78
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21	94	187	270,9	674,06	0,94	717,10
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21		188	270,9	614,22	0,94	653,44
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21	95	189	344	858,99	1,87	459,30
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21		190	344	962,33	1,87	514,55
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21	96	191	368,4	804,60	1,98	405,41
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21		192	368,4	679,49	1,98	342,38
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21	97	193	285,1	755,64	1,58	479,21
Sevrées à 150 mg 5/6/95	21		194	285,1	788,28	1,58	499,90
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29	98	195	586,8	494,56	4,71	105,03
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29		196	586,8	478,24	4,71	101,57
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29	99	197	296,7	1125,51	1,68	667,98
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29		198	296,7	1076,56	1,68	638,93
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29	100	199	445,6	679,49	2,64	257,25
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29		200	445,6	706,69	2,64	267,55
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29	101	201	340	891,62	1,95	458,13
Sevrées à 150 mg 13/6/95	29		202	340	869,87	1,95	446,95
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36	102	203	563,8	2028,42	4,21	481,53
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36		204	563,8	2088,25	4,21	495,73
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36	103	205	529,1	1043,92	4,33	240,97

Sevrées à 150 mg 19/6/95	36		206	529,1	973,21	4,33	224,65
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36	104	207	660,2	1761,90	5,48	321,59
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36		208	660,2	1783,65	5,48	325,56
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36	105	209	686,1	1751,02	3,81	459,10
Sevrées à 150 mg 19/6/95	36		210	686,1	1838,04	3,81	481,92
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21	106	211	348,8	2020,89	0,63	3189,23
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21		212	348,8	1939,31	0,63	3060,48
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21	107	213	371,6	1685,48	1,83	919,70
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21		214	371,6	1712,67	1,83	934,54
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21	108	215	470,3	2193,13	2,06	1063,42
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21		216	470,3	2338,18	2,06	1133,75
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21	109	217	438,1	3398,82	1,65	2061,56
Sevrées à 300 mg 5/6/95	21		218	438,1	3416,95	1,65	2072,56
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29	110	219	338,7	1241,27	2,02	613,47
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29		220	338,7	1195,95	2,02	591,07
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29	111	221	256,3	1313,80	0,52	2546,07
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29		222	256,3	1286,60	0,52	2493,37
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29	112	223	547,3	2020,89	2,10	961,58
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29		224	547,3	1921,17	2,10	914,13
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29	113	225	413,6	2555,75	2,02	1263,12
Sevrées à 300 mg 13/6/95	29		226	413,6	2474,16	2,02	1222,80
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36	114	227	696	1658,28	4,27	388,18
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36		228	696	1794,26	4,27	420,01
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36	115	229	451,8	1195,95	3,65	327,47
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36		230	451,8	1168,75	3,65	320,02
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36	116	231	890,7	2066,22	5,71	361,85
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36		232	830,7	2138,74	5,71	374,56
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36	117	233	956,3	3163,13	5,40	585,36
Sevrées à 300 mg 19/6/95	36		234	956,3	3099,67	5,40	573,61
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29	118	235	646,3	3525,74	2,02	1742,52
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29		236	646,3	3335,37	2,02	1648,44
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29	119	237	706,2	5329,74	2,47	2158,43
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29		238	706,2	5402,26	2,47	2187,80
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29	120	239	744,3	2582,94	2,86	901,60
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29		240	744,3	2428,83	2,86	847,81
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29	121	241	692,6	2718,92	3,44	789,50
Sevrées à 500 mg 13/6/95	29		242	692,6	2746,12	3,44	797,39
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36	122	243	529,8	1540,43	3,39	453,99
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36		244	529,8	1549,50	3,39	456,66
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36	123	245	533	1386,32	1,65	840,87
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36		246	533	1386,32	1,65	840,87
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36	124	247	730,2	4114,99	5,40	761,50
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36		248	730,2	3697,98	5,40	684,33
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36	125	249	1065,5	4667,97	6,29	741,68
Sevrées à 500 mg 19/6/95	36		250	1065,2	4504,79	6,29	715,76

## Annexe 3.2. Trypsine

Nature Echantillons	Temps (jour)	No Homo génats	No dosage	Poids (mg)	Activités totales(U)	Protéines (mg)	Activités spéc. (U/mg prot.)
100%ART.(15/5/95)	0	22	43	58,1	1,68	0,40	4,18
	0		44	58,1	1,73	0,40	4,30
	0	23	45	81,8	1,53	0,26	5,88
	0		46	81,8	1,49	0,26	5,70
	0	24	47	54,7	1,53	0,37	4,12
	0		48	54,7	1,34	0,37	3,60
	0	25	49	40,4	0,86	0,12	6,95
	0		50	40,4	0,91	0,12	7,34
100%Art.(22/5/95)	7	26	51	129,5	0,81	0,49	1,67
	7		52	129,5	0,91	0,49	1,87
	7	27	53	158,8	1,68	0,49	3,44
	7		54	158,8	1,53	0,49	3,15
	7	28	55	111,9	1,25	0,40	3,11
	7		56	111,9	1,29	0,40	3,23
	7	29	57	109,5	1,34	0,37	3,60
	7		58	109,5	1,15	0,37	3,09
100%ART.(29/5/95)	14	30	59	242	1,73	0,55	3,16
	14		60	242	1,49	0,55	2,72
	14	31	61	183,9	1,44	0,21	6,99
	14		62	183,9	1,25	0,21	6,06
	14	32	63	219,5	1,39	0,37	3,73
	14		64	219,5	1,20	0,37	3,21
	14	33	65	214,4	1,05	0,43	2,45
	14		66	214,4	1,39	0,43	3,24
100%ART.(5/6/95)	21	58	115	325,7	1,44	0,29	4,98
	21		116	325,7	1,39	0,29	4,82
	21	59	117	274,6	2,01	0,60	3,33
	21		118	274,6	1,82	0,60	3,01
	21	60	119	298,3	3,31	0,47	7,05
	21		120	298,3	3,59	0,47	7,66
	21	61	121	218,7	1,20	0,40	2,99
	21		122	218,7	1,20	0,40	2,99
100%ART.(13/6/95)	29	62	123	316,7	2,16	1,51	1,43
	29		124	316,7	2,16	1,51	1,43
	29	63	125	417,9	3,74	1,40	2,67
	29		126	417,9	3,88	1,40	2,77
	29	64	127	303,9	2,06	2,64	0,78
	29		128	303,9	1,82	2,64	0,69
	29	65	129	426,3	1,87	1,44	1,30
	29		130	426,3	1,82	1,44	1,27
100%ART.(19/6/95)	36	66	131	789,7	7,53	3,98	1,89
	36		132	789,7	7,48	3,98	1,88
	36	67	133	721,7	5,42	4,15	1,30
	36		134	721,7	6,76	4,15	1,63

	36	68	135	681	3,98	3,39	1,17
	36		136	681	4,51	3,39	1,33
	36	69	137	606,5	3,40	4,15	0,82
	36		138	606,5	3,98	4,15	0,96
Sevrées à 50 mg 15/5	0	34	67	61,9	0,77	0,15	5,07
	0		68	61,9	1,01	0,15	6,66
	0	35	69	43	0,96	0,21	4,66
	0		70	43	0,86	0,21	4,19
	0	36	71	53,2	0,86	0,15	5,71
	0		72	53,2	0,91	0,15	6,03
	0	37	73	42,6	0,67	0,15	4,44
	0		74	42,6	0,77	0,15	5,07
Sevrées à 50 mg 22/5	7	38	75	88,5	1,01	0,26	3,86
	7		76	88,5	1,10	0,26	4,23
	7	39	77	102,3	1,05	0,15	6,98
	7		78	102,3	1,15	0,15	7,61
	7	40	79	61,5	1,73	0,29	5,98
	7		80	61,5	1,63	0,29	5,65
	7	41	81	74,2	1,77	0,69	2,56
	7		82	74,2	1,92	0,69	2,76
Sevrées à 50 mg 29/5	14	42	83	91,2	1,96	0,75	2,61
	14		84	91,2	1,87	0,75	2,48
	14	43	85	76,4	1,01	0,40	2,51
	14		86	76,4	1,10	0,40	2,75
	14	44	87	96,2	1,29	1,54	0,84
	14		88	96,2	1,44	1,54	0,93
	14	45	89	102	0,96	0,94	1,02
	14		90	102	0,96	0,94	1,02
Sevrées à 50 mg 5/6	21	70	139	356,8	3,07	3,05	1,01
	21		140	356,8	2,88	3,05	0,94
	21	71	141	340,7	1,92	3,05	0,63
	21		142	340,7	1,82	3,05	0,60
	21	72	143	292,6	1,63	0,72	2,25
	21		144	292,6	1,63	0,72	2,25
	21	73	145	306,7	4,55	2,82	1,62
	21		146	306,7	4,65	2,82	1,65
Sevrées à 50 mg 13/6	29	74	147	623,3	12,99	5,40	2,40
	29		148	623,3	13,09	5,40	2,42
	29	75	149	708,7	10,50	4,71	2,23
	29		150	708,7	9,59	4,71	2,04
	29	76	151	428,2	1,39	2,43	0,57
	29		152	428,2	1,58	2,43	0,65
	29	77	153	475,1	1,44	3,10	0,46
	29		154	475,1	1,34	3,10	0,43
Sevrées à 50 mg 19/6	36	78	155	971,5	12,22	5,26	2,33
	36		156	971,5	12,22	5,26	2,33
	36	79	157	674,7	11,46	3,98	2,88

	36		158	674,7	11,60	3,98	2,91
	36	80	159	700,3	7,29	4,15	1,75
	36		160	700,3	7,57	4,15	1,82
	36	81	161	874,8	6,90	6,29	1,10
	36		162	874,8	6,71	6,29	1,07
Sevrées à 100 mg 22/5	7	46	91	78,9	2,20	0,21	10,73
	7		92	78,9	2,01	0,21	9,79
	7	47	93	97,6	1,49	0,26	5,70
	7		94	97,6	1,53	0,26	5,88
	7	48	95	136,1	2,11	0,26	8,09
	7		96	136,1	2,20	0,26	8,46
	7	49	97	137,3	2,11	0,26	8,09
	7		98	137,3	2,25	0,26	8,64
Sevrées à 100 mg 29/5	14	50	99	258,8	1,01	0,49	2,07
	14		100	258,8	1,05	0,49	2,16
	14	51	101	126,2	1,20	0,15	7,93
	14		102	126,2	1,01	0,15	6,66
	14	52	103	164,2	1,44	1,23	1,17
	14		104	164,2	1,49	1,23	1,21
	14	53	105	284	1,87	2,30	0,81
	14		106	284	2,40	2,30	1,04
Sevrées à 100 mg 5/6	21	82	163	173,6	0,91	1,17	0,78
	21		164	173,6	0,86	1,17	0,74
	21	83	165	185,6	1,39	0,57	2,42
	21		166	185,6	1,34	0,57	2,34
	21	84	167	221	2,01	0,66	3,03
	21		168	221	1,92	0,66	2,89
	21	85	169	187,2	2,01	0,46	4,39
	21		170	187,2	2,25	0,46	4,92
Sevrées à 100 mg 13/6	29	86	171	262,8	3,36	1,61	2,08
	29		172	262,8	3,59	1,61	2,23
	29	87	173	237,5	1,44	1,07	1,35
	29		174	237,5	1,44	1,07	1,35
	29	88	175	398,3	2,92	2,14	1,37
	29		176	398,3	3,16	2,14	1,48
	29	89	177	282,4	2,01	1,51	1,34
	29		178	282,4	2,06	1,51	1,37
Sevrées à 100 mg 19/6	36	90	179	337,9	4,27	2,96	1,44
	36		180	337,9	3,83	2,96	1,30
	36	91	181	451	4,65	2,10	2,21
	36		182	451	5,08	2,10	2,42
	36	92	183	552,2	4,55	2,91	1,56
	36		184	552,2	4,65	2,91	1,60
	36	93	185	693,5	7,33	2,86	2,56
	36		186	693,5	7,48	2,86	2,61
Sevrées à 150 mg 29/5	14	54	107	198,7	1,20	0,63	1,89
	14		108	198,7	1,20	0,63	1,89

	14	55	109	231,2	1,10	0,66	1,66
	14		110	231,2	1,25	0,66	1,88
	14	56	111	282,8	1,77	0,52	3,44
	14		112	282,8	1,73	0,52	3,34
	14	57	113	257,6	1,29	0,55	2,37
	14		114	257,6	1,29	0,55	2,37
Sevrées à 150 mg 5/6	21	94	187	270,9	2,97	0,94	3,16
	21		188	270,9	3,12	0,94	3,31
	21	95	189	344	3,21	1,87	1,72
	21		190	344	3,12	1,87	1,67
	21	96	191	368,4	4,89	1,98	2,46
	21		192	368,4	5,66	1,98	2,85
	21	97	193	285,1	1,73	1,58	1,09
	21		194	285,1	1,92	1,58	1,22
Sevrées à 150 mg 13/6	29	98	195	586,8	10,26	4,71	2,18
	29		196	586,8	10,35	4,71	2,20
	29	99	197	296,7	1,05	1,68	0,63
	29		198	296,7	0,91	1,68	0,54
	29	100	199	445,6	3,02	2,64	1,14
	29		200	445,6	2,83	2,64	1,07
	29	101	201	340	3,83	1,95	1,97
	29		202	340	3,69	1,95	1,90
Sevrées à 150 mg 19/6	36	102	203	563,8	9,68	4,21	2,30
	36		204	563,8	8,82	4,21	2,09
	36	103	205	529,1	8,34	4,33	1,93
	36		206	529,1	7,76	4,33	1,79
	36	104	207	660,2	5,18	5,48	0,94
	36		208	660,2	5,94	5,48	1,08
	36	105	209	686,1	7,00	3,81	1,83
	36		210	686,1	7,09	3,81	1,86
Sevrées à 300 mg 5/6	21	106	211	348,8	1,92	0,63	3,02
	21		212	348,8	2,01	0,63	3,18
	21	107	213	371,6	2,20	1,83	1,20
	21		214	371,6	2,11	1,83	1,15
	21	108	215	470,3	2,40	2,06	1,16
	21		216	470,3	2,40	2,06	1,16
	21	109	217	438,1	3,16	1,65	1,92
	21		218	438,1	3,26	1,65	1,98
Sevrées à 300 mg 13/6	29	110	219	338,7	2,87	2,02	1,42
	29		220	338,7	2,68	2,02	1,33
	29	111	221	256,3	2,49	0,52	4,83
	29		222	256,3	2,68	0,52	5,20
	29	112	223	547,3	3,07	2,10	1,46
	29		224	547,3	3,35	2,10	1,60
	29	113	225	413,6	2,40	2,02	1,18
	29		226	413,6	2,11	2,02	1,04
Sevrées à 300 mg 19/6	36	114	227	696	4,98	4,27	1,17

	36		228	696	4,98	4,27	1,17
	36	115	229	451,8	6,52	3,65	1,78
	36		230	451,8	6,23	3,65	1,71
	36	116	231	890,7	4,60	5,71	0,81
	36		232	830,7	4,70	5,71	0,82
	36	117	233	956,3	5,85	5,40	1,08
	36		234	956,3	6,04	5,40	1,12
Sevrées à 500 mg 13/6	29	118	235	646,3	2,30	2,02	1,14
	29		236	646,3	2,68	2,02	1,33
	29	119	237	706,2	3,07	2,47	1,24
	29		238	706,2	2,87	2,47	1,16
	29	120	239	744,3	2,59	2,86	0,90
	29		240	744,3	2,87	2,86	1,00
	29	121	241	692,6	2,49	3,44	0,72
	29		242	692,6	2,49	3,44	0,72
Sevrées à 500 mg 19/6	36	122	243	529,8	2,87	3,39	0,85
	36		244	529,8	2,87	3,39	0,85
	36	123	245	533	2,11	1,65	1,28
	36		246	533	2,11	1,65	1,28
	36	124	247	730,2	4,60	5,40	0,85
	36		248	730,2	4,50	5,40	0,83
	36	125	249	1065,5	9,01	6,29	1,43
	36		250	1065,2	8,82	6,29	1,40

## Annexe 3.3. Chymotrypsine

Nature Echantillons	Temps (jour)	No Homo génats	No dosage	Poids (mg)	Activités totales (U)	Protéines (mg)	Activités spéc. (U/mg prot.)
100%ART.(15/5/95)	0	22	43	58,1	23,37	0,40	58,29
			44	58,1	26,71	0,40	66,63
	0	23	45	81,8	32,28	0,26	123,86
			46	81,8	31,17	0,26	119,59
	0	24	47	54,7	21,15	0,37	56,76
			48	54,7	27,83	0,37	74,69
	0	25	49	40,4	23,37	0,12	188,52
			50	40,4	27,83	0,12	224,45
100%Art.(22/5/95)	7	26	51	129,5	11,12	0,49	22,84
			52	129,5	16,69	0,49	34,28
	7	27	53	158,8	11,12	0,49	22,84
			54	158,8	11,12	0,49	22,84
	7	28	55	111,9	17,81	0,40	44,41
			56	111,9	17,81	0,40	44,41
	7	29	57	109,5	21,15	0,37	56,76
			58	109,5	16,69	0,37	44,80
100%ART.(29/5/95)	14	30	59	242	21,15	0,55	38,79
			60	242	15,58	0,55	28,58
	14	31	61	183,9	15,58	0,21	75,79
			62	183,9	21,15	0,21	102,88

	14	32	63	219,5	21,15	0,37	56,76
	14		64	219,5	15,58	0,37	41,81
	14	33	65	214,4	25,60	0,43	59,61
	14		66	214,4	18,92	0,43	44,05
100%ART.(5/6/95)	21	58	115	325,7	12,24	0,29	42,43
	21		116	325,7	11,12	0,29	38,57
	21	59	117	274,6	15,58	0,60	25,79
	21		118	274,6	18,92	0,60	31,32
	21	60	119	298,3	28,94	0,47	61,67
	21		120	298,3	24,49	0,47	52,18
	21	61	121	218,7	18,92	0,40	47,19
	21		122	218,7	20,03	0,40	49,96
100%ART.(13/6/95)	29	62	123	316,7	22,26	1,51	14,78
	29		124	316,7	20,03	1,51	13,30
	29	63	125	417,9	21,15	1,40	15,09
	29		126	417,9	22,26	1,40	15,88
	29	64	127	303,9	32,28	2,64	12,22
	29		128	303,9	33,40	2,64	12,64
	29	65	129	426,3	15,58	1,44	10,85
	29		130	426,3	16,69	1,44	11,62
100%ART.(19/6/95)	36	66	131	789,7	60,12	3,98	15,10
	36		132	789,7	57,89	3,98	14,54
	36	67	133	721,7	59,01	4,15	14,21
	36		134	721,7	57,89	4,15	13,94
	36	68	135	681	55,67	3,39	16,41
	36		136	681	62,35	3,39	18,38
	36	69	137	606,5	50,10	4,15	12,06
	36		138	606,5	53,44	4,15	12,87
Sevrées à 50 mg 15/5	0	34	67	61,9	8,90	0,15	58,91
	0		68	61,9	8,90	0,15	58,91
	0	35	69	43	14,47	0,21	70,38
	0		70	43	21,15	0,21	102,88
	0	36	71	53,2	12,24	0,15	81,03
	0		72	53,2	15,58	0,15	103,15
	0	37	73	42,6	15,58	0,15	103,15
	0		74	42,6	15,58	0,15	103,15
Sevrées à 50 mg 22/5	7	38	75	88,5	16,69	0,26	64,05
	7		76	88,5	16,69	0,26	64,05
	7	39	77	102,3	17,81	0,15	117,90
	7		78	102,3	20,03	0,15	132,64
	7	40	79	61,5	15,58	0,29	54,02
	7		80	61,5	12,24	0,29	42,43
	7	41	81	74,2	18,92	0,69	27,28
	7		82	74,2	17,81	0,69	25,68
Sevrées à 50 mg 29/5	14	42	83	91,2	24,49	0,75	32,47
	14		84	91,2	27,83	0,75	36,91
	14	43	85	76,4	27,83	0,40	69,40



	14		86	76,4	30,05	0,40	74,96
	14	44	87	96,2	21,15	1,54	13,72
	14		88	96,2	20,03	1,54	13,00
	14	45	89	102	22,26	0,94	23,68
	14		90	102	25,60	0,94	27,24
Sevrées à 50 mg 5/6	21	70	139	356,8	21,15	3,05	6,93
	21		140	356,8	20,03	3,05	6,57
	21	71	141	340,7	20,03	3,05	6,57
	21		142	340,7	18,92	3,05	6,20
	21	72	143	292,6	13,35	0,72	18,45
	21		144	292,6	14,47	0,72	19,99
	21	73	145	306,7	13,35	2,82	4,74
	21		146	306,7	14,47	2,82	5,13
Sevrées à 50 mg 13/6	29	74	147	623,3	57,89	5,40	10,71
	29		148	623,3	56,78	5,40	10,51
	29	75	149	708,7	63,46	4,71	13,48
	29		150	708,7	60,12	4,71	12,77
	29	76	151	428,2	10,01	2,43	4,12
	29		152	428,2	15,58	2,43	6,42
	29	77	153	475,1	28,94	3,10	9,34
	29		154	475,1	24,49	3,10	7,90
Sevrées à 50 mg 19/6	36	78	155	971,5	29,50	5,26	5,61
	36		156	971,5	26,72	5,26	5,08
	36	79	157	674,7	26,16	3,98	6,57
	36		158	674,7	28,39	3,98	7,13
	36	80	159	700,3	37,30	4,15	8,98
	36		160	700,3	34,51	4,15	8,31
	36	81	161	874,8	26,72	6,29	4,25
	36		162	874,8	23,38	6,29	3,71
Sevrées à 100 mg 22/5	7	46	91	78,9	35,61	0,21	173,26
	7		92	78,9	26,70	0,21	129,92
	7	47	93	97,6	42,29	0,26	162,27
	7		94	97,6	40,07	0,26	153,73
	7	48	95	136,1	51,20	0,26	196,45
	7		96	136,1	46,75	0,26	179,36
	7	49	97	137,3	44,52	0,26	170,82
	7		98	137,3	48,97	0,26	187,91
Sevrées à 100 mg 29/5	14	50	99	258,8	30,05	0,49	61,71
	14		100	258,8	32,28	0,49	66,29
	14	51	101	126,2	26,71	0,15	176,88
	14		102	126,2	25,60	0,15	169,51
	14	52	103	164,2	21,15	1,23	17,16
	14		104	164,2	15,58	1,23	12,65
	14	53	105	284	22,26	2,30	9,67
	14		106	284	31,17	2,30	13,54
Sevrées à 100 mg 5/6	21	82	163	173,6	6,67	1,17	5,72
	21		164	173,6	8,90	1,17	7,63

	21	83	165	185,6	13,35	0,57	23,24
	21		166	185,6	11,12	0,57	19,36
	21	84	167	221	4,44	0,66	6,70
	21		168	221	7,78	0,66	11,73
	21	85	169	187,2	26,71	0,46	58,31
	21		170	187,2	27,83	0,46	60,74
Sevrées à 100 mg 13/6	29	86	171	262,8	34,51	1,61	21,40
	29		172	262,8	38,96	1,61	24,16
	29	87	173	237,5	23,37	1,07	21,89
	29		174	237,5	23,37	1,07	21,89
	29	88	175	398,3	2,22	2,14	1,03
	29		176	398,3	2,22	2,14	1,03
	29	89	177	282,4	3,33	1,51	2,21
	29		178	282,4	3,33	1,51	2,21
Sevrées à 100 mg 19/6	36	90	179	337,9	5,56	2,96	1,88
	36		180	337,9	5,56	2,96	1,88
	36	91	181	451	2,22	2,10	1,05
	36		182	451	3,33	2,10	1,58
	36	92	183	552,2	12,24	2,91	4,20
	36		184	552,2	15,58	2,91	5,35
	36	93	185	693,5	20,03	2,86	6,99
	36		186	693,5	21,15	2,86	7,38
Sevrées à 150 mg 29/5	14	54	107	198,7	23,37	0,63	36,89
	14		108	198,7	28,94	0,63	45,67
	14	55	109	231,2	14,47	0,66	21,80
	14		110	231,2	17,81	0,66	26,84
	14	56	111	282,8	17,81	0,52	34,51
	14		112	282,8	18,92	0,52	36,66
	14	57	113	257,6	20,03	0,55	36,75
	14		114	257,6	16,69	0,55	30,62
Sevrées à 150 mg 5/6	21	94	187	270,9	17,79	0,94	18,93
	21		188	270,9	22,25	0,94	23,67
	21	95	189	344	80,15	1,87	42,86
	21		190	344	82,38	1,87	44,05
	21	96	191	368,4	51,20	1,98	25,80
	21		192	368,4	57,88	1,98	29,17
	21	97	193	285,1	28,93	1,58	18,35
	21		194	285,1	28,93	1,58	18,35
Sevrées à 150 mg 13/6	29	98	195	586,8	40,07	4,71	8,51
	29		196	586,8	46,75	4,71	9,93
	29	99	197	296,7	17,79	1,68	10,56
	29		198	296,7	20,02	1,68	11,88
	29	100	199	445,6	22,25	2,64	8,42
	29		200	445,6	22,25	2,64	8,42
	29	101	201	340	13,34	1,95	6,85
	29		202	340	11,11	1,95	5,71
Sevrées à 150 mg 19/6	36	102	203	563,8	26,70	4,21	6,34

	36		204	563,8	26,70	4,21	6,34
	36	103	205	529,1	20,02	4,33	4,62
	36		206	529,1	15,57	4,33	3,59
	36	104	207	660,2	33,38	5,48	6,09
	36		208	660,2	35,61	5,48	6,50
	36	105	209	686,1	22,25	3,81	5,83
	36		210	686,1	20,02	3,81	5,25
Sevrées à 300 mg 5/6	21	106	211	348,8	57,88	0,63	91,35
	21		212	348,8	60,11	0,63	94,86
	21	107	213	371,6	35,61	1,83	19,43
	21		214	371,6	33,38	1,83	18,22
	21	108	215	470,3	28,93	2,06	14,03
	21		216	470,3	28,93	2,06	14,03
	21	109	217	438,1	33,38	1,65	20,25
	21		218	438,1	33,38	1,65	20,25
Sevrées à 300 mg 13/6	29	110	219	338,7	31,16	2,02	15,40
	29		220	338,7	33,38	2,02	16,50
	29	111	221	256,3	40,07	0,52	77,65
	29		222	256,3	53,43	0,52	103,54
	29	112	223	547,3	57,88	2,10	27,54
	29		224	547,3	64,56	2,10	30,72
	29	113	225	413,6	64,56	2,02	31,91
	29		226	413,6	69,02	2,02	34,11
Sevrées à 300 mg 19/6	36	114	227	696	80,15	4,27	18,76
	36		228	696	75,70	4,27	17,72
	36	115	229	451,8	48,97	3,65	13,41
	36		230	451,8	55,66	3,65	15,24
	36	116	231	890,7	135,83	5,71	23,79
	36		232	830,7	144,74	5,71	25,35
	36	117	233	956,3	158,10	5,40	29,26
	36		234	956,3	169,24	5,40	31,32
Sevrées à 500 mg 13/6	29	118	235	646,3	48,97	2,02	24,20
	29		236	646,3	51,20	2,02	25,31
	29	119	237	706,2	89,06	2,47	36,07
	29		238	706,2	93,52	2,47	37,87
	29	120	239	744,3	111,33	2,86	38,86
	29		240	744,3	109,11	2,86	38,08
	29	121	241	692,6	46,75	3,44	13,57
	29		242	692,6	46,75	3,44	13,57
Sevrées à 500 mg 19/6	36	122	243	529,8	44,52	3,39	13,12
	36		244	529,8	44,52	3,39	13,12
	36	123	245	533	55,66	1,65	33,76
	36		246	533	55,66	1,65	33,76
	36	124	247	730,2	75,70	5,40	14,01
	36		248	730,2	73,47	5,40	13,60
	36	125	249	1065,5	135,83	6,29	21,58
	36		250	1065,2	138,06	6,29	21,94

## Annexe 4. Analyses statistiques des résultats de l'expérience des sevrages

## Annexe 4.1. Analyse des résultats de trypsine

100% <i>Artemia</i>	S 50	S 100	S 150	S300	S 500
1,89	2,33	1,44	2,30	1,17	0,85
1,88	2,33	1,30	2,09	1,17	0,85
1,30	2,88	2,21	1,93	1,78	1,28
1,63	2,91	2,42	1,79	1,71	1,28
1,17	1,75	1,56	0,94	0,81	0,85
1,33	1,82	1,60	1,08	0,82	0,83
0,82	1,10	2,56	1,83	1,08	1,43
0,96	1,07	2,61	1,86	1,12	1,40

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	6,24	5,00	1,25	5,37	0,00	5,07
Within Groups	9,76	42,00	0,23			
Total	16,00	47,00				

Contrastes orthogonaux										
Totaux	10,98	16,18	15,70	13,83	9,65	8,77	$\sum CiTi$	$n\sum Ci^2$	D2	F
Y1	1,00	1,00	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-5,10	48,00	0,54	2,33
Y2	-1,00	-1,00	2,00	-1,00	-1,00	2,00	-33,11	96,00	11,42	49,13
Y3	-1,00	1,00	0,00	-1,00	1,00	0,00	1,02	32,00	0,03	0,14
Y4	-1,00	-1,00	2,00	1,00	1,00	-2,00	-21,21	96,00	4,69	20,17
Y5	-1,00	1,00	0,00	1,00	-1,00	0,00	9,39	32,00	2,75	11,85

## Annexe 4.2. Analyse des résultats de chymotrypsine

100% <i>Artemia</i>	S 50	S 100	S 150	S300	S 500
15,10	5,61	1,88	6,34	18,76	13,12
14,54	5,08	1,88	6,34	17,72	13,12
14,21	6,57	1,05	4,62	13,41	33,76
13,94	7,13	1,58	3,59	15,24	33,76
16,41	8,98	4,20	6,09	23,79	14,01
18,38	8,31	5,35	6,50	25,35	13,60
12,06	4,25	6,99	5,83	29,26	21,58
12,87	3,71	7,38	5,25	31,32	21,94

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	2565,51	5,00	513,10	22,43	0,00	5,07
Within Groups	960,68	42,00	22,87			
Total	3526,19	47,00				

Contrastes orthogonaux										
Totaux	117,50	49,65	30,33	44,57	174,84	164,88	$\sum CiTi$	$n\sum Ci^2$	D2	F
Y1	1,00	1,00	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-217	48,00	982,38	42,95
Y2	-1,00	-1,00	2,00	-1,00	-1,00	2,00	-56,80	96,00	33,60	1,47
Y3	-1,00	1,00	0,00	-1,00	1,00	0,00	62,43	32,00	121,78	5,32
Y4	-1,00	-1,00	2,00	1,00	1,00	-2,00	-277	96,00	802,10	35,07
Y5	-1,00	1,00	0,00	1,00	-1,00	0,00	-198	32,00	1226,67	53,63

## Annexe 4.3. Analyse des résultats de pepsine

100% Artemia	S 50	S 100	S 150	S300	S 500
901,64	653,81	502,03	481,53	388,18	453,99
931,70	677,61	542,50	495,73	420,01	456,66
904,77	521,82	830,58	240,97	327,47	840,87
879,89	516,35	835,76	224,65	320,02	840,87
1109,18	705,73	801,53	321,59	361,85	761,50
1099,56	696,56	745,47	325,56	374,56	684,33
671,68	598,84	749,81	459,10	585,36	741,68
645,49	604,03	744,11	481,92	573,61	715,76

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1499127	5,00	299825,5	18,41	0,00	5,07
Within Groups	683856	42,00	16282,2			
Total	2182983	47,00				

Contrastes orthogonaux										
Totaux	7144	4975	5752	3031	3351	5496	$\sum CiTi$	$n\sum Ci^2$	D2	F
Y1	1,00	1,00	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	241	48,00	1208,62	0,07
Y2	-1,00	-1,00	2,00	-1,00	-1,00	2,00	-7509	96,00	587410	36,08
Y3	-1,00	1,00	0,00	-1,00	1,00	0,00	-1849	32,00	106858	6,56
Y4	-1,00	-1,00	2,00	1,00	1,00	-2,00	-16728	96,00	2914817	179,2
Y5	-1,00	1,00	0,00	1,00	-1,00	0,00	-2489	32,00	193621	11,89

## Annexe 4.4. Analyse des résultats des paramètres de croissance

Taux de mortalité						
100% Art	S 50mg	S 100mg	S 150mg	S 300mg	S 500mg	
18,40	54,60	60,60	50,60	51,40	14,50	
25,40	46,00	70,20	37,80	42,10	5,00	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	4113,29	5,00	822,66	17,76	0,00	4,39
Within Groups	277,85	6,00	46,31			
Total	4391,14	11,00				

Taux de survie						
100% Art	S 50mg	S 100mg	S 150mg	S 300mg	S 500mg	
81,40	38,80	33,20	41,80	46,80	85,50	
74,60	40,40	29,40	48,80	51,40	95,00	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	5394,42	5,00	1078,88	57,89	0,00	4,39
Within Groups	111,82	6,00	18,64			
Total	5506,25	11,00				

Cannibalisme						
100% Art	S 50mg	S 100mg	S 150mg	S 300mg	S 500mg	
0,20	6,60	6,20	7,60	1,80	0,00	
0,00	13,60	0,40	13,40	6,50	0,00	

ANOVA						
-------	--	--	--	--	--	--

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	216,62	5,00	43,32	3,76	0,07	4,39
Within Groups	69,20	6,00	11,53			
Total	285,83	11,00				

## Poids final

100% Art	S 50mg	S 100mg	S 150mg	S 300mg	S 500mg
553,04	644,13	254,12	453,56	399,64	445,88
540,90	505,27	588,71	412,90	480,55	497,94

## ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	41438,8	5,00	8287,77	0,70	0,64	4,39
Within Groups	71145,2	6,00	11857,5			
Total	112584,1	11,00				

## SGR

100% Art	S 50mg	S 100mg	S 150mg	S 300mg	S 500mg
6,73	7,11	4,78	6,23	5,92	6,19
6,67	6,50	6,88	6,00	6,38	6,47

## ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1,38	5,00	0,28	0,64	0,68	4,39
Within Groups	2,56	6,00	0,43			
Total	3,94	11,00				

Artemia 100%	S 50 mg	S100 mg	S 150 mg	S 300 mg	S 500 mg
803,20	654,50	334,20	944,20	283,50	502,40
711,50	462,60	248,80	867,20	728,20	289,00
356,30	951,20	464,00	574,10	329,20	382,60
501,30	571,10	307,20	185,50	453,80	323,40
654,00	667,60	215,70	313,60	328,20	334,70
498,20	363,10	187,20	366,20	293,40	308,80
470,90	714,30	218,80	524,10	460,10	450,60
426,20	586,90	145,50	154,60	222,00	516,10
459,20	495,30	180,50	762,10	295,00	284,20
358,70	523,50	251,20	344,60	235,80	279,20
3033,50	845,60	547,20	670,20	891,90	1045,90
614,00	680,00	535,20	599,90	437,10	522,00
707,80	702,80	700,50	554,60	908,20	390,30
384,20	862,20	376,80	607,80	515,00	596,40
543,00	607,90	712,60	490,50	470,90	717,20
624,60	504,30	722,20	441,60	224,20	570,50
255,50	573,50	944,40	650,20	358,60	461,80
456,10	253,00	489,10	553,00	334,00	453,00
588,60	422,20	902,80	361,60	198,40	326,20
393,00	318,20	442,70	481,90	264,00	337,20

## ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	809326,5	5,0	161865,3	1,8	0,1	2,3
Within Groups	10417582,0	114,0	91382,3			
Total	11226908,4	119,0				

Annexe 5 Analyses statistiques des résultats de l'étude de rations alimentaires  
(Tableaux de comparaisons multiples de Newman et Keuls)

Annexe 5.1. Ration des alevins de 2,6 g

		Survie réelle					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
	56	78	64	70	74	48	
	36	66	66	66	64	66	
PPAS	22,1998	27,84598	31,4390	34,00546	36,12278	37,85514	
Moyenne		46	57	65	68	69	72
	57	11	0				
	65	19	8	0			
	68	22	11	3	0		
	69	23	12	4	1	0	
	72	26	15	7	4	3	0
		Survie théorique					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
	70	82	84	72	74	58	
	74	68	68	82	70	70	
PPAS		19,0562	23,9027	26,987	29,190	31,0076	32,496
Moyenne		64	72	72	75	76	77
	72	8	0				
	72	8	0	0			
	75	11	3	3	0		
	76	12	4	4	1	0	
	77	13	5	5	2	1	0
		Cannibalisme					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
14	4	20	2	0	10		
38	2	2	16	6	4		
PPAS	24,1788	30,328	34,241	37,037	39,343	41,2298	
Moyenne		3	3	7	9	11	26
	3	0	0				
	7	4	4	0			
	9	6	6	2	0		
	11	8	8	4	2	0	
	26	23	23	19	17	15	0
		Biomasse finale					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
	61,5	137,1	122,6	126	127,2	85,8	
	58,2	119	112,4	128,2	117,5	10,8	
PPAS	55,461	69,567	78,543	84,954	90,245	94,572	
Moyenne		48,3	59,85	117,5	122,35	127,1	128,05
	59,85	11,55	0				
	117,5	69,2	57,65	0			
	122,35	74,05	62,5	4,85	0		
	127,1	78,8	67,25	9,6	4,75	0	
	128,05	79,75	68,2	10,55	5,7	0,95	0

		<b>Poids final</b>					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
	2,2	3,52	3,83	3,6	3,44	3,58	
	3,23	3,61	3,41	3,88	3,67	3,18	
<b>PPAS</b>	<i>0,8756</i>	<i>1,0982</i>	<i>1,2399</i>	<i>1,3411</i>	<i>1,4246</i>	<i>1,492935</i>	
Moyenne	2,715	3,38	3,555	3,565	3,62	3,74	
	3,38	0,665	0				
	3,555	0,84	0,175	0			
	3,565	0,85	0,185	0,01	0		
	3,62	0,905	0,24	0,065	0,055	0	
	3,74	1,025	0,36	0,185	0,175	0,12	
						0	
		<b>SGR poids</b>					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
	1,19	2,69	2,96	2,8	2,65	2,84	
	2,54	2,84	2,57	3,05	2,89	2,42	
<b>PPAS</b>	<i>1,0696</i>	<i>1,341</i>	<i>1,515</i>	<i>1,638</i>	<i>1,740</i>	<i>1,823</i>	
Moyenne	1,865	2,63	2,765	2,765	2,77	2,925	
	2,63	0,765	0				
	2,765	0,9	0,135	0			
	2,765	0,9	0,135	0	0		
	2,77	0,905	0,14	0,005	0,005	0	
	2,925	1,06	0,295	0,16	0,16	0,155	
						0	
		<b>SGR biomasse</b>					
2%biom	4%biom	6%biom	7%biom	8%biom	10%biom		
	-0,74	1,86	1,47	1,61	1,64	0,39	
	-0,87	1,45	1,19	1,66	1,4	1,04	
<b>PPAS</b>	<i>0,610</i>	<i>0,765</i>	<i>0,863</i>	<i>0,934</i>	<i>0,992</i>	<i>1,040</i>	
Moyenne	-0,805	0,715	1,33	1,52	1,635	1,655	
	0,715	1,52	0				
	1,33	2,135	0,615	0			
	1,52	2,325	0,805	0,19	0		
	1,635	2,44	0,92	0,305	0,115	0	
	1,655	2,46	0,94	0,325	0,135	0,02	
						0	

## Annexe 5.2. Ration des alevins de 21,6 g

		<b>Survie réelle</b>					
0.3%biom	1%biom	1.5%biom	2%biom	2.5%biom	3%biom		
	91,8	90,16	91,8	100	78,69	96,72	
	91,8	88,52	86,89	93,44	98,36	95,08	
	91,8	96,72	86,89	93,44	98,36	96,72	
<b>ANOVA</b>							
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit	
Between Groups	121,299983	5	24,2599967	0,8508601	0,540043	5,06435072	
Within Groups	342,148	12	28,512				
Total	463,447	17					
		<b>Survie théorique</b>					
0.3%biom	1%biom	1.5%biom	2%biom	2.5%biom	3%biom		
	91,8	90,16	91,8	100	78,69	96,72	
	91,8	88,52	86,89	93,44	98,36	95,08	
	91,8	96,72	86,89	93,44	98,36	96,72	



ANOVA							
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit	
Between Groups	121,299	5	24,2599	0,85086	0,5400	5,06435	
Within Groups	342,18	12	28,5123				
Total	463,448	17					
Biomasse finale							
0.3%biom	1%biom	1.5%biom	2%biom	2.5%biom	3%biom		
	974	1040	1172	1362	1112	1378	
	1020	1058	1148	1332	1484	1410	
	822	1164	1188	1196	1472	1552	
PPAS	201,08257	246,1303	274,20350	294,4423	310,111	323,16841	
Moyenne	938,67	1087,3	1087,3	1169,3	1296,7	1356	1446,7
	1087,3	148,63	0				
	1169,3	230,63	82	0			
	1296,7	358,03	209,4	127,4	0		
	1356	417,33	268,7	186,7	59,3	0	
	1446,7	508,03	359,4	277,4	150	90,7	0
IC							
2%biom	2.5%biom	3%biom					
	2,21	2,05	2,15				
	2,14	2,05	2,7				
	5,55	2,04	2,31				
PPAS	3,4397214	4,155236	4,6147407				
Moyenne	2,0466667	2,386667	3,3				
	2,38666667	0,34	0				
	3,3	1,25333333	0,913333	0			
SGR poids							
0.3%biom	1%biom	1.5%biom	2%biom	2.5%biom	3%biom		
	-0,39	0,01	0,46	0,7	0,67	1,24	
	-0,28	0,13	0,56	1,01	1	1,06	
	-0,71	0,16	0,71	0,56	1	1,11	
PPAS	0,2993222	0,366378	0,4081666	0,438293	0,46167	0,4810533	
Moyenne	-0,46	0,1	0,5766667	0,756667	0,89	1,1366667	
	0,1	0,56	0				
	0,57666667	1,036667	0,476667	0			
	0,75666667	1,216667	0,656667	0,18	0		
	0,89	1,35	0,79	0,3133333	0,133333	0	
	1,13666667	1,596667	1,036667	0,56	0,38	0,24667	0
SGR biomasse							
0.3%biom	1%biom	1.5%biom	2%biom	2.5%biom	3%biom		
	-0,74	-0,42	0,1	0,7	-0,33	1,1	
	-0,64	-0,37	-0,02	0,73	0,93	0,85	
	-1,07	0,02	0,12	0,28	0,93	0,97	
PPAS	0,6170827	0,755325	0,8414765	0,903585	0,95167	0,9917404	
Moyenne	-0,8166667	-0,25667	0,0666667	0,51	0,57	0,9733333	
	-0,25666667	0,56	0				
	0,06666667	0,8833333	0,323333	0			
	0,51	1,326667	0,766667	0,4433333	0		
	0,57	1,386667	0,826667	0,5033333	0,06	0	
	0,97333333	1,79	1,23	0,906667	0,463333	0,40333	0
Poids final							
0.3%biom	1%biom	1.5%biom	2%biom	2.5%biom	3%biom		
	17,39	18,91	20,93	22,33	23,17	23,36	
	18,21	19,59	21,66	23,37	24,73	24,31	

	14,68	19,73	22,42	20,98	24,53	26,31	
PPAS		2,0583323	2,519452	2,8068167	3,013986	3,17438	3,3080339
Moyenne		16,76	19,41	21,67	22,22667	24,1433	24,66
	19,41	2,65	0				
	21,67	4,91	0,55	0			
	22,2266667	5,4666667	2,816667	0,5566667	0		
	24,14333333	7,3833333	4,733333	2,4733333	1,916667	0	
	24,66	7,9	5,25	2,99	2,433333	0,51667	0

## Annexe 5.3. Ration des alevins de 1,1 g

Survie réelle							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	0,48	0,6	0,76	0,84	0,7	0,7	
	0,7	0,66	0,62	0,74	0,6	0,84	
PPAS		0,2355173	0,295418	0,3335361	0,360763	0,38323	0,4016047
Moyenne		0,59	0,63	0,65	0,69	0,77	0,79
	0,63	0,04	0				
	0,65	0,06	0,02	0			
	0,69	0,1	0,06	0,04	0		
	0,77	0,18	0,14	0,12	0,08	0	
	0,79	0,2	0,16	0,14	0,1	0,02	0
Survie théorique							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	0,86	0,76	0,76	0,86	0,7	0,7	
	0,76	0,66	0,68	0,74	0,66	0,84	
PPAS		0,1758597	0,220587	0,2490499	0,269381	0,28615	0,2998764
Moyenne		0,68	0,71	0,72	0,77	0,8	0,81
	0,71	0,03	0				
	0,72	0,04	0,01	0			
	0,77	0,09	0,06	0,05	0		
	0,8	0,12	0,09	0,08	0,03	0	
	0,81	0,13	0,1	0,09	0,04	0,01	0
Cannibalisme							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	38	16	0	2	0	0	
	6	0	6	0	6	0	
PPAS		0,0362991	0,045531	0,0514062	0,055603	0,05906	0,0618973
Moyenne		0	1	3	3	8	22
	1	1	0				
	3	3	2	0			
	3	3	2	0	0		
	8	8	7	5	5	0	
	22	22	21	19	19	14	0
Biomasse finale							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	26	35	45,9	53,6	55	47,8	
	22,9	31,7	38,1	44,2	40,6	71,1	
PPAS		21,421634	26,86991	30,336996	32,81348	34,8566	36,528219
Moyenne		24,45	33,35	42	47,8	48,9	59,45
	33,35	8,9	0				
	42	17,55	8,65	0			
	47,8	23,35	14,45	5,8	0		
	48,9	24,45	15,55	6,9	1,1	0	
	59,45	35	26,1	17,45	11,65	10,55	0

1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	-0,54	-3,5	3,54	1,64	2,33	3,9	
	-0,49	-2,4	4	2,73	5,35	2,14	
<b>PPAS</b>		2,7198439	3,411596	3,8518021	4,166235	4,42564	4,6378841
<b>Moyenne</b>		-2,95	-0,515	2,185	3,02	3,77	3,84
	-0,515	2,435	0				
	2,185	5,135	2,7	0			
	3,02	5,97	3,535	0,835	0		
	3,77	6,72	4,285	1,585	0,75	0	
	3,84	6,79	4,355	1,655	0,82	0,07	0
<b>Poids final</b>							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	1,08	1,17	1,21	1,28	1,57	1,37	
	0,65	0,96	1,23	1,19	1,35	1,69	
<b>PPAS</b>		0,4401028	0,55204	0,6232670	0,674146	0,71612	0,7504644
<b>Moyenne</b>		0,865	1,065	1,22	1,235	1,46	1,53
	1,065	0,2	0				
	1,22	0,355	0,155	0			
	1,235	0,37	0,17	0,015	0		
	1,46	0,595	0,395	0,24	0,225	0	
	1,53	0,665	0,465	0,31	0,295	0,07	0
<b>SGR poids</b>							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	1,69	1,92	1,99	2,7	3,59	3,17	
	-0,18	1,32	2,87	2,59	3,36	3,61	
<b>PPAS</b>		1,561783	1,95899	2,2117725	2,392325	2,54128	2,6631546
<b>Moyenne</b>		0,755	1,62	2,43	2,645	3,39	3,475
	1,62	0,865	0				
	2,43	1,675	0,81	0			
	2,645	1,89	1,025	0,215	0		
	3,39	2,635	1,77	0,96	0,745	0	
	3,475	2,72	1,855	1,045	0,83	0,085	0
<b>SGR biomasse</b>							
1%biom	2%biom	3%biom	4%biom	6%biom	8%biom		
	-1,81	-0,52	0,68	1,87	1,89	1,47	
	-1,88	-0,66	0,6	1,15	0,93	2,77	
<b>PPAS</b>		1,25567098	1,575032	1,77826237	1,9234266	2,043187	2,14117305
<b>Moyenne</b>		-1,845	-0,59	0,64	1,41	1,51	2,12
	-0,59	1,255	0				
	0,64	2,485	1,23	0			
	1,41	3,255	2	0,77	0		
	1,51	3,355	2,1	0,87	0,1	0	
	2,12	3,965	2,71	1,48	0,71	0,61	0

## Annexe 5.4. Ration des alevins de 0,3 g

<b>Survie réelle</b>							
2% biomasse	4%biom	8%biom	12%biom	16%biom	20%biom		
	43	66	66	72	71	71	
	52	73	69	76	61	81	
<b>PPAS</b>		13,307138	16,69161	18,845369	20,38377	21,6529	22,691362
<b>Moyenne</b>		47,5	66	67,5	69,5	74	76
	66	18,5	0				
	67,5	20	1,5	0			
	69,5	22	3,5	2	0		
	74	26,5	8	6,5	4,5	0	
	76	28,5	10	8,5	6,5	2	0

		<b>Survie théorique</b>					
		4%bioma	8%bioma	12%biom	16%biom	20%biom	
2% biomasse		46	71	66	76	72	76
		57	74	71	81	70	81
PPAS		10,210420	12,80729	14,459844	15,64024	16,6141	17,410832
Moyenne		51,5	68,5	71	72,5	78,5	78,5
	68,5	17	0				
	71	19,5	2,5	0			
	72,5	21	4	1,5	0		
	78,5	27	10	7,5	6	0	
	78,5	27	10	7,5	6	0	0
		<b>Cannibalisme</b>					
		4%bioma	8%biom	12%biom	16%biom	20%biom	
2% biomasse		3	5	0	4	1	5
		5	1	2	5	9	0
PPAS		2,5305378	3,174143	3,5837096	3,876257	4,11761	4,3150789
Moyenne		1	2,5	3	4	4,5	5
	2,5	1,5	0				
	3	2	0,5	0			
	4	3	1,5	1	0		
	4,5	3,5	2	1,5	0,5	0	
	5	4	2,5	2	1	0,5	0
		<b>Biomasse finale</b>					
		4%biom	8%biom	12%biom	16%biom	20%biom	
2% biomasse		9,4	16,4	21,2	29,5	28,5	28,4
		11	20,8	20,8	24,4	26,8	26,8
PPAS		5,1678472	6,482213	7,3186275	7,916066	8,40895	8,8122249
Moyenne		10,2	18,6	21	26,95	27,6	27,65
	18,6	8,4	0				
	21	10,8	2,4	0			
	26,95	16,75	8,35	5,95	0		
	27,6	17,4	9	6,6	0,65	0	
	27,65	17,45	9,05	6,65	0,7	0,05	0
		<b>Poids final</b>					
		4%biom	8%biom	12%biom	16%biom	20%biom	
2% biomasse		0,22	0,25	0,32	0,41	0,4	0,4
		0,21	0,28	0,3	0,32	0,44	0,33
PPAS		0,0893368	0,112058	0,1265175	0,136845	0,14537	0,1523373
Moyenne		0,215	0,265	0,31	0,365	0,365	0,42
	0,265	0,05	0				
	0,31	0,095	0,045	0			
	0,365	0,15	0,1	0,055	0		
	0,365	0,15	0,1	0,055	0	0	
	0,42	0,205	0,155	0,11	0,055	0,055	0
		<b>SGR poids</b>					
		4%biom	8%biom	12%biom	16%bio	20%biom	
2% biomasse		-0,08	1,52	3,12	4,75	4,7	5,29
		-0,23	1,71	2,74	2,6	5,43	3,61
PPAS		2,0200790	2,533856	2,8608056	3,094341	3,28701	3,4446435
Moyenne		-0,155	1,615	2,93	3,675	4,45	5,065
	1,615	1,77	0				
	2,93	3,085	1,315	0			
	3,675	3,83	2,06	0,745	0		
	4,45	4,605	2,835	1,52	0,775	0	
	5,065	5,22	3,45	2,135	1,39	0,615	0

2% biomasse	SGR biomasse						
	4%biom	8%biom	12%biom	16%biom	20%biom		
	-6,58	-1,68	-0,07	2,22	2,06	2,66	
	-5,26	-0,71	-0,11	0,49	1,62	1,99	
PPAS	1,7755762	2,227168	2,5145444	2,719813	2,88916	3,0277167	
Moyenne	-5,92	-1,195	-0,09	1,355	1,84	2,325	
	-1,195	4,725	0				
	-0,09	5,83	1,105	0			
	1,355	7,275	2,55	1,445	0		
	1,84	7,76	3,035	1,93	0,485	0	
	2,325	8,245	3,52	2,415	0,97	0,485	0

### Annexe 6 Tableaux de comparaisons multiples de Newman et Keuls des résultats des expériences de besoins en protéines

#### Besoins en protéines pour les alevins de 0,3 g

35%Prot	Survie réelle						
	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot		
	83,58	61,19	74,63	82,09	74,63	58,21	
	79,1	71,64	76,12	85,07	67,16	74,63	
PPAS	15,24284	19,11963	21,58668	23,34886	24,80266	25,9921	
Moyenne	66,415	66,42	70,895	75,375	81,34	83,58	
	66,42	0,005	0				
	70,895	4,48	4,475	0			
	75,375	8,96	8,955	4,48	0		
	81,34	14,925	14,92	10,445	5,965	0	
	83,58	17,165	17,16	12,685	8,205	2,24	0
35%Prot	Survie théorique						
	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot		
	85,07	77,61	77,61	86,57	76,12	67,16	
	82,09	74,63	77,61	88,06	73,13	74,63	
PPAS	6,5008227	8,154211	9,206367	9,957908	10,57793	11,0852	
Moyenne	70,895	74,625	76,12	77,61	83,58	87,315	
	74,625	3,73	0				
	76,12	5,225	1,495	0			
	77,61	6,715	2,985	1,49	0		
	83,58	12,685	8,955	7,46	5,97	0	
	87,315	16,42	12,69	11,195	9,705	3,735	0
35%Prot	Biomasse finale						
	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot		
	40,3	32,1	44,9	49,8	40,2	36	
	40,8	39	42,8	58,8	45,8	38,5	

PPAS	9,2324315	11,58056	13,07483	14,14216	15,02271	15,7432
Moyenne	35,55	37,25	40,55	43	43,85	54,3
	37,25	1,7	0			
	40,55	5	3,3	0		
	43	7,45	5,75	2,45	0	
	43,85	8,3	6,6	3,3	0,85	0
	54,3	18,75	17,05	13,75	11,3	10,45
						0
<b>TC</b>						
35%Prot	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot	
	2,15	2,9	2,31	1,79	2,33	2,43
	1,93	2,69	1,95	1,42	2,22	2,41
PPAS	0,4304769	0,539962	0,609635	0,659401	0,700458	0,73405
Moyenne	1,605	2,04	2,13	2,275	2,42	2,795
	2,04	0,435	0			
	2,13	0,525	0,09	0		
	2,275	0,67	0,235	0,145	0	
	2,42	0,815	0,38	0,29	0,145	0
	2,795	1,19	0,755	0,665	0,52	0,375
						0
<b>Poids final</b>						
35%Prot	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot	
	0,72	0,783	0,898	0,905	0,804	0,923
	0,77	0,813	0,839	1,032	1,018	0,77
PPAS	0,2144723	0,26902	0,303732	0,328527	0,348982	0,36572
Moyenne	0,745	0,798	0,8685	0,9685	0,911	0,8465
	0,798	0,053	0			
	0,8685	0,1235	0,0705	0		
	0,9685	0,2235	0,1705	0,1	0	
	0,911	0,166	0,113	0,0425	-0,0575	0
	0,8465	0,1015	0,0485	-0,022	-0,122	-0,0645
						0
<b>SGR</b>						
35%Prot	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot	
	4,32	5,33	5,23	5,63	5,17	6,17
	5,14	4,65	5,64	6,28	5,88	4,9
PPAS	1,3844324	1,736542	1,960612	2,120662	2,252704	2,36074
Moyenne	4,73	4,99	5,435	5,525	5,535	5,955
	4,99	0,26	0			
	5,435	0,705	0,445	0		
	5,525	0,795	0,535	0,09	0	
	5,535	0,805	0,545	0,1	0,01	0
	5,955	1,225	0,965	0,52	0,43	0,42
						0
<b>SGR1</b>						
35%Prot	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot	
	3,42	2,88	3,77	4,64	3,71	3,47
	3,97	2,99	4,28	5,47	3,89	3,44

PPAS	0,8043105	1,008875	1,139052	1,232036	1,308748	1,37151
Moyenne	2,935	3,455	3,695	3,8	4,025	5,055
	3,455	0,52	0			
	3,695	0,76	0,24	0		
	3,8	0,865	0,345	0,105	0	
	4,025	1,09	0,57	0,33	0,225	0
	5,055	2,12	1,6	1,36	1,255	1,03
						0
<b>CEP</b>						
35%Prot	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot	
	1,297	0,862	0,957	1,093	0,782	0,667
	1,445	0,932	1,133	1,372	0,823	0,674
PPAS	0,2617498	0,328322	0,370686	0,400946	0,425911	0,44634
Moyenne	0,6705	0,8025	0,897	1,045	1,2325	1,371
	0,8025	0,132	0			
	0,897	0,2265	0,0945	0		
	1,045	0,3745	0,2425	0,148	0	
	1,2325	0,562	0,43	0,3355	0,1875	0
	1,371	0,7005	0,5685	0,474	0,326	0,1385
						0
<b>VPP</b>						
35%Prot	40%Prot	45%Prot	50%Prot	55%Prot	60%Prot	
	19,808	13,656	15,726	18,297	11,809	11,631
	21,589	15,052	18,414	22,591	12,248	12,242
PPAS	3,9545166	4,96029	5,600327	6,057496	6,434661	6,74325
Moyenne	11,9365	12,0285	14,354	17,07	20,444	20,6985
	12,0285	0,092	0			
	14,354	2,4175	2,3255	0		
	17,07	5,1335	5,0415	2,716	0	
	20,444	8,5075	8,4155	6,09	3,374	0
	20,6985	8,762	8,67	6,3445	3,6285	0,2545
						0

## Annexe 6.2. Besoins en protéines des alevins de 3 g

<b>Survie réelle</b>					
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot	
	34,2857	31,4285	65,7143	74,2857	74,2857
	40	48,571	74,2857	74,2857	80
	31,42857	40	71,42857	65,7143	74,2857
PPAS	9,8588971	12,14366	13,55207	14,55361	15,36736
Moyenne	35,23809	39,99983	70,47619	71,42857	76,19047
	39,999833	4,7617433	0		
	70,47619	35,2381	30,47636	0	
	71,42857	36,19048	31,42874	0,95238	0
	76,190467	40,952377	36,19063	5,714277	4,761897
					0
<b>Survie théorique</b>					
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot	
	54,29	31,43	88,57	88,57	77,14
	45,71	54,29	77,14	80	91,43
	37,14	42,86	71,43	80	77,14

PPAS	15,705767	19,34552	21,5892	23,1847	24,48105
Moyenne	42,86	45,71333	79,04667	81,90333	82,85667
45,713333	2,853333	0			
79,046667	36,186667	33,33333	0		
81,903333	39,043333	36,19	2,856667	0	
82,856667	39,996667	37,14333	3,81	0,953333	0
<b>Cannibalisme</b>					
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot	
	7	0	8	5	1
	2	2	1	2	4
	2	1	0	5	1
PPAS	4,7656584	5,870081	6,550889	7,03502	7,428375
Moyenne	1	2	3	3,666667	4
	2	1	0		
	3	2	1	0	
3,666667	2,666667	1,666667	0,666667	0	
	4	3	2	1	0,333333
<b>Biomasse finale</b>					
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot	
	28,4	53,76	155,71	165,83	208,11
	50,78	67,03	162,33	196,13	189,39
	33,28	52,05	120,8	160,1	184,03
PPAS	28,620384	35,25304	39,34167	42,24914	44,61146
Moyenne	37,486667	57,61333	146,28	174,02	193,8433
57,613333	20,126667	0			
146,28	108,79333	88,66667	0		
174,02	136,53333	116,4067	27,74	0	
193,84333	156,35667	136,23	47,56333	19,82333	0
<b>TC</b>					
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot	
	22,75	6,8	4,66	4,89	3,69
	29,88	9,49	3,875	3,9	4,41
	15,63	6,45	5,32	2,93	3,33
PPAS	6,049229	7,45114	8,315289	8,929814	9,429116
Moyenne	3,81	3,906667	4,618333	7,58	22,75333
3,906667	0,096667	0			
4,618333	0,808333	0,711667	0		
7,58	3,77	3,673333	2,961667	0	
22,75333	18,94333	18,84667	18,135	15,17333	0
<b>Poids final</b>					
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot	
	2,37	4,89	6,77	6,38	8
	3,63	3,94	6,24	7,54	6,76
	3,03	3,72	4,83	6,96	7,08
PPAS	1,2962462	1,596646	1,781824	1,913506	2,020498
Moyenne	3,01	4,18333	5,946667	6,96	7,28
4,183333	1,173333	0			
5,946667	2,936667	1,763333	0		
6,96	3,95	2,776667	1,013333	0	
7,28	4,27	3,096667	1,333333	0,32	0



SGR						
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot		
-0,468382	0,647871	1,026507	1,00358	1,26699		
0,160721	0,478705	1,24285	1,196897	1,06123		
0,336755	0,6803	0,960199	1,33109	1,45414		
PPAS	0,4291905	0,528654	0,589967	0,633567	0,668992	
Moyenne	0,009698	0,602292	1,076519	1,177189	1,260787	
0,602292	0,592594	0				
1,0765187	1,0668207	0,474227	0			
1,177189	1,167491	0,574897	0,10067	0		
1,2607867	1,2510887	0,658495	0,184268	0,083598	0	

CEP						
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot		
-0,48	0,46	0,53	0,4	0,46		
0,16	0,33	0,64	0,5	0,39		
0,31	0,48	0,47	0,66	0,51		
PPAS	0,3735404	0,460107	0,51347	0,551417	0,582249	
Moyenne	-0,003333	0,423333	0,453333	0,52	0,546667	
0,4233333	0,426667	0				
0,4533333	0,456667	0,03	0			
0,52	0,5233333	0,096667	0,066667	0		
0,5466667	0,55	0,123333	0,093333	0,026667	0	

VPP						
20%Prot	30%Prot	40%Prot	50%Prot	60%Prot		
-11,43	4,52	6,76	5,49	6,06		
-2,01	2,69	8,37	7	4,95		
0,45	4,87	5,85	9,4	6,84		
PPAS	5,582383	6,876078	7,673561	8,240661	8,701429	
Moyenne	-4,33	4,026667	5,95	6,993333	7,296667	
4,0266667	8,3566667	0				
5,95	10,28	1,923333	0			
6,9933333	11,323333	2,966667	1,043333	0		
7,2966667	11,626667	3,27	1,346667	0,303333	0	

## Annexe 6.3. Besoins en protéines des alevins de 16 g

Survie réelle							
20%Prot	25%Prot	30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		
91,58	94,74	98,95	96,84	95,79	95,79		
92,63	88,42	93,68	96,84	97,89	98,95		
93,68	93,68	93,68	93,68	100	97,89		
PPAS	4,1170379	5,039361	5,614143	6,02852	6,349328	6,61667	
Moyenne	92,28	92,63	95,43667	95,78667	97,54333	97,8933	
92,63	0,35	0					
95,436667	3,156667	2,806667	0				
95,786667	3,506667	3,156667	0,35	0			
97,543333	5,263333	4,913333	2,106667	1,756667	0		
97,893333	5,613333	5,263333	2,456667	2,106667	0,35	0	
Poids final							
20%Prot	25%Prot	30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		

	15,4	18,84	18,47	19,49	21,39	21,35	
	15,92	16,8	17,5	19,6	19,24	20,48	
	15,89	17,49	17,84	17,97	19,33	19,64	
PPAS		1,5304222	1,873277	2,086939	2,240975	2,360229	2,45961
Moyenne		15,736667	17,71	17,93667	19,02	19,98667	20,49
	17,71	1,9733333	0				
	17,936667	2,2	0,226667	0			
	19,02	3,2833333	1,31	1,083333	0		
	19,986667	4,25	2,276667	2,05	0,966667	0	
	20,49	4,7533333	2,78	2,553333	1,47	0,503333	0
<b>Biomasse finale</b>							
20%Prot	25%Prot	30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		
	1,3398	1,6956	1,73618	1,79308	1,94649	1,94285	
	1,40096	1,4112	1,5575	1,8032	1,78932	1,92512	
	1,31887	1,55661	1,58776	1,59933	1,83635	1,82652	
PPAS		0,1699829	0,208063	0,231795	0,248904	0,262149	0,27319
Moyenne		1,35321	1,55447	1,627147	1,73187	1,857387	1,89816
	1,55447	0,20126	0				
	1,6271467	0,2739367	0,072677	0			
	1,73187	0,37866	0,1774	0,104723	0		
	1,8573867	0,5041767	0,302917	0,23024	0,125517	0	
	1,8981633	0,5449533	0,343693	0,271017	0,166293	0,040777	0
<b>SGR</b>							
20%Prot	25%Prot	30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		
	-0,06	0,25	0,17	0,28	0,5	0,45	
	0,01	0,09	0,19	0,34	0,25	0,38	
	0,03	0,09	0,15	0,18	0,3	0,28	
PPAS		0,1496611	0,183189	0,204083	0,219147	0,230809	0,24053
Moyenne		-0,006667	0,143333	0,17	0,266667	0,35	0,37
	0,1433333	0,15	0				
	0,17	0,1766667	0,026667	0			
	0,2666667	0,2733333	0,123333	0,096667	0		
	0,35	0,3566667	0,206667	0,18	0,083333	0	
	0,37	0,3766667	0,226667	0,2	0,103333	0,02	0
<b>SGR1</b>							
20%Prot	25%Prot	30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		
	-0,2	0,17	0,16	0,23	0,43	0,38	
	-0,11	-0,1	0,09	0,29	0,21	0,37	
	-0,18	-0,01	0,05	0,08	0,3	0,25	
PPAS		0,1677587	0,205341	0,228762	0,245647	0,258719	0,26961
Moyenne		-0,163333	0,02	0,1	0,2	0,313333	0,33333
	0,02	0,1833333	0				
	0,1	0,2633333	0,08	0			
	0,2	0,3633333	0,18	0,1	0		
	0,3133333	0,4766667	0,293333	0,213333	0,113333	0	
	0,3333333	0,4966667	0,313333	0,233333	0,133333	0,02	0
<b>TC</b>							
30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot				
	5,86	3,96	1,97	2,3			

	10,56	3,12	4,23	2,49	
	18,1	11,18	2,96	3,73	
PPAS	7,2680455	9,007026	10,09946	10,90207	
Moyenne	2,84	3,053333	6,086667	11,50667	
	3,0533333	0,2133333	0		
	6,0866667	3,2466667	3,033333	0	
	11,506667	8,6666667	8,453333	5,42	0
<b>CEP</b>					
30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		
	0,30325	0,89493	0,59205	0,88731	
	0,17682	0,24982	0,84434	0,59191	
	0,27816	0,45895	0,81941	0,778	
PPAS	0,3698397	0,458329	0,513918	0,55476	
Moyenne	0,2527433	0,534567	0,751933	0,752407	
	0,5345667	0,2818233	0		
	0,7519333	0,49919	0,217367	0	
	0,7524067	0,4996633	0,21784	0,000473	0
<b>VPP</b>					
30%Prot	35%Prot	40%Prot	45%Prot		
	7,97	7,5	20,04	14,63	
	4,55	10,71	7,55	12,95	
	2,48	1,6	11,68	7,77	
PPAS	8,5381907	10,58107	11,86442	12,80729	
Moyenne	5	6,603333	13,09	11,78333	
	6,6033333	1,6033333	0		
	13,09	8,09	6,486667	0	
	11,783333	6,7833333	5,18	-1,306667	0

## Annexe 7. Technique de dosage des acides aminés dans les aliments expérimentaux et les carcasses des poissons traités

### 1. Principe

La détermination des acides aminés a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), système PICO-TAG Millipore, en phase inverse après dérivation au phénylthiocyanate (PITC). En effet, en milieu alcalin, le PITC réagit avec tous les acides aminés primaires et secondaires pour donner des dérivés phénylthiocarbamyls (PTC). Ceux-ci peuvent être détectés en U.V. à 269 nm après séparation en phase inverse dans une colonne en  $C_{18}$  de 30 cm. Les acides aminés contenus dans les échantillons biologiques sont libérés par hydrolyse acide et dosés à l'échelle de la picomole en référence à des acides aminés standards.

### 2. Réactifs

- Acides aminés standards (Pierce chemical company, Rockford, Illinois, U.S.A., Art. 20088). 1 ml de cette solution contient tous les acides aminés protéiques excepté le tryptophane, et ce à raison de 1,25  $\mu$ moles pour la cystéine, et de 2,5  $\mu$ moles pour les autres;
- Standard interne : acide L- $\alpha$ -amino-butérique MM 103,1 (SIGMA A-1879);
- Triéthylamine, TEA (SIGMA T-0886);
- Ethanol pur qualité CLHP (Merck 983);
- Solution diluante Pico-Tag d'échantillon pour analyse d'acides aminés (Part No.88119, Batch No. 417933 Waters);
- Acétate de sodium anhydre MM 82,03 (Merck 6268);

- Calcium disodium ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA (Fluka chemika 03668);
- Acétonitrile qualité CLHP (Alltech 1648);
- Phénylthiocyanate, PITC, MM 135,18 (sequanal grade) 10 x 1 ml ampoules (PIERCE 26922);
- Eau qualité Milli-Q (ou eau bidistillée);
- Acide chlorhydrique 6 fois normal, HCl 6N avec 1 % de phénol par volume (Pierce 24039, avec 10 µl de phénol liquéfié ajouté à 1 ml d'HCl 6N);
- Acide acétique glacial (J.T. Baker);
- n-Heptane pur (Vcl 1383).

### 3. Solutions

- Solution de séchage : 100 µl d'éthanol + 100 µl d'H<sub>2</sub>O + 50 µl de TEA;
- Solution de couplage : 350 µl d'éthanol + 50 µl d'H<sub>2</sub>O + 50 µl de TEA + 50 µl de PITC;
- Solution stock de EDTA 1000 ppm : (100 mg EDTA + 100 ml d'eau Milli-Q) soniqué et réfrigéré jusqu'à un mois.
- Solution de standard interne : 2,6 mg d'acide L-α-amino-butérique dissous dans 10 ml d'HCl 0,001N, soit 2,5 µmoles ml<sup>-1</sup>

### 4. Eluants

- Solvant A : [940 ml du mélange (11,46 g d'acétate de sodium anhydre + 1 l d'eau bidistillée + 0,5 ml de triéthylamine + 200 µl de solution stock de EDTA) titré à pH 6,40 avec de l'acide acétique puis filtré avec un filtre GVWP 0,22 µm + 60 ml d'acétonitrile] mélangé et dégazé par sonication sous vide pendant 20 secondes;
- Solvant B : (600 ml d'acétonitrile + 400 ml du solvant A + 200 µl de solution stock de EDTA) mélangé et dégazé par sonication sous vide pendant 20 secondes.
- EDTA sert à améliorer la reproductibilité de la performance de la chromatographie.

### 5. Matériels

- Tubes à essai en verre de 13 x 100 mm à bouchon à vis joint caoutchouc autoclavable pour hydrolyse des échantillons (DELTA Bio 71030);
- Tubes à échantillon en verre de 6 x 50 mm (Waters 007571);
- Flacon de réaction en polyéthylène (Waters 62341);
- Station d'hydrolyse et de séchage de Pico-Tag (PTW 001617) équipée d'un four (0-150°C) raccordée à une pompe à vide type E2M2, E1/E2M5 et 8, E2M12 EDWARDS, à une bouteille d'azote gazeux et à un thermus d'azote liquide;
- Un complexe analyseur composé de :
  - . 2 pompes à haute performance (modèle 6000A),
  - . 1 programmeur de gradients (modèle Waters 600) raccordé à 4 éluants (A, B, C = 100 % méthanol et D = 100 % eau bidistillée) et une bouteille d'hélium qui permet le dégazage des 4 éluants,
  - . 1 four pour colonne,
  - . 1 colonne Pico-Tag de 3,9 x 300 mm (Waters 10950),
  - . 1 détecteur UV à 269 nm (modèle Waters 486),
  - . 1 système de stabilisation des éluants (ESS),
  - . 1 ordinateur NEC Power Mate 486/33i doté d'un programme Millennium qui permet de programmer l'ordre d'injection des échantillons, d'enregistrer, d'intégrer, de calibrer et de quantifier les chromatogrammes.

### 6. Méthodes

#### 6.1. Etablissement des droites d'étalonnage

##### a. Hydrolyse

- 30 µl de 6 dilutions différentes (1x, 2x, 3x, 4x, 5x et 6x) de la solution standard d'acides aminés protéiques (excepté le tryptophane) sont déposés au fond de 6 x 2 tubes à échantillon de 6 mm x 50 mm marqués avec une plume en diamant (2 replicats),
- les tubes contenant la solution standard d'acides aminés auxquels on ajoute 2 autres tubes contenant 30 µl d'eau bidistillée sont ensuite répartis dans deux façons de réaction au fond duquel sont déposés 200 µl d'HCl 6N 1 % phénol
- on fait prudemment le vide dans les flacons de réaction à l'aide de la station Pico-Tag jusqu'à ce que l'HCl se mette à bouillir (20 à 30 secondes), on purge 5 secondes à l'azote et on refait le vide à raison de 3 cycles vide/azote,

- au dernier cycle vide/azote, on laisse le vide dans les flacons de réaction qui sont incubés dans le four à 115°C pendant 22 heures,
- après 22 heures précises, on enlève les flacons du four et on les laisse refroidir, on y retire les tubes d'échantillon à l'aide d'une pince et on rince à l'eau et au méthanol les flacons de réaction qui sont ainsi prêts pour le processus de dérivation

#### b. Dérivation

- On prépare 14 autres tubes à échantillon identiques aux précédents dans lesquels on pipette respectivement 20 µl des solutions hydrolysées (acides aminés standards et l'eau bidistillée) et 20 µl de la solution de standard interne (acide α-amino-butérique) fraîchement préparée,
- on dépose de nouveau les tubes dans les flacons de réaction, on retire sous vide le résidu d'HCl et on refait les 3 cycles vide/azote, on laisse sous vide au troisième cycle vide/azote et on sèche entièrement les solutions contenues dans les tubes d'échantillon,
- le résidu de chaque tube à échantillon est dissous dans 20 µl de la solution de resséchage et subit alors un second séchage,
- 20 µl de la solution de couplage sont finalement ajoutés au résidu obtenu après le second séchage. Les tubes sont vortexés et incubés à température ambiante (20-25°C) pendant 10 minutes. Ils subissent un dernier séchage pendant environ 1 heure afin d'éliminer les dernières traces de PITC et peuvent être conservés au congélateur pour 10 jours au maximum.

#### C. Chromatographie

- Au moment d'injecter les échantillons sur la colonne, les résidus de chaque tube sont dilués dans 200 µl du diluant Pico-Tag et extraits à l'heptane (200 µl d'heptane sont utilisés pour dégraisser entièrement les échantillons). Après mélange et filtration à travers un filtre nylon acrodisc 0,45 µm (HPLC certified), un volume de 10 µl de la phase inférieure du mélange diluant/heptane est injecté dans la colonne, ce qui correspond à 1,25 nanomoles de cystéine et à 2,5 nanomoles de chacun des autres acides aminés de la solution standard non diluée.
- Les acides aminés sont élués en fonction de leur hydrophobicité grâce à l'application d'un gradient d'acétonitrile (Eluant B). Nul lors de l'injection de l'échantillon, le pourcentage de l'acétonitrile dans le solvant d'éluion augmente graduellement jusqu'à un maximum de 50 %, permettant ainsi aux résidus les plus hydrophobes d'être élués. La température de la colonne est maintenue à 46°C. La colonne est ensuite rincée par le solvant A pendant 20 mn pour permettre une nouvelle injection.
- Des droites d'étalonnage sont réalisées périodiquement (toutes les 2 semaines) pour chaque acide aminé. Elles donnent l'intégration de la surface des pics en fonction de la quantité (en nanomoles) d'acides aminés injectés. La limite de détection se situe aux alentours de 500 picomoles.

#### 6.2. Dosage des acides aminés dans les échantillons d'aliments et de larves

- Les échantillons d'aliments et de larves préalablement séchés sont écrasés en poudre. Une hydrolyse acide permet de libérer les acides aminés qu'ils contiennent. La procédure d'hydrolyse est la suivante : 10 mg x 2 de poudre de chaque échantillon (2 replicats) sont respectivement dissous dans 1 ml d'HCl 6N 1 % phénol dans des tubes à essai de 13 mm x 100 mm,
- de l'azote gazeux est soufflé dans ces tubes pendant quelques secondes de manière à éliminer l'oxygène présent pour éviter l'oxydation de certains acides aminés,
- les tubes à essai sont alors fermés avec leur bouchon à vis équipés de joint de caoutchouc et mises à l'étuve à 115°C pendant 22 heures, ce qui conduit à l'hydrolyse totale des protéines.
- après hydrolyse, le contenu de chaque tube est filtré (sur 0,2 µm type N3AMB524A) et le filtrat obtenu est récupéré dans un eppendorf;
- 20 µl de chaque filtrat + 20 µl de la solution de standard interne sont respectivement pipetés dans un tube à échantillon et la procédure de séchage, resséchage et dérivation habituelle est suivie.

#### 6.3. Remarques

- Afin d'assurer une bonne résolution et une reproductibilité parfaite des pics de chromatogrammes, les mêmes pipettes et cylindres gradués sont choisis pour le prélèvement des mêmes réactifs. Aussi, pour chaque droite d'étalonnage et sa série d'échantillons (au moins 50), nous avons préparé un stock de 5 litres de l'éluant A et un stock de 2,5 litres de l'éluant B, avec une filtration et un dégazage systématiques de tous les solvants au début de chaque journée.
- Etant donné le vieillissement de la colonne et la résolution moindre qui en découle, les standards sont régulièrement hydrolysés et dérivés avec les échantillons. Ils sont injectés au début de chaque série d'éluions quotidiennes d'échantillons (environ 10 à 12) et leurs résultats comparés à ceux obtenus pour les droites d'étalonnage établies permettant de contrôler la qualité de la colonne. Le facteur de correction est ainsi calculé et appliqué aux valeurs observées pour les échantillons biologiques.
- Le standard interne aide à mieux quantifier les acides aminés des échantillons.

## Annexe 8. Résultats des analyses d'acides aminés

## Annexe 8.1. Composition en acides aminés (g/100g d'acides aminés) de quelques aliments vivants de référence

Acides aminés	Aliments vivants							
	<i>Artemia</i>		Rotifères		Cladocères		Copépodes	
	Moyenne ± Sd		Moyenne ± Sd		Moyenne ± Sd		Moyenne ± Sd	
ALA	5,12	0,75	4,16	0,55	6,12	0,02	5,83	0,03
ARG	6,27	0,34	6,31	0,57	4,26	0,05	9,89	0,05
ASP	5,57	0,89	6,12	1,61	5,58	1,38	8,85	0,17
CYS	1,47	1,27	0,70	0,03	0,00	0,00	0,21	0,30
GLU	9,98	1,62	12,64	0,97	9,42	0,86	13,87	0,25
GLY	3,01	0,30	3,41	0,03	2,33	0,01	3,06	0,05
HIS	1,74	0,16	2,70	0,01	5,04	0,02	3,49	0,04
ILE	6,43	0,58	6,45	0,67	4,78	0,25	4,34	0,09
LEU	12,74	1,50	10,15	0,91	8,06	1,51	7,77	0,19
LYS	6,17	0,56	8,04	0,77	5,75	0,32	8,15	0,04
MET	7,89	0,81	2,96	0,16	2,78	0,06	1,85	0,24
PHE	7,80	0,77	7,74	0,80	5,90	0,23	4,66	0,02
PRO	4,41	0,44	5,02	0,04	18,98	0,79	5,27	0,02
SER	4,03	0,23	4,09	0,01	3,84	0,07	4,61	0,07
THR	3,66	0,41	4,11	0,56	4,66	0,11	4,09	0,02
TYR	7,29	0,01	8,44	0,63	5,51	0,36	8,83	0,06
VAL	6,40	2,55	6,95	0,36	6,99	0,27	5,24	0,14
ΣAAE	59,12		55,41		48,21		49,46	
ΣAAD	40,88		44,59		51,79		50,54	
ΣAAE/ΣAAD	1,45		1,24		0,93		0,98	

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Sd : écartype.

Annexe 8.2. Variation de la composition corporelle en acides aminés (g/100g d'acides aminés) du stade embryon oeillé au stade juvénile de la perche fluviatile élevée dans du zooplancton en étang fertilisé

Acides aminés	Poids du poisson (mg)													
	Oeuf		0,99		34,51		75,37		266		338,7		2071	
	Moy.±Sd		Moy.±Sd		Moy.±Sd		Moy.±Sd		Moy.±Sd		Moy.±Sd		Moy.±Sd	
<b>ALA</b>	4,52	0,00	5,31	0,03	5,53	0,20	5,97	0,10	6,09	0,35	6,06	0,08	6,56	0,02
<b>ARG</b>	6,25	0,39	7,14	0,02	6,62	0,12	6,49	0,08	6,31	0,27	6,31	0,11	6,18	0,20
<b>ASP</b>	9,65	0,50	9,97	0,14	9,41	0,88	9,54	0,15	8,03	0,39	8,65	2,15	7,63	1,62
<b>CYS</b>	0,89	0,09	0,51	0,02	0,78	0,34	0,39	0,00	0,27	0,06	0,42	0,09	0,58	0,22
<b>GLU</b>	14,44	0,23	14,48	0,03	14,52	0,34	14,77	0,14	15,50	0,49	14,56	0,24	14,10	0,12
<b>GLY</b>	3,24	0,13	5,92	0,04	6,27	0,09	6,42	0,09	7,07	0,19	7,07	0,08	7,97	0,32
<b>HIS</b>	2,68	0,18	2,86	0,01	3,04	0,03	3,29	0,04	3,26	0,15	3,10	0,07	2,88	0,02
<b>ILE</b>	5,80	0,08	5,17	0,02	5,07	0,40	5,06	0,05	5,11	0,75	5,02	0,31	5,13	0,20
<b>LEU</b>	7,24	0,12	7,80	0,01	7,92	1,20	7,50	0,19	7,83	1,60	7,29	0,44	8,06	0,31
<b>LYS</b>	5,67	0,34	8,63	0,23	8,49	0,62	7,96	0,73	7,73	1,72	8,29	0,77	8,83	0,34
<b>MET</b>	2,88	0,10	2,50	0,03	2,83	0,20	3,01	0,04	2,90	0,29	3,22	0,04	3,11	0,04
<b>PHE</b>	8,66	0,15	4,35	0,03	4,48	0,08	4,52	0,03	4,07	0,58	4,59	0,13	4,49	0,09
<b>PRO</b>	4,92	0,04	4,31	0,01	4,26	0,03	4,45	0,07	4,89	0,28	4,61	0,07	4,79	0,14
<b>SER</b>	6,03	0,13	5,61	0,00	5,46	0,12	5,57	0,07	5,94	0,10	5,48	0,02	4,81	0,18
<b>THR</b>	5,35	0,19	5,54	0,03	5,43	0,14	5,31	0,06	5,52	0,11	5,34	0,09	4,94	0,21
<b>TYR</b>	5,97	0,09	4,10	0,01	4,03	0,07	4,07	0,05	3,88	0,32	3,98	0,09	3,64	0,14
<b>VAL</b>	5,81	0,01	5,80	0,01	5,86	0,24	5,67	0,05	5,59	0,49	6,01	0,25	6,30	0,81
$\Sigma$ A <del>A</del> E	50,35		49,80		49,74		48,82		48,32		49,17		49,92	
$\Sigma$ AAD	49,65		50,20		50,26		51,18		51,68		50,83		50,08	
$\Sigma$ <del>A</del> A <del>E</del>	1,01		0,99		0,99		0,95		0,93		0,97		1,00	
$\Sigma$ AAD														

A~~A~~E : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype.

Annexe 8.3. Composition en acides aminés (g/100g d'acides aminés) des régimes expérimentaux à différents taux de protéines brutes utilisés pour déterminer les besoins en protéine chez des alevins de la perche fluviatile (Pi = 3 g)

Acides aminés	Niveaux de protéines des aliments (%)											
	0		20		30		40		50		60	
	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	Moy. ± Sd	
<b>ALA</b>	0,00	0,00	6,21	0,06	4,29	0,99	3,18	0,16	3,22	0,01	3,18	0,01
<b>ARG</b>	37,44	6,64	7,06	0,05	8,66	1,63	8,01	0,60	6,64	0,02	5,83	0,69
<b>ASP</b>	0,00	0,00	8,92	0,49	7,31	0,88	5,47	0,51	8,11	0,16	7,62	0,57
<b>CYS</b>	0,00	0,00	0,33	0,46	1,86	0,07	0,28	0,39	0,29	0,01	1,87	0,07
<b>GLU</b>	0,00	0,00	16,66	0,27	16,43	1,91	20,17	0,67	21,12	0,23	21,80	1,83
<b>GLY</b>	0,00	0,00	5,59	0,01	2,44	0,22	2,33	0,19	1,84	0,02	1,58	0,15
<b>HIS</b>	0,00	0,00	2,22	0,16	1,71	0,35	2,46	0,14	2,65	0,09	2,74	0,18
<b>ILE</b>	0,00	0,00	5,86	0,03	3,42	0,28	5,01	0,50	5,25	0,02	4,82	0,33
<b>LEU</b>	33,02	2,66	8,36	0,00	7,92	0,37	8,36	1,01	8,09	0,08	8,56	0,50
<b>LYS</b>	37,52	1,94	6,62	0,09	6,48	1,56	7,13	0,85	6,63	0,47	6,27	0,50
<b>MET</b>	0,00	0,00	1,82	0,09	5,23	0,34	2,90	0,26	2,73	0,09	3,16	0,60
<b>PHE</b>	0,00	0,00	4,33	0,06	4,48	0,59	5,59	0,15	5,50	0,13	5,22	0,35
<b>PRO</b>	0,00	0,00	4,25	0,06	4,48	0,06	7,27	0,63	7,37	0,02	7,24	0,42
<b>SER</b>	0,00	0,00	5,79	0,05	4,34	0,49	5,02	0,26	4,68	0,03	4,30	0,35
<b>THR</b>	0,00	0,00	5,71	0,03	4,28	0,58	4,75	0,04	4,22	0,02	3,84	0,21
<b>TYR</b>	0,00	0,00	4,00	0,05	5,08	0,49	6,84	0,28	6,15	0,05	5,72	0,46
<b>VAL</b>	0,00	0,00	6,25	0,06	4,43	0,21	5,23	0,31	5,50	0,07	5,46	0,06
$\Sigma$ AAE	-		48,25		46,61		49,44		47,21		45,90	
$\Sigma$ AAD	-		51,75		46,24		50,56		52,79		53,30	
$\Sigma$ AAE	-		0,93		1,01		0,98		0,89		0,86	
$\Sigma$ AAD	-											

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype, Pi : poids initial.



Annexe 8.4. Composition en acides aminés (g/100g d'acides aminés) des régimes expérimentaux à différents taux protéines brutes utilisés pour déterminer les besoins en protéines chez des alevins de la perche fluviatile (Pi = 16 g)

Acides aminés	Niveaux de protéines brutes des régimes alimentaires (%)											
	20		25		30		35		40		45	
	Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd	
ALA	4,57	0,00	5,05	0,40	3,84	0,31	3,81	0,13	4,55	0,39	3,97	0,00
ARG	8,93	0,08	9,77	0,25	7,29	0,08	6,84	0,14	8,00	1,39	7,03	0,38
ASP	8,05	0,03	7,63	1,59	1,24	0,16	1,36	0,12	1,46	0,12	1,41	0,25
CYS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,56	0,00	0,00	0,21	0,30	0,23	0,33
GLU	20,43	0,07	19,31	1,14	6,78	1,41	8,04	0,49	8,77	1,52	8,90	1,50
GLY	4,14	0,01	4,27	0,25	4,50	0,13	4,33	0,13	4,83	0,19	4,83	0,02
HIS	1,92	0,03	2,34	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,82	1,16	0,00	0,00
ILE	4,32	0,04	4,64	0,28	4,57	0,06	5,22	0,37	4,58	0,75	5,11	0,17
LEU	6,87	0,02	7,35	0,77	30,07	1,20	24,60	4,11	24,94	2,34	22,66	0,64
LYS	4,26	0,05	4,54	0,89	4,56	1,14	3,96	0,42	5,92	1,47	5,85	0,07
MET	2,85	0,06	2,94	0,28	5,62	0,16	5,79	0,16	4,52	1,68	5,06	0,51
PHE	4,89	0,05	4,72	0,27	4,89	0,19	5,78	0,49	5,18	0,20	5,77	0,17
PRO	9,38	0,03	8,77	0,02	8,74	0,58	10,43	0,87	8,15	1,05	9,50	0,03
SER	4,74	0,02	4,57	0,10	3,45	0,03	3,58	0,32	3,88	0,50	3,76	0,07
THR	4,26	0,02	4,15	0,26	3,60	0,11	3,62	0,28	3,87	0,23	3,80	0,04
TYR	5,34	0,06	4,95	0,15	5,70	0,02	6,99	0,51	5,41	0,62	6,57	0,14
VAL	5,03	0,12	5,00	0,03	4,76	0,22	5,67	0,50	4,91	0,63	5,53	0,12
ΣAAE	43,33		45,45		65,37		61,47		62,75		60,82	
ΣAAD	56,67		54,55		34,63		38,53		37,25		39,18	
<u>ΣAAE</u>	0,76		0,83		1,89		1,60		1,68		1,55	
<u>ΣAAD</u>												

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype, Pi : poids initial.

Annexe 8.5. Composition en acides aminés (g/100g d'acides aminés) des régimes expérimentaux à différents taux de protéines brutes utilisés pour déterminer les besoins en protéines chez des alevins de la perche fluviatile (Pi = 0,2 g)

Acides aminés	Niveaux de protéines											
	35		40		45		50		55		60	
	Moy.±	Sd	Moy.±	Sd	Moy.±	Sd	Moy.±	Sd	Moy.±	Sd	Moy.±	Sd
<b>ALA</b>	3,81	0,13	4,55	0,39	3,97	0,00	4,82	0,11	3,71	0,01	3,71	0,17
<b>ARG</b>	6,84	0,14	8,00	1,39	7,03	0,38	8,17	1,08	7,57	0,10	8,49	0,08
<b>ASP</b>	1,36	0,12	1,46	0,12	1,41	0,25	3,45	0,91	4,21	0,38	6,31	1,54
<b>CYS</b>	0,00	0,00	0,21	0,30	0,23	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,28
<b>GLU</b>	8,04	0,49	8,77	1,52	8,90	1,50	15,07	0,72	18,32	0,30	20,90	0,01
<b>GLY</b>	4,33	0,13	4,83	0,19	4,83	0,02	5,34	0,06	4,52	0,01	4,66	0,48
<b>HIS</b>	0,00	0,00	0,82	1,16	0,00	0,00	0,00	0,00	1,77	0,39	2,56	0,56
<b>ILE</b>	5,22	0,37	4,58	0,75	5,11	0,17	5,91	0,41	4,87	0,02	3,69	0,27
<b>LEU</b>	24,60	4,11	24,94	2,34	22,66	0,64	11,54	0,25	9,27	0,04	6,52	1,05
<b>LYS</b>	3,96	0,42	5,92	1,47	5,85	0,07	6,41	1,70	8,48	0,06	8,16	0,88
<b>MET</b>	5,79	0,16	4,52	1,68	5,06	0,51	5,04	1,57	3,25	0,07	2,56	0,52
<b>PHE</b>	5,78	0,49	5,18	0,20	5,77	0,17	6,19	0,18	5,73	0,01	4,75	0,03
<b>PRO</b>	10,43	0,87	8,15	1,05	9,50	0,03	8,20	0,88	8,13	0,11	7,74	0,35
<b>SER</b>	3,58	0,32	3,88	0,50	3,76	0,07	3,74	0,79	4,51	0,07	4,84	0,09
<b>THR</b>	3,62	0,28	3,87	0,23	3,80	0,04	3,83	0,17	3,98	0,01	4,07	0,02
<b>TYR</b>	6,99	0,51	5,41	0,62	6,57	0,14	6,30	0,05	6,45	0,28	6,60	0,24
<b>VAL</b>	5,67	0,50	4,91	0,63	5,53	0,12	5,97	0,38	5,23	0,04	4,23	0,17
$\Sigma$ AAE	61,47		62,75		60,82		53,06		50,16		45,04	
$\Sigma$ AAD	38,53		37,25		39,18		46,94		49,84		54,96	
$\Sigma$ AAE	1,60		1,68		1,55		1,13		1,01		0,82	
$\Sigma$ AAD												

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype.

Annexe 8.6. Composition corporelle en acides aminés (g/100g d'acides aminés) des alevins de perche fluviatile (Pi = 3 g) nourris avec des régimes à différents taux de protéines brutes

Acides aminés	Poissons		Niveaux de protéines brutes des régimes alimentaires (%)											
	initiaux		0	20	30	40	50	60						
	Moy±Sd		Moy±Sd	Moy±Sd	Moy±Sd	Moy±Sd	Moy±Sd	Moy±Sd	Moy±Sd	Moy±Sd				
ALA	4,78	0,30	5,56	0,06	5,22	0,43	5,23	0,13	4,57	0,36	5,15	0,00	4,87	0,06
ARG	8,13	0,32	11,08	0,39	9,15	0,53	8,54	0,21	7,74	0,31	8,31	0,14	7,96	0,10
ASP	7,86	0,08	2,60	0,71	6,67	0,38	4,59	0,79	9,28	0,49	6,48	0,65	9,47	0,17
CYS	0,84	0,04	0,82	0,08	0,86	0,14	0,92	0,12	0,74	0,09	0,96	0,19	0,71	0,02
GLU	16,70	0,27	9,54	1,84	16,03	0,34	15,24	0,56	16,58	0,00	17,41	0,32	17,12	0,11
GLY	4,82	0,26	7,80	0,39	5,83	0,47	5,50	0,10	5,30	0,48	5,00	0,05	4,91	0,05
HIS	2,96	0,09	2,23	0,46	2,30	0,44	2,41	0,79	3,25	0,18	3,51	0,06	3,10	0,02
ILE	5,38	0,24	4,66	0,42	5,01	0,50	5,12	0,06	5,16	0,22	5,20	0,14	4,83	0,11
LEU	7,35	0,20	8,90	1,04	8,50	1,64	8,74	1,11	7,37	0,11	7,22	0,30	6,81	0,02
LYS	8,90	0,27	8,64	0,62	8,75	0,28	8,76	0,20	8,63	0,17	7,83	0,09	8,69	0,28
MET	3,66	0,12	3,83	0,21	4,03	0,65	4,00	0,27	3,27	0,21	3,39	0,31	3,37	0,04
PHE	5,48	0,17	6,46	0,44	5,89	0,52	5,75	0,01	5,60	0,22	5,36	0,02	5,32	0,11
PRO	4,68	0,21	8,03	0,23	5,76	0,58	5,21	0,09	5,32	0,43	4,76	0,02	4,88	0,02
SER	4,02	0,18	3,98	0,19	4,31	0,08	4,01	0,00	4,03	0,10	3,90	0,09	3,82	0,01
THR	4,59	0,17	4,77	0,19	4,85	0,15	4,47	0,04	4,14	0,59	4,57	0,11	4,30	0,02
TYR	5,13	0,26	5,39	0,38	5,45	0,60	5,50	0,00	5,03	0,22	5,40	0,16	4,85	0,00
VAL	5,85	0,22	5,72	0,47	5,61	0,30	6,01	0,89	5,25	0,13	5,56	0,20	4,97	0,01
ΣAAE	52,31		56,28		54,09		53,80		50,42		50,95		49,36	
ΣAAD	48,83		43,72		50,12		46,20		50,84		49,05		50,64	
ΣAAE AAD	1,07		1,29		1,08		1,16		0,99		1,04		0,97	

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype, Pi : poids initial.

Annexe 8.7. Composition corporelle en acides aminés (g/100g d'acides aminés) chez des alevins de perche fluviatile (Pi = 16 g) nourris avec des régimes à différents taux de protéines brutes

Acides aminés	Poissons		Niveaux de protéines brutes des régimes alimentaires (%)											
	initiaux		20		25		30		35		40		45	
	Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd		Moy±Sd	
<b>ALA</b>	5,03	0,07	5,35	0,02	5,09	0,17	5,05	0,02	4,87	0,04	5,14	0,09	5,17	0,03
<b>ARG</b>	9,25	0,17	9,68	0,22	10,21	0,07	10,47	0,14	9,41	0,12	9,35	0,01	9,22	0,13
<b>ASP</b>	7,80	0,53	6,88	0,04	7,72	1,14	7,09	0,29	5,64	0,16	6,77	0,38	4,83	0,87
<b>CYS</b>	0,45	0,27	0,83	0,07	0,57	0,10	0,75	0,03	1,10	0,00	0,81	0,00	0,81	0,11
<b>GLU</b>	14,55	1,73	17,03	0,02	16,50	0,76	17,15	0,23	15,66	0,10	15,76	0,21	14,98	0,46
<b>GLY</b>	5,65	0,26	6,27	0,05	5,60	0,05	5,61	0,29	4,77	0,09	5,47	0,06	5,62	0,02
<b>HIS</b>	2,97	0,01	2,89	0,10	2,77	0,02	2,91	0,14	3,13	0,06	2,89	0,10	3,09	0,04
<b>ILE</b>	4,42	0,18	3,73	0,08	3,62	0,28	3,69	0,08	4,86	0,02	4,60	0,00	4,75	0,19
<b>LEU</b>	7,33	0,19	6,20	0,19	6,29	0,34	5,91	0,13	7,78	0,00	7,40	0,00	7,63	0,03
<b>LYS</b>	9,74	0,49	8,50	0,11	9,74	0,12	9,41	0,36	9,96	0,59	9,67	0,20	10,33	0,37
<b>MET</b>	3,49	0,10	3,27	0,16	3,30	0,17	3,09	0,17	3,27	0,06	3,18	0,16	3,45	0,34
<b>PHE</b>	6,01	0,22	5,41	0,10	5,71	0,35	5,31	0,07	5,94	0,09	5,90	0,04	6,14	0,08
<b>PRO</b>	5,34	0,01	5,60	0,06	5,17	0,24	4,94	0,17	4,81	0,09	5,30	0,03	5,42	0,03
<b>SER</b>	4,06	0,12	4,49	0,11	4,27	0,02	4,48	0,20	4,00	0,05	3,93	0,05	4,06	0,00
<b>THR</b>	4,29	0,17	4,56	0,12	4,29	0,14	4,71	0,04	4,54	0,10	4,23	0,03	4,45	0,06
<b>TYR</b>	4,83	0,18	5,20	0,03	5,00	0,08	5,22	0,10	5,13	0,07	4,81	0,01	5,07	0,10
<b>VAL</b>	4,80	0,22	4,10	0,06	4,14	0,19	4,22	0,17	5,14	0,05	4,79	0,04	4,98	0,12
<b>ΣAAE</b>	52,29		48,35		50,07		49,73		54,03		52,00		54,04	
<b>ΣAAD</b>	47,71		51,65		49,93		50,27		45,97		48,00		45,96	
<b>ΣAAE</b>	1,10		0,94		1,00		0,99		1,18		1,08		1,18	
<b>ΣAAD</b>														

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype, Pi : poids initial.

Annexe 8.8. Composition corporelle en acides aminés (g/100 g d'acides aminés) des alevins de perche fluviatile (Pi = 0,2 g) nourris avec des régimes à différents taux de protéines brutes

Acides aminés	Poissons initiaux	Niveau de protéines du régime alimentaire (%)													
		35		40		45		50		55		60			
		Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd	Moy ± Sd			
ALA	6,28 0,19	6,45 0,02	6,53 0,05	6,53 0,46	6,57 0,29	6,32 0,44	5,72 0,88	ARG	6,93 0,09	6,55 0,09	6,35 0,48	5,92 1,05	6,11 0,02	6,61 0,12	5,87 0,40
ASP	8,17 1,51	8,61 0,86	8,71 0,47	8,49 2,68	8,26 2,19	7,73 0,19	8,09 0,32	CYS	1,11 0,05	1,01 0,11	0,96 0,03	0,95 0,28	1,13 0,28	0,38 0,01	0,55 0,05
GLU	14,38 0,20	14,66 0,02	14,71 0,24	14,59 0,46	14,59 0,14	14,67 0,06	15,46 0,52	GLY	7,23 0,24	7,33 0,10	7,47 0,29	7,77 0,25	7,46 0,39	7,51 0,01	7,57 0,02
HIS	2,57 0,13	2,59 0,09	2,61 0,00	2,59 0,15	2,72 0,01	2,64 0,01	2,83 0,05	ILE	4,91 0,14	4,93 0,07	4,68 0,08	4,84 0,09	4,79 0,31	4,93 0,05	4,86 0,19
LEU	7,93 0,21	7,59 0,05	7,70 0,08	7,94 0,46	7,91 0,11	7,82 0,16	8,07 0,14	LYS	8,19 0,21	8,67 0,20	8,28 0,01	8,36 0,17	8,63 0,34	9,24 0,11	8,49 0,17
MET	3,04 0,04	2,98 0,18	3,05 0,03	3,20 0,35	2,97 0,05	3,10 0,09	3,18 0,01	PHE	4,60 0,10	4,48 0,05	4,38 0,02	4,46 0,02	4,47 0,15	4,64 0,06	4,61 0,13
PRO	4,83 0,10	4,99 0,06	4,97 0,11	5,11 0,15	5,00 0,24	4,99 0,03	5,19 0,06	SER	5,24 0,04	5,14 0,05	5,21 0,03	5,31 0,01	5,13 0,12	5,17 0,02	5,43 0,18
THR	4,91 0,03	4,75 0,03	4,83 0,06	4,46 0,68	4,79 0,15	4,80 0,04	4,47 0,93	TYR	3,97 0,17	3,80 0,01	3,91 0,21	3,92 0,09	3,78 0,12	3,85 0,06	3,94 0,27
VAL	5,70 0,09	5,46 0,10	5,66 0,11	5,56 0,20	5,68 0,25	5,59 0,13	5,67 0,18								
ΣAAE	48,79	48,01	47,54	47,33	48,09	49,38	48,06	ΣAAD	51,21	51,99	52,46	52,67	51,91	50,62	51,94
	0,95	0,92	0,91	0,90	0,93	0,98	0,93								

AAE : acides aminés essentiels (en gras), AAD : acides aminés dispensables ou non essentiels, Moy.±Sd : moyenne±écartype, Pi : poids initial.

Annexe 9. Profils en acides aminés essentiels des alevins initiaux et des régimes expérimentaux, comparés à ceux des aliments vivants et des alevins élevés en étangs

Annexe 9.1. Alevins de 0,3 g

Acides aminés	Aliments						Poissons initiaux de 0,2g
	35	40	45	50	55	60	
HIS	0,00	1,30	0,00	0,00	3,54	5,68	5,27
ARG	11,12	12,76	11,57	15,39	15,10	18,84	14,20
THR	5,88	6,16	6,25	7,21	7,94	9,04	10,07
TYR	11,37	8,62	10,80	11,88	12,85	14,66	8,14
VAL	9,22	7,83	9,09	11,26	10,42	9,39	11,68
MET	9,41	7,20	8,32	9,50	6,48	5,69	6,22
CYS	0,00	0,33	0,39	0,00	0,00	0,44	2,27
ILE	8,49	7,30	8,40	11,13	9,71	8,19	10,07
LEU	40,02	39,75	37,26	21,76	18,48	14,48	16,26
PHE	9,41	8,26	9,49	11,66	11,42	10,56	9,43
LYS	6,44	9,43	9,63	12,09	16,91	18,12	16,80

Annexe 9.2. Alevins de 3 g

Acides aminés	Aliments					Poissons initiaux de 3g
	20	30	40	50	60	
HIS	4,60	3,66	4,98	5,62	5,98	5,66
ARG	14,63	18,58	16,21	14,06	12,71	15,54
THR	11,84	9,17	9,60	8,94	8,37	8,77
TYR	8,28	10,89	13,84	13,03	12,46	9,80
VAL	12,95	9,49	10,58	11,64	11,89	11,19
MET	3,78	11,23	5,87	5,78	6,88	7,00
CYS	0,68	3,99	0,56	0,62	4,07	1,61
ILE	12,15	7,34	10,13	11,12	10,50	10,28
LEU	17,34	17,00	16,90	17,14	18,65	14,05
PHE	8,98	9,61	11,30	11,65	11,36	10,48
LYS	13,72	13,91	14,43	14,05	13,66	17,02

## Annexe 9.3. Alevins de 16 g

Acides aminés	Aliments						Poissons initiaux de 16g
	20	25	30	35	40	45	
HIS	4,43	5,15	0,00	0,00	1,30	0,00	5,67
ARG	20,61	21,49	11,15	11,12	12,76	11,57	17,69
THR	9,82	9,14	5,51	5,88	6,16	6,25	8,19
TYR	12,32	10,90	8,71	11,37	8,62	10,80	9,25
VAL	11,61	11,01	7,29	9,22	7,83	9,09	9,18
MET	6,58	6,46	8,60	9,41	7,20	8,32	6,67
CYS	0,00	0,00	0,60	0,00	0,33	0,39	0,86
ILE	9,96	10,21	6,99	8,49	7,30	8,40	8,45
LEU	15,85	16,18	46,00	40,02	39,75	37,26	14,02
PHE	11,29	10,38	7,48	9,41	8,26	9,49	11,49
LYS	9,84	9,99	6,98	6,44	9,43	9,63	18,63

## Annexe 9.4. Alevins produits en étang fertilisé

Acides aminés	Aliments				Poissons d'étang
	<i>Artemia</i>	Rotifères	Cladocères	Copépodes	
HIS	2,95	4,87	10,45	7,06	6,12
ARG	10,61	11,40	8,83	19,98	13,30
THR	6,20	7,42	9,67	8,26	10,91
TYR	12,33	15,24	11,44	17,86	8,10
VAL	10,83	12,54	14,50	10,59	11,78
MET	13,35	5,33	5,76	3,73	5,68
CYS	2,49	1,26	0,00	0,42	1,57
ILE	10,88	11,64	9,91	8,77	10,19
LEU	21,54	18,32	16,72	15,71	15,93
PHE	13,19	13,97	12,24	9,42	9,00
LYS	10,44	14,52	11,92	16,48	17,07

## Annexe 10. Résultats des analyses de protéines brutes par CARLO-ERBA

Echantillons	Taux d'azote	Taux de protéines	Moyenne	Ecartype
	11,54	72,125		
Oeuf d'un jour	10,244	64,025	66,77	4,64
	10,266	64,1625		
	9,119	56,99375		
Oeuf juste avant l'éclosion	8,926	55,7875	56,61	0,71
	9,126	57,0375		
	7,202	45,0125		
Larves à l'éclosion	9,852	61,575	53,82	8,33
	8,778	54,8625		

Larves de 5 j nourries avec <i>B. calyciflorus</i>	8,405	52,53125	52,53	0,00
Larves de 5 j nourries avec <i>B. plicatilis</i>	2,561	16,00625	16,01	0,00
Larves de 5 j nourries avec <i>Artemia</i>	12,565	78,53125	78,53	0,00
Larves nourries avec un mélange <i>B. calyciflorus</i> et <i>Artemia adlibitum</i>	10,765 11,228 9,924	67,28125 70,175 62,025	66,49	4,13
Larves initiales de 8,7 mg nourries au Seabream à 23°C	10,279 10,238 10,136	64,24375 63,9875 63,35	63,86	0,46
Larves finales de 109 mg nourries au Seabream à 23°C	10,85 10,83 10,64	67,8125 67,6875 66,5	67,33	0,72
<i>B. calyciflorus</i>	8,831 8,631 8,402	55,19375 53,94375 52,5125	53,88	1,34
Larves de 9,58 mg échantillonnées dans étang à zooplancton (E1)	11,055 11,301 10,859	69,09375 70,63125 67,86875	69,20	1,38
Larves de 24,34 mg échantillonnées dans étang à zooplancton (E2)	11,253 11,985 11,551	70,33125 74,90625 72,19375	72,48	2,30
Larves de 59,86 mg échantillonnées dans étang à zooplancton (E3)	12,225 10,649 13,11	76,40625 66,55625 81,9375	74,97	7,79
Larves de 150,6 mg échantillonnées dans étang à zooplancton (E4)	10,812 10,799 10,974	67,575 67,49375 68,5875	67,89	0,61



"Larves de 484,56 mg échantillonnées dans étang à zooplancton (E5)	10,8 10,94 11,08	67,5 68,375 69,25	68,38	0,88
Larves de 1098,12 mg échantillonnées dans étang à zooplancton (E6)"	10,87 10,58 11,46	67,9375 66,125 71,625	68,56	2,80
Zooplancton Etang	4,48 4,497 4,461	28 28,10625 27,88125	28,00	0,11
Larves initiales de 7,6 mg nourries aux <i>Artemias</i> enrichi, non enrichi et congelé	10,344 10,233 9,931	64,65 63,95625 62,06875	63,56	1,34
Larves de 100 mg fin <i>Artemia</i> enrichi	10,832 10,959 11,031	67,7 68,49375 68,94375	68,38	0,63
Larves de 135 mg fin <i>Artemia</i> non enrichi	10,519 10,404 10,46	65,74375 65,025 65,375	65,38	0,36
Larves de 55,3 mg fin <i>Artemia</i> congelé	10,309 10,234 10,509	64,43125 63,9625 65,68125	64,69	0,89
Larves de 15,5 mg nourries aux <i>Artemias</i> IH à 10°C	9,487 9,807 9,756	59,29375 61,29375 60,975	60,52	1,07
Larves de 12 mg nourries aux <i>Artemias</i> AF à 10°C	9,727 10,268 10,273	60,79375 64,175 64,20625	63,06	1,96
Aliment trouvé	9,227 9,121 9,156	57,66875 57,00625 57,225	57,30	0,34

Aliment Seabream	9,36	58,5		
	9,31	58,1875	57,94	0,71
	9,142	57,1375		
<i>Artemia</i> enrichi	7,214	45,0875		
	7,165	44,78125	45,19	0,47
	7,314	45,7125		
<i>Artemia</i> non enrichi	6,962	43,5125		
	7,161	44,75625	44,88	1,43
	7,417	46,35625		
Aliment composé à 0%	0,443	2,76875		
	0,462	2,8875	2,66	0,29
	0,373	2,33125		
Aliment composé à 20%	3,312	20,7		
	3,285	20,53125	20,81	0,34
	3,39	21,1875		
Aliment composé à 30%	5,092	31,825		
	5,156	32,225	32,09	0,23
	5,157	32,23125		
Aliment composé à 40%	6,384	39,9		
	6,46	40,375	40,14	0,24
	6,422	40,1375		
Aliment composé à 50%	7,896	49,35		
	8,493	53,08125	51,49	1,92
	8,325	52,03125		
Aliment composé à 60%	9,539	59,61875		
	9,353	58,45625	58,37	1,30
	9,125	57,03125		
Larves initiales soumises à des régimes à différents niveaux de protéines	10,795	67,46875		
	9,044	56,525	62,00	5,47
	9,92	62		
Larves soumise à 0% Protéines	14,9	93,125		

	15,02	93,875	94,00	0,94
	15,2	95		
Larves soumises à 20% Protéines	9,295	58,09375		
	8,941	55,88125	58,46	2,78
	9,824	61,4		
Larves soumises à 30% Protéines	9,18	57,375		
	9,197	57,48125	58,02	1,02
	9,472	59,2		
Larves soumises à 40% Protéines	9,351	58,44375		
	9,432	58,95	58,89	0,42
	9,485	59,28125		
Larves soumises à 50% Protéines	9,748	60,925		
	9,78	61,125	61,59	0,98
	10,035	62,71875		
Larves soumises à 60% Protéines	9,594	59,9625		
	10,128	63,3	61,90	1,73
	9,992	62,45		
Aliments pour alevins de 16 g et 0.3 g				
Aliment 20% prot.	2,737	17,11	20,10	0,42
	3,416	21,35		
	3,496	21,85		
Aliment 25% prot.	4,083	25,52	25,28	0,33
	3,701	23,13		
	4,349	27,18		
Aliment 30% prot.	4,426	27,66	31,24	0,58
	5,578	34,86		
	4,992	31,20		
Aliment 35% prot.	5,235	32,72	35,80	0,44
	5,862	36,64		
	6,086	38,04		
Aliment 40% prot.	6,262	39,14	39,95	0,23

	6,653	41,58		
	6,262	39,14		
Aliment 45% prot.	6,946	43,41	45,26	0,28
	7,507	46,92		
	7,271	45,44		
Aliment 50% prot.	8,235	51,47	51,21	0,31
	7,862	49,14		
	8,486	53,04		
Aliment 55% prot.	8,84	55,25	54,81	0,43
	9,156	57,23		
	8,311	51,94		
Aliment 60% prot.	9,527	59,54	61,63	0,34
	9,851	61,57		
	10,202	63,76		
Lansy	6,946	43,41	45,26	0,28
	7,507	46,92		
	7,271	45,44		
<i>Artemia</i> enrichie pendant 24 h	6,478	40,49	40,40	0,20
	6,653	41,58		
	6,262	39,14		
<i>Artemia</i> enrichie pendant 48 h	6,679	41,74	38,49	0,45
	5,926	37,04		
	5,872	36,70		
Cladocère	5,669	35,43	34,61	0,14
	5,549	34,68		
	5,394	33,71		
Copépodes	9,993	62,46	65,19	0,58
	11,088	69,30		
	10,212	63,83		
Larves initiales	8,527	53,29	60,25	1,02
	9,851	61,57		

	10,543	65,89		
Larves fin 35% protéines	9,163	57,27	58,58	0,31
	9,734	60,84		
	9,222	57,64		
Larves fin 40% protéines	9,325	58,28	62,43	0,77
	10,836	67,73		
	9,807	61,29		
Larves fin 45% protéines	9,381	58,63	62,28	0,54
	10,057	62,86		
	10,458	65,36		
Larves fin 50% protéines	9,875	61,72	63,58	0,26
	10,357	64,73		
	10,284	64,28		
Larves fin 55% protéines	9,894	61,84	63,29	0,88
	11,096	69,35		
	9,387	58,67		
Larves fin 60% protéines	12,105	75,66	69,60	0,85
	10,79	67,44		
	10,515	65,72		
Larves d'1 jour (0,99 mg)	10,811	67,57	63,30	0,69
	9,426	58,91		
	10,148	63,43		
Larves étang 3 (34,51 mg)	9,339	58,37	65,14	1,18
	11,682	73,01		
	10,248	64,05		
Larves étang 3 (75,37 mg)	10,673	66,71	66,52	0,36
	10,268	64,18		
	10,988	68,68		
Larves étang 3 (266,29 mg)	9,794	61,21	62,54	0,30
	10,22	63,88		

---

Larves étang 3 (338,76 mg)	10,589	66,18	69,07	1,03
	10,33	64,56		
	12,236	76,48		
Larves étang 3 (2070,7 mg)	10,033	62,71	63,38	0,41
	10,593	66,21		
	9,795	61,22		
Larves étang 1	10,473	65,46	69,30	0,54
	11,291	70,57		
	11,5	71,88		
Larves étang 1	9,821	61,38	67,47	0,92
	11,646	72,79		
	10,919	68,24		
Larves étang 1	10,663	66,64	65,47	0,33
	10,094	63,09		
	10,668	66,68		
Larves sous rotifères pendant 5 j (d=5000)	9,352	58,45	60,10	0,29
	9,926	62,04		
	9,569	59,81		
Larves sous rotifères pendant 5 j (d=2000)	8,965	56,03	67,02	1,57
	11,202	70,01		
	12,003	75,02		

---

## Annexe 11. Composition du milieu de Schlösser (1982)

macroéléments	n°	solution stock g/l	ml sol. stock/ l de milieu	conc. ds. milieu/ SCHLOSSER
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4 H <sub>2</sub> O	126	2	20	0,04
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	63	1	10	0,01
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	161	1	25	0,025
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	38	1	20	0,02
Na-Fe-EDTA	182	12,6	1	0,01
acide citrique **	13	1	10	0,01
microéléments			10	

Mettre au trait et ajouter 10 ml de vitamines.

\*\* à conserver au frigo et refaire la solution chaque semaine

Préparation d' 1 L de solution de microéléments :

solution 1			
microéléments	n°	solution stock g/100 ml	ml sol. stock/ 900 ml de sol. 1
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	166	0,1	1
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	162	0,1	2
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	9	0,2	5
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	127	0,02	5
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	175	0,02	5
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	158	0,0005	1

solution 2		g / 100 ml de sol 2
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	154	0,7
EDTA(III)triplex II)	75	0,4

Mélanger les solutions 1 et 2 et conserver au frigo.

Préparation de la solution de vitamines

Vitamines	n°	solution stock mg/l	ml sol. stock/ l de solution	conc./ l de sol. de vitamines
vitamine B1		200	10	2 mg
vitamine B8= H		8	10	0,08 mg
vitamine B12		16	10	0,16
NaNO <sub>3</sub>				5,6 gr
Na glycérophosphate				0,8 gr

## Annexe 12. Dosage des protéines par la méthode colorimétrique de Folin

**Principe**

Les protéines dénaturées par NaOH ont leur structure native détruite et découvrent donc tous leurs groupements aux réactifs. D'une part, les ions cuivriques forment un complexe bleu avec les liaisons peptidiques, d'autre part un complexe phosphomolybdique-phosphotungstique est réduit par les résidus tyrosine et tryptophane de la protéine.

Cette méthode sensible est utilisée dans le cas des solutions diluées (5 µg de protéines sont dosables) ou de solutions concentrées contenant des métabolites contaminants dans les autres méthodes.

**Réactifs**

Etalon protéine : sérum albumine bovine (SAB) à 0,2 g/litre

NaOH 1 N

Mixture alcaline, mélangez juste avant usage 100 ml de A avec 1 ml de B et 1 ml de C.

A	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,19 M
B	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,04 M (1%)
C	NaKC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> .1H <sub>2</sub> O	0,07 M

Réactif de Folin : diluer la solution stock 2 fois

Fractions E1, E2, E3, E4, EF.

**Mode opératoire**

- Préparez 14 tubes à essai en verre que vous marquerez . BL, BL, EP, EP, E1, E1, E2, E2, E3, E3, E4, E4, EF, EF afin de réaliser les tests en double.
- Dans les tubes E1, E2, E3, E4, EF, pipettez 0,5 ml des fractions correspondantes, diluées de manière appropriée. (Des valeurs de dilution vous seront communiquées au laboratoire). Dans les tubes BL et EP, ajoutez respectivement 0,5 ml d'H<sub>2</sub>O et 0,5 ml d'étalon.
- Ajoutez à chaque tube 0,5 ml de NaOH 1N
- Laissez agir à température normale pendant 30'.
- Ajoutez 5 ml de mixture alcaline, laissez agir pendant 15 min
- Ajoutez de minute en minute 0,5 ml de mixture de Folin, agitez immédiatement au Vortex.
- Laissez agir 30'
- Lisez l'absorbance de chaque test (voir 1.2.2.2.) de minute en minute à 540 nm, (cuvettes de 1 cm d'épaisseur), l'appareil étant réglé à zéro avec de l'eau distillée.
- Avant chaque mesure, égouttez convenablement la cuvette de mesure et rincez-la au moyen d'un petit volume de la solution à mesurer.
- Contrôlez sur une droite d'étalonnage disponible au laboratoire que les absorbances de vos solutions à tester tombent dans la zone où la loi de Lambert-Beer est vérifiée.
- Si cela n'est pas le cas pour l'une ou l'autre de ces solutions, recommencez leur dosage en choisissant une meilleure dilution. Joignez-y un tube étalon et un tube blanc