



AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

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

DB 65348

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cedex



**U.F.R. SCIENCES ET TECHNIQUES
BIOLOGIQUES**

**Ecole doctorale Sciences et Ingénierie des
Ressources, Procédés, Produits,
Environnement**

THESE
présentée pour l'obtention du grade de
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1 en
Sciences Animales

par

Hervé Migaud

**Influence des variations de la température et de la
photopériode sur le cycle de reproduction et la qualité des
pontes de la perche commune *Perca fluviatilis***

**Présentée publiquement devant la commission d'examen
le 11 juin 2002**

Membres du jury

Jean Brun-Bellut (Directeur de thèse)
Konrad Dabrowski (Rapporteur)
Alexis Fostier (Rapporteur)
Patrick Kestemont (Examineur)
Jean-Noël Gardeur (Co-Directeur de thèse)
François Laurent (Examineur)

Laboratoire de Sciences Animales, Equipe Croissance et Qualité en Aquaculture Continentale
(INPL-UHP-INRA), 34 rue Ste Catherine 54000 NANCY

**U.F.R. SCIENCES ET
TECHNIQUES BIOLOGIQUES**

**Ecole doctorale Sciences et Ingénierie des
Ressources, Procédés, Produits,
Environnement**

**Influence des variations de la température et de la photopériode sur le cycle
de reproduction et la qualité des pontes de la perche commune *Perca
fluviatilis***

présentée par Hervé Migaud

Laboratoire de Sciences Animales (INPL – UHP - INRA), équipe Croissance et Qualité en
Aquaculture Continentale 34, rue Ste Catherine 54000 Nancy
Tel : 03 83 30 28 41 ; e-mail : herve.migaud@lsa.u-nancy.fr

Membres du jury

François Laurent (Président du jury) : Professeur, Directeur du Laboratoire Sciences
Animales INPL-UHP-INRA, 2, avenue de la forêt de Haye - BP 172 - F 54505 Vandoeuvre
les Nancy
Tel : 03 83 59 59 59 ; e-mail : laurent@ensaia.inpl-nancy.fr

Konrad Dabrowski (Rapporteur) : Professeur, School of Natural Ressources, Ohio State
University, Columbus, Ohio, USA, 210 Kottman Hall 2021 Coffey Rd. Columbus OH 43210
Tel : 614292 2265; e-mail: dabrowski.1@osu.edu

Alexis Fostier (Rapporteur) : Directeur de Recherche, Laboratoire de Physiologie des
Poissons, Equipe sexualité des poissons, Campus de Beaulieu, INRA, Rennes 35042 Cedex,
France.
Tel : 02 23 48 50 02 ; e-mail: fostier@beaulieu.rennes.inra.fr

Patrick Kestemont (Examineur) : Professeur, Unité de Recherches en Biologie des
Organismes, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, 61 rue de Bruxelles, B-5000
Namur, Belgium.
Tel : 00 32 81 72 43 63 ; e-mail : patrick.kestemont@fundp.ac.be ;

Jean Brun-Bellut (Examineur) : Professeur, Université Henri-Poincaré, Laboratoire de
Sciences Animales (INPL – UHP - INRA), 34, rue Ste Catherine 54000 Nancy
Tel : 03 83 30 28 41 ; e-mail : Jean.brun-bellut@iutnb.uhp-nancy.fr
(Directeur de thèse)

Jean-Noël Gardeur (Examineur) : Maître de Conférence, Université Henri-Poincaré,
Laboratoire de Sciences Animales (INPL – UHP - INRA), 34, rue Ste Catherine 54000 Nancy
Tel : 03 83 30 28 41 ; e-mail : Jean-Noël.gardeur@iutnb.uhp-nancy.fr
(Co-Directeur de thèse)

S.O.D. - J.M. NANCY
BIBLIOTHEQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54501 VILLERS-LES-NANCY Cedex

Avant-propos

Cette étude a été menée avec le soutien financier de la commission de L'Union Européenne dans le cadre du programme FAIR CT 98-9241, intitulé « Nouvelles technologies microbiennes appliquées à l'élevage de la perche Eurasiennne (*Perca fluviatilis*) en circuit fermé ».

Ces trois années de doctorat se sont déroulées au sein de l'équipe croissance et qualité en aquaculture continentale du laboratoire de Sciences Animales (Institut National Polytechnique de Lorraine - Université Henri Poincaré, Nancy 1 - Institut National de Recherches Agronomique).

Je tiens avant tout à remercier tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, que ce soit par leur aide, leurs encouragements ou tout simplement leur amitié.

Je tiens à remercier Monsieur Brun-Bellut, Professeur à l'Université Henri Poincaré Nancy 1, tout d'abord pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce doctorat, puis pour son soutien et ses conseils notamment lors de la rédaction de ce document. La confiance qu'il m'a accordée ont assuré le bon déroulement de cette recherche. Je remercie également Monsieur François Laurent, Professeur Directeur du Laboratoire de Sciences Animales et de l'ENSAIA, ainsi que toute l'équipe de recherche pour m'avoir accueilli au sein du LSA.

Mes remerciements vont également à Monsieur Alexis Fostier, Directeur de recherches au Laboratoire de Physiologie des poissons à l'INRA de Rennes pour son accueil lors de mon séjour dans son équipe, sa disponibilité, son aide précieuse et sa participation au jury de thèse.

Pour l'honneur qu'il me fait d'assurer la lecture et l'évaluation de cette thèse, je voudrais remercier le Professeur Konrad Dabrowski de la School of Natural Ressources de l'Université de Colombia (Ohio, USA).

Je remercie également Monsieur Patrick Kestemont, Monsieur Robert Mandiki et toute l'équipe du Laboratoire d'Ecologie des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix de Namur pour leur accueil lors de mes nombreux séjours et leur participation active à ce travail et au jury.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur Jean-Noël Gardeur, Maître de Conférence à l'UHP-Nancy-1 pour sa rigueur, ses compétences en statistiques, son aide et les conseils judicieux qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail de recherche.

Mes remerciements s'adressent également tout particulièrement à Monsieur Pascal Fontaine, Maître de Conférence à l'UHP-Nancy-1, pour la confiance dont il a fait preuve à mon égard et les moyens qu'il a mis à ma disposition tout au long de ces trois années. Sa disponibilité, son optimisme et son amitié m'ont permis de mener cette étude à son terme. Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance.

Je remercie également tous mes collègues du laboratoire, Nicolas Mathis, Laurent Fordoxcel, Marielle Thomas, Stéphane Jourdan et les nombreux stagiaires du laboratoire, spécialement Emmanuel Petit et Anne Doën pour leur précieuse aide.

J'associe à ces remerciements tout le personnel du Muséum - Aquarium de Nancy (MAN) pour leurs encouragements et leurs amitiés. Je tiens à remercier tout particulièrement, Monsieur Denis Terver, ancien Directeur du Muséum de Zoologie et de l'Aquarium Tropical de Nancy, Monsieur Franck Raffeau, Conservateur actuel et Monsieur André Georges, Professeur et ancien responsable du Laboratoire de Biologie Appliquée. J'adresse mes remerciements tout particulièrement à Monsieur Rémi Bienfait pour sa disponibilité, sa bonne humeur et surtout le support technique apporté tout au long de ces trois années et Monsieur Bruno Alenda, pour son amitié et son aide.

J'adresse également mes remerciements chaleureux à Monsieur Guimont, Directeur de la station expérimentale de la Bouzule pour son accueil et son aide et tout particulièrement Monsieur Pêche Christophe pour son amitié et son investissement dans ce travail ainsi que toute l'équipe de la Bouzule. Merci à Monsieur Pascal Zavattiero, Enseignant à l'IUT Nancy-Brabois pour son expérience et ses conseils dans le domaine de la mécanique des fluides qui m'ont été bien utiles lors de la construction de la station expérimentale de la Bouzule.

Je remercie Monsieur Bruno Capdeville, Monsieur Alain L'huillier, Monsieur Dominique Nippert, Monsieur Jacques Lorquin et Monsieur Schill pour le matériel biologique qu'ils m'ont fourni. Je remercie également la société BioMar pour la mise à disposition des aliments au cours de ce travail de recherche.

Enfin, j'exprime toute ma gratitude à mes parents pour m'avoir soutenu et permis d'en arriver là et je remercie Stéphanie et Chloé pour leur patience et leurs encouragements tout au long de ces trois années.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

RESUMES

RESUME

Les études expérimentales menées dans le cadre de ce doctorat avaient pour objectifs de mieux comprendre le déterminisme environnemental de la reproduction chez la perche commune, *Perca fluviatilis*. Dans une première phase, sous une photopériode fixe (12L : 12O), l'application de variations thermiques (refroidissement progressif sur 6 semaines de 22 à 6°C, phase de maintien au froid de 5 mois à 6°C et réchauffement sur 1 mois de 6 à 14°C) a confirmé les limites de l'influence du facteur température sur le contrôle du cycle de reproduction de cette espèce. Si tous les géniteurs mâles sont devenus spermiantes, peu de femelles se sont engagées dans un cycle de reproduction (31 %) et seulement environ 6 % ont pondu. De plus, la qualité des pontes était médiocre (nombreuses pontes fragmentées, faibles taux de fécondation, fortes mortalités larvaires...). Dès lors, l'hypothèse d'une implication des variations photopériodiques dans le contrôle de la gamétogenèse femelle a été émise et étudiée dans une seconde phase.

Une photophase constante (24 L) inhibe l'initiation des cycles de reproduction mâle et femelle chez la perche et des teneurs en stéroïdes sexuels très faibles sont relevées. Sous une photopériode fixée (16L : 8O), le développement des gonades est très hétérogène, de nombreux cas d'atrésie ont été observés et peu de géniteurs ont pondu (30 %). Ces résultats confirment ceux obtenus lors de la première expérience. Le régime photopériodique naturel a donné des résultats similaires à ceux relevés en milieu naturel en terme de variations plasmatiques en stéroïdes sexuels, de développement et de qualité des œufs et des larves. Un régime photopériodique pseudo-naturel a permis d'obtenir le développement de la totalité des géniteurs, bien que légèrement décalé dans le temps, mais seulement 55 % des femelles gravides ont pondu et de faibles taux de fécondation ont été observés.

Le déclenchement des pontes semble être initié par les variations saisonnières de la température et par les variations journalières de l'intensité lumineuse. La majorité des pontes survient à l'aube. En conditions artificielles d'éclairement, le passage brutal de l'obscurité au jour pourrait perturber le déclenchement des ovipositions.

L'alternance jour-nuit constituerait un stimulus important permettant l'initiation de la gamétogenèse, mais ne suffirait pas pour induire un développement gonadique normal. L'initiation et le bon déroulement de la gamétogenèse impliquent également une variation de la durée d'éclairement. Les variations de la photopériode, tout comme celles de la température, jouent donc un rôle déterminant dans le succès de la reproduction chez la perche commune.

Enfin, alors que la température de l'eau s'élève, cette étude montre une augmentation très importante de la mortalité des géniteurs en période de reproduction.

Mots clés : perche commune, reproduction, température, photopériode, stéroïdes sexuels, qualité larvaire.

S.C.D. - U.H.P. NANCY,
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54501 VILLERS-LES-NANCY Cédex

ABSTRACT

The aim of these experimental studies was to improve our knowledge on the environmental control of Eurasian perch reproduction. Under a constant photoperiod (12L : 12D), thermal variations (6 weeks of cooling from 22 to 6°C, 5 months of chilling at 6°C and 1 month of warming from 6 to 14°C) have shown some limits on the control of the reproductive cycle. Even if all the males were spermiating after a such regime, only few females have developed their gonads (31 %) and only 6 % have spawned. Moreover, the spawning quality was low (lots of damaged ribbons, low fertilization rates and high levels of mortality). Thus, the influence of photoperiodic variations in the control of female gametogenesis was suggested and studied.

A 24 hours photophase inhibits the initiation of perch male and female reproductive cycle. Some low sex steroids levels were measured. A constant photoperiod (16L : 8D) results in a very heterogeneous gonad development, lots of atresia, and few spawnings (30 %). Under a natural photoperiod, results, in terms of plasma sex steroids variations, gonad development and eggs and larvae quality, were similar to those observed in natural habitat. In simulated photoperiod conditions, although all the broodstocks have developed their gonads, only 55 % of the mature females have spawned and low fertilization rates were observed.

Spawning seems to be triggered off by seasonal temperature and daily light intensity variations. Most of the spawnings occurred at dawn. In artificial light conditions, the sudden switch from darkness to daylight could disturb the oviposition process. The light-darkness cycle would be an important factor, but not sufficient to induce a normal gonadal development. Daylength variations are also involved in the initiation and the gonadal development during gametogenesis. Photoperiodic and temperature variations both play a crucial role in the success of perch reproduction. Finally, in April, while the water temperature rises, a high mortality increase was observed. It seems to be not linked to the reproductive cycle.

Keywords: Eurasian perch, reproduction, temperature, photoperiod, sex steroids, larval quality.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1^{ERE} PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1.1. CONTROLE ENVIRONNEMENTAL DES CYCLES DE REPRODUCTION.....	4
1.1.1. Description des cycles de reproduction.....	4
1.1.1.1. L'ovogenèse	4
1.1.1.2. La spermatogenèse	7
1.1.2. Les principaux facteurs environnementaux.....	9
1.1.2.1. Influence de la température et de la photopériode.....	9
1.1.2.2. Les autres facteurs environnementaux.....	18
1.1.2.3. Rythmes et horloges biologiques endogènes	18
1.1.3. La perception des stimuli environnementaux.....	19
1.1.3.1. Caractéristiques de la lumière dans le milieu aquatique.....	20
1.1.3.2. Les organes photosensibles chez les poissons Téléostéens	20
1.1.4. Transduction des stimuli environnementaux à l'axe reproducteur	25
1.1.4.1. Rôle du système nerveux dans les cycles de reproduction	25
1.1.4.2. Les stéroïdes sexuels et leurs rôles sur les organes cibles	30
1.1.4.3. Les prostaglandines et leur rôle sur l'ovulation et la ponte	41
1.1.4.4. Les phéromones et leurs rôles sur la synchronisation des pontes	42
1.1.4.5. Les autres hormones jouant un rôle dans la reproduction des poissons.....	44
1.1.5. L'induction et la synchronisation des pontes chez les poissons Téléostéens.....	46
1.2. LA QUALITE DES PONTES	47
1.2.1. Estimation de la qualité des gamètes et des larves.....	47
1.2.1.1. Qualité des oeufs	48
1.2.1.2. Qualité du sperme.....	48
1.2.1.3. Qualité des larves	50
1.2.2. Facteurs influençant la qualité des pontes et des larves	50
1.2.2.1. L'alimentation	51
1.2.2.2. L'âge et le stress	51
1.2.2.3. La date de ponte et le phénomène de surmaturation.....	52
2^{EME} PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	54
2.1. PROBLEMATIQUE SCIENTIFIQUE	54
2.2. MATERIELS ET METHODES	56
2.2.1. Expérience 1 : Référentiel de qualité des pontes en milieu naturel	56
2.2.1.1. Matériel biologique	56
2.2.1.2. Structures expérimentales.....	56
2.2.1.3. Prélèvements et paramètres étudiés	57
2.2.1.4. Analyses statistiques.....	57
2.2.2. Expérience 2 : Influence de la température et du poids initial des géniteurs sur un cycle de reproduction hors-saison de perche commune.....	58
2.2.2.1. Matériel biologique	58
2.2.2.2. Conditions expérimentales	58
2.2.2.3. Analyses statistiques.....	61
2.2.3. Influence de la photopériode sur le cycle de reproduction de la perche commune (expériences 3 et 4)	62
2.2.3.1. Conditions expérimentales communes aux deux expériences	62
2.2.3.2. Conditions expérimentales spécifiques.....	64
2.2.4. Paramètres étudiés	69
2.2.4.1. Indices morpho-anatomiques.....	69
2.2.4.2. Dosages hormonaux	69

2.2.4.3. Histologie	70
2.2.4.4. Qualité des pontes, des œufs et des larves	71
2.3. RESULTATS	74
2.3.1. Référentiel de qualité des larves pendant la période de ponte en milieu naturel ...	74
2.3.1.1. Critères de qualité des pontes	74
2.3.1.2. Critères de qualité des larves nouvellement écloses	74
2.3.2. Effets de la température et du poids initial des femelles au cours d'un cycle hors- saison de reproduction.....	75
2.3.2.1. Période pré-expérimentale (acclimatation, refroidissement et maintien au froid).....	75
2.3.2.2. Période de réchauffement : effet traitement.....	76
2.3.3. Effet des variations de la photopériode sur l'initiation de la gonadogenèse et de la gamétogenèse chez la perche commune.....	79
2.3.3.1. Température et qualité de l'eau	79
2.3.3.2. Mortalité	79
2.3.3.3. Effet de la photopériode chez les femelles	80
2.3.3.4. Effet de la photopériode chez les mâles	82
2.3.4. Effet des variations de la photopériode sur un cycle complet de reproduction chez la perche commune.....	83
2.3.4.1. Température et qualité de l'eau	83
2.3.4.2. Mortalité	84
2.3.4.3. Effet de la photopériode chez les femelles	85
2.3.4.4. Effet de la photopériode chez les mâles	92
2.3.4.5. Suivis individuels des poissons marqués.....	95
2.3.4.6. Qualité des pontes	96
2.4. DISCUSSION	99
2.4.1. Variations de la température : synchroniseur circannuel du cycle de reproduction de la perche commune.....	99
2.4.2. Variations photopériodiques et cycle de reproduction : effets inhibiteurs et/ou synergiques.....	101
2.4.2.1. Rôle inhibiteur d'un éclairage continu	101
2.4.2.2. Importance des variations saisonnières de la photopériode sur le cycle de reproduction de la perche	105
2.4.2.3. Importance des caractéristiques de la lumière sur le cycle de reproduction de la perche.....	108
2.4.3. Fluctuations hormonales au cours du cycle de reproduction de la perche	112
2.4.3.1. Chez les géniteurs femelles	112
2.4.3.2. Chez les géniteurs mâles	116
2.4.4. Réserves énergétiques / cycle de reproduction / croissance.....	118
2.4.5. Variabilité importante de la qualité des œufs et des larves	123
2.4.6. Mortalité des géniteurs en période de reproduction	127
CONCLUSIONS.....	130
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	133
ANNEXES	163

S.C.D. - U.N.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La Perciculture est une voie possible de diversification pour l'aquaculture continentale (Fontaine *et al.*, 1993 ; Kestemont et Dabrowski, 1996). La perche commune, *Perca fluviatilis*, appartient à l'ordre des Perciformes, qui comprend différentes espèces ayant un intérêt pour l'aquaculture (le bar, la daurade, le black bass) et à la famille des Percidés (Tableau 1). Au sein du genre *Perca*, il existe trois espèces : *Perca fluviatilis* Linné (ou perche commune, encore appelée Eurasienne) qui est européenne, *Perca flavescens* (ou perche jaune) qui peuple l'Amérique du nord et *Perca schrenki* (Colette et Banarescu, 1977) que l'on rencontre seulement dans le Kazakhstan. *Perca flavescens* fait l'objet d'un élevage intensif aux Etats-Unis (Malison et Held, 1992). De nombreux élevages expérimentaux en milieu contrôlé ont permis de déterminer les potentialités zootechniques de la perche commune en monoculture intensive. Des essais ont été entrepris pour étudier les possibilités d'un développement de la Perciculture soit en monoculture soit en polyculture. Ils ont rapidement démontré les aptitudes de la perche commune à l'élevage en milieu confiné (Fontaine *et al.*, 1994, 1996a ; Mélard *et al.*, 1996 ; Kestemont *et al.*, 1996 ; Tamazouzt *et al.*, 1996) et des essais préliminaires conduits en laboratoire ont démontré son acceptation d'une alimentation à base de granulés (aliment pour truite ou bar). Les premiers transferts de technologie (Programmes CRAFT, CT98-9241 et Euréka, Acropep) ont permis la mise en place des premières productions à caractère commercial en Europe. Ces Percicultures visent les marchés de la consommation et exigent un approvisionnement régulier en juvéniles de qualité. Toutefois, l'état des connaissances est insuffisant pour garantir un développement de ces productions commerciales. Des points de blocage importants subsistent. Un élevage intensif, notamment en circuit fermé, exige la maîtrise des cycles de reproduction et l'obtention de pontes hors-saison. La perche est un poisson à ponte annuelle unique et le développement ovarien est de type groupe-synchrone (Marza, 1938). Le cycle de développement, y compris les fluctuations hormonales en stéroïdes sexuels, a été caractérisé (Sulistyo *et al.*, 1998, 2000), mais reste non maîtrisé. La gestion des facteurs environnementaux (application de programmes photo-thermopériodiques) a permis l'obtention de pontes hors-saison (Tamazouzt *et al.*, 1994 ; Sulistyo *et al.*, 1997 ; Migaud *et al.*, 2000, 2001a). Une meilleure connaissance de l'influence des facteurs environnementaux, c'est-à-dire principalement la température et la photopériode, sur les différentes étapes du cycle de reproduction est donc indispensable.

Tableau 1 : Position systématique de la perche commune *Perca fluviatilis* et principales caractéristiques (Collette *et al.*, 1977 ; Craig, 1987).

	Systématique	Caractéristiques
Phylum	CHORDATA	Présence d'une colonne vertébrale
Subphylum	CRANIATA	
Super-classe	GNATOSTOMA	présence de mâchoires
Grade	PISCES	
Classe	OSTEICHTHYES	poissons osseux, opercule, couvert d'écailles
Sous-classe	ACTINOPTERYGII	présence de nageoires dorsale, anale et de plaques jugulaires
Infra-classe	NEOPTERYGII	
Division	HALECOSTOMI	
Subdivision	TELEOSTEI	
Infra-division	EUTELEOSTEI	
Superordre	ACANTHOPTERYGII	Ecailles gonoïdes, 2 nageoires dorsales
Ordre	PERCIFORMES	
Sous-ordre	PERCOIDEI	
Famille	PERCIDAE	1 à 2 épines sur nageoire anale
Sous-famille	PERCINAE	
Tribu	PERCINI	
Genre	<i>Perca</i>	
Espèce	<i>Perca fluviatilis</i>	espèce européenne

La fécondité relativement élevée des femelles est un avantage certain pour les perspectives d'élevage de cette espèce. La fécondité absolue varie de quelques milliers à 30000 œufs, selon l'âge et la taille des femelles (jusqu'à 100000 selon certains auteurs). Peu avant la ponte, la masse ovarienne peut représenter jusqu'à plus du quart du poids corporel de la femelle (indice gonadosomatique, IGS = 25-30 %, Sulistyó *et al.*, 1998). De plus, les taux de fécondation sont généralement très élevés (>90 %).

Par opposition, l'apparition précoce de la maturité sexuelle, mobilisant de l'énergie au détriment de la croissance, constitue un problème majeur pour la Perciculture, notamment dans les élevages en cages flottantes. Dès la fin du premier été (5 - 6 mois), les mâles sont généralement aptes à se reproduire, ainsi que quelques femelles. Toutefois, ces dernières acquièrent le plus souvent la maturité sexuelle à partir du deuxième été.

Enfin, autre inconvénient, si les femelles sont très prolifiques, les œufs et les larves sont de petite taille. Une larve de perche (commune ou jaune) pèse en moyenne 0.5 - 0.8 mg pour une taille de 5 – 7 mm (Mansueti, 1964).

L'objectif de ce travail est de mieux comprendre le déterminisme environnemental (effets du thermopériodisme et du photopériodisme) dans le contrôle du cycle de reproduction de la perche commune, principalement lors des phases d'entrée en gonadogenèse, de la maturation finale des ovocytes, de l'ovulation et du déclenchement de la ponte.

Cette étude s'appuie sur un suivi morpho-anatomique afin de suivre l'état physiologique des géniteurs en terme de développement gonadique, viscéral et hépatique, un suivi histologique afin de suivre l'évolution du développement au niveau des tissus et un suivi endocrinologique de plusieurs stéroïdes sexuels connus pour leurs rôles joués sur les différentes étapes du cycle de reproduction.

Une première partie bibliographique, après avoir décrit les cycles de reproduction mâle et femelle, présente les principaux facteurs environnementaux impliqués dans le contrôle de la reproduction des poissons Téléostéens. Puis, la perception des stimuli environnementaux et la transduction de ces derniers à l'axe reproducteur grâce à l'intégration de l'information au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse sont détaillées. La synthèse et l'action des principaux stéroïdes sexuels agissant au niveau des organes cibles reproducteurs sont ensuite présentées. Enfin, les critères de qualité des pontes et les principaux facteurs l'influençant sont décrits.

La deuxième partie, expérimentale, comprend une première étude qui a pour objectif de montrer l'importance et les limites du facteur température sur le contrôle de la reproduction chez cette espèce. Une deuxième étude concerne le facteur photopériodique, afin de mieux

comprendre son rôle durant les principales étapes du cycle de reproduction (gonadogenèse et gamétogenèse, maturation ovocytaire, ovulation et ponte) et d'analyser son incidence sur la qualité des œufs et des larves obtenus.

S.C.D. - U.N.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

1^{ERE} PARTIE :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1^{ère} PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

La reproduction et son contrôle chez les poissons Téléostéens des eaux tempérées

1.1. Contrôle environnemental des cycles de reproduction

Les poissons ont la particularité d'avoir une reproduction saisonnière. Les phases de développement et de maturation sont synchronisées avec les changements saisonniers du climat (température, précipitations, longueur du jour et de l'approvisionnement en nourriture, Sumpter, 1990). Cette coordination assure à la progéniture d'être produite quand les conditions environnementales sont les plus adaptées à sa survie. Ce rythme annuel est contrôlé par des facteurs exogènes difficiles à quantifier. Toutefois, les principaux paramètres sont la température de l'eau, la photopériode, la présence de support de ponte, la hauteur ou la profondeur d'eau et les interactions sociales (Craig, 1987).

1.1.1. Description des cycles de reproduction

1.1.1.1. L'ovogenèse

D'une façon générale, l'ovogenèse chez les poissons Téléostéens se divise en six étapes principales qui aboutissent à la formation d'ovocytes matures prêts à être expulsés et fécondés puis à une période de repos sexuel (stade post-ponte) pendant laquelle la gonade se régénère (**Tableau 2**). Des travaux récents ont permis d'observer l'évolution des stades histologiques chez des femelles de perche commune en milieu naturel en période pré-ovulatoire (Migaud *et al.*, 2001b, **Figure 1**).

- La croissance primaire de l'ovocyte

Les ovogonies se multiplient par divisions mitotiques et deviennent des ovocytes primaires ou protoplasmiques. Ces ovocytes possèdent 1 noyau central, une mince couche de cytoplasme et sont entourés par des cellules somatiques, qui donneront par la suite les enveloppes folliculaires (**Figure 1a**, Malservisi, 1968 ; Wallace et Selman, 1981).

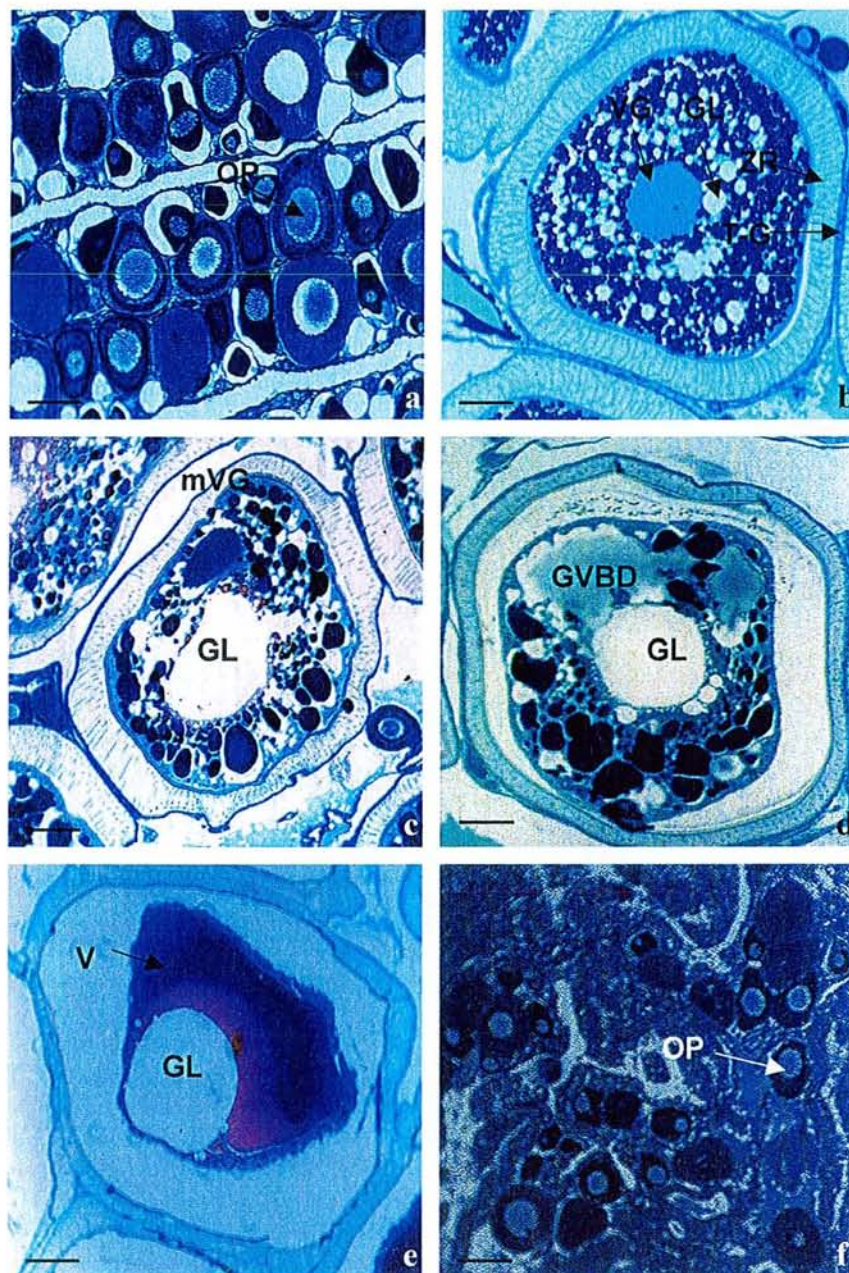
- La vitellogenèse endogène et exogène

La vitellogenèse endogène consiste en une accumulation de vitellus sous forme de vésicules de nature mucopolysaccharidique ou glycoprotéique. Elles apparaissent dans le

Tableau 2 : Les caractéristiques microscopiques de l'ovaire pour la détermination des stades de maturité chez la perche commune *Perca fluviatilis* (Rinchard *et al.*, 1996).

	Stade de développement ovarien	Stades ovocytaires présents dans l'ovaire	Description des ovocytes les plus avancés
(1)	Prévitellogénique	Ovocytes prévitellogéniques	Ovocytes avec vacuole libre dans le cytoplasme
(2)	Début de vitellogenèse endogène	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes en vitellogenèse endogène	Apparition des vésicules vitellines formant 2 ou 3 anneaux dans la périphérie du cytoplasme (début de la vitellogenèse endogène)
(3)	Fin de vitellogenèse endogène	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes ayant achevé leur vitellogenèse endogène	Ovocytes remplis de vésicules vitellines. Enveloppes folliculaires et cellulaires différenciées (fin de la vitellogenèse endogène)
(4)	Vitellogenèse exogène	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes aux différents stades de vitellogenèse exogène	Ovocytes accumulant des globules vitellins et des vésicules vitellines en périphérie du cytoplasme
(5)	Maturation finale	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes en maturation finale	Apparition du micropyle et migration de la vésicule germinale vers le micropyle
(6)	Post-ponte	Ovocytes prévitellogéniques et follicules pré- et post-ovulatoires	Follicules pré- et post-ovulatoires hypertrophiés, dégénérescence de la substance vitelline

Figure 1 : Photos des stades histologiques déterminés en période pré-ovulatoire (mars – avril 1999) chez des perches communes femelles *Perca fluviatilis*. a: femelle prélevée le 1 mars (x 200) ; b: femelle prélevée le 7 avril (x 100); c: femelle prélevée le 14 avril (x 100); d: femelle prélevée le 21 avril (x 100); e: femelle prélevée le 23 avril (x 100); f: femelle prélevée le 26 avril (x 100). Echelle = 50 μ m pour a et 100 μ m pour b, c, d, e et f. OP : ovocyte primaire; VG : vésicule germinale; GL : gouttelette lipidique; T-G : thèque et granulosa; ZR : zona radiata (chorion avec des micro-villosités); mVG : vésicule germinale migrée; GVBD : cassure de la vésicule germinale; V : vitellus (Migaud *et al.*, 2001b).



cytoplasme ovocytaire (**Figure 1b**). Des gouttelettes lipidiques (ou huileuses) peuvent également s'accumuler dans le cytoplasme. A ce stade, autour de l'ovocyte se différencient progressivement les cellules folliculaires. On peut ainsi distinguer de la périphérie au centre de l'ovocyte, la thèque constituée de plusieurs couches cellulaires et la granulosa séparée de la précédente par la membrane basale. La vitellogenèse exogène correspond au début de l'accumulation de vrai vitellus sous forme de globules vitellins. Ce vitellus est formé de protéines vitellines (phosvitine et lipovitelline) résultant du clivage de la vitellogénine. Cette lipoglycophosphoprotéine synthétisée par le foie (hépatocytes) en réponse à une stimulation oestrogénique ($17\text{-}\beta$ oestradiol) est libérée dans la circulation sanguine et transportée jusqu'à l'ovaire où elle est incorporée par micropinocytose (via des récepteurs membranaires ovocytaires). Pendant ces phases vitellogéniques, trois types de vitellus apparaissent successivement, dans un ordre différent suivant les espèces : les gouttelettes lipidiques, les vésicules vitellines et les globules vitellins de composition différente (Wallace et Selman, 1981 ; Nagahama, 1983).

- La maturation finale ovocytaire

Quand l'ovocyte a terminé sa croissance, son noyau (ou vésicule germinative, VG) migre du centre vers le pôle animal (**Figure 1c**) où se situe le micropyle. Ce dernier forme un petit orifice dans la membrane ovocytaire ou chorion avec un diamètre allant de 2.5 à 23.0 μm selon les espèces. Il permet la pénétration du spermatozoïde lors de la fécondation (Nagahama, 1983). Après cette migration, la membrane de la vésicule germinative se déchire et son contenu se disperse dans le cytoplasme avoisinant (phase appelée cassure de la vésicule germinale, GVBD, **Figure 1d**). Ce processus de maturation ovocytaire, sous la dépendance gonadotrope, est accompagné d'importants changements au sein du cytoplasme et du vitellus et, chez de nombreuses espèces, l'ovocyte subit une hydratation importante se traduisant par une rapide augmentation de volume. La GVBD marque la reprise de la méiose jusqu'à la métaphase de deuxième division. Les changements nucléaires qui accompagnent la reprise de cette méiose sont complexes.

Le noyau sphérique qui occupait une position centrale, migre à la périphérie au niveau du micropyle et s'aplatit contre la membrane plasmique de l'ovocyte. Cette migration périphérique représente le premier signe morphologique de la maturation finale de l'ovocyte (Wallace et Selman, 1981 ; Selman et Wallace, 1989). Le facteur promoteur de la maturation (MPF) induit ensuite la rupture de l'enveloppe nucléaire, la condensation des chromosomes,

Tableau 3 : Période de ponte, température de l'eau au moment de la ponte et fécondités de la perche commune *Perca fluviatilis* en fonction de la localité.

Localité	Date de ponte	Température de ponte (°C)	Taille des géniteurs (mm)	Fécondité (œufs.g ⁻¹)	Auteurs
réservoir Ivan'kovo, Russie	avril-mai	7 - 15			Makarova, 1973
Slapton Ley, Angleterre	2 ^{ème} semaine mars - 1 ^{ère} semaine mai	8 - 14			Craig, 1974
lac Agios Vasilios, Grèce	mi-mars - début avril	8	160 205	133 202	Papageorgiou, 1977
Windermere, Angleterre	mi-mai - mi-juin	9 - 18			Guma'a, 1978
lac Pounui, Nouvelle Zélande	septembre	10	140 422	141 33	Jellyman, 1980
La Gombe, Belgique	avril - juin	8,5 - 13,5			Dalimier <i>et al.</i> , 1982
Loch Leven, Ecosse	fin avril - mi-juin	9 - 11,5			Jones, 1982
Loch Kinord et Davan, Ecosse	fin avril - mi-mai	9 - 11	176 323	Kinord Davan 115 134 92 78	Treasurer, 1981, 1983
Lac en Pologne			120 400	158 121	Backiel et Zawiza, 1988
lac de Zurich, Suisse	fin avril - début juin	8 - 15			Zeh <i>et al.</i> , 1989
lac de Monate, Italie	avril - mai			144	Jamet <i>et al.</i> , 1990
réservoir Mirgenbach, France	fin février - mars	12			Flesch, 1994
lac Aydat, France	début mai	8,0		182	Jamet et Desmolles, 1994
lac de Genève, France	fin avril - juin	8 - 16			Gillet <i>et al.</i> , 1995
Formarsk et Oskarshamm, Suède	début avril - fin juin	7 - 20	170 250	137 126	Sandström <i>et al.</i> , 1995b
lac de Saarlampi, Finlande	16 - 24 mai	12 - 14			Urho, 1996

l'élimination du premier globule polaire et la formation des deux fuseaux méiotiques (Jalabert *et al.*, 1991).

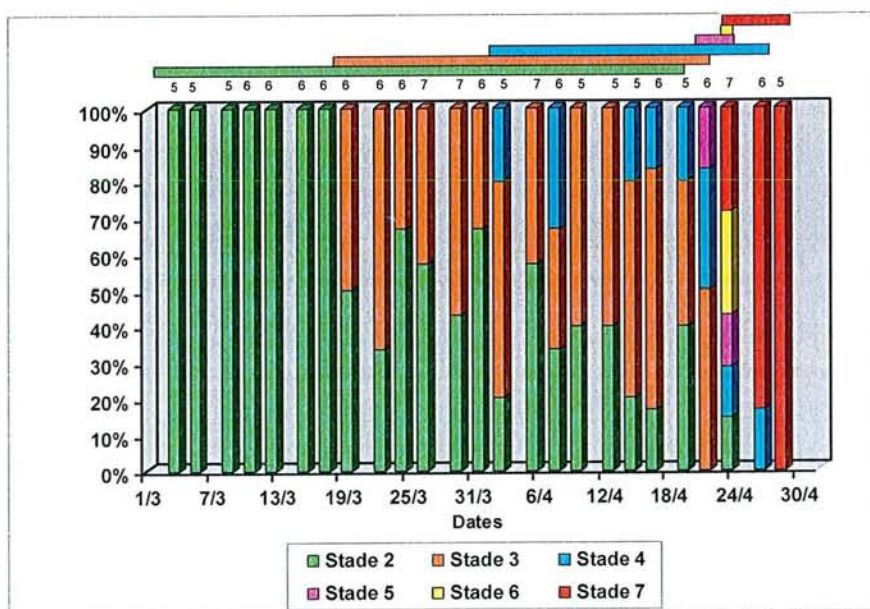
- L'ovulation et la ponte

Une fois la maturation finale terminée, l'ovocyte entouré du chorion se sépare du follicule et est expulsé dans la lumière ovarienne ou dans la cavité coelomique (comme chez les Salmonidés) : c'est l'ovulation (**Figure 1e**). Les ovules poursuivent la méiose jusqu'en métaphase II, stade où la fécondation devient possible (Wallace et Selman, 1981).

Contrairement à la plupart des poissons Téléostéens d'eau douce, les œufs de perche au moment de la ponte présentent une masse vitelline homogène provenant de la fusion des vésicules vitellines ou gouttelettes lipidiques (Krieger et Fleig, 1999). Sous nos latitudes, la ponte survient au printemps (de mars à juin) généralement lorsque la température de l'eau atteint 13-14°C et la photophase 13-14 heures mais, selon la localité géographique, nous pouvons rencontrer des variations (**Tableau 3**). Dans les petits plans d'eau où il n'y a pas de stratification thermique, la période de ponte est brève (15 jours). Dans de plus vastes plans d'eau, tel que le lac Léman, la période de reproduction est plus longue (1 - 1.5 mois) et les femelles pondent souvent à des températures plus basses car le réchauffement est beaucoup plus lent. Généralement, les plus petites femelles pondent avant les plus grosses et les œufs sont de meilleure qualité au début de la période de reproduction (Abi-Ayad, 1997 ; Kestemont *et al.*, 1999 ; Migaud *et al.*, 2001c). Lors de la ponte, les femelles expulsent un chapelet unique d'ovules transparents et gélatineux formant un ruban spiralé, dont la longueur peut atteindre 3 m. Le nombre d'œufs du ruban est lié à sa longueur et à sa largeur (Dalimier *et al.*, 1982 ; Heidinger et Kayes, 1986 ; Zeh *et al.*, 1989 ; Gillet *et al.*, 1995). Les ovules collés entre eux, grâce à une gangue, sont disposés sur une seule couche ce qui constitue la principale caractéristique de la ponte chez cette espèce et on recense très peu de modèles similaires parmi les espèces d'eau douce. Le contrôle et le lieu de la synthèse de cette couche gélatineuse externe, avant l'oviposition, n'a pas encore fait l'objet d'études.

Le même phénomène peut être observé chez des espèces d'amphibiens et il joue un rôle important dans le processus de la fécondation (Jego *et al.*, 1980). Cette gangue, constituée de plusieurs couches de glycoprotéines chez les amphibiens, serait déposée lors du passage des œufs à travers les différentes parties de l'oviducte. Mais, chez la perche, cette enveloppe gélatineuse pourrait être synthétisée par les cellules folliculaires des œufs comme cela a déjà été montré chez une espèce de Cichlasoma par Busson-Mabillot (1977).

Figure 2 : Observations histologiques chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevés en milieu naturel en période pré-ovulatoire (mars – avril 1999) exprimées en pourcentages de chaque stade. Les chiffres au-dessus de chaque barre représentent la taille de l'échantillon. Stade 2: ovaires présentant des ovocytes vitellogéniques; stade 3: ovocytes en pré-maturation; stade 4: ovocytes présentant une vésicule germinale périphérique (VG); stade 5: cassure de la vésicule germinale (GVBD); stade 6: ovulation; stade 7: oviposition (ovaire vide). D'après Migaud *et al.*, 2001b.



Généralement, les femelles profitent de la présence de supports (branches, racines...) pour favoriser l'expulsion des ovules. Au fur et à mesure de la ponte, plusieurs mâles assurent la fécondation des ovules (Dalimier *et al.*, 1982). Un véritable nuage de sperme envahit le ruban en quelques secondes (Hergenrader, 1969 ; Treasurer, 1981), comme en atteste un film vidéo élaboré par l'Université de Namur.

Dans les premières minutes qui suivent la fécondation, la membrane ovulaire gonfle et perd ses propriétés adhésives après le durcissement consécutif au contact avec l'eau. Le diamètre des œufs est de 0.86 mm chez une petite perche de 14 cm et de 1.41 mm chez une grande perche de 38 cm (Jellyman, 1980).

Alors que l'histologie de l'ovogenèse a été étudiée chez la perche dès les années 50 et 60 par Mas (1952) et Malservisi et Magnin (1968), les étapes de la cassure de la vésicule germinale (GVBD) et surtout l'ovulation ont été observées récemment (**Figures 1d, 1e et 2**, Migaud *et al.*, 2001b).

- Phénomènes d'atrésie

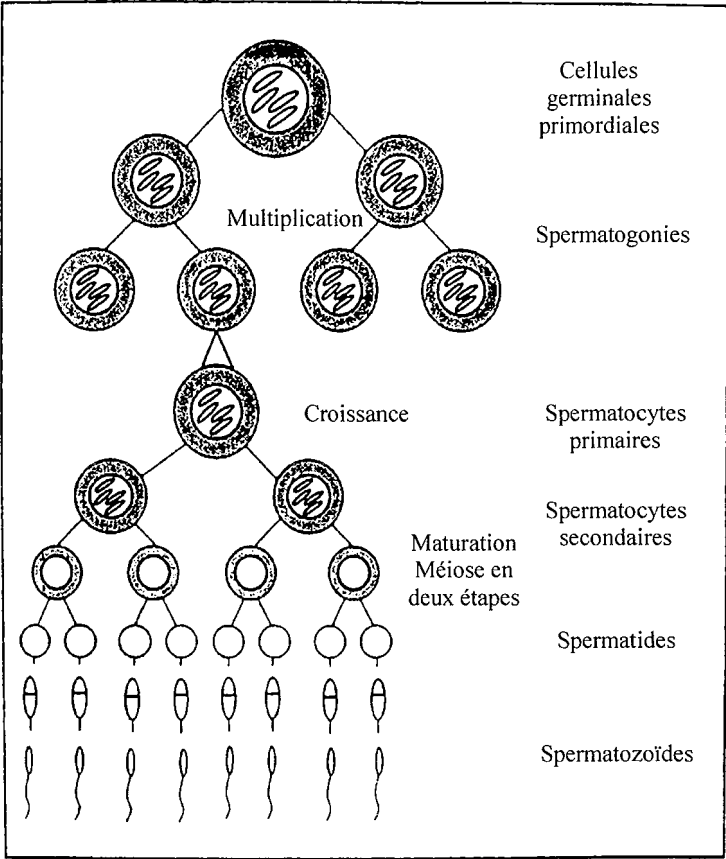
Deux types de follicules atrétiques peuvent être distingués : ceux qui apparaissent avant l'ovulation des ovocytes (*corpora atretica preovulationis*) et ceux qui sont constitués par les enveloppes folliculaires après l'ovulation (*corpora atretica postovulationis*).

Les follicules atrétiques préovulatoires peuvent apparaître à tout moment du développement de l'ovocyte et l'atrésie est généralement déclenchée par des facteurs environnementaux (température, photopériode, physico-chimie de l'eau, captivité, alimentation...) ou physiologiques (âge, hormones extra et intraovarienne..., Treasurer et Holliday, 1981). L'atrésie folliculaire débute généralement par une prolifération et une hypertrophie des cellules de la granulosa. La limite des cellules folliculaires devient irrégulière. La *zona radiata* perd son aspect strié et prend une configuration désordonnée. Parallèlement à la désorganisation des membranes ovocytaires et folliculaires, le cytoplasme subit une autolyse générale. En fin d'atrésie, il ne subsiste plus qu'un amas de cellules granuleuses qui seront progressivement résorbées et se confondront avec le stroma ovarien. Les follicules atrétiques post-ovulatoires sont des structures présentes dans l'ovaire après l'ovulation.

1.1.1.2. La spermatogenèse

Le processus de la spermatogenèse regroupe l'ensemble des phases conduisant à

Figure 3 : Etapes de la spermatogenèse chez les poissons téléostéens (D'après Jobling, 1995).



l'élaboration des spermatozoïdes à partir des cellules indifférenciées (spermatogonie A), elles-mêmes issues des cellules germinales primordiales par division mitotique (**Figure 3**).

Chez la perche, les testicules présentent un niveau de développement maximal en septembre (IGS = 7-8 %) avec déjà la présence de spermatozoïdes (Turner, 1919 ; Sulistyó *et al.*, 2000), puis l'IGS diminue en octobre et reste constant jusqu'à la période de ponte (IGS = 4-5 %, **Figure 4a**). Les mâles sont spermiantes dès le mois de janvier. Les spermatozoïdes de perche sont viables seulement quelques minutes après leur libération, probablement moins de deux minutes (Piironen et Hyvärinen, 1983). Le spermatozoïde a une forme asymétrique et possède une tête ovoïde, une partie médiane avec une seule mitochondrie et un flagelle (Turner, 1919 ; Lahnsteiner *et al.*, 1995).

Les cellules de Sertoli forment des cystes dans lesquels l'évolution des cellules germinales est synchrone. Ces cystes contiennent des spermatogonies de type A, entourés de cellules somatiques, qui subissent la division mitotique pour devenir des spermatogonies de type B plus petits que leurs cellules mères (**Figures 4b, 5**). Les cellules somatiques se divisent et forment l'enveloppe des cystes. Les spermatocytes primaires apparaissent dès la première division méiotique des spermatogonies B. Avant d'arriver au stade spermatocyte secondaire, les spermatocytes primaires passent du stade leptotène avec des noyaux homogènes, au stade zygotène où les complexes synaptonémaux, représentant les chromosomes en division méiotique active, commencent à se former dans le noyau. Puis, les spermatocytes passent au stade pachytène caractérisé par un noyau presque rond, des chromatines hétérogènes et des complexes synaptonémaux proéminents (Foresti *et al.*, 1993, **Figure 5**). Suite aux divisions méiotiques secondaires, les spermatides légèrement plus petits que les spermatocytes secondaires, apparaissent. Une série de transformations cytologiques (spermiogenèse) intervient au cours desquelles chaque spermatide se différencie en spermatozoïde. Puis, les spermatozoïdes se détachent des cellules de Sertoli, les cystes s'ouvrent et les spermatozoïdes sont libérés dans le spermiducte, c'est la spermiation (Billard, 1986).

Les spermatozoïdes, chez les espèces à ponte externe, restent immobiles dans le liquide séminal et deviennent actifs au contact de l'eau lors de la fécondation (Perchec, 1996). S'ils ne sont pas libérés pendant la saison de ponte, ils ne sont pas obligatoirement résorbés. Il peut donc y avoir plusieurs générations de sperme chez un individu lors d'une saison de reproduction, notamment chez les Salmonidés (Billard, 1986). L'hypothèse d'un tel phénomène chez la perche commune a été émise (Sulistyó *et al.*, 2000). Lorsqu'il y a résorption des spermatozoïdes, celle-ci se fait selon trois voies :

- 1) une phagocytose par les cellules de Sertoli comme chez les Salmonidés,

Figure 4 : a. Variations de la température de l'eau dans l'étangs de Lindre (Lorraine) et de l'indice gonadosomatique (IGS) chez des mâles de perche commune *Perca fluviatilis* pendant un cycle annuel de reproduction (Avril 1995 - Avril 1996). Les valeurs représentent les moyennes ajustées (+ erreur type, n = 5). Les chiffres indiquent la taille des échantillons prélevés et les lettres présentent les résultats des tests statistiques ($p < 0.05$). * échantillons exclus de l'analyse statistique; l'écart-type résiduel (ETR) = 1.06.

b. Stades de la spermatogénèse observés. Les boîtes noires indiquent les stades prédominants à chaque date de prélèvement, les grises les stades moins abondants et les blanches les stades absents. Spg spermatogonie; Spc spermatocyte; Spd spermatide; Spz spermatozoïde (Sulistyo *et al.*, 2000).

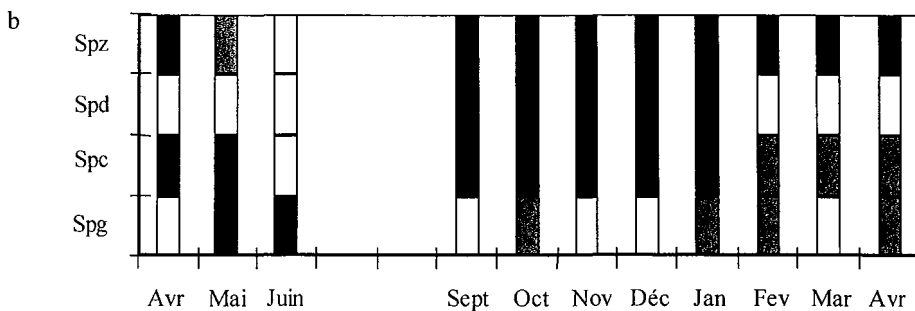
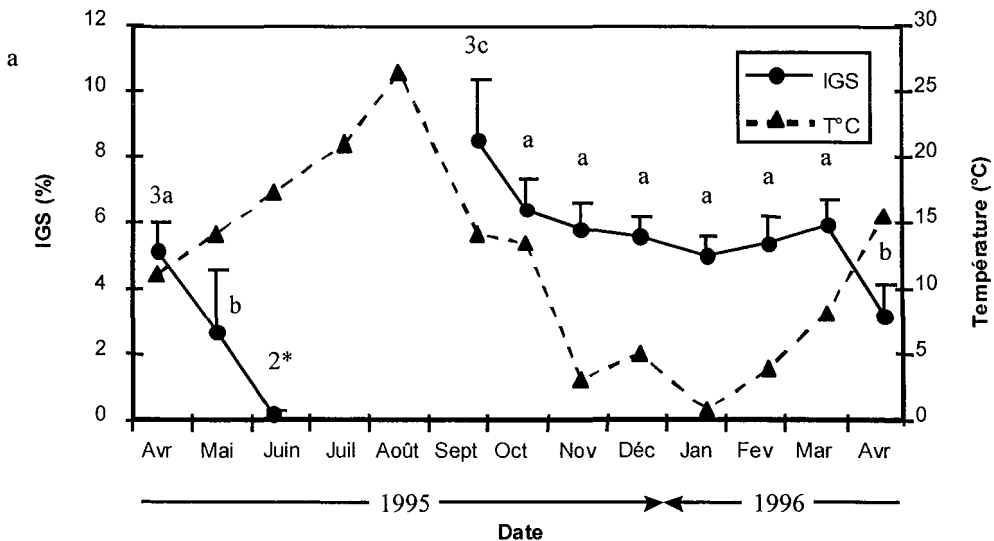
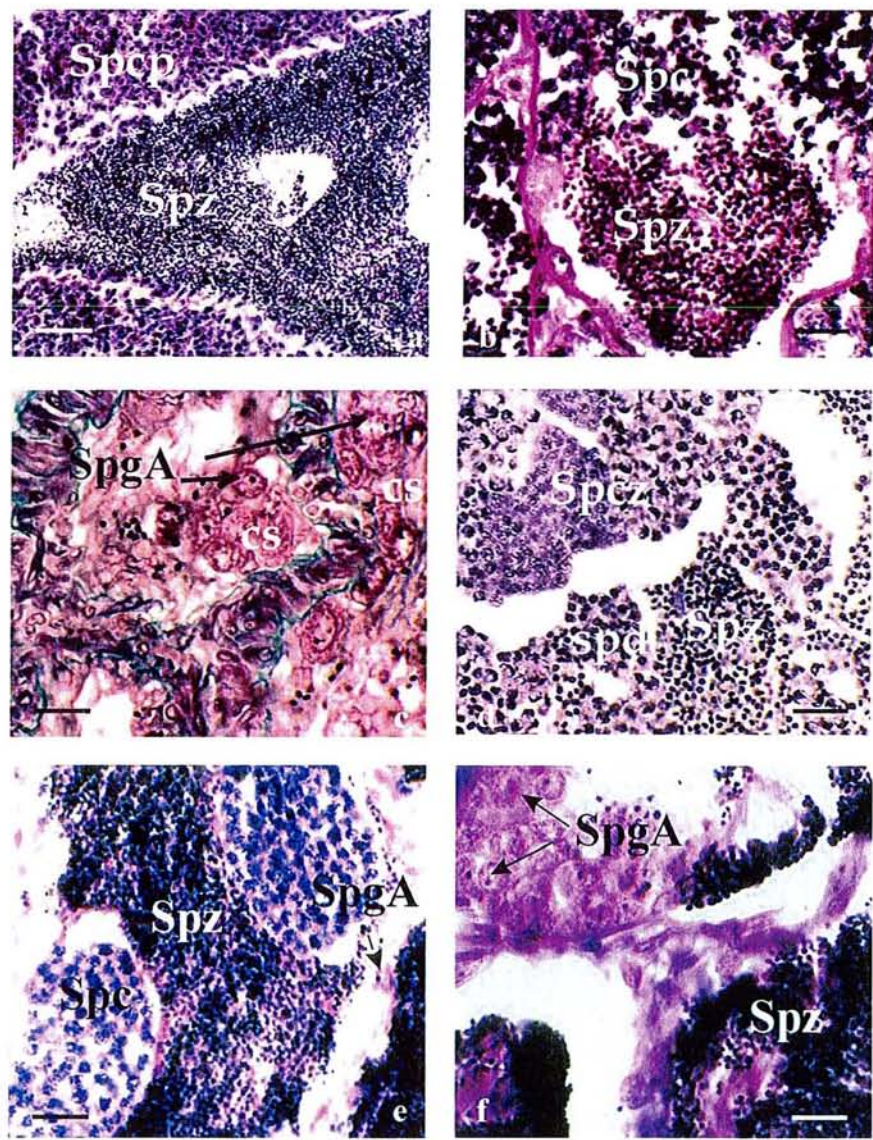


Figure 5 : Stades de la spermatogenèse chez les males de perche commune *Perca fluviatilis* observés au cours du cycle annuel de reproduction. a: poisson prélevé le 14 avril 1995; b: poisson prélevé le 15 mai 1995; c: poisson prélevé le 14 juin 1995 ; d: poisson prélevé le 29 septembre 1995; e: poisson prélevé le 22 décembre 1995; f: poisson prélevé le 27 février 1996. Echelle = 100 µm pour a et 40 µm pour b, c, d, e et f. *Spg*, spermatogonies; *Spc*, spermatocytes (z : stade zygotène, p : stade pachytène); *Spd*, spermatides; *Spz*, spermatozoïdes ; Cs, cellules de Sertoli (Sulistyo *et al.*, 2000).



- 2) une phagocytose par les macrophages,
- 3) une lyse des spermatozoïdes dans le spermiducte facilement observable par la présence de liquide éosinophile autour des spermatozoïdes (Scott et Sumpter, 1989).

Par contre, chez le gardon *Rutilus rutilus*, par exemple, la rétention des spermatozoïdes dans les testicules et leur phagocytose par les cellules de Sertoli n'existent pas. La spermatogenèse commence à l'automne et dure 7 mois. Les spermatozoïdes sont rapidement éliminés après leur formation (Escaffre *et al.*, 1976).

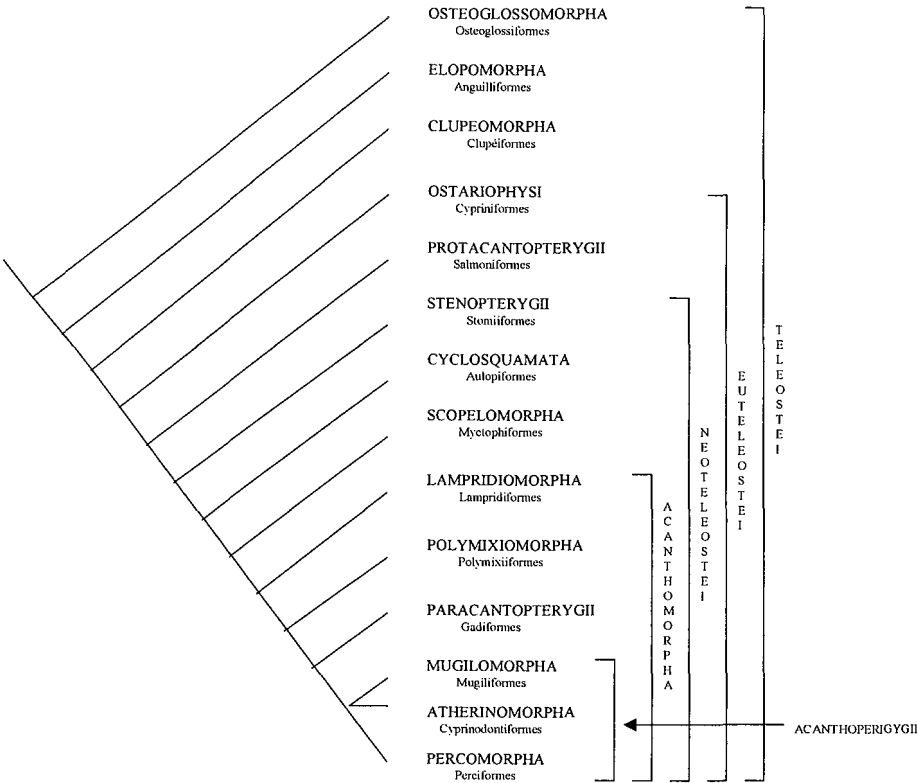
1.1.2. Les principaux facteurs environnementaux

1.1.2.1. Influence de la température et de la photopériode

Bien que de nombreux facteurs environnementaux comme la photopériode, la température, les précipitations, l'approvisionnement en nourriture et les phéromones aient été identifiés comme des facteurs importants (Bromage *et al.*, 2001), les changements saisonniers de la durée du jour sont principalement responsables du déclenchement et de la synchronisation de la reproduction chez la majorité des poissons. C'est le déterminant principal de la maturation chez les Salmoniformes comme les Salmonidés (truites et saumons) et les Esocidés (brochet), les Perciformes comme les Serranidés (bars), les Sparidés (daurades), les Mugillidés (mullet) et les Sciaenidés. les Pleuronectiformes comme les Scophthalmidés (turbot), qui représentent la majeure partie des espèces élevées intensivement (Bromage *et al.*, 2001). Les premiers travaux sur les effets de la photopériode chez les poissons dans les années 1970 et 80 suggéraient que la longueur du jour était le facteur critique et une fois le niveau seuil de la photophase atteint durant le cycle saisonnier de lumière, la maturation était alors induite.

Chez de nombreux vertébrés, la photopériode induit incontestablement l'initiation de la gonadogenèse peu de temps après l'exposition à une photophase spécifique critique. Mais, chez de nombreuses espèces de poisson dont les effets de cycles saisonniers d'éclairement modifiés ont été étudiés, aucune relation directe entre le moment de la ponte et la photopériode n'a été mise en évidence (Bromage et Duston, 1986 ; Bromage *et al.*, 1993). Si la maturation et la ponte chez de nombreuses espèces tempérées comme les Cyprinidés ou les Percidés sont influencées par la température ou les précipitations, la photopériode a vraisemblablement son importance (Scott, 1979).

Figure 6 : Relations phylogénétiques des poissons téléostéens (D’après Helfman *et al.*, 1997).



Cette synthèse bibliographique est uniquement ciblée sur les espèces des eaux tempérées peuplant les cours d'eau sous nos latitudes et trois principaux modèles sont présentés en fonction de leur évolution phylogénétique (**Figure 6**). Tout d'abord, l'influence de la température et de la photopériode chez les Cypriniformes est présentée, comme chez les Cyprinidés (carpe, tanche, gardon...) appartenant à la subdivision Ostariophysi, la moins évoluée des Eutéléostéens (Helfman *et al.*, 1997), puis chez les Salmoniformes comme les Salmonidés (truites, saumons, ombles...) et les Esocidés (brochet) appartenant à la subdivision des Protacanthopterygii et chez les Perciformes comme les Serranidés (bar), les Sparidés (daurade), les Moronidés (bar blanc, bar d'amérique...) et les Percidés (perche jaune, perche commune...) appartenant à la subdivision Percomorpha et un des ordres les plus évolués des Téléostéens (**Figure 6** ; Helfman *et al.*, 1997).

- Chez les Cypriniformes

De nombreux travaux suggèrent que la gonadogenèse des carpes et autres Cyprinidés est influencée par les variations de la température (De Vlaming, 1972 ; Breton *et al.*, 1980 ; Davies *et al.*, 1986 ; Horvath, 1986). Chez la carpe commune, *Cyprinus carpio*, l'ovulation peut être obtenue simplement en soumettant des géniteurs à un choc thermique (passage de 16 à 24°C en 6-8 heures) débutant en fin de période d'éclairement (Davies *et al.*, 1986 ; Billard, 1995). Chez d'autres Cypriniformes comme le fondule, *Fundulus heteroclitus* (Cyprinodontidé), des températures élevées et des jours longs apparaissent importants (De Vlaming, 1972 ; Taylor, 1986). Une controverse persiste pour savoir si les effets des variations de la température sont directs. Le problème majeur avec la plupart des données disponibles est la non distinction des effets induits par la photopériode de ceux induits par les variations de la température.

Chez le gardon, il semblerait que la photopériode soit le facteur principal qui synchronise le début de la ponte, tandis que la température de l'eau régulerait son intensité et sa durée (Rinchard, 1996).

Les augmentations et réductions saisonnières de la durée du jour peuvent être remplacées par des photophases de durée constante, sans inhiber la reproduction, comme cela a été montré chez les Cyprinidés comme le barbeau, *Barbus barbus*, le chevaine, *Leuciscus cephalus* et la tanche, *Tinca tinca* (Poncin, 1984 ; Poncin *et al.*, 1987 ; Poncin, 1989). Poncin *et al.* (1987) ont montré, chez ces trois espèces, qu'une décroissance de la durée d'éclairement inhibe l'entrée en reproduction des mâles et des femelles. La capacité reproductrice est

maintenue chez les deux sexes en photopériode longue constante (15,5L : 7,5O) chez la tanche et le chevine et en photopériode longue ou constante courte (10L : 14O) chez le barbeau. Chez cette dernière espèce, une photopériode décroissante (de 16,5L : 7,5L à 8L : 16O) pendant un cycle annuel de reproduction raccourci à 6 mois inhibe la ponte des femelles et des mâles (Poncin, 1989).

Chez le poisson rouge, *Carassius auratus*, en automne et en début d'hiver, le développement ovarien est fortement accéléré à une température de 24°C et une photophase de 16L mais est arrêté à 24°C et 12L (Gillet *et al.*, 1978 ; Razani et Hanyu, 1986a et b). Cet effet de la photopériode n'était plus observé à une température variant de 18 à 21°C (Razani *et al.*, 1987).

Les besoins d'une ou plusieurs durées du jour différentes durant un régime de photopériode artificiel semblent varier en fonction du temps nécessaire à l'initiation du développement des gonades, à la maturation et au déclenchement de la ponte chez le poisson et également la période de l'année à laquelle le poisson pond. De nombreuses espèces de petits Cyprinidés comme *Gasterosteus maculeatus* (« threespine stickleback ») qui ont des cycles de maturation courts et pondent au printemps ou en début d'été, répondent positivement à une seule photophase constante de 16L : 8O (Baggerman, 1980 ; Borg *et al.*, 1986).

La majorité des poissons appartenant au groupe des Cypriniformes et principalement les Cyprinidés sont donc caractérisés par un cycle de reproduction principalement contrôlé par le facteur température et secondairement par le facteur photopériode (Peter et Yu, 1997).

- Chez les Salmoniformes

De nombreux travaux ont été réalisés sur le contrôle environnemental du cycle de reproduction des Salmoniformes.

La plupart de ces études ont été réalisées dans des eaux de forage ou des eaux printanières dont la température est constante à 8-11°C. La question de l'importance relative de la température et de la photopériode sur la synchronisation de la reproduction est posée (Bromage, 1993 ; Bromage *et al.*, 2001). Il est clairement établi que la reproduction chez les Salmonidés est initiée et contrôlée par des stimuli photopériodiques (Whitehead *et al.*, 1978 ; Bromage *et al.*, 1982b ; Breton *et al.*, 1983b ; Johnston, 1986 ; Davies *et al.*, 1991a), la température n'exerçant qu'une influence mineure. Davies et Bromage (1991b) ont montré que des jours longs suivis par des jours courts entraînaient des pontes précoces (3-4 mois en



avance) chez des poissons soit maintenus dans des eaux de rivière dont la température variait saisonnièrement de 2 à 21°C, soit maintenus dans des eaux de forage à une température constante de 9°C. Toutefois, il a été observé que les poissons maintenus dans les eaux de rivières pondaient 3 à 4 semaines après les poissons élevés dans des conditions de température constante, quel que soit le traitement photopériodique (photopériode modifiée ou ambiante). Les mêmes retards de ponte ont été observés chez des truites élevées à des températures faibles, ce qui suggère que les effets de la température interviennent directement au niveau des gonades (Morrisson et Smith, 1986 ; Nakari *et al.*, 1988).

De plus, la température aurait une influence sur la maturation ovocytaire finale, l'ovulation et l'oviposition (Hokanson *et al.*, 1973 ; Billard et Breton, 1977 ; Davies *et al.*, 1991a ; Davies et Bromage, 1991b ; Jobling *et al.*, 1995 ; Pankhurst *et al.*, 1996 ; Pankhurst et Thomas, 1998 ; Taranger *et al.*, 1999). En effet, il a été montré chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), maintenue en rivière, que les œufs après avoir subi l'étape de la maturation finale, surmaturaient avant que l'ovulation se déroule, empêchant toute libération des œufs (Davies et Bromage, 1991b). Les pontes avaient été induites par la photopériode en été alors que la température ambiante était très élevée. Une étude plus détaillée concernant les effets de températures élevées sur la maturation et la ponte chez la truite arc-en-ciel a été menée par Pankhurst *et al.* (1996). Des lots de géniteurs ont été élevés à des températures allant de 9 à 21°C pendant les 3 mois précédant la période de ponte. La production d'œufs était normale jusqu'à 15°C mais significativement réduite au-dessus de cette température et aucun embryon n'a survécu. Des températures comprises entre 12 et 16°C retarderaient également la maturation chez l'omble chevalier, *Salvelinus alpinus* (Hokansson *et al.*, 1973 ; Jobling *et al.*, 1995) et au-dessus de 14°C, retarderaient l'ovulation chez le saumon Atlantique, *Salmo salar* (Taranger et Hansen, 1993 ; Taranger *et al.*, 1999).

En ce qui concerne la photopériode, une des premières démonstrations de l'influence de la durée d'éclairement sur la synchronisation de la reproduction des poissons a été réalisée par Hoover (1937) et Hoover et Hubbard (1937) chez le saumon de fontaine (*Salvelinus fontinalis*). Ils ont montré que des poissons exposés à des cycles saisonniers de lumière, raccourcis à moins d'une année, pondaient 3 à 4 mois plus tôt comparés aux poissons en conditions naturelles. D'autres travaux ont confirmé cet effet de la photopériode sur le déclenchement de la ponte chez cette espèce (Hazard et Eddy, 1951 ; Corson, 1955 ; Carlson et Hale, 1973). Plus récemment, il a été montré que le développement ovarien et la vitellogenèse précoce sont stimulés par une photophase longue ou croissante alors que la synchronisation des stades ultimes du cycle de reproduction, c'est-à-dire la maturation

ovocytaire et l'ovulation, serait contrôlée par une photophase décroissante ou courte (Henderson 1963 ; Whitehead et Bromage, 1980 ; Bromage *et al.*, 1984). De nombreux travaux ont permis d'étudier l'influence de cycles modifiés de photopériode sur la reproduction et la ponte d'un grand nombre d'espèces appartenant au groupe des Salmoniformes comme la truite arc-en-ciel (Whitehead *et al.*, 1978, 1979 ; Whitehead *et Bromage*, 1980 ; Bromage et Duston, 1986 ; Bromage *et al.*, 1993, 1995, 2001 ; Bon *et al.*, 1999), le saumon Atlantique (Sanders et Henderson, 1988 ; Taranger *et al.*, 1998, 1999), les saumons du Pacifique, *Oncorhynchus spp* (Macquarrie *et al.*, 1978, 1979), la truite commune, *Salmo trutta* (Bromage *et al.*, 1990)... Bien que les changements du cycle saisonnier de lumière engendrent de profondes modifications dans la synchronisation et le déclenchement de la maturation et de la ponte, les croissances et décroissances saisonnières de la durée d'éclairement peuvent être remplacées par des photophases de substitution ou une combinaison de photophases de durées constantes (Sanders et Henderson, 1988 ; Bromage *et al.*, 1984 ; Bromage et Jones, 1991 ; Bromage, 1993 ; Taranger *et al.*, 1991, 1998). La plupart des Salmonidés pondent en automne ou en hiver et le développement des gonades débute une année plus tôt, initialement avec une photophase croissante puis décroissante. C'est la raison pour laquelle des photophases constantes d'abord longues puis courtes sont communément utilisées dans les programmes de contrôle de la reproduction chez ces espèces (Bromage *et al.*, 2001). Ainsi, la truite arc-en-ciel, quand elle est exposée à une photopériode de 18 L : 6O de janvier à mai suivie d'une réduction soudaine à 6L : 18O, pond 3 à 4 mois plus tôt que les témoins (Whitehead et Bromage, 1980 ; Bromage *et al.*, 1984). Un retard du passage à une photophase longue jusqu'au mois de février engendre un avancement moins prononcé de la ponte, indiquant que le moment de cette élévation est déterminant pour le bon déroulement de la gonadogenèse (Duston et Bromage, 1987).

Des pontes avancées à la suite d'une exposition à des jours longs puis courts ont également été observées chez le saumon masu, *Oncorhynchus masou* (Takashima et Yamada, 1984), le saumon Atlantique (Taranger *et al.*, 1991, 1998, 1999 ; Duncan *et al.*, 1999), le saumon de fontaine (Henderson, 1963) et la truite commune (Bromage *et al.*, 1990). Des durées d'éclairement constantes permettent donc de retarder la ponte chez les Salmonidés. Ainsi, des jours courts constants soit au cours de l'année soit pendant les sept ou huit premiers mois retardent la ponte tout comme l'exposition des poissons à des périodes de jours longs constants après le solstice d'été (Henderson, 1963 ; Whitehead et Bromage, 1980 ; Bromage *et al.*, 1990, 1993 ; Gillet *et al.*, 1998 ; Taranger *et al.*, 1998 ; Kissil *et al.*, 2000).

De plus, il existe des variations du moment de ponte chez la truite quand elle est exposée à des photopériodes d'abord longues puis courtes à différentes périodes de l'année. Ainsi, le moment de ponte ne serait pas corrélé de façon certaine au commencement des photophases soit longues soit courtes (Bromage *et al.*, 1992). Les poissons continuent à pondre quand ils sont soumis à toute une gamme de photophases constantes annuelles allant de 6L : 18O à 22L : 4O tout comme un éclaircissement ou une obscurité continu (Duston et Bromage, 1986). Il apparaît donc que la réponse des poissons à la lumière n'est pas seulement conditionnée par leur exposition à une durée d'éclaircissement critique (Bromage *et al.*, 2001). Cet argument est confirmé par une série d'expériences réalisées chez la truite où les effets de différentes durées de jours longs ou courts ont été étudiés (Randall et Bromage, 1998 ; Davies *et al.*, 1991a et b). Ils ont montré que des photophases longues comme 13.5L : 10.5O ou même 18 L : 6O peuvent être considérées comme courtes si les poissons ont été préalablement soumis à des photophases plus longues encore (18 L : 6O et 22L : 2O, respectivement). En conclusion, le vécu photopériodique et les changements de photopériode sont bien plus importants dans le contrôle de la maturation et de la ponte chez les poissons que le concept d'un seuil de photopériode critique.

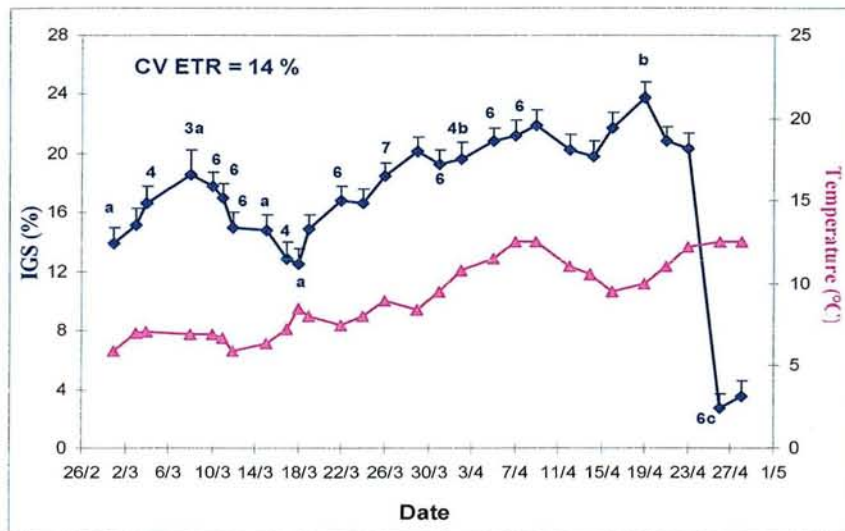
Un autre modèle de poisson appartenant au groupe des Salmoniformes, le brochet, *Esox lucius* (Esocidés), est très intéressant bien que le control environnemental de sa reproduction soit peu documenté. Sa zone de reproduction étant distincte de ses zones de repos et d'alimentation au stade adulte, le brochet doit le plus souvent effectuer une migration au moment de la fraie (Souhont, 1983). Plusieurs auteurs ont souligné le rôle de la température sur le déclenchement de ces migrations (Huet, 1976 ; Frost et Kipling, 1967).

Chez les Salmoniformes, la plupart des poissons ont donc un cycle de reproduction principalement contrôlé par la photopériode.

- Chez les Perciformes

Chez certaines espèces de Percidé, les variations de la température de l'eau jouent un rôle majeur dans les processus de l'ovogenèse, par opposition aux variations photopériodiques (Kayes et Calbert, 1979 ; Dabrowski *et al.*, 1996 ; Sandström *et al.*, 1995, 1997 ; Sulistyo *et al.*, 1997, 1998 ; Migaud *et al.*, 2000, 2001a). Chez la perche, l'application de programmes photo-thermopériodiques permet de déclencher le développement des gonades mâles et femelles, comme chez la perche jaune et le doré jaune (Malison *et al.*, 1998).

Figure 7 : Evolution de l'indice gonadosomatique (IGS) chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevés en milieu naturel en période pré-ovulatoire (moyennes ajustées + erreur type) et variations de la température de l'eau. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0.05$) et les chiffres la taille des échantillons quand n diffère de 5 (Migaud *et al.*, 2001b).



Des travaux menés sur la perche jaune (Kolkovski et Dabrowski., 1998) ont permis d'obtenir des pontes hors-saison en mimant les conditions environnementales naturelles. Une période à basse température (<10°C) en hiver est très importante pour le succès de la reproduction (Hokanson, 1977 ; Heidinger et Kayes, 1986). Chez les Perciformes, des cycles photo-thermopériodiques condensés ont permis de déclencher la gonadogenèse (et gamétogenèse) plus précocement que dans le milieu naturel. Cela est le cas chez les Percidés, la perche commune (Tamazouzt *et al.*, 1994 ; Sulistyó *et al.*, 1997 ; Migaud *et al.*, 2001a) et la perche jaune *Perca flavescens* (Dabrowski *et al.*, 1996 ; Ciereszko *et al.*, 1997b); les Moronidés comme le bar blanc, *Morone chrysops* (Kohler *et al.*, 1994), le bar d'Amérique, *Morone saxatilis* (Blythe *et al.*, 1994 ; Craig *et al.*, 1997), le bar hybride, *M. chrysops* x *M. saxatilis* (Tate et Helfrich., 1998) et le doré jaune, *Stizostedion vitreum* (Malison *et al.*, 1998); les Serranidés comme le bar, *Dicentrarchus labrax* (Carrillo *et al.*, 1989, 1993, 1995 ; Barnabé et Paris, 1984 ; Devauchelle, 1984) ; et les Sparidés comme la daurade royale, *Sparus aurata* (Devauchelle, 1984 ; Kissil *et al.*, 2000). Chez la perche jaune, le développement des gonades chez la femelle, estimé par l'indice gonadosomatique (IGS), serait initié par une diminution de la température plutôt qu'un abaissement de la photophase. En effet, aucune différence n'a été mise en évidence entre les IGS calculés à partir de poissons soumis à des conditions naturelles de température et de photopériode et d'autres soumis à une température naturelle et une photopériode modifiée (Dabrowski *et al.*, 1996). Ces mêmes auteurs ont également démontré, chez la perche jaune, qu'un régime thermique modifié et appliqué à des géniteurs femelles entraînait un retard du développement des gonades, de la taille des ovocytes, et l'ovulation n'était pas spontanée contrairement aux géniteurs exposés à une température naturelle. Blythe *et al.* (1994) expliquent cette taille plus faible des ovocytes, suite à un cycle photo-thermal compressé, par le fait que les premières phases du cycle reproducteur durant lesquelles la croissance ovocytaire et la spermatogenèse se produisaient étaient écourtées.

Chez la perche commune, après la période de repos sexuel de mai à août, l'ovogenèse et le développement des gonades débutent en septembre quand la température de l'eau et la longueur du jour diminuent (Sulistyó *et al.*, 1997 ; Migaud *et al.*, 2001b). L'indice gonadosomatique (IGS) et le diamètre ovocytaire (DO) augmentent progressivement jusqu'à la période de ponte en avril ou ils atteignent 25 % et 850 µm, respectivement (**Figure 7**). Les ovocytes présentent un développement synchrone (Marza, 1938). La ponte intervient une fois par an, lorsque la température de l'eau et la durée du jour augmentent (Sulistyó *et al.*, 1997, 1998 ; Migaud *et al.*, 2001b). Le cycle de reproduction de la perche commune est caractérisé

par une période de vernalisation (période de développement de la gonade de 160 jours à moins de 10 °C au minimum). Celle-ci semble être très importante pour le bon déroulement de la vitellogénèse. La durée et l'intensité de cette période de froid influencent donc la reproduction pendant le réchauffement des eaux au printemps (Turner, 1919 ; Malservisi et Magnin, 1968 ; Hokanson, 1977 ; Thorpe, 1977a et b ; Jones, 1982 ; Gillet *et al.*, 1995). L'obtention de mâles spermiantes ne pose pas de problème majeur, alors que l'obtention de femelles prêtes à pondre est rapidement apparue plus délicate (Sulistyo, 1998). Par ailleurs, il a été montré que 20 % des femelles se reproduisent après 85 et 111 jours de vernalisation respectivement à 9-10 et 14-15°C, mais les œufs n'étaient pas fécondés. Par contre, après 113 jours de vernalisation à 6-7°C, 50 % des femelles pondent et le taux d'éclosion avoisine les 20 % (Abi-ayad, 1997). Plus récemment, nous avons montré que la période de maintien au froid des géniteurs (6-8°C) doit être longue (Migaud *et al.*, 2001a). En effet, une période de 5 mois permet d'obtenir des femelles présentant un développement de la masse ovarienne similaire à celui observé chez des géniteurs du milieu naturel prélevés en fin de période hivernale (IGS = 20-24 %, diamètre ovocytaire = 800 µm), ce qui n'est pas le cas avec seulement 3 mois de maintien au froid (Sulistyo *et al.*, 1997). Après une phase de réchauffement de 2 semaines (de 6 à 14°C), des pontes (fécondité absolue de 30-50000 œufs / femelle) ont été récoltées. Ces différents travaux montrent qu'il est possible d'obtenir des œufs en dehors de la période naturelle de reproduction à partir de géniteurs préalablement élevés dans des conditions constantes de température (20-22°C) et de photopériode (12h L : 12h O) ; ceci en soumettant les géniteurs à des variations uniquement thermiques (phases de refroidissement, de maintien au froid et de réchauffement). Chez la perche commune, comme chez la plupart des espèces se reproduisant au printemps ou en été (Goubier et Souchon, 1986), la photopériode ne serait donc pas le facteur principal dans le contrôle du développement ovocytaire et la maturation (Sulistyo, 1998 ; Sulistyo *et al.*, 1998), mais plutôt la température. Peu de travaux existent sur l'influence de ces deux facteurs environnementaux sur les différentes phases du cycle de reproduction chez la perche commune. Des conditions environnementales adéquates sont primordiales durant la phase de croissance et la vitellogénèse chez la perche (Dabrowski *et al.*, 1996) et une connaissance parfaite de l'importance relative des différents facteurs environnementaux durant les principales étapes du cycle de reproduction est donc nécessaire afin de maîtriser la reproduction hors-saison et ainsi l'élevage intensif chez cette espèce.

Comme cela a été vu pour les Cypriniformes et Salmoniformes, les croissances et décroissances saisonnières de la durée du jour peuvent être remplacées par des photophases de substitution ou une combinaison de photophases de durée constante. Cela a été montré chez le

tambour rouge, *Sciaenops ocellatus* et d'autres espèces de Sciaenidés (Arnol, 1988 ; Mc Carty *et al.*, 1990 ; Thomas et Holt, 1995). Parmi les Perciformes marins, des études sur le contrôle photopériodique de la reproduction chez le bar ont montré que la gamétogenèse de cette espèce serait essentiellement contrôlée par la photopériode alors que la ponte le serait par la température (Devauchelle, 1984 ; Mananos *et al.*, 1997). Ceci semble être en contradiction avec les travaux de Zanuy *et al.* (1995), si on ne considère pas les mécanismes d'une façon globale et ne tient pas compte des phénomènes d'interactions. Ils ont montré que des régimes de photopériode constante avec des jours courts ou longs provoquaient des pontes précoces ou retardées, respectivement, par rapport aux témoins en photopériode naturelle. L'exposition des poissons à des jours longs (15L : 9O) pendant 1 mois au milieu d'un régime photopériodique constant de jours courts (9L : 15O) accélérerait également la maturation des poissons et donc augmenterait le taux d'ovocytes arrivés en fin de vitellogenèse exogène (Girin et Devauchelle, 1978 ; Carrillo *et al.*, 1989 ; Zanuy *et al.*, 1995). Par opposition, des jours longs constants retarderaient la maturation et la ponte de 3-4 mois. Chez la daurade, il semblerait au contraire que de fortes variations de la photopériode ne soient pas indispensables pour induire la maturation des gonades ou l'oviposition (Devauchelle, 1984) et que le facteur température serait donc primordial. Mais, des études récentes ont montré que les pontes pouvaient être décalées en exposant les poissons à des jours longs (Kissil *et al.*, 2000). Chez le «black-bass», *Micropterus salmoides*, la ponte peut être induite en captivité en modifiant uniquement la température de l'eau d'élevage. Les poissons sont maintenus pendant 5 mois à 5°C puis la température de l'eau est progressivement amenée à 20°C en 7 jours et la ponte a lieu 15 jours plus tard (Carlson, 1973).

L'ordre des Perciformes regroupe donc un grand nombre de poissons d'eau douce dont le contrôle environnemental de la reproduction serait majoritairement assuré par les variations de la température.

Mais, l'état des connaissances est encore limité, comparé aux Salmonidés, et doit donc faire l'objet d'études plus approfondies essentiellement sur l'influence de la photopériode et des interactions entre ces deux facteurs. En ce qui concerne les espèces marines, la photopériode semble être primordiale dans le contrôle des cycles de reproduction. Cette différence entre espèces marines et d'eau douce est probablement en relation avec les variations thermiques différentes de ces deux habitats, qui sont beaucoup plus marquées dans les eaux continentales.

1.1.2.2. Les autres facteurs environnementaux

D'autres facteurs de l'environnement influencent le cycle sexuel et la reproduction chez les poissons. Les facteurs sociaux en font partie, par exemple une densité trop élevée de géniteurs dans le milieu naturel va réduire la fécondité des femelles. Chez de nombreuses espèces tropicales, la ponte est souvent induite par les pluies (Paiva et Nepomuceno, 1989 ; Mutambue, 1996) ou par la période sèche (Harikumar *et al.*, 1994) et chez d'autres, c'est la disponibilité en substrats qui est indispensable pour le bon déroulement de la reproduction en milieu naturel (Carlson et Hale, 1972 ; Jara *et al.*, 1995 ; Contreras-Macbeath et Espinoza, 1996). Quelques travaux abordent également l'influence de la salinité sur la reproduction des poissons (Zanuy et Carrillo, 1984 ; Tamaru *et al.*, 1994 ; Magwood *et al.*, 1999).

1.1.2.3. Rythmes et horloges biologiques endogènes

La capacité de certains poissons à continuer de pondre annuellement aux mêmes intervalles bien qu'étant soumis à des conditions de lumière, de température et de nourriture constantes suggère l'existence de mécanismes endogènes permettant d'assurer des rythmes biologiques (Whitehead *et al.*, 1978 ; Sundararaj *et al.*, 1982 ; Bromage et Duston, 1986), décrits comme des rythmes circannuels (Gwinner, 1986). Parmi les premières études sur le sujet, seul Sundararaj et Vasal (1976) et Sundararaj *et al.* (1982) ont montré, chez le poisson chat africain (*Heteropneustes fossilis*), un rythme circannuel, comme cela a déjà été montré chez d'autres poissons Téléostéens (Baggerman, 1980). D'après Bromage *et al.* (2001), la démonstration d'un tel rythme circannuel est conditionnée par plusieurs critères : tout d'abord, le rythme doit être étudié sur plus d'un cycle de reproduction et sous des conditions environnementales constantes. Ce rythme doit se dérouler avec une périodicité proche, bien que différente, d'une année. De plus, il doit être sous l'influence de facteurs environnementaux, mais pas uniquement des variations de la température. Enfin, le rythme doit varier en fonction de la photopériode. De nombreuses études chez les poissons ne satisfont pas à tous ces critères, généralement car elles ne considèrent qu'un seul cycle de reproduction ou bien que les conditions n'ont pas pu être maintenues à des niveaux constants pendant toute la durée des expériences (Bromage et Duston, 1986). Un suivi des pontes chez des géniteurs de truite maintenus dans des conditions constantes a été réalisé sur une période de 5 ans (Duston et Bromage, 1986). Des poissons maintenus sous des conditions de photopériode constantes 6L : 18O ont présenté des maturations des gonades et des pontes

suivant des rythmes circannuels, dont la périodicité variait selon les poissons et selon les cycles successifs de 11 à 15 mois. Sous des conditions de photopériode de 18L : 6O ou de photophase constante, la périodicité du rythme était beaucoup plus courte (Bromage *et al.*, 1984). Des cycles circannuels similaires ont été observés chez le barbeau fluviatile, maintenu sous des conditions constantes de 8L : 16O (Poncin, 1991), et le bar sous des conditions constantes d'éclairage de 15L : 9O et 9L : 15O (Carrillo *et al.*, 1993 ; Prat *et al.*, 1999). Récemment, Randall *et al.* (1999) ont confirmé que ces rythmes circannuels étaient endogènes. Ils ont décrit les courbes de réponses saisonnières du moment de ponte chez la truite après l'exposition de celle-ci à des durées du jour longues ou courtes à des intervalles d'un mois au cours de l'année. Un modèle de réponse a été suggéré par Duston et Bromage (1991). Il est bâti sur des données provenant de plusieurs populations expérimentales alors que celles de Randall *et al.* (1999) ne provenaient que d'une seule expérience. Ces mécanismes endogènes à l'origine de la synchronisation de la reproduction chez les poissons permettraient de comprendre comment des régimes de photopériode modifiée ou constante exercent leurs effets :

- pourquoi l'histoire photopériodique et les changements de la durée du jour sont importants
- pourquoi la même photopériode peut induire des effets différents si les poissons y sont soumis à différentes périodes de l'année (Bromage *et al.*, 2001).

1.1.3. La perception des stimuli environnementaux

Les poissons sont en relation directe avec leur environnement et leurs activités (migration, mouvement, alimentation, reproduction, ...) et dépendent des différents stimuli perçus. La réponse à un stimulus peut être immédiate ou peut entraîner des modifications à plus long terme. Par exemple, les modifications saisonnières de photopériode constituent un des principaux stimuli dans les schémas de reproduction. En outre, les poissons sont des organismes hétéothermes, c'est-à-dire que leur température interne varie avec la température du milieu. Les stimuli environnementaux peuvent être assimilés à une information que le poisson doit intégrer. Les poissons possèdent des systèmes de détection et de réception de signaux, ainsi que des systèmes efférents de transmission au Système Nerveux Central (SNC). Les stimuli environnementaux qui influencent la physiologie et le comportement des organismes aquatiques sont la lumière, la température, les modifications mécaniques, les

stimuli électriques et un ensemble de substances chimiques. (Bone *et al.*, 1995). Les mécanismes impliqués sont principalement la photoréception, la méchanoréception et la chemoréception, et quelques espèces sont également capables de détecter les stimuli électriques et magnétiques. Chez la plupart des vertébrés, la vision et l'odorat sont les sens les plus développés, mais les animaux aquatiques utilisent également d'autres sens, notamment chez les espèces nocturnes ou dans des milieux pauvres en lumière.

1.1.3.1. Caractéristiques de la lumière dans le milieu aquatique

Quand le flux lumineux traverse la surface de l'eau, il est absorbé différemment suivant la couleur spectrale, l'intensité lumineuse et les propriétés du milieu (Hawryshyn, 1997). Une partie de la lumière irradiante est réfléchi à la surface de l'eau ; pour la lumière pénétrante, le flux de photons décroît de manière exponentielle avec la profondeur (Aksnes et Giske, 1993 ; Jobling, 1995 ; Bone *et al.*, 1995). Cette absorption est d'autant plus forte que des molécules dispersantes sont présentes (matières organiques, solubles ou insolubles, bactéries, phytoplancton, macro - algues et plantes) et elle est importante pour les couleurs violette et bleu du spectre lumineux (Bone *et al.*, 1995 ; Losey *et al.*, 1999). En milieu dulçaquicole, la couleur dominante du spectre est soit le vert - jaune à 540 - 560 nm, soit le rouge (> 600 nm) en cas de présence d'acides humiques (Bone *et al.*, 1995). Dans ce type de milieu (marais, ruisseaux ou lacs), la quasi - totalité du flux de lumière est absorbée dès les 2 à 3 premiers mètres (Dabrowski et Jewson, 1984). De plus, le flux de photons qui atteint la surface de l'eau va varier suivant le moment de la journée et décroître de manière importante en fonction de la couverture nuageuse (Harden-Jones, 1956 ; Ali, 1959 ; Dabrowski et Jewson, 1984 ; Contor et Griffith, 1995 ; Valdimarsson *et al.*, 1997 ; Young 1999).

1.1.3.2. Les organes photosensibles chez les poissons Téléostéens

- La rétine

Structure de l'œil de poisson

Les yeux chez les poissons sont similaires à ceux de tous les vertébrés, l'homme inclus. La lumière passe tout d'abord à travers une cornée transparente beaucoup plus fine que celle des vertébrés terrestres car les propriétés de l'eau sont très proches de celles du liquide interne des yeux. En effet, la cornée des vertébrés terrestres doit corriger la convergence des rayons lumineux lors de son passage de l'air vers le liquide intra-oculaire (Helfman *et al.*, 1997).

Figure 8 : Représentation schématique d'un œil de poisson téléostéen en section transverse montrant les structures générales (Bone *et al.*, 1995).

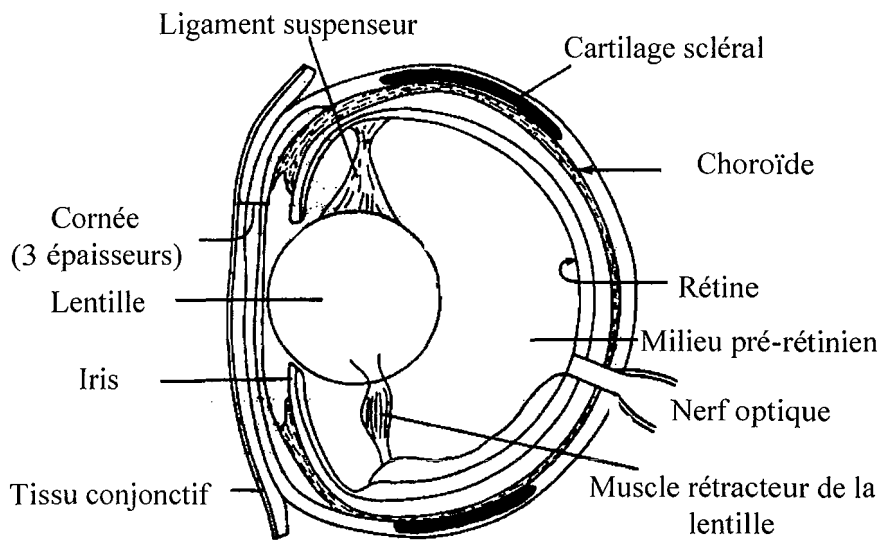
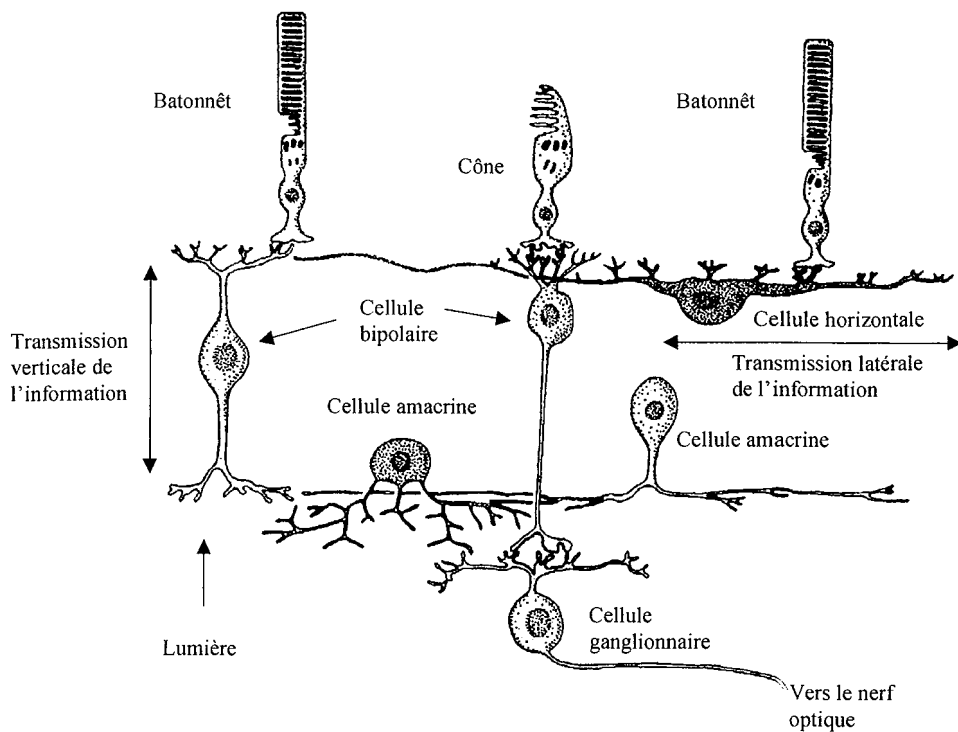


Figure 9 : Description de la structure rétinienne (Hawryshyn, 1997).



Puis, la lentille également transparente chez la plupart des espèces, assure la convergence de la lumière sur les tissus rétiniens et choroïdiens (**Figure 8** ; Bone *et al.*, 1995). La choroïde permet à la fois de nourrir la rétine et d'absorber ou de réfléchir les rayons lumineux vers la rétine. La rétine présente à la fois des cellules réceptrices et des éléments neuronaux (Ali, 1959 ; Engström et Ahlbert, 1963 ; Bone *et al.*, 1995). La photoréception se produit au niveau de la rétine munie de cinq catégories de neurones: les photorécepteurs sous la forme de bâtonnets et de cônes, les cellules bipolaires, les cellules horizontales, les cellules amacrines et les cellules ganglionnaires (**Figure 9**), toutes reliées entre elles par un réseau de synapses. Ainsi, la lumière doit passer à travers la pupille et la lentille puis les nerfs optiques, les cellules bipolaires et ganglionnaires avant d'être absorbée par les photorécepteurs.

Sensibilité à la photopériode

Comme chez les autres vertébrés, la rétine des poissons comprend deux types de cellules sensorielles, les bâtonnets et les cônes. Les bâtonnets sont plutôt sensibles aux faibles intensités lumineuses c'est pourquoi la rétine des poissons crépusculaires (actifs à l'aube et au crépuscule) présente un plus grand nombre de bâtonnets que de cônes. Celle des poissons des grands fonds ou des poissons nocturnes ne contient que des bâtonnets (Bone *et al.*, 1995 ; Jobling, 1995). Quand l'intensité lumineuse est forte, la mélanine de la couche épithéliale protège les bâtonnets chez les Téléostéens et quand elle est faible, des mouvements mécaniques de la mélanine permettent de changer la position de l'épithélium et des photorécepteurs permettant ainsi l'exposition des bâtonnets à la lumière (Bowmaker, 1990 ; Helfman *et al.*, 1997).

Deux types principaux de pigments ont été mis en évidence chez les poissons Téléostéens: la rhodopsine dont le maximum d'absorption est dans le vert (500 nm) et la porphyropsine qui a une absorption maximale dans le spectre 520-525 nm, mais qui couvre une gamme étendue de longueur d'onde, allant du bleu jusqu'à 540 nm. Lorsque le pigment absorbe le photon, sa structure se modifie et entraîne des réponses électrochimiques dans la cellule. La réponse de la cellule dépend du nombre de photons mais en aucun cas de la longueur d'onde émise. Chaque pigment absorbe la lumière de différentes longueurs d'onde du domaine visible et du spectre ultra-violet mais chacune a un maximum d'absorption spécifique.

Les réponses rétinomotrices désignent les modifications du pigment épithélial rétinien (PER) permettant l'adaptation aux différentes conditions d'éclairement et donc à la

photopériode (Ali, 1971). Les mouvements du PER s'accompagnent de variations de la longueur des cônes et des bâtonnets, qui se font de manière journalière (Dearry et Barlow, 1987). Ainsi, la longueur des cônes présente un pic à minuit (élongation) et un minimum en plein jour (contraction). Le rythme de variation de la longueur des bâtonnets est inverse. Seul le rythme des cônes est d'origine endogène car il se conserve en conditions arhythmiques (obscurité totale, Dearry et Barlow, 1987).

- La glande pinéale

La glande pinéale chez les poissons Téléostéens est un organe photosensible qui contient des cellules photoréceptrices similaires à celles de la rétine (Dodt 1963). C'est une glande endocrine (Collin 1969) et elle transmet les signaux photopériodiques au cerveau par l'intermédiaire de neurones et grâce à la libération d'indoléamines (principalement la mélatonine) dans la circulation sanguine. Les cellules photoréceptrices traduisent les changements d'illumination ambiante en modulant la libération des neurotransmetteurs qui agissent sur des neurones secondaires innervant différents centres nerveux, et en modulant la synthèse des indoléamines. La mélatonine est donc produite de façon rythmique et sa synthèse peut être régulée soit directement par les conditions de photopériode ambiante, soit par un oscillateur circadien endogène qui est stimulé par la photopériode. La glande pinéale est une composante du système nerveux central qui constituerait un système de réponse aux variations photopériodiques chez l'animal, c'est-à-dire le système responsable de la synchronisation journalière et saisonnière des rythmes physiologiques. La glande pinéale doit être considérée comme une partie du système qui interagit avec d'autres structures photosensibles, comme la rétine ou des photorécepteurs extra-rétiniens et non-pinéaux, et des générateurs de rythmes circadiens.

Mise en évidence et structure de la glande pinéale

Elle se forme, tout comme la rétine, par évagination du cerveau antérieur embryonnaire primaire (diencephalon). Bien qu'il ait été conclu, dès le début du 20^{ème} siècle, que la glande pinéale chez les poissons Téléostéens est un organe photosensible, la première preuve directe de sa photosensibilité a été obtenue chez la truite arc-en-ciel par Dodt (1963). Puis, des études en microscopie électronique et des études neurophysiologiques ont permis de comprendre que la glande pinéale s'est transformée, au fil de l'évolution des vertébrés, en une glande endocrine à partir d'un organe photosensible (Collin, 1969 ; Collin et Okshe, 1981 ; Meissl et

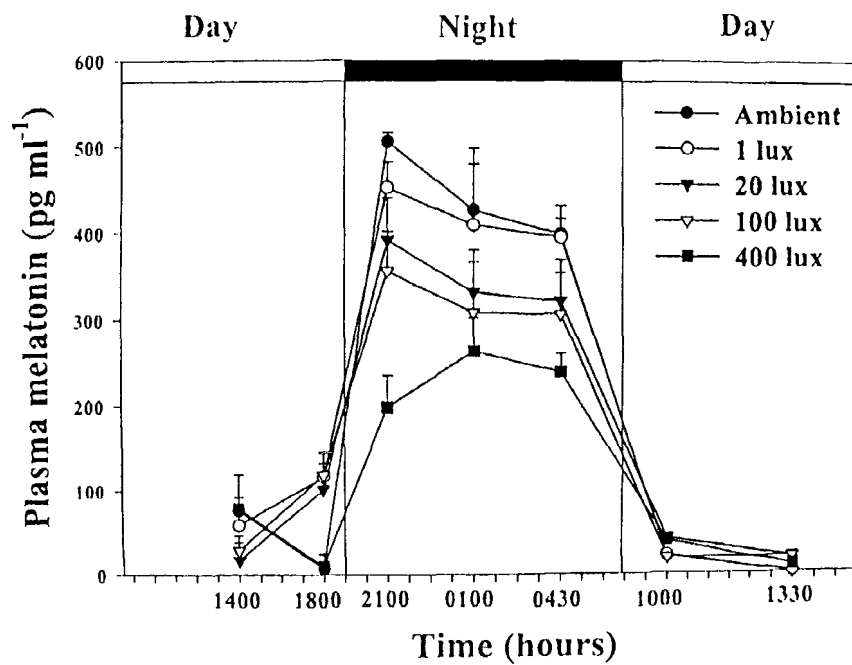
Dodt, 1981). Chez les mammifères, la glande pinéale synthétise de la mélatonine indirectement contrôlée par les cycles journaliers de jour et de nuit (Axelrod, 1974). De plus, il a été montré chez le hamster que l'administration de mélatonine mimait l'effet de jours courts sur le système de reproduction. Ainsi, la mélatonine constituerait le principal médiateur dans le contrôle photopériodique des cycles de reproduction annuels (Reiter, 1991).

L'épithélium de la glande pinéale présente différentes structures comme des cellules photoréceptrices, des neurones et des cellules intersticielles épendymeuses. On distingue deux parties principales, le pôle apical et le pôle basal. Les cellules basales sont responsables de la photoréception alors que les cellules apicales permettent la transduction du signal au contact des élongations synaptiques (Ekstöm et Meissl, 1997). Ces cellules photoréceptrices répondent aux variations de la photopériode par des changements morphologiques qui refléteraient les variations de la synthèse en protéines. Chez la truite arc-en-ciel, les volumes nucléaires et nucléolaires des cellules photoréceptrices sont plus importants après une longue exposition à une obscurité continue comparée à un cycle avec alternance jour - nuit ou lumière constante (Hafeez *et al.*, 1978). Il a été montré, grâce à des techniques immunochimiques, que les photorécepteurs contenaient des protéines impliquées dans la cascade phototransductrice permettant ainsi de transmettre l'information vers les différents organes cibles. Au niveau des protéines membranaires, les cellules photoréceptrices présentent des opsines qui sont impliquées dans la transduction du signal photopériodique et une sous-unité α de la protéine G transductrice (Ekström et Meissl, 1997). Des études ont été menées pour identifier les différents types de photorécepteurs de la glande pinéale grâce à l'utilisation d'anticorps directement dirigés contre une protéine spécifique. Par exemple, chez le saumon argenté (*Oncorhynchus kisutch*) l'antisérum dirigé contre l'antigène S (ou arrestine), c'est-à-dire une protéine qui se lie à la rhodopsine pour la photo-exciter et la phosphoryler, marque généralement tout le cytoplasme de toutes les cellules photoréceptrices (Ekstöm et Meissl, 1997).

Rôle de la glande pinéale et des cellules photoréceptrices

L'absence de stimulation lumineuse induit sur les cellules photoréceptrices une dépolarisation de la membrane. Une forte lumière induit au contraire une hyperpolarisation de la membrane. Comme pour la rétine, on observe une variabilité des spectres d'absorption en fonction de l'âge du poisson et des conditions de lumière dans lesquelles ils évoluent (Bowmaker, 1990). La transmission de l'information se fait par couplage électrique des

Figure 10 : Variations plasmatiques nycthémérales de mélatonine chez le saumon Atlantique en conditions naturelles de photopériode et sous différentes intensités lumineuses (1, 20, 100 et 400 lux). D'après Porter *et al.*, 1999, 2001.



cellules photoréceptrices (jonctions GAP) et par couplage hormonal grâce à un neurotransmetteur (glutamate ou aspartate, Ekström et Meissl, 1997).

La mélatonine est synthétisée à partir du L-tryptophane, un acide aminé indispensable. Cette synthèse est en relation avec la phototransduction du signal par l'AMP cyclique et le Ca^{2+} (Takahashi, 1996). Elle est également synthétisée au niveau de la rétine (Gern et Ralph, 1979). La sérotonine sécrétée par la glande pinéale montre également un rythme diurne similaire avec des teneurs plus importantes pendant la scotophase chez le brochet (Falcon *et al.*, 1986), pendant la transition obscurité - lumière chez l'anguille (Van Veen *et al.*, 1982) avec de plus fortes valeurs en obscurité continue plutôt qu'en lumière continue chez le carassin doré (Mc Nulty, 1982a et b). Chez le saumon Atlantique comme chez toutes les espèces de Salmonidés étudiées, le profil plasmatique en mélatonine varie durant le nyctémère avec de plus fortes teneurs plasmatiques pendant la nuit et durant l'année selon la durée de la scotophase et l'intensité lumineuse (Falcon *et al.*, 1989 ; Randall *et al.*, 1995a ; Porter *et al.*, 1999 ; Porter *et al.*, 2001, **Figure 10**). Ainsi, en fonction de la période de l'année ou de la photopériode expérimentale, des taux plasmatiques en mélatonine élevés reflètent précisément la longueur de la période d'obscurité (Alvarino *et al.*, 1993 ; Bromage *et al.*, 1995 ; Randall *et al.*, 1995a). Aucune preuve n'existe quant à un rythme endogène de synthèse de mélatonine chez les Salmonidés, la glande pinéale ne contiendrait donc pas d'oscillateur circadien (Randall *et al.*, 1991 ; Bégay *et al.*, 1992). Mais, chez de nombreuses autres espèces de poissons, un rythme endogène a été mis en évidence grâce à des études *in vitro* (Ekström et Meissl, 1997 ; Kezuka *et al.*, 1989a ; Bromage *et al.*, 2001). Sur les 30 espèces citées dans les synthèses d'Ekström et Meissl (1997) et Iigo *et al.* (1997), seulement 4, appartenant toutes aux Salmonidés, n'ont pas montré de rythmicité. Chez le brochet, par exemple, un rythme infradien (7 jours) de sécrétion de mélatonine est évoqué (Cornélissen *et al.*, 1995).

Plusieurs travaux ont été réalisés pour analyser le rôle de la glande pinéale sur le contrôle photopériodique de la reproduction. Les rôles de la glande pinéale et de la mélatonine dans le schéma de reproduction sont souvent testés grâce à des pinéalectomies et/ou des injections de mélatonine (Delahunty *et al.*, 1980) sous différents régimes photothermopériodiques (naturel ou artificiel) et à des stades spécifiques du cycle de développement. Les résultats varient suivant la saison, le stade de développement et le sexe. Une sensibilité différente à la pinéalectomie ou à l'administration de mélatonine aux mêmes stades de développement, chez différentes espèces, a été observée. En fait, au moins trois questions sont à l'origine de ces analyses sur le rôle de la glande pinéale dans le contrôle de la

reproduction : tout d'abord, la glande pinéale est-elle indispensable à la réponse suite à un signal photopériodique ? Si c'est le cas, quel signal (mélatonine ou signaux neuronaux) permet de transmettre l'information aux organes cibles ? Dans le cas inverse, est-ce que les signaux provenant de la glande pinéale permettent de modifier la réponse à une stimulation photopériodique et comment ? Et enfin, quels sont ces organes cibles ?

La pinéalectomie semble affecter la reproduction, surtout au niveau de la maturation des gonades ce qui pourrait affecter la ponte (Kezuka *et al.*, 1989b ; Popek *et al.*, 1992, 1994 ; Bromage *et al.*, 1995 ; Randall *et al.*, 1995b). Chez le poisson rouge par exemple, la pinéalectomie entraîne une libération préovulatoire de GtH et une ovulation à la mauvaise phase du cycle de jour - nuit (Kezuka *et al.*, 1989b). Chez la carpe, au contraire, cela n'affecte ni le taux ni le rythme circadien de gonadotropine plasmatique (Popek *et al.*, 1994). En ce qui concerne l'administration de mélatonine, d'après des travaux chez des femelles de poisson-chat, *Heteropneustes fossilis*, elle exercerait un effet inhibiteur sur la sécrétion de gonadotropine pendant les périodes préparatoires, de pré-ponte et de ponte (Sundararaj et Keshavanah, 1976). Chez le saumon Atlantique et la truite arc-en-ciel, la mise en place d'implants, sécrétant constamment de la mélatonine, n'affecte pas la ponte, alors qu'une pinéalectomie affecte le rythme de ponte. Ceci met donc en évidence l'importance des variations cycliques en mélatonine caractérisée par de faibles teneurs durant la journée (Bromage *et al.*, 1995 ; Randall *et al.*, 1995b). Ces deux signaux (neuronaux et hormonaux) doivent donc agir ensembles pour obtenir une réponse appropriée.

Comme l'a mentionné Sumpter (1990), le rôle de la photopériode sur les cycles de reproduction doit être clairement établi avant d'approfondir le rôle des organes photosensibles sur le contrôle de l'élevage chez les poissons.

1.1.4. Transduction des stimuli environnementaux à l'axe reproducteur

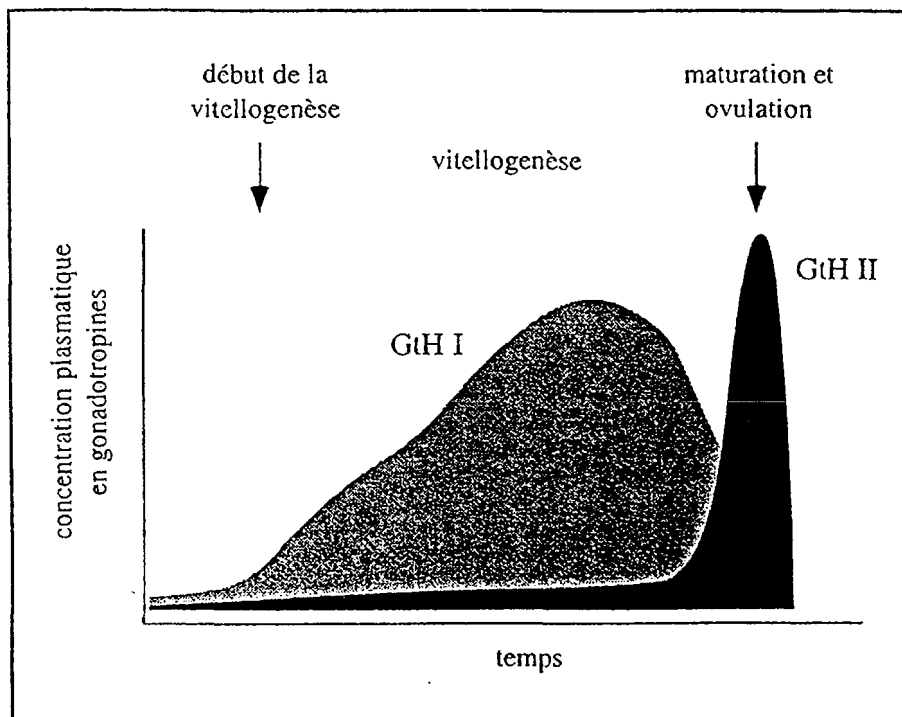
1.1.4.1. Rôle du système nerveux dans les cycles de reproduction

- Les hormones gonadotropes hypophysaires (GtH-I et GtH-II)

Mise en évidence

Jusqu'à la fin des années 1980, des chercheurs pensaient que les poissons ne produisaient qu'une seule gonadotropine, contrairement aux vertébrés supérieurs. Mais en 1988, deux GtH différentes furent formellement identifiées (GtH-I et GtH-II) et elles

Figure 11 : Evolution des gonadotropines hypophysaires (GtH-I et GtH-II) au cours du cycle reproducteur chez les salmonidés. D'après Jobling, 1995.



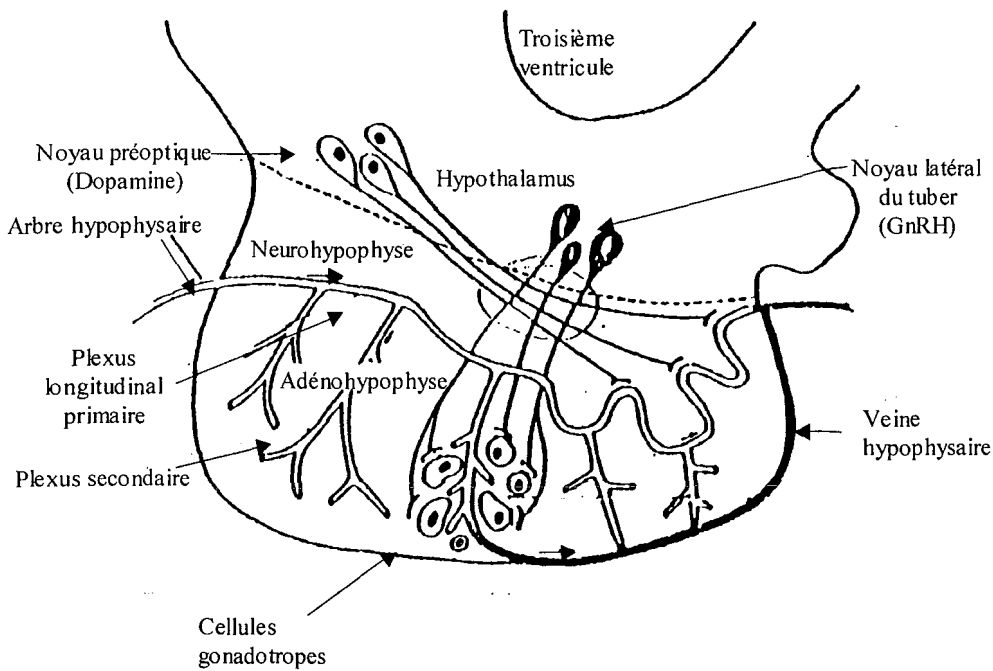
coexistent chez la plupart des Téléostéens, comme cela a été décrit chez les saumons (Suzuki *et al.*, 1988 ; Swanson, 1991). GtH-I et GtH-II s'apparentent respectivement à la FSH (hormone folliculaire stéroïdienne) et à la LH (Hormone Luteinisante) des tétrapodes (Kawauchi *et al.*, 1989 ; Schultz *et al.*, 1995). Chez le saumon chum, *Oncorhynchus keta*, les deux formes de gonadotropines isolées sont constituées de deux sous-unités α et β , comme la LH et la FSH, α étant commune aux deux formes de GtH alors que β est spécifique à chacune d'entre elles (Suzuki *et al.*, 1988). Cependant, une seule forme de gonadotropine a été mise en évidence chez le poisson chat africain (Schulz *et al.*, 1995).

Rôles

La GtH-I serait principalement impliquée dans les étapes de la gamétogenèse des poissons, tout comme chez les autres vertébrés, alors que GtH-II stimulerait uniquement les étapes finales (Swanson, 1991 ; Van der Kraak et Wade, 1994 ; Jobling, 1995 ; **Figure 11**). Aucune donnée n'existe sur le contrôle neuroendocrinien de la GtH-I. Par contre, la GtH-II, qui stimule la stéroïdogénèse et l'ovulation (ou libération du sperme) a fait l'objet de nombreuses études et elle jouerait un rôle important en tant que régulateur de la fertilité (Peter *et al.*, 1991 ; Kah *et al.*, 1993). En fonction du sexe et du cycle de reproduction, les GtH stimulent la synthèse de différents stéroïdes comme la testostérone (T), la 11-kétotestostérone (11-KT), la 17 β -oestradiol (E₂) et des progestogènes (17 α -20 β dihydroprogestérone, Kime, 1993).

La synthèse de GtH-I augmente au moment du déclenchement de la vitellogénèse, se maintient durant cette phase et diminue avant la maturation finale de l'ovocyte (**Figure 11**). Par contre, la synthèse de GtH-II semble commencer à la fin de la vitellogénèse et devient plus importante que celle de GtH-I pendant la maturation de l'ovocyte et l'ovulation (Goetz, 1983 ; Peter *et al.*, 1991 ; Weil *et al.*, 1995). L'augmentation périovulatoire de la GtH-II est bien décrite chez le carassin doré (Peter et Yu, 1997). La GtH-II provoque la maturation ovocytaire en stimulant la synthèse par les cellules folliculaires de stéroïdes appelés MIS (stéroïde inducteur de la maturation, Nagahama *et al.*, 1995). Chez la truite arc-en-ciel immature, les taux de GtH-I restent inférieurs à 5 ng.mL⁻¹ et les teneurs en GtH-II sont proches de la limite de détection (0.2 à 0.5 ng.mL⁻¹, Slater *et al.*, 1994). Chez les femelles vitellogéniques, les taux de GtH-I sont relativement élevés (environ 5 ng.mL⁻¹) pendant la vitellogénèse endogène, puis augmentent durant la phase de vitellogénèse exogène (15 ng.mL⁻¹) pour ensuite diminuer jusqu'au niveau de base en fin de vitellogénèse (Prat *et al.*, 1996).

Figure 12 : Organisation de l'hypophyse chez les poissons.



Le sang pénètre par l'arbre hypophysaire, transite par le plexus longitudinal primaire puis passe dans l'adénohypophyse par voie du plexus secondaire. Il est alors recueilli par un réseau veineux superficiel et sort par la veine hypophysaire. Au niveau du plexus secondaire, des cellules, sous la stimulation d'hormones (GnRH) provenant des axones des cellules nerveuses du noyau latéral du tuber, libèrent de la gonadotropine dans le sang.

Les taux de GtH-II restent très faibles (inférieurs à 0.3 ng.mL^{-1}). En période périovulatoire, chez la truite arc-en-ciel, les taux de GtH-I chutent fortement quelques jours avant l'ovulation (**Figure 11**) puis présentent un pic au moment de l'ovulation (Prat *et al.*, 1996). Cette augmentation commence environ 10 jours avant l'ovulation et atteint ses plus hauts niveaux ($10\text{-}20 \text{ ng.mL}^{-1}$) juste avant ou à l'ovulation (Goetz, 1983). Les teneurs en GtH-II, très faibles au cours du cycle chez la truite arc-en-ciel (de 0.2 à 0.5 ng.mL^{-1}), augmentent en début de maturation pour atteindre un pic autour de $70\text{-}100 \text{ ng.mL}^{-1}$ (Prat *et al.*, 1996). La plupart des travaux effectués montre une augmentation significative de GtH-II dès la fin de la vitellogenèse jusqu'à l'ovulation, aussi bien chez la truite arc-en-ciel (Fostier *et al.*, 1978 ; Bromage *et al.*, 1982a ; Scott *et al.*, 1983) que chez la truite fario (Crim et Idler, 1978 ; Breton *et al.*, 1983a).

- Les facteurs Hypothalamiques

Malgré le peu de données existantes sur le contrôle neuroendocrinien de la libération de GtH-I, il semble que sa sécrétion soit régulée par un rétrocontrôle oestrogénique positif (Saligaut *et al.*, 1999).

Régulation de la Libération de GtH-II : Facteurs stimulants

• Les GnRHs

La sécrétion de gonadotropine II (GtH-II) par l'hypophyse est stimulée par la GnRH (gonadotropine releasing hormone) libérée par l'hypothalamus (noyau latéral du tuber ; **Figure 12**).

Chez les Salmonidés, deux formes moléculaires de GnRH ont été caractérisées : la GnRH de saumon (sGnRH), de formule Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Trp-Leu-Pro-Gly-NH₂ (Sherwood *et al.*, 1983) et la GnRH de poulet, pGlu-His-Trp-Ser-His-Gly-Trp-Tyr-Pro-Gly-NH₂ (cGnRH ; Sherwood *et al.*, 1986). La sGnRH est le neuropeptide le plus important intervenant dans la reproduction des poissons, il est très proche du GnRH des Mammifères (Breton *et al.*, 1972). Ces deux formes de GnRH mises en évidence chez les Salmonidés et chez d'autres espèces comme le poisson rouge, peuvent coexister au sein du cerveau d'une même espèce, mais leur localisation est différente (Okuzawa *et al.*, 1990 ; Kah *et al.*, 1993). La forme sGnRH est prépondérante chez les Salmonidés. La localisation des corps cellulaires contenant la sGnRH révélée par des méthodes immunocytochimiques, montre que ces corps cellulaires sont situés dans la partie centrale du bulbe olfactif, le télencéphale et l'aire pré-

optique (Amano *et al.*, 1991 ; Kim *et al.*, 1995). Chang *et al.* (1993) ont mis en évidence des différences majeures dans les mécanismes d'action des deux GnRH (GnRHs et GnRHc) pour stimuler la libération de GtH-II. Chez les poissons, les neurones à GnRH innervent directement la pars distalis de l'hypophyse où se trouvent les cellules sécrétrices des GtH, ce qui constitue, chez les vertébrés, une disposition unique du système hypothalamo-hypophysaire puisqu'il est dépourvu de vaisseaux portes. En résumé, les deux GnRH provoquent de la même façon la transformation de l'inositol phosphate, la production de diacylglycérol et l'activité de la protéine kinase C, mais leurs besoins, pour la transduction du signal, en calcium et en acide arachidonique diffèrent (Trudeau, 1997).

- Neuropeptide Y (NPY)

Des essais *in vitro* sur des fragments d'hypophyse ont montré que la cholecystokinine (CCK) stimulait la sécrétion de GtH-II, mais seulement sous sa forme sulfatée, CCK8s (Trudeau, 1997). Le neuropeptide Y (NPY) a été décelé chez le poisson rouge (Kah *et al.*, 1993) et dans le cerveau et l'hypophyse de la truite arc-en-ciel par Danger *et al.* (1991). Des expériences réalisées *in vitro* sur des fragments d'hypophyse de truite arc-en-ciel montrent que l'introduction de NPY dans le milieu de perfusion stimule la sécrétion de GtH par les cellules hypophysaires (Breton *et al.*, 1989). L'action stimulatrice du NPY sur la sécrétion de GtH s'exerce également sur des cellules isolées en culture primaire provenant de truites ayant ovulé peu avant le prélèvement de l'hypophyse. Elle s'exerce également *in vivo*, traduisant une possible action directe du NPY sur les cellules gonadotropes (Breton *et al.*, 1990, 1991).

Autres facteurs stimulants

La noradrénaline aurait également un effet stimulateur faible sur la libération de GtH-II via un mécanisme impliquant des récepteurs de type α -1. Des acides aminés, comme le N-méthyl-D,L-acide aspartique (NMDA), un agoniste du glutamate, stimuleraient la sécrétion de GtH-II chez le poisson rouge. La réponse gonadotrope au NMDA est généralement faible et n'est pas affectée par les stéroïdes sexuels, ce qui s'oppose à la majorité des données existant chez les mammifères où le glutamate est un stimulateur majeur de la sécrétion de GnRH et de LH (Brann, 1995 ; Trudeau, 1997).

L'acide gamma-aminobutyrique (GABA) régulerait également la sécrétion de GtH-II. Les neurones à GABA innervent directement l'hypophyse antérieure. Des injections intrapéritonéales de GABA, chez le poisson rouge, stimuleraient la libération de GtH-II ce qui

est en opposition avec la plupart des données recueillies sur les mammifères chez lesquels le GABA joue un rôle inhibiteur prédominant sur la sécrétion de LH (Kah *et al.*, 1992, 1993 ; Trudeau, 1997). Par exemple, chez le rat, les substances qui affectent les récepteurs à GABA entraînent à la fois une stimulation et une inhibition de la libération de LH *in vivo* et de GnRH *in vitro* (Favit *et al.*, 1993 ; Brown *et al.*, 1994). Cet effet stimulant du GABA observé chez le poisson rouge proviendrait à la fois d'une augmentation de la sécrétion de GnRH et d'une diminution de l'activité dopaminergique (Trudeau, 1993).

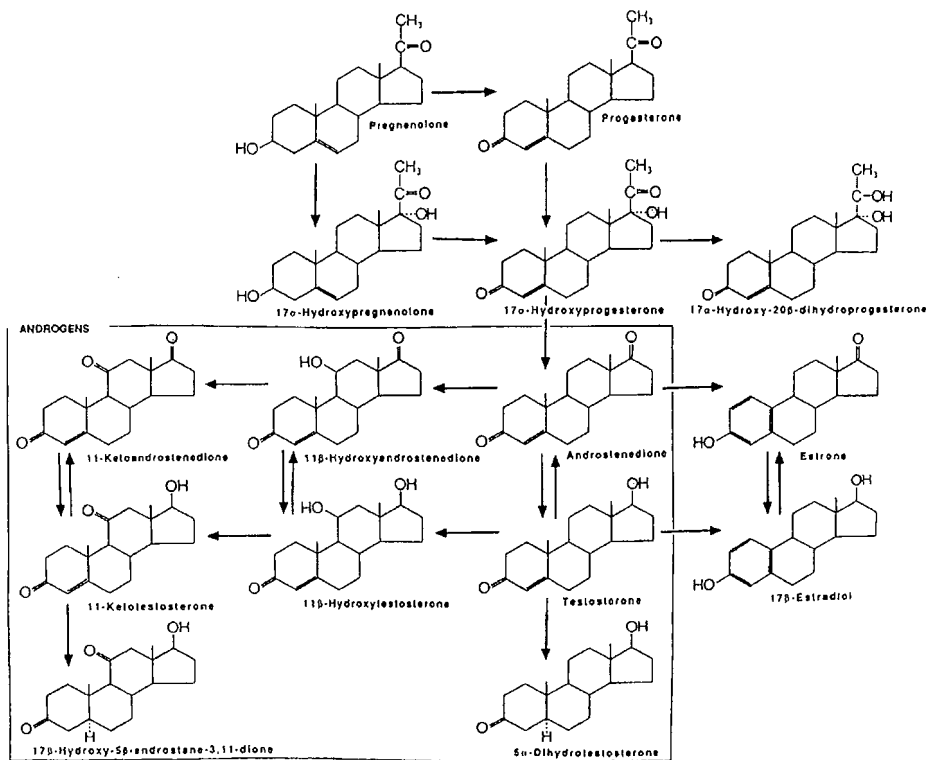
Les facteurs inhibiteurs : La dopamine

La dopamine est le seul inhibiteur neurohormonal mis en évidence à ce jour (Trudeau, 1997). C'est une amine biogène voisine de l'adrénaline et elle est contenue dans le noyau pré-optique de l'hypothalamus (Figure 8). La sécrétion de gonadotropines est sous le contrôle du système dopaminergique. L'hypophyse est innervée par des fibres nerveuses dopaminergiques provenant du cerveau. L'action dopaminergique peut être mise en évidence par l'utilisation de bloqueurs de la synthèse des catécholamines, tel le α -méthyl-p-tyrosine (α MPT) ou des antagonistes des récepteurs à la dopamine tel le pimozide. L'utilisation de ce dernier, en injection intrapéritonéale chez la truite arc-en-ciel, seule ou combinée à la LHRHa provoque une augmentation de GtH dans le plasma, mettant en évidence l'inhibition dopaminergique de la sécrétion de GtH par les cellules gonadotropes (Billard *et al.*, 1984). Cependant, une exception a été mise en évidence chez l'Atlantique croaker *Micropogonias undulatus* où aucune inhibition de la dopamine sur la sécrétion de GtH n'a été démontrée malgré des études approfondies (Copeland et Thomas, 1989).

Des études pharmacologiques approfondies, chez le poisson rouge, ont permis de montrer que la dopamine est libérée au niveau des terminaisons nerveuses dans l'hypophyse où elle active des récepteurs dopaminergiques (D2) sur les cellules gonadotropes pour limiter directement la sécrétion de GtH-II. Elle fait également décroître la fixation de GnRH sur les récepteurs au niveau de l'hypophyse (Trudeau, 1997).

Une stimulation de la sécrétion de GnRH au niveau de l'hypothalamus associée au blocage de l'effet inhibiteur dû à la dopamine (également libérée par l'hypothalamus) constitue un mécanisme neuroendocrinien important permettant la libération de GtH-II pré-ovulatoire et même l'ovulation chez de nombreuses espèces (Peter *et al.*, 1991; Peter et Yu, 1997).

Figure 13 : Résumé des principales voies de métabolisation des stéroïdes sexuels.



1.1.4.2. Les stéroïdes sexuels et leurs rôles sur les organes cibles

Des stéroïdes agissent sur des tissus cibles pour réguler la maturation des gamètes, coordonner la reproduction et contribuer au développement de caractères sexuels secondaires (Cyr et Eales, 1996). Scott et Canario (1987) ont montré que pendant la vitellogenèse, les ovaires produisent plus particulièrement des stéroïdes en C₁₈ et C₁₉ (androgènes et oestrogènes).

- Les différents types

On distingue 3 grands groupes de stéroïdes sexuels agissant sur le cycle de reproduction des poissons :

- les oestrogènes : oestradiol-17 β chez les femelles,
- les androgènes : principalement la testostérone et la 11-kétotestostérone (Borg, 1994),
- les progestagènes : la 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one souvent appelé 17,20 β -P et la 17 α , 20 β , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (20 β S)

Comme le précise Kime (1993), les stéroïdes sexuels classiquement dosés lors d'études concernant le contrôle hormonal de la reproduction chez les poissons ne sont pas forcément les plus importants. En effet, le dosage de ces stéroïdes nécessite que les antisérums soient disponibles, ce qui n'est pas le cas pour tous les stéroïdes sexuels (Kime, 1993).

Les teneurs les plus élevées se rencontrent chez les Salmonidés (de l'ordre de 100 ng.mL⁻¹) et les plus faibles chez les Perciformes (1 ng.mL⁻¹), les Cypriniformes présentant des teneurs intermédiaires (10 ng.mL⁻¹). Bien que cela puisse suggérer que d'autres stéroïdes soient présents et actifs, cela peut également indiquer que les récepteurs ou les protéines liantes (*binding*) soient différents chez les Téléostéens les plus évolués et que de faibles concentrations pourraient suffire pour être efficaces. Les principales voies de métabolisation des stéroïdes sexuels sont présentées en **figure 13**.

- Contrôle de l'ovogenèse et de la ponte chez les femelles

Chez les mammifères, le cycle de reproduction femelle est régulé par deux stéroïdes sexuels. L'œstradiol est sécrétée par les follicules pendant la phase de croissance folliculaire et la progestérone est produite par le corps jaune au moment de l'ovulation et agit sur l'endomètre utérin pour préparer la gestation (Ozon, 1972 ; Borg, 1994). Chez les

Figure 14 : Régulation de la vitellogénèse exogène chez les poissons téléostéens (Modifié d’après Yoshikuni et Nagahama, 1991).

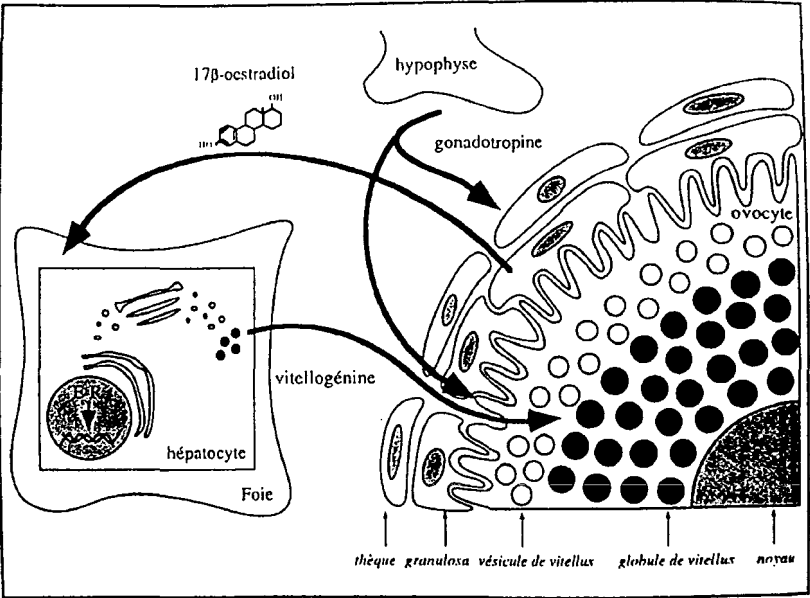
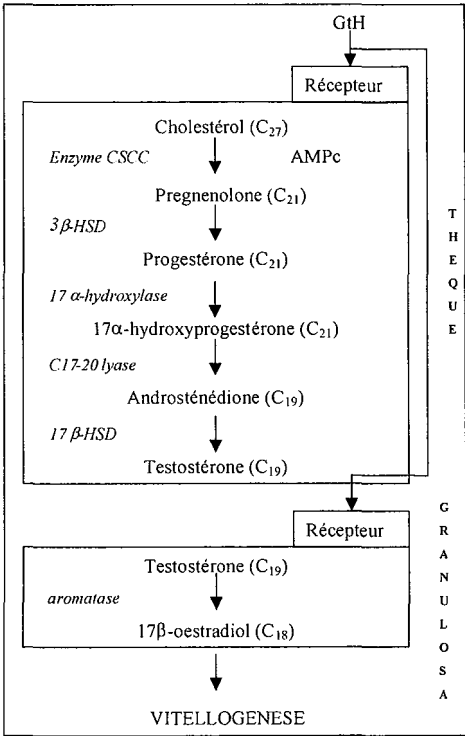


Figure 15 : Coopération cellulaire entre la thèque et la granulosa pour la synthèse de 17β-oestradiol chez les salmonidés (Modifié d’après Nagahama *et al.*, 1983).



Téléostéens, les deux stéroïdes sexuels principaux intervenant chez la femelle sont également l'œstradiol et la 17,20β-P, mais leurs rôles sont différents du fait de la prédominance de l'oviparité. D'autres stéroïdes sont également produits par l'ovaire, comme la testostérone appartenant au groupe des androgènes.

L'œstradiol (E₂)

- **Origine et lieu de synthèse**

L'œstradiol (E₂) est synthétisée au niveau des follicules ovariens dans les cellules de la granulosa à partir d'androgènes aromatisables, l'androsténédione et la testostérone, eux-même synthétisés dans les cellules de la thèque (Kagawa *et al.*, 1982, 1984 ; Young *et al.*, 1983, **Figures 13 et 14**). La synthèse d'E₂ s'effectue par aromatisation de la testostérone, réaction catalysée par une enzyme spécifique : l'aromatase (Kagawa *et al.*, 1982). Ainsi, sous stimulation gonadotrope, les cellules folliculaires des ovocytes produisent des oestrogènes (principalement de la 17β-oestradiol) qui sont libérés dans la circulation sanguine et acheminés jusqu'au foie par des protéines spécifiques ou par l'albumine (**Figures 14 et 15**). La 17β-oestradiol (E₂) stimule alors la synthèse de la vitellogénine (VTG) par les hépatocytes, une lipoglycophosphoprotéine (Wallace et Selman, 1981 ; Ng et Idler, 1983).

- **Rôle joué par l'œstradiol pendant la vitellogenèse**

L'E₂ agit sur le foie selon un schéma classique d'action des stéroïdes : après sa liaison avec un récepteur spécifique (cytoplasmique ou nucléaire), le complexe E₂-récepteur peut interagir avec la chromatine et moduler l'expression du gène de la vitellogénine, ce qui se traduit par une augmentation de la synthèse d'ARNm VTG et de VTG. La VTG ainsi produite au niveau du réticulum endoplasmique rugueux (RER) subit alors des modifications (lipidation, glycosilation, phosphorylation) au niveau de l'appareil de golgi, avant d'être excrétée via des cellules de sécrétion lisses au pôle apical de la cellule. La VTG, transportée par le sang, est ensuite, sous stimulation gonadotrope, incorporée dans les ovocytes par micropinocytose grâce à des récepteurs spécifiques se trouvant à la surface des ovocytes, puis clivée en protéines vitellines: la phosvitine et la lipovitelline qui sont stockées sous forme de globules vitellins (Scott *et al.*, 1983 ; Tyler, 1991 ; Kime, 1993, **Figure 14**).

La production de la 17β-oestradiol, chez les Salmonidés, se fait via l'interaction de deux couches cellulaires : la thèque et la granulosa. Selon ce modèle de coopération cellulaire, la

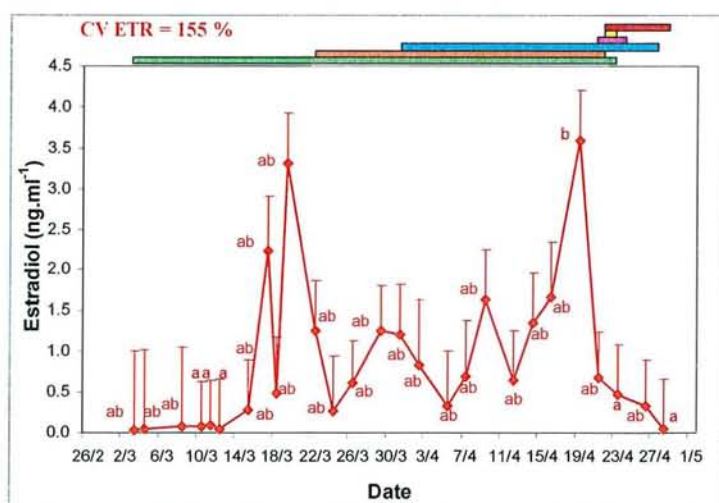
GtH-I, principale gonadotropine sécrétée durant la vitellogenèse, interagit avec des récepteurs spécifiques, situés sur les cellules de la thèque et de la granulosa pour activer l'adénylate cyclase et la formation d'AMPc. Ce dernier peut dès lors stimuler la synthèse de testostérone dans les cellules de la thèque. Cet androgène diffuse ensuite dans les cellules de la granulosa où il devient le substrat d'une aromatasé spécifique à cette couche cellulaire transformant la testostérone en 17 β -oestradiol (Kagawa *et al.*, 1982 ; Hyllner et Haux, 1995). Ce modèle de coopération cellulaire ne semble pas universel chez tous les Téléostéens. Chez le Medaka (*Fundulus heteroclitus*), par exemple, les cellules de la granulosa possèdent toutes les enzymes nécessaires pour produire à elles seules la 17 β -oestradiol (Petrino *et al.*, 1989).

• Variations des teneurs plasmatiques au cours du cycle reproducteur

Chez les femelles qui ne sont pas engagées dans un cycle de reproduction, les stéroïdes sexuels sont quasi inexistantes dans le plasma sanguin. C'est dès le début de la croissance des gonades, pendant les phases de vitellogenèse que les teneurs augmentent significativement. Ainsi, chez la truite arc-en-ciel par exemple, il existe une corrélation positive entre le niveau de développement des gonades mesuré grâce à l'indice gonado-somatique (IGS) et le taux plasmatique d'oestradiol. En règle générale, l'E₂ augmente rapidement dans le plasma, passant de niveaux de base faibles avoisinant les 0.2-1 ng.mL⁻¹ chez les Salmonidés à des maxima, avant la maturation et l'ovulation, de 5 à 31 ng.mL⁻¹ selon les auteurs et les espèces (Scott *et al.*, 1980). Les taux diminuent fortement ensuite juste avant la fraie. Chez le doré jaune, par exemple, l'augmentation d'E₂ est rapide et se déroule sur un mois (Malison *et al.*, 1994). Généralement, ces teneurs élevées observées chez les Salmonidés en fin de vitellogenèse chutent brutalement au moment de l'ovulation pour revenir aux niveaux de base inférieurs ou égaux à 2-3 ng.mL⁻¹ (Fostier *et al.*, 1978 ; Bromage *et al.*, 1982a ; Scott *et al.*, 1983 ; Scott *et al.*, 1990 ; Slater *et al.*, 1994). Le pic en fin de vitellogenèse précède l'ovulation d'environ 16 jours chez la truite arc-en-ciel (Scott *et al.*, 1983). Chez cette dernière, le taux minimum est atteint 15 jours après l'ovulation. Par contre, chez le doré jaune, les teneurs en E₂ commencent à décroître 6 mois avant la maturation finale des ovocytes (Malison *et al.*, 1994). Chez la perche commune, des teneurs plus élevées en E₂ et en phosphore protéique (dosage indirect de la vitellogénine) sont relevées, au cours de l'hiver, chez les femelles, puis au début du printemps, le taux plasmatique d'E₂ reste stable alors qu'une augmentation de phosphore protéique plasmatique est observée (Sulistyo, 1998). Ces fluctuations coïncident avec le développement des gonades.

2000-2001
BIBLIOTHÈQUE
UNIVERSITÉ DE
BORNEO
SARAWAK
KUCHING

Figure 16 : Variations des teneurs plasmatiques en oestradiol (E_2) chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevées en milieu naturel en période pré-ovulatoire. Les moyennes ajustées (+ erreur type) auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement ($p < 0.05$). Au dessus du graphique figurent les observations histologiques : stade 2 (vert), ovaires présentant des ovocytes vitellogéniques; stade 3 (orange), ovocytes en pré-maturation; stade 4 (bleu), ovocytes présentant une vésicule germinale périphérique (VG); stade 5 (violet), cassure de la vésicule germinale (GVBD); stade 6 (jaune), ovulation; stade 7 (rouge), oviposition (ovaire vide). D'après Migaud *et al.*, 2001b.



Bien souvent, un pic d'oestradiol est également mis en évidence en période pré-ovulatoire juste avant la ponte alors que la température et la photophase augmentent (Barry *et al.*, 1995 ; King *et al.*, 1994 ; Sulistyio *et al.*, 1997 ; Migaud *et al.*, 2001b, **Figure 16**). Cette augmentation de la synthèse en oestradiol pourrait être stimulée par des changements environnementaux ou des facteurs endogènes et entraînerait une reprise de la croissance des ovocytes (Sulistyio *et al.*, 1997). Selon Jackson et Sullivan (1995), ce pic serait le signal d'un feedback positif sur la synthèse de GtH par l'hypophyse. Ainsi, ce dernier serait le résultat d'une augmentation de GtH entraînant une élévation de testostérone en relation avec une forte activité du système aromatase (Mylonas *et al.*, 1997a), car comme cela a été vu précédemment, le cerveau contient des enzymes aromatiques capables de convertir la testostérone en oestradiol (Kime, 1993). Les Téléostéens, contrairement aux mammifères, sont caractérisés par une forte production de testostérone pendant les phases intermédiaires et finales du cycle de reproduction. Quand la teneur en E₂ chute, elle est remplacée par la testostérone qui jouerait un rôle dans le maintien de la viabilité des ovocytes une fois la vitellogenèse achevée et ceci jusqu'à la phase de maturation finale (Kime, 1993). Chez la perche commune, ces teneurs élevées en fin de cycle de reproduction pourraient être impliquées dans la synthèse de la gangue gélatineuse libérée en période pré-ovulatoire, constituant une spécificité de cette espèce (Migaud *et al.*, 2001b).

D'ailleurs, cette enveloppe gélatineuse pourrait être synthétisée par les cellules folliculaires des œufs, comme cela a déjà été montré chez une espèce de Cichlasoma par Busson-Mabillot (1977). Si de nombreuses études ont été réalisées chez différentes espèces d'amphibiens présentant cette caractéristique, le contrôle de la synthèse de cette gangue chez la perche n'a pas encore fait l'objet d'études approfondies et rares sont les autres espèces de poissons présentant un phénomène similaire.

Ces variations des niveaux en oestradiol ne sont pas observées chez tous les poissons et chez certaines espèces, généralement des pondeurs multiples, elles peuvent rester à des concentrations élevées au cours de la saison de ponte (Kagawa *et al.*, 1982 ; Kobayashi *et al.*, 1988 ; Prat *et al.*, 1990 ; Rinchard *et al.*, 1993).

Des études *in vivo* et *in vitro* ont montré qu'il existait une corrélation significative, chez la truite arc-en-ciel, entre les teneurs en E₂ qui diminuent, et les teneurs en GtH qui augmentent (Fostier *et al.*, 1978 ; Fostier et Jalabert, 1986 ; Slater *et al.*, 1994).

Figure 17 : Variations des teneurs plasmatiques en testostérone (T) chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevés en milieu naturel en période pré-ovulatoire. Les moyennes ajustées (+ erreur type) auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement ($p < 0.05$). Au dessus du graphique figurent les observations histologiques : stade 2 (vert), ovaires présentant des ovocytes vitellogéniques; stade 3 (orange), ovocytes en pré-maturation; stade 4 (bleu), ovocytes présentant une vésicule germinale périphérique (VG); stade 5 (violet), cassure de la vésicule germinale (GVBD); stade 6 (jaune), ovulation; stade 7 (rouge), oviposition (ovaire vide). D'après Migaud *et al.*, 2001b.

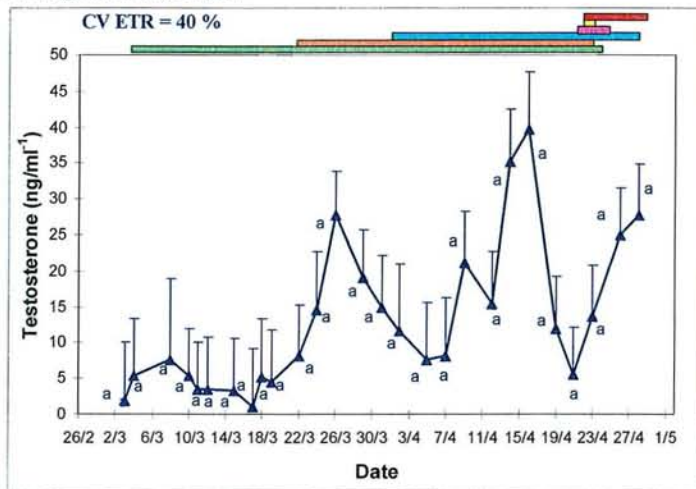
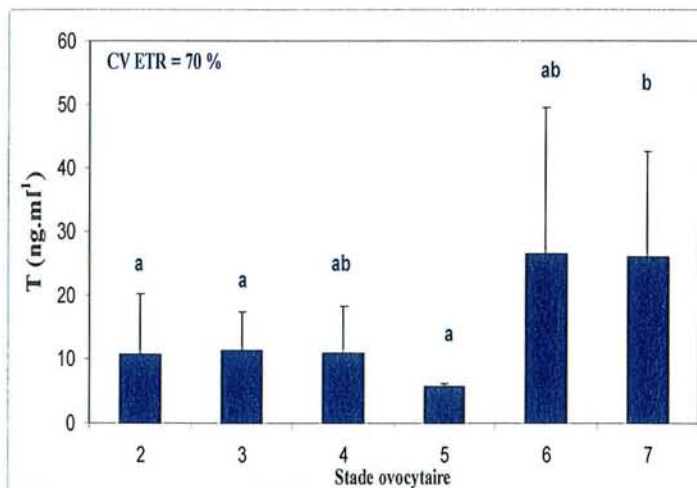


Figure 18 : Teneurs plasmatiques en testostérone chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevés en période pré-ovulatoire en milieu naturel, en fonction de leur stade histologique de développement. Les différents stades ovocytaires sont présentés en figure 17. D'après Migaud *et al.*, 2001b.



La testostérone (T)

Bien que les androgènes se définissent plutôt comme des hormones mâles, jouant un rôle masculinisant, ils sont également présents chez les femelles et peuvent avoir des actions autres qu'androgéniques au sens strict (Borg, 1994).

Le rôle de la testostérone sur la régulation des cycles de reproduction n'est pas très clair, excepté son rôle de précurseur dans la synthèse d'œstradiol. Généralement, la concentration en testostérone augmente avec celle de l'E₂ pour atteindre un pic unique juste avant l'ovulation, l'activité de l'aromatase à cette période étant réduite (Kagawa, *et al.*, 1982 ; Kobayashi *et al.*, 1989 ; Prat *et al.*, 1990 ; Rinchard *et al.*, 1993 ; Rinchard, 1996 ; Migaud *et al.*, 2001b). Chez la perche commune, (**Figure 17**), deux pics de concentration ont été observés en période pré-ovulatoire (le 26 mars et le 17 avril (Migaud *et al.*, 2001b)). Ce sont les femelles au stade de l'ovulation ou ayant tout juste pondu qui présenteraient les plus fortes teneurs (**Figure 18**). Chez le doré jaune (Malison *et al.*, 1994) ou le bar commun (Prat *et al.*, 1990), deux pics distincts sont également observés au cours du cycle reproducteur. Le premier correspondrait à la reprise de la vitellogenèse et à l'augmentation rapide en E₂ (Malison *et al.*, 1994). Le deuxième est une caractéristique commune à tous les Téléostéens (Rinchard, 1996) mais son rôle précis n'est pas clairement établi.

Quand les concentrations en E₂ chutent, c'est-à-dire quand les ovocytes ont atteint leur taille maximale, la testostérone augmente (Scott *et al.*, 1980 ; Manning et Kime, 1984).

Cette augmentation des teneurs en T a souvent été attribuée à un surplus de précurseur oestrogénique (pregnenolone par exemple) suite à l'interruption de l'activité aromatique alors que la stimulation gonadotrope persiste. Mais, T pourrait jouer un rôle essentiel de protection ou de maintien de la viabilité des ovocytes, une fois la vitellogenèse terminée, dans l'attente de la maturation ovocytaire finale (Kime, 1993). De plus, T pourrait également exercer un rétrocontrôle dans le système hypothalamo-hypophysaire qui contient des enzymes aromatasés capables de convertir la testostérone en œstradiol, et en particulier, amorcer l'axe hypothalamo-hypophysaire pour déclencher les ovulations (Trudeau *et al.*, 1991, Trudeau, 1997). Jalabert et Fostier (1984) ont montré que la testostérone stimulait les effets de l'hormone lutéinisante (LH) sur la synthèse de 17,20 β -P au niveau des follicules ovariens de truite.

Figure 19 : Régulation de la maturation ovocytaire finale (Modifié d'après Yoshikuni et Nagahama, 1991).

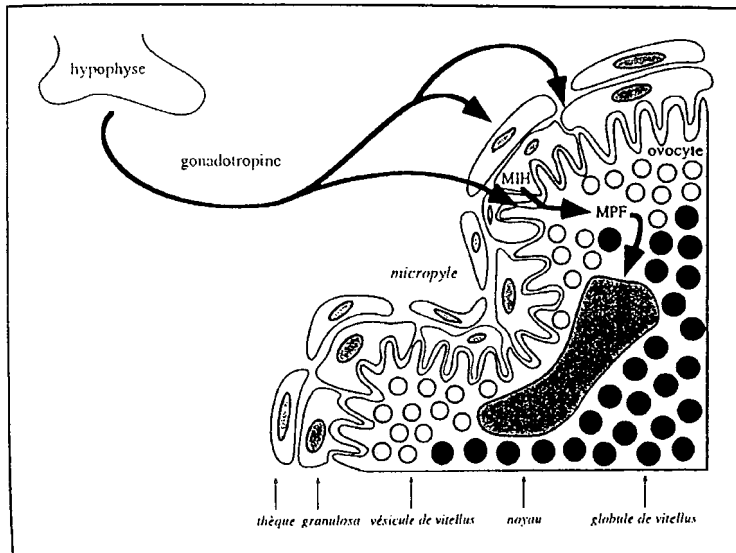
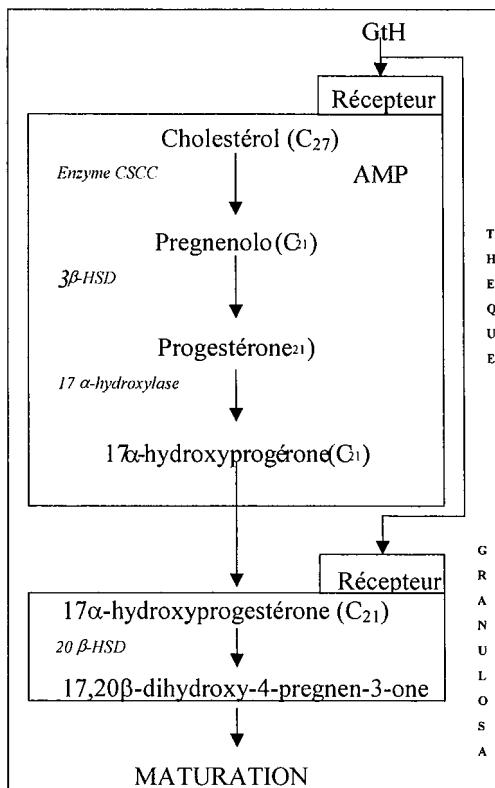


Figure 20 : Coopération cellulaire entre la thèque et la granulosa pour la synthèse du stéroïde inducteur de la maturation ovocytaire finale (MIS, modifié d'après Nagahama, 1983).



La 17 α -20 β -P et autres stéroïdes inducteurs de la maturation ovocytaire finale

• **Origine et lieu de synthèse**

La gonadotropine maturationnelle (GtH-II), sécrétée uniquement lors de la maturation ovocytaire, agit sur les récepteurs à GtH-II situés sur les cellules de la thèque et active l'adénylate cyclase et la formation d'AMPc (**Figures 19 et 20**). Celui-ci participe à la formation d'une ou plusieurs protéines labiles nécessaires à la libération du cholestérol par le cytochrome P450 mitochondrial. Le cholestérol ainsi libéré sera utilisé pour former la 17 α -hydroxyprogestérone (17 α P, **Figure 20**). Au niveau de la granulosa, la GtH-II, via des récepteurs spécifiques, active la synthèse de la 20 β -hydroxystéroïde déhydrogénase (20 β -HSD), enzyme qui convertit la 17 α P en 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17-20 β P) (Nagahama, 1983, 1987, 1990, **Figure 20**).

• **Rôle joué lors de la maturation ovocytaire finale**

Ce stéroïde a été découvert pour la première fois dans le plasma d'un poisson appartenant au groupe des Salmoniformes, le saumon rouge par Idler *et al.* (1960). Chez les Téléostéens, les stéroïdes en C₂₁ se sont révélés être extrêmement efficaces dans l'induction de la cassure de la vésicule germinale (GVBD). Ils se retrouvent à des concentrations élevées dans le plasma sanguin lors de la maturation (Rinchard, 1996). Deux stéroïdes ont ainsi été identifiés comme Stéroïdes Inducteurs de la Maturation ovocytaire finale (MIS, **Tableau 4**) :

- la 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 β -P) et,
- la 17 α , 20 β , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (20 β S, 11-désoxycorticostéroïde).

La 17,20 β -P a été mesurée chez les femelles de plus de 35 espèces de Téléostéens et dans certains cas, des concentrations très faibles (< 1ng.mL⁻¹) suggèrent que d'autres stéroïdes pourraient être impliqués dans la phase de maturation finale. D'autres stéroïdes ont ainsi une activité comparable à la 17,20 β -P, comme la 20 β S, le 5-pregnen-3 β , le 17,20 β -triol (17,20 β -PS) et le 11 deoxycortisol (17,21-P).

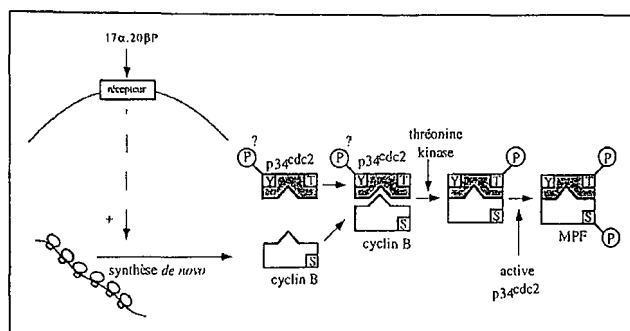
La 17,20 β -P et la 20 β S sont les inducteurs les plus efficaces de la maturation finale de l'ovocyte (GVBD) d'après plusieurs essais utilisant des follicules de différents Téléostéens (Goetz, 1983 ; Scott et Canario, 1987). L'induction de la maturation par le MIS se fait par l'intermédiaire de sa liaison à la membrane plasmique ovocytaire.

Tableau 4 : Liste des principaux travaux sur l'étude du stéroïde inducteur de la maturation finale (MIS) chez les poissons téléostéens des eaux tempérées. 17,20 β -P = 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one ; 20 β S = 17 α , 20 β , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one ; (G) = glucuroné ; hCG = induction hormonale de la ponte à l'aide d'hormone chorionique humaine, CPE = extraits hypophysaires de carpe, GnRHa = gonadotropine releasing hormone analogue ; FOM = stade de la maturation ovocytaire finale ; GVBD = stade de la cassure de la vésicule germinale.

Ordres-Espèces	Nom commun	MIS	Type d'étude	Teneurs (ng.mL ⁻¹)	Auteurs
CYPRINIFORMES					
<i>Carassius auratus</i>	Carassin doré	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	5-25	Nagahama <i>et al.</i> , 1983
<i>Rutilus rutilus</i>	Gardon	17,20 β -P	<i>In vivo</i>	20 (FOM) 28 (post-ponte)	Rinchard <i>et al.</i> , 1997
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpe	17,20 β -P	<i>In vivo</i> (CPE)	25-240	Epler <i>et al.</i> , 1985
<i>Labeo rohita</i>	Carpe indienne	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Sundararaj <i>et al.</i> , 1985
<i>Carostomus commersoni</i>	Meunier noir	17,20 β -P	<i>In vivo</i>	10-20	Scott <i>et al.</i> , 1984
SALMONIFORMES					
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite-arc-en-ciel	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Fostier <i>et al.</i> , 1973 Jalabert, 1976 ; Nagahama <i>et al.</i> , 1983
<i>Oncorhynchus rhodurus</i>	Saumon amago	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Nagahama et Adachi, 1985
<i>Salvelinus fontinalis</i>	Saumon de fontaine	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Goetz et Bergman, 1978; Theofan et Goetz, 1983; Goetz <i>et al.</i> , 1987
<i>Esox lucius</i>	Brochet	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Jalabert, 1976
PERCIFORMES					
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche jaune	17,20 β -P	<i>In vivo</i>	-	Goetz et Theofan, 1979; Nagahama <i>et al.</i> , 1995
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche Commune	17,20 β -P	<i>In vivo</i>	3 (pré-FOM)	Migaud <i>et al.</i> , 2001b
<i>Morone saxatilis</i>	Bar d'amérique	20 β S	<i>In vivo</i>	1.9 (ovulation)	King <i>et al.</i> , 1994; Berlinsky et Specker, 1991
<i>Morone americana</i>	Bar blanc d'Amérique	17,20 β -P 20 β S	<i>In vivo</i> (hCG)	1 (GVBD) 0.6 (GVBD)	King <i>et al.</i> , 1995
<i>Morone chrysops</i>	Bar blanc	17,20 β -P 20 β S 17,20 β -P 20 β S	<i>In vivo</i> (hCG) <i>In vivo</i> (GnRHa)	3.7 (GVBD) 0.15 (GVBD) 4 (GVBD) 3 (GVBD)	King <i>et al.</i> , 1995 Mylonas <i>et al.</i> , 1997a
<i>Stysostedion vitreum</i>	Doré jaune	17,20 β -P	<i>In vivo</i> (GnRHa)	3	Pankurst <i>et al.</i> , 1986
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Bar	20 β S (G)	<i>In vivo</i>	4 (pré-ponte)	Rocha et Reis-Henriques, 1999
<i>Cynoscion nebulosus</i>	Acoupa pintade	20 β S	<i>In vitro</i>	-	Thomas et Trant, 1989
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Tambour rouge	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Trant <i>et al.</i> , 1986 ; Thomas et Trant, 1989
<i>Micropogonias undulatus</i>	Tambour brésilien	20 β S	<i>In vitro</i>	-	Patino et Thomas, 1988
<i>Sillago japonica</i>	Merlan japonais	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Matsuyama <i>et al.</i> , 1990
PLEURONECTIFORMES					
<i>Scophthalmus maximus</i>	Turbot	20 β S	<i>In vitro</i>	-	Mugnier <i>et al.</i> , 1997
<i>Seriola quinqueradiata</i>	Sériole japonaise	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Rahman <i>et al.</i> , 2001
<i>Pleuronectes platessa</i>	Carrelet	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Scott et Canario, 1987; Scott <i>et al.</i> , 1998
<i>Limanda limanda</i>	Limande	17,20 β -P	<i>In vitro</i>	-	Canario et Scott, 1991

Cette interaction surface cellulaire-MIS est possible grâce à des récepteurs spécifiques et conduit à la formation du Facteur Promoteur de la Maturation finale (MPF, Nagahama *et al.*, 1993, **Figures 19 et 21**). D'après les travaux de Kishimoto (1988), ce dernier serait similaire chez tous les vertébrés et même chez les invertébrés. Le MPF d'ovocytes matures du carassin doré induit la maturation des ovocytes d'autres espèces comme la grenouille. Lors d'une étude menée par Nagahama *et al.* (1993), le MPF a été purifié à partir d'ovocytes matures de carpe. Ce dernier est composé de deux éléments : l'homologue du produit du gène $cdc2^+$ de levure et la cycline B. La protéine kinase $cdc2^+$ est présente aussi bien dans les ovocytes immatures que dans les ovocytes dont la maturation a été induite par un traitement à la $17\alpha,20\beta$ -DP, tandis que les protéines de type cycline B ne peuvent être détectées que dans les ovocytes matures. Ces résultats suggèrent que l'apparition des protéines de type cycline B est une étape cruciale dans l'induction de la maturation des ovocytes de poisson par la $17\alpha,20\beta$ -DP (**Figure 21**).

Figure 21 : Formation et activation du facteur promoteur de la maturation (MPF) d'après Nagahama *et al.* (1993) et modifié par Rinchard (1996).



Des études sur le bar d'amérique ont montré que les taux plasmatiques de $17,20\beta$ -P et 20β S augmentaient lors de la maturation finale des ovocytes alors que les taux d' E_2 et de T diminuaient (King *et al.*, 1994). Le même phénomène a été observé *in vitro* avec des fragments d'ovaires. Chez la perche jaune, les taux plasmatiques de $17,20\beta$ -P sont plus élevés au stade de la maturation ovocytaire finale (GVBD) qu'au stade de la migration de la vésicule germinale (mGV). Ces taux diminuent ensuite aux stades de l'hydratation et de l'ovulation (King *et al.*, 1994 ; Berlinsky *et al.*, 1995). Le même phénomène est observé chez le bar blanc et la 20β S a été retrouvée dans le sang de femelle en ovulation chez le bar sous des formes libres et conjuguées (Scott *et al.*, 1990).

Figure 22 : Variations des teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevés en milieu naturel en période pré-ovulatoire. Les moyennes ajustées (+ erreur type) auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement ($p < 0.05$). Au dessus du graphique figurent les observations histologiques : stade 2 (vert), ovaires présentant des ovocytes vitellogéniques; stade 3 (orange), ovocytes en pré-maturation; stade 4 (bleu), ovocytes présentant une vésicule germinale périphérique (VG); stade 5 (violet), cassure de la vésicule germinale (GVBD); stade 6 (jaune), ovulation; stade 7 (rouge), oviposition (ovaire vide). D'après Migaud *et al.*, 2001b.

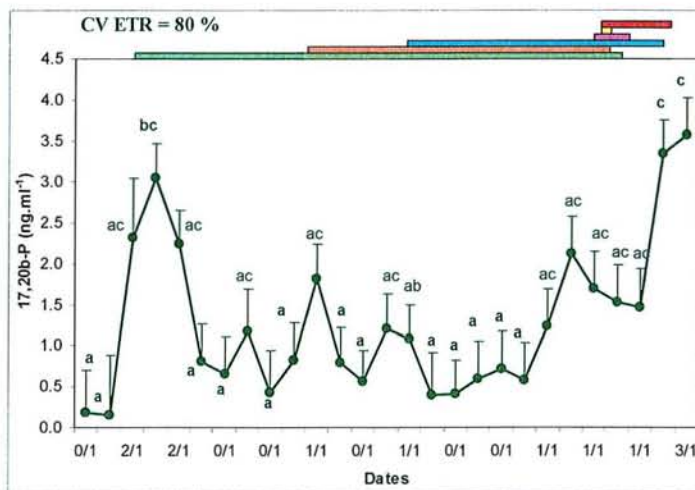
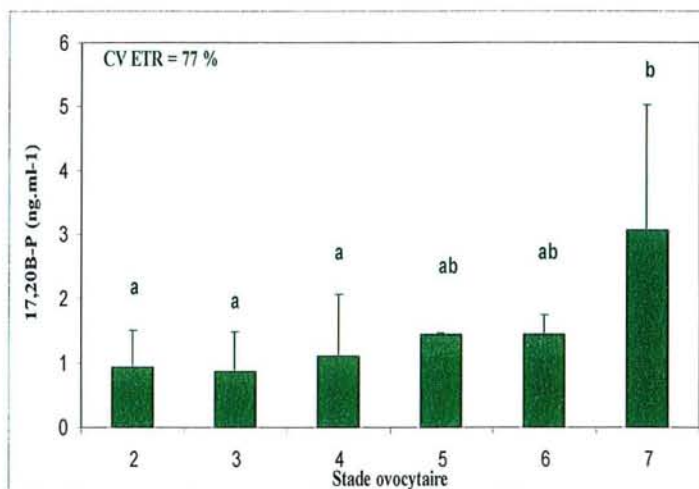
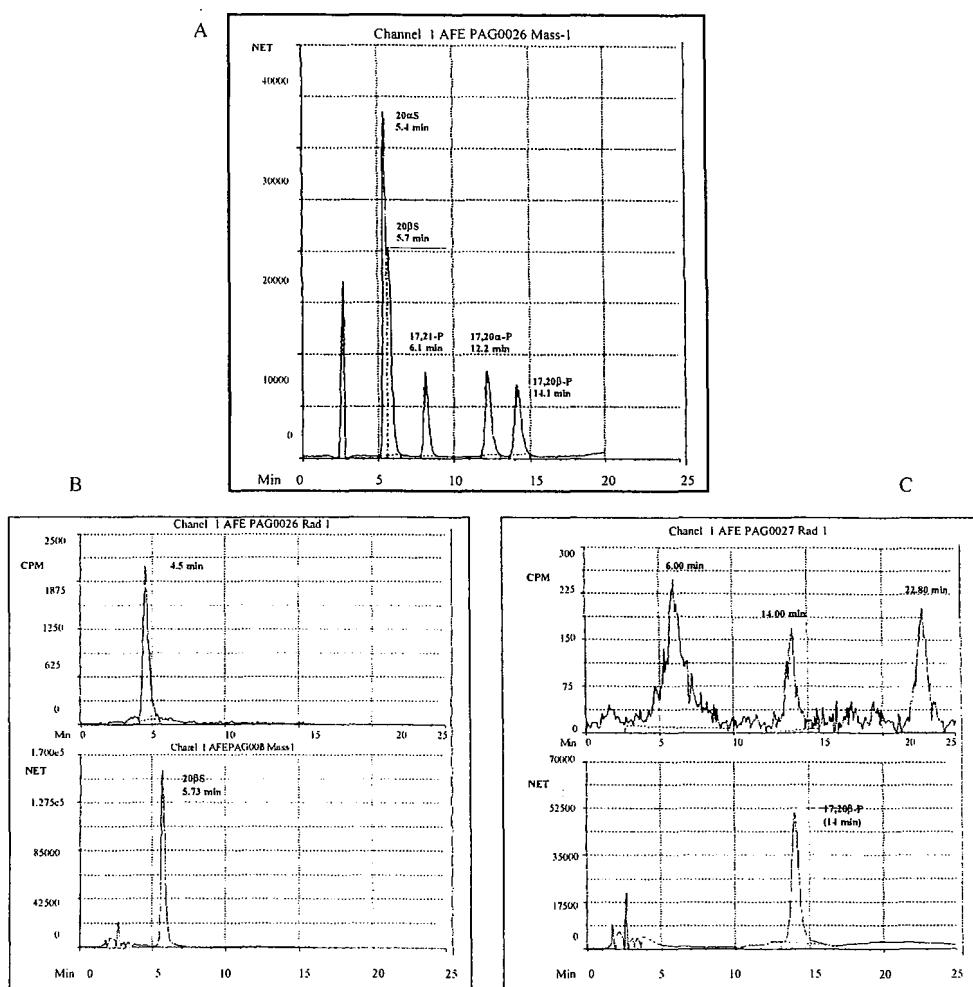


Figure 23 : Teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P chez des géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* prélevés en période pré-ovulatoire en milieu naturel, en fonction de leur stade histologique de développement. Les différents stades ovocytaires sont présentés en figure 22. D'après Migaud *et al.*, 2001b.



Chez la perche commune, les teneurs plasmatiques en 17,20 β -P restent à des niveaux faibles, proches de la limite de détection, pendant la vitellogenèse de septembre à février (0.2-0.6 ng.mL⁻¹). Alors qu'aucunes variations significatives n'avaient été observées auparavant chez cette espèce (Sulistyo, 1998), des pics de concentration en 17,20 β -P ont été mesurés pour la première fois (jusqu'à 4 ng.mL⁻¹) en période pré-ovulatoire chez des femelles maintenues en conditions naturelles (**Figure 22** ; Migaud *et al.*, 2001b). Le protocole de prélèvement a donc permis de détecter des pics en 17,20 β -P. Ces teneurs sont similaires à celles observées chez le bar blanc (King *et al.*, 1994 ; Mylonas *et al.*, 1998a). La première augmentation significative est apparue alors qu'aucun géniteur ne présentait encore des ovocytes aux stades de maturation finale ou de migration de la vésicule germinale. En effet, les premiers œufs à ces stades ont été observés seulement 21 jours après l'apparition de ces premières concentrations élevées. Une augmentation de ces teneurs plasmatiques en 17,20 β -P en relation avec les stades histologiques des ovocytes, notamment les stades de l'ovulation et de l'oviposition, a été observée (Migaud *et al.*, 2001b, **Figure 23**) malgré une forte hétérogénéité inter-individuelle. Ces observations suggèrent un rôle de ce stéroïde dans les processus de maturation ovocytaire finale et d'ovulation. Il se peut qu'il y ait un décalage entre les augmentations des teneurs plasmatiques et les effets de ce stéroïde sur la maturation des ovocytes. Des concentrations élevées en 17,20 β -P ont été mesurées sur une période de 21 jours avec une forte hétérogénéité entre les différents poissons prélevés. Plusieurs populations de perches femelles, à des stades de développement différent, ont pu être prélevées. Cette période de 21 jours pourrait correspondre à la durée de la période de ponte chez cette espèce. Mais, les premières femelles présentant des ovocytes aux stades de la maturation finale ou de la migration de la vésicule germinale n'ont peut-être pas été prélevées. Chez d'autres espèces de Perciformes appartenant à la famille des Moronidés comme le bar blanc ou le bar d'Amérique, l'élévation des teneurs du stéroïde identifié comme étant le MIS chez ces espèces, intervient quelques heures avant la cassure de la vésicule germinale (GVBD). Puis, il disparaît rapidement, probablement converti en d'autres métabolites non-immuno détectables (King *et al.*, 1994) comme de la 17,20-P-sulphate ou la 17,20-P-glucuronate, qui seraient rapidement éliminées du plasma (Scott et Canario, 1992). Une étude préliminaire, *in vitro*, réalisée avec des fragments d'ovaires de perche visant à déterminer la capacité des ovocytes à produire de la 17,20 β -P et de la 17,20 β ,21-P à partir d'un précurseur (17-OHP) marqué radioactivement (tritium) confirme cette hypothèse.

Figure 24 : **A :** Chromatogrammes des stéroïdes standards séparés par HPLC (colonne C₁₈) et élués avec un mélange eau : acétonitrile : méthanol avec un débit de 0.5 ml/min. Les temps de rétention sont les suivant : 17,20 α ,21-P et 17,20 β ,21-P = 5.50 min, 17,21-P = 8.27 min, 17,20 α -P = 12.50 min et 17,20 β -P = 14.47 min. **B et C :** Radio-chromatogrammes (HPLC) des stéroïdes synthétisés par les tissus ovariens de perche commune *Perca fluviatilis* incubés pendant 2 heures en présence d'un précurseur marqué radioactivement ([³H]-17-P). Les extraits des incubas ont été séparés par chromatographie sur couche mince (TLC) et les zones de concentration correspondant à la 17,20,21-P (A) et à la 17,20 β -P (B) ont été éluées et les extraits chromatographiés (HPLC, Migaud *et al.*, soumise).



En effet, parmi les deux MIS classiquement étudiés, seul la 17,20 β -P serait produite (**Figures 24**, Migaud *et al.*, 2001b), comme cela a été observé chez le doré jaune (Barry *et al.*, 1995). De plus, la durée de vie de cette hormone serait courte. En effet, la 17,20 β -P n'est plus détectée suite à des incubations de 4 heures, mais d'autres composés non identifiés apparaissent (Migaud *et al.*, 2001b). Les teneurs en 17,20 β -P mesurées chez la perche commune tout comme chez d'autre espèces de Percidés sont faibles (10 à 100 fois inférieures) comparées à celles mesurées chez les Cyprinidés et Salmonidés (Scott et Canario, 1987 ; Malison *et al.*, 1994). Mais, chez les Percidés, d'après des études *in vitro*, les besoins en 17,20 β -P pour induire la GVBD seraient faibles (Barry *et al.*, 1995). Ainsi, les faibles concentrations mesurées au stade de la GVBD pourraient suffire à déclencher la maturation ovocytaire finale (Migaud *et al.*, 2001b). De plus, ce stéroïde serait rapidement converti en un composé non détectable comme des métabolites sulfatés ou glucuronés rapidement éliminés du plasma sanguin (Scott et Canario, 1992). Enfin, un autre stéroïde pourrait être impliqué dans le processus de maturation finale. Les variations en 17,20 β -P mesurées chez la perche montrent également une élévation pendant les 2 semaines précédant le début des ovipositions atteignant des valeurs proches de celles mesurées au moment des pics.

- **Rôle joué lors de l'ovulation et de la ponte**

La 17,20 β -P pourrait également être impliquée dans le phénomène de l'ovulation via les prostaglandines (Goetz *et al.*, 1989). Des études ont montré, chez les poissons Téléostéens, que l'augmentation des teneurs en prostaglandines de la série F (PGF) induite par les gonadotropines et le MIS semblerait être nécessaire pour déclencher l'ovulation (Goetz *et al.*, 1989 ; Tripanhi et Singh, 1995 ; Peter et Yu, 1997). De plus, il a été montré que la 17,20 β -P et les PGF2 α augmentent l'activité de deux des quatre enzymes protéolytiques produites par les follicules ovariens chez le poisson rouge (Goetz *et al.*, 1989). Chez l'acoupa pintade, *Cynoscion nebulosus*, un récepteur nucléaire de la 17,20 β -P a été identifié (Pinter et Thomas, 1995, 1999) ainsi qu'un récepteur membranaire de la 20 β -S (Patino et Thomas, 1988 ; Thomas *et al.*, 2001), suggérant l'existence de deux fonctions distinctes pour ces deux stéroïdes (Mylonas *et al.*, 1997b, 1998a). Le récepteur membranaire serait impliqué dans le processus de la maturation ovocytaire finale tandis que le récepteur nucléaire régulerait la synthèse en prostaglandines nécessaire pour l'ovulation (Pinter et Thomas, 1995). Chez

d'autres espèces, comme la perche commune, la 17,20 β -P pourrait contrôler les deux processus, tout comme c'est le cas de la 20 β -S chez l'acoupa pintade.

Chez la perche commune, les teneurs plasmatiques augmentent en période d'ovulation et de ponte. Ces concentrations seraient même plus élevées que celles mesurées au mois de mars en période pré-ovulatoire. De plus, les teneurs plasmatiques observées aux stades de l'ovulation et de l'oviposition seraient significativement plus importantes comparées aux stades pré-ovulatoires : fin de vitellogenèse, migration (VGm) et cassure de la vésicule germinale (GVBD), suggérant un autre rôle de ce stéroïde (Migaud *et al.*, 2001b). Comme nous venons de le voir, la 17,20 β -P pourrait donc être également impliquée dans le phénomène de l'ovulation via des prostaglandines chez la perche commune (Goetz *et al.*, 1989 ; Migaud *et al.*, 2001b). Mais, elle pourrait également être impliquée dans la libération et la synchronisation des pontes en agissant comme une phéromone, tout comme cela a été montré chez le poisson rouge (Stacey et Cardwell, 1995).

Rétrocontrôle par des stéroïdes ovariens

Des études par gonadectomie ou remplacement des stéroïdes sexuels ont démontré l'existence d'un rétrocontrôle négatif chez plusieurs espèces de poisson (Kah *et al.*, 1993 ; Trudeau, 1997). Les effets des rétrocontrôles par les stéroïdes sexuels s'exerceraient au niveau du cerveau et de l'hypophyse et permettraient de déclencher finalement la sécrétion pré-ovulatoire de GtH-II (facteur inducteur de l'ovulation, Peter et Yu, 1997). La synthèse en gonadotropine maturante (GtH-II) serait déterminée par un rétrocontrôle positif. Ainsi, la testostérone agirait directement au niveau de l'hypophyse et augmenterait sa sensibilité à la GnRH entraînant une augmentation de la synthèse et libération de la GtH-II (Trudeau, 1997). Cet effet positif de la testostérone a été observé, *in vitro*, chez le poisson rouge (Kobayashi *et al.*, 1989) et d'autres espèces de Cyprinidés comme la carpe commune (Trudeau, 1997). Les mêmes types de rétrocontrôle positif et négatif par la testostérone et l'œstradiol ont été observés sur le neuropeptide Y et la dopamine, respectivement. Mais, chez les mammifères, d'autres composés non-stéroïdiens, comme des protéines ou des peptides, produits par les gonades peuvent également réguler les sécrétions en GtH par rétro-contrôle (Mc Cullagh, 1932). Chez les poissons, Ge et Peter (1994) ont montré que des extraits de gonades, qui classiquement inhibent la sécrétion en gonadotropine chez les mammifères (action de l'inhibine), au contraire stimulent la libération de GtH-II chez le carassin doré.

La **Figure 25** présente une synthèse de l'influence des facteurs environnementaux via les synthèses hormonales sur les principales étapes du cycle gamétogénétique chez les poissons Téléostéens femelles.

- Contrôle de la spermatogenèse et de la spermiation chez les mâles

La testostérone, la 11-kétotestostérone (11-KT) et la 17, 20 β -P sont les androgènes et le progestagène majeurs produits par les cellules de Leydig sous stimulation gonadotrope qui contrôlent le cycle de reproduction mâle chez les poissons.

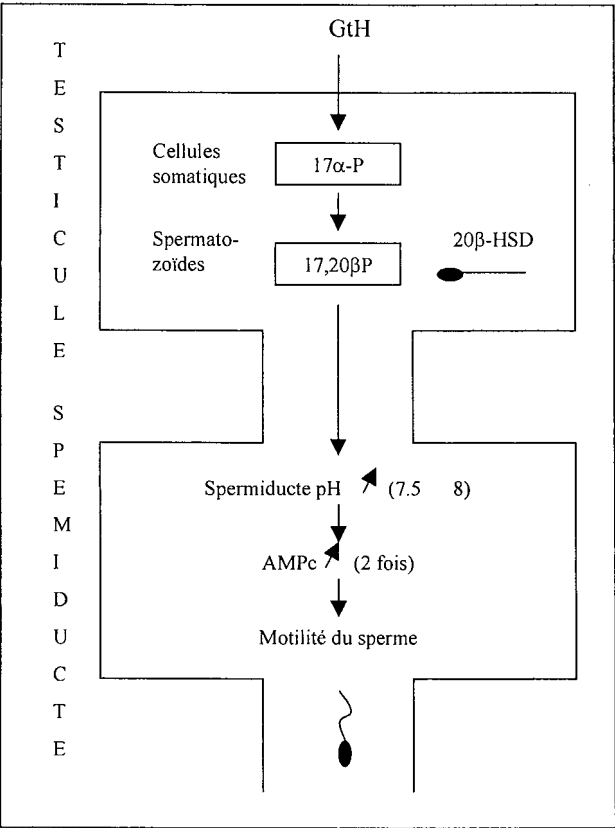
La testostérone et la 11-kétotestostérone

Comme l'ovogenèse, la spermatogenèse est sous le contrôle d'hormones gonadotropes (Fostier *et al.*, 1983 ; Billard, 1986 ; Billard *et al.*, 1990 ; Billard *et al.*, 1992 ; Borg, 1994). La multiplication des spermatogonies est associée à une sécrétion intense d'androgènes par les tissus testiculaires qui sont hautement sensibles à la GtH-II. Au contraire, la formation de spermatocytes et la méiose sont associées à une baisse des sécrétions d'androgènes et de la sensibilité à la GtH-II. Ces deux événements déclenchent la production des spermatozoïdes (Schulz *et al.*, 1994).

De nombreuses études ont montré les rôles de ces deux hormones pendant la spermatogenèse chez les poissons d'eau douce et marins (Scott *et al.*, 1980 ; Kime et Manning, 1982 ; Fostier *et al.*, 1983 ; Billard *et al.*, 1990 ; Loir et Billard, 1990 ; Prat *et al.*, 1990 ; Carragher et Pankhurst, 1993 ; Nagahama, 1994 ; Dabrowski *et al.*, 1996 ; Tveiten *et al.*, 1998 ; Sulistyó *et al.*, 2000). Les voies métaboliques menant à la synthèse de la testostérone dans les testicules sont identiques à celles décrites chez les mammifères. La 11-KT est obtenue à partir de la testostérone ou de l'androsténédione au niveau des cellules de Leydig (Kime et Hews, 1978, **Figure 13**) et agirait via les cellules de Sertoli pour produire un facteur initiateur de la spermatogenèse, l'activine B, qui induirait la prolifération des spermatogonies (Yoshikuni *et al.*, 1991). Ces androgènes jouent également un rôle dans l'expression des caractères sexuels secondaires et le comportement de reproduction mâle (Borg, 1994).

Chez la perche commune, du mois d'avril au mois de novembre, les teneurs plasmatiques en testostérone (T) et 11-kétotestostérone (11-KT) sont faibles (< 0.5 ng.mL⁻¹, Sulistyó *et al.*, 2000). La présence de spermatozoïdes dans les gonades au mois de septembre alors que les teneurs en T sont faibles n'est pas en accord avec les travaux de Kime et

Figure 26 : Régulation de la spermiogenèse chez les salmonidés (Yoshikuni et Nagahama, 1991).



Manning (1982) qui ont montré le rôle joué par ce stéroïde sur la spermatogenèse. Mais, chez cette espèce, une faible augmentation de T pourrait permettre d'initier la spermatogenèse. Puis, les concentrations de ces deux androgènes (T et 11-KT) augmentent en hiver pour atteindre des pics de 12.3 et 4.9 ng.mL⁻¹, respectivement, au mois de janvier-février. Les teneurs en T diminuent en fin d'hiver mais restent à des niveaux relativement élevés (4-7 ng.mL⁻¹) jusqu'à la période de ponte probablement en raison de son rôle sur la spermiogenèse en tant que précurseur de la 11-KT (Kime et Manning, 1982 ; Borg, 1994 ; Sulistyó *et al.*, 2000) alors que les concentrations en 11-KT chutent progressivement jusqu'au mois d'avril.

La 17 α -20 β dihydroprogestérone

Chez les Salmonidés, le sperme acquiert sa capacité de mobilité lorsqu'il passe du testicule au spermiducte; par contre l'initiation de sa mobilité se fera lorsqu'il sera dilué dans l'eau. Des teneurs importantes en 17,20 β -P ont été mesurées lors de la spermiation chez de nombreuses espèces de poissons comme chez les Salmonidés, le carassin doré (Ueda *et al.*, 1983) ou le bar d'Amérique (Mylonas *et al.*, 1998b). Ce stéroïde se révèle être le médiateur de la GtH pour induire la spermiation chez les poissons (Ueda *et al.*, 1983 ; Yoshikuni *et al.*, 1991). La 17,20 β -P agit au niveau du spermiducte et entraîne l'élévation du pH (de 7.5 à 8), ce qui a pour effet d'augmenter la concentration d'AMPc des spermatozoïdes (Yoshikuni *et al.*, 1991 ; Miura *et al.*, 1992). C'est cet AMPc qui, via une protéine kinase, permettra au flagelle de se mettre en mouvement lors de l'émission des spermatozoïdes dans l'eau (Morisawa et Morisawa, 1986 ; Christen *et al.*, 1987 ; Miura *et al.*, 1992 ; Perchec, 1996 ; **Figure 26**).

1.1.4.3. Les prostaglandines et leur rôle sur l'ovulation et la ponte

L'ovulation implique l'expulsion de l'ovocyte mature du follicule dans le lumen de l'ovaire avant la ponte (Goetz, 1983 ; Goetz et Cetta, 1983). L'ovulation chez les Téléostéens peut être assez complexe comme nous l'avons vu précédemment, nécessitant:

- une libération pré-ovulatoire de GtH plasmatique,
- une production de MIS par les follicules sous stimulation gonadotrope,
- une action du MIS sur le follicule lui-même et sur les cellules extra-folliculaires,
- une induction de protéases intra-folliculaires qui affaiblissent ou rompent la membrane folliculaire,

- une production intra et/ou extra-folliculaire de prostaglandines nécessaire à la stimulation de l'ovulation,
- une contraction de cellules folliculaires spécialisées pour libérer l'ovocyte mûre (Goetz *et al.*, 1991).

Ainsi, l'ovulation et la reprise de la méiose de l'ovocyte serait induite par des prostaglandines. Chez le poisson rouge, il a été montré que l'ovulation était bloquée par l'indométhacine, un inhibiteur de la synthèse de prostaglandines (Stacey et Pandey, 1975 ; Goetz et Cetta, 1983). Chez les Téléostéens, l'augmentation de la synthèse des prostaglandines (PGs) de la série F induite soit par la GtH-II soit par le stéroïde inducteur de la maturation (MIS), apparaît nécessaire pour assurer l'ovulation (Goetz, 1983 ; Goetz *et al.*, 1987, 1989, 1991 ; Tripanhi et Singh, 1995 ; Peter et Yu, 1997). Ainsi, Tripani et Singh (1995) ont montré, *in vitro*, chez le poisson chat (*Heteropneustes fossilis*) que l'administration de prostaglandines de la série F (PGF_{2α}) avec de la 17,20β-P (stéroïde inducteur de la maturation) augmentait le pourcentage d'ovulation alors que les prostaglandines de la série E (PGE1 et PGE2) non seulement bloquaient l'ovulation mais aussi la maturation finale des ovocytes.

La 17,20β-P et les PGF_{2α} induisent une augmentation de l'activité de deux enzymes protéolytiques sur cinq produites par les follicules ovariens chez le poisson rouge (Goetz *et al.*, 1987). Comme cela a été montré chez les mâles de poisson rouge (Stacey et Sorensen, 1991 ; Sorensen *et al.*, 1995), les prostaglandines joueraient également un rôle essentiel dans la synchronisation des comportements de reproduction et donc de l'ovulation, en agissant comme des précurseurs dans la production de phéromones sexuelles.

1.1.4.4. Les phéromones et leurs rôles sur la synchronisation des pontes

Les comportements reproducteurs chez de nombreux poissons seraient influencés par des stimuli phéromonaux (Olsen et Liley, 1993). Ainsi, chez de nombreux poissons, les hormones sexuelles et leurs métabolites ne jouent pas seulement un rôle de signaux chimiques endogènes, mais également un rôle exogène (phéromones) après leur libération dans l'eau, et agissent sur la physiologie et le comportement de leur congénères (Sorensen *et al.*, 1988 ; Bjerselius *et al.*, 1995 ; Stacey et Cardwell, 1995 ; Sweinsson et Hara, 1995). Chez les poissons, les cellules olfactives réceptrices sont situées au niveau de l'épithélium olfactif qui couvre des structures appelées rosettes au niveau des chambres olfactives sur le rostre des poissons. Les stimuli olfactifs sont donc détectés à ce niveau, transmis au bulbe olfactif puis

Tableau 5 : Réponses olfactives des poissons aux prostaglandines et aux stéroïdes sexuels (mesurées par des électro-olfactogrammes).

Ordres	Nbre d'espèces	PG	C ₂₁			C ₁₉			C ₁₈			Auteurs
			F	G	S	F	G	S	F	G	S	
SILURIFORMES <i>Clarias gariepinus</i>	3											Van Den Hurk et Resink, 1992
		+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	
CYPRINIFORMES	70	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Stacey et Cardwell, 1995
Danioninae	17	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	
<i>Danio rerio</i>		+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	
<i>Rasbora, Luciosoma spp</i>	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Rasbora spp</i>	2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Leptobarbus Danio spp</i>	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Leptobarbus spp</i>	1	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Rasbora spp</i>	1	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	
Leuciscinae	8	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Stacey et Cardwell, 1995
<i>Compostoma, Notropis</i>												
Cyprininae	2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Stacey et Cardwell, 1995
Cyprinini	4											Irvine et Sorensen, 1993 Bjerezilius <i>et al.</i> , 1993; 1995
<i>Cyprinus carpio</i>		+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Carassius carassius</i>		+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Carassius auratus</i>		+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Systemini	20	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	Cardwell <i>et al.</i> , 1995
<i>Poropuntius sp</i>		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
<i>Puntius lateristrica</i>		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
Labeonini	15	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	Stacey et Cardwell, 1995
<i>Labeo spp</i>	11	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Labeo spp</i>	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
CHARACIFORMES	25	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Cardwell <i>et al.</i> , 1995
SALMONIFORMES	5											Moore et Scott, 1992
<i>Salmo salar</i>		+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
PERCIFORMES	6	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	Colombo <i>et al.</i> , 1982
<i>Gobius jazo</i>												

PG = prostaglandines ; C₂₁, C₁₉ et C₁₈ = stéroïdes avec 21, 19 et 18 carbones ; F = forme libre (non-conjugé) ; G = glucuroné ; S = sulfaté ; les tirets indiquent les composés non détectés et les symboles + indiquent les composés détectés.

au télencéphalon grâce à un réseau complexe de fibres et de neurones où l'information est intégrée (Sorensen et Caprio, 1998).

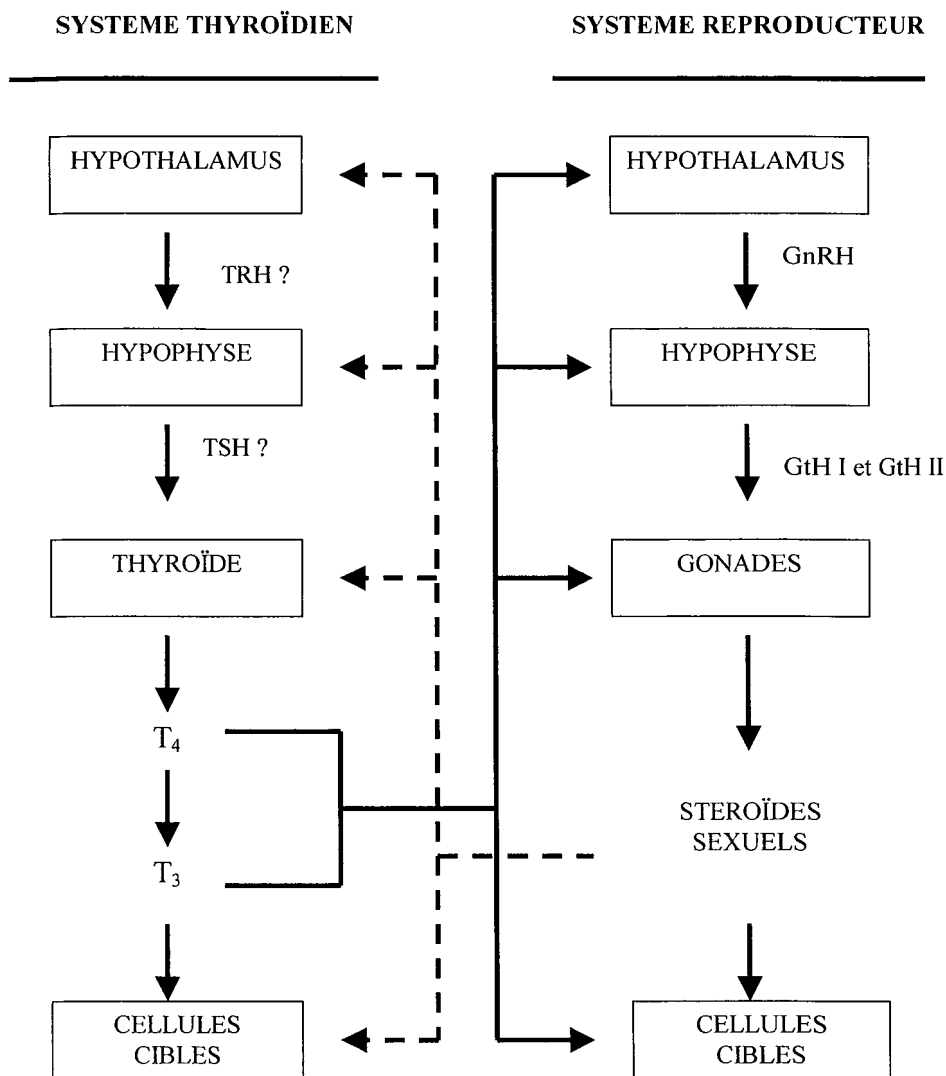
Différents composés ont été identifiés comme ayant des propriétés phéromonales grâce à des études olfactives (électro-olfactogramme). On distingue, parmi les phéromones sexuelles, les prostaglandines (acides gras) et des stéroïdes sexuels à 18, 19 et 21 atomes de carbone sous la forme libre, glucuronée ou sulfatée (**Tableaux 5 et 6**). Sorensen *et al.* (1988) ont suggéré que les prostaglandines circulantes seraient libérées dans l'eau et agiraient comme des phéromones sur la synchronisation des comportements sexuels male et femelle.

Kime et Ebrahimi (1997) ont montré que la 17,20 β -P, la 11-KT et leurs conjugués sont également synthétisés au niveau des branchies chez les poissons Téléostéens et pourraient donc être libérés dans l'eau à ce niveau.

Tableau 6 : Effet des phéromones sur les cycles de reproduction chez les poissons Téléostéens des eaux tempérées.

Espèces	Phéromone	Sexe	Méthodologie	Observations	Auteurs
CYPRINIFORMES <i>Carrassius auratus</i>	17,20 β -P	M	Expérience réalisée dans un fluvium compartimenté avec apport de 17,20 β -P exogène d'un coté et éthanol de l'autre	Augmentation de l'activité locomotrice et de l'agressivité envers les autres mâles. Augmentation des teneurs en GtH-II (recherche de femelles ayant ovulé) Augmentation du volume de sperme dans le spermiducte	Bjerselius <i>et al.</i> , 1995 Dulka <i>et al.</i> , 1987
	PGF _{2a}	F	Injection de PGF _{2a} chez les femelles	Stimule l'activité sexuelle femelle	Sorensen <i>et al.</i> , 1988, 1989, 1995
SALMONIFORMES <i>Oncorhynchus mykiss</i>	17,20 β -P (urine)	M	Cathéter urinaire Exposition des poissons à de l'urine femelle	Augmentation des teneurs plasmatiques en 17,20 β -P. Augmentation du volume de laitance	Vermeirssen <i>et al.</i> , 1997, 2001
<i>Oncorhynchus nerka</i>	-	M	Narines cautérisées (perte d'odorat) et présence de femelles en reproduction	Diminution des teneurs en hormones sexuelles et diminution du volume de laitance	Liley <i>et al.</i> , 1993
<i>Salmo salar</i>	urine	M	Exposition des mâles à de l'urine femelle		Stacey et Cardwell, 1995

Figure 27 : Interrelation entre les systèmes thyroïdien et reproducteur présentant les sites d'action potentiels des TH (T_3 et T_4) sur le système reproducteur et des stéroïdes sexuels mâle et femelle sur le système thyroïdien chez les poissons. Adapté d'après Cyr et Eales (1996).
 TRH = Thyrotrophin-releasing hormone, TSH = Thyroid-stimulating hormone (thyrotrophin),
 T_3 = 3,5,3'-triiodo-L-thyronine, T_4 = L-thyroxine (= tétraiodothyronine).



1.1.4.5. Les autres hormones jouant un rôle dans la reproduction des poissons

- Les hormones thyroïdiennes (T_3 et T_4)

Le système thyroïdien est contrôlé en partie par l'axe hypothalamus-hypophyse (Eales et Brown, 1993). Des cellules neurosecrétrices de l'hypothalamus sont directement en contact avec des cellules thyrotropes dans l'hypophyse et régulent la sécrétion de TSH (hormone stimulatrice thyroïdienne). TSH agit sur la thyroïde et stimule la synthèse et la sécrétion d'hormones thyroïdiennes (TH) qui, chez les quelques espèces de Téléostéens étudiées, est la L-thyroxine plus communément appelé T_4 . La quasi-totalité de la T_4 est fixée, de façon réversible, à des protéines plasmatiques, mais la fraction libre est échangée à travers la membrane cellulaire. T_4 est convertie, en partie, grâce à l'action d'une monodeiodinase, en 3,5,3'-triiodo-L-thyronine, plus communément appelé T_3 . T_3 , tout comme T_4 , transite par voie sanguine en se fixant à des protéines (Cyr et Eales, 1996). L'action de cette hormone n'a pas encore été réellement élucidée chez le poisson.

De nombreux travaux, menés principalement sur des espèces méditerranéennes et tropicales de Cyprinodontidés et de Cyprinidés, ont permis d'étudier l'implication des TH dans la reproduction des Téléostéens femelles. L'interrelation entre le système thyroïdien et le système de reproduction n'est pas clairement établie (**Figure 27**). Il semblerait que cette hormone stimule, de façon synergique avec les GtHs, le développement ovarien précoce et la vitellogenèse comme cela a été montré chez le dentex, *Dentex dentex* (Pavlidis *et al.*, 2001). Chez la femelle de truite arc-en-ciel, une élévation des teneurs plasmatiques en T_3 , seule ou en combinaison avec la GtH, entraîne une augmentation de l'IGS chez des truites traitées pendant 21 jours (Cyr et Eales, 1988). Cette augmentation est plus importante chez des truites traitées avec de la T_3 et de la GtH que chez d'autres traitées uniquement avec de la GtH. D'autre part, un traitement de 21 jours avec un inhibiteur thyroïdien, le sodium ipodate, entraîne une diminution des teneurs en T_3 et T_4 circulants et une diminution de l'ordre de 45 % de l'IGS (Cyr et Eales, 1996). Chez les Salmonidés, il existe une relation inverse entre les teneurs en hormones thyroïdiennes et les stades de maturité comme chez la truite commune (White et Henderson, 1977), la truite arc-en-ciel (Osborn *et al.*, 1978 ; Cyr et Eales, 1988 ; Pavlidis *et al.*, 1991 ; Eales et Brown, 1993), le saumon atlantique (Biddiscombe et Idler, 1983) et le saumon pacifique (Ueda *et al.*, 1984).

Afin de mieux comprendre le mode d'action de la T_3 , des cellules de la thèque ou de la granulosa ont été cultivées *in vitro* en présence de GtH ou de GtH et de T_3 (Nagahama, 1983).

La GtH seule a ainsi entraîné un doublement significatif de la libération en testostérone, par comparaison aux follicules non traités, et une augmentation significative avec le traitement GtH+T₃. L'hormone thyroïdienne accroît donc l'action de la GtH pour stimuler la synthèse de testostérone (T) et augmente la conversion de la T en E₂, c'est-à-dire de l'activité aromatique, permettant ainsi une croissance ovarienne plus importante. D'autre part, l'action de T₃ sur les phases de maturation ovocytaire a également été montrée, notamment chez la carpe (Epler et Bieniarz, 1983) et la truite arc-en-ciel (Sullivan *et al.*, 1989), grâce à une stimulation plus importante de la sécrétion en 17,20β-P.

La sécrétion des hormones thyroïdiennes présente des rythmes journaliers (Spieler, 1979) qui joueraient un rôle important sur les cycles saisonniers de reproduction. Généralement, les teneurs en T₄ sont plus importantes pendant la photophase et plus faibles pendant la scotophase. Des variations significatives des teneurs en T₄ synchronisées avec la photopériode ont été observées chez le poisson rouge (Spieler et Noeske, 1979), le tambour rouge (Leiner *et al.*, 2000), la truite arc-en-ciel et le flétan (Bjornsson *et al.*, 1998).

- L'hormone de croissance (GH)

Les interactions entre la croissance et la reproduction, mises en évidence chez de nombreux vertébrés, sont particulièrement claires à certaines étapes du cycle biologique des poissons comme la puberté et la gamétogenèse (Le Gac *et al.*, 1993). Ainsi, la croissance est modulée par le cycle de reproduction. Elle est accélérée au début de la gamétogenèse, puis diminuée chez des poissons en maturation ou en période de ponte par comparaison à des poissons dont les gonades ne sont pas en développement (Le Bail, 1988). D'autres aspects de l'interaction croissance-reproduction pourraient concerner le dimorphisme de croissance lié au sexe comme cela a été décrit chez le turbot, le bar, le tilapia ou le poisson chat. L'hormone de croissance pourrait jouer un rôle spécifique sur la maturité (puberté), la gamétogenèse et la fertilité. Chez les mammifères, les hormones sexuelles ont des effets directs sur la croissance des organes et des effets indirects par le biais de facteurs endocriniens impliqués dans la croissance. En particulier, chez l'homme, les stéroïdes pourraient moduler la production de GH et contribuer ainsi à la sécrétion pulsatile sexe-dépendante de GH en agissant aux niveaux hypophysaire et hypothalamique (Devesa *et al.*, 1991). Chez les poissons, bien que les connections entre les teneurs plasmatiques endogènes en stéroïdes et le taux de croissance restent floues, des études suggèrent une telle relation pendant le cycle de reproduction (Le

Tableau 7 : Différents essais d'induction de la maturation finale, de l'ovulation et de la ponte grâce à l'injection d'analogues de la GnRH. A = D-Ala6Pro9Net-mGnRH ; L = D-Lys6-sGnRH ; R = D-Arg6Pro9Net-sGnRH ; T = D-Trp6-mGnRH. Combinaison du traitement avec un antagoniste à la dopamine : Pim = pimozone ; Dom = dompéridone ; Met = métoclopramide.

Ordres-espèces	Nom commun	Sexe	Traitement	Autre traitement	Auteurs
CYPRINIFORMES					
<i>Carassius auratus</i>	Poisson rouge	F	A, T	Pim	Sokolowska <i>et al.</i> , 1984a et b
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpe commune	F	R	Domp, Met, Pim	Drori <i>et al.</i> , 1994 ; Roelants <i>et al.</i> , 2000
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Carpe argentée	F	A	Pim	Lin <i>et al.</i> , 1986
SALMONIFORMES					
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	Saumon coho	F	A	-	Fitzpatrick <i>et al.</i> , 1984
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	F	T	-	Breton <i>et al.</i> , 1990
<i>Oncorhynchus nerka</i>	Saumon rouge	M/F	A	-	Slater <i>et al.</i> , 1994
<i>Salmo trutta</i>	Truite commune	F	A	-	Mylonas <i>et al.</i> , 1991
<i>Salvelinus fontinalis</i>	Omble chevalier	F	R	-	Gillet <i>et al.</i> , 1998
PERCIFORMES					
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche commune	M/F	A	Pim	Dabrowski <i>et al.</i> , 1994b ; Kouril, 1997
<i>Perca fluviatilis</i>	Perche commune		A	-	Sulistyo, 1997 ; Kouril et Hamackovan, 1999
<i>Morone chrysops</i>	Bar blanc			-	Mylonas <i>et al.</i> , 1995, 1997b
<i>Stizostedion vitreum</i>	Doré jaune	F	A	-	Barry, 1995; Malison et Held, 1996
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Tambour rouge	F	A	-	Thomas et Boyd, 1989
<i>Sparus aurata</i>	Daurade	F	A	-	Barbaro <i>et al.</i> , 1997
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Loup (bar)	F	A	-	Alvarino <i>et al.</i> , 1992

Bail, 1988). GH stimulerait la synthèse de stéroïdes sexuels par les gonades (Holloway et Leatherland, 1998).

1.1.5. L'induction et la synchronisation des pontes chez les poissons Téléostéens

Des traitements hormonaux sont utilisés avec succès pour synchroniser l'ovulation chez les poissons. Quatre grands types d'hormones ou de préparations à base d'hormones sont couramment utilisés chez de nombreuses espèces. On distingue tout d'abord les GnRH-analogues (encore appelé LHRHa, **Tableau 7**) injectées soit au niveau intramusculaire ou intrapéritonéal et agissant au niveau de l'hypothalamus. D'autres préparations à base de gonadotropines, agissant cette fois au niveau de l'hypophyse sont également utilisées comme des extraits hypophysaires de carpe (CPE) ou d'autres vertébrés ou de la gonadotropine chorionique d'origine humaine (**Tableau 8**). Des préparations commercialisées sous la forme de microcapsules à base soit de cholestérol, de polyéthylène ou d'acides gras (**Tableau 9**) sont implantés chez le poisson et libèrent progressivement leur contenu hormonal. Enfin des stéroïdes sexuels comme la 17,20 β -P ou d'autres molécules comme des prostaglandines sont utilisés soit directement par injection (Jalabert *et al.*, 1977) soit par balnéation (Vermeirssen *et al.*, 1997 ; Vermeirssen et Scott, 2001).

Les GnRH-analogues (gonadotropine hormone releasing hormone) associées au pimozone ont été utilisées chez la perche en une ou deux injections : une première à faible dose (priming) suivie d'une injection plus importante (Dabrowski *et al.*, 1994b).

Dans les deux cas, la GnRHa entraîne une libération de GtH au niveau de l'hypophyse suivie de la ponte. L'utilisation d'analogues de la GnRH afin d'induire l'ovulation et la ponte a plusieurs avantages. Elle stimule la sécrétion de gonadotropine par les poissons. Ces analogues sont facilement synthétisés et sont administrés en faible quantité ($\mu\text{g/kg}$) d'où un faible coût d'utilisation. Mais, chez certaines espèces, l'efficacité d'un traitement à la GnRH nécessite de supprimer l'effet inhibiteur de la dopamine en utilisant un antagoniste comme le pimozone ou le dompéridone (Zohar, 1986 ; Peter et Yu., 1997: la technique « Linpe »).

Depuis les 20 dernières années, toute une gamme de microcapsules ou microsphères libérant de la GnRHa a été mise au point et testée chez les poissons d'élevage afin de contrôler la maturation ovocytaire finale, l'ovulation, la ponte et la spermiation.

Tableau 8 : Différents essais d'induction de la maturation finale, de l'ovulation et de la ponte grâce à l'injection de différentes préparations de gonadotropines (GtH) ou d'analogues mammaliens (FSH et LH). HCG = hormone chorionique d'origine humaine ; Hypo-p = hypophyse ou extraits hypophysaires de poisson ; GtH-p = gonadotropine purifiée de poisson.

Ordres- espèces	Nom commun	Sexe	Traitement	Auteurs
CYPRINIFORMES <i>Cyprinus carpio</i>	Carpe commune	F	Hypo-p	Kime et Dolbera, 1985
SALMONIFORMES <i>Onchorhynchus kisutch</i>	Saumon coho	F	GtH-p	Hunter <i>et al.</i> , 1981
<i>Oncorhynchus nerka</i>	Saumon rouge	M/F	Hypo-p	Slater <i>et al.</i> , 1995
<i>Esox lucius</i>	Brochet	M/F	Hypo-p, GtH-p	Billard et Marcel, 1980
PERCIFORMES <i>Perca fluviatilis</i>	Perche commune	F	hCG FSH+LH	Kucharczyk <i>et al.</i> , 1996 Kucharczyk <i>et al.</i> , 1998
<i>Morone chrysops</i>	Bar blanc	F	hCG	Kohler <i>et al.</i> , 1994
<i>Morone saxatilis</i>	Bar d'amérique	F	hCG	Rees et Harrell, 1990
<i>Stizostedion vitreum</i>	Doré jaune	F	hCG	Malison et Held, 1996 Pankhurst <i>et al.</i> , 1996 Malison, 1998
<i>Macquaria novemaculata</i>	Bar australien	M/F	hCG	Battaglene et Selosse, 1996

Tableau 9 : Différents essais d'induction de la maturation finale, de l'ovulation et de la ponte grâce à différents systèmes de libération d'hormone en continue (microcapsules). EVAc = poly[éthylène-vinyl acétate] ; LGA = poly[lactide-glycolide] ; Chol = cholestérol/cellulose ; Fad-sa = poly[fatty acid dimer-sebasic acid].

Ordres- espèces	Nom commun	Sexe	Traitement	Auteurs
SALMONIFORMES <i>Oncorhynchus kisutch</i>	Saumon coho	F	EVAc	Zohar <i>et al.</i> , 2001
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Truite arc-en-ciel	F	LGA Chol	Breton <i>et al.</i> , 1990 Crim <i>et al.</i> , 1983
<i>Salmo salar</i>	Saumon atlantique	M/F M	Fad-sa EVAc	Mylonas <i>et al.</i> , 1995 Zohar <i>et al.</i> , 2001
PERCIFORMES <i>Morone chrysops</i>	Bar blanc	F M	EVAc Fad-sa	Mylonas <i>et al.</i> , 1996 Mylonas <i>et al.</i> , 1997b
<i>Morone saxatilis</i>	Bar d'Amérique	F F M	EVAc Chol EVAc, Fad-sa	Mylonas <i>et al.</i> , 1998a Hodson et Sullivan, 1993 Mylonas <i>et al.</i> , 1997b
<i>Sparus auratus</i>	Daurade	F F	EVAc, LGA LGA	Zohar <i>et al.</i> , 2001 ; Barbaro <i>et al.</i> , 1997
<i>Pagrus major</i>	Daurade rouge	M/F	Chol	Matsuyama <i>et al.</i> , 1995
<i>Pagrus pagrus</i>	Pagre commun	F	Fad-sa	Zohar et Mylonas, 2001
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Loup (bar)	F	EVAc, Fad-sa	Forniès <i>et al.</i> , 2001
<i>Mugil cephalus</i>	Mullet	F	EVAc, Fad-sa	Zohar et Mylonas, 2001

Chez la perche jaune, des extraits d'hypophyse de carpe (CPE) à une concentration d' $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ de poisson ou d'hormone chorionique humaine (hCG 0.23 IU.g^{-1} de poisson) donnés à des femelles en deux injections successives dans un intervalle de 24 heures induisent la ponte 12 h après la seconde injection (Kouril *et al.*, 1997). Les mêmes expériences ont été réalisées chez la perche commune (Kucharczyk *et al.*, 1996) avec de l'hCG ou des extraits d'hypophyses de carpe séchées à l'acétone. L'action de ces deux traitements a été montrée sur la synchronisation de l'ovulation et sur la ponte surtout marquée chez les poissons traités grâce à trois injections. Chez la carpe (Jalabert *et al.*, 1977), un pré-traitement (priming) avec des extraits d'hypophyse de carpe suivi d'un traitement à la $17\alpha\text{-}20\beta \text{ P}$ (2 mg.kg^{-1}) entraîneraient la ponte et une bonne fécondation et éclosion. Ce priming induirait en fait une augmentation des taux plasmatiques de gonadotropines (de 2.5 à 35 ng.mL^{-1}) et la migration de la vésicule germinale vers la périphérie de l'ovocyte. Chez la truite arc-en-ciel, l'ovulation nécessite une maturation folliculaire au préalable (détachement de l'enveloppe folliculaire de l'ovocyte) qui peut être déclenchée par la $17\alpha\text{-}20\beta\text{-P}$ ($17,20\beta\text{-P}$). Mais l'ovulation elle-même peut être expérimentalement induite *in vitro* par des prostaglandines (PGF) ou des catécholamines (épinéphrine) grâce à un mécanisme impliquant l'activation de récepteurs α -adrénergiques (Jalabert *et al.*, 1977). Ainsi, une augmentation de la synthèse en prostaglandines, induite soit par la GtH-II ou le MIS, semble être nécessaire pour induire l'ovulation chez les Téléostéens (Goetz *et al.*, 1991).

Les prochaines générations d'inducteurs de ponte seront basées sur une meilleure compréhension des modifications du système GnRH, induites par la captivité, et sur le développement de stratégies permettant de les corriger (Zohar et Mylonas, 2001). Une telle approche nécessite une recherche fondamentale sur le système GnRH chez les poissons d'élevage. Toutes ces techniques d'induction hormonale des étapes finales du cycle de reproduction chez les poissons permettent de synchroniser et de déclencher la ponte. En effet, celle-ci peut être bloquée ou retardée suite à une gestion inadaptée des facteurs environnementaux ou à un stress engendré par la manipulation des poissons.

1.2. La qualité des pontes

1.2.1. Estimation de la qualité des gamètes et des larves

Les différents critères généralement utilisés pour la détermination de la qualité d'une ponte, des gamètes et des larves sont : le poids moyen et la taille des œufs et des larves, le

Tableau 10 : Composition du sperme chez quelques espèces de poissons d'eau douce.

	Spermatocrit (%)	Densité des spz ($10^9/\text{mL}$)	Glucose	Fructose $\text{mg}/100\text{mL}$	Lipides totaux	Auteurs
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	17.8 $\pm$ 0.6 (n=93) 25.75 $\pm$ 13.32 (n=20)	10.7 $\pm$ 0.4 (n=82) 11.80 $\pm$ 6.19 (n=20)	8 $\pm$ 1.02 (n=28)	0.33 $\pm$ 0.05 (n=28)	10.42 $\pm$ 2.74 (n=11)	Piironen et Hyvaerinen, 1983 Ciereszko et Dabrowski, 1993
Truite fario <i>Salmo gairdneri</i>	33.5 $\pm$ 2.0 (n=27)	14.1 $\pm$ 0.9 (n=27)	4.65 $\pm$ 1.83 (n=17)	0.23 $\pm$ 0.05 (n=17)	39.44 $\pm$ 4.93 (n=12)	Piironen et Hyvaerinen, 1983
Saumon <i>Salmo salar</i>	21.3 $\pm$ 2.5 (n=9)	9.2 $\pm$ 1.3 (n=9)	17.78 $\pm$ 4.52 (n=7)	0.2 $\pm$ 0.18 (n=7)	35.05 $\pm$ 2.23 (n=5)	Piironen et Hyvaerinen, 1983
Perche commune <i>Perca fluviatilis</i>	70.8 $\pm$ 3.3 (n=38)	76.2 $\pm$ 3.2 (n=42) 17.0 $\pm$ 0.23 (n=10)	4.21 $\pm$ 1.47 (n=10) 63 $\pm$ 19 ($\mu\text{mol l}^{-1}$) (n=10)	0.47 $\pm$ 0.14 (n=10) 54 $\pm$ 28 ($\mu\text{mol l}^{-1}$) (n=10)	86.57 $\pm$ 14.37 (n=6)	Piironen et Hyvaerinen, 1983 Lahnsteiner <i>et al.</i> , 1995
Perche jaune <i>Perca flavescens</i>	64.65 $\pm$ 10.96 (n=12)	41.58 $\pm$ 3.50 (n=12)				Ciereszko et Dabrowski, 1993

taux de fécondation et d'éclosion (%), la résistance des larves au stress (choc osmotique et jeûne), la croissance et la survie des larves après un élevage larvaire. Pour une étude plus approfondie, d'autres facteurs sont également étudiés comme la composition chimique des œufs, la motilité et la viabilité, la densité et le pouvoir fécondant des spermatozoïdes.

1.2.1.1. Qualité des oeufs

La qualité des œufs peut se définir comme toutes les caractéristiques qui déterminent leur capacité à survivre. Chez de nombreux poissons Téléostéens, comme le bar, la daurade, le flétan ou la brème, le taux de mortalité des œufs est très important avec des survies post-sevrage souvent inférieures à 5 %. Seuls les Salmonidés présentent une meilleure qualité des oeufs et des larves avec tout de même deux tiers qui meurent dans les premiers mois de l'élevage (Bromage et Roberts, 1995). Afin d'être utiles en condition d'élevage, les techniques de détermination de la qualité des œufs doivent être simples et facilement applicables dès les premiers stades de développement.

Les premiers critères de qualité des œufs classiquement utilisés sont le poids et la taille moyens à l'oviposition. Il permettent de déterminer les fécondités relative et absolue des géniteurs désignant le nombre d'ovocytes produits par une femelle et par an et celui par unité de poids corporel, respectivement. Les taux de fécondation et d'éclosion constituent de bons indicateurs de qualité qui reflètent bien, quand il sont faibles, les mauvais taux de survie observés à tous les stades de développement suivants (Springate *et al.*, 1984 ; Bromage *et al.*, 1992). Chez les poissons marins, de nombreuses écloséries distinguent des œufs de bonne ou de mauvaise qualité par leur capacité à flotter ou à couler dans de l'eau de mer (Carrillo *et al.*, 1989 ; Kjorsvik *et al.*, 1990). D'autres facteurs ont été identifiés comme la composition chimique des oeufs en protéines, en acides gras et en vitamine C (Abi-Ayad, 1997).

1.2.1.2. Qualité du sperme

Chez les Téléostéens, l'estimation de la qualité des gamètes mâles se fait principalement grâce aux critères suivants : la motilité, le pouvoir fécondant, la concentration des spermatozoïdes, le spermatocrit et la composition biochimique (Piironen et Hyvarinen, 1983 ; Harell *et al.*, 1990 ; Suquet *et al.*, 1992 ; Rana, 1995 ; **Tableau 10**).

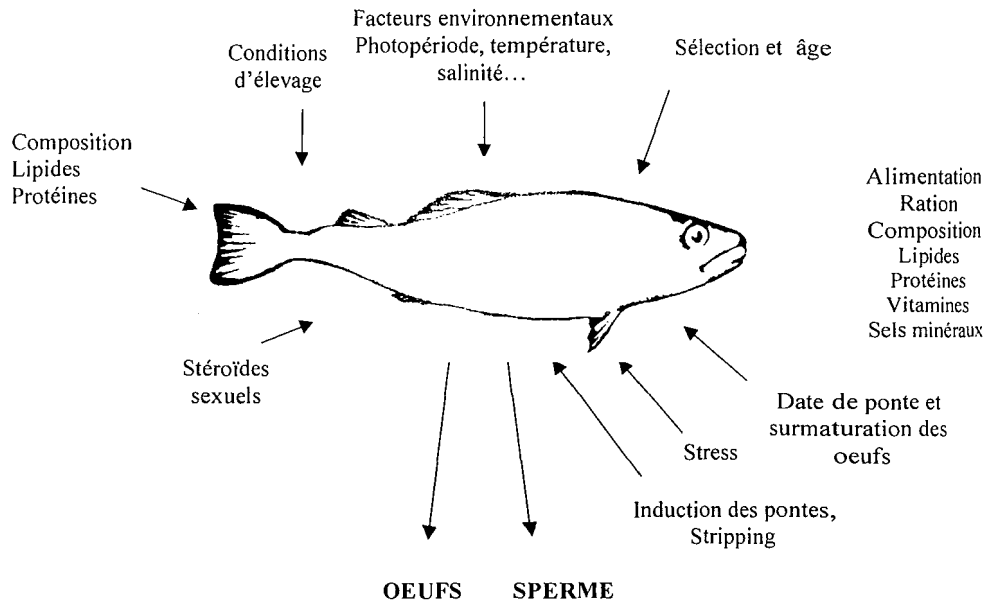
La motilité est le paramètre le plus couramment utilisé pour évaluer la qualité du sperme. Pour tester la motilité, un diluant approprié est utilisé avant d'examiner la semence sous un microscope (avec lumière) assisté par ordinateur grâce à une analyse de la mobilité

cellulaire (CMA). Une importante dilution est nécessaire (au moins 1 : 1000) pour initier de façon synchrone la motilité de tous les spermatozoïdes et pour des dilutions plus faibles, les spermatozoïdes ne sont pas tous activés et l'initiation de la motilité apparaît progressivement quelques minutes après l'activation. Des niveaux de dilution insuffisants ou irréguliers peuvent alors expliquer de nombreuses différences observées dans la littérature. Ainsi, des taux de dilution plus importants entraînent une diminution de la motilité des spermatozoïdes comme cela a été observé chez le turbot (*Suquet et al.*, 1992). Différentes solutions servent de diluant : eau distillée (pH 7.0 ± 0.1), solutions de NaCl, glucose et sucrose à différentes osmolarités (50 à 400 mosmol.kg⁻¹, pH 7.5), solutions de NaCl (osmolarité de 100 mosmol.kg⁻¹) à différents pH (6 à 9) et solution de NaCl contenant différentes concentrations de potassium (10 à 40 mmol.L⁻¹ de KCl). Le pourcentage de motilité est évalué juste après l'activation du sperme (10 sec, *Billard et al.*, 1991).

Le mécanisme de la motilité des spermatozoïdes a été étudié chez les Salmonidés. De fortes concentrations extracellulaires en ions K⁺ inhibent son activation et une dilution extracellulaire des K⁺ permet alors de la stimuler (*Bromage et Roberts*, 1995). *Boitano et Omoto* (1991) ont montré que cette dilution induisait une hyperpolarisation qui déclenchait l'activation, sans augmentation du pH intracellulaire, bien qu'une augmentation du pH interne fut mise en évidence, quelque fois, après dilution (*Gatti et al.*, 1990). Il est suggéré que l'entrée de Ca⁺⁺ dans les cellules serait responsable de l'activation de la motilité, en considérant que les canaux spécifiques voltage - dépendant inhibiteurs de Ca⁺⁺ inhibent la motilité des spermatozoïdes (*Cosson et al.*, 1989). Il a ainsi été montré que l'influx de calcium entraîne une élévation du taux intracellulaire de cAMP et induit la motilité (*Christen et al.*, 1987 ; *Morisawa et al.*, 1991). La capacité du sperme à se mouvoir est acquise seulement quelques semaines après la fin de la spermatogenèse. *Muir et al* (1992) ont montré qu'un progestagène (17 α ,20 β dihydroxy-4-pregnen-3-one) augmentait le pH dans le canal spermatique, ce qui augmenterait le taux intracellulaire de cAMP dans le sperme, permettant l'acquisition de la motilité (*Morisawa et al.*, 1991). D'autres techniques sont utilisées pour étudier la motilité des spermatozoïdes comme l'analyse des fréquences de battement des flagelles (*Bromage et Roberts*, 1995) et l'enregistrement vidéo des mouvements de la tête ou de la queue des spermatozoïdes permettant de mesurer la vitesse et le déplacement total des spermatozoïdes pendant leur courte vie.

Le pouvoir fécondant est le test de qualité du sperme le plus concluant. Il est utilisé dans la plupart des études sur la fécondation artificielle et la conservation du sperme. Mais, il intègre un facteur indépendant qui est la qualité des oeufs. Le diluant utilisé doit être

Figure 28 : Principaux déterminants de la qualité des œufs et des larves chez les poissons.



approprié pour les gamètes mâles et femelles. Par exemple, chez la carpe commune, une solution de KCl est un bon diluant pour le sperme, mais les oeufs ne sont pas fécondés quand ils sont dilués dans une solution saline qui contient plus de 5-10 mM K⁺. Le pourcentage de fécondation, qui fait généralement référence au taux d'œufs oeillés / larves écloses, est critiquable, mais une évaluation des larves en développement à la première alimentation peut s'avérer être un meilleur indice de la qualité des gamètes (Bromage et Roberts, 1995).

La concentration des spermatozoïdes dans la laitance et le spermatocrit sont souvent utilisés pour caractériser la semence. Le nombre de spermatozoïdes est compté avec un haemocytomètre ou par spectrophotométrie (Suquet *et al.*, 1992 ; Ciereszko et Dabrowski, 1993). Le spermatocrit, c'est-à-dire le volume de spermatozoïdes/volume de laitance) est établi après centrifugation. Un autre paramètre utilisé est le taux de spermatozoïdes viables qui peut être mesuré après coloration à l'éosine et à la nigrosine. Les spermatozoïdes vivants sont comptés dans un échantillon arbitraire sur un écran avec un système d'analyse d'image (Vuthiphandchai et Zohar, 1999).

1.2.1.3. Qualité des larves

Les principaux facteurs étudiés sont la croissance et la mortalité, mais pour une étude plus poussée, il est intéressant d'analyser la résistance des larves au choc osmotique et au jeûne. En effet, afin de comparer la qualité de pontes issues du milieu naturel à celle obtenues en captivité et même en dehors de la période de reproduction naturelle, à partir de géniteurs nourris avec un aliment artificiel, la résistance des larves est un bon indicateur (Dhert *et al.*, 1992a ; Abi-ayad *et al.*, 1995 ; Abi-ayad, 1997 ; Migaud *et al.*, 2001b et c).

1.2.2. Facteurs influençant la qualité des pontes et des larves

Les déterminants de la qualité des œufs sont encore mal connus bien que de nombreux facteurs aient été identifiés comme déterminants (**Figure 28**) : les facteurs alimentaires, les conditions d'élevage, l'âge des géniteurs, les facteurs génétiques, le stress, la colonisation par des microorganismes et la surmaturation des œufs, phénomène intervenant après l'ovulation (Kjorsvik *et al.*, 1990 ; Bromage *et al.*, 1992 ; Bromage et Roberts, 1995 ; Abi-ayad, 1997). Mais, parmi tous ces critères, seul le statut nutritionnel (Watanabe *et al.*, 1985), l'âge des géniteurs (Abi-Ayad, 1997), le stress (Campbell *et al.*, 1992), la colonisation par des microorganismes (Barker *et al.*, 1989, 1991), la date de ponte (Abi-ayad, 1997) et les

phénomènes de surmaturation des œufs (Kjorsvik *et al.*, 1990 ; Bromage *et al.*, 1992) influenceraient clairement la qualité des œufs.

1.2.2.1. L'alimentation

La qualité et la quantité de l'aliment des géniteurs sont des facteurs importants qui influencent la viabilité des œufs. Des études ont montré qu'une diminution de l'alimentation réduisait la fécondité des femelles et retardait la maturation (Springate et Bromage, 1985 ; Kjorsvik *et al.*, 1990). La qualité des œufs et des larves est déterminée dans une large mesure par la qualité des acides gras alimentaires et des vitamines distribués aux géniteurs (Sandnes *et al.*, 1984 ; Abi-ayad, 1997 ; Czesny et Dabrowski, 1998). Les teneurs en acides gras polyinsaturés de la série (n-3), et plus spécialement le 22 : 6(n-3) et le 20 : 5(n-3) (EPA), dans l'alimentation des géniteurs affectent fortement la qualité des œufs et des larves (Sargent, 1995) comme chez la daurade japonaise, *Pagrus major* (Watanabe et Kiron, 1995), la daurade royale (Zohar *et al.*, 1995 ; Almansa *et al.*, 1999), le doré jaune (Moodie *et al.*, 1989) et la perche commune (Abi-Ayad *et al.*, 1995 ; Abi-Ayad, 1997).

De fortes teneurs en EPA sont synonymes d'une bonne qualité des œufs (Rinchart, 1996). Par exemple, les géniteurs de perche commune nourris avec un aliment ne contenant pas suffisamment d'acide gras cervonique 22 : 6(n-3) produisent des œufs et des larves présentant des faibles taux de fécondation et d'éclosion et une faible résistance au choc osmotique et au jeûne par comparaison aux œufs et aux larves du milieu naturel ou ceux issus de géniteurs nourris avec un aliment équilibré en DHA (C22 : 5(n-6), Abi-Ayad, 1997). Outre le rôle énergétique joué par ces acides gras, ceux-ci entrent dans la composition des phospholipides des membranes cellulaires et des cellules nerveuses (Rinchart, 1996). Le rapport DHA/EPA est important car il rend compte de la proportion des constituants des membranes cellulaires, des tissus nerveux et des précurseurs des prostaglandines (Bell *et al.*, 1986).

1.2.2.2. L'âge et le stress

Les principaux travaux montrent que l'âge et le stress agissent sur la qualité du sperme et donc sur la qualité des œufs et des embryons. Des études sur la qualité du sperme et l'âge des géniteurs ont été réalisées chez plusieurs espèces comme la truite arc-en-ciel (Schmidt-Baulain et Holtz, 1991), le turbot (Suquet *et al.*, 1998), le bar d'Amérique (Vuthiphandchai et Zohar, 1999). Tous ces travaux ont montré une diminution des performances de reproduction,

Tableau 11 : Les effets du stress appliqué à différents moments de la vitellogenèse sur la reproduction de la truite arc-en-ciel (Schreck *et al.*, 2001).

Type de stress	Phase durant laquelle le stress est appliqué		
	En début de période	En fin de période	Pendant toute la période
Moyen (1 fois par jour)	Aucun effet sur l'oviposition et la fécondité absolue Œufs plus petits Forte hétérogénéité du diamètre des œufs Aucun effet sur la survie des embryons	Pontes en avance de deux semaines Aucun effet sur la fécondité absolue et le diamètre des œufs Forte hétérogénéité du poids des œufs Aucun effet sur la survie des embryons	idem
Fort (Plusieurs émersions par jour)	-	Aucun effet sur la fécondité absolue Œufs plus petits Survie des embryons plus faible	Pontes retardées de 3 semaines Aucun effet sur la fécondité absolue Œufs plus petits Survie des embryons plus faible

c'est-à-dire du volume de sperme émis, de la concentration en spermatozoïdes et du pourcentage de spermatozoïdes motiles, au cours de la vie des géniteurs. Chez le bar d'Amérique, il a été montré que des géniteurs âgés de 3 ans produisaient un nombre plus important de spermatozoïdes (3 fois plus nombreux que pour les deux autres groupes) et une concentration et une densité plus importantes comparée à des géniteurs âgés de 1 ou 12 ans (Vuthiphandchai et Zohar, 1999). Holland *et al.* (1996) ont montré que le volume de laitance émis et le pourcentage de spermatozoïdes motiles chez le bar d'Amérique âgé de 10 ans étaient respectivement de 1.7 ± 0.4 mL/kg et 31 ± 7 %.

L'âge des femelles influe également sur la qualité des œufs et des larves. Des travaux ont montré chez de nombreuses espèces que des femelles plus âgées produisaient des œufs plus gros et des larves de plus grande taille (Springate and Bromage, 1985 ; Abi-Ayad, 1997). De plus, le taux de fécondation est élevé et le taux de malformation embryonnaire et larvaire est réduit lorsque les œufs sont produits par des géniteurs plus âgés.

Chez de nombreux poissons femelles stressés maintenus en captivité, des travaux ont montré que l'ovulation était retardée, les œufs fécondés étaient plus petits et de moins bonne qualité et la production de la laitance réduite (Kjorsvik *et al.*, 1990 ; Campbell *et al.*, 1992 ; Contreras-Sanchez *et al.*, 1998 ; Mylonas *et al.*, 1998a et b ; Fauvel *et al.*, 1999 ; Schreck *et al.*, 2001 ; **Tableau 11**). Des stress aigus répétés (3 min d'émersion) appliqués à des femelles de truite commune sur une période de 9 mois précédant la ponte entraînent des ovulations retardées et une diminution de la taille des œufs (Pankhurst et Van Der Kraak, 1997).

1.2.2.3. La date de ponte et le phénomène de surmaturation

Une diminution de la qualité des œufs et des larves de perche au fur et à mesure que l'on progresse dans la saison de reproduction a été observée (Kestemont *et al.*, 1999 ; Migaud *et al.*, 2001c). En conditions naturelles, les géniteurs de perche commune peuvent pondre sur une période de 6 à 7 semaines et la qualité des œufs et des larves varie fortement durant cette période. En début de saison, les pontes sont généralement compactes, les rubans fermes et les œufs étroitement accolés les uns aux autres. En cours de saison, les pontes deviennent progressivement plus lâches, les rubans se déchirent rapidement et les larves ont tendance à éclore prématurément. Cette variation dans la qualité des rubans a pu être corrélée avec les variations des taux de fécondation et d'éclosion et la résistance des larves aux différents tests de stress, osmotique et jeûne (Abi-Ayad, 1997 ; Migaud *et al.*, 2001c). Chez la perche commune, en période de ponte, il a été observé une augmentation progressive de l'activité de

Tableau 12 : Temps après l'ovulation pendant lequel les œufs sont viables et la qualité optimale chez différentes espèces (Kjorsvik *et al.*, 1990).

Ordres	Espèces	Temps	Auteurs
Cypriniformes	<i>Carrasius auratus</i>	2-3 h	Formacion, 1991
Salmoniformes	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	4-6 j	Springate <i>et al.</i> , 1984
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	20 j	Fitpatrick <i>et al.</i> , 1987
	<i>Salvelinus alpinus</i>	5 jours	Gillet, 1991
Pleuronectiformes	<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	4-6 h	Kjorsvik <i>et al.</i> , 1990
	<i>Scophthalmus maximus</i>	10-20 h	McEvoy, 1984

la cathepsin L chez des œufs âgés de 7 jours en relation avec la diminution des taux de fécondation et d'éclosion (Kestemont *et al.*, 1999). Ces résultats suggèrent que la qualité des larves diminue au cours de la période de ponte.

Suite à l'ovulation, les œufs subissent fréquemment un phénomène appelé surmaturation entraînant une diminution progressive de leur qualité jusqu'à leur mortalité (Springate *et al.*, 1984 ; Fitzpatrick *et al.*, 1987 ; Suquet *et al.*, 1998). Chez toutes les espèces étudiées, cette chute de qualité des œufs apparaît si les œufs sont retenus dans les gonades femelles après l'ovulation et avant le stripping ou si les œufs sont maintenus *in vitro* dans du liquide ovarien après le stripping (Bromage et Roberts, 1995). Ainsi, la période d'oviposition optimale, correspondant au moment où les taux de fécondation, d'éclosion et de survie sont les plus importants, varie selon les espèces de poisson (**Tableau 12**).

De plus, le taux de surmaturation des œufs est dépendant de la température, des températures élevées ou basses réduisant ou augmentant, respectivement, la période optimale d'oviposition (Gillet, 1991). Ceci pourrait expliquer le fait que la qualité diminue au fur et à mesure que l'on progresse dans la saison de reproduction chez les poissons à ponte printanière et estivale, la température augmentant durant cette période.

2^{EME} PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE

2^{ème} PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

2.1. Problématique scientifique

Parmi les facteurs environnementaux, la température et la photopériode semblent être les facteurs déterminants dans le contrôle du cycle de reproduction et de la ponte chez les espèces des eaux tempérées (Scott, 1979 ; Bromage, 1993 ; Ciereszko *et al.*, 1997a et b). Peu de travaux ont été réalisés sur la perche commune, par comparaison aux autres Percidés comme la perche jaune (Dabrowski *et al.*, 1996) ou le doré (Malison *et al.*, 1998), et aux Salmonidés.

Si le rôle de la température sur le cycle de reproduction de la perche commune semble être en partie établi (Migaud *et al.*, 2001b), celui de la photopériode ne l'est pas. Ces deux facteurs jouent-ils des rôles différents en fonction des principales étapes du cycle de reproduction de la perche commune et en fonction du sexe ?

Comme cela a été démontré récemment, le contrôle environnemental du cycle de reproduction de la perche commune implique que la période de maintien au froid des géniteurs (6-8°C) soit longue (Hokanson, 1977 ; Migaud *et al.*, 2000, 2001a) ; une période de 5 mois permet ainsi d'obtenir des femelles présentant un développement de la masse ovarienne similaire à celui observé chez des géniteurs prélevés en milieu naturel (IGS = 20-24 %, diamètre ovocytaire = 800 µm). Cela n'est pas le cas avec seulement 3 mois de maintien au froid (Sulistyo *et al.*, 1997). Après une phase de réchauffement de 2 semaines (de 6 à 14°C), des pontes (fécondités absolues de 30-50000 œufs / femelle) ont été récoltées mais aucune fécondation n'a été observée. Ces travaux montrent l'importance des variations de la température pendant les phases de refroidissement et de maintien au froid sur le déroulement des gonadogenèses mâle et femelle. Il est donc possible d'obtenir des œufs en dehors de la période naturelle de reproduction grâce aux seules variations de la température et cela, à partir de géniteurs préalablement élevés dans des conditions standards stables (20-22°C, photopériode 12L : 12O) et ne s'étant jamais reproduits. Mais, si le développement des gonades est initié chez une partie des poissons (environ 20 à 30 %), des points de blocage persistent, empêchant les processus de la maturation ovocytaire et de la fécondation de se dérouler normalement. En effet, en plus d'une très forte hétérogénéité de développement des géniteurs mâles et femelles, de nombreux cas d'atrésie pré-ovulatoire ont été observés, très peu de pontes ont été obtenues et aucune fécondation n'a eu lieu.

Deux hypothèses principales peuvent être formulées :

- un protocole de réchauffement de l'eau inadapté ou mal contrôlé (durée de la période de réchauffement, vitesse d'augmentation de la température et température finale atteinte),
- une absence de variations de la photopériode ou des caractéristiques inadaptées de la lumière artificielle (intensité lumineuse, spectre lumineux...) au cours du cycle de reproduction.

Un des outils utilisés pour étudier l'influence des variations des facteurs environnementaux (température et photopériode) sur les principales étapes du cycle de reproduction est le suivi des stéroïdes sexuels impliqués dans le développement ovarien et testiculaire. Les teneurs hormonales (stéroïdes sexuels), relevées chez les géniteurs, en réponse à une modification de l'environnement, sont très variables (Migaud *et al.*, 2001b). Quelles sont les causes de cette hétérogénéité ? La perception des variations des facteurs environnementaux est-elle différente d'un géniteur à l'autre ou est-ce la transduction de ces signaux au niveau du cerveau qui est plus ou moins efficace selon le géniteur ? Cette variabilité inter-individuelle est-elle en relation avec la taille, l'âge et le sexe des géniteurs ?

L'objectif de ce travail est de mieux comprendre le déterminisme environnemental de la reproduction. Ainsi, une première expérience a été réalisée pour vérifier l'hypothèse qu'une période de réchauffement inadaptée serait à l'origine des problèmes de dégénération des gonades (atrésie) observés chez les femelles et que les variations de la température assureraient le contrôle complet du cycle de reproduction. Deux protocoles de réchauffement de l'eau ont été testés, la qualité des pontes et des larves obtenues a été comparée à celles obtenues en milieu naturel. Pour cela, un référentiel de qualité, non exhaustif, sur l'évolution de la qualité des pontes et des larves en période de reproduction naturelle a été préalablement réalisé.

Le rôle de la photopériode a ensuite été étudié au cours de deux expériences, l'une sur l'entrée en gonadogenèse et l'autre sur le cycle complet de reproduction. Seules des variations de la durée de la photophase ont été testées, l'intensité lumineuse et ses variations journalières (aube et crépuscule) ainsi que la qualité du spectre lumineux n'ont pas encore fait l'objet d'études approfondies.

Figure 29 : Structure d'incubation des pontes de perche commune *Perca fluviatilis* dans un bassin de 500 L dans une salle climatisée.

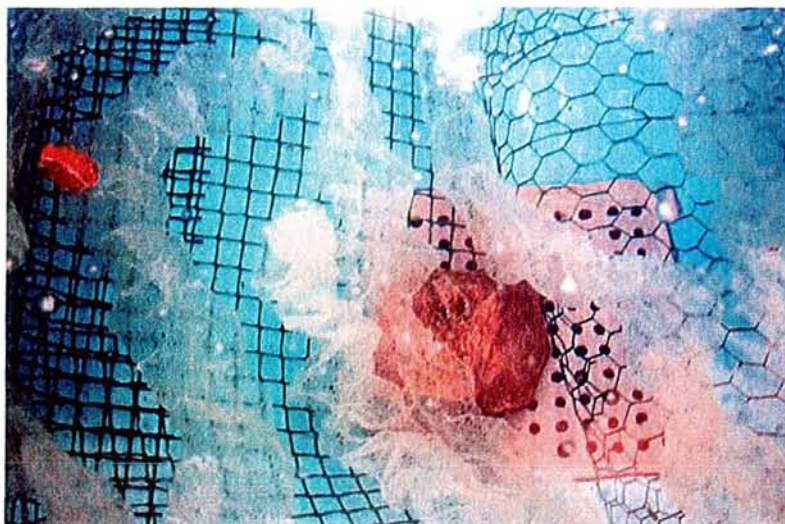
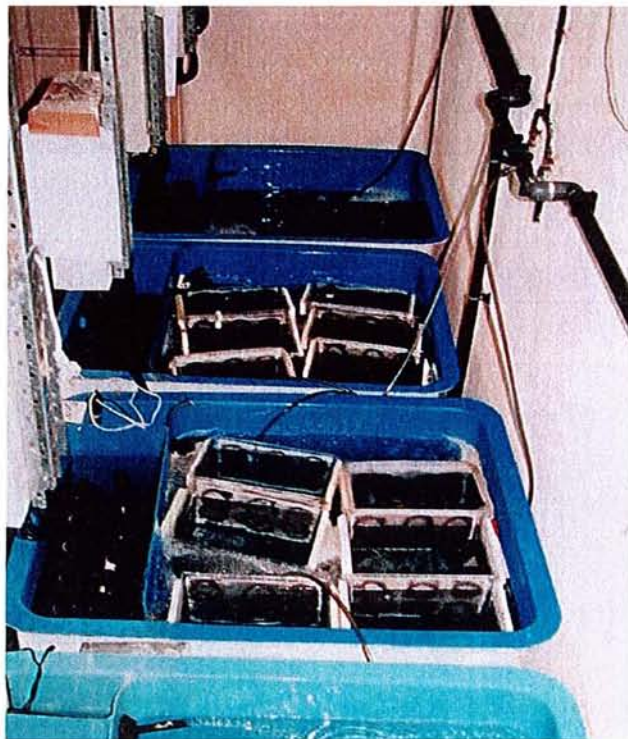


Figure 30 : Photo d'une salle climatisée expérimentale montrant les cages utilisées pour l'incubation des rubans de perche commune *Perca fluviatilis*.



2.2. Matériels et méthodes

Les différents lots de géniteurs utilisés sont tous issus d'étangs situés en Moselle et proviennent de pontes naturelles (« Souche Lorraine »).

2.2.1. Expérience 1 : Référentiel de qualité des pontes en milieu naturel

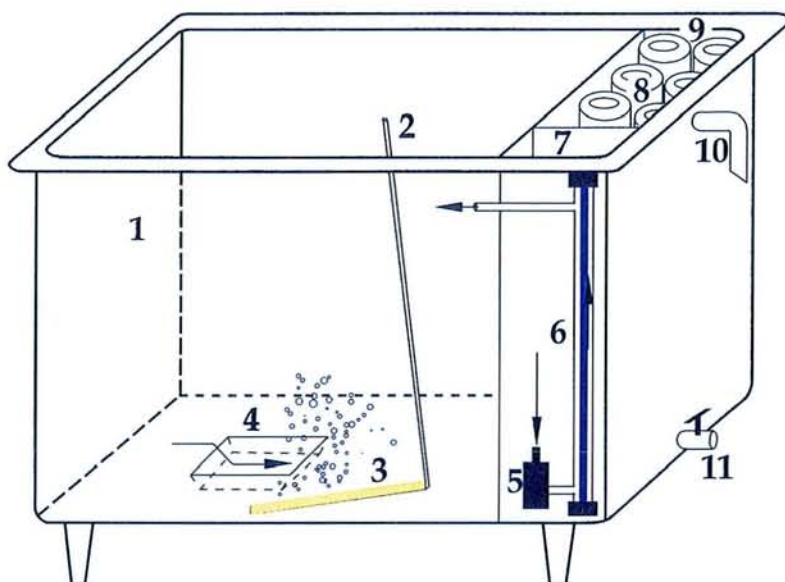
2.2.1.1. Matériel biologique

Les pontes proviennent d'un pisciculteur d'étang lorrain, le GAEC piscicole du Saulnois (Gélucourt, Moselle). Les poissons, après avoir été pêchés traditionnellement, sont stockés (environ 100 kg) avec du poisson fourrage dans un bassin bétonné afin de pouvoir récupérer aisément les rubans. Ces derniers pèsent environ 150 g.

2.2.1.2. Structures expérimentales

Les pontes sont incubées dans une écloserie EPIM (écloserie piscicole intégrée modulable, Fontaine *et al.*, 1996b) initialement prévue pour l'incubation des œufs de truite. Elle comprend 4 auges et 16 clayettes d'incubation. Les clayettes sont de petites enceintes destinées à l'incubation des œufs. Le fond perforé permet la circulation de l'eau et favorise l'oxygénation des pontes. Elle fonctionne en circuit fermé avec une filtration sur mousse de polyuréthane et un stérilisateur UV. La température de l'eau est maîtrisée grâce à un groupe froid. Les pontes sont ensuite placées individuellement dans des cages en plastique, équipées de fenêtres latérales recouvertes de toiles, dont la taille des mailles est adaptée aux larves de perche (**Figures 29 et 30**). Ces structures, dans lesquelles se sont déroulées les éclosions, sont disposées dans des bassins de 500 l. Chaque bassin a son propre système de traitement de l'eau et fonctionne en circuit fermé (**Figure 31**). Il est divisé en deux compartiments distincts, l'un accueillant les cages ("volume utile") et l'autre servant à la filtration de l'eau. L'eau est aspirée par une pompe (débit de 750 l/h) vers le compartiment de filtration où après une décantation, elle est filtrée à travers des mousses de polyuréthane (type Filtren T 30, LP Mousse) agissant comme un filtre mécanique et biologique. Puis, l'eau traverse le bactéricide à rayons UV (15 W), détruisant plus de 95 % des germes, avant de retourner dans le volume utile (Fontaine *et al.*, 1996a et b).

Figure 31 : Schéma d'un bassin de 500L fonctionnant en circuit fermé.



- | | |
|---|--|
| 1 = volume utile | 7 = compartiment d'eau filtrée |
| 2 = arrivée d'air surpressé | 8 = mousse de filtration |
| 3 = diffuseur | 9 = compartiment de décantation et de filtration |
| 4 = évacuation équipée d'une crépine | 10 = trop plein |
| 5 = pompe immergée (750 L·h ⁻¹) | 11 = vanne de vidange |
| 6 = stérilisateur UV | Flèches = circulation de l'eau |

Les rubans sont retirés une fois les éclosions achevées, soit 4-5 jours après le début des éclosions (à une température de 17°C).

2.2.1.3. Prélèvements et paramètres étudiés

Des rubans sont prélevés pendant toute la période de ponte du 10 avril au 2 mai 2000 au rythme de trois rubans tous les trois jours.

Après avoir déterminé les taux de fécondation et d'éclosion, nous mesurons le poids et la taille des larves. Puis, des tests de résistance au choc osmotique et au jeûne sont réalisés.

2.2.1.4. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données concernant la qualité des larves issues de pontes récupérées en milieu naturel est réalisée grâce à des analyses de variance selon un plan déséquilibré en utilisant une procédure GLM en mesures répétées sans effet traitement (SAS, Littell *et al.*, 1996, **tableau 13**). Le temps est considéré comme un facteur fixe. Toutes les données sont exprimées en moyennes ajustées $\pm$ SE (erreur standard) et sont comparées à l'aide du test ajusté de Scheffé. Les données issues des pontes récoltées le 10 avril n'ont pas été prises en compte du fait d'un problème technique qui a modifié les conditions expérimentales (panne du groupe froid permettant la thermorégulation de l'eau).

Pour toutes les analyses statistiques, le coefficient de variation de l'écart type résiduel (CV ETR) est indiqué. Le seuil de risque α de première espèce est fixé à $P < 0.05$ pour toutes les analyses statistiques réalisées et les valeurs auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement.

Tableau 13 : Décomposition des degrés de liberté pour l'analyse statistique des résultats du référentiel de qualité des pontes issus du milieu naturel : ddl f = degrés de liberté factoriels, ddl r = degrés de liberté résiduels.

Source de variabilité	ddl f	ddl r
Temps	5	10
Procédure	GLM (moyennes ajustées)	

2.2.2. Expérience 2 : Influence de la température et du poids initial des géniteurs sur un cycle de reproduction hors-saison de perche commune

2.2.2.1. Matériel biologique

Les poissons utilisés lors de cette expérience sont issus de pontes naturelles récoltées au Domaine Piscicole du Lindre (Moselle). La fécondation s'est déroulée en conditions naturelles et l'élevage larvaire est réalisé tout d'abord dans des bouteilles de Zoug jusqu'à l'éclosion puis en bassin approvisionné en eau de l'étang.

Les larves sont alimentées à l'aide de nauplii d'artémia dans un premier temps puis sevrées avec de l'aliment artificiel BioMar (gamme Aquastart). Au stade juvénile, les perches sont transférées à la station piscicole de Luxaquaculture (Luxembourg) où elles ont grossi dans des conditions constantes de photopériode et de température ($T = 20-22^{\circ}\text{C}$, L/O : 12/12) jusqu'à leur transfert au laboratoire. Le grossissement est réalisé grâce à des aliments de la société BioMar (gamme Ecolife) dont la granulométrie varie au cours de la croissance des poissons. Durant leur élevage, les poissons sont triés en fonction de leur taille afin de constituer des lots homogènes. Au début de l'expérience, les poissons sont âgés d'un an et demi (1^{+}). Deux classes de poids sont réalisées, la première de 200-250 g et la seconde de 350-400 g.

2.2.2.2. Conditions expérimentales

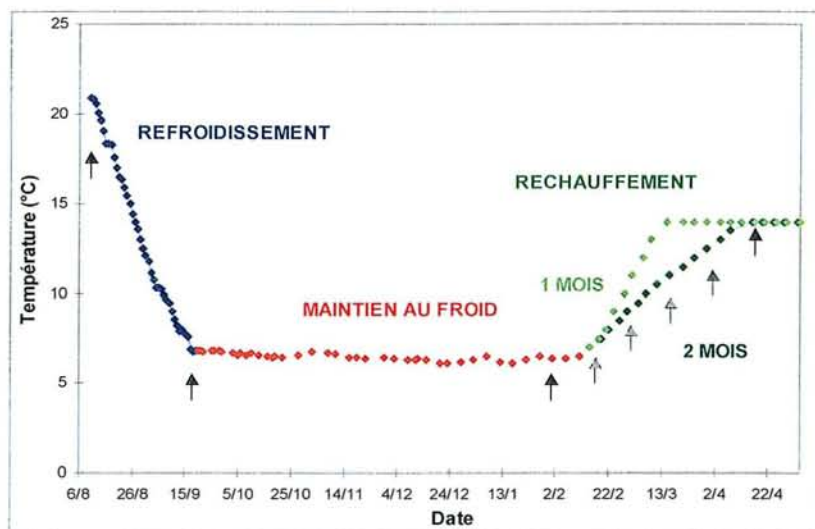
- Structures d'élevage

Six salles climatisées sont utilisées. Elles sont équipées d'horloges pour le contrôle de la photopériode et d'arrivée d'air pour l'oxygénation des poissons. Les expériences sont réalisées dans les mêmes bassins de 500 l que ceux présentés précédemment. L'éclairage est assuré par deux néons suspendus au-dessus des bassins (tubes fluorescents de type blanc industriel ; intensité lumineuse d'environ 400-500 lux à la surface de l'eau).

- Alimentation

Les géniteurs sont alimentés, pendant toute la durée de l'expérience, avec un aliment de type commercial, de la gamme Ecolife (granulométrie n° 4,5) distribué par la société BioMar et contenant 46 % de protéines, 18 % de matières grasses et 1.7 % de cellulose. En période d'acclimatation, un taux de rationnement de 1 % de la biomasse est distribué en deux repas

Figure 32 : Protocole thermopériodique appliqué lors de l'expérience en conditions hors-saison sur des géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis*. Les flèches noires indiquent les sacrifices réalisés tout au long de l'expérience et en gris les prélèvements sanguins réalisés sur les géniteurs marqués, en période de réchauffement (suivis individuels).



journaliers (9h00 et 16h00). Puis, en période de refroidissement et de réchauffement, les géniteurs sont alimentés *ad libitum*. Les aliments non consommés par les poissons et déposés au fond des bassins sont systématiquement retirés pour éviter une pollution de l'eau.

- Qualité de l'eau

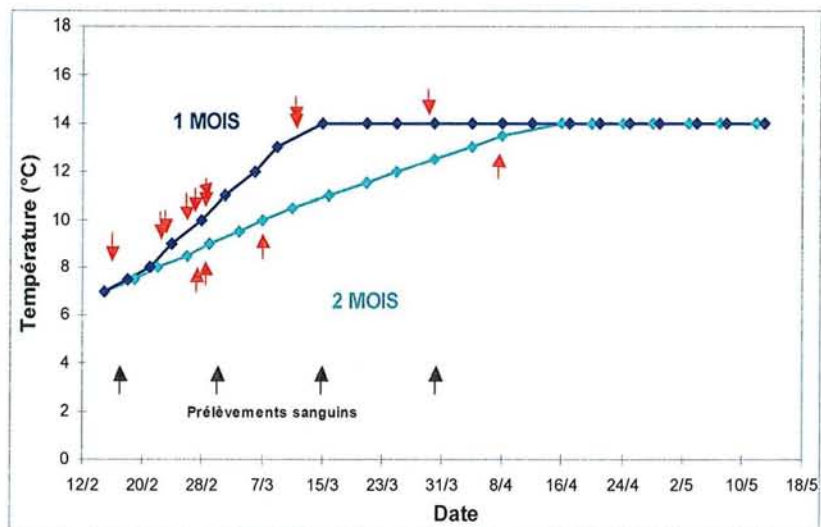
La qualité de l'eau (paramètres physico-chimiques) est contrôlée trois fois par semaine. Des prélèvements d'eau dans chaque bassin sont réalisés pour doser l'azote nitreux (N-NO_2^-) et l'azote ammoniacal total (N-NH_4^+) par spectrophotométrie selon les méthodes à la sulfanilamide et au bleu d'indophénol, respectivement (Rodier, 1984 ; Spectrophotomètre Cary 1E U.V.). Le pH est mesuré grâce à un pH-mètre (Bioblock pH 330 Set). Il est maintenu entre 6.5 et 7.5 grâce à des apports en hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO_3). La température de l'eau des bassins est mesurée quotidiennement et la teneur en oxygène dissous est maintenue supérieure à 6 mg.l^{-1} (Thermo-oxymètre Bioblock Oxi 320 Set).

- Déroulement de l'expérience

L'expérience a débuté au mois d'août 1999 et a duré 9 mois (jusqu'au mois d'avril 2000). L'effet taille des géniteurs (200-250 g / 350-400 g) est testé. Les géniteurs de 200 - 250 g sont répartis dans 6 bassins (22 poissons / bassin) et ceux de 350 - 400 g dans 4 bassins (15 poissons / bassin), dans une même salle climatisée afin d'obtenir une biomasse d'environ 10 kg/m^3 . Les poissons ont subi les mêmes phases d'acclimatation, puis de refroidissement et de maintien au froid. La phase d'acclimatation a duré 1 semaine à une température fixe de 22°C et une photopériode de 12L : 12O (éclairage de 8h00 à 20h00). La photopériode est fixée à ce niveau pendant toute la durée de l'expérience. L'intensité lumineuse à la surface de l'eau est d'environ 100 lux. Le programme thermopériodique mis au point par Sulistyó *et al.* (2000) a débuté le 8 août (**Figure 32**). La phase de refroidissement de l'eau, correspondant à la période automnale en milieu naturel, a duré 6 semaines (du 09/08 au 19/09/1999, **Annexe 1**) au terme de laquelle la température de l'eau est abaissée à $6 \pm 1^\circ\text{C}$. Puis, la phase de maintien au froid, correspondant à la période hivernale en milieu naturel, a duré 5 mois (du 20/09/1999 au 20/02/2000) à une température de $6 \pm 1^\circ\text{C}$.

Au terme de cette période de maintien au froid, les poissons sont regroupés en deux lots, un par classe de poids. Un contrôle de croissance sur la totalité des poissons a permis de les trier en fonction de leur facteur de condition K_1 (voir paragraphe II.2.4.1.) et de déterminer les poissons dont les gonades étaient développées (en complément d'observations externes

Figure 33 : Variations de la température des deux modalités de réchauffement appliquées (1 mois ou 2 mois) aux géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis*. Les dates de prélèvements sont figurées par des flèches noires et les pontes par des flèches rouges.



comme le gonflement de l'abdomen). Ainsi, trois lots différents de poissons ont été réalisés selon les valeurs de K_1 :

- $K_1 > 2$: classe caractérisée par des femelles avec un ovaire développé ou des mâles spermants,
- $2 > K_1 > 1.7$: classe intermédiaire regroupant des poissons engagés dans la reproduction ou non,
- $K_1 < 1.7$: classe regroupant essentiellement des poissons non développés et de petits mâles spermants.

Seuls les géniteurs des deux premières classes sont utilisés.

Un prélèvement au hasard (5 femelles sacrifiées / classe) a permis de déterminer le stade de développement des gonades femelles. Etant donné qu'aucun effet du poids initial des géniteurs sur l'initiation de la gonadogenèse n'a été mis en évidence, les deux classes de poids sont regroupées puis les poissons sont répartis aléatoirement, en respectant les proportions des deux classes, dans les 6 salles climatisées (18 poissons / bassin / salle soit environ une biomasse de 10kg/m³).

Deux modalités de réchauffement (**Figure 33**), correspondant à la période printanière en conditions naturelles sont appliquées du 21/02/2000 au 17/04/2000 (**Annexe 2**).

- soit un réchauffement progressif de 6 à 14°C sur 1 mois et 1 mois à une température fixée de 14°C (1),
- soit un réchauffement progressif de 6 à 14°C en 2 mois (2).

Avant le début de la phase de réchauffement de l'eau, un marquage des femelles grâce à des marques (Northwest Marine Technology, marques alphanumériques de type VI alpha) insérées sous la peau au niveau de l'opercule, est réalisé afin d'effectuer des suivis individuels des poissons.

La température de l'eau est modifiée à intervalles de temps réguliers, tous les 3 jours.

- Prélèvements et paramètres étudiés

Différents types de prélèvements sont réalisés (**Figure 32**):

- Des géniteurs sacrifiés (5 femelles par classe de poids et par prélèvement) en période de refroidissement et de maintien au froid.
 - Prélèvements initiaux (le 8 août),
 - en fin de période de refroidissement (le 20 septembre),

Tableau 14 : Décomposition des degrés de liberté pour l'analyse statistique des résultats de l'expérience 2 : a. phase de refroidissement ; b. phase de réchauffement : ddl f = degrés de liberté factoriels, ddl r = degrés de liberté résiduels. Les chiffres entre parenthèse indiquent les données manquantes.

a

Source de variabilité	Refroidissement – Maintien au froid (200-250 g – 350-400 g)	
	ddl f	ddl r
Traitement	1	8
Temps	2	13
Traitement*temps	2	13
Procédure	MIXED (repeated/type CS) moyennes ajustées	

b

Source de variabilité	Réchauffement (1 mois – 2 mois)							
Séroïdes	T		E ₂		11-KT		17,20β-P	
	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r
Traitement	1	15	1	9	1	3 (3)	1	14 (1)
Temps	3	30 (15)	3	17 (10)	3	7 (2)	3	26 (16)
Développement (dev)	3	15	1	9	1	3	3	14
Traitement*temps*dev	17	30	8	17	5	7	17	26
Procédure	MIXED (repeated/type CS) moyennes ajustées							

- en fin de période de maintien au froid (le 1 février),
- finaux (le 17 avril).

Ces prélèvements ont permis de :

- réaliser des prises de sang au niveau du cœur (dosages hormonaux),
 - peser les différents organes, foie, viscères (y compris masse péri-viscérale) et gonade, pour le calcul des indices morpho-anatomiques (IGS, IVS et IHS),
 - prélever des fragments de gonade pour la réalisation de coupes histologiques.
- Des suivis individuels (5 femelles marquées) tous les quinze jours en période de réchauffement de l'eau :
 - 16 février, 1^{er} et 15 mars pour la modalité (1).
 - 16 février, 1^{er}, 15 et 30 mars pour la modalité (2, **Figure 33**).

Ces prélèvements ont permis de :

- réaliser des prises de sang au niveau de la veine caudale afin de doser la testostérone, l'œstradiol et la 17, 20 β -P chez les femelles et la testostérone, la 11-kétotestostérone et la 17, 20 β -P chez les mâles,
- réaliser des biopsies pour suivre la maturation finale des ovocytes.

Des prélèvements de ponte sont réalisés pour la détermination des taux de fécondation et d'éclosion, des critères de qualité des œufs (poids et taille) et des larves (poids, taille et résistance au stress osmotique et au jeûne).

2.2.2.3. Analyses statistiques

Les six salles climatisées sont réparties en trois blocs de 2 salles homogènes permettant chacune de contrôler la température de réchauffement pendant un mois ou deux mois. Les analyses statistiques des variations des indices morpho-anatomiques, des teneurs hormonales et de la qualité des pontes sont effectuées grâce à des analyses de variance en mesures répétées selon les modèles suivants (**Tableau 14**) :

- Période pré-expérimentale : plan déséquilibré, procédure MIXED en mesures répétées avec trois temps de prélèvement : initial, fin de période de refroidissement et fin de période de maintien au froid (SAS, Littell *et al.*, 1996).
- Période de réchauffement : plan déséquilibré, procédure MIXED en mesures répétées avec quatre temps de prélèvement et trois effets traitement testés : durée de la période

(1 mois ou 2 mois), sexe (mâle ou femelle) et développement des géniteurs (développés ou non développés).

- Le nombre de pontes et les taux de réponse des femelles et des mâles ont été comparés par des analyses de variance à une voie et au test de Newman-Keuls ($p < 0.05$) grâce au logiciel STATITCF.

La modélisation de la structure de la matrice de variance-covariance des procédures MIXED est de type CS.

Pour ces analyses, les données issues de la salle expérimentale 2 (modalité 2 mois de réchauffement) ne sont pas prises en compte car un problème technique n'a pas permis le respect du programme thermique initialement prévu.

La normalité des résidus est testée par une procédure GLM suivie de la procédure Univariate. Les données sont exprimées en moyennes ajustées $\pm$ SE (erreur standard) et ont été comparées à l'aide du test ajusté de Bonferroni. Pour toutes les analyses statistiques, le coefficient de variation de l'écart type résiduel (CV ETR) est indiqué. Le seuil de risque α de première espèce est fixé à $P < 0.05$ pour toutes les analyses statistiques réalisées et les valeurs auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement.

2.2.3. Influence de la photopériode sur le cycle de reproduction de la perche commune (expériences 3 et 4)

Le facteur photopériode est étudié lors de deux expériences :

- Expérience 3 : Effets des variations de la photopériode sur le déclenchement de la gonadogenèse et de la gamétogenèse.
- Expérience 4 : Effet des variations de la photopériode sur un cycle complet de reproduction.

Ces deux expériences sont réalisées sur le site expérimental de la Bouzule.

2.2.3.1. Conditions expérimentales communes aux deux expériences

- Matériels biologiques

Les géniteurs de perche, utilisés pour réaliser les expériences 3 et 4, ont la même origine que pour l'expérience 2 et sont issus des mêmes pontes prélevées en avril 1997 au Domaine

Tableau 15 : Description de la population de géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis* avant la mise en bassin, divisée en quatre lots homogènes, utilisée pour tester l'influence de la photopériode sur un cycle complet de reproduction.

Lots	Poids moyen (g)	Aliment	Taux de rationnement
1 (tête de lot)	407	Ecolife n° 4.5	0.7 %
2	262	Ecolife n° 4.5	0.8-0.9 %
3	250	Ecolife n° 4.5	0.8-0.9 %
4 (queue de lot)	74	Ecolife n° 3	1.3-1.4 %

Tableau 16 : Synthèse des apports en vifs tout au long des expériences 1 et 2.

Date de nourrissage	Types de poissons fourrage	Quantité (Kg)
20-juil-00	Poisson rouge	60
28-juil-00	Poisson rouge	100
3-août-00	Carpillon	35
10-août-00	Poisson rouge	4,8
15-août-00	Carpillon	25
22-août-00	Carpillon	20
28-août-00	Carpillon	20
6-sept-00	Carpillon	36
12-sept-00	Caracin	40
20-sept-00	Tanche	100
4-oct-00	Tanche	60
18-oct-00	Tanche	60
30-oct-00	Tanche	60
17-nov-00	Tanche	60
15-déc-00	Tanche	60
18-jan-01	Tanche	60
9-févr-01	Tanche	60
12-mars-01	Gardon	60
15-avril-01	Gardon	60
12-mai-01	mélange	60

Piscicole du Lindre (Moselle). L'éclosion, l'élevage larvaire et le sevrage sont réalisés sur place au Domaine du Lindre puis les larves sont transférées à la station piscicole de Luxaquaculture (Luxembourg) où les larves et juvéniles ont subi une phase de grossissement dans des conditions constantes de photopériode et de température ($T = 20-22^{\circ}\text{C}$, L/O : 12/12). 1 mois avant leur transfert (juin 2000) dans les bassins de la station expérimentale de la Bouzule, les géniteurs sont acclimatés à une photopériode de 16L : 8O correspondant à la photopériode observée mi-juillet (date du début des expérimentations) en milieu naturel et à une des conditions photopériodiques testées.

La phase de grossissement s'est terminée en juin 2000. Quatre lots homogènes sont réalisés mi-avril (dernier tri avant leur transfert) et leur alimentation est adaptée en fonction de leurs caractéristiques de croissance (**Tableau 15**, aliments BioMar de la gamme écolife).

A l'arrivée sur la plate-forme expérimentale, 18 ou 88 géniteurs, avec un poids compris entre 250 et 400 g, sont répartis dans chaque bassin de 500 litres ou de 3000 litres, respectivement pour les expériences 3 et 4, soit une biomasse maximale d'environ 10 kg/m^3 pour chaque expérimentation. Les poissons sont transférés manuellement pour limiter les risques de blessures et le stress.

Chaque expérience débute par une phase d'acclimatation des poissons à leur nouvel environnement (bassin, photopériode et alimentation) d'une durée de deux semaines. Un prélèvement initial est effectué en début de phase d'acclimatation.

- Alimentation

Les perches sont nourries à volonté exclusivement avec des proies vivantes (poisson fourrage) : carpillons, tanches, caracins, selon la saison. L'apport en vif est réalisé dès l'observation de leur absence dans les bassins d'élevage (**Tableau 16**). La quantité totale de poissons fourrage apportée est de l'ordre de 1000 Kg pour les deux expériences.

- Qualité de l'eau

Le suivi de la qualité de l'eau est réalisé selon le même protocole que pour l'expérience 2.

- Analyses statistiques

L'analyse statistique des indices morpho-anatomiques (IGS, IVS et IHS) et des stéroïdes sexuels est réalisée grâce à des analyses de variance selon un plan déséquilibré en randomisation totale en testant les effets traitements grâce à une procédure MIXED en

Tableau 17 : Décomposition des degrés de liberté pour l'analyse statistique des indices morpho-anatomiques, des stéroïdes sexuels et du diamètre ovocytaire chez les mâles et femelles : ddl f = degrés de liberté factoriels, ddl r = degrés de liberté résiduels. Les chiffres entre parenthèse indiquent le nombre de données manquantes.

a) Expérience 3 : Influence de la photopériode sur l'initiation de la gamétogenèse (femelles et mâles)

Source de variabilité	Indices morpho-anatomiques		Diamètre ovocytaire	
	Stéroïdes sexuels			
	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r
Traitement	2	5 (1)	2	5 (1)
Temps	2	10		
Traitement*temps	4	10		
Procédure	MIXED (moyennes ajustées)		ANOVA 1 (moyennes brutes)	

b) Expérience 4 : Influence de la photopériode sur un cycle complet de reproduction

	Chez les femelles					
Source de variabilité	Indices morpho-anatomiques		Diamètre ovocytaire		Stéroïdes sexuels	
	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r
Traitement	3	8	3	8	3	8
Temps	6	48	4	29 (3)	9	70 (2)
Traitement*temps	18	48	12	29	27	70
Procédure	MIXED (moyennes ajustées)					

	Chez les mâles			
Source de variabilité	Indices morpho-anatomiques		Stéroïdes sexuels	
	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r
Traitement	3	8	3	7 (1)
Temps	6	33 (15)	8	56
Traitement*temps	17	33	24	56
Procédure	MIXED (moyennes ajustées)			

mesures répétée (SAS software, Littell *et al.*, 1996), selon les modèles présentés dans les tableaux 17a et b.

Précédemment, la normalité des variances a été testée (procédure GLM et Univariate, SAS software). Les différences entre les moyennes ajustées obtenues par traitement et à chaque temps sont comparées par la méthode des contrastes. Pour des raisons de clarté, chaque effet traitement et temps est présenté séparément pour l'expérience 4.

Ainsi, les différences significatives résultant des comparaisons entre les quatre traitements à chaque temps sont indiquées sur chaque graphique à l'aide de lettres en majuscule et celles correspondant aux comparaisons entre les différents temps d'un même traitement en minuscule. Les valeurs auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement. Pour toutes les analyses statistiques, le coefficient de variation de l'écart type résiduel (CV ETR) est indiqué. Le seuil de risque α de première espèce est fixé à $P < 0.05$.

2.2.3.2. Conditions expérimentales spécifiques

- Expérience 3 : Influence de la photopériode sur l'initiation de la gonadogenèse

Cette expérience a duré 11 semaines du 17 juillet au 6 octobre 2000. Le sexe-ratio des poissons en début d'expérience était inconnu car aucun dimorphisme sexuel externe ne permet la différenciation du sexe en début de cycle de reproduction. Ce dernier a donc été déterminé *a posteriori* lors des sacrifices des poissons.

- Structures expérimentales

Les bassins de 500 l, disposés en extérieur sur le site expérimental de la Bouzule (Annexes 3 et 4), sont munis de couvercles en polystyrène extrudé.

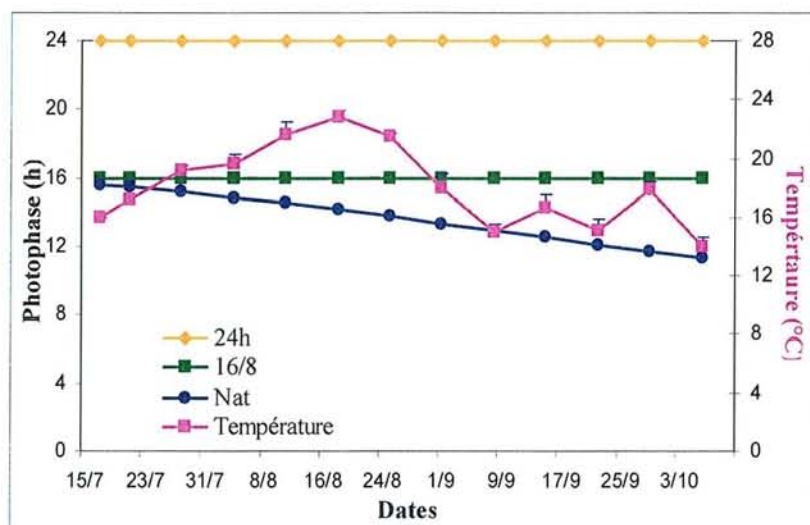
L'éclairage est assuré par un tube blanc fluorescent (Osram, L18 W/12-950) protégé par un boîtier étanche.

- Traitements expérimentaux

L'expérience étant effectuée à l'extérieure, les variations de la température ne sont pas contrôlées (Figure 34). Seule la photopériode varie d'un traitement expérimental à l'autre. Pour les lots en lumière artificielle, les caractéristiques de celle-ci sont les suivantes:

S.C.D. - U.H.P. NANCY
BIBLIOTHEQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cedex

Figure 34 : Protocole photo-thermopériodique appliqué chez la perche commune *Perca fluviatilis* pour tester l'influence de la photopériode sur le déclenchement de la gonadogenèse mâle et femelle (expérience 3).



- Intensité lumineuse d'environ 500 lux à la surface de l'eau,
- Spectre lumineux de type blanc industriel,
- Absence de variations journalières de l'intensité lumineuse (pas d'aube et de crépuscule recrées).

Trois modalités sont testées :

- Témoin : variations naturelles de la photopériode (bassins ouverts sur l'extérieur),
- Photopériode fixée à 16L : 8O (traitement 16/8) correspondant aux valeurs maximales enregistrées au mois de juin (éclairage à 7 h),
- Photophase constante de 24 h (traitement 24h).

Chaque modalité comporte trois réplicats répartis selon un plan en randomisation totale.

- Prélèvements et paramètres étudiés

Les prélèvements (**Figure 34**) sont effectués sur 3 mâles et 3 femelles sacrifiés à chaque date de prélèvement et consistent à réaliser une prise de sang au niveau du cœur (dosages hormonaux), peser les différents organes (calcul des indices morpho-anatomiques, IGS, IVS et IHS) et prélever des fragments de gonade pour déterminer les stades de développement et les diamètres ovocytaires (coupes histologiques).

- **Expérience 4 : Influence de la photopériode sur un cycle complet de reproduction**

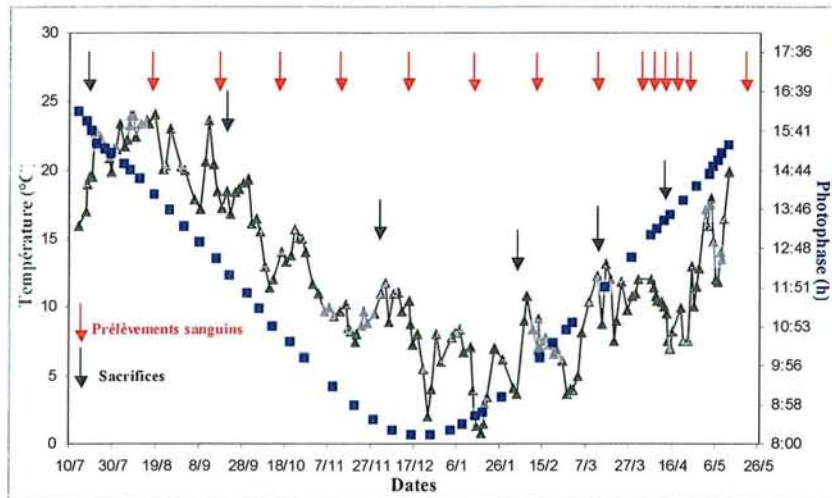
Cette expérience a duré 10 mois du 17 juillet 2000 au 20 mai 2001.

- Structures expérimentales

Une station expérimentale a été réalisée, pendant ce travail de thèse, sur le site de la Bouzule, en extérieur, afin de pouvoir tester la photopériode en condition naturelle de température. Des bassins sub-carrés de 3000 l (12), fonctionnant en circuit fermé, disposés en extérieur sur le site expérimental de la Bouzule (**Annexes 3 et 4**), sont munis de couvercles en polystyrène extrudé.

Les bassins, dont l'éclairage est artificiel, sont recouverts par des couvercles en polystyrène extrudé fixés sur les rebords des bassins et munis d'éclairages individuels (2 tubes fluorescents blanc, Philips TLD 58 W - 86₅). La durée de la photopériode est réglée

Figure 35 : Protocole photo-thermopériodique naturel appliqué chez la perche commune *Perca fluviatilis* pour tester l'influence de la photopériode sur un cycle complet de reproduction chez des perches mâles et femelles. Les flèches noires indiquent les sacrifices et en rouge les prélèvements sanguins réalisés au cours de l'expérience.



grâce à des horloges. L'eau utilisée dans ces différentes structures provient du réseau urbain et ne subit aucun traitement au préalable. Par contre, pour des raisons techniques (groupe froid défectueux), l'incubation des pontes a été directement réalisée dans des bassins de 500 l disposés dans une salle climatisée au laboratoire afin de contrôler la température de l'eau. L'éclairage est assuré par un tube blanc fluorescent (Osram, L18 W/12-950) protégé par un boîtier étanche.

- Traitements expérimentaux

Les trois modalités de photopériode de l'expérience précédente sont testées (photopériode naturelle, 16/8 et 24h), ainsi qu'une quatrième modalité correspondant à des variations pseudo-naturelles de la photopériode mimant les variations naturelles de la photopériode à l'aide d'horloges, sans aube ni crépuscule.

La durée de la photophase est ajustée 1 fois par semaine, mais vérifiée chaque jour.

- Prélèvements et paramètres étudiés

Trois à cinq géniteurs de chaque sexe sont sacrifiés à chaque date de prélèvement : le 20 septembre, le 1^{er} décembre, le 1^{er} février, le 14 avril et le 13 mai (**Figure 35**). Leurs organes sont pesés (gonade, viscères et foie, comprenant la masse péri-viscérale) pour la détermination des indices morpho-anatomiques (IGS, IVS et IHS) et des fragments de gonade sont prélevés pour la réalisation de coupes histologiques permettant de déterminer l'état d'avancement des gamétogénèses mâle et femelle et les diamètres ovocytaires (DO).

Un suivi individuel des géniteurs concernant les fluctuations hormonales et l'ensemble des critères de qualité des pontes et des larves est réalisé. Pour cela, 15 poissons de chaque bassin, prélevés au hasard, sont marqués avec des bagues operculaires sous-cutanées, chaque bague présentant un identificateur alpha-numérique (Northwest Marine Technology).

Les prélèvements sont réalisés à intervalles réguliers (tous les 30 jours), excepté celui pratiqué juste après la ponte, afin de réaliser :

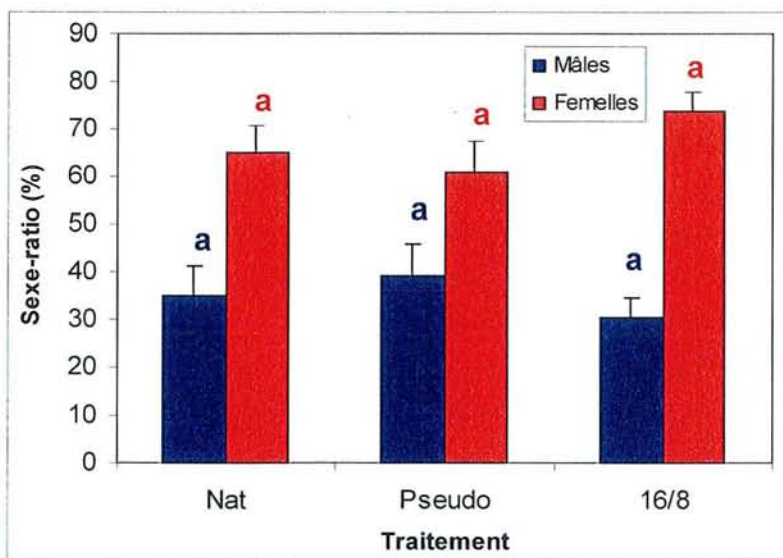
- * des prises de sang au niveau caudal (dosages de la T, E₂, 11-KT et 17, 20 β -P),
- * un suivi du développement des poissons grâce à la pratique de biopsies en période de maturation ovocytaire à l'aide d'un cathéter introduit dans la papille génitale.

Ces biopsies, réalisées au même moment que les prélèvements sanguins, ont permis de déterminer le sexe des géniteurs de chaque bassin dans lesquels les poissons s'étaient

Figure 36 : Photo montrant un bassin expérimental avec la séparation en deux compartiments.



Figure 37 : Sexe-ratio moyens ajustés des géniteurs marqués de perche commune *Perca fluviatilis* pour chaque traitement photopériodique testé au cours de l'expérience 2 ($n = 3$, moyennes brutes + écart-type).



développés. Pour les poissons non-développés, ce dernier a été déterminé à posteriori après leur sacrifice. Les sexe-ratio initiaux étaient de 12 ± 15 , 30 ± 15 , 21 ± 8 et 28 ± 14 % de mâles, respectivement pour les traitements naturel, pseudo-naturel, 16/8 et 24h. Un des problèmes majeurs chez la perche commune est l'absence de caractères sexuels secondaires permettant la détermination des sexes en période de repos sexuel.

Lors des empoisonnements, il est donc impossible de respecter un sexe-ratio équilibré dans les différents bassins. Le sexage des poissons est seulement possible une fois ceux-ci engagés dans un cycle de reproduction et arrivés au stade final de la vitellogenèse chez les femelles. Malgré les travaux de Lindesjö (1994), il n'existe pour l'instant aucune méthode de sexage simple et fiable. L'utilisation de techniques échographiques pourrait être envisagée chez la perche commune, comme cela est réalisé chez d'autres espèces de poisson. Des dosages hormonaux de stéroïdes sexuels discriminants peuvent également permettre un sexage des poissons. Mais, ces techniques sont longues et coûteuses. Au mois de mars, des séparations dans chaque bassin ont permis d'isoler les poissons marqués afin de pouvoir attribuer chaque ponte récupérée à la femelle correspondante. Ces séparations sont réalisées grâce à des structures en pvc recouvertes de grillage (**Figure 36**). Afin de respecter un sexe-ratio équilibré et de ne pas biaiser les effets traitements sur les paramètres de qualité des pontes (essentiellement le taux de fécondation), le sexe-ratio a été réajusté en transférant des géniteurs du compartiment des poissons non marqués vers le compartiment des poissons marqués, excepté dans le traitement 24h où aucun développement n'a été observé. La **figure 37** présente les sexe-ratio moyens réajustés pour chaque traitement. Chaque lot de poissons marqués présentait environ 30 à 40 % de mâles.

Les prélèvements individuels sont réalisés le matin de trois jours consécutifs. Chaque jour de prélèvement, les géniteurs de l'un des trois réplicats (toujours dans le même ordre) de chaque traitement sont prélevés, ceci afin de ne pas biaiser les effets traitement. Lors de chaque prélèvement, la totalité des poissons de chaque bassin est pêchée afin de sélectionner uniquement les poissons marqués.

Les critères de qualité des pontes et des larves sont étudiés chez les poissons marqués, et non marqués quand cela est possible.

Une fois la ponte récupérée et le géniteur identifié, ce dernier est transféré dans l'autre compartiment. Le nombre de pontes par traitement et réplicat est déterminé ainsi que le moment du déclenchement de chacune d'entre elles. Des prélèvements de chaque ponte ont permis de déterminer les fécondités absolue et relative, le poids et la taille des œufs, les taux de fécondation et d'éclosion. Enfin, des larves nouvellement écloses, suite à l'incubation de

Tableau 18 : Décomposition des degrés de liberté pour l'analyse statistique des résultats en terme de qualité des pontes récupérées à la fin de l'expérience 4 : ddl f = degrés de liberté factoriels, ddl r = degrés de liberté résiduels. Les chiffres entre parenthèse indiquent les données manquantes

Source de variabilité	Nombre de pontes, fécondité, taille et poids, DO, taux de fécondation		Taux de développement (femelles gravides et mâles spermians)	
	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r
Traitement	2	5 (1)	3	7 (1)
Procédure	GLM Moyennes ajustées		ANOVA 1 Moyennes brutes	

Source de variabilité	Ponte / Tranche horaire		Tests osmotique et au jeûne	
	ddl f	ddl r	ddl f	ddl r
Traitement	2	5 (1)	18	36
Tranche horaire	2	10		
Traitement*tranche horaire	4	10		
Procédure	MIXED (repeated/type CS) Moyennes ajustées			

chaque ponte, sont prélevées afin de déterminer le poids et la taille de celles-ci et leur résistance au stress osmotique et au jeûne.

- Analyses statistiques des profils individuels hormonaux et de la qualité des pontes, des œufs et des larves

Pour mieux comprendre les profils hormonaux différents chez les femelles et les mâles, et les expliquer, les profils individuels hormonaux (E_2 , T et 17, 20 β -P chez les femelles et T, 11-KT et 17, 20 β -P chez les mâles) sont décrits par analyse de données. L'objectif de ce traitement statistique est de caractériser les individus grâce aux données hormonales et d'en faire une typologie. Seuls les données concernant les huit premiers temps de prélèvement sont utilisées, le temps 9 (avril) ne correspondant qu'aux femelles ayant pondu et le temps 10 aux sacrifices des géniteurs marqués en fin d'expérience. La méthode utilisée est une Analyse en Composante Principale (ACP) et une classification hiérarchique selon le critère d'agrégation de Ward (Ward, 1963) grâce au logiciel SPAD 4.0 (Lebart *et al.*, 1996). Les données hormonales constituent les variables continues actives et les variables correspondant au traitement (2), au niveau de développement (3) et aux différents prélèvements (4) sont les variables nominales illustratives (supplémentaires) n'intervenant que comme aide à l'interprétation. Les composantes principales et les différentes classes obtenues par classification hiérarchique et les modalités des variables illustratives sont caractérisées par les valeurs tests (Morineau, 1984 ; Lebart *et al.*, 1996) en utilisant un seuil de signification de 5 % (valeur test >2). Seules les modalités des variables illustratives significativement représentées sur les axes figurent sur les représentations graphiques.

Les critères de qualité des pontes (fécondité absolue et relative des géniteurs, poids et taille des œufs, taux de fécondation et d'éclosion des rubans, poids et taille des larves) au sein des différents traitements sont analysés par une analyse de variance à un facteur fixe (ANOVA 1), l'effet traitement photopériodique, afin de vérifier la normalité des résidus (STAT-ITCF). Puis, les différences entre chaque traitement sont traitées selon un modèle mixte d'analyse de variance avec la procédure MIXED (SAS software, Littell *et al.*, 1996), après avoir défini le type de modélisation de la structure de la matrice de variance-covariance qui s'adapte le mieux aux données (type CS) selon le modèle d'analyse de variance en mesures répétées présenté dans le **tableau 18**. L'effet traitement est considéré comme un facteur fixe et l'individu statistique est constitué par le bassin hiérarchisé dans le traitement.

Les critères de résistance des larves aux stress osmotique et au jeûne sont analysés de la même façon, en considérant la date de ponte comme l'effet temps, traité en mesures répétées.

2.2.4. Paramètres étudiés

2.2.4.1. Indices morpho-anatomiques

Les indices morpho-anatomiques sont calculés selon les formules suivantes :

- Indice gonadosomatique (IGS)

$$\text{IGS (\%)} = [\text{Mg} / \text{M}] \times 100;$$

- Indice hépatosomatique (IHS)

$$\text{IHS (\%)} = [\text{Mf} / \text{M}] \times 100;$$

- Indice viscérosomatique (IVS)

$$\text{IVS (\%)} = [\text{Mv} / \text{M}] \times 100;$$

- Facteurs de condition (K_1 et K_2)

$$K_1 = [\text{M} / \text{LS}^3] \text{ et } K_2 = [(\text{M}-\text{Mg}) / \text{LS}^3]$$

où : M = masse corporelle du poisson (g), Mg = masse des gonades (g), Mf = masse du foie (g), Mv = masse des viscères (g) et LS = longueur standard (cm).

2.2.4.2. Dosages hormonaux

- Prélèvements de sang

Les prélèvements de sang sont effectués grâce à des seringues (Terumo 2 mL) munies d'une aiguille Terumo 2G x 1'', 0.6 x 25 mm, préalablement héparinée (héparine extraite des muqueuses intestinales bovines, Sigma H.0777).

Suite au prélèvement, les tubes eppendorf sont placés dans une caisse isotherme en polystyrène à double fond garnie de glace pilée avant d'être centrifugés à 4000 tpm pendant 25 minutes (centrifugeuse JOUAN C-412). Le sérum obtenu est conservé à -25°C (congélateur FRYKA B30-40) dans l'attente d'une analyse radio-immunologique.

- Tests radio-immunologiques

Les dosages de testostérone (T) et 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17, 20 β -P) chez les mâles et femelles, oestradiol (E_2) chez les femelles et 11-kétotestostérone (11-KT)

Tableau 19 : Coefficient de variations intra et inter-dosages (CV en %) correspondant aux dosages des quatre stéroïdes suivants : oestradiol, testostérone, 17, 20 β -P et 11-kétotestostérone. Expérience 2 : Influence de la température sur un cycle hors-saison de reproduction chez la perche commune *Perca fluviatilis*; expériences 3 et 4 : Influences de la photopériode sur l'entrée en gonadogenèse et un cycle complet de reproduction chez la perche commune *Perca fluviatilis*. N représente le nombre d'échantillons et le nombre de dosages respectivement pour les coefficients de variation intra et inter-dosage.

Expériences		Expérience 2		Expériences 3 et 4	
		Intra	Inter	Intra	Inter
Oestradiol	CV	7.38	11.64	6.93	11.64
	N	14	2	14	3
Testostérone	CV	5.79	10.43	6.31	24.8
	N	14	2	14	2
17,20β-P	CV	6.51	12.37	7.80	10.53
	N	14	2	14	3
11-KT	CV	6.83	8.2	11.38	-
	N	14	2	14	1

chez les mâles sont effectués selon la méthode de dosage radio-immunologique (RIA) décrite par Fostier et Jalabert (1986).

Pour chaque stéroïde, deux extractions avec un mélange cyclohexane / éthylacétate (1v/1v) sont réalisées sur une quantité de 50 µl de sérum placée dans un tube en verre de 2 mL. Le principe de ce dosage repose sur la compétition entre l'hormone à doser dans l'échantillon et la même hormone en quantité connue marquée par un élément radioactif (³H), émettant des radiations β, à l'encontre d'un anticorps spécifique. Les quantités d'hormone marquée et d'anticorps restent constantes, l'hormone non-marquée va se fixer à l'anticorps ce qui, par conséquent, diminue l'activité de l'hormone marquée. Une gamme d'étalonnage est préalablement établie en triplicat avec des étalons standards, qui comportent des quantités croissantes d'hormone pure (5, 8, 12, 20, 35, 55, 90, 150, 250, 400, 650, 1100, 1800 et 3000 pg mL⁻¹). La quantité d'hormone de chaque échantillon est dosée en double et déduite d'après la courbe d'étalonnage. Le liquide scintillant utilisé est l'Ecoscint A.

Les coefficients de variation intra et inter-dosage sont présentés dans le **tableau 19**. Ils permettent de connaître la variabilité des dosages au sein d'une même série ou de séries différentes. Le coefficient inter-dosage concernant la 11-KT durant les expériences 3 et 4 n'a pas pu être calculé, une seule série ayant été réalisée.

La lecture de l'immunoréactivité de chaque tube se fait à l'aide d'un compteur BECKMANN LS6000SC avec un temps de comptage de 3 minutes par tube.

Ce compteur donne une valeur en coup par minute (cpm) qui doit être transformée en concentration (pg/tube). La quantité réelle d'hormone présente dans l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Conc. (pg/mL)} = \frac{\text{Conc. (pg/tube)} \times \text{quantité de tampon reprise des stéroïdes extraits (µL)}}{\text{Quantité utilisée pour le dosage (µL)} \times \text{quantité de plasma extraite (µL)}}$$

J'ai effectué ces dosages au laboratoire d'Ecologie des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix de Namur (FUNDP).

2.2.4.3. Histologie

Des fragments de gonade sont prélevés lors des dissections (sacrifice des poissons) et fixés dans une solution de Bouin Hollande (100 mL H₂O; 2,5 g d'acétate de cuivre; 10 mL de formol; 1 mL d'acide acétique; 4 g à saturation d'acide picrique) pendant une semaine, avant

d'être rincés trois fois et conservés avec du méthanol à 70% jusqu'à la réalisation des coupes histologiques.

Le traitement histologique des gonades est effectué au Département d'Histologie et d'Embryologie des FUNDP à Namur selon Rinchar *et al.* (1996). Une procédure de déshydratation et d'enrobage dans de la cytoparaffine à 58°C est appliquée sur les fragments de gonades femelles et mâles à traiter. Les fragments d'ovaires sont ensuite coupés à une épaisseur de 6 µm à l'aide d'un microtome, les coupes histologiques sont déparaffinées, hydratées, colorées avec du trichrome à froid (hémalum, phloxine et vert lumière), déshydratées et montées au DPX (Langeron, 1942). La description histologique des différents stades du développement ovocytaire suit la classification établie par Malservisi et Magnin (1968) complétée par Treasurer et Holliday (1981) et Rinchar *et al.* (1996). Le suivi de la maturation des ovocytes se fait grâce à la pratique de biopsies régulières (prélèvements d'ovocytes, tous les deux jours en phase terminale de maturation). La localisation de la vésicule germinale est rendue possible grâce au passage des ovocytes dans une solution éclaircissante (acide acétique / formol / glycérol). Le stade de la migration de la vésicule germinale peut ainsi être observé. Pour chaque coupe histologique et à l'aide d'un microscope optique équipé d'un oculaire micrométré, la mesure du DO est faite sur vingt ovocytes au stade de développement le plus avancé.

2.2.4.4. Qualité des pontes, des œufs et des larves

- Qualité des pontes et des œufs

Chaque femelle ayant pondu est identifiée avec sa ponte pour les poissons marqués et également pour les poissons non marqués quand cela était possible. Les critères de qualité des pontes sont les suivants :

- Nombre de pontes par bassin et traitement

Le suivi des pontes est réalisé quotidiennement dès l'observation de la première ponte et jusqu'à la dernière.

- Moment de la ponte

Le suivi des pontes est réalisé 3 fois par jour, le matin à l'aube, en début d'après-midi et le soir au coucher du soleil afin de déterminer le moment de la ponte suivant ces quatre tranches horaires :

- du lever du soleil à 9h,

- de 9h à 16h,
 - de 16h au coucher du soleil
 - du coucher au lever du soleil le lendemain matin
- Fécondités absolue et relative, poids et diamètre des œufs

Chaque ponte est prélevée et stockée dans un seau contenant de l'eau du bassin en attendant d'être ramenée au laboratoire pour être étudiée et mise à incuber. De plus, chaque femelle correspondante est pêchée, anesthésiée (2-phénoxyéthanol, $C_8H_{10}O_2$; 0.3 mL.L^{-1}), mesurée, pesée (Mettler SM-L, précision de 0.1 g) et un prélèvement de sang est réalisé et conservé en eppendorf dans une boîte en polystyrène contenant de la glace. Puis, les femelles sont remises dans leur bassin d'origine avec les poissons non marqués afin d'éviter des confusions lors de l'identification de futures pontes. Au laboratoire, les rubans sont tout d'abord pesés (poids total en g) et trois échantillons d'environ 500 œufs sont comptés afin de déterminer les fécondités relative et absolue :

- La fécondité absolue (Fabs) désigne le nombre d'ovocytes produits par une femelle et par an : $Fabs = R/E \times N$ où R représente la masse des rubans (en g), E la masse de l'échantillon (en g) sur lequel le comptage a été réalisé et N le nombre d'ovocytes de cet échantillon.
- La fécondité relative (Frel), quant à elle, correspond au nombre d'ovocytes par unité de poids corporel (Rinchard , 1996)

$$Frel = (Fabs \times 1000)/P \text{ où } P \text{ est la masse totale du poisson (en g).}$$

Les pontes sont ensuite mises à incuber dans les cages individuelles, après avoir été préalablement nettoyées à l'eau pour les débarrasser des débris et impuretés afin d'éviter une contamination du système d'incubation.

- Taux de fécondation et d'éclosion

Trois jours après l'oviposition, le taux de fécondation est déterminé sur des échantillons de 500 œufs par ponte, prélevés au hasard à trois endroits différents du ruban. Pour cela, les œufs fécondés, d'aspect translucide, et les œufs non fécondés, d'aspect blanchâtre, ont été dénombrés.

Cinq jours après le début des éclosions, après l'incubation dans des béciers de 3 fragments de ponte d'environ 500 œufs chacun, le taux d'éclosion est déterminé grâce au comptage du nombre exact de larves écloses. L'incubation est réalisée à une température de 17°C . Les béciers sont disposés selon un plan en randomisation totale.

Le dénombrement des larves nouvellement écloses se fait grâce à une petite cuillère.

La température de l'eau est maintenu stable, environ $17 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ et la durée de la photophase réglée à 12L : 12O (7h30-19h30). Un fragment d'œufs de chaque ruban est observé tous les jours afin de contrôler le bon déroulement de l'embryogenèse et de détecter le déclenchement des éclosions.

- Qualité des larves

- Poids et taille des larves nouvellement écloses

Une fois l'éclosion achevée, une trentaine de larves sont prélevées et conservées dans un pilulier avec du formol à 10%. Le poids et la taille des larves sont déterminés grâce à une balance de précision (Mettler PM100, précision à 0.001 mg) et une loupe binoculaire (munie d'un oculaire micrométré).

- Résistance aux stress osmotique et au jeûne

Les tables expérimentales ayant servi à la réalisation de ces tests étaient placées dans une salle climatisée et la température était maintenue à $17 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (photopériode de 12L : 12O). Chaque béccher était muni d'un bulleur individuel assurant une teneur en oxygène dissous supérieure à 6 mg.mL^{-1} .

Ces stress sont réalisés selon Dhert et al (1992b), Abi-Ayad *et al.* (1995) et Abi-Ayad (1997).

Test au choc osmotique

Ce test est réalisé en triplicat. 3*30 larves sont prélevées et placées dans 3 bécchers répartis de façon aléatoire sur la table expérimentale. Ces bécchers contiennent 1 litre de solution saline (NaCl) à 2%. Les larves mortes sont dénombrées toutes les 30 minutes. La résistance des larves est évaluée par le taux de survie des larves après 90 minutes de choc osmotique.

Test de résistance au jeûne

Ce test est également réalisé en triplicat. 3*100 larves par ruban sont prélevées après le début de l'éclosion et placées dans 3 bécchers, placés de façon aléatoire sur la table expérimentale. Les bécchers contiennent 1 litre d'eau provenant du bassin d'éclosion. Les larves sont maintenues à jeun jusqu'à ce que l'on observe 100 % de mortalité. La résistance des larves au jeûne est évaluée par la durée (heures) entre le début du test et l'observation de 50 % de mortalité (D.L 50).

Figure 38 : Evolution du taux de fécondation (a), du taux d'éclosion (b) et du poids moyen des larves à l'éclosion (c) des pontes de perche commune *Perca fluviatilis* prélevées en milieu naturel au cours de la période de ponte (n = 3, Gélucourt, Moselle, avril-mai 2000).

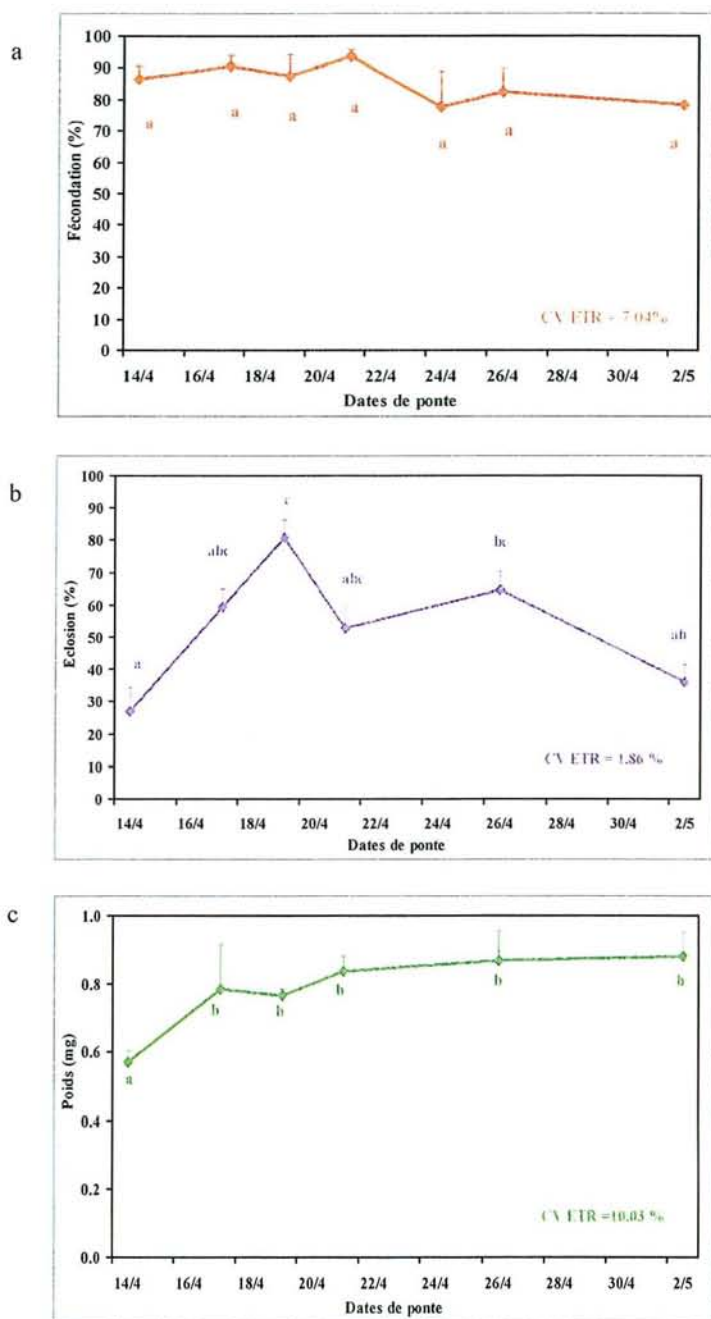


Figure 41 : Evolution des indices gonado (a), viscéro (b) et hépatosomatique (c) relevés lors des prélèvements initiaux (t_0), en fin de période de refroidissement (t_1) et en fin de période de maintien au froid (t_2) chez les deux classes de géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis* ($n = 5$, moyennes ajustées + erreur type).

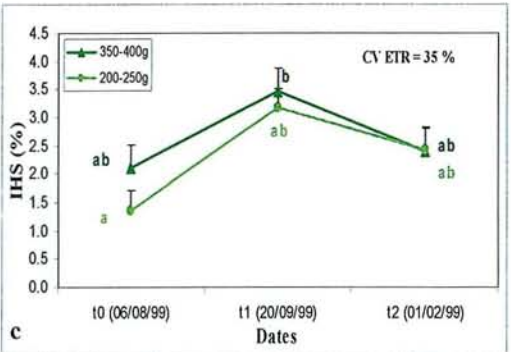
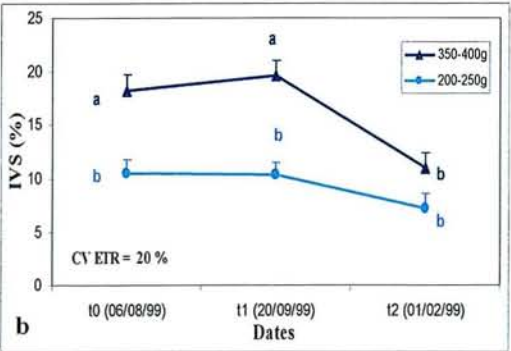
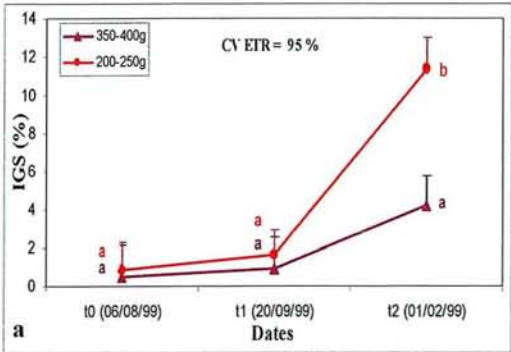
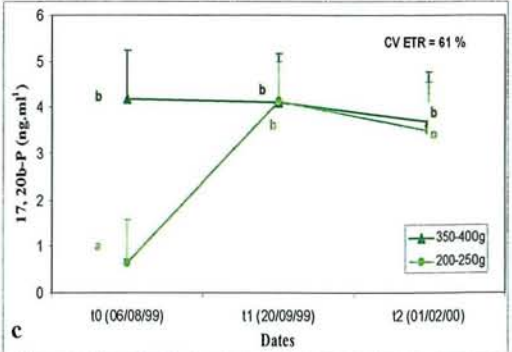
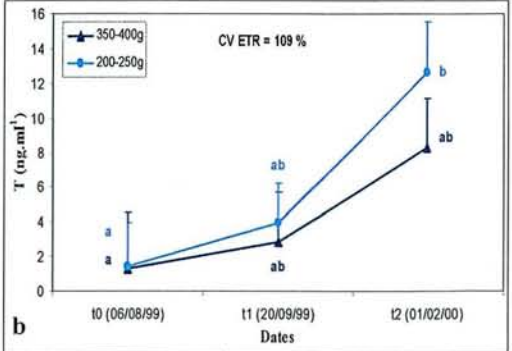
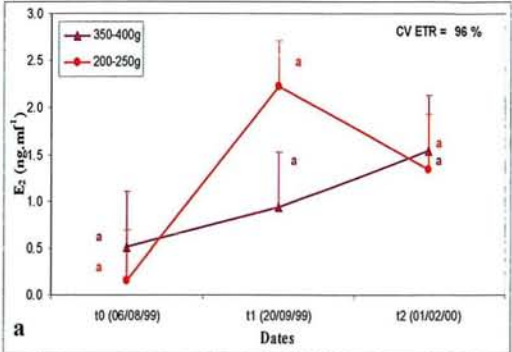


Figure 42 : Evolution des teneurs plasmatiques en testostérone, T (a), oestradiol, E_2 (b) et 17α , 20β -P (c) relevés lors des prélèvements initiaux (t_0), en fin de période de refroidissement (t_1) et en fin de période de maintien au froid (t_2) chez les deux classes de géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis* ($n = 5$, moyennes ajustées + erreur type).



2.3. Résultats

2.3.1. Référentiel de qualité des larves pendant la période de ponte en milieu naturel

2.3.1.1. Critères de qualité des pontes

Le taux de fécondation reste stable au cours de la période de reproduction et aucune différence significative n'a été observée en fonction de la date de ponte (**Figure 38a**). Le taux d'éclosion (**Figure 38b**) augmente significativement entre le 14 et le 19 avril (de 30 à 80 %) puis demeure supérieur au 26 avril par rapport au 14 (environ 60 %) et retrouve une valeur non différente de celle de départ en fin de période (40 % vs 30 %).

2.3.1.2. Critères de qualité des larves nouvellement écloses

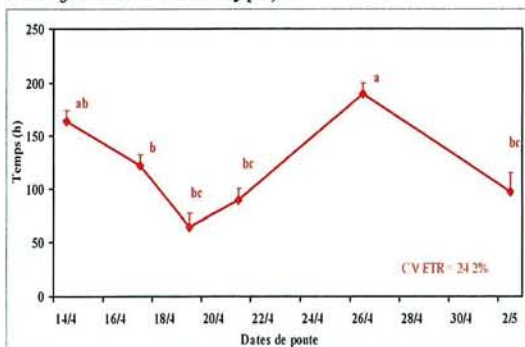
- Taille et poids

Aucune différence significative de la taille des larves n'a été mise en évidence au cours de cette période de reproduction. Le poids des larves nouvellement écloses (**Figure 38c**) est significativement plus faible en début de période de ponte (environ 0.55 mg) puis augmente jusqu'au 17 avril (environ 0.8 mg) et se stabilise jusqu'en fin de période de reproduction.

- Tests de résistance

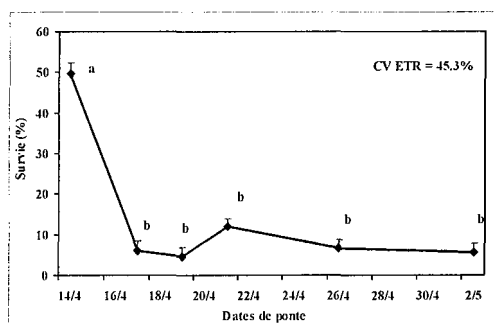
La résistance au jeûne (**Figure 39**) semble diminuer du 14 au 19 avril passant de 168 heures à 64 heures, respectivement, mais la différence n'est pas significative. Puis, la résistance augmente à nouveau, significativement, pour atteindre le 26 avril sa valeur maximale de 192 heures. La valeur du 2 mai ne présente qu'un seul réplicat et montre une résistance des larves à nouveau en diminution.

Figure 39 : Variation de la durée de résistance au jeûne des larves de perche commune *Perca fluviatilis* nouvellement écloses au cours de la période de ponte (Gélucourt, Moselle, avril-mai 2000, n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



La résistance au choc osmotique (**Figure 40**) est significativement plus élevée en début de période de ponte avec un taux de survie des larves au stress osmotique d'environ 50 %. Elle diminue significativement le 17 avril. Puis, la qualité des larves se stabilise jusqu'aux dernières pontes du 2 mai à 10 % environ.

Figure 40 : Variation du taux de survie au stress osmotique des larves de perche commune *Perca fluviatilis* nouvellement écloses au cours de la période de ponte (Gélucourt, Moselle, avril-mai 2000, n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



2.3.2. Effets de la température et du poids initial des femelles au cours d'un cycle hors-saison de reproduction

2.3.2.1. Période pré-expérimentale (acclimatation, refroidissement et maintien au froid)

- Indices morpho-anatomiques

L'IGS reste faible pendant la phase de refroidissement et aucune différence significative entre les deux tailles de géniteurs n'a été mise en évidence (**Figure 41a**). A la fin de la phase de maintien au froid, les IGS ont nettement augmenté et les gonades sont significativement plus développées chez les géniteurs de plus petite taille (200-250 g), mais les prélèvements réalisés montrent une forte hétérogénéité du niveau de développement des gonades d'un géniteur à l'autre (CV ETR = 95 %).

Les géniteurs de taille plus importante (350-400 g) ont un IVS significativement plus élevé que ceux de 200-250 g (**Figure 41b**), pendant les phases d'acclimatation et de refroidissement. L'IVS est resté stable pendant ces phases alors que pendant la phase de maintien au froid, il a diminué et n'est plus différent de celui des géniteurs de plus petite taille. Aucune différence d'IHS et des facteurs de condition K_1 et K_2 n'a été observée entre les

Figure 43 : Evolution des teneurs plasmatiques en testostérone (T) chez les géniteurs femelles de perches communes non gravides (a) et gravides (b) et les mâles spermants (c) pendant la phase finale de réchauffement de l'eau pour les deux traitements testés (n = 3, moyennes ajustées + erreur type). CV ETR = 96 %.

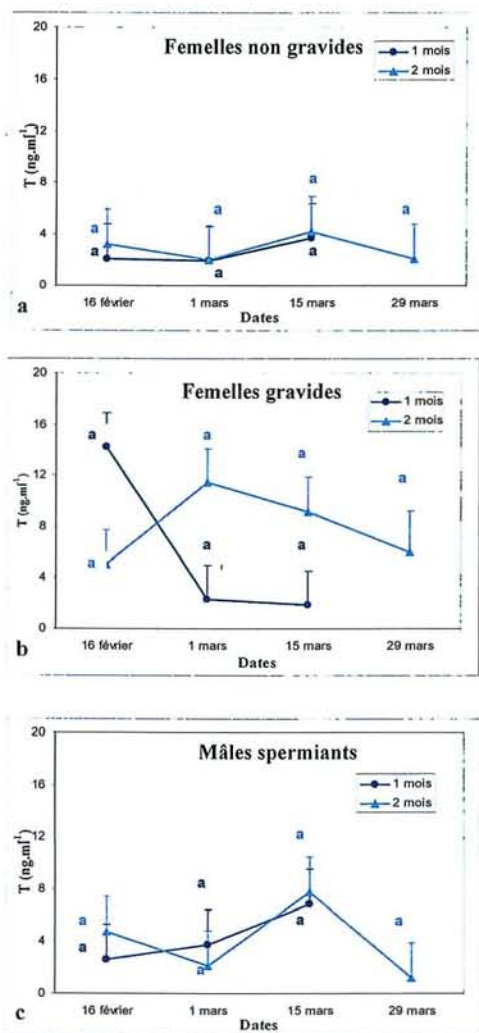
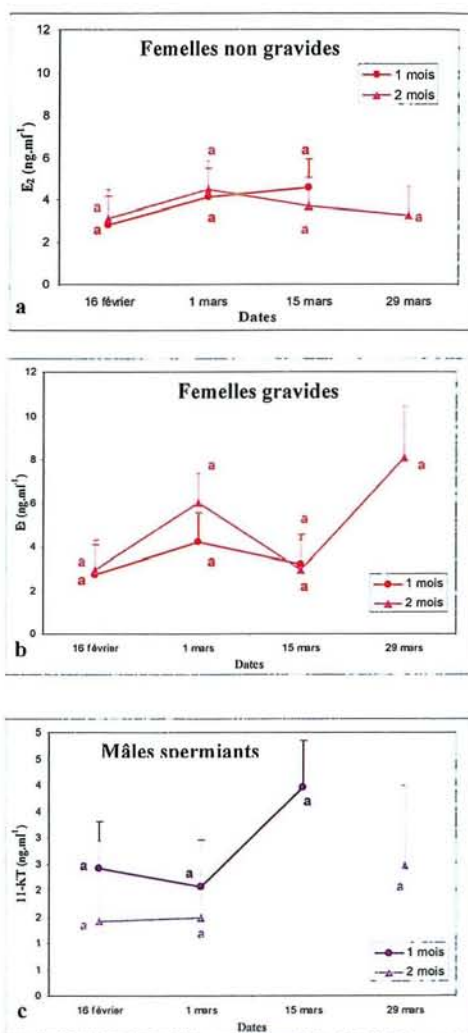


Figure 44 : Evolution des teneurs plasmatiques en oestradiol (E₂) chez les géniteurs femelles non gravides (a) et gravides (b) et 11-KT chez les mâles spermants (c) de perches communes pendant la phase finale de réchauffement de l'eau pour les deux traitements testés (n = 3, moyennes ajustées + erreur type). CV ETR = 74 et 112 % respectivement.



géniteurs des deux classes de poids. Les facteurs de condition K_1 et K_2 n'évoluent pas significativement dans le temps.

- Stéroïdes sexuels

Chez les géniteurs de 200 - 250 g, les teneurs plasmatiques en testostérone augmentent d'août à février, passant de $1,5 \text{ ng.mL}^{-1}$ en début d'expérience à 12 ng.mL^{-1} à la fin de la période de maintien au froid (**Figure 42b**). Les variations des teneurs en E_2 et $17, 20\beta\text{-P}$ (**Figures 42a et c**) ne sont pas significatives. L'augmentation des teneurs en oestradiol à la fin de la période de refroidissement (t_1) n'est pas significative du fait de la variabilité importante entre géniteurs. Au temps t_0 , les teneurs plasmatiques en $17, 20\beta\text{-P}$ sont significativement plus élevées chez les femelles de la classe de poids 350-400 g (environ 4 ng.mL^{-1}) que chez les autres ($< 1 \text{ ng.mL}^{-1}$).

2.3.2.2. Période de réchauffement : effet traitement

- Stéroïdes sexuels

L'hétérogénéité des mesures étant importante d'un géniteur à l'autre, les différences entre traitements et entre catégories de géniteurs sont fréquemment non significatives.

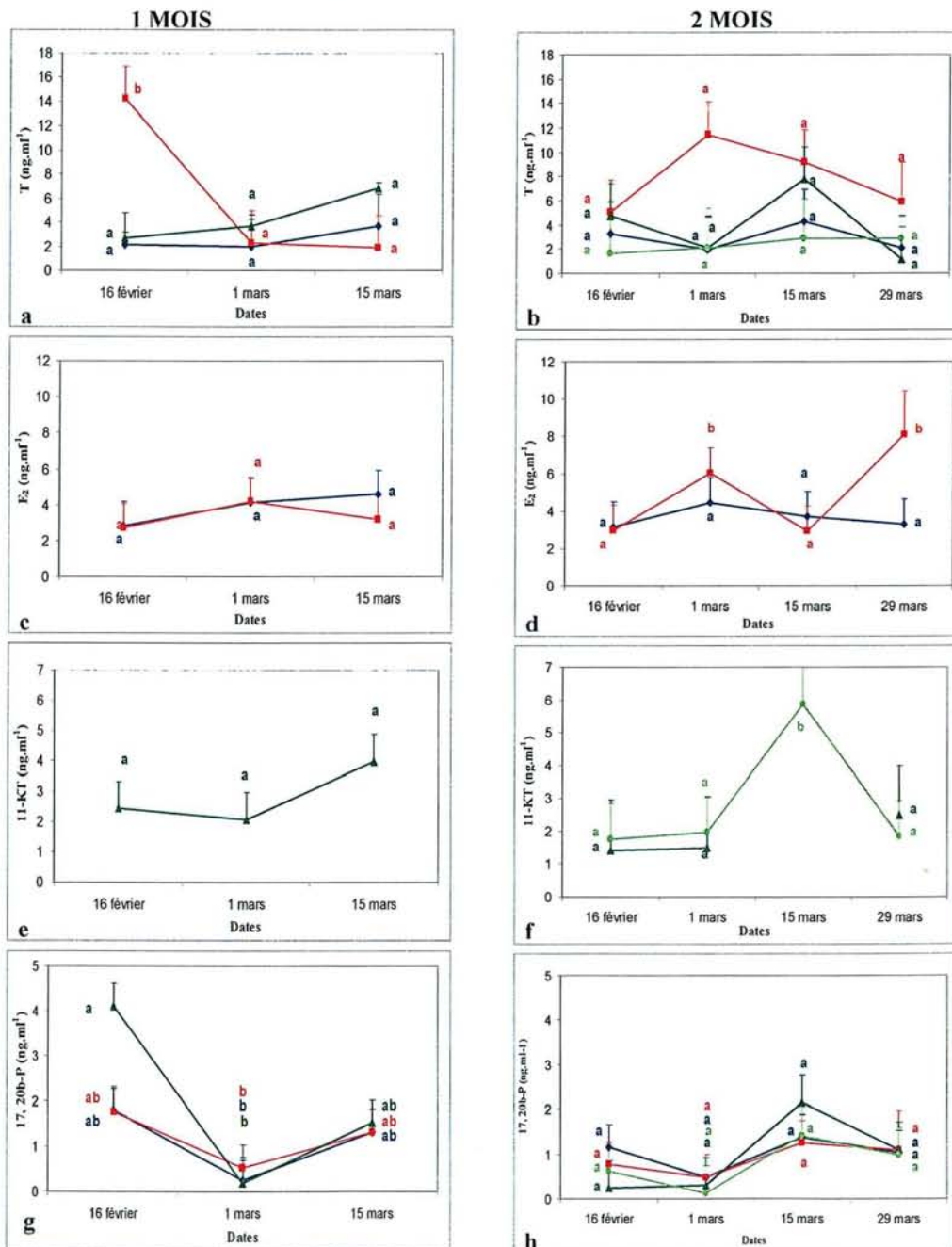
Les teneurs les plus importantes en testostérone semblent être observées chez les femelles gravides (**Figures 43a**), qui a posteriori ont pondu, par rapport aux femelles non gravides (**Figures 43b**). Dans le traitement 1 mois, les teneurs mesurées en début de phase de réchauffement (16 février 1999) sont significativement plus élevées chez les femelles gravides que chez les femelles non gravides c'est-à-dire non engagées dans un cycle de reproduction et que chez les mâles spermants (**Figures 43b et 46a**).

Les femelles gravides ont des teneurs en oestradiol faibles, de 5 à environ 8 ng.mL^{-1} alors que les femelles n'ayant montré aucun début de développement (**Figures 44a et b**) présentent des teneurs en E_2 encore plus faibles ($< 5 \text{ ng.mL}^{-1}$). Aucune différence n'a été observée entre les différentes catégories de géniteurs pour les deux traitements (**Figures 46c et d**).

Aucune différence significative en 11-KT n'a été observée en fonction du traitement chez les mâles spermants (**Figure 44c**) ou en fonction de l'état physiologique des géniteurs (spermants ou non spermants) pour le traitement deux mois (**Figures 46e et f**).

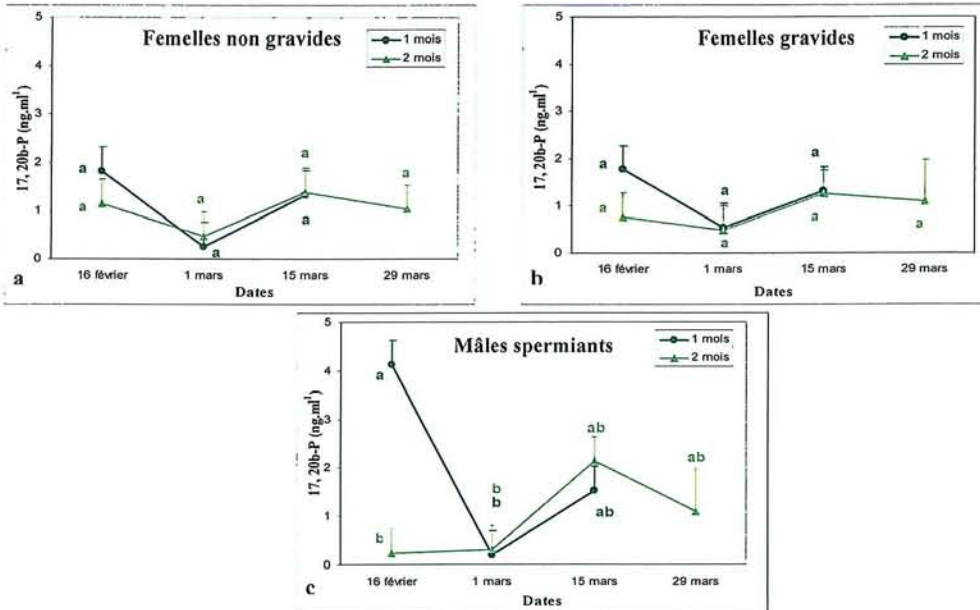
Les profils d'évolution de la $17, 20\beta\text{-P}$ se ressemblent chez les femelles non gravides,

Figure 46 : Evolution des teneurs plasmatiques en testostérone, T (a et b), oestradiol, E₂ (c et d), 11-kétotestostérone, 11-KT (e et f) et 17,20β-P (g et h) chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* non gravides (bleu) et gravides (rouge) et les mâles spermiant (vert foncé) et non spermiant (vert clair) pendant la phase finale de réchauffement de l'eau pour les deux traitements testés (moyennes ajustées + erreur type). CV ETR = 96, 74, 112 et 81 %, respectivement pour T, E₂, 11-KT et 17,20β-P.



chez les femelles gravides et chez les mâles bien qu'ils soient plus marqués chez ceux-ci (Figures 45a, b et c). Les teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P mesurées le 16 février 1999 chez les mâles spermants du traitement 1 mois de réchauffement (Figure 45c) sont significativement plus élevées que celles observées pour les géniteurs de l'autre traitement. Ce sont les teneurs des mâles spermants du traitement 1 mois de réchauffement qui diminuent significativement du 16 février au 1^{er} mars 1999 (Figure 46g). Aucune différence n'est observée pour le traitement 2 mois (Figure 46h).

Figure 45 : Evolution des teneurs plasmatiques en 17,20 β -P chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* non gravides (a) et gravides (b) et les mâles spermants (c) pendant la phase finale de réchauffement de l'eau pour les deux traitements testés (n = 3, moyennes ajustées + erreur type). CV ETR = 81 %.



- Taux de réponse des géniteurs et pontes

Tous traitements confondus, les taux moyens de pontes et de développement des femelles et les taux moyens de développement des mâles sont respectivement de 21 %, 31 % et 83 % en fin d'expérience. Les meilleurs taux de réponse ont été observés pour le traitement 1 mois de réchauffement avec 33 à 38 % des femelles qui ont répondu (achèvement de la gonadogenèse) selon le réplicat, 31 à 33 % des femelles qui ont pondu et 100 % des mâles qui

Figure 47 : Pourcentages finaux de pontes, pourcentages de femelles gravides et pourcentages de mâles spermants de perche commune *Perca fluviatilis* en fonction de la durée du réchauffement de l'eau appliquée (n = 3, moyennes brutes + écart-type). Les coefficients de variation de l'écart type résiduel sont de 5, 10 et 41 %, respectivement pour les taux de pontes, les taux de femelles gravides et les taux de mâles spermants.

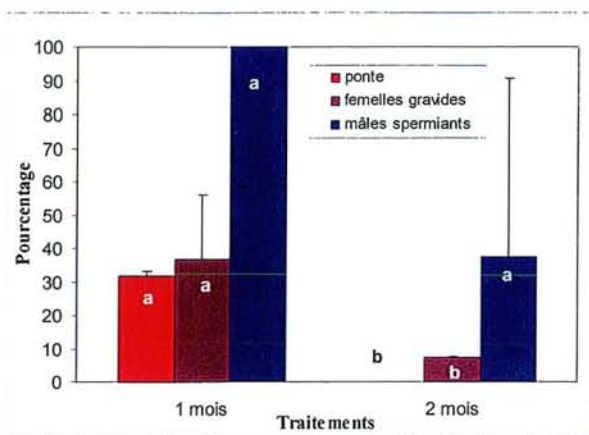


Tableau 20 : Caractéristiques des pontes de perche commune *Perca fluviatilis* obtenues au terme de l'expérience.

Pontes	Date	Salle	Trait.	Poids ponte	Fécondité	Poids moyen des œufs (mg)	Fécondation	Taux de fécondation
1	16-févr	1	1 mois	120	35000	3,43	Non (naturelle)	-
2	22-févr	1	1 mois	180	50000	3,60	Non (naturelle)	-
4	26-févr	1	1 mois	111	30000	3,70	Non (stripping)	-
7	28-févr	1	1 mois	143	40000	3,58	Oui (stripping)	90%
9	28-févr	1	1 mois	-	-	-	Oui (naturelle)	27%
13	27-mars	1	1 mois	fragments	-	-	Non (stripping)	-
3	23-févr	3	1 mois	fragments	11500	-	Non (naturelle)	-
6	27-févr	3	1 mois	119	33000	3,61	Non (naturelle)	-
11	11-mars	3	1 mois	84,3	23000	3,67	Oui (stripping)	10%
12	11-mars	3	1 mois	fragments	-	-	Oui (naturelle)	75%
5	27-févr	2	2 mois	100,9	28000	3,60	Non (naturelle)	-
8	28-févr	2	2 mois	-	-	-	Oui (stripping)	5%
10	6-mars	2	2 mois	-	-	-	Non (stripping)	-
14	6-avr	2	2 mois	-	30000	-	Non (stripping)	-

étaient spermiantes (**Figure 47**). Pour le deuxième traitement, les résultats varient de 7 à 67 % de femelles qui ont répondu, de 0 à 33 % de femelles qui ont pondu et de 0 à 100 % de mâles qui étaient spermiantes. Les résultats sont donc homogènes pour le premier traitement et très hétérogènes pour le deuxième traitement (**Figure 47**). Deux des trois réplicats du traitement deux mois de réchauffement n'ont pas permis d'obtenir des pontes et sont caractérisés par de faibles taux de réponse femelle et de spermiation (7 à 8 % de réponse femelle et 75 et 0 % chez les mâles). Mais, le troisième réplicat a montré des résultats semblables au traitement 1 mois de réchauffement avec 33 % de pontes et 100 % de mâles spermiantes, et même un pourcentage de développement femelle plus important (67 %). Un mauvais contrôle de la température pourrait expliquer ces résultats différents dans cette salle expérimentale. En effet, un dérèglement de la climatisation n'a pas permis d'augmenter progressivement la température qui est passée rapidement à 14°C avant de reprendre l'évolution normale correspondant à ce traitement. Cela a engendré une variation importante de la température avec un réchauffement trop rapide suivi d'un refroidissement. Cette salle expérimentale a donc été écartée des traitements statistiques présentés en **Figure 47**.

Une période de réchauffement d'un mois par rapport à deux a permis l'achèvement du développement des gonades, de la ponte et de la spermiation d'un nombre significativement plus important de femelles et de mâles.

Les femelles ont pondu dans les 15 premiers jours de la phase de réchauffement (64 % des pontes) au mois de février, alors que l'eau des bassins était seulement à 11-12°C. Les femelles ayant pondu ou présentant un développement de leur gonade ne correspondent pas à une classe de poids précise. Il en est de même pour les mâles. Par ailleurs, on peut remarquer une différence de taille, bien connue chez la perche commune, en fonction du sexe avec des mâles généralement plus petits.

En fait, 17 pontes ont été obtenues, soit entières soit fragmentées. Trois pontes étaient trop fragmentées pour être étudiées.

- Qualité des pontes et des larves

Sur les 17 pontes récoltées, 7 (41 %) ont été obtenues artificiellement (stripping des géniteurs, **Tableau 20**). Seulement 5 pontes (environ 30 %) ont été fécondées et parmi celles-ci, 4 l'ont été artificiellement. La seule ponte fécondée naturellement a eu un taux de fécondation, contre 5 à 90 % pour les fécondations artificielles.

La seule ponte du traitement 2 mois de réchauffement (salle expérimentale 2) a été

RECEU AU BUREAU DE LA
DIRECTION REGIONALE DE
L'AQUICULTURE ET DE
LA PÊCHERIE
LE 10/02/2010

Figure 48 : Variations de la température et des différentes modalités de photopériode appliquées chez la perche commune *Perca fluviatilis* pour tester l'influence de la photopériode sur le déclenchement de la gonadogenèse mâle et femelle.

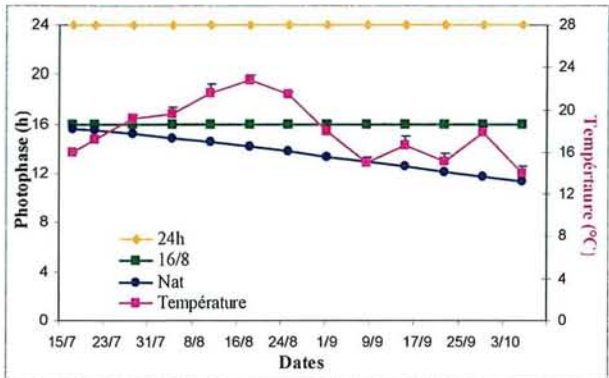


Figure 49 : Variations des teneurs moyennes en azote nitreux (N-NO_2^-) et azote ammoniacal (N-NH_4^+) dans les bassins de 500 l au cours de l'étude. Les flèches noires indiquent les apports en proies vivantes.

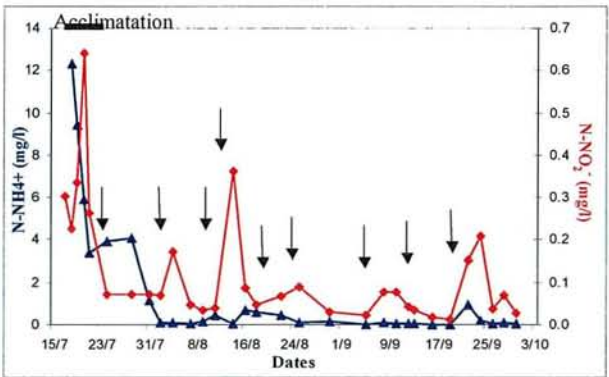
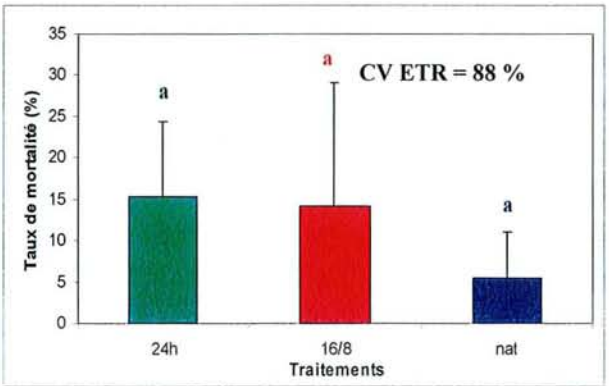


Figure 50 : Taux de mortalités moyens des géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis* observées au cours de l'expérience pour les trois traitements testés ($n = 3$, moyennes brutes + écart-type).



faiblement fécondée (5 %). Le faible nombre de mâles présents dans chaque bassin peut expliquer ces problèmes de fécondation. Mais, il est difficile de respecter une densité de stabulation avec traditionnellement deux mâles pour une femelle, chez la perche commune, car aucun dimorphisme sexuel externe en dehors de la période de reproduction ne permet le sexage des individus à la mise en lot.

La fécondité absolue, d'environ 40000 oeufs pour une femelle de 143 g et le taux d'éclosion relevé deux jours après le début de celle-ci sont du même ordre de grandeur que ceux observés sur des pontes naturelles (**Tableau 21**). Aucune résistance des larves au stress osmotique n'est observée alors que la résistance au stress au jeûne est élevée (266h).

Tableau 21 : Caractéristiques de la ponte de perche commune obtenue le 28/02/2000 (traitement 1 mois de réchauffement, salle expérimentale 1) ayant donné les plus forts taux de fécondation et d'éclosion.

Poids de la femelle (g)	411,3	Taux d'éclosion (% , n = 3)	61.5 ± 14.2
Poids de la ponte (g)	143	Poids moyen (mg, n = 3)	0.45 ± 0.08
Fécondité relative (œufs/g femelle)	97.2	Taille moyenne (mm, n = 3)	4.7 ± 0.9
Poids moyen des œufs (mg, n = 3)	3.6 ± 0.8	Taux de survie au stress osmotique (n = 3)	0
Taux de fécondation (% , n = 3)	89,1 ± 8.6	Survie au jeûne (h, n = 3)	266 ± 24

2.3.3. Effet des variations de la photopériode sur l'initiation de la gonadogenèse et de la gamétogenèse chez la perche commune

2.3.3.1. Température et qualité de l'eau

La température de l'eau mesurée dans les 9 bassins varie de 15 à 23°C (**Figure 48**), le maximum étant observé mi-août.

Après la période d'acclimatation, les teneurs en N-NH_4^+ restent inférieures à 1 mg/L. Les concentrations en N-NO_2^- sont plus variables durant l'expérience avec des pics en relation avec les apports en proies vivantes (**Figure 49**) mais ne dépassant pas 0.4 mg/L.

2.3.3.2. Mortalité

La mortalité moyenne observée au cours de l'expérience varie de 5 à 15-20 % en fonction des traitements (**Figure 50**). La mortalité de 5 % dans le traitement photopériode naturelle n'apparaît pas significativement inférieure à celle des autres traitements du fait de la forte variabilité résiduelle.

Figure 51 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des indices gonado (a), viscéro (b) et hépatosomatiques (c) chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours de l'expérience 3 (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

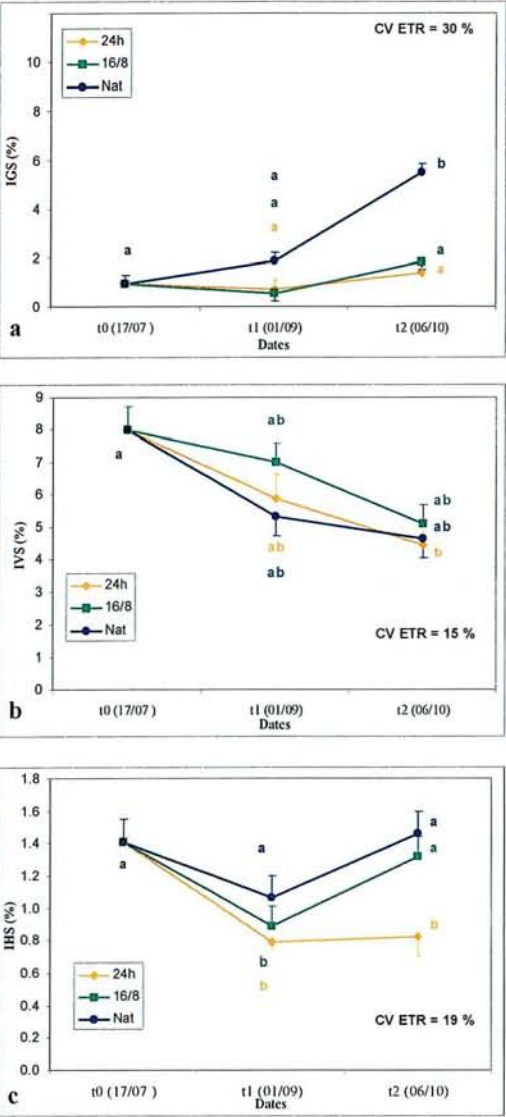
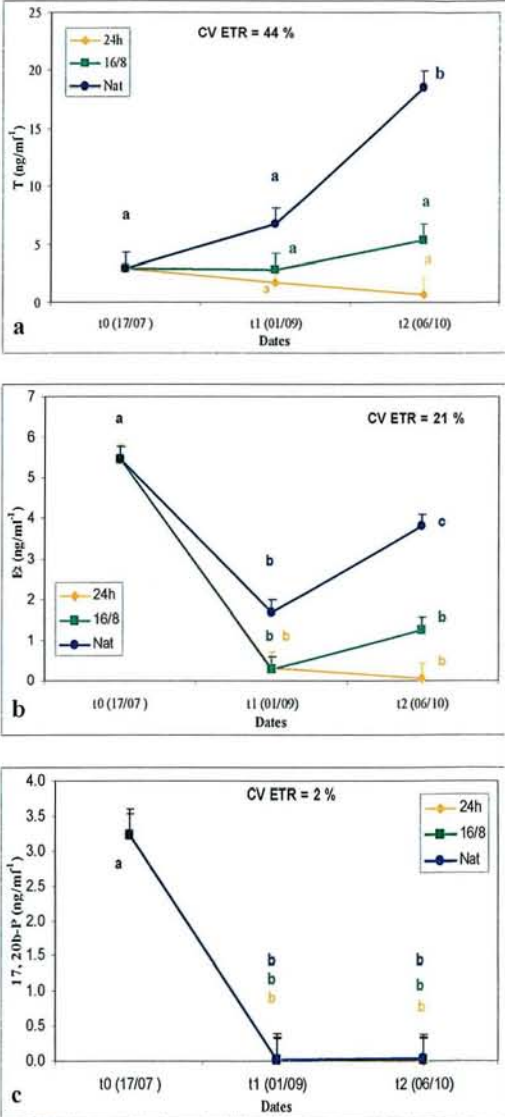


Figure 52 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en testostérone (a), 17 β -oestradiol (b) et 17,20 β -P (c) chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours de l'expérience 3 (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



2.3.3.3. Effet de la photopériode chez les femelles

- Indices morpho-anatomiques

L'indice gonadosomatique est significativement plus élevé à t_2 pour le traitement photopériode naturelle (environ 6 %) que pour les deux autres traitements (< 2 %, **Figure 51a**). Aucun développement des gonades n'a été observé chez les poissons du traitement 24h excepté pour un réplicat qui a donné des résultats totalement différents avec un développement homogène de toute les femelles. Mais, les conditions expérimentales n'ont pas été respectées du fait de problèmes à répétition d'horloge et du fait d'un court circuit provoqué par le bactéricide. Ce réplicat a été supprimé lors du traitement des données.

L'IVS (**Figure 51b**) diminue pour les trois traitements passant d'environ 8 % à 4.5-5.5 %. Aucune différence significative n'a été mis en évidence entre traitement à un même temps.

L'IHS diminue dans un premier temps pour les traitements 16/8 et 24h et demeure significativement plus élevé pour le traitement photopériode naturelle (**Figure 51c**). Puis, il remonte de t_1 à t_2 pour le traitement photopériode naturelle et 16/8, et reste stable pour le traitement 24h.

Les facteurs de condition K_1 et K_2 restent stables et non différents entre traitements tout au long de la période.

- Stéroïdes sexuels

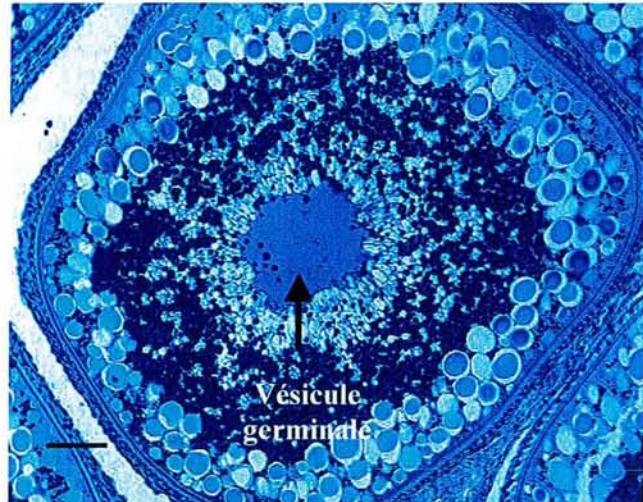
Les teneurs plasmatiques en testostérone (**Figure 52a**) augmentent significativement pour le traitement naturel de t_2 à t_3 pour atteindre environ 18 ng.mL^{-1} alors que celles mesurées chez les poissons des deux autres traitements restent relativement stables ($< 5 \text{ ng.mL}^{-1}$).

Les teneurs plasmatiques en oestradiol initialement élevées (environ 5.5 ng.mL^{-1}) diminuent fortement entre t_0 (17 juillet) et t_1 (1^{er} septembre) pour atteindre moins de 2 ng.mL^{-1} (**Figure 52b**). A t_2 (6 octobre), la concentration en E_2 pour le traitement naturel n'apparaît pas significativement supérieure du fait de l'hétérogénéité des réponses individuelles (CV ETR = 21 %).

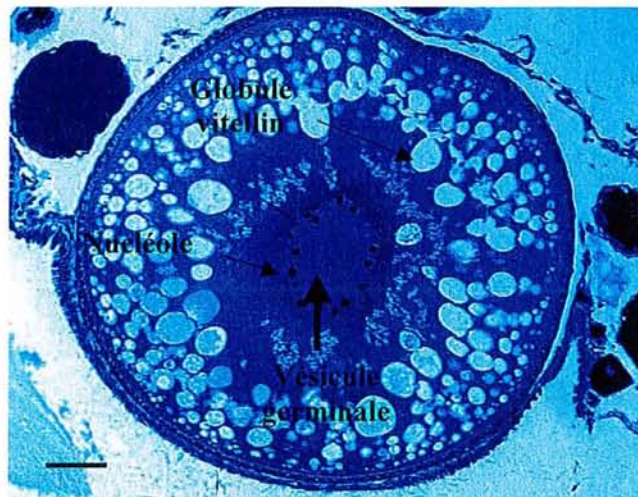
Le troisième stéroïde sexuel mesuré chez les femelles, la $17, 20\beta\text{-P}$ (**Figure 52c**), présente des teneurs plasmatiques faibles (en limite de détection) au cours de l'expérience excepté à t_0 où les valeurs sont très élevées ($3230 \pm 660 \text{ pg.mL}^{-1}$) et significativement différentes des deux autres temps.

Figure 53 : Effet du traitement photopériodique sur l'état d'avancement du développement des ovocytes de perches communes *Perca fluviatilis* capturées le 6 octobre 2000.

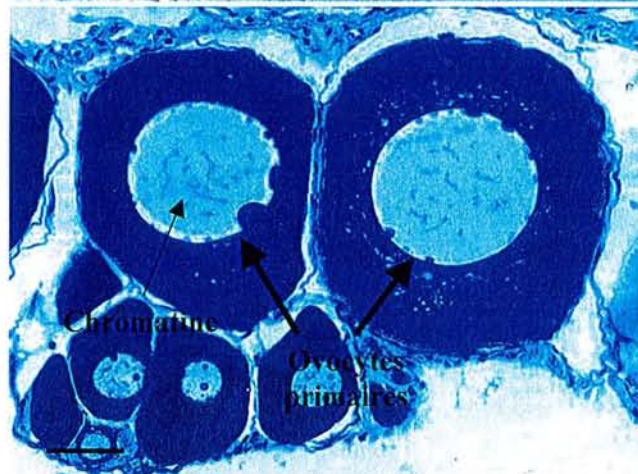
a : Traitement naturel
x20
échelle = 60 μ m



b : Traitement 16/8
x20
échelle = 60 μ m



c : Traitement 24h
x 40
échelle = 35 μ m



- Histologie

Les stades histologiques sont très différents d'un traitement à l'autre. Pour le traitement photopériode naturelle (**Figure 53a**), la taille des ovocytes est d'environ 650 μm .

On distingue plusieurs couches cellulaires membranaires constituant la thèque et la granulosa (membranes folliculaires). Dans le cytoplasme commence à s'accumuler des vésicules vitellines indiquant le début de la vitellogenèse exogène.

Les stades histologiques observés chez les géniteurs soumis au traitement 16/8 sont très hétérogènes. Certaines femelles présentent des ovocytes en développement (**Figure 53b**), mais d'autres n'ont pas répondu au traitement photopériodique et présentent des ovocytes à un stade peu avancé voir même atrophiques. On distingue un noyau central avec les nucléoles en périphérie, entouré par du cytoplasme et une première couche de vésicules accolées aux membranes ovocytaires encore peu développées. Les cellules folliculaires ne se sont pas encore développées. Cet œuf est au stade de la vitellogenèse endogène précoce et son diamètre est d'environ 350 μm .

Pour le traitement 24h (**Figure 53c**), les ovocytes primaires mesurent environ 150 à 200 μm . Il n'y a aucun signe de début de vitellogenèse. Les noyaux ne sont pas encore formés et la chromatine est encore dispersée dans le cytoplasme.

En fin d'expérience (t_2), les effets traitements concernant le diamètre ovocyttaire (DO, **Figure 54**) sont significatifs avec des DO moyens plus élevés pour le traitement naturel ($618.9 \pm 27.5 \mu\text{m}$) comparé au traitement 16/8 ($352.1 \pm 184.7 \mu\text{m}$) et au traitement 24h ($148.5 \pm 2.3 \mu\text{m}$), malgré une variabilité importante (CV ETR = 32 %).

Figure 54 : Diamètre moyen des ovocytes des géniteurs femelles (DO) de perches communes *Perca fluviatilis* prélevées le 6 octobre 2000 en fonction du traitement photopériodique appliqué (n = 3, moyennes brutes + écart type).

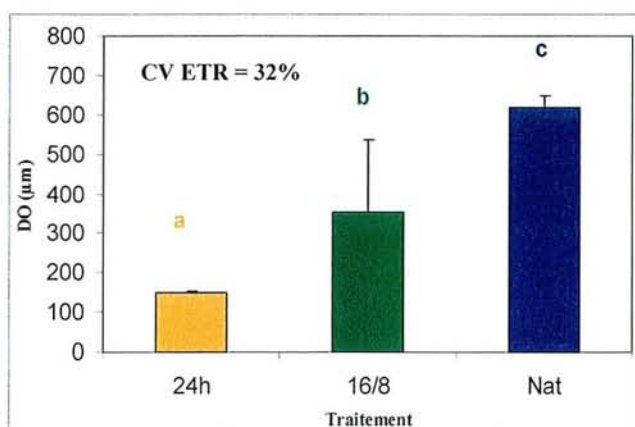


Figure 55 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des indices gonado (a), viscéro (b) et hépatosomatiques (c) chez les géniteurs mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours de l'expérience 3 (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

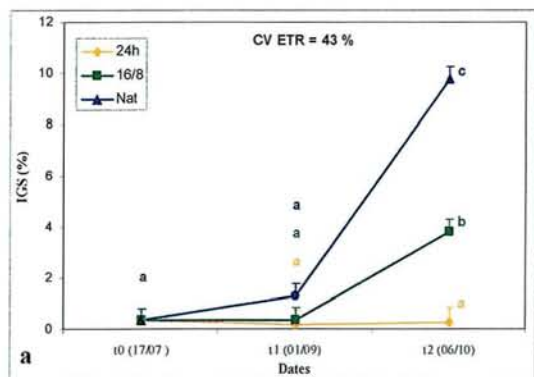
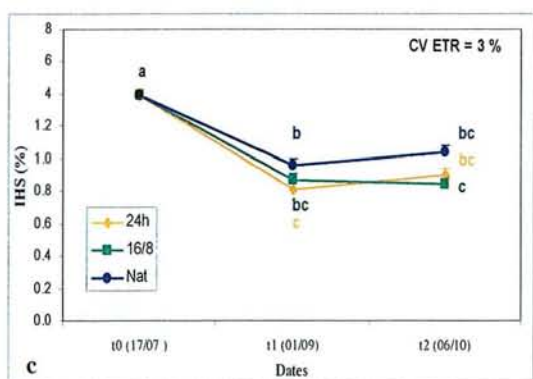
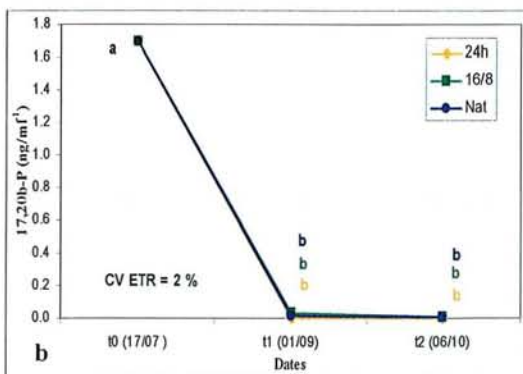
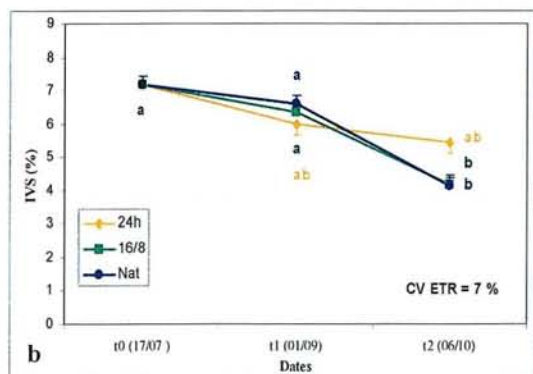
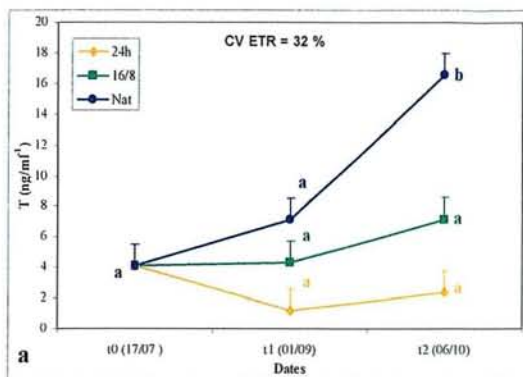


Figure 56 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en testostérone (a) et 17,20 β -P (b) chez les géniteurs mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours de l'expérience 3 (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



2.3.3.4. Effet de la photopériode chez les mâles

- Indices morpho-anatomiques

Au temps t_2 , les IGS correspondant aux trois traitements sont significativement différents avec les valeurs les plus élevées pour le traitement naturel (10 %), des valeurs intermédiaires pour le traitement 16/8 (environ 4 %) et des valeurs très faibles pour le traitement 24h (**Figure 55a**).

Les IVS des poissons des trois traitements (**Figure 55b**) diminuent au cours de l'expérience passant ainsi de plus de 7 % en juillet à moins de 6 % en octobre.

L'IHS diminue significativement entre t_0 et t_1 (**Figure 55c**) quel que soit le traitement considéré passant d'environ 1.4 % à 0.9-1.1 % puis reste stable jusqu'en t_2 .

Les facteurs de condition ne diffèrent pas significativement entre traitement et entre les différents temps ($1.5 < k_1 < 1.7$; $1.45 < k_2 < 1.6$).

L'évolution des indices morpho-anatomiques diffère peu entre géniteurs femelles et mâles.

- Stéroïdes sexuels

Les teneurs plasmatiques en testostérone augmentent significativement pour le traitement photopériode naturelle entre t_1 et t_2 (**Figure 56a**). Les concentrations observées au temps 2 sont significativement plus élevées pour le traitement photopériode naturelle (environ 17 ng.mL^{-1}) comparé aux deux autres traitement ($6-8 \text{ ng.mL}^{-1}$).

Les concentrations mesurées en 11-kétotestostérone (11-KT), au cours de cette expérience sont très faibles et ne dépassent pas 1 ng.mL^{-1} .

Les teneurs plasmatiques en 17, 20β -P (**Figure 56b**) sont très faibles au cours de l'expérience excepté pour le mois de juillet où les valeurs initiales sont très élevées ($1700 \pm 740 \text{ pg.mL}^{-1}$) et significativement différentes des deux autres temps.

Comme pour les indices, les évolutions en stéroïdes diffèrent peu entre femelles et mâles.

- Histologie

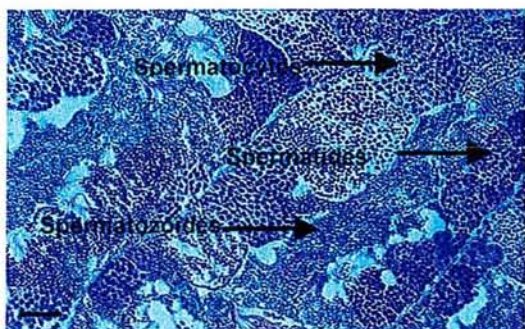
Les coupes histologiques des gonades mâles, réalisées au terme de l'expérience au mois d'octobre, confirment les différences de développement mises en évidence par les indices gonadosomatiques.

Pour le traitement photopériode naturelle (**Figure 57a**), les lobes testiculaires présentent

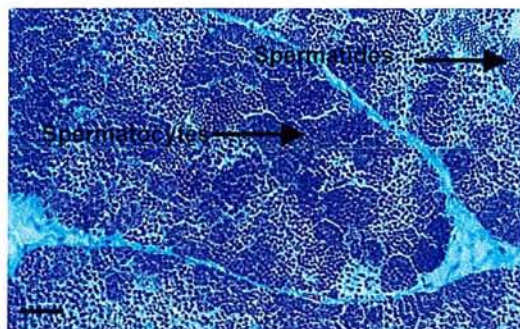
majoritairement des spermatozoïdes. Les coupes histologiques relatives au traitement 16/8 (Figure 57b) montrent une différenciation de plusieurs types cellulaires testiculaires avec une prédominance de spermatocytes et de spermatozoïdes. Enfin, les gonades mâles du traitement 24h présentent principalement des spermatogonies, la spermatogenèse n'a donc pas été déclenchée. Aucune photo de qualité n'est disponible pour ce traitement.

Figure 57 : Effet du traitement photopériodique sur l'état d'avancement du développement des testicules de perches communes *Perca fluviatilis* capturées le 6 octobre 2000.

a : Traitement naturel (x40, échelle = 30 µm)



b : Traitement 16/8 (x40, échelle = 30 µm)



2.3.4. Effet des variations de la photopériode sur un cycle complet de reproduction chez la perche commune

2.3.4.1. Température et qualité de l'eau

Les variations de température observées dans la station expérimentale sont très variables au cours du cycle annuel et surtout en période hivernale et printanière (Figure 58). Elles sont maximales mi-août (environ 25°C) et minimales mi-janvier (pratiquement 0°C). Au mois d'avril, alors que la période de ponte est initiée, un refroidissement important de l'eau est observé, passant de 12-13 à 7°C.

Les teneurs en azote ammoniacal et nitreux sont élevées lors de l'introduction des poissons dans les bacs (Figure 59). Elles diminuent fortement durant les 10 premiers jours (phase d'acclimatation) puis se stabilisent à des valeurs inférieures à 1 mg/l N-NH₄⁺ et à moins de 0.3 mg/l N-NO₂⁻. Elles varient fortement en été et en automne en relation avec les apports en proies vivantes. Ainsi, après chaque apport de poisson fourrage, une élévation des teneurs en N-NH₄⁺, immédiatement suivie d'une augmentation des concentrations en N-NO₂⁻, est observée.

Figure 60: Evolution de la mortalité des géniteurs de perche commune *Perca fluviatilis* au cours du cycle complet de reproduction (juillet 2000 - avril 2001, n = 3).

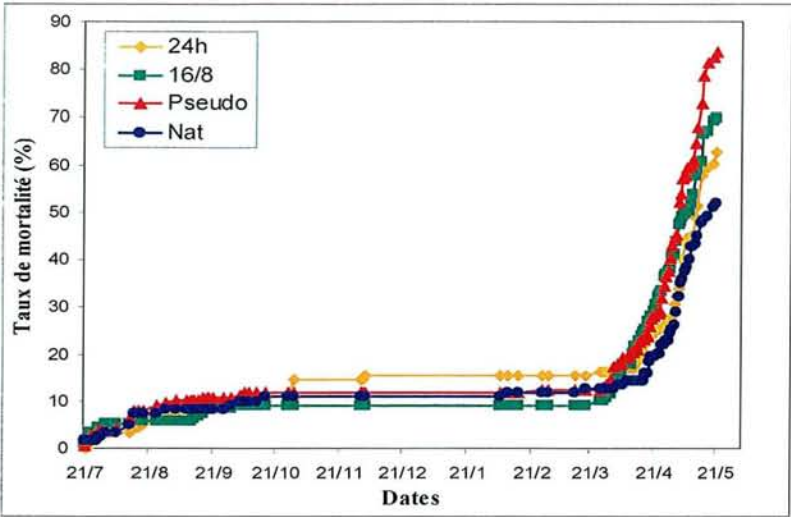
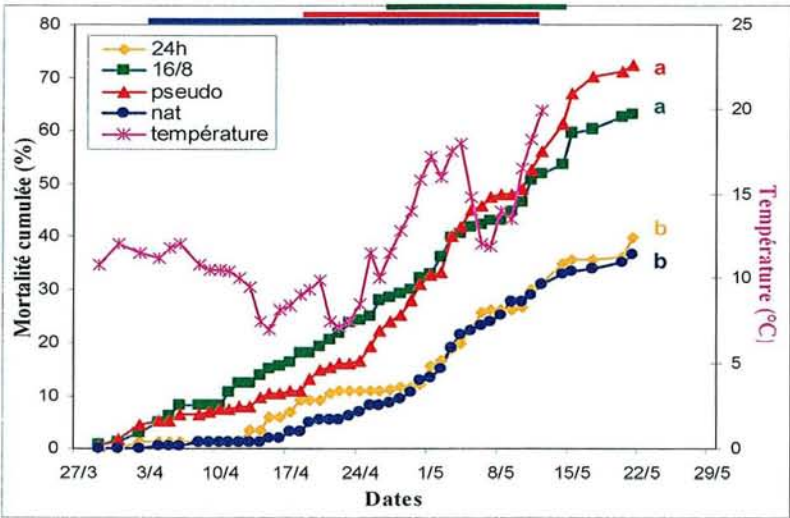


Figure 61 : Evolution de la mortalité des géniteurs et de la température de l’eau au cours de la période de ponte (avril-mai 2001) en fonction du traitement photopériodique appliqué (n = 3, moyennes + écart type). Les barres au dessus du graphique indiquent les périodes de pontes pour chaque traitement.



2.3.4.2. Mortalité

Les mortalités cumulées observées lors de cette expérience sont restées faibles jusqu'à la fin du mois de mars, date à laquelle 13 ± 2 , 15 ± 2 , 11 ± 3 et 16 ± 7 % des géniteurs étaient morts, respectivement pour les traitements photopériode naturelle, pseudo-naturelle, 16/8 et 24h (**Figure 60**). La période finale du cycle de reproduction (mars à mai), marquée par une élévation de la température, a été caractérisée par une forte augmentation des mortalités dans les quatre traitements atteignant 52 ± 21 , 84 ± 17 , 70 ± 27 et 63 ± 22 % (**Figure 60**). Les pourcentages de mortalité, comptabilisés en période de ponte (**Figure 61**) sont significativement plus importants en fin d'expérience pour les traitements pseudo-naturelle et 16/8 (72 ± 23 et 63 ± 28 %, respectivement) que pour les deux autres traitements naturel et 24h (36 ± 15 et 40 ± 18 %, respectivement).

Chez les géniteurs marqués, les mortalités observées jusqu'au 1^{er} mars sont inférieures à 12 %. Les mortalités des femelles et des mâles sont très variables d'un traitement à l'autre. A la fin de l'expérience, 45 à 71 % des femelles et 4 à 100 % des mâles marqués sont morts (**Figure 62**).

Aucune différence significative de la mortalité femelle n'est mise en évidence. La mortalité moyenne des mâles du traitement Nat est significativement plus faible comparée au traitement 16/8. Deux tiers des mâles spermiantes sont morts dans le traitement pseudo-naturel avec 2 mâles sur 3, 7 sur 7 et 1 sur 3, respectivement pour les trois réplicats (**Figure 62**). Les traitements pseudo-naturel et 24 h sont caractérisés par une forte variabilité inter-réplicats. La mortalité moyenne femelle dans le traitement naturel (70 %) est significativement plus élevée que la mortalité mâle (4 %).

Figure 62 : Effet du traitement photopériodique sur les mortalités moyennes relevées en fin d'expérience chez les géniteurs mâles et femelles de perches communes *Perca fluviatilis* en fonction du sexe (n = 3, moyennes + écart type).

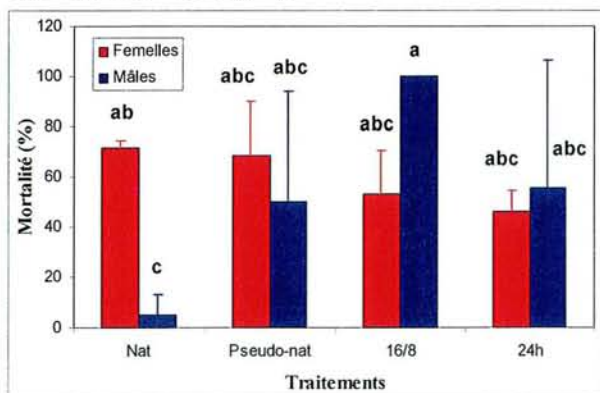
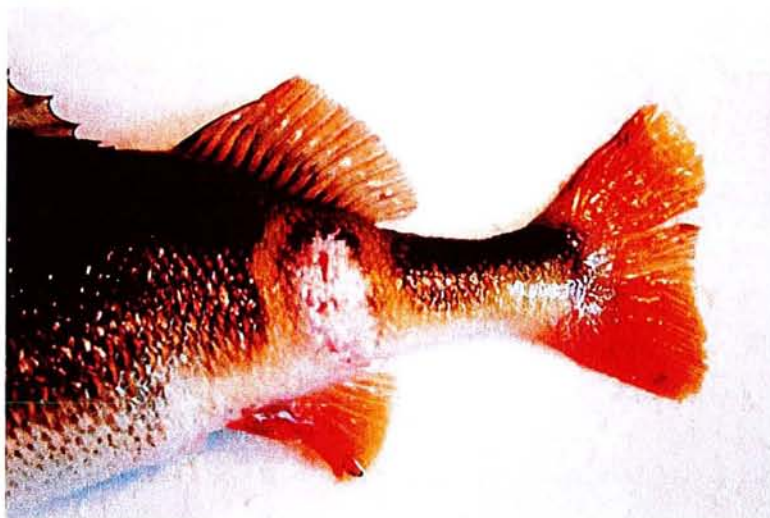


Figure 63 : Lésions observées aux niveaux caudal (a) et abdominal (b) chez les géniteurs en période de reproduction (traitement pseudo-naturel, bassin 12, réplicat 3, 19 avril 2001).

a



b



Durant la période de ponte, 9 % des femelles en développement du traitement naturel sont mortes contre 26 % en traitement pseudo-naturel et 18 % en traitement 16/8. 44 et 33 % des femelles restées non développées sont mortes, respectivement dans les traitements 16/8 et 24h. Pour les deux autres traitements, toutes les femelles étaient en développement, excepté une, qui est morte, dans le traitement naturel.

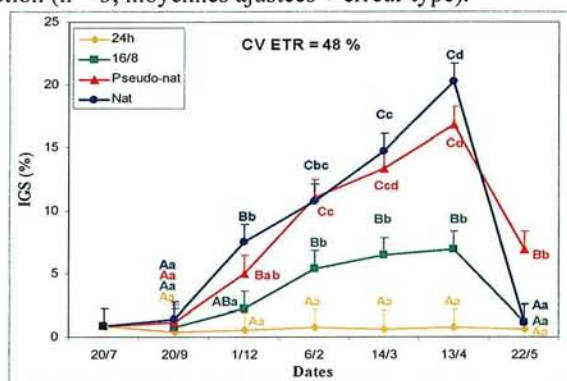
Les photos présentées en **figure 63** montrent les signes externes de bactériose observés sur une partie des géniteurs morts. Selon les géniteurs, deux zones distinctes du corps sont atteintes, soit le niveau caudal (a) soit le niveau abdominal (b).

2.3.4.3. Effet de la photopériode chez les femelles

- Indices morpho-anatomiques

L'IGS a tendance à augmenter assez régulièrement de fin septembre (1 %) à mi-avril (17 à 20 %) pour les trois traitements : Nat et pseudo-nat (valeurs les plus élevées au cours du cycle) et 16/8 (valeurs significativement inférieures, **figure 64**). Du 13 avril au 22 mai, l'IGS diminue significativement pour revenir à des valeurs proches de celles du mois de septembre, sauf pour le traitement pseudo-naturel qui conserve des valeurs (7 à 8 %) significativement plus élevées que les autres. La forte diminution de l'IGS de mi-avril à fin mai correspond à la période des pontes.

Figure 64 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution de l'indice gonadosomatique (IGS) chez les géniteurs femelles de perches communes *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



Le traitement 24h est caractérisé par des IGS significativement très bas et constants au cours de l'expérience (<1%) indiquant l'absence de développement des gonades.

Les IVS ont tendance à décroître légèrement de juillet à mai et à demeurer plutôt

Figure 65 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution de l'indice viscérosomatique (IVS) chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

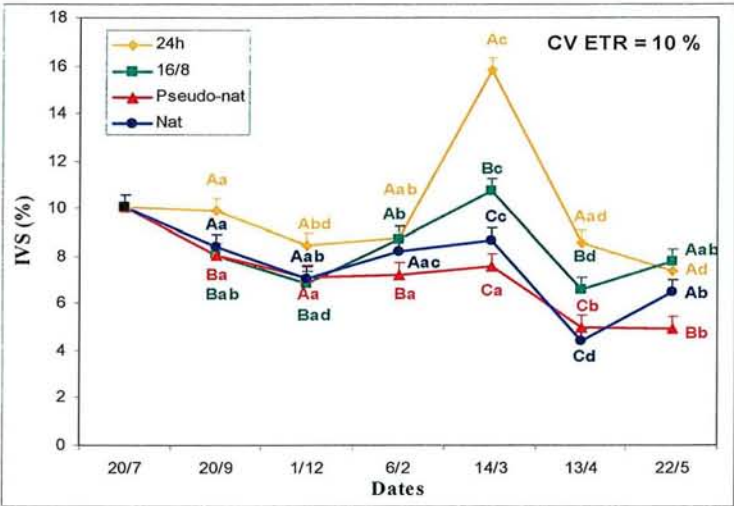
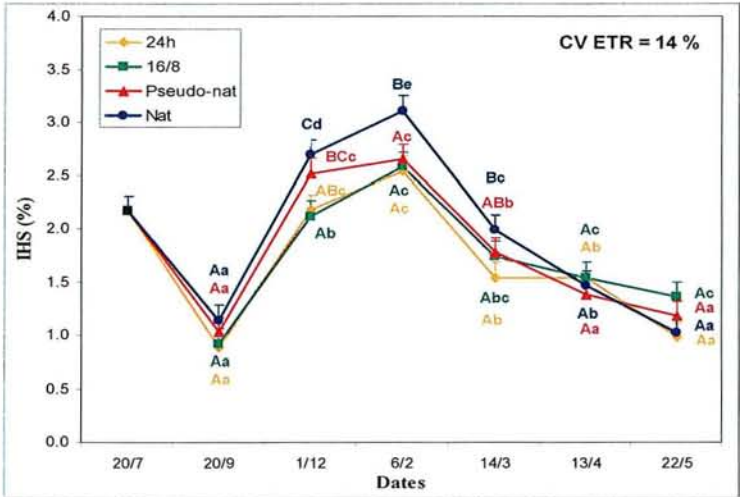


Figure 66 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution de l'indice hépatosomatique (IHS) chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

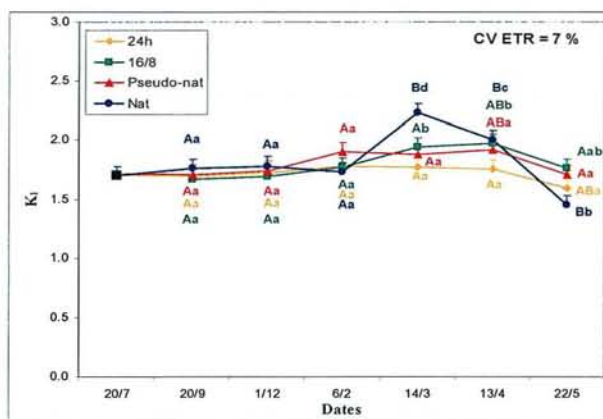


inférieurs pour les traitements naturel et pseudo-naturel (**Figure 65**). Toutefois, en mars, une très forte augmentation significative est observée chez les poissons du traitement 24h et dans une moindre mesure pour le traitement 16/8, atteignant des IVS moyens respectifs de 16 et 11 %. Les IVS des quatre traitements diminuent ensuite significativement en avril, puis restent stables ou augmentent en mai.

Les profils d'évolution de l'IHS ne diffèrent pas selon les traitements, et seul le traitement naturel a tendance à avoir des valeurs supérieures aux autres traitements (**Figure 66**). L'IHS diminue de juillet (2 %) au 20 septembre (< 1 %) puis augmente significativement pour atteindre des valeurs maximales en février. L'IHS décroît ensuite assez régulièrement jusqu'en mai, où il atteint des valeurs proches de celles de septembre.

Les valeurs de K_1 (**Figure 67**) sont assez stables dans le temps et ne diffèrent pas selon les traitements, sauf pour le traitement naturel significativement supérieur aux autres traitements en mars et inférieur en mai.

Figure 67 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution du facteur de condition (K_1) chez les géniteurs femelles de perches communes *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction ($n = 3$, moyennes ajustées + erreur type).



- Stéroïdes sexuels

De novembre à mars, l'effet traitement est significatif pour les teneurs plasmatiques en testostérone (**Figure 68**). D'une part, les variations sont très faibles chez les poissons éclairés 24 h et les poissons du traitement 16/8, qui ont un profil d'évolution un peu moins homogène

Figure 68 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en testostérone (T) chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

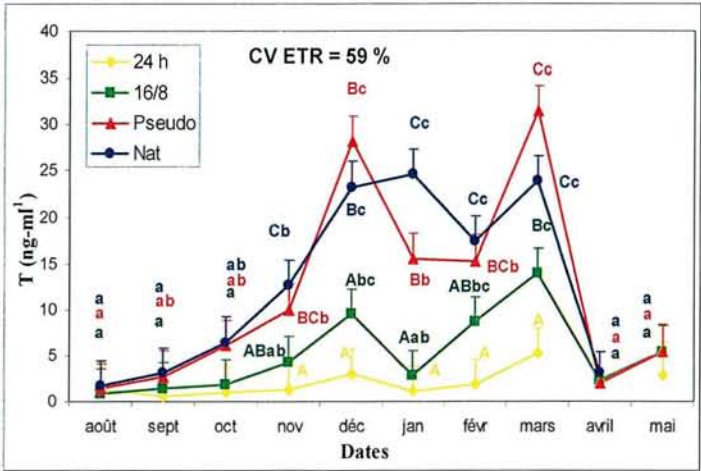
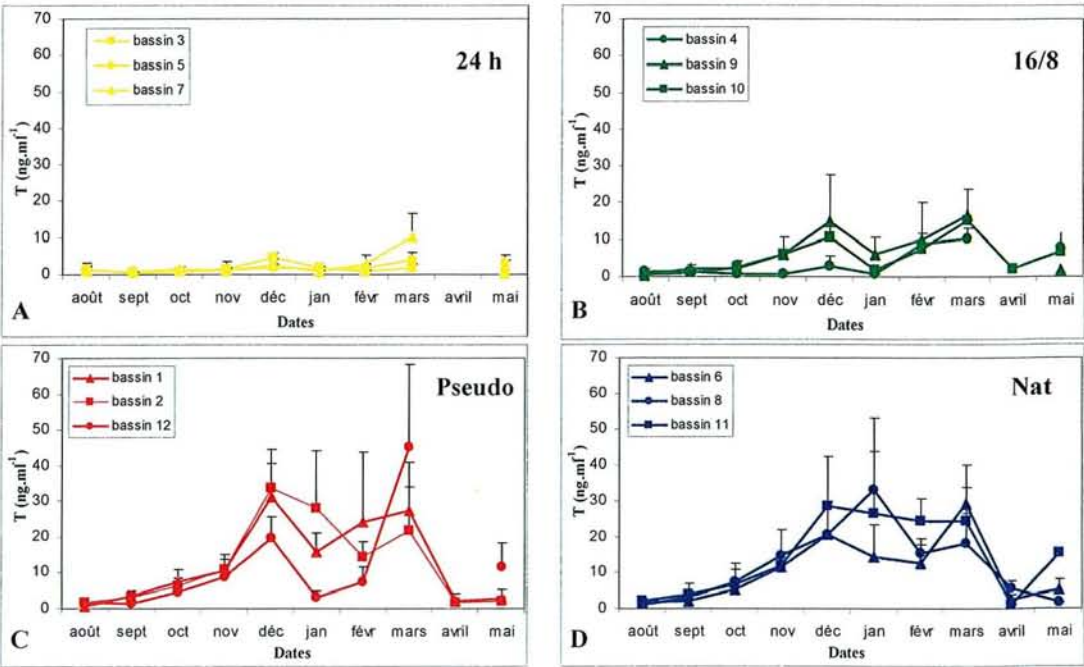


Figure 69 : Evolution des teneurs plasmatiques en testostérone (T) au sein des trois réplicats chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours du temps et en fonction du traitement photopériodique appliqué (moyenne + écart type) : photophase constante de 24 h (A), photopériode fixée à 16/8 (B), pseudo-naturelle (C) et naturelle (D).



avec deux pics à 10 et 15 ng.mL⁻¹ respectivement en décembre et mars. Les deux autres traitements ont des pics significativement supérieurs à ces mêmes dates, atteignant 25 à 30 ng.mL⁻¹. De mars à avril, les valeurs chutent fortement pour atteindre des valeurs proches de celles d'août. Aucune différence significative n'est observée pour le traitement 24h au cours de l'expérience. Aucune donnée n'est disponible pour le traitement 24h au mois d'avril car seules les femelles ayant pondu à cette date ont été étudiées.

Si les profils en testostérone correspondant aux traitements 24h, 16/8 et Nat sont assez homogènes entre réplicats (**Figure 69**), ce n'est pas le cas pour le traitement pseudo-naturel où un des réplicats se distingue des deux autres avec des teneurs faibles en décembre, en janvier et en février et augmentant fortement au mois de mars. Les profils d'évolution en testostérone des deux autres réplicats ressemblent beaucoup à celui du traitement naturel.

Les évolutions des teneurs plasmatiques en oestradiol (E₂, **Figure 70**) observées du mois d'août au mois d'octobre ne mettent pas en évidence d'effets traitement ou temps significatifs. En novembre, les teneurs plasmatiques en E₂ augmentent significativement pour les traitements 16/8, pseudo-naturel et naturel et sont significativement plus élevées pour le traitement naturel comparé aux trois autres. Les concentrations en E₂ augmentent relativement régulièrement jusqu'en février, sauf pour le traitement 24h, tout en restant le plus souvent inférieures pour le traitement 16/8. De février à avril, les teneurs chutent significativement pour les trois traitements pour atteindre des valeurs inférieures à 1 ng.mL⁻¹ et restent constantes au prélèvement suivant. Si les profils par réplicat (**Figures 71**) semblent similaires pour les traitements 24h, pseudo-naturel et naturel, un des réplicats (bassin 4) du traitement 16/8 présente un profil beaucoup plus plat ressemblant à ceux du traitement 24h avec des teneurs plasmatiques en E₂ plus faibles, sans évolution marquée dans le temps. Sans prendre en compte ce réplicat, les profils des 3 traitements 16/8, pseudo-naturel et naturel se ressemblent fortement.

Les taux de 17, 20β-P (**Figure 72**) augmentent d'août à octobre où elles atteignent un pic puis diminuent jusqu'en novembre-décembre pour les trois traitements naturel, pseudo et 16/8. L'effet traitement n'est significatif qu'en octobre (24h < nat, pseudo et 16/8) et en novembre (nat > pseudo, 16/8 et 24h). De décembre à mai, chaque profil correspondant à un traitement atteint un pic, en janvier pour le traitement pseudo, en février pour le traitement nat, et en mars pour les traitements 16/8 et 24h.

Les profils d'évolution par réplicat (**Figures 73**) des traitements 24h et naturel sont les plus homogènes. Toutefois, pour chacun des 4 traitements, un des 3 réplicats a un profil qui

Figure 70 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en oestradiol (E_2) chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

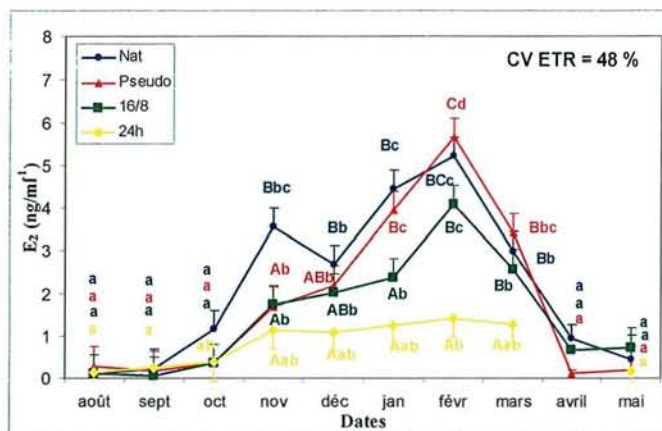


Figure 71 : Evolution des teneurs plasmatiques en oestradiol (E_2) au sein des trois réplicats chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours du temps et en fonction du traitement photopériodique appliqué (moyenne + écart type) : photophase constante de 24 h (A), photopériode fixée à 16/8 (B), pseudo-naturelle (C) et naturelle (D).

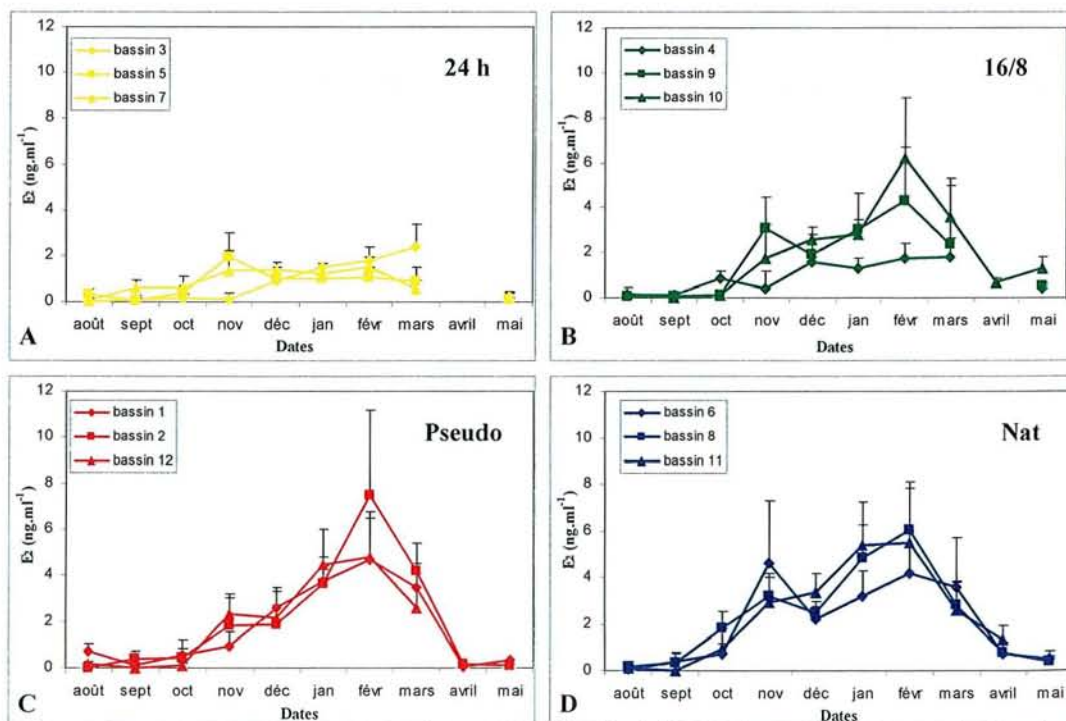


Figure 72 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

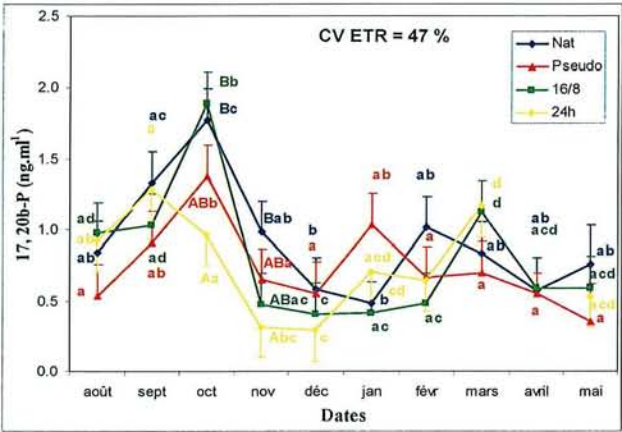


Figure 73 : Evolution des teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P au sein des trois réplicats chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours du temps et en fonction du traitement photopériodique appliqué (moyenne + écart type) : photophase constante de 24 h (A), photopériode fixée à 16/8 (B), pseudo-naturelle (C) et naturelle (D).

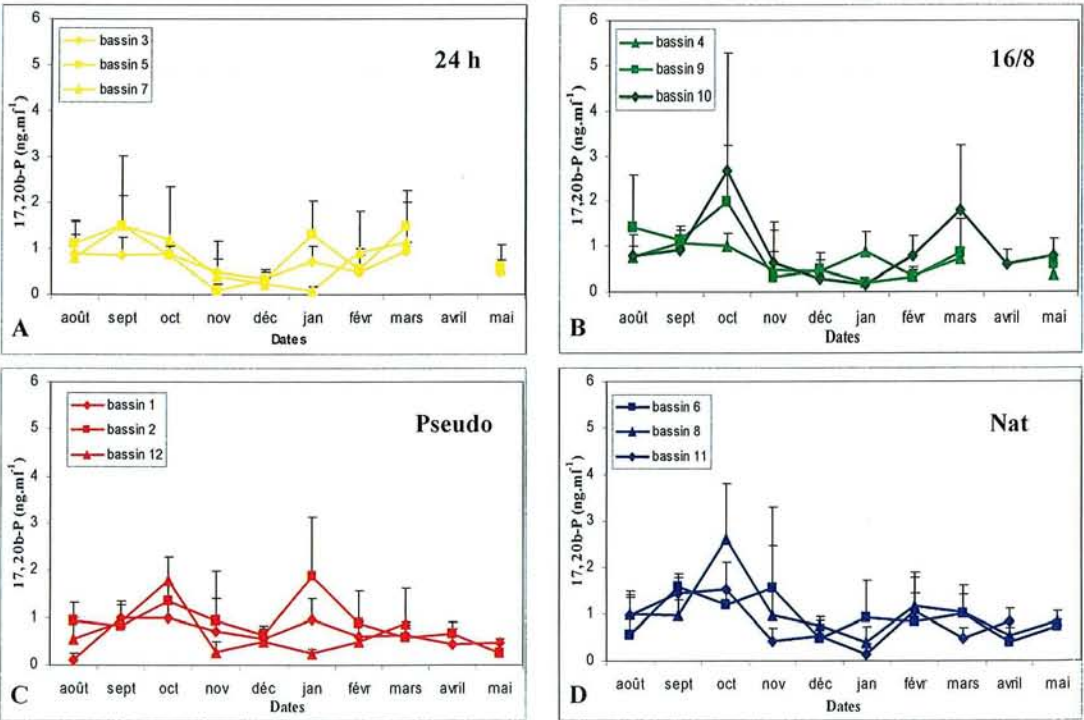
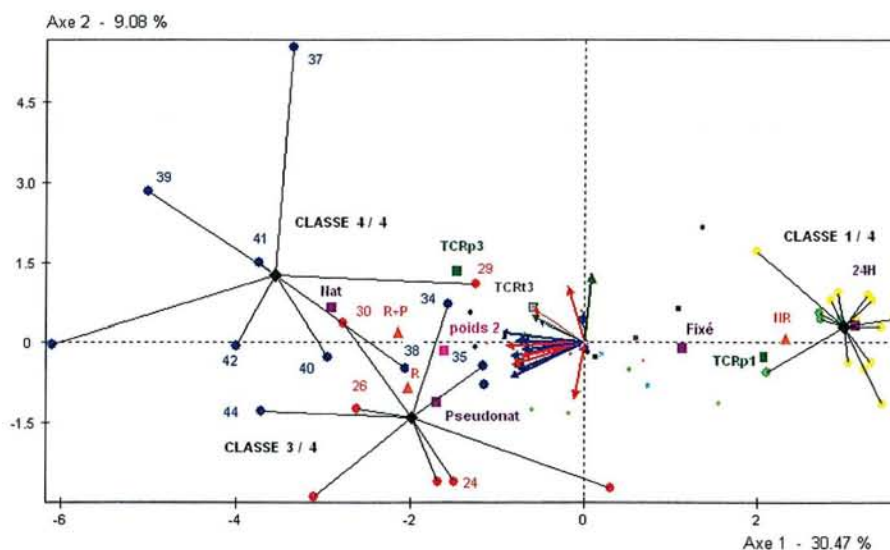


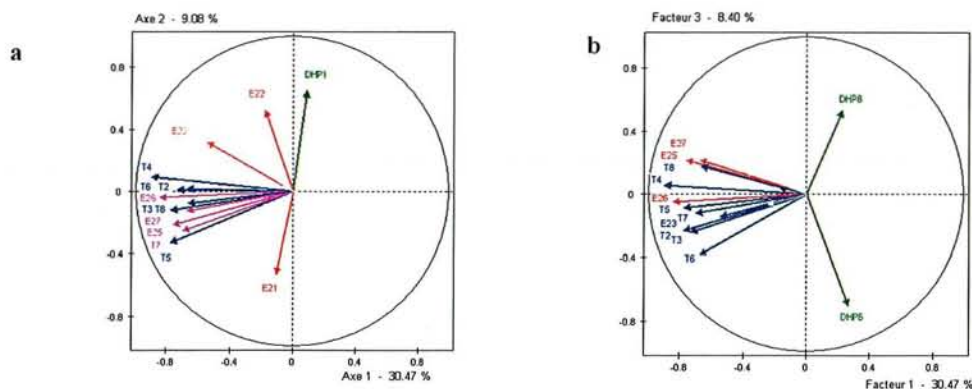
Figure 75 : Projection des individus, des classes et des variables dans un plan défini par les axes 1 et 2. Chacune des 3 classes, représentées par des symboles noirs, est rattachée aux individus la caractérisant (parangons). Les individus sont représentés par des points de couleur différente selon leur appartenance aux différents traitements : jaune = photopériode constante de 24 h (24H), vert = photopériode de 16h (Fixée), rouge = photopériode pseudo-naturelle (Pseudonat) et bleu = photopériode naturelle (Nat). Les femelles ayant pondu au terme de l'expérience sont indiquées grâce à leur numéro d'identification. Les autres symboles de couleur représentent les variables illustratives. Seules les modalités de ces variables caractérisées par les axes sont représentées : carrés pleins violets = modalités photopériodiques, carrés pleins verts = taux de croissance relatif réalisé sur le poids (TCRp 1 = le plus faible et TCRp 3 = le plus élevé), carrés pleins gris = taux de croissance relatif réalisé sur la taille (TCRt 3 = le plus élevé), carrés pleins roses = poids initial des géniteurs (poids 2 = [300 ; 400], carrés pleins oranges = réponses des géniteurs aux traitements (3 modalités : NR= non répondu, R = répondu et R+P = répondu et pondu) et symbole marron = réplicats (rep 3 = troisième réplicat).



diffère des deux autres.

Les deux représentations graphiques (**Figures 74a et b**) correspondent à la projection des variables actives sur les plans 1-2 et 1-3 de l'analyse en composantes principales. Ils expliquent 48 % de l'inertie globale. L'axe 1 est défini essentiellement par les variables testostérone au temps 2 (T2, septembre) et au temps 8 (T8, mars) et par les variables oestradiol aux temps 3 (E23, octobre), temps 5 (E25, décembre), temps 6 (E26, janvier) et temps 7 (E27, février). L'axe 2 est caractérisé par des valeurs élevées de DHP (17, 20 β -P) au temps 1 (DHP 1, août) associées à des valeurs élevées en oestradiol aux temps 2 (E22) et à l'opposé par des valeurs faibles en E2 au temps 1 (E21). L'axe 3 est décrit par la variable DHP au temps 6 (DHP6, janvier) et à l'opposé par la DHP au temps 8 (DHP8, mars).

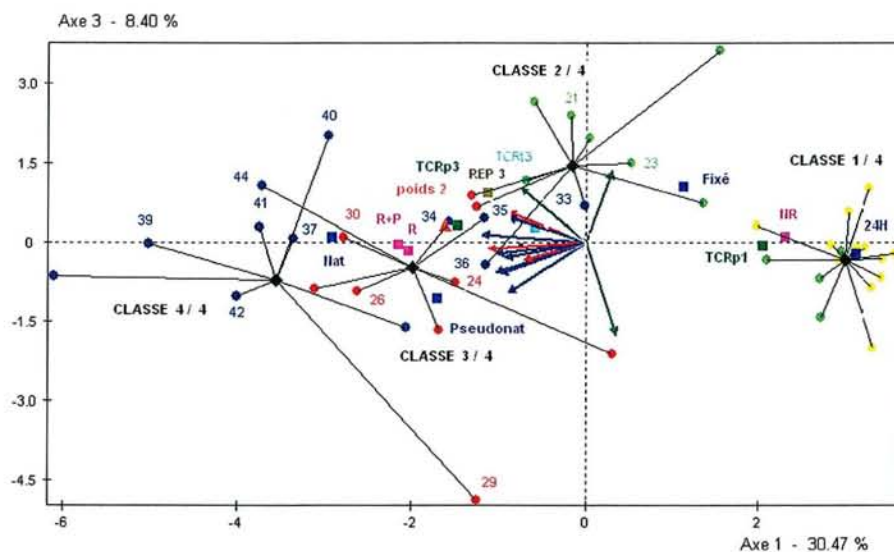
Figure 74 : Projection des variables actives définissant les axes 1, 2 et 3 en analyse en composantes principales sur les données hormonales de testostérone (T), de 17- β oestradiol (E2) et de 17, 20 β -P, mesurées chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* aux 8 premiers temps de prélèvement (variables actives). Les figures a et b représentent respectivement les projections des variables actives sur les plan 1-2 et 1-3.



La classe 4 est composée d'individus ayant reçu le traitement naturel (ronds bleus) et d'un individu ayant reçu le traitement pseudo-naturel (ronds rouges, **Figure 75**). Toutes ces femelles ont répondu et toutes ont pondu, sauf une, en fin d'expérience.

Cette classe est aussi caractérisée par la variable illustrative Répondu et Pondu (R+P). Ces femelles présentent de fortes teneurs en testostérone et en oestradiol durant leur cycle de reproduction. Les géniteurs femelles de cette classe ont un poids moyen initial intermédiaire (poids 2) et un taux de croissance relatif plus important que les autres géniteurs, que ce dernier soit calculé en fonction du poids (TCRp3) ou de la taille (TCRt3).

Figure 76 : Projection des individus, des classes et des variables dans un plan défini par les axes 1 et 3. Chacune des 4 classes, représentées par des symboles noirs, est rattachée aux individus la caractérisant (parangons). Les individus sont représentés par des points de couleur différente selon leur appartenance aux différents traitements : jaune = photopériode constante de 24 h (24H), vert = photopériode de 16h (Fixée), rouge = photopériode pseudo-naturelle (Pseudonat) et bleu = photopériode naturelle (Nat). Les femelles ayant pondu au terme de l'expérience sont indiquées grâce à leur numéro d'identification. Les autres symboles de couleur représentent les variables illustratives. Seules les modalités de ces variables caractérisées par les axes sont représentées : carrés pleins violets = modalités photopériodiques, carrés pleins verts = taux de croissance relatif réalisé sur le poids (TCRp 1 = le plus faible et TCRp 3 = le plus élevé), carrés pleins gris = taux de croissance relatif réalisé sur la taille (TCRt 3 = le plus élevé), carrés pleins roses = poids initial des géniteurs (poids 2 = [300 ; 400], carrés pleins oranges = réponses des géniteurs aux traitements (3 modalités : NR= non répondu, R = répondu et R+P = répondu et pondu) et symbole marron = réplicats (rep 3 = troisième réplicat).



La classe 3 regroupe principalement des individus du traitement pseudo-naturel (ronds rouges) et trois femelles du traitement naturel (ronds bleus). Ces trois femelles ont pondu ainsi que 3 des 6 femelles du traitement pseudo-naturel. Les individus de cette classe sont caractérisés par de plus fortes teneurs initiales en oestradiol, de plus faibles teneurs initiales en 17, 20 β -P (axe 2) et de plus faibles teneurs en testostérone du temps 2 au temps 8 et en oestradiol aux temps 3, 5, 6 et 7 (axe 1). Au sein de la classe, les trois femelles n'ayant pas pondu ont les plus faibles teneurs initiales en E₂ et les plus élevées au temps 2 ainsi que les plus faibles teneurs initiales en 17, 20 β -P.

La classe 1 regroupe tous les individus du traitement 24h (ronds jaunes) et 3 individus du traitement 16/8 (ronds verts). Tous ces individus n'ont pas répondu aux traitements photopériodiques. Ils sont caractérisés par des taux hormonaux et des taux de croissance relatifs faibles (TCRp1).

La classe 2, caractérisée par les axes 1 et 3 (**Figure 76**), regroupe des individus appartenant aux traitements 16/8, pseudo-naturel et naturel. Tous les individus ont répondu, c'est-à-dire que leurs gonades se sont développées. Seules les deux femelles du traitement naturel ont pondu, ainsi que deux femelles du traitement 16/8. Cette classe est significativement (valeur test>2) caractérisée par des teneurs faibles en 17, 20 β -P au temps 6 et élevées eu temps 8 (axe 3).

D'une manière générale, les individus de la classe 1 (principalement traitement 24h) sont caractérisés par de faibles teneurs en T et en E₂ (axe 1) par opposition aux classes 3 et 4 (traitements Nat et pseudo-nat) caractérisées par des teneurs plus élevées. La classe 3 (principalement composée d'individus du traitement pseudo-nat) se distingue de la classe 4 (Nat) par des teneurs initiales en E₂ plus élevées et des teneurs en E₂ au temps 2 plus faibles (axe 2). La classe 2 (principalement composée d'individus du traitement 16/8) est caractérisée par des teneurs en T et en E₂ intermédiaires (axe 1) et des teneurs en 17, 20 β -P plus élevées au temps 8 que pour les classes 3 et 4.

- Histologie

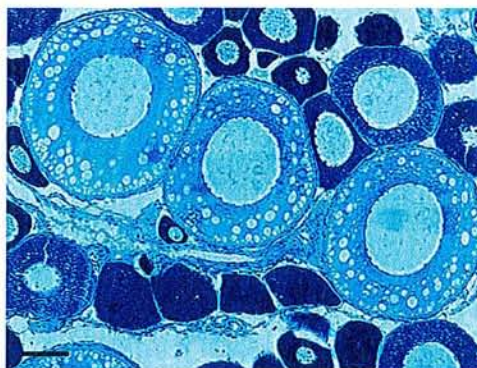
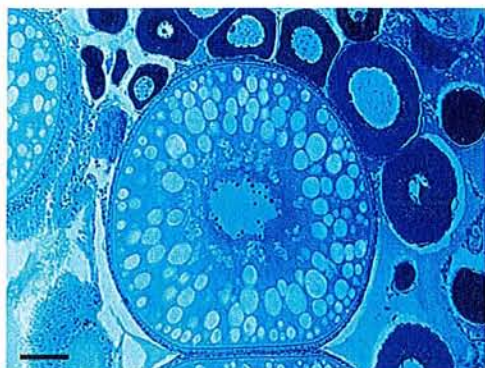
En septembre, les gonades des géniteurs du traitement naturel contiennent des ovocytes au stade de la vitellogenèse endogène précoce et sont donc beaucoup plus avancés que ceux des autres traitements (**Figure 77a**). Le noyau est en position centrale. Il contient les nucléoles entourés de vésicules vitellines en formation dans le cytoplasme. Les membranes folliculaires commencent à se distinguer. L'ovocyte mesure environ 450 μ m.

Les fragments de gonade prélevés chez les géniteurs femelles du traitement photopériode pseudo-naturelle (**Figure 77b**) présentent des ovocytes à un stade moins avancé et donc plus petits (environ de 275 à 325 μm). Ils possèdent un noyau central volumineux et une mince couche de cytoplasme contenant probablement des cellules somatiques qui donneront par la suite les enveloppes folliculaires.

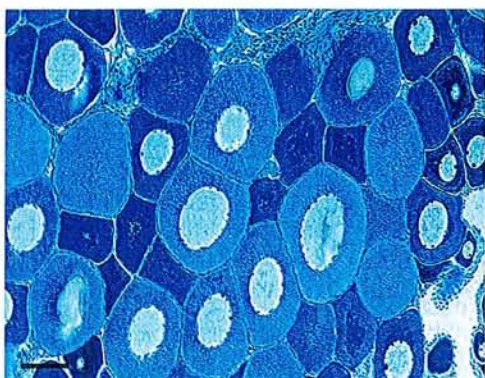
Les traitements 16/8 (**Figure 77c**) et 24h (**Figure 77d**) montrent un retard important du développement des ovocytes qui sont encore au stade primaire et seul le noyau volumineux entouré de cytoplasme est visible. Les ovocytes ont une taille légèrement plus importante chez les géniteurs du traitement 16/8 (environ 150 à 200 μm) comparés à ceux du traitement 24h (environ 100 à 150 μm).

Figure 77 : Effet du traitement photopériodique sur le niveau de développement des ovaires de perches communes *Perca fluviatilis* prélevées aux mois de septembre pour les quatre traitements testés.

a : Traitement naturel (x20, échelle = 80 μm) **b : Traitement pseudo-naturel** (x20, échelle = 80 μm)



c : Traitement 16/8 (x20, échelle = 80 μm)



d : Traitement 24h (x20, échelle = 60 μm)

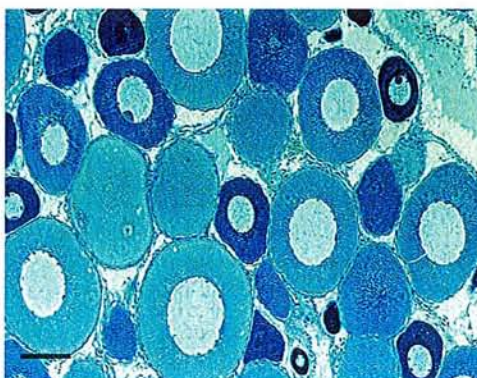
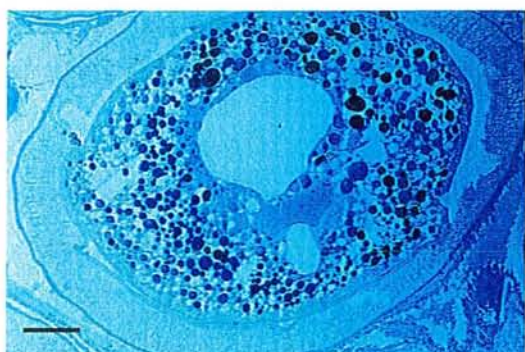
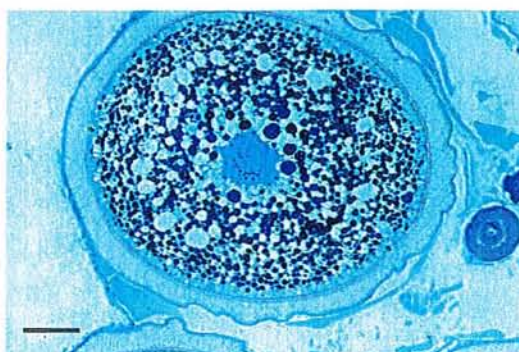


Figure 78 : Effet du traitement photopériodique sur le niveau de développement des ovaires de perches communes *Perca fluviatilis* prélevées aux mois d'avril pour les quatre traitements testés.

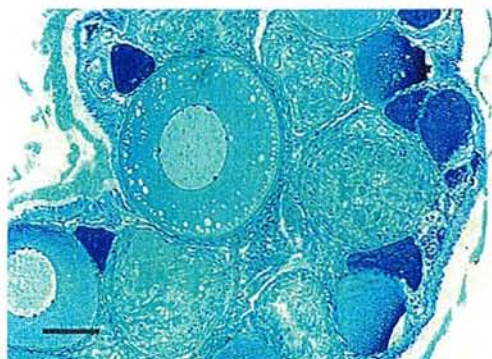
a : Traitement naturel
(x10, échelle = 140 μ m)



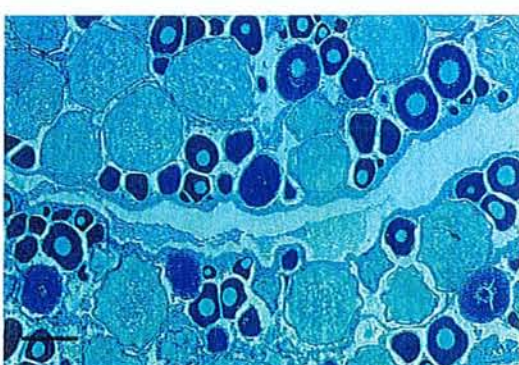
b : Traitement pseudo-naturel
(x10, échelle = 140 μ m)



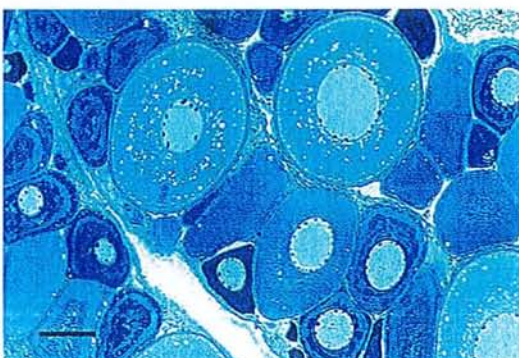
c : Traitement 16/8
(x20, échelle = 80 μ m)



d : Traitement 16/8
(x10, échelle = 160 μ m)



e : Traitement 24h
(x20, échelle = 60 μ m)



Au temps 5, réalisé au mois d'avril, les différences histologiques des gonades sont encore plus nettes. Les coupes histologiques des gonades des géniteurs des traitements naturel (**Figure 78a**) et pseudo-naturel (**Figure 78b**) montrent des ovocytes arrivés en fin de vitellogenèse exogène et même au stade de la migration de la vésicule germinale annonçant le début de la maturation ovocytaire finale. Les géniteurs de ces deux traitements semblent être arrivés au même stade. Les œufs mesurent de 1 à 1.5 mm environ. Par contre, les stades histologiques des ovocytes des géniteurs femelles du traitement 16/8 (**Figures 78c et d**) sont hétérogènes. Certaines gonades présentent des ovocytes en vitellogenèse (pas d'illustration) alors que d'autres présentent quelques ovocytes en début de développement et la plupart en dégénération (**Figure 78c**), voire même des ovocytes atrétiques (phénomène d'atrésie pré-ovulatoire: *corpora atretica preovulationis*, **Figure 78d**). Leur diamètre varie de 250 à 550 μm , en fonction de leur stade. Enfin, le traitement 24h (**Figure 78e**) a complètement inhibé le développement des gonades des géniteurs qui présentent toujours des ovocytes primaires au temps 5, mesurant environ 150 μm .

L'évolution des DO relative aux traitements naturel et pseudo-naturel (**Figure 79**) ressemble à celle observée en milieu naturel. Les DO augmentent significativement au cours du temps passant de $270 \pm 110 \mu\text{m}$ au temps t_1 à $1080 \pm 80 \mu\text{m}$ au temps t_5 . Les diamètres ovocytaires mesurés sur les différents géniteurs sacrifiés de ces deux derniers traitements et pour les trois réplicats testés, sont homogènes, ce qui n'est pas le cas pour le traitement photopériode 16/8.

Figure 79 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution du diamètre des ovocytes (DO) mesuré chez les géniteurs femelles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours du cycle de reproduction ($n = 3$, moyennes ajustées $\pm$ erreur type).

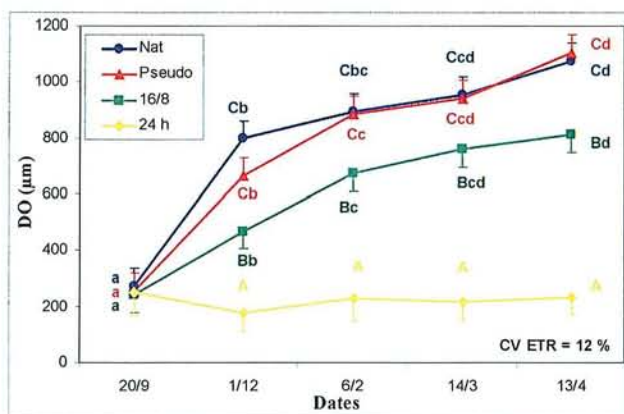


Figure 81 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution de l'indice gonadosomatique (IGS) chez les géniteurs mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

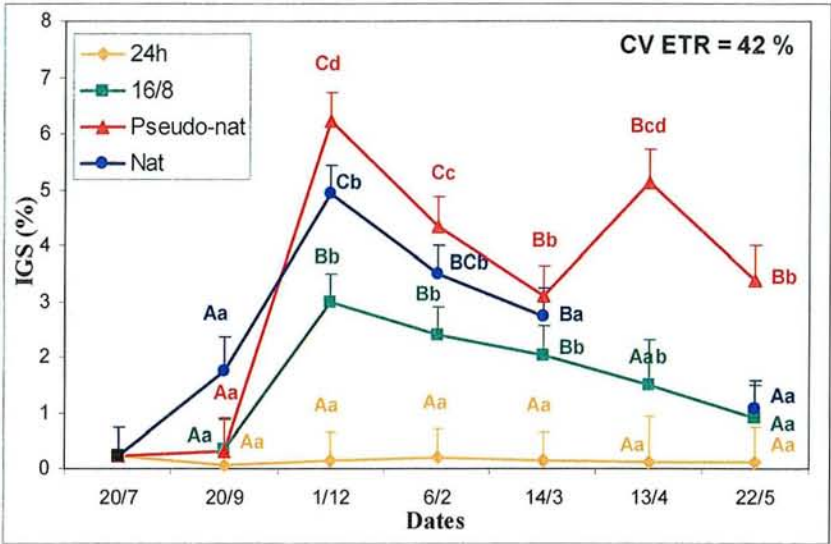
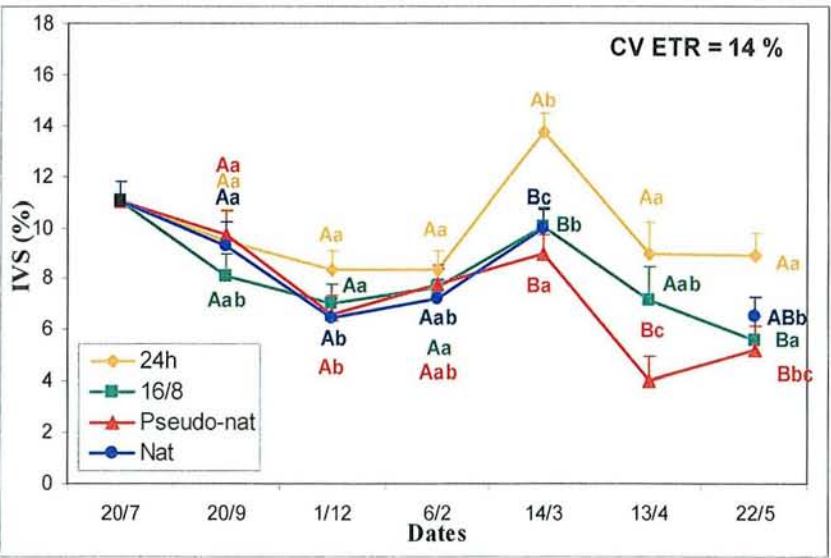


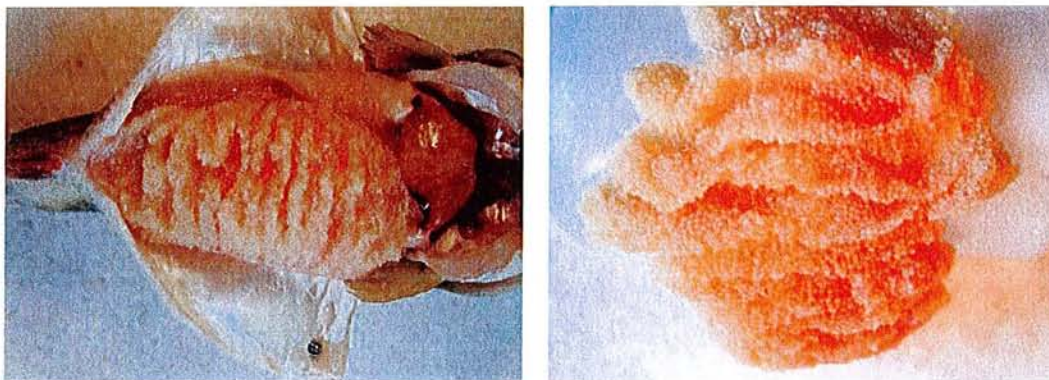
Figure 82 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution de l'indice viscérosomatique (IVS) chez les géniteurs mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



En photopériode fixée (16/8), les DO augmentent de façon moins importante que pour les traitements naturel et pseudo-naturel et atteignent une valeur moyenne de $860 \pm 190 \mu\text{m}$ au mois d'avril. Enfin, les DO mesurés chez les géniteurs du traitement 24h restent inchangés tout au long de l'expérience à environ $200 \mu\text{m}$.

Cette étude histologique permet de mieux comprendre le moment de la formation de la gangue gélatineuse à l'origine de la formation du ruban, caractéristique chez la perche commune. Une gonade de perche prélevée le 14 mars 2001 (**Figures 80**) présente déjà une organisation des œufs sous la forme d'un ruban. Ainsi, les ovocytes semblent être déjà reliés les uns aux autres et former une structure symétrique à l'intérieur de la gonade.

Figure 80 : Organisation intra-gonade des ovocytes en période pré-ovulatoire chez une femelle de perche commune *Perca fluviatilis* prélevée le 14 mars 2001 (traitement photopériode naturelle, bassin 8, réplicat 2) .



2.3.4.4. Effet de la photopériode chez les mâles

- Indices morpho-anatomiques

Comme chez les femelles, l'IGS pour le traitement 24h n'a pas évolué dans le temps. L'augmentation des IGS (**Figure 81**) est plus rapide que chez les femelles et les niveaux maxima sont atteints beaucoup plus tôt, dès le mois de décembre (pseudo-nat = 6.5 % ; nat = 5 % > 16/8 = 3 % > 24h = 0.2 %). Puis, les indices gonadosomatiques ont tendance à diminuer sauf pour ceux du traitement pseudo-naturel qui réaugmentent fortement en avril et restent plus élevés que les autres jusqu'en mai. Au mois d'avril, aucun mâle n'a pu être prélevé dans les bassins du traitement naturel.

Figure 83 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution de l'indice hépatosomatique (IHS) chez les géniteurs mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

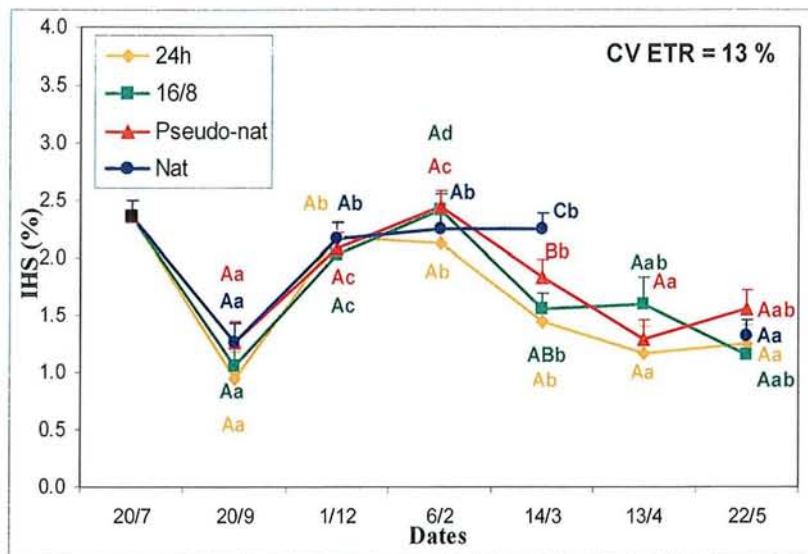
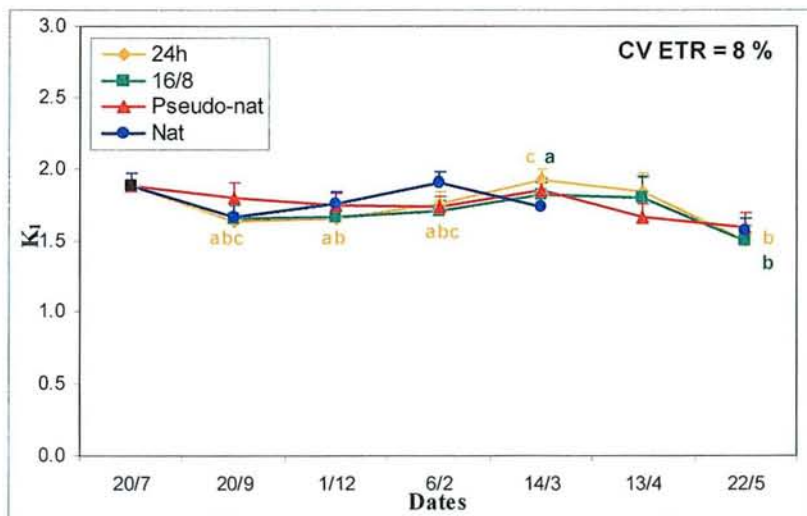


Figure 84 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution du facteur de condition (K_1) chez les géniteurs mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



Le profil d'évolution des indices viscérosomatique (IVS, **Figure 82**) en fonction du temps est similaire à celui observé chez les femelles avec des effets traitement plus marqués à partir de mars. L'IVS moyen correspondant au traitement photopériode naturelle d'avril n'a pas pu être déterminé, le nombre de mâles dans ce traitement étant trop faible.

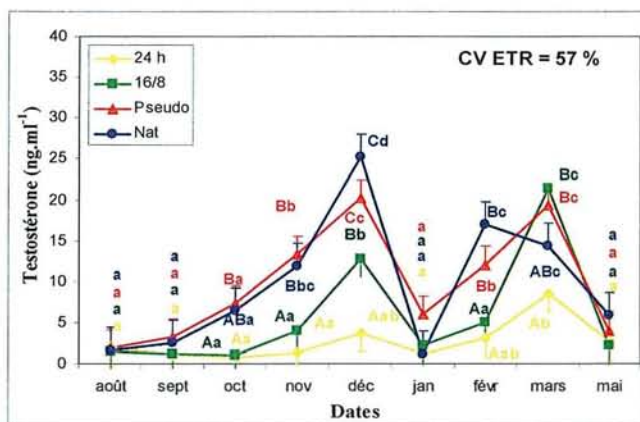
L'IHS (**Figure 83**) varie fortement au cours de l'expérience et là encore, le profil d'évolution dans le temps diffère peu de celui des femelles. La différence essentielle se situe en mars où les effets traitements sont plus marqués que chez les femelles.

Enfin, les facteurs de condition K_1 (**Figure 84**) des poissons sacrifiés à chaque temps de prélèvement restent relativement stables au cours de l'expérience pour les quatre traitements, comme chez les femelles.

- Stéroïdes sexuels

Les teneurs en testostérone (T, **Figure 85**), faibles au mois d'août ($1.5-2 \text{ ng.mL}^{-1}$), augmentent significativement jusqu'au mois de décembre pour les géniteurs soumis aux traitements 16/8, pseudo-naturel et naturel pour atteindre un premier pic avec respectivement des concentrations de $12.8 \pm 2.3 < 20.2 \pm 2.3$ et $25.2 \pm 2.8 \text{ ng.mL}^{-1}$. Les teneurs mesurées chez les géniteurs du traitement 24h restent inchangées.

Figure 85 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en testostérone (T) chez les mâles de perches communes *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction ($n = 3$, moyennes ajustées $\pm$ erreur type).



Les teneurs plasmatiques en T sont significativement plus élevées chez les géniteurs des traitements naturel et pseudo-naturel comparés aux deux autres traitements jusqu'en décembre. Elles sont intermédiaires pour le traitement 16/8.

Figure 86 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en 11-kétotestostérone (11-KT) chez les mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées $\pm$ erreur type).

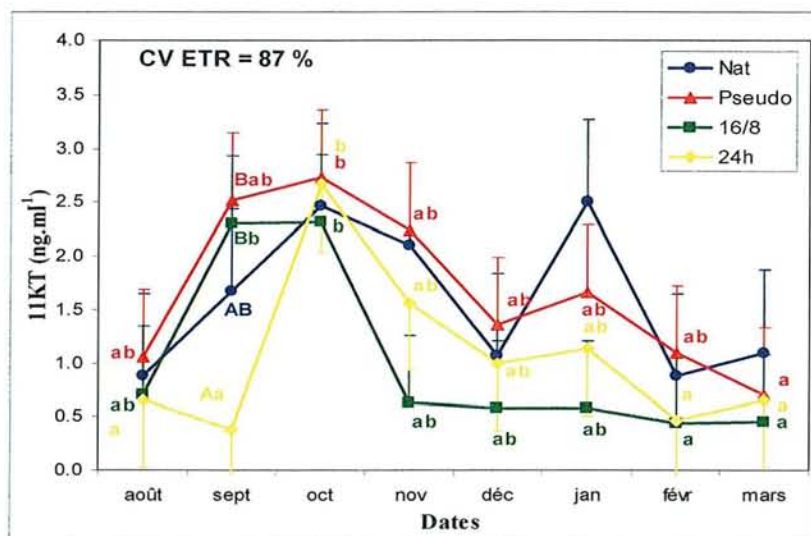
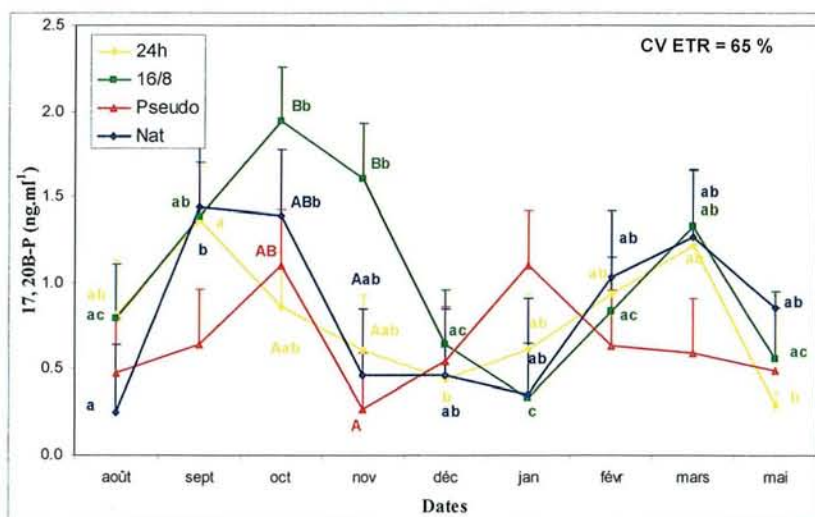


Figure 87 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution des teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P chez les mâles de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



Les teneurs plasmatiques diminuent ensuite significativement au mois de janvier où l'effet traitement n'est plus significatif, avant d'atteindre un second pic au mois de février pour le traitement naturel ($17.0 \pm 2.8 \text{ ng.mL}^{-1}$) et au mois de mars pour les traitements 16/8 ($21.5 \pm 2.3 \text{ ng.mL}^{-1}$) et pseudo-naturel ($19.3 \pm 2.3 \text{ ng.mL}^{-1}$). Les concentrations chutent significativement au mois de mai. Les géniteurs du traitement 24h ont des concentrations plasmatiques en T supérieures en mars par rapport aux autres temps.

Les teneurs plasmatiques en 11-kétotestostérone (11-KT, **Figure 86**) augmentent d'août à octobre pour les traitements naturel, pseudo-naturel et 16/8 et atteignent un pic de 2.3 à 2.5 ng.mL^{-1} . Puis, elles diminuent progressivement pour les traitements naturel, pseudo-naturel et 24h et atteignent des concentrations similaires à celles mesurées initialement. La diminution est plus rapide dès novembre pour le traitement 16/8. Les effets traitements ne sont significatifs qu'au mois de septembre entre le traitement 24h et les autres traitements.

L'évolution des teneurs plasmatiques en 17, 20 β -P (**Figure 87**) chez les géniteurs des différents traitements a une amplitude faible (0.3 à environ 2 ng.mL^{-1}). Les plus fortes teneurs sont observées chez les géniteurs du traitement 16/8. Elles augmentent significativement d'août à octobre pour tous les traitements sauf le traitement 24h pour lequel le pic est en septembre. Les concentrations diminuent ensuite fortement jusqu'en novembre ou décembre et atteignent des valeurs comprises entre 0.3 et 0.6 ng.mL^{-1} . Enfin, les fluctuations jusqu'à la fin de l'expérience ne sont pas significatives du fait des fortes erreurs-types, mais avec une tendance à un second pic en mars pour les traitements 24h, 16/8 et naturel et janvier pour le traitement pseudo-naturel.

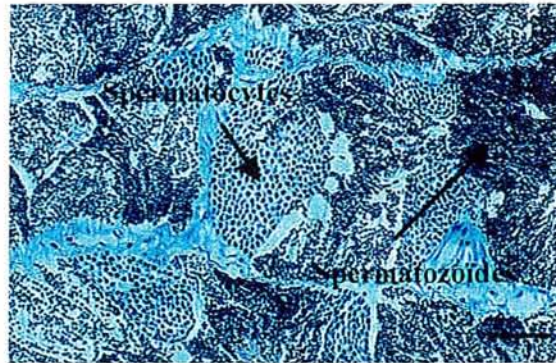
- Histologie

En septembre, les gonades mâles du traitement naturel (**Figure 88a**) présentent déjà des spermatozoïdes caractérisés par leur forme ovoïde et leur flagelle. D'autres cellules plus grosses semblent correspondre à des spermatides. L'histologie des testicules des géniteurs du traitement pseudo-naturel (**Figure 88b**) a la même apparence. Les gonades mâles des traitements 16/8 et 24h (**Figures 88c et d**) semblent présenter majoritairement des spermatogonies de type A et des cellules plus grosses qui pourraient correspondre à des spermatogonies de type B. Spermatides et spermatozoïdes ne sont pas encore formés.

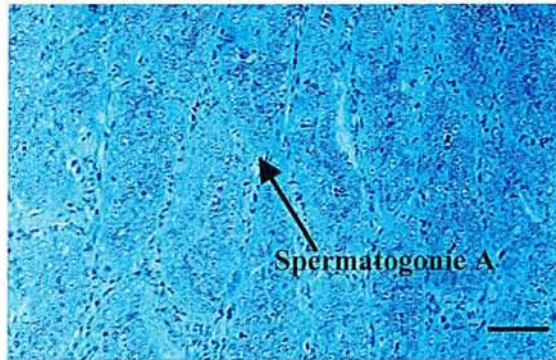
Si la totalité des mâles des traitements naturel et pseudo-naturel était spermiant lors du prélèvement réalisé au mois d'avril (T₅), très peu l'étaient dans le traitement 16/8 et aucun dans le traitement 24h. A cette date, les gonades des géniteurs issus des traitements naturel et

Figure 88 : Effet du traitement photopériodique sur le niveau de développement des gonades mâles de perches communes *Perca fluviatilis* prélevées aux mois de septembre (photos a, b, c et d) et d'avril (e, f, g, h) pour les quatre traitements testés.

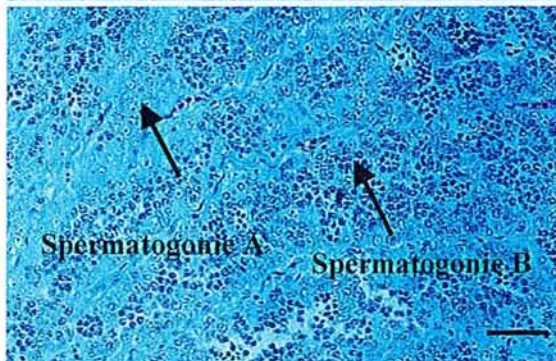
a : Traitement naturel
(x40, échelle = 30 μ m)



b : Traitement pseudo-naturel
(x20, échelle = 30 μ m)



c : Traitement 16/8
(x40, échelle = 30 μ m)



d : Traitement 24h
(x40, échelle = 30 μ m)

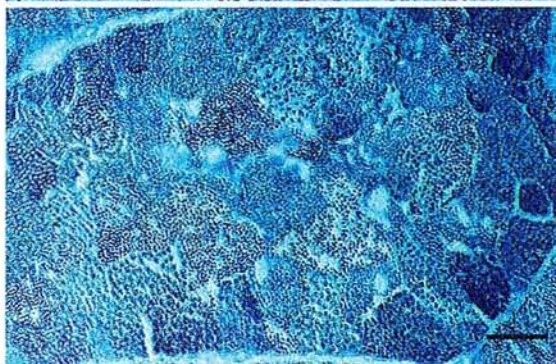
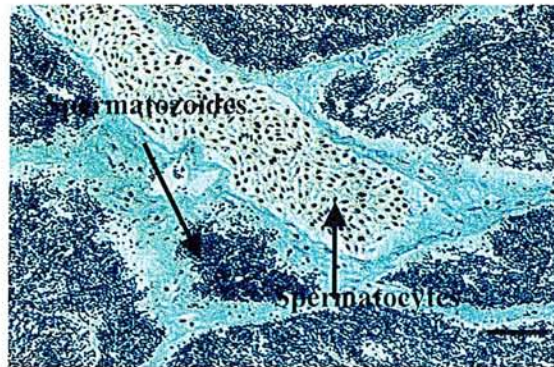
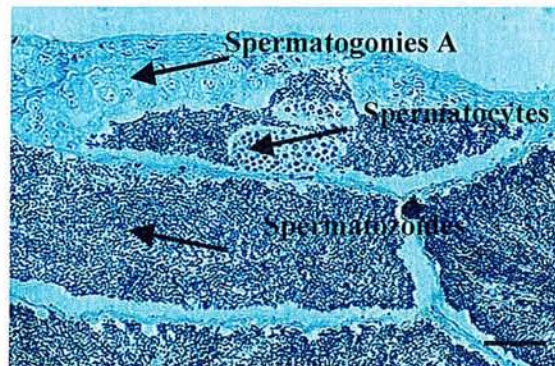


Figure 88 (suite)

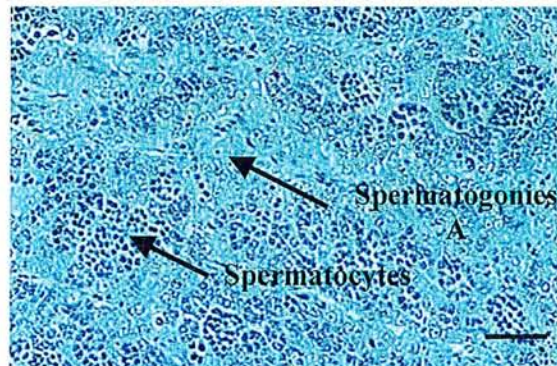
e : Traitement naturel
(x40, échelle = 30 μ m)



f : Traitement pseudo-naturel
(x40, échelle = 30 μ m)



g : Traitement 16/8
(x40, échelle = 30 μ m)



h : Traitement 24h
(x40, échelle = 30 μ m)

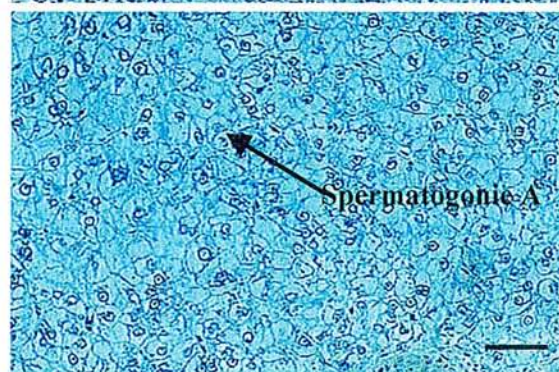
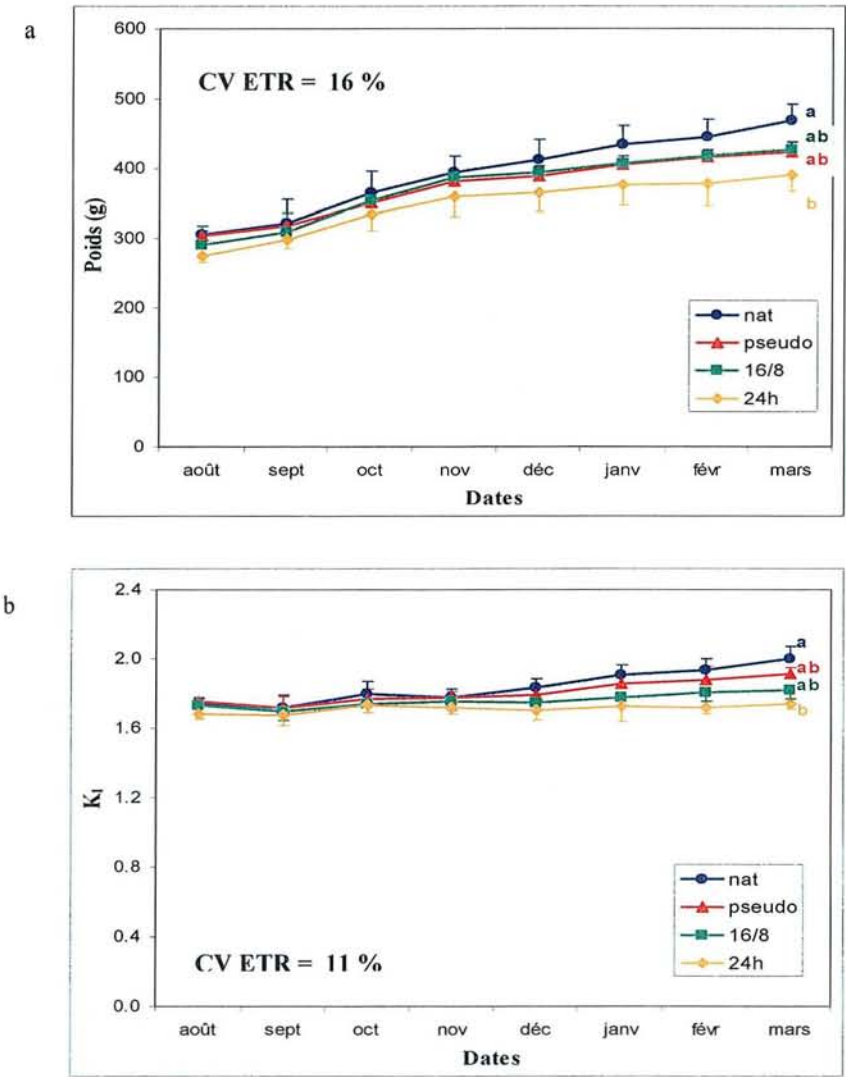


Figure 89 : Effet du traitement photopériodique sur l'évolution du poids (a) et du facteur de condition K_1 (b) chez les géniteurs mâles et femelles marqués de perche commune *Perca fluviatilis* au cours d'un cycle complet de reproduction (n = 3, moyennes ajustées $\pm$ erreur type).



pseudo-naturel (**Figures 88e et f**) contiennent presque exclusivement des spermatozoïdes, tout comme chez certains géniteurs du traitement 16/8. Mais, d'après la **figure 88g**, certains géniteurs présentent des gonades en retard de développement contenant des spermatogonies de type A et des spermatocytes. Chez d'autres poissons mâles, la spermatogenèse n'a même pas débuté. Les coupes histologiques correspondant au traitement 24h (**Figure 88h**) montrent une dégénérescence des tissus. Les cellules sexuelles présentes sont difficilement identifiables.

2.3.4.5. Suivis individuels des poissons marqués

La croissance est plus importante pour les poissons du traitement naturel qui atteignent un poids final d'environ 480 g significativement plus important comparé au traitement 24h (environ 380 g, **Figure 89a**). Les poissons des traitements pseudo-naturel et 16/8 atteignent des poids intermédiaires d'environ 420 g.

La hiérarchie des traitements en fin de période sur le K_1 est la même que pour le poids (**Figure 89b**).

Dans les traitements naturel et pseudo-naturel (**Figure 90**), $94 \pm 5 \%$ et 100% des femelles marquées étaient gravides, seulement $54 \pm 41 \%$ l'étaient dans le traitement 16/8 alors que 100% des femelles étaient restées non développées dans le traitement 24h. La totalité des mâles marqués des traitements naturel et pseudo-naturel étaient spermiant, alors que seulement $28 \pm 25 \%$ l'étaient dans le traitement 16/8 et aucun dans le traitement 24h (**Figure 91**). La différence entre ces deux derniers traitements et les traitements naturel et pseudo-naturel est significative.

Figure 90 : Taux de femelles gravides en fonction du traitement photopériodique appliqué chez les géniteurs de perches communes *Perca fluviatilis* (n = 3, moyennes brutes + écart type).

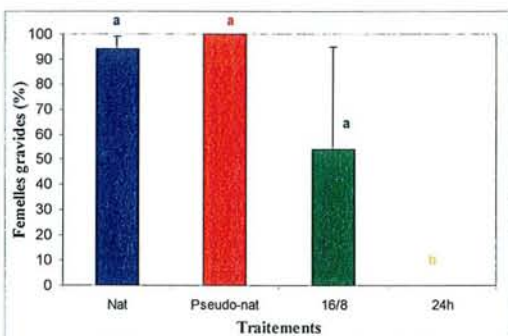


Figure 91 : Taux de mâles spermiant en fonction du traitement photopériodique appliqué chez les géniteurs de perches communes *Perca fluviatilis* (n = 3, moyennes brutes + écart type).

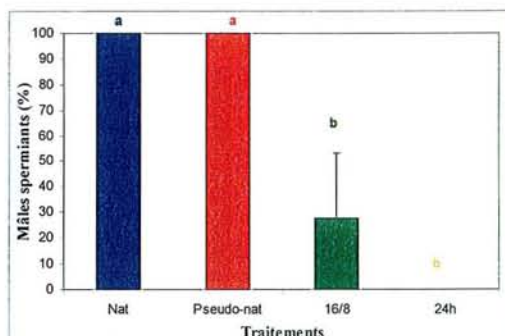


Figure 92 : Evolution de la température de l'eau et de la répartition des pontes de perche commune *Perca fluviatilis* récoltées au cours de la période de reproduction en fonction du traitement photopériodique appliqué.

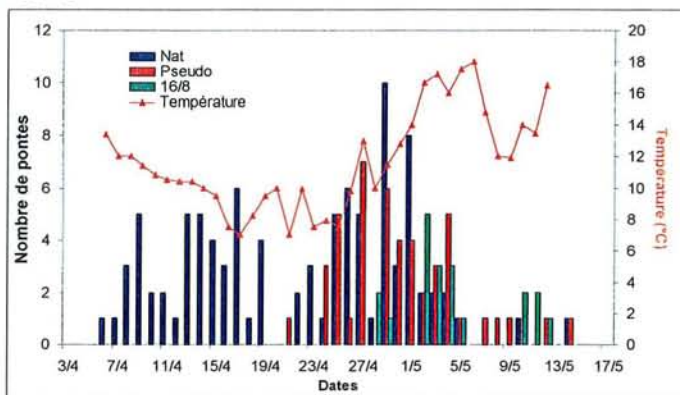


Figure 93 : Effet du traitement photopériodique sur le taux moyen de ponte des femelles de perche commune *Perca fluviatilis* (n = 3, moyennes brutes + écart-type).

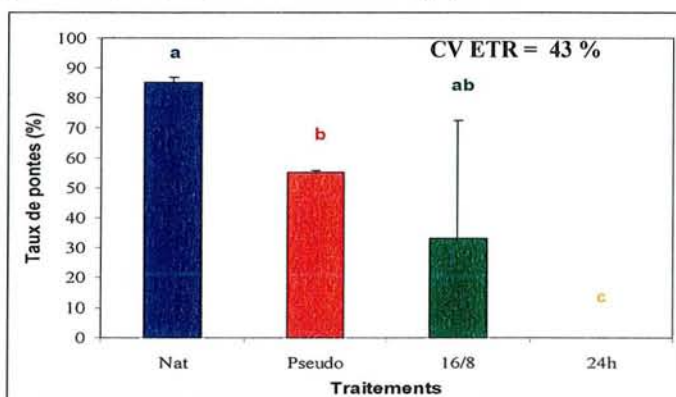
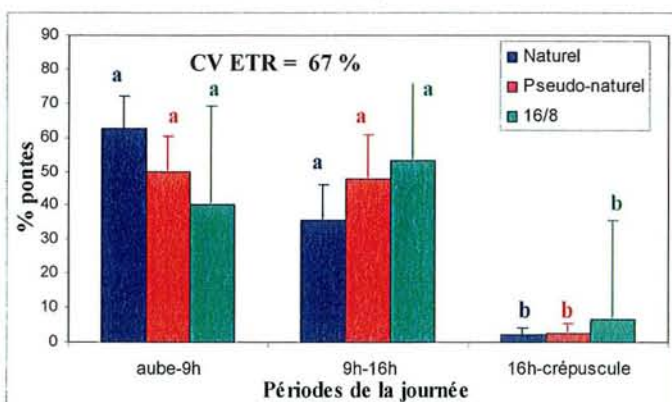


Figure 94 : Effet du traitement photopériodique sur le moment de la ponte au cours d'un nycthémère des femelles de perche commune *Perca fluviatilis* (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



2.3.4.6. Qualité des pontes

- Nombre de pontes et tranche horaire

Au total, 161 pontes ont été récoltées tous traitements confondus sur une période d'environ 5 semaines (du 6 avril au 14 mai, **figure 92**). Les 96 pontes du traitement naturel se sont étalées sur pratiquement toute la durée des pontes avec deux périodes principales (du 8 au 19 avril et du 25 avril au 5 mai).

Un pic de ponte a été observé le 29 avril avec 10 pontes dans la même journée. En moyenne, 85 ± 2 % des femelles développées, présentes dans chaque bassin et susceptibles de pondre, ont pondu (**Figure 93**).

Les poissons du traitement pseudo-naturel ont commencé à pondre plus tardivement (à partir du 21 avril) et la période de ponte a été plus courte que pour le traitement naturel puisqu'elle s'est étalée sur un peu plus de trois semaines (jusqu'au 15 mai). La majorité des pontes des femelles de ce traitement sont apparues entre le 25 avril et le 5 mai avec un maximum de 7 pontes le même jour, le 27 avril (**Figure 94**). Au total, 47 pontes ont été obtenues dans ce traitement. Le pourcentage de pontes obtenues comparé au nombre total de femelles développées est significativement plus faible que pour le traitement naturel, avec seulement 55 ± 1 % (**Figure 93**). Dans un des réplicats, alors que le développement des géniteurs était similaire aux deux autres bassins, aucune ponte n'a été obtenue. Pour les analyses statistiques concernant le pourcentage moyen de ponte par traitement, ce dernier n'a pas été pris en compte, le facteur de blocage du déclenchement des pontes n'a pas pu être identifié.

Les 21 pontes du traitement 16/8 ont seulement commencé le 29 avril et la période de ponte s'est étalée sur un peu moins de 2 semaines (jusqu'au 12 mai, **Figure 92**).

Le maximum de pontes en une journée a été observé le 2 mai avec 5 pontes. Les pourcentages de femelles ayant pondu dans chaque bassin de ce traitement, comparés aux nombres totaux de femelles développées, sont très hétérogènes avec 14, 6 et 78 % par réplicat expliquant ainsi la forte erreur-type représentée sur la **figure 93**.

Aucune ponte n'a été obtenue dans les bassins correspondant au traitement 24 h, aucun signe de développement n'ayant été observé pour ce traitement.

Plus de 90 % des pontes sont apparues de l'aube à 16h (**Figure 94**). Bien que la deuxième tranche horaire s'étale sur une période de 7h, la majeure partie des pontes a été libérée entre 12h et 16h. Aucune différence significative entre traitement n'a été mise en évidence et une forte hétérogénéité entre réplicats a été observée.

Figure 95 : Effet du traitement photopériodique sur la fécondité relative moyenne des femelles de perche commune *Perca fluviatilis* (n = 3, moyennes brutes + écart-type).

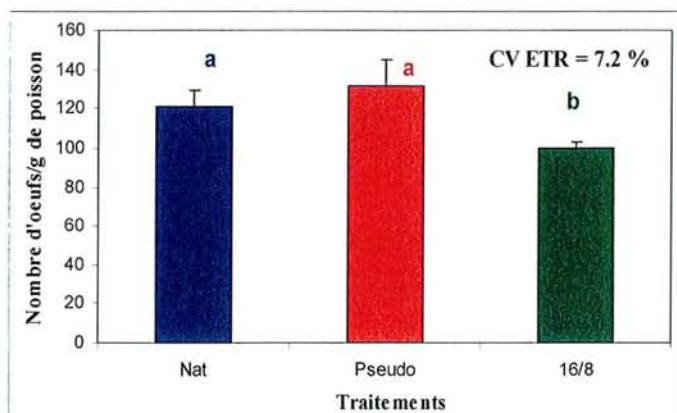


Figure 96 : Effet du traitement photopériodique sur le poids moyen des oeufs de perche commune *Perca fluviatilis* à l'oviposition (n = 3, moyennes brutes + écart-type).

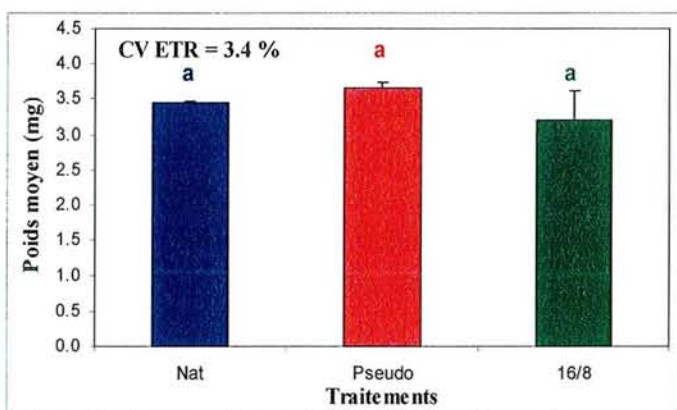
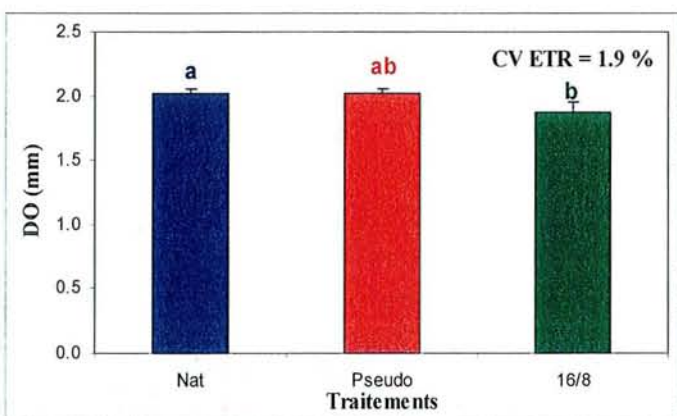


Figure 97 : Effet du traitement photopériodique sur le diamètre ovocytaire moyen (DO) des oeufs de perche commune *Perca fluviatilis* à l'oviposition (n = 3, moyennes brutes + écart-type).



- Qualité des pontes et des oeufs

Les fécondités des femelles du traitement 16/8 sont significativement plus faibles que pour les traitements naturel et pseudo-naturel (**Figure 95**), avec une fécondité relative d'environ 100 œufs par g de poids vif de femelle contre 132 et 120, respectivement.

Le poids moyen des œufs (**Figure 96**), une fois libérés dans l'eau est de 3.2 à 3.6 mg sans différence significative entre traitements. Par contre, leur diamètre (**Figure 97**) est significativement plus grand pour le traitement naturel (2.02 ± 0.03 mm) que pour le traitement 16/8 (1.87 ± 0.07 mm).

Les taux de fécondation (**Figure 98**) sont très différents entre le traitement naturel (57.2 ± 18.2 %) et pseudo-naturel (7.7 ± 0.7 %) ou 16/8 (3.3 ± 5.8 %). Mais, si les sexe-ratio étaient équilibrés en début de période de reproduction (environ 30 à 40 % en fonction des traitements), une grande partie des mâles des traitements pseudo-naturel et 16/8 sont morts pendant les périodes de ponte respectives, celles-ci étant tardives comparées au traitement naturel (**Figure 62**).

Aucune éclosion n'a été observée pour les pontes fécondées du traitement pseudo-naturel dans les béciers mais quelques rubans ont tout de même donné des larves dans les cages d'incubation. Les taux d'éclosion des pontes du traitement naturel ont diminué au cours de la période de ponte.

Figure 98 : Effet du traitement photopériodique sur le taux de fécondation moyen des pontes ($n = 3$) de perches communes *Perca fluviatilis*, observé 3 jours après l'oviposition. Les moyennes brutes (+ écart-type) auxquelles sont attribuées des lettres identiques ne diffèrent pas significativement ($p < 0.05$).

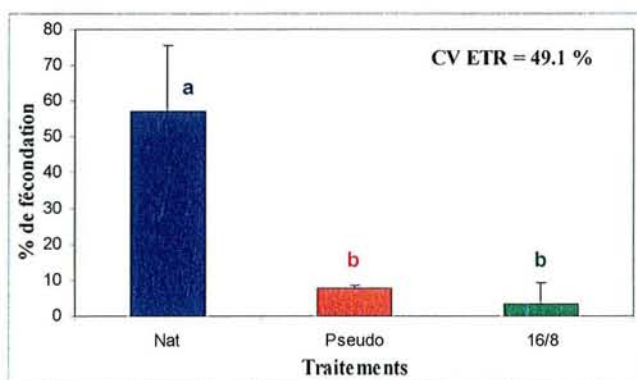


Figure 99 : Effet du traitement photopériodique sur la taille moyenne des larves de perche commune *Perca fluviatilis* nouvellement écloses (n = 3 pour le traitement naturel et n = 2 pour les deux autres traitements, moyennes brutes + écart-type).

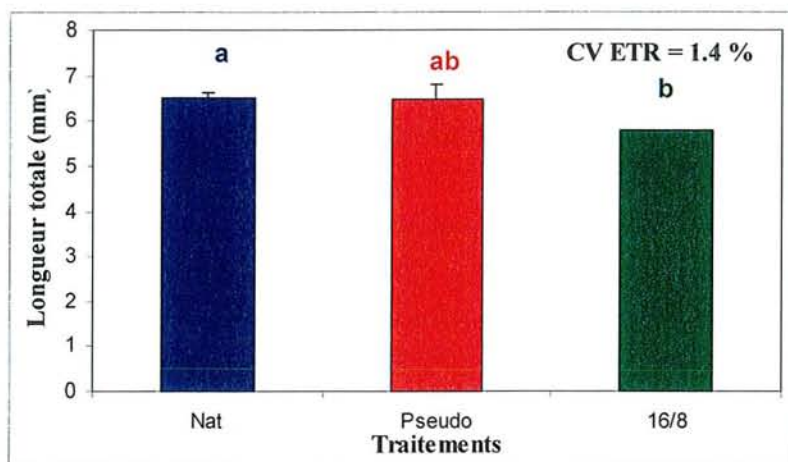
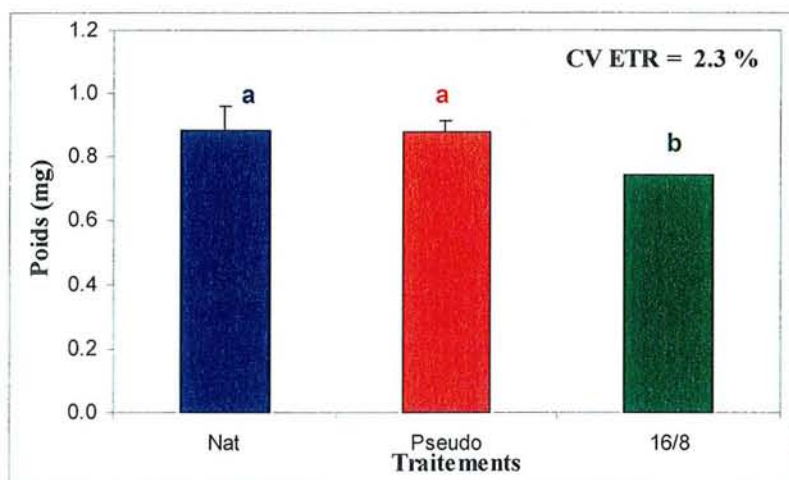


Figure 100 : Effet du traitement photopériodique sur le poids moyen des larves de perche commune *Perca fluviatilis* nouvellement écloses (n = 3 pour le traitement naturel et n = 2 pour les deux autres traitements, moyennes brutes + écart-type).



- Qualité des larves

La taille des larves (**Figure 99**) nouvellement écloses est significativement plus élevée pour le traitement naturel comparé au traitement 16/8 avec respectivement 6.5 ± 0.3 mm (n=34) et 5.8 ± 0.2 mm (n=2). Du fait de très faibles taux d'éclosion des rubans, peu de larves ont été obtenues pour les deux traitements pseudo-naturel et 16/8.

Le poids moyen des larves nouvellement écloses, issues des géniteurs des traitements naturel et pseudo-naturel, est significativement plus élevé que celles provenant des géniteurs du traitement 16/8 (**Figure 100**).

La résistance au jeûne des larves, issues des géniteurs du traitement naturel, (**Figure 101**), est variable au cours de la période de ponte. Elle est significativement plus importante en fin de période de reproduction (le 20 et 27 avril) avec des valeurs atteignant respectivement 304 ± 21 h et 312 ± 21 h. Mais, une chute de cette résistance moyenne est observée entre ces deux pics (120 ± 21 h).

Les survies au test osmotique sont inférieures à 30 % pendant les 20 premiers jours de la période de ponte puis elles augmentent significativement en fin de période (**Figure 102**).

Figure 101 : Evolution de la résistance au jeûne (temps pour 50 % de mortalité) des larves de perches communes *Perca fluviatilis* nouvellement écloses, en fonction de la date de ponte des géniteurs pour le traitement photopériode naturelle (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).

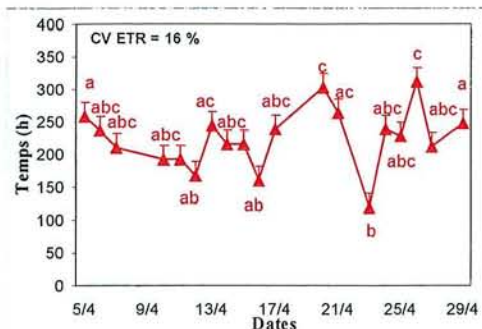
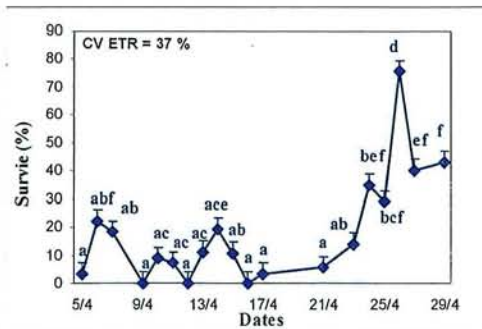


Figure 102 : Evolution de la résistance à un stress osmotique (taux de survie après 90 minutes) des larves de perches communes *Perca fluviatilis* nouvellement écloses, en fonction de la date de ponte des géniteurs soumis à une photopériode naturelle (n = 3, moyennes ajustées + erreur type).



DISCUSSION

2.4. Discussion

2.4.1. Variations de la température : synchroniseur circannuel du cycle de reproduction de la perche commune

Chez la perche commune, l'application de variations thermiques (abaissement de la température, maintien d'une période froide et réchauffement final de l'eau) permet d'induire le développement des gonades mâles et femelles, et d'obtenir des pontes (Sulistyo, 1998 ; Migaud *et al.*, 2001a). Sulistyo (1998) montre qu'une longue phase de vernalisation (> 3 mois) est nécessaire pour permettre un bon développement ovarien, ce qui confirme les observations de Hokanson (1977). L'ensemble de nos résultats suggère qu'une période de maintien au froid à 6°C pendant 5 mois est trop longue. Les femelles soumises à une telle phase de vernalisation achèvent le développement de leurs gonades dès le début de la phase de réchauffement de l'eau. La durée optimale de la phase de vernalisation chez la perche commune se situerait donc entre 3 et 5 mois. D'après Hokanson (1977), le développement et la maturation des ovocytes de perche jaune nécessitent une température de l'eau inférieure ou égale à 6°C pendant 185 jours. La durée de la phase de vernalisation chez la perche commune, permettant un déroulement normal du cycle de reproduction, serait plus courte. Si le maintien de températures élevées (> 20°C) inhibe totalement le développement gonadique des géniteurs de perche (Sulistyo, 1998 ; Jourdan, 1999), nous ignorons encore quelle quantité de frigidités exige la phase de vernalisation et quel est le seuil thermique au dessus duquel le cycle de reproduction est perturbé ou inhibé. La température de l'eau doit-elle systématiquement être abaissée comme en milieu naturel à des températures de 0 à 5°C et quelle est l'influence du vécu préalable des géniteurs sur leur sensibilité aux variations thermiques régulant leur cycle de reproduction ? Abi-Ayad (1997) a observé que lorsque le cycle de reproduction de la perche commune est inhibé durant une saison, la reproduction est fortement affectée durant la saison suivante avec seulement 5 à 40 % des femelles qui se développent. Ceci suggère que la perception des seuils de température régulant les cycles de reproduction varie selon le vécu des poissons.

Les variations de la température de l'eau jouent également un rôle majeur dans le déclenchement des pontes chez la perche commune. Traditionnellement, les ovipositions surviennent au début du printemps quand la température de l'eau augmente et atteint environ 10-12°C sous nos latitudes (Dabrowski *et al.*, 1996 ; Sulistyo *et al.*, 1998 ; Migaud *et al.*, 2001a et c). Selon Hokanson (1977), lorsque la période froide est longue (plus de 214 jours),

les pontes surviennent avant la fin de cette période, une augmentation de la température de l'eau ne serait donc pas indispensable pour le déclenchement des pontes.

Nos résultats montrent que la cinétique du réchauffement final de l'eau influe sur le déclenchement et le nombre de pontes. Si un seuil de température semble contrôler le déclenchement des pontes, la vitesse de réchauffement pour atteindre ce seuil semble très importante. Un réchauffement assez rapide de l'eau permet d'obtenir de meilleurs taux de ponte et semble ainsi mieux approprié pour mener à bien les étapes finales du cycle de reproduction, aussi bien chez les femelles que chez les mâles. Mais, dans de telles conditions, en l'absence de variations photopériodiques, seulement un faible pourcentage des géniteurs a répondu. De nombreux cas d'atrésie ont été observés, probablement à l'origine du blocage de l'expulsion naturelle d'une majorité des rubans et des problèmes de qualité mis en évidence.

Chez les Perciformes, des cycles photo-thermopériodiques condensés ont déjà permis de déclencher la gonadogenèse (et gamétogenèse) et la ponte plus précocement que dans le milieu naturel (Carrillo *et al.*, 1989, 1993, 1995 ; Blythe *et al.*, 1994 ; Kohler *et al.*, 1994 ; Dabrowski *et al.*, 1996 ; Ciereszko *et al.*, 1997b ; Craig *et al.*, 1997 ; Malison *et al.*, 1998 ; Tate et Helfrich, 1998). La plupart du temps, c'est la phase de vernalisation (refroidissement et réchauffement) qui est condensée. Des études ont démontré chez la perche jaune que la compression du cycle photo-thermopériodique accélérât le déclenchement de la ponte mais engendrait des perturbations hormonales, une diminution de la croissance ovarienne et hépatique et une réduction de la qualité des œufs (Dabrowski *et al.*, 1996 ; Ciereszko *et al.*, 1997b). Chez les mâles de perche commune ou de perche jaune soumis à un régime de photopériode et/ou de température décalées, aucune différence de la plupart des caractéristiques de reproduction n'a été mise en évidence par comparaison aux mâles exposés à des cycles naturels (Dabrowski *et al.*, 1996 ; Ciereszko *et al.*, 1997b ; Sulisty, 1998). Le contrôle environnemental de la reproduction chez les mâles serait donc moins exigeant (Tamazouzt *et al.*, 1994 ; Sulisty, 1998).

Kayes et Calbert (1979) ont montré qu'un réchauffement en laboratoire de 5 à 12°C appliqué à des perches capturées dans le lac de Mendota au mois de février, permettait d'induire la ponte comme en milieu naturel, durant les quatre jours suivants la fin du réchauffement, que la photopériode soit fixée à 13.5L : 10.5O, 10.5L : 13.5O, 18L : 6O ou 6L : 18O.

Sous une photopériode fixée, des variations de la température de l'eau peuvent à elles seules induire la gonadogenèse et aboutir à la production d'œufs et de larves.

Une période à basse température (< 10°C), phase de « vernalisation », est donc très importante pour le succès de la reproduction (Hokanson 1977 ; Heidinger et Kayes, 1986). Seulement 30 % des géniteurs ont répondu au régime thermo-photopériodique appliqué et 41 % des géniteurs femelles gravides ont pondu naturellement, le reste des pontes ayant été obtenu par stripping.

2.4.2. Variations photopériodiques et cycle de reproduction : effets inhibiteurs et/ou synergiques

2.4.2.1. Rôle inhibiteur d'un éclaircissement continu

Cette étude montre qu'une photopériode constante (24h d'éclaircissement) inhibe l'entrée en gonadogenèse des géniteurs aussi bien chez les femelles que chez les mâles. En fin d'expérience, les IGS sont respectivement inférieurs à 2 % et à 0.5 %. De plus, la différence entre les IGS des femelles et des mâles peut être expliquée par la présence de liquide ovarien au sein des gonades. Les géniteurs soumis à un éclaircissement continu pendant tout le cycle de reproduction ne présentent que des ovocytes primaires, les testicules ne montrent que des spermatogonies de type A, entourées de cellules somatiques en dégénérescence. De tels effets ont déjà été signalés chez d'autres espèces comme chez le mulot, *Liza ramada*, où un éclaircissement ou une obscurité continue inhibent également le développement des gonades (O'Donovan-Lockard *et al.*, 1990). Chez la perche jaune, le développement des gonades chez la femelle serait initié par une diminution de la température plutôt que par un abaissement de la photophase (Dabrowski *et al.*, 1996). L'inhibition du déclenchement de la gonadogenèse chez des géniteurs de perche commune soumis à un éclaircissement continu confirme que la température n'est pas le seul facteur déterminant et que l'éclaircissement joue également un rôle important chez les Percidés, comme chez la plupart des espèces de Salmonidés (Bromage *et al.*, 2001). Sous un éclaircissement continu, les teneurs en testostérone (T) et en oestradiol (E₂) restent respectivement inférieures à 5 ng.mL⁻¹ et à 1.5 ng.mL⁻¹ au cours du cycle annuel, alors qu'elles atteignent des valeurs respectivement supérieures à 25 ng.mL⁻¹ et à 5 ng.mL⁻¹ chez les géniteurs soumis à des variations photopériodiques naturelles (Sulistyo *et al.*, 1998). Cependant, la présente étude montre qu'au mois de mars, bien que les teneurs en testostérone soient largement inférieures à celles mesurées chez des géniteurs engagés dans un cycle de reproduction, des teneurs d'environ 8 ng.mL⁻¹ ont été observées.

Celles-ci pourraient être liées à l'élévation des températures à cette période de l'année ou à l'existence d'une horloge interne comme cela a déjà été décrit chez certaines espèces de poissons Téléostéens (Whitehead *et al.*, 1978 ; Sundararaj *et al.*, 1982 ; Bromage et Duston, 1986). De plus, la station expérimentale fonctionne en circuit fermé, la présence de phéromone dans l'eau, provenant des autres bassins où les mâles sont spermiant, pourrait expliquer ces teneurs en testostérone. En effet, les stéroïdes sexuels jouent également des rôles phéromonaux permettant de synchroniser les comportements reproducteurs mâle et femelle (Dulka *et al.*, 1987 ; Sorensen *et al.*, 1988 ; Stacey et Cardwell, 1995 ; Bjerselius *et al.*, 1995 ; Sweinsson et Hara, 1995).

Est-ce que cette inhibition de l'entrée en gonadogenèse par un éclaircissement permanent est due à l'absence d'alternance jour-nuit de l'éclaircissement ou bien l'absence d'une période d'obscurité et/ou une longue période d'éclaircissement ? L'effet d'une obscurité constante sur le cycle de reproduction de cette espèce serait-il le même ? Comme l'a montré O'Donovan-Lockard *et al.* (1990), une obscurité continue inhibe la croissance des gonades chez le mulot, tout comme un éclaircissement continu. Le mode d'action de ces régimes de photopériode se situe probablement au niveau des organes de perception. Comme pour la température, les stimuli photopériodiques agissent via des systèmes de transduction, comme le système hypothalamus-glande pinéale (Collin, 1969) qui stimulerait via des synthèses hormonales l'axe hypophyse - gonade. La mélatonine et d'autres indolamines comme la sérotonine, libérées dans la circulation sanguine par la glande pinéale, constituent les principaux médiateurs dans le contrôle photopériodique des cycles de reproduction (Axelrod, 1974 ; Falcon *et al.*, 1986 ; Reiter, 1991 ; Begay *et al.*, 1992). Chez les Salmonidés, les teneurs plasmatiques en mélatonine varient durant le nycthémer avec de plus fortes concentrations mesurées pendant la scotophase (Randall *et al.*, 1995a ; Porter *et al.*, 1999 ; Bromage *et al.*, 2001 ; Porter *et al.*, 2001). De telles variations ont également été mises en évidence chez d'autres espèces de Téléostéens comme la carpe commune (Kezuka *et al.*, 1988), le poisson rouge (Kezuka *et al.*, 1989a) et le brochet (Falcon *et al.*, 1989). Ainsi, quelle que soit la période de l'année ou la photopériode expérimentale, des taux plasmatiques en mélatonine élevés reflètent précisément la longueur de la période d'obscurité (Alvarino *et al.*, 1993 ; Bromage *et al.*, 1995 ; Randall *et al.*, 1995a). Il semblerait que ces variations résultent de modifications de l'activité d'une enzyme de la glande pinéale essentielle pour la synthèse de mélatonine, la N-acétyltransférase (Ekström et Meissl, 1997). De plus, chez de nombreuses espèces de poisson, un rythme endogène a été mis en évidence grâce à des études *in vitro* (Kezuka *et al.*, 1989a ; Ekström et Meissl, 1997 ; Bromage *et al.*, 2001). Mais, aucune preuve

n'existe quant à un rythme endogène de synthèse en mélatonine chez les Salmonidés, la glande pinéale ne contiendrait donc pas d'oscillateur circadien (Randall *et al.*, 1991 ; Bégay *et al.*, 1992). Il est clairement établi que la reproduction chez les Salmonidés est initiée et contrôlée par des stimuli photopériodiques (Whitehead *et al.*, 1978 ; Bromage *et al.*, 1982 b ; Breton *et al.*, 1983b ; Johnston, 1986 ; Davies *et al.*, 1991a), la température n'exerçant qu'une influence mineure. Sous des conditions d'éclairement ou d'obscurité constantes, le rythme circadien des teneurs en mélatonine disparaît donc. Or, la température joue un rôle prépondérant sur le contrôle du cycle de reproduction chez de nombreuses espèces de Cyprinidés (Peter et Yu, 1997) ou Percidés (Kayes et Calbert, 1979 ; Dabrowski *et al.*, 1996 ; Sandström *et al.*, 1995, 1997 ; Sulistyó *et al.*, 1997, 1998 ; Migaud *et al.*, 2000, 2001a). La température influençant également la sécrétion en mélatonine (Randall *et al.*, 1995a et b ; Bromage *et al.*, 2000), la rythmicité des teneurs continue donc même en l'absence d'alternance jour – nuit. Il est probable que le même phénomène soit observé chez la perche commune. L'étude des variations en mélatonine au cours du cycle de reproduction chez cette espèce pourrait permettre de mieux comprendre l'influence de la température et de la photopériode. La glande pinéale pourrait être par exemple plus sensible aux variations de température à une période du cycle de reproduction et aux variations photopériodiques à une autre, montrant l'importance de ces deux paramètres sur les étapes clés du cycle de reproduction.

La sérotonine, autre indoléamine sécrétée par la glande pinéale, montre également un rythme nyctéméral avec des teneurs plus importantes pendant la scotophase chez le brochet (Falcon *et al.*, 1986), pendant la transition obscurité - lumière chez l'anguille (Van Veen *et al.*, 1982), et en obscurité continue plutôt qu'en lumière continue chez le carassin doré (Mc Nulty, 1982a et b). Des niveaux seuils pourraient être impliqués dans les réponses physiologiques des poissons (Porter *et al.*, 1999, 2001). Des concentrations en indoléamines élevées pourraient ainsi être indispensables à l'initiation du cycle de reproduction chez la perche commune en stimulant l'axe hypothalamus - hypophyse – gonade. Autrement dit, une période d'obscurité minimale ou une alternance jour-nuit serait indispensable à l'initiation de la gonadogenèse. Alvarino *et al.* (1993) ont montré, *in vivo* chez la truite arc-en-ciel, qu'une heure de lumière à une intensité de 1 ou 10 lux durant la scotophase provoque une réduction de la teneur en mélatonine de 33 et 22 %, respectivement. Comme l'ont indiqué Bromage *et al.* (2001), quelle intensité lumineuse caractérise la phase diurne et la phase nocturne chez les poissons ? En effet, quel que soit le mode d'action de la photopériode sur la reproduction, neuronal ou hormonal, il doit exister un seuil d'illumination au dessus duquel on est en

photophase et au dessous duquel on est en scotophase. Des travaux ont montré l'importance de la glande pinéale sur le contrôle de la reproduction, notamment en réalisant des pinéalectomies (Delahunty *et al.*, 1980). Leurs effets seraient d'affecter la maturation des gonades et la ponte (Kezuka *et al.*, 1989b ; Popek *et al.*, 1992, 1994 ; Bromage *et al.*, 1995 ; Randall *et al.*, 1995b). Quels seraient leurs effets sur le déclenchement du cycle de reproduction chez la perche commune ? D'après une étude chez des femelles de poisson-chat, l'administration de mélatonine exercerait un effet inhibiteur sur la sécrétion de gonadotropines pendant les périodes préparatoires, de pré-ponte et de ponte (Sundararaj et Keshavanah, 1976). Des études ayant montré les effets de la photopériode sur les sécrétions hormonales en GnRH et en gonadotropines d'une part et en mélatonine au niveau de la glande pinéale d'autre part, l'identification du lien entre ces deux processus serait d'un grand intérêt (Bromage *et al.*, 2001). Plusieurs études réalisées notamment chez le poisson rouge, le saumon Atlantique, la truite arc-en-ciel, la daurade et le brochet (Bromage *et al.*, 2001), ont démontré l'existence d'une affinité spécifique importante de la mélatonine (plus précisément de la 2-[¹²⁵I]-iodomélatonine) au niveau du noyau suprachiasmique et de la pars tuberalis, deux régions de l'hypothalamus à l'origine de la synthèse en GnRH au niveau de l'hypophyse et donc impliquées dans le contrôle de la reproduction .

Les géniteurs de perche seraient très sensibles aux variations brutales des facteurs environnementaux car l'un des réplicats de la modalité 24 h est caractérisé par une initiation de la gonadogenèse chez la totalité des géniteurs. Un problème d'horloge a modifié les conditions expérimentales de ce bassin en provoquant des interruptions d'éclairement d'où quelques alternances jour-nuit. Aucune autre modification des conditions expérimentales n'a été observée, ces résultats suggèrent que la gonadogenèse a été initiée par quelques alternances jour - nuit. La sensibilité photopériodique de la perche serait donc très importante à cette période de l'année. Ce phénomène a déjà été observé chez d'autres espèces (Bromage *et al.*, 1984 ; Takashima et Yamada, 1984 ; Carrillo *et al.*, 1989, 1991, 1993). La période à laquelle le changement photopériodique est appliqué semble importante sur la réponse des géniteurs. Dans notre étude, les quelques périodes d'obscurité sont intervenues au mois d'août, le problème ayant été réglé par la suite. C'est à cette période que les cycles de reproduction sont initiés. Chez la truite arc-en-ciel, l'exposition à une photopériode de 18L : 6O de janvier à mai suivie d'un passage soudain à 6L : 18O entraîne un déclenchement précoce des pontes (3 à 4 mois en avance) par comparaison aux lots témoins (Whitehead et Bromage, 1980 ; Bromage *et al.*, 1984). Mais, chez cette même espèce, un retard de l'augmentation de la photophase à des jours longs jusqu'au mois de février engendre un

avancement moins prononcé des pontes, indiquant que le moment de cette élévation est déterminant pour le bon déroulement de la gonadogenèse (Duston et Bromage, 1987).

Nos travaux montrent l'effet inhibiteur d'un éclaircissement continu sur l'initiation du cycle de reproduction chez la perche commune. Mais, le facteur responsable de cette inhibition reste incertain. Est-ce l'alternance jour-nuit, une durée minimale d'obscurité ou les variations saisonnières de la photophase qui constituent le stimuli déclencheur de la gonadogenèse (et gamétogenèse) ?

2.4.2.2. Importance des variations saisonnières de la photopériode sur le cycle de reproduction de la perche

- Photopériode fixée : une stimulation environnementale insuffisante

Que les variations thermiques soient simulées ou naturelles, l'application d'une photopériode fixée (16L : 8O ou 12L : 12O) induit une forte hétérogénéité de développement chez la perche commune. Seuls 55 % des femelles (± 41 %) et 30 % des mâles (± 25 %) ont répondu à ce régime photopériodique alors que les autres sont restés totalement non développés. Chez les femelles, l'histologie des gonades de certains géniteurs montre un développement normal des ovocytes avec cependant un retard de développement par comparaison à celui observé chez les géniteurs soumis à des variations naturelles ou simulées de photopériode. Mais, chez 45 % des femelles et 72 % des mâles, le développement a été totalement inhibé comme pour ceux soumis à un éclaircissement continu. Ces résultats sont en accord avec ceux de Sulistyó (1998). Un régime photopériodique fixé induirait une stimulation insuffisante des géniteurs pour permettre le développement de la totalité d'entre eux et seuls les plus sensibles répondraient. Les géniteurs de perche seraient-ils plus ou moins sensibles aux variations thermiques et photopériodiques ?

Les géniteurs de ce traitement sont caractérisés par des teneurs plasmatiques en testostérone et en oestradiol variables d'un géniteur à l'autre au cours du cycle de reproduction. Une forte hétérogénéité inter-réplicat de développement des géniteurs est également observée au niveau des stéroïdes sexuels. Les géniteurs femelles ayant répondu au régime environnemental présentent des concentrations en oestradiol élevées (atteignant 5 à 8 ng.mL⁻¹) proches de celles mesurées chez les géniteurs des traitements naturel et pseudo-naturel, alors que ceux n'ayant pas répondu, ont des teneurs faibles (< 3 ng.mL⁻¹) comme pour les géniteurs du traitement 24h. Toutefois, les concentrations plasmatiques en testostérone

observées chez les géniteurs femelles soumis à une photopériode 16/8 et engagés dans un cycle de reproduction sont plus faibles. Ces faibles teneurs pendant la vitellogenèse traduisent une stimulation environnementale insuffisante et entraînent, d'après Ciereszko *et al.*, 1997a, un mauvais développement ovarien. Elles contribuent à la mauvaise qualité des œufs. Les pontes issues des géniteurs du traitement 16/8 ont une fécondité relative moyenne inférieure à celle du traitement naturel.

Chez les mâles soumis au traitement 16/8, l'IGS moyen relevé au mois d'octobre (< 4 %) est plus élevé que celui enregistré chez les géniteurs du traitement 24h (proche de 0), mais plus faible comparé au traitement photopériode naturelle (9-10 %). Environ 30 % des mâles présentent des IGS similaires à ceux des mâles soumis à des conditions naturelles alors que les autres sont soit intermédiaires (début de développement et régression) soit non développés. Pour ces derniers, les teneurs plasmatiques en T sont plus faibles. Celles-ci sont similaires aux concentrations mesurées chez les mâles du traitement 24h, pour lesquels la reproduction a été complètement inhibée.

Un des réplicats du traitement 16/8 a donné des résultats sensiblement différents des deux autres avec un taux de réponse des géniteurs plus faible, que cela soit chez les femelles ou les mâles. Les profils individuels (poissons marqués) en œstradiol des femelles correspondant aux trois réplicats des traitements naturel et 24h sont homogènes, ceux relatifs au traitement 16/8 montrent des variations d'un réplicat à l'autre. Ainsi, l'hétérogénéité du développement des géniteurs de ce réplicat est caractérisé par l'absence d'augmentation nette des teneurs en œstradiol.

Cette étude montre qu'une absence de variations saisonnières photopériodiques inhibe le cycle de reproduction de nombreux géniteurs (45 et 72 %, respectivement pour les femelles et les mâles). Parmi les géniteurs qui ont répondu, peu ont pondu et les pontes récoltées, souvent fractionnées, n'ont pas été fécondées. En condition photopériodique naturelle, la quasi-totalité des poissons a répondu et pondu. L'initiation et le déroulement correct de la gonadogenèse et de la gamétogenèse impliquent donc également des variations saisonnières de la durée d'éclairement. D'ailleurs, en milieu naturel dans l'Est de la France, la durée de la photophase commence à diminuer dès le mois de juillet, période où le cycle de reproduction est initié alors que la température est toujours en phase ascendante (Sulistyo, 1998).

Elle ne diminue qu'à partir du mois d'août. Autrement dit, c'est l'interaction des variations journalières (alternance jour-nuit) et saisonnières (variations de la durée de la photophase) qui contrôlerait le déclenchement des cycles de reproduction chez la perche commune.

Un traitement photopériodique 16/8 n'a permis qu'aux individus les plus sensibles de se développer normalement. Si le fait de fixer la durée de la photophase semble inhiber la reproduction d'une partie de géniteurs de perche commune, cela n'est pas le cas chez d'autres espèces de poissons d'eau douce. En effet, des études ont montré que les variations saisonnières de la durée du jour pouvaient être remplacées par une ou plusieurs photophases de durée constante, sans inhiber la reproduction. C'est le cas chez de nombreuses espèces appartenant aux Cypriniformes comme le barbeau, le chevaine, et la tanche (Gillet *et al.*, 1978 ; Poncin, 1984, 1989; Poncin *et al.*, 1987), et d'autres espèces comme les Salmoniformes (Henderson, 1963 ; Whitehead et Bromage, 1980 ; Bromage *et al.*, 1990, 2001; Bromage, 1993) et les Perciformes (Prat *et al.*, 1999 ; Kissil *et al.*, 2000). Chez la tanche ou le chevaine, la capacité reproductrice est ainsi maintenue chez les deux sexes en condition de photopériode longue constante (15,5L : 7,5O). Il en est de même chez le barbeau soumis à une photopériode courte constante (10L : 14O, Poncin, 1989). Ces régimes ont généralement pour effet un décalage de la période de ponte (Bromage *et al.*, 1984, 2001) et non pas une inhibition.

Pour l'instant, chez la perche commune, il semblerait que seuls des essais utilisant une photopériode constante au cours du cycle de reproduction aient été conduits (Sulisty, 1998 ; Migaud *et al.*, 2001a). Quel serait l'effet d'un passage brutal d'une photopériode longue à une photopériode courte ? Les besoins d'une ou de plusieurs durées du jour durant un régime de photopériode artificielle semblent varier en fonction du temps nécessaire au déclenchement du développement des gonades, à l'entrée en maturation et au déclenchement de la ponte chez le poisson (Bromage *et al.*, 2001). La période de l'année pendant laquelle le poisson pond semble également importante. Par exemple, de nombreuses espèces de petits Téléostéens, comme *Gasterosteus maculeatus* (Gastérostéidés), qui ont des cycles de maturation courts et pondent au printemps ou en début d'été, répondent positivement à une seule photophase constante de 16L : 8O (Baggerman, 1980 ; Borg *et al.*, 1986). Chez les Salmonidés, le développement ovarien et la vitellogenèse précoce seraient stimulés par une photophase longue ou croissante alors que la synchronisation des stades ultimes du cycle de reproduction, c'est-à-dire la maturation ovocytaire et l'ovulation, seraient contrôlés par une photophase décroissante ou courte (Henderson 1963 ; Whitehead et Bromage, 1980 ; Bromage *et al.*, 1984).

La présente étude montre que les variations photopériodiques semblent surtout jouer un rôle important sur l'initiation de la gamétogenèse contrairement aux propos de De Vlaming (1972), selon qui, l'influence de la photopériode serait surtout déterminante dans le

déclenchement de la phase finale du cycle de reproduction. Il apparaît qu'une fois les poissons engagés dans un cycle de reproduction et arrivés au terme de la phase vitellogénique, l'influence de la photopériode serait moins importante.

2.4.2.3. Importance des caractéristiques de la lumière sur le cycle de reproduction de la perche

La simulation de la photopériode naturelle consistait uniquement en un ajustement des durées des phases obscures et éclairées. Cela signifie qu'aucune variation d'intensité lumineuse n'a été simulée, celle-ci était fixée. En condition simulée, la photophase était caractérisée par une intensité lumineuse faible et constante (de l'ordre de 500 lux à la surface de l'eau) par comparaison à celle relevée en milieu naturel qui a pu atteindre 50000 lux. De plus, la scotophase est caractérisée par une obscurité totale et l'absence de variations d'intensité, dues à l'éclairement lunaire en milieu naturel. De même, le spectre lumineux, bien qu'il soit de type « lumière du jour », diffère fortement du spectre naturel. Les composantes de ce spectre artificiel restent « homogènes » au cours de la journée et du cycle annuel alors qu'en milieu naturel, il présente des variations. De plus, le passage de la photophase à la scotophase est brutal en condition simulée, les variations naturelles de l'intensité lumineuse n'ont pas été recréées, notamment pour les périodes de l'aube et du crépuscule.

En conditions de photopériode naturelle ou pseudo-naturelle, les géniteurs de perche commune répondent de la même façon aux stimulations environnementales et présentent un développement des gonades similaire, malgré un retard en début de cycle. D'ailleurs, ils présentent des teneurs plasmatiques maximales en testostérone et en œstradiol similaires à celles observées chez des géniteurs capturés en milieu naturel par Sulistyó *et al.*, 1998. Les conditions d'éclairement artificiel, que nous n'avons pas fait varier, n'auraient donc pas d'effet majeur sur le déroulement du cycle de reproduction de la perche. Au mois de mars, toutes les femelles étaient gravides et les mâles spermiant. En condition de photopériode naturelle ou pseudo-naturelle, les taux de réponse des femelles (94 et 100 %, respectivement) et des mâles (100 %) sont homogènes. La gonadogenèse et la gamétogenèse ne semblent pas avoir été affectées par les caractéristiques de l'éclairement en condition simulée. Les IGS des femelles ont progressivement augmenté au cours du cycle annuel de reproduction pour atteindre leur maximum au mois d'avril juste avant le déclenchement des pontes, avec des valeurs similaires aux 21-24 % observés par Treasurer (1981), Jamet et Desmolles (1994) et Sulistyó *et al.* (1998) en milieu naturel. Le 13 avril, une semaine environ avant les premières

pontes du traitement pseudo-naturel, les IGS moyens des femelles étaient de $20.3 \pm 1.4 \%$ et $16.8 \pm 1.4 \%$, respectivement en conditions naturelle et pseudo-naturelle. Un léger retard de développement (NS, $p < 0.05$) est enregistré chez les femelles du traitement pseudo-naturel comparé au traitement naturel. En fait, la principale différence relevée pour ces deux lots de géniteurs réside dans la mesure des concentrations plasmatiques en E_2 significativement plus faibles chez les géniteurs femelles du traitement pseudo-naturel en automne ($< 2 \text{ ng.mL}^{-1}$) comparé au traitement naturel. De nombreuses études ont montré une diminution des teneurs en stéroïdes sexuels chez des géniteurs stressés (Pankurst et Dedual, 1994 ; Barton, 1997). L'application de variations photopériodiques simulées pourrait être à l'origine d'un niveau de stress supérieur chez les géniteurs de ce traitement et, expliquer le retard de développement.

Chez les mâles, l'initiation de la spermatogenèse, c'est-à-dire la division des spermatogonies, a été déclenchée tardivement comme le montrent les coupes histologiques réalisées au mois de septembre. A cette date, seules des spermatogonies de type A sont observées chez les poissons du régime pseudo-naturel. La qualité de la lumière, au sens large, a pu également influencer sur l'initiation de la spermatogenèse. Est-ce l'absence d'un stimuli environnemental, non recréé en condition simulée, qui a affecté celle-ci ou bien un niveau de stress plus important ?

Environ 85 % des femelles gravides du traitement naturel ont pondu et seulement 55 % dans le traitement pseudo-nat. Les caractéristiques de l'éclairement semblent donc agir sur le déclenchement de l'oviposition. Celles-ci agiraient comme des synchroniseurs circadiens. D'autres travaux ont suggéré cet effet sur le déclenchement de la ponte chez des espèces de Salmonidés (Hazard et Eddy, 1951 ; Corson, 1955 ; Carlson et Hale, 1973 ; Scott *et al.*, 1984). D'après Hokanson (1977) et Gillet *et al.* (1995), la température de l'eau n'aurait qu'une influence mineure sur le commencement de la période de ponte et agirait plutôt sur l'intensité des pontes. L'oviposition serait déclenchée de jour comme de nuit chez la perche commune (Craig, 1977), les géniteurs perdant tout comportement diurne et nocturne en période de ponte, et exclusivement de nuit chez le doré jaune (Craig, 2000).

En condition pseudo-naturelle ou fixée, les pontes des femelles ont débuté respectivement environ deux et trois semaines après celles des femelles du traitement naturel. Comme l'indique Bromage *et al.* (1984), les régimes artificiels de photopériode ont généralement pour effet un décalage de la période de ponte. Lors de nos essais, le déclenchement des ovipositions a même été complètement bloqué chez les femelles de l'un des trois réplicats en condition photopériodique pseudo-naturelle. On remarque que les géniteurs du réplicat concerné présentent une augmentation des teneurs en T en fin de cycle.

Celle-ci pourrait être en relation directe avec le blocage du déclenchement des pontes. Comme Kime (1993) l'a suggéré, la testostérone pourrait agir sur le maintien de la viabilité des ovocytes dans l'attente de l'oviposition. En fait, l'absence d'aube et de crépuscule pourrait être en partie responsable de ce retard et même de ce blocage, la baisse de température observée jusqu'au 17 avril l'ayant probablement accentué. Une période froide en période de ponte peut prolonger sa durée, interrompre le déclenchement des pontes et même induire une résorption des œufs chez la perche commune et le doré jaune (Craig, 2000).

Si le développement des gonades est similaire chez les géniteurs soumis à des conditions de photopériode naturelle ou pseudo-naturelle, le nombre de pontes récupérées est cependant moitié moins important en condition de photopériode pseudo-naturelle. De nombreuses femelles (environ 30 %) sont mortes avant de pondre. Elles présentaient des gonades atrophiques en dégénérescence. Comparativement, seulement 9 % des femelles gravides du traitement naturel sont mortes. Comme l'indique Kayes et Calbert (1979), la résorption des ovocytes pourrait être une cause de mortalité chez les géniteurs. D'autres facteurs non maîtrisés peuvent être à l'origine de ces perturbations comme les interactions sociales dans chaque lot et le stress engendré par les conditions expérimentales (Craig, 1987).

Par ailleurs, la présente étude montre qu'en conditions pseudo-naturelle ou fixée, bien que l'intensité lumineuse reste constante au cours de la photophase, les géniteurs ont pondu aux mêmes tranches horaires que ceux en condition naturelle. Parmi les 161 rubans récoltés, la quasi-totalité a été obtenue soit le matin à l'aube (40 à 60 %), soit en journée entre 9h et 16h (40 à 55 %) avec dans ce second cas, une majorité de pontes en début d'après-midi. Très peu de pontes ont été récoltées en fin de journée (< 10 %) et aucune femelle n'a pondu la nuit contrairement aux observations de Craig (1977). Les variations journalières des caractéristiques d'éclairement autres que la photopériode contrôlèrent donc la ponte chez la perche commune. Les ovipositions observées à l'aube ont probablement été déclenchées par l'apparition des premières lueurs du jour. Celles récupérées en journée étaient pour une grande majorité d'entre elles récoltées en début d'après-midi, moment de la journée où l'intensité lumineuse est théoriquement maximale. Il est possible que les perturbations occasionnées par la récupération des pontes (et des géniteurs) le matin aient perturbé ou retardé le déclenchement d'une partie des autres pontes.

Si le stimulus lumineux à l'aube est probablement initiateur du déclenchement des pontes, un autre paramètre doit aussi intervenir, provoquant l'oviposition des géniteurs soumis à un éclairage simulé aux mêmes horaires que pour les géniteurs en condition naturelle d'éclairement. Les variations hormonales nycthémerales mises en évidence chez

certaines espèces (Hontela et Peter, 1978 ; Matsuyama *et al.*, 1995) et la libération de phéromone par les mâles ou les femelles pourraient expliquer ce phénomène (Dulka *et al.*, 1987). Les comportements reproducteurs de nombreux poissons, et notamment l'oviposition et la spermiation, seraient influencées par la libération de phéromones (Dulka *et al.*, 1987 ; Sorensen *et al.*, 1988 ; Olsen et Liley, 1993). Ces hormones (prostaglandines ou 17, 20 β -P...) seraient libérées dans l'eau au niveau des branchies (Kime et Ebrahimi, 1997) et via l'urine (Vermeirssen *et al.*, 1997 ; Vermeirssen et Scott, 2001).

Le retard dans le déclenchement des ovipositions des géniteurs soumis à un éclairage artificiel (traitements pseudo-naturel et 16/8) pourrait être dû à l'absence d'éclairage lunaire. Des travaux ont montré l'importance des rythmes lunaires sur la reproduction et le déclenchement des pontes de certaines espèces de poissons Téléostéens marins (Taylor, 1984). Les femelles de différentes espèces de Siganidés, *Siganus argenteus* et *S. canaliculatus*, pondent 2 à 7 jours après la nouvelle lune alors que *S. guttatus* pond entre la nouvelle et la pleine lune (Rahman *et al.*, 2000). De plus, une étude *in vitro* a montré que des follicules ovariens de *S. guttatus* produisaient de l'œstradiol approximativement au moment de la nouvelle lune et de la 17,20 β -P vers le premier croissant de lune (Rahman *et al.*, 2002). Ces travaux suggèrent que le rythme lunaire serait le facteur prépondérant dans le développement ovarien chez cette espèce. Ce rythme lunaire peut-il avoir une influence sur le déclenchement des pontes chez la perche commune ?

La mortalité importante des mâles au cours de la période de ponte ne peut expliquer les faibles taux de fécondation des rubans en condition pseudo-naturelle. La mortalité des mâles en milieu naturel serait plus importante que celle des femelles (Craig, 2000). Seule l'absence de fécondation des pontes déclenchées tardivement serait due à une très forte mortalité des mâles de ce traitement (100 % en fin d'expérience).

L'observation du même phénomène en début de période de ponte pourrait être due à la qualité des œufs ou du sperme en relation avec le régime simulé de photopériode. Le retard dans le déclenchement des ovipositions a pu entraîner une surmaturation des œufs et induire une dégradation de la qualité des gamètes mâles ou femelles comme cela a été montré par Ciereszko *et al.*, 1997a. La synchronisation des comportements sexuels pourrait également être affectée dans de telles conditions.

Sur un cycle de reproduction, des conditions de photopériode simulée, sans considérer les variations d'intensité lumineuse nycthémerales ni simuler l'aube et le crépuscule, permettent un développement normal des gonades (fécondité, diamètre ovocytaire, poids et taille des larves à l'éclosion). Mais, un tel environnement affecte le comportement et les

performances des géniteurs en période de reproduction. Il semblerait donc que ce type d'éclairement artificiel appliqué aux géniteurs de perche ait une influence sur la qualité des pontes et des œufs, probablement en relation avec une inhibition du déclenchement des pontes.

2.4.3. Fluctuations hormonales au cours du cycle de reproduction de la perche

2.4.3.1. Chez les géniteurs femelles

Quelle que soit l'expérience considérée lors de cette étude, les teneurs plasmatiques en testostérone sont significativement plus élevées chez les géniteurs engagés en reproduction que celles des poissons non développés. Les concentrations relevées en fin de période de maintien au froid (13 à 16 ng.mL⁻¹) sont globalement plus faibles que celles mesurées par Sulistyó *et al.* (1998) chez des géniteurs capturés en milieu naturel en fin de période hivernale ou lors des expériences réalisées sur le site expérimental de la Bouzule (15 à 25 ng.mL⁻¹). Si en règle générale, les concentrations plasmatiques en stéroïdes sexuels chez les Perciformes, et notamment en T, sont nettement inférieures à celles mesurées chez les Salmoniformes (Kime, 1993), de fortes variations existent également au sein de cet ordre. Chez le doré jaune et la perche jaune, par exemple, les valeurs maximales n'atteignent respectivement que 2.8 ng.mL⁻¹ (Malison *et al.*, 1994) et 5 ng.mL⁻¹ (Dabrowski *et al.*, 1996). Les rôles spécifiques de la testostérone dans la reproduction des poissons sont encore flous. Cette hormone sert de précurseur, via l'activité aromatique d'une enzyme (aromatase : 17 β -HSD), à la synthèse d'oestradiol-17 β (Kagawa, 1982). La testostérone joue ainsi un rôle très important en permettant indirectement la croissance des ovocytes (vitellogenèse) via la synthèse en oestradiol au niveau des enveloppes folliculaires des ovocytes (Kagawa *et al.*, 1982, 1984 ; Young *et al.*, 1983 ; Borg, 1994). En effet, la 17 β -oestradiol (E₂) stimule la synthèse par les hépatocytes de la vitellogénine (VTG), une lipoglycophosphoprotéine (Wallace et Selman, 1981 ; Ng et Idler, 1983), qui est acheminée jusqu'aux ovocytes par voie sanguine où elle s'accumule sous la forme de vésicules vitellines (Tyler *et al.*, 1991 ; Kime *et al.*, 1993).

En considérant les variations des teneurs en T dosées chez les géniteurs des traitements pseudo-naturel et 16/8, il semble qu'il existe deux pics pendant le cycle de reproduction de la

perche commune, comme cela a été montré chez le doré jaune (Malison *et al.*, 1994) ou le bar commun (Prat *et al.*, 1990). Le premier correspondrait à une augmentation rapide de l'E₂ pendant la vitellogenèse (Malison *et al.*, 1994) et le second, juste avant la ponte, à l'arrêt de l'activité aromatique. Ce deuxième pic est une caractéristique commune à tous les Téléostéens, mais son rôle précis n'est pas clairement établi (Rinchard, 1996). De nombreuses hypothèses ont été suggérées. D'après Kime (1993), la T jouerait un rôle sur le maintien de la viabilité des ovocytes dans l'attente de l'oviposition. L'absence d'un déclenchement des pontes chez les géniteurs d'un des trois réplicats en condition pseudo-naturelle pourrait ainsi expliquer l'augmentation des teneurs en T observée en fin de cycle. La testostérone pourrait également agir sur le processus de l'ovulation (Trudeau, 1991) en exerçant un rétrocontrôle positif au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Borg, 1994). L'augmentation des concentrations observées en fin de cycle de reproduction chez les géniteurs soumis aux traitements naturel, pseudo-naturel et 16/8 renforcerait cette hypothèse. Mais, une telle élévation a souvent été attribuée à un surplus de précurseur oestrogénique (pregnenolone par exemple) suite à l'interruption de l'activité aromatique, alors que la stimulation gonadotrope persiste (Manning et Kime, 1984). En effet, des aromatases, pouvant convertir ce stéroïde en oestradiol, sont également présentes à ce niveau (Trudeau, 1991 ; Borg, 1994).

Enfin, une des particularités de la perche commune est l'élaboration d'une gangue gélatineuse en période pré-ovulatoire. Si de nombreuses études ont été réalisées chez différentes espèces d'amphibiens présentant cette caractéristique (Jego *et al.*, 1980), le contrôle de la synthèse de cette gangue chez la perche n'a pas encore fait l'objet d'études approfondies et rares sont les autres espèces de poissons présentant un phénomène similaire. Celle-ci est probablement synthétisée par les cellules folliculaires des œufs, comme cela a déjà été montré chez une espèce de *Cichlasoma* par Busson-Mabillot (1977). La présente étude montre que cette gangue est déjà formée intra-gonade dès le mois de mars. Les teneurs élevées en T en fin de cycle de reproduction pourraient être impliquées soit directement ou via sa transformation en oestradiol, dans la synthèse de cette gangue gélatineuse. Aucune étude ne semble avoir été réalisée à ce sujet chez la perche commune.

Le deuxième stéroïde sexuel jouant un rôle crucial sur les cycles de reproduction des poissons est l'oestradiol 17-β. Les géniteurs non engagés dans un cycle de reproduction, comme ceux soumis au traitement photopériodique 24h, présentent tout de même des variations significatives de leur teneur plasmatique en E₂ qui atteint 1 à 2 ng.mL⁻¹ (février). Or, ce stéroïde est synthétisé au niveau des follicules ovariens dans les cellules de la granulosa à partir d'androgènes aromatisables, l'androsténédione et la testostérone, eux-

mêmes synthétisés dans les cellules de la thèque (Kagawa *et al.*, 1982, 1984 ; Young *et al.*, 1983). Mais, cette activité aromatique a également été mise en évidence au niveau de l'hypothalamus (Kime, 1993). Ces résultats suggèrent l'existence, chez la perche commune, d'une synthèse d'oestradiol en amont de la voie classique située au niveau des membranes folliculaires des ovocytes et donc de la présence d'aromatases probablement au niveau de l'hypothalamus - hypophyse.

Une augmentation des teneurs plasmatiques en E_2 en période pré-ovulatoire a été mise en évidence chez de nombreuses espèces de Perciformes, notamment chez la perche commune (Sulistyo *et al.*, 1998 ; Migaud *et al.*, 2001b), la perche jaune (Dabrowski *et al.*, 1996), le doré jaune (Barry *et al.*, 1995), le bar d'Amérique et le bar blanc (King *et al.*, 1994 ; Jackson et Sullivan, 1995), le bar commun (Prat *et al.*, 1990), ainsi que chez des Cypriniformes comme le gardon et le goujon (Rinchard *et al.*, 1993 ; 1997). Nos études ne mettent pas en évidence de telles variations, les prélèvements sont certainement trop espacés les uns des autres, alors que les fluctuations en stéroïdes sexuels sont très pulsatiles.

Enfin, le dernier stéroïde sexuel que nous avons étudié chez les femelles est la 17, 20 β -P. De nombreuses études, réalisées *in vivo* ou *in vitro*, suggèrent son rôle en tant qu'inducteur de la maturation finale des ovocytes, provoquant la rupture de la vésicule germinale (GVBD ; Goetz, 1983 ; Scott et Canario, 1987 ; Nagahama *et al.*, 1995). Chez la perche commune, les teneurs plasmatiques en 17,20 β -P resteraient faibles, proches de la limite de détection, pendant la vitellogenèse de septembre à février (0.2-0.6 ng.mL⁻¹, Sulistyo *et al.*, 1998 ; Migaud *et al.*, 2001b). Une élévation des teneurs plasmatiques en 17,20 β -P a été mesurée pour la première fois (jusqu'à 4 ng.mL⁻¹) en période pré-ovulatoire chez des femelles maintenues en condition naturelle (Migaud *et al.*, 2001). Cela suggère que ce stéroïde est l'inducteur de la maturation finale chez la perche commune bien qu'aucune preuve directe n'ait permis d'établir le lien entre ce stéroïde et les stades de maturation ovocytaire finale (migration et rupture de la vésicule germinale). Le déroulement de ces étapes ultimes du cycle de reproduction est très rapide, rendant leur observation difficile. Par exemple, le passage entre la migration de la vésicule germinale et la rupture de celle-ci est très furtif, il dure 4 jours chez la perche jaune (Goetz et Theofan, 1979) et même quelques heures chez la sardine japonaise *Sardinops melanostictus* (Matsuyama *et al.*, 1994). L'ovulation peut survenir en quelques heures ou quelques jours après la migration de la vésicule germinale chez le doré jaune (Malison et Held, 1996). La rapidité de ces événements peut expliquer la difficulté à étudier les mécanismes physiologiques liés à ceux-ci. Dans la présente étude, les teneurs les

plus élevées ne seraient pas en relation avec un stade précis du développement des géniteurs femelles car sous un éclairage continu, les géniteurs ne répondent pas à la stimulation environnementale et présentent pourtant la même évolution à cette période de l'année. Sachant que ce stéroïde sexuel est synthétisé au niveau des membranes folliculaires des ovocytes et que ces dernières ne sont pas différenciées chez les poissons du traitement 24h, il apparaît que ces variations ne sont pas en relation avec un stade de la gamétogenèse. On peut donc se demander s'il existe une autre voie de métabolisation de la 17,20 β -P comme pour l'œstradiol. L'élévation des teneurs en 17,20 β -P observée au cours de l'automne pourrait être due au stress provoqué par le changement d'environnement. Des études réalisées chez le pagre doré *Pagrus auratus* (Carragher et Pankhurst, 1991) ont montré que les teneurs en 17,20 β -P étaient élevées chez des femelles stressées. Le stress induit par notre présence régulière autour des bassins, par les manipulations fréquentes et les conditions expérimentales peuvent affecter le cycle de reproduction et notamment les niveaux plasmatiques de stéroïdes sexuels tant à court terme qu'à long terme (Carragher et Pankhurst, 1991). Ces auteurs ont constaté qu'après une heure de confinement chez le Sparidae, *Pagrus major*, la concentration plasmatique en 17 β -oestradiol et en testostérone chute tandis que celle de 17,20 β -P augmente significativement.

Les femelles du traitement pseudo-naturel n'ayant pas pondu, se différencient de celles du traitement naturel par des concentrations plasmatiques initiales en 17,20 β -P plus importantes. De plus, ces teneurs sont également significativement plus importantes en début d'expérience chez les géniteurs placés dans les bassins de 500l (expérience 3). Cela pourrait être dû à l'acclimatation des géniteurs à un environnement stressant. L'absence de variations progressives de l'intensité lumineuse à l'aube et au crépuscule pourrait stimuler dans un premier temps l'axe hypothalamo-hypophysaire provoquant une synthèse plus importante en GtH et donc une élévation des teneurs en testostérone synthétisée au niveau ovocytaire. La granulosa n'étant pas encore formée au niveau des ovocytes à cette période du cycle de reproduction, la testostérone pourrait agir sur l'hypophyse par rétro-contrôle et/ou se transformer en oestradiol à ce niveau (**Figure 24**). Puis, dans un deuxième temps, l'œstradiol (ou la testostérone ?), par rétro-contrôle, inhiberait la libération de GnRH au niveau de l'hypothalamus via une stimulation de la synthèse de dopamine ou une inhibition du GABA. Ceci pourrait expliquer ainsi le retard dans l'élévation de la teneur en oestradiol, observé par la suite, en relation avec un retard de développement de ces femelles. Des travaux ont montré l'action directe de la testostérone au niveau de l'hypophyse qui augmenterait sa sensibilité à la

GnRH entraînant une augmentation de la synthèse et de la libération de la GtH-II (Kobayashi *et al.*, 1989 ; Trudeau, 1997). Des effets inhibiteurs des stéroïdes sexuels ont également été mis en évidence chez les poissons. Des rétro-contrôles positifs et négatifs par l'œstradiol ont été observés, chez le poisson rouge, sur la dopamine et le GABA ce qui régulerait la synthèse en GtH-II (**Figure 103**, Trudeau, 1997).

D'après Barton (1997), les poissons sont doués d'une capacité d'adaptation à un stress. Après un dérèglement hormonal suite au stress, les géniteurs femelles se seraient donc adaptés permettant à leur cycle de reproduction de se dérouler normalement.

Lors de cette étude, le volume des différents bassins semble avoir un effet sur les géniteurs au niveau hormonal. Ainsi, les géniteurs femelles en condition de photopériode naturelle sont caractérisés par des teneurs en E₂ plus élevées dans les bassins de 500L comparés à ceux de 3000L et aux géniteurs du milieu naturel. Elles atteignent 3-4 ng.mL⁻¹ au mois d'octobre lors de l'expérience 3 alors qu'elles ne sont que d'environ 1 ng.mL⁻¹ lors de l'expérience 4. Cette dernière valeur est tout à fait similaire aux concentrations mesurées chez des géniteurs du milieu naturel à la même période de l'année (environ 0.5 ng.mL⁻¹, Sulistyó *et al.*, 1998). Les volumes faibles des bassins expérimentaux autonomes utilisés lors de l'expérience 3 (500 L) sont soumis à de plus fortes variations thermiques que les bassins de l'expérience 4 fonctionnant en circuit fermé (40 m³) ou au milieu naturel. Les variations de la température étant plus brutales, la stimulation environnementale serait plus importante et les géniteurs répondraient donc plus rapidement. Ces différences sont également observées au niveau du développement gonadique. Les teneurs plasmatiques en T mesurées au mois d'octobre (environ 17 ng.mL⁻¹, le 6 octobre) chez les mâles en condition de photopériode naturelle dans les bassins de 500 L semblent également plus élevées que celles mesurées chez les géniteurs du même traitement dans les bassins de 3000 L (7-8 ng.mL⁻¹, le 15 octobre). Les teneurs initiales dans les bassins de 500 l sont déjà importantes (environ 5.5 ng.mL⁻¹), mais la comparaison avec les mâles des bassins de 3000 L ne peut pas être établie, les prélèvements n'ayant commencé que le mois suivant pour des raisons d'acclimatation des poissons liée à la réalisation d'un suivi hormonal individuel.

2.4.3.2. Chez les géniteurs mâles

De nombreux auteurs ont montré l'importance de la testostérone dans la spermatogénèse et notamment la multiplication des spermatogonies et la formation des spermatocytes (Fostier *et al.*, 1983 ; Billard, 1986 ; Billard *et al.*, 1990 ; Billard *et al.*, 1992 ; Borg 1994 ; Schulz *et*

al., 1994). Lors de cette étude, les teneurs plasmatiques en T, faibles en début de cycle de reproduction ($2 \text{ à } 4 \text{ ng.mL}^{-1}$), augmentent chez les mâles en développement pour atteindre un pic au mois de décembre avec $20 \text{ à } 25 \text{ ng.mL}^{-1}$. Ces valeurs sont largement supérieures à celles mesurées par Sulistyó *et al.* (2000) chez des géniteurs de perche commune capturés en milieu naturel, qui n'étaient en moyenne que d'environ 12 ng.mL^{-1} au mois de janvier. De plus, ces valeurs élevées sont atteintes plus précocement. Le stress, résultant de l'acclimatation des poissons à leur nouvel environnement ne semblerait pas être impliqué si on se réfère aux nombreux travaux réalisés sur le sujet. En effet, si la relation facteur de stress et augmentation des teneurs en cortisol est bien connue (Sumpter, 1997 ; Mommsen *et al.*, 1999), il semblerait que ce dernier provoque généralement une diminution des teneurs en T, comme cela a été montré chez la truite arc-en-ciel (Pankurst et Dedual, 1994). Par exemple, un mois de confinement chez des truites communes mâles a pour conséquence une élévation des concentrations en cortisol et une diminution des teneurs plasmatiques en testostérone et en 11-kétotestostérone (Pickering *et al.*, 1987). Bien que les variations de la température de l'eau soient naturelles, elles sont beaucoup plus rapides en bassin qu'en milieu naturel. En réponse à une stimulation environnementale plus précoce et plus intense, l'hypothalamus secrèterait plus de GnRH provoquant une synthèse de gonadotropines au niveau de l'hypophyse en plus grande quantité et donc une libération plus importante de testostérone au niveau du cerveau et des ovocytes. La gonadogenèse et la gamétogenèse seraient stimulées précocement ou de façon plus importante. Les concentrations mesurées sont également plus élevées que celles relevées chez le doré jaune ($< 3 \text{ ng.mL}^{-1}$, Malison *et al.*, 1994), la perche jaune ($< 2 \text{ ng.mL}^{-1}$, Ciereszko *et al.*, 1997a) et le pagre doré (1 ng.mL^{-1} , Carragher et Pankhurst, 1993) mais plus faibles que celles dosées chez les Salmonidés comme chez la truite commune (33 ng.mL^{-1} , Kime et Manning, 1982) et la truite arc-en-ciel (80 ng.mL^{-1} , Scott et Sumpter, 1989). Au niveau histologique, les gonades mâles présentent des spermatozoïdes dès le mois de septembre, ainsi que des spermatocytes et des spermatides. Comme cela a été montré par Sulistyó *et al.* (2000), la spermatogenèse est initiée très rapidement en période estivale et le développement des gonades est maximal dès le mois d'octobre. Chez les Salmonidés, la testostérone est plutôt impliquée dans le processus de la spermatogenèse (Scott *et al.*, 1980 ; Kime et Manning, 1982). Cela semble également être le cas chez la perche commune, chez laquelle de plus faibles teneurs en T ($< 10 \text{ ng.mL}^{-1}$) semblent suffire pour initier et déclencher la division intense des spermatogonies, comme cela a été suggéré par Sulistyó *et al.* (2000). Les teneurs en T, après avoir chuté au mois de janvier, augmentent à nouveau en fin de cycle (mars) et atteignent 20 ng.mL^{-1} , suggérant un rôle de cette dernière sur la spermiation des

mâles. Comme cela a été suggéré par Sulistyó *et al.* (2000), cette augmentation pourrait correspondre à l'intensification des divisions cellulaires à l'approche de la saison de ponte et à la production d'autres stéroïdes, comme la 11-KT. Kime et Hews (1978) ont montré, *in vitro*, que les gonades mâles pouvaient convertir la testostérone en 11-oxo et 11 β -hydroxytestostérone.

Les teneurs plasmatiques en 11-kétotestostérone sont faibles (< 3 ng.mL⁻¹) en début de cycle de reproduction. Alors que le profil en T semble similaire aux données de Sulistyó *et al.* (2000), celui en 11-KT diffère et ne présente pas de pic en période pré-ovulatoire, en fait des concentrations maximales sont enregistrées en septembre et octobre quel que soit le traitement appliqué. Chez l'anguille japonaise, *Anguilla japonica*, la 11-KT peut réguler le cycle complet de la gamétogenèse, la testostérone ne jouant qu'un rôle de précurseur de la 11-KT (Miura *et al.*, 1991). Kime et Manning (1982) suggèrent que la 11-KT est majoritairement impliquée dans le processus de la spermiation. Cette étude montre que les géniteurs soumis à des conditions naturelles et pseudo-naturelles et engagés dans un cycle de reproduction présentent des teneurs plus élevées comparées à celles d'autres poissons. Seules des études *in vitro* nous permettront de mieux comprendre les rôles respectifs de ces deux androgènes sur le cycle de reproduction de la perche commune.

Les profils en 17,20 β -P obtenus ne permettent pas de discuter son rôle sur le contrôle du cycle de reproduction mâle chez la perche commune, les teneurs et fluctuations étant faibles.

2.4.4. Réserves énergétiques / cycle de reproduction / croissance

Les géniteurs de perche utilisés lors de nos différentes expérimentations avaient des indices viscéro-somatiques initiaux élevés et très variables (8 à 18 % chez les femelles et 7 à 14 % chez les mâles). Ces poissons ont été préalablement élevés dans des conditions constantes de température (20-22°C) et de photopériode (12L : 12O). Ainsi, ayant reçu une alimentation riche en lipides (18 %), les géniteurs ont accumulé de l'énergie sous la forme de tissus de réserve au niveau péri-viscéral, ce qui explique les IVS chez les femelles.

Dans le milieu naturel, en période estivale, après une phase de repos sexuel, les géniteurs de perche femelle présentent les IVS les plus élevés atteignant environ 6 % (Sulistyó, 1998), ce qui est 2 à 3 fois inférieur à ceux relevés dans la présente étude à la même période. A l'automne, les IVS diminuent, quel que soit le sexe et le traitement expérimental. Si cette diminution peut être mise en relation avec la reprise du développement gonadique, le

passage d'une alimentation inerte artificielle riche en lipides à une alimentation à base de proies vivantes (poisson fourrage) semble principalement expliquer cette évolution. Cela est également observé pour les poissons qui ne s'engagent pas dans un cycle de reproduction (traitements 24h et 16/8). L'adaptation à un nouvel environnement stressant et à un nouvel aliment est vraisemblablement impliquée dans la diminution de la masse péri-viscérale, les poissons ne s'étant pas alimentés normalement en début d'expérience. La prise de poids des poissons a été faible du mois d'août au mois de septembre pour tous les traitements. Toutefois, chez les poissons en reproduction, les tissus péri-viscéraux, principalement composés par des lipides, seraient donc partiellement dégradés pour fournir l'énergie nécessaire au bon déroulement des étapes du cycle de reproduction, comme cela a déjà été observé chez la perche commune (Makarova, 1973 ; Sulisty, 1998), la perche jaune (Tanasichuk et Mackay, 1989 ; Hayes et Taylor, 1994) ou le doré jaune (Henderson *et al.*, 1996). La mobilisation des réserves énergétiques au niveau musculaire, nécessaire pour assurer la reproduction, est faible (Sulisty, 1998), tout comme chez certains Salmonidés (Izquierdo *et al.*, 2001). Chez d'autres espèces comme l'omble chevalier, les réserves énergétiques sont stockées dans le corps entier du poisson et notamment au niveau musculaire (Jorgensen *et al.*, 1997). Comme l'ont défini Henderson *et al.* (1996), la perche commune, comme le doré jaune, est un « capital breeder » car elle utilise l'énergie stockée à partir de son alimentation pour assurer le développement de ses gonades. Ils les distinguent d'un autre type de poisson appelé « income breeder » qui utilise directement l'énergie alimentaire. Après quelques mois, alors que l'IVS des poissons des traitements naturel et pseudo-naturel reste stable, celui des poissons des traitements 16/8 et surtout 24h augmentent à nouveau en fin de période hivernale (février-mars) atteignant 15 % pour ces derniers. En milieu naturel dans l'Est de la France, à partir du mois de décembre, les réserves péri-viscérales sont épuisées (Sulisty, 1998), elles sont reconstituées au cours des mois de janvier et février pour assurer ultérieurement la poursuite des développements ovarien et testiculaire (Makarova, 1973 ; Kirillov et Akhremenko, 1982). Mais, lors de cette étude, les IVS des traitements naturel et pseudo-naturel relevés le 14 mars sont de 8 à 9 %. Etant donné l'état de réserve important de ces géniteurs en début d'expérience, elles sont encore largement suffisantes pour subvenir à leurs besoins, les poissons n'ont donc pas besoin de les reconstituer. Les géniteurs, non engagés dans un cycle de reproduction, accumulent tout de même des réserves péri-viscérales en hiver (IVS de 14 à 15 % mi- mars chez les mâles et les femelles). A cette période de l'année, les poissons sont physiologiquement « au ralenti » et la croissance est faible, ils produisent donc moins d'énergie et accumulent des réserves.

Une des explications de la différence importante des IVS entre les géniteurs du traitement 24 h et ceux des trois autres traitements, hormis l'engagement ou non dans un cycle de reproduction, est l'activité alimentaire en relation avec la durée d'éclairement. L'alimentation de la perche semble être diurne avec une forte variabilité (Jourdan, 1999) mais elle fuit les fortes intensités lumineuses et les valeurs préférentielles d'éclairement varient de 1 à 100 lux (Thorpe 1977b; Colette *et al.*, 1977). L'intensité lumineuse agit comme principal synchroniseur de l'activité alimentaire (Helfman, 1979). Lors de ces expérimentations, la photophase à cette période de l'année n'est que d'environ 10-11 h et est marquée par des périodes de fortes intensités lumineuses (traitement naturel), alors qu'elle est de 16 h et 24 h pour les deux autres traitements avec une intensité lumineuse constante faible. On peut supposer que l'ingestion des poissons soumis à un éclairage constant est plus importante, mais, dû au mode d'alimentation, aucune donnée précise n'est disponible. En outre, au mois de mars, chez les géniteurs des traitements 16/8 et 24h, les teneurs plasmatiques en œstradiol sont également significativement plus élevées que celles mesurées durant les trois premiers mois de prélèvement, suggérant une relation entre l'accumulation de réserves au niveau viscéral et l'œstradiol. Des études sur le poisson rouge ont montré un effet stimulateur de l'œstradiol sur la sécrétion en hormone de croissance (GH, Le Gac *et al.*, 1993 ; Trudeau, 1997).

Au début du printemps (mars-avril), la température de l'eau augmente rapidement ainsi que l'activité des poissons qui ont donc des besoins énergétiques plus importants pour assurer les processus physiologiques tels que la croissance et l'activité. Les IVS de tous les traitements ont diminué, atteignant 4-5 % pour les traitements naturel et pseudo-naturel et 7-9 % pour les deux autres traitements. Cette période de mars à avril correspond à la reprise de l'ovogenèse, les réserves péri-viscérales sont utilisées pour assurer les étapes finales du cycle de reproduction (Sulistyo, 1998).

Après une diminution initiale observée quel que soit le traitement de photopériode considéré, les IHS atteignent des valeurs maximales moyennes d'environ 3.2 % durant l'hiver (mois de février) chez les géniteurs femelles du traitement naturel. La forte diminution observée en début d'expérience pour tous les traitements testés, passant de 2 à 1 % environ, pendant les phases d'initiation de la gonadogenèse et de la vitellogenèse, serait due d'une part au changement d'alimentation et d'autre part au stress lié au confinement. Puis, comme Medford et Mackay (1978) l'ont signalé, l'augmentation des IHS pourrait être liée, en partie, à la synthèse et au stockage de vitellus ou de précurseurs, ou peut-être à l'augmentation d'une activité enzymatique nécessaire à la vitellogenèse. Cette activation du métabolisme lipidique

entraînerait une augmentation des dépôts lipidiques dans le foie. La synthèse de vitellogénine, sous stimulation oestrogénique, serait accompagnée par une augmentation de la synthèse en protéine du foie (Bradley et Grizzle, 1989). Des variations significatives des teneurs en lipide, glycogène et acides nucléiques du foie ont été mises en évidence, notamment chez la truite arc-en-ciel (Haux et Norberg, 1985) et le fondule (Selman et Wallace, 1983). Le foie serait l'organe principal de stockage qui fournit les éléments nutritifs aux ovocytes matures (Sheikh-Eldin *et al.*, 1995). Le foie jouerait un rôle dans le transfert des lipides contenus dans les viscères vers l'ovaire et l'augmentation du poids du foie serait en relation avec l'allocation de lipides pour l'ovaire (Henderson *et al.*, 1996). L'augmentation des IHS chez les géniteurs du traitement naturel est plus importante par comparaison aux autres traitements et notamment au traitement pseudo-naturel caractérisé par un développement similaire des femelles. Ceci pourrait s'expliquer par une alimentation moins importante des géniteurs probablement en relation avec des conditions environnementales plus stressantes. En effet, la principale différence entre ces deux traitements hormis les caractéristiques de l'éclairement, est l'absence de variations journalières de l'intensité lumineuse (aube et crépuscule) pour le traitement pseudo-naturel. Des études ont montré que le comportement alimentaire varie avec l'illumination. Ainsi, deux pics d'alimentation ont été observés chez les perches commune et jaune correspondant à l'aube et au crépuscule (Thorpe, 1977b et c ; Colette *et al.*, 1977 ; Helfman, 1979 ; Fedorova et Drozhzhina, 1982 ; Jourdan *et al.*, 2000).

De février à mi-mars, une diminution des IHS est observée pour tous les traitements. En ce qui concerne les traitements naturel et pseudo-naturel, elle est probablement due à l'arrêt de la stimulation oestrogénique (arrêt des synthèses hépatiques) car les ovocytes ont pratiquement atteint leur diamètre maximal. Mais, les IHS des poissons des deux autres traitements diminuent également à cette période de l'année. Des taux d'alimentation plus faibles ont été observés et l'apport en proies vivantes a donc été diminué.

Ces résultats montrent que la synthèse en vitellogénine au niveau du foie, sous stimulation oestrogénique, n'aurait qu'une importance minime sur l'évolution de l'IHS. En effet, chez les femelles qui ne sont pas en reproduction, les IHS varient également selon les mêmes modalités. Seule la différence entre les valeurs maximales observées chez les femelles engagées dans un cycle de reproduction et celles restées non développées correspondrait à une synthèse vitellogénique. Le reste, commun aux deux sexes, proviendrait de l'activité hépatique et des dépôts lipidiques accumulés au niveau du foie suite à une activité alimentaire intense en période pré-hivernale.

La qualité des larves est déterminée dans une large mesure par la qualité des acides gras alimentaires et des vitamines distribués aux géniteurs (Sandnes *et al.*, 1984 ; Harel *et al.*, 1994 ; Watanabe *et al.*, 1995 ; Abi-ayad *et al.*, 1995 ; Abi-Ayad, 1997 ; Navas *et al.*, 1997 ; Czesny et Dabrowski, 1998). Il a été démontré que les teneurs en acides gras poly-insaturés de la série n-3 ou n-5 (22:6n-3 : 20:5n-5,) doivent être présents dans l'alimentation des géniteurs de perche commune (Abi-Ayad *et al.*, 1997) ou du doré jaune (Czesny et Dabrowski, 1998) afin de produire des larves de qualité. D'après Harel *et al.* (2001), les acides docosahexanoïque (DHA) et arachidonique (AA) sont des nutriments essentiels influençant la tolérance des larves de bar d'Amérique aux stress de salinité. En effet, ces acides gras à longues chaînes poly-insaturées pourraient influencer la réponse des larves à un stress, notamment en modifiant la composition des leucocytes qui constituent leur principale voie de défense (Harel *et al.*, 2001). Le DHA pourrait plus précisément être impliquée dans le processus osmorégulateur de l'homéostasie et la fluidité membranaire (Takeuchi, 1997).

Lors de l'expérience hors-saison conduite dans cette étude, les géniteurs de perche de plus petite taille (200-250 g) ont présenté un meilleur développement gonadique que les plus gros poissons (350-400 g). Ces deux classes de géniteurs étaient issues d'un même lot initial. Les géniteurs appartenant à la classe de poids 200-250 g sont caractérisés par une augmentation significative des teneurs en testostérone et par des teneurs en E₂ en fin de période de refroidissement plus importantes. Ceci est en accord avec le plus fort IGS observé à cette période pour les géniteurs de la classe de poids inférieure. Ces résultats suggèrent que les poissons de plus petite taille, présentant un taux de croissance plus important en période de reproduction, seraient plus sensibles aux variations environnementales. L'analyse multifactorielle, réalisée sur les données hormonales relatives au cycle complet de reproduction, a montré que les individus ayant pondu étaient caractérisés par des teneurs hormonales plus importantes au cours du cycle, une taille initiale intermédiaire et un taux de croissance relatif plus élevé. Autrement dit, ce ne sont pas les individus les plus gros en début de cycle de reproduction qui ont donné les meilleurs reproducteurs, mais ceux dont la croissance somatique en période de reproduction a été la meilleure.

L'hétérogénéité de croissance est importante chez la perche aussi bien entre individus de sexe différent (dimorphisme de croissance en faveur des femelles, Mélard *et al.*, 1996 ; Fontaine *et al.*, 1997) qu'au sein d'une population de même sexe (Hoestland, 1980 ; Boujard, 1987 ; Craig, 1987). La croissance et la reproduction sont les deux processus physiologiques les plus importants chez les poissons, l'énergie utilisée pour l'un est perdue pour l'autre (Henderson *et al.*, 1996). Comment expliquer le fait que les poissons présentant la meilleure

croissance somatique en période de reproduction constitueraient les meilleurs reproducteurs ? Les interactions entre les fonctions de croissance et de reproduction, mises en évidence chez de nombreux vertébrés, sont particulièrement importantes à certaines étapes du cycle de vie des poissons comme la puberté et la gamétogenèse (Le Gac *et al.*, 1993). L'hormone de croissance jouerait un rôle spécifique dans la croissance (anabolisme protéique) et l'acquisition de la maturité sexuelle, la gamétogenèse et la fertilité. Des traitements avec une hormone de croissance bovine pourraient accélérer fortement le développement ovocytaire chez le saumon coho (Le Gac *et al.*, 1993). Le système thyroïdien semble également interagir avec les cycles de reproduction. Les hormones thyroïdiennes (T_3 et T_4) stimulent, de façon synergique avec les gonadotropines (GtHs), le développement ovarien précoce et la vitellogenèse comme cela a été montré chez le dentex (Pavlidis *et al.*, 2001). Chez la truite arc-en-ciel, une élévation des teneurs plasmatiques en T_3 , seule ou en combinaison avec la GtH, entraîne une augmentation de l'IGS après un traitement de 21 jours (Cyr et Eales, 1988). L'hormone thyroïdienne accroît l'action de la GtH pour stimuler la synthèse de testostérone (T) et augmente la conversion de la T en E_2 , c'est-à-dire de l'activité aromatique, permettant ainsi une croissance ovarienne plus importante. Tous ces systèmes sont en partie contrôlés par l'axe hypothalamus-hypophyse et agissent donc sur le contrôle du cycle de reproduction, ce qui rend leurs interactions difficiles à comprendre.

Ces résultats remettent donc en cause la pratique qui consiste à sélectionner les plus gros géniteurs pour en faire des reproducteurs. Il faudrait plutôt sélectionner les poissons de taille intermédiaire et présentant la plus forte vitesse de croissance en période de reproduction.

2.4.5. Variabilité importante de la qualité des œufs et des larves

Lors de la présente étude, de fortes variations de la qualité des œufs ont été mises en évidence au cours de la saison de ponte et des traitements expérimentaux. Le référentiel de qualité montre une stabilité des taux de fécondation (80 à 95 %) au cours de la saison de ponte, alors que les taux d'éclosion varient fortement avec des valeurs plus faibles en début et en fin de période de ponte. En conditions photopériodiques expérimentales, les taux de fécondation et d'éclosion sont très variables. Le taux de fécondation faible des pontes du traitement naturel (environ 60 %) comparé à celui observé en milieu naturel peut s'expliquer en partie par un sexe-ratio déséquilibré en faveur des femelles. Le taux de mâles n'excédait pas 40 %. En milieu naturel, plusieurs mâles assurent la fécondation des ovules, au fur et à

mesure du déroulement de la ponte (Dalimier *et al.*, 1982). De plus, les manipulations fréquentes et notre présence pourraient également être à l'origine de perturbations. Chez de nombreux poissons maintenus en captivité et donc stressés, des travaux ont montré que l'ovulation est retardée, les œufs fécondés plus petits et de moins bonne qualité et la production de la laitance réduite (Kjorsvik *et al.*, 1990 ; Campbell *et al.*, 1992, Mylonas *et al.*, 1998a ; Contreras-Sanchez *et al.*, 1998 ; Fauvel *et al.*, 1999 ; Schreck *et al.*, 2001).

Le taux de fécondation des pontes issues des géniteurs femelles soumises à une photopériode simulée est quasiment nul. L'absence de fécondation des pontes déclenchées tardivement pourrait être due à une très forte mortalité des mâles de ce traitement (100 % en fin d'expérience). Mais, l'absence de fécondation des pontes dès le début de la période de ponte semble mettre en cause la qualité initiale des œufs ou du sperme en relation avec le régime simulé de photopériode. Le retard dans le déclenchement des ovipositions a entraîné une surmaturation des œufs (atrésie post-ovulatoire) et a induit une dégradation de la qualité des gamètes mâles ou femelles (Treasurer et Holliday, 1981 ; Ciereszko *et al.*, 1997a). Suite à l'ovulation, les œufs subissent fréquemment ce phénomène entraînant une diminution progressive de leur qualité jusqu'à leur mortalité (Treasurer et Holliday, 1981 ; Springate *et al.*, 1984 ; Fitzpatrick *et al.*, 1987 ; Bromage *et al.*, 1992 ; Suquet *et al.*, 1998). Chez toutes les espèces étudiées, cette chute de qualité des œufs apparaît s'ils sont retenus dans les gonades femelles après l'ovulation et avant le stripping ou si les œufs sont maintenus *in vitro* dans du liquide ovarien après le stripping (Bromage et Roberts, 1995). Le taux de surmaturation des œufs dépend de la température, des températures élevées ou basses réduisant ou augmentant, respectivement, la période optimale d'oviposition (Gillet, 1991). La synchronisation des comportements sexuels pourrait également être affectée dans de telles conditions.

L'utilisation du stress (choc osmotique et jeûne) apparaît comme un bon critère d'évaluation de la qualité larvaire (Dhert *et al.*, 1992b). Les larves peuvent être considérées comme de bonne qualité quand les deux tests de résistance donnent des résultats positifs, de qualité moyenne quand l'un des deux est faible et de mauvaise qualité quand les deux sont faibles. Dans la présente étude, la résistance des larves issues de géniteurs de perche commune du milieu naturel est apparue variable au cours de la saison de reproduction. Globalement, la résistance des larves au choc osmotique est plus élevée en début de période de ponte, puis elle diminue, comme cela a été observé par Abi-Ayad (1997). Des travaux ont montré que l'activité enzymatique de la cathepsine L augmente dans les œufs de perche commune au fur et à mesure de l'avancement de la période de reproduction (Abi-Ayad, 1997 ; Kestemont *et al.*, 1999). Cette augmentation progressive de l'activité enzymatique de la

cathepsine L serait corrélée à une diminution progressive des taux d'éclosion et de fécondation durant la période de ponte. Lors de cette étude, alors que le taux de fécondation reste élevé et stable tout au long de la période de ponte en milieu naturel, le taux d'éclosion varie fortement. Il est plus faible en début et en fin de période de ponte (30 à 40 %). Le poids des œufs semble également plus faible en début et en fin de période de ponte. L'activité de la cathepsine pourrait être responsable des fortes mortalités embryonnaires, des faibles taux d'éclosion et de la diminution de la résistance des larves au choc osmotique relevés en fin de période de ponte, en provoquant une dégradation précoce des réserves vitellines (Kestemont *et al.*, 1999). Une corrélation négative entre la qualité des œufs et des larves d'une part et l'activité de la cathepsine L d'autre part a également été mise en évidence chez le bar (Carnevali *et al.*, 1993). Cette enzyme joue un rôle important dans la dégradation des protéines vitellines (réserves de la larve) durant le développement embryonnaire chez la truite arc-en-ciel (Sire *et al.*, 1994). Ces auteurs ont montré une absence d'activité de cette protéase chez des œufs tout juste fécondés, et une augmentation importante au moment de l'initiation de la protéolyse du vitellus (environ 10 jours après la fécondation). Cette activité reste élevée jusqu'à la première alimentation, quand la vésicule vitelline est résorbée. Même si la relation entre l'activité de la cathepsine et les changements endogènes de l'alimentation des embryons et des larves n'a pas été formellement montrée, il est probable que cette activité protéolytique soit également impliquée dans les processus d'utilisation des réserves vitellines chez la perche (Kestemont *et al.*, 1999). L'activité de la cathepsine diminuerait rapidement, la résorption vitelline étant terminée 3 à 5 jours après l'éclosion. L'alimentation exogène de la larve commence entre le deuxième et le quatrième jour après l'éclosion (Kestemont *et al.*, 1996). La combinaison d'une atrésie post-ovulatoire des géniteurs et l'augmentation de l'activité de la cathepsine L pourraient entraîner la diminution de la qualité des œufs et des larves produites.

La résistance des larves, issues des géniteurs en conditions expérimentales (traitement photopériodique naturel) est plus élevée en fin de période de ponte, l'amplitude des variations est également beaucoup plus importante. Ces résultats semblent contradictoires avec ceux obtenus grâce au référentiel de qualité établi sur des géniteurs du milieu naturel. Mais, en conditions expérimentales, les larves issues des premières pontes ont un poids moyen inférieur à celui des larves des pontes suivantes. Ces larves issues de pontes précoces pourraient avoir des réserves vitellines plus faibles comparées à celles issues des pontes plus tardives.

La résistance des larves au jeûne est également variable au cours de la saison de ponte. Elle est meilleure, d'après le référentiel de qualité, chez les larves en début de période de reproduction et deux semaines après. L'activité de la cathepsine L plus importante dans les œufs produits tard dans la saison, pourrait provoquer une destruction partielle des stocks protéiques des œufs. Ceci entraînerait une diminution des réserves nutritionnelles nécessaires au bon déroulement du développement embryonnaire et larvaire et expliquerait une moins bonne résistance des larves au jeûne. Mais, l'existence d'un deuxième pic de résistance suggère que deux populations différentes de perche ont été prélevées.

D'une façon générale, la qualité des pontes obtenues en condition hors-saison (expérience 2) était plus faible que celle des pontes issues de géniteurs maintenus en conditions naturelles. Le pourcentage de fécondation est très faible et très peu de pontes ont été fécondées (naturellement ou artificiellement). Le poids des larves est également plus faible ce qui pourrait expliquer leur forte sensibilité à un stress osmotique. Mais, la survie au jeûne semble très élevée si on la compare aux données relatives au référentiel de qualité en milieu naturel. En règle générale, la sensibilité de ces deux tests de résistance apparaît différente. En effet, bien qu'aucune survie au choc osmotique n'ait été observée, la résistance au stress du jeûne est élevée. Une alimentation des géniteurs pas assez riche en DHA ou en EPA pourrait expliquer en partie l'absence de résistance des larves au choc osmotique en conditions hors-saison. L'aliment distribué aux géniteurs (BioMar, gamme Ecolife) contient 16 % de lipides dont environ 20 % de DHA et 6 % d'EPA (Mathis *et al.*, 2002).

Les taux de réponse et de pontes chez les femelles en condition hors-saison restent faibles (environ 30 et 21 %, respectivement). Le vécu des géniteurs pourrait expliquer ces données car ils ne s'étaient jamais reproduits. Les résultats, en terme de développement et de la qualité des pontes, sont médiocres lors d'une première reproduction (Abi-Ayad, 1997). L'âge des géniteurs femelles (1 ou 2 ans en début de cycle) pourrait également être la cause du faible taux de réponse obtenu (Abi-ayad, 1997 ; Johnston, 1997). Enfin, comme nous l'avons montré, l'absence de variations saisonnières de la photopériode et l'absence d'aube et de crépuscule sont probablement à l'origine des perturbations observées au niveau du développement des géniteurs, du déclenchement des ovipositions et de la qualité des œufs et des larves.

D'une façon générale, la détermination de la qualité des œufs et des larves chez les poissons est délicate et le choix des critères d'évaluation est primordial. La sensibilité des tests de résistance des larves que nous avons utilisés est différente, le test osmotique étant beaucoup plus brutal et donc moins sensible que le test au jeûne.

2.4.6. Mortalité des géniteurs en période de reproduction

L'étude sur un cycle complet de reproduction montre que, pendant les deux premiers tiers du cycle de reproduction (de juillet à mars), la mortalité reste faible (8 à 15 %) quel que soit le traitement expérimental appliqué. Dès le mois d'avril, alors que la température de l'eau s'élève, une augmentation très importante des mortalités est relevée. Lors de cette étude, les mortalités ont augmenté en début de période de ponte (mars-avril) et sont maximales en fin de période de ponte (mi-mai). Les géniteurs présentent alors des lésions soit au niveau abdominal soit au niveau caudal. Il est difficile d'estimer avec précision les taux de mortalité rencontrés en milieu naturel (Sandstrom *et al.*, 1995) et d'en déterminer les causes (prolifération d'agents pathogènes, variations thermiques défavorables...). Il est certain que le réchauffement des eaux entraîne une prolifération des agents pathogènes dans l'eau. On peut se demander pourquoi les géniteurs n'ont pas été contaminés en début de cycle de reproduction.

Des aspects technologiques peuvent être à l'origine de ces fortes mortalités. Une diminution du pouvoir d'action des lampes ultra-violettes du fait de la température de l'eau basse en hiver pourrait être à l'origine d'une prolifération des agents pathogènes. D'après le constructeur, l'efficacité du bactéricide est réduite à une température de 0 à 10°C. Lors de la mise en eau de la station, l'eau du réseau urbain utilisée ne contenait probablement pas ou peu d'agents pathogènes. Mais, des agents pathogènes ont été introduits dans la station en même temps que les géniteurs et le poisson fourrage. Ces agents ont donc proliféré dans le milieu avec le réchauffement des eaux. De plus, comme notre structure expérimentale sur le site de la Bouzule présente un volume d'eau relativement faible (environ 40 m³), les variations de la température de l'eau sont donc plus importantes (variations nycthémérales et d'un jour à l'autre). Ces variations thermiques ont pu engendrer un stress supplémentaire, rendant les poissons plus sensibles aux infections de type bactériennes ou fongiques.

Cette mortalité importante pourrait être liée aussi à l'état physiologique des poissons. A cette période de l'année, les géniteurs sont affaiblis car ils ont dû puiser dans leurs réserves pour assurer le développement de leurs gonades. Toutefois, comme les géniteurs du traitement 24h (aucun développement) ont présenté un taux de mortalité similaire à ceux du traitement naturel (développement normal), l'engagement dans un cycle de reproduction ne peut expliquer toutes les mortalités observées. Celles-ci ne seraient donc pas liées au stade final du cycle de reproduction.

Cette mortalité pourrait être due à une dépréciation du système immunitaire en relation avec des conditions stressantes (environnement, manipulations). Un des effets caractéristiques du stress chez les poissons est la modification de l'équilibre osmotique, avec une perte d'ions et un déséquilibre de la balance ionique, qui provoquerait une élévation de la synthèse de cortisol et d'adrénaline (Mc Donald et Milligan, 1997). En réponse à un stress, cette augmentation des teneurs en cortisol aurait un effet immunosuppresseur et entraînerait une diminution de la résistance des poissons aux maladies (Barton *et al.*, 1991, 1997). Des études ont montré que l'activité bactéricide du sérum, assurée par l'action des lysozymes ou la phagocytose par des macrophages et autres leucocytes, diminue chez la carpe (Wedemeyer, 1997) ou la truite (Moeck et Peters, 1990) quand elles sont soumises à un stress comme le jeûne, de fortes salinités ou de faibles teneurs en oxygène dissous. Nanaware *et al.* (1994) ont montré, chez la truite arc-en-ciel, que la capacité de phagocytose des macrophages était réduite chez des poissons soumis à un stress de type manipulation (« handling »), transport, confinement et même le bruit. Dans la plupart de ces cas, la capacité à phagocyter et la dégradation intracellulaire des bactéries phagocytées sont affectées (Wedemeyer, 1997). Afin de mieux comprendre ce phénomène, il serait intéressant de réaliser une étude pour caractériser le statut immunitaire des géniteurs de perche à différentes périodes de leur cycle de reproduction, en fonction de la température de l'eau et des niveaux de stress variables (manipulations, environnement,...).

La mortalité des géniteurs femelles marqués, soumis à des manipulations à répétition et surtout à des prélèvements sanguins, n'est pas significativement différente selon le traitement. Mais, les mortalités relevées chez les perches femelles des traitements naturel et pseudo-naturel sont plus élevées comparées à celle des autres traitements. Plus de 70 % des femelles ayant pondu sont mortes après la ponte. Des études ont montré l'effet de nombreux facteurs de stress comme un pH faible, l'exposition à des polluants (Kime, 1995), la manipulation des géniteurs, le confinement (Barton *et al.*, 1997 ; Vazzana *et al.*, 2001) sur la capacité des poissons à se reproduire. Par contre, les mortalités post-ponte des géniteurs femelles restent inexplicables. Elles pourraient être liées à l'état physiologique des poissons qui perdent 25 à 30 % de leur biomasse à l'oviposition.

Les mortalités mâles pendant la période de ponte, et bien que les sexe ratio soient équilibrés, semblent plus élevées dans les traitements pseudo-naturel (50 %), 24h (55 %) et 16/8 (100 %) comparés au traitement naturel ou seulement 1 mâle dans un des trois réplicats est mort (moins de 5 % en moyenne). Mais, de fortes hétérogénéités pour les traitements pseudo-naturel et 24h ne permettent pas de mettre en évidence de différences significatives.

La totalité des mâles du traitement 16/8 est mort. Il semblerait que le traitement photopériodique ait un effet sur la mortalité des mâles. Ces derniers seraient donc plus sensibles que les femelles (Craig, 2000) aux conditions environnementales artificielles.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

Les études menées avaient pour objectif principal de comprendre le déterminisme environnemental du cycle de reproduction de la perche commune. Cette recherche s'inscrit dans un contexte général d'évaluation des effets des variables environnementales (conditions d'élevage) sur la reproduction des géniteurs et la qualité de leur progéniture.

L'ensemble de ces résultats confirme que les variations de la température constituent le facteur déterminant chez la perche commune pour le contrôle de la gonadogenèse. En effet, sous des conditions photopériodiques constantes, elles peuvent induire le développement des gonades mâles et femelles et la production de larves. Dans cette optique, une phase de vernalisation de 5 mois à 6°C semble trop longue et un réchauffement rapide de l'eau sur un mois est préférable à un réchauffement sur 2 mois. Des études ultérieures devront préciser le seuil thermique en dessous duquel le développement des gonades est assuré, l'influence du vécu préalable des géniteurs (conditions d'élevage) et la quantité de froid nécessaire au bon déroulement de la vitellogenèse. L'intensité des variations thermiques semblent également importantes chez la perche commune. L'élevage dans des structures expérimentales avec de faibles volumes entraînent un développement plus précoce et plus rapide des géniteurs probablement en relation avec des variations de température de l'eau plus rapide. Toutefois, des variations uniquement thermiques entraînent une forte hétérogénéité dans la réponse des géniteurs, très peu de pontes et une mauvaise qualité des gamètes et des larves. La température est donc le facteur essentiel, mais ne suffit pas pour induire à elle seule le bon déroulement du cycle de reproduction et la production de larves de qualité.

La présente étude montre clairement que la durée du jour et ses variations sont des facteurs également très importants dans le succès de la reproduction chez la perche. L'absence de photopériode (éclairage continu) inhibe complètement l'initiation de la gamétogenèse et donc le cycle de reproduction de la perche. L'alternance jour-nuit (ou une période minimale d'obscurité) est donc primordiale. Une photopériode décroissante favorise l'entrée en gonadogenèse des poissons.

Cette étude montre en outre l'importance des variations de la durée d'éclairage. Ainsi, une photopériode maintenue constante à 12 h ou 16 h de lumière constitue une stimulation environnementale insuffisante et n'induit pas l'engagement du cycle de reproduction chez une partie des géniteurs.

Les caractéristiques de la lumière jouent également un rôle important dans le déclenchement des pontes. Ce sont les variations nycthémérales de l'éclairage qui

contrôleraient l'oviposition à un moment particulier de la journée. Sous des conditions d'éclairement artificiel (100 lux, simulation des variations photopériodiques naturelles, passage brutal du jour à la nuit et vice versa...), les géniteurs de perche mâles et femelles réalisent une gonadogenèse normale, même s'ils présentent un léger retard de développement. Cependant, des problèmes de qualité des pontes sont observés (fécondation, éclosion), probablement en relation avec un retard dans le déclenchement des pontes. Ces problèmes de qualité pourraient provenir d'un séjour trop long des ovocytes dans l'ovaire d'où un phénomène de surmaturation. Si ce retard dans le déclenchement de l'oviposition induit des problèmes de qualité des pontes, les géniteurs semblent également en être affectés comme en atteste la forte mortalité des femelles gravides observée pour ce traitement.

Même si on essaye légitimement de déterminer des rôles spécifiques de la température et de la photopériode, ces deux paramètres environnementaux agissent vraisemblablement en interaction. Cette étude ne permet pas de déterminer l'importance relative des variations thermiques et photopériodiques dans le contrôle environnemental des cycles de reproduction de cette espèce. De nombreux travaux sur un grand nombre d'espèces n'ont pas permis de différencier leurs effets spécifiques. En considérant l'interaction de ces deux facteurs, cette étude doit permettre la mise au point d'un programme photo-thermopériodique capable d'induire une production hors-saison de pontes et de larves de qualité.

A l'avenir, l'utilisation de plans d'expérience multifactoriels serait un bon moyen pour étudier l'interaction et hiérarchiser l'importance des différents facteurs biotiques et abiotiques sur le contrôle de la reproduction et la mortalité des géniteurs.

Cette étude a montré une hétérogénéité de réponse des géniteurs aux différents traitements appliqués. Il apparaît que les géniteurs de plus petite taille semblent avoir un développement plus rapide et plus important que ceux de taille plus importante. La sélection de géniteurs ne devrait donc pas se faire systématiquement sur leur taille initiale mais plutôt sur leur taux de croissance en période de reproduction. En effet, la croissance et la reproduction sont des processus physiologiques étroitement liés, qui tous deux dépendent du système hypothalamus - hypophyse.

Les mortalités importantes des géniteurs observées en période de ponte ne semblent pas liées au cycle de reproduction car ce phénomène est aussi observé chez les poissons qui ne sont pas engagés dans un cycle de reproduction (éclairage continu).

Malgré le confinement, la manipulation régulière des poissons et le vécu préalable des géniteurs en élevage intensif, leur capacité à se reproduire a été conservée.

Les perspectives de ce travail sont vastes, toutefois elles devront en priorité portées sur :

- l'influence de l'éclairement au sens large sur les étapes de la maturation finale, de

l'ovulation et de l'oviposition,

- le rôle de la mélatonine sur la transduction des signaux environnementaux contrôlant les étapes clés des cycles de reproduction,
- l'identification et la localisation des récepteurs impliqués dans la perception des stimuli environnementaux, notamment au niveau hypothalamique,
- l'influence du vécu des géniteurs sur leur capacité à se reproduire et les seuils de température et d'intensité lumineuse nécessaires au bon déroulement des cycles de reproduction,
- l'importance des facteurs sociaux, des conditions d'élevage (densité, sexe-ratio, alimentation...) et des facteurs de stress,
- le déterminisme de la mortalité des géniteurs : relation entre le système immunitaire (macrophages, lymphocytes, cytokine), le stress (chronique ou aigu) et le cycle de reproduction,
- le rôle de l'alimentation des géniteurs sur leurs cycles de reproduction (croissance ou reproduction, allocation d'énergie) et la qualité de leur progéniture.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abi-Ayad A., Mélard C., Kestemont P., 1995.** Effects of n-3 fatty acid in broodstock diet on survival of European perch (*Perca fluviatilis*) larvae after stress tests : osmotic shock and starving. In : P. Lavens, E. Jaspers, and I. Roelands (Eds), Larvi'95, Fish and Shellfish Larviculture Symposium. EAS Spec. Publ., 24, Ghent, Belgium, 12-15.
2. **Abi-Ayad A., 1997.** Etude expérimentale de la biologie de la reproduction de la perche fluviatile (*Perca fluviatilis*). Effet de la composition en acides gras de la série (n-3) de l'alimentation des géniteurs sur la qualité des oeufs et des larves. Thèse de l'Université de Liège, 147 p.
3. **Aksnes D.L., Giske J., 1993.** A theoretical model of aquatic visual feeding. *Ecol. Model.* **67**, 233-250.
4. **Ali M.A., 1959.** The ocular structure, retinomotor and photo-behavioral responses of juvenile Pacific salmon. *Can. J. Zool.* **37**, 965-996.
5. **Ali M.A., 1971.** Les réponses rétinomotrices : caractères et mécanismes. *Vision Res.* **11**, 1225-1288.
6. **Almansa E., José-Perez M., Cejas J.R., Badia P., Villamandos J.E., Lorenzo A., 1999.** Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquacult.* **170**, 323-336.
7. **Alvarino J.M.R., Zanuy S., Prat F., Carrillo M., Mananos E., 1992.** Stimulation of ovulation and steroid secretion by LHRHa injection in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) : effect of time of day. *Aquacult.* **102**, 177-186.
8. **Alvarino J.M.R., Randall C.F., Bromage N.R., 1993.** Effects of skeleton photoperiods on melatonin secretion in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacult. Fish. Manage.* **24**, 157-162.
9. **Amano M., Oka Y., Okutomo N., Kawashima S., Hasegawa Y., 1991.** Immunocytochemical demonstration of salmon GnRH and chicken GnRH-II in the brain of the masu salmon (*Oncorhynchus masou*). *J. Comp. Neurol.* **314**, 587-597.
10. **Arnol C.R., 1988.** Controlled year-round spawning of red drum, *Sciaenops ocellatus* in captivity. *Contrib. Mar. Sci.* **30**, 65-70.
11. **Axelrod J., 1974.** The pineal gland : a neurochemical transducer. *Science* **184**, 1341-1348.
12. **Backiel T., Zawisza J., 1988.** Variations of fecundity of roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in Polish lakes. *Pol. Arch. Hydrobiol.* **35**, 205-225.
13. **Baggerman B., 1980.** Photoperiodic and endogenous control of the annual reproductive cycle in teleost fishes. In: Ali M.A. (Ed). Environmental physiology of fishes. Plenum Press, New York, pp. 553-568.
14. **Barbaro A., Francescon A., Bozzato G., Merlin A., Belvedere P., Colombo L., 1997.** Induction of spawning in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., by long-acting GnRH agonist and its effects on egg quality and daily timing of spawning. *Aquacult.* **154**, 349-359.
15. **Barker G.A., Smith S.N., Bromage N., 1989.** The bacterial flora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* and brown trout, *Salmo trutta*, eggs and its relationship to development success. *J. Fish Dis.* **12**, 281-293.
16. **Barker G.A., Smith S.N., Bromage N., 1991.** Commensal bacteria and their possible relationship to the mortality of incubating salmonid eggs. *J. Fish Dis.* **14**, 199-210.

17. **Barnabé G., Paris J., 1984.** Ponte avancée et ponte normale du loup *Dicentrarchus labrax* (L.) à la station de Biologie Marine et lagunaire de Sète. In : Barnabé G. and Billard R. (Eds). L'aquaculture du bar et des sparidés. INRA, Paris, pp. 139-149.
18. **Barry T.P., Malison J.A., Lapp A.F., Procarione L.S., 1995.** Effects of selected hormones and male cohorts on final oocyte maturation, ovulation, and steroid production in walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquacult.* **138**, 331-347.
19. **Barton B.A., Iwama G.K., 1991.** Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu. Rev. Fish Diseases* **1**, 3-26.
20. **Barton B.A., 1997.** Stress in finfish :past, present and future – a historical perspectives. In : Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B. (Eds.). Fish stress and health in aquaculture. Society for experimental biology, seminar series 62, pp. 1-33.
21. **Battaglione S.C., Selosse P.M., 1996.** Hormone-induced ovulation and spawning of captive and wild broodfish of the catadromous Australian bass, *Macquaria novemaculeata* (Steindachner). (percichthyidae). *Aqua. Res.* **27**, 191-204.
22. **Bégay V., Falcon J., Thibault C., Ravault J.P., Collin J.P., 1992.** Pineal photoreceptor cells : photoperiodic control of melatonin production after cell dissociation and culture. *J. Neuroendocrinol.* **4**, 337-345.
23. **Bell M.V., Henderson R.J., Sargent J.R., 1986.** The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* **83B**, 711-719.
24. **Berlinsky D.L., Jackson L.F., Smith T.I.J., Sullivan C.V., 1995.** The annual reproductive cycle of the white bass *Morone chrysops*. *J. World Aquacult. Soc.* **26**, 252-260.
25. **Berlinsky D.L., Specker J.L., 1991.** Changes in gonadal hormones during oocyte development striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish Physiol. Biochem.* **9** (1), 51-62.
26. **Biddiscombe S., Idler D.R., 1983.** Plasma levels of thyroid hormones in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) decrease before spawning. *Gen. Comp. Endocrinol.* **52**, 467-470.
27. **Billard R., Breton B., 1977.** Sensibilité à la température des différentes étapes de la reproduction chez la truite Arc-en-ciel. *Cahiers du Laboratoire de Montereau* **5**, 5-24.
28. **Billard R., Marcel J., 1980.** Stimulation of spermiation and induction of ovulation in pike (*Esox lucius*). *Aquacult.* **21**, 181-195.
29. **Billard R., Reinaud P., Hollebecq M.G., Breton B., 1984.** Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. trutta* following administration of LHRH-a combined or not with pimozide. *Aquacult.* **43**, 57-66.
30. **Billard R., 1986.** Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Dévelop.* **26** (4), 877-920.
31. **Billard R., Le Gac F., Loir M., 1990.** Hormonal control of sperm production in teleost fish. In: A. Epple, C.G. Scanes, M.H. Stetson (Eds.), *Prog. Comp. Endocrinol.*, Willey-Liss, Inc. New York, pp. 329-335.
32. **Billard R., Cosson J., Perchec G., Linhart O., 1991.** Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquacult.* **129**, 95-112.
33. **Billard R., Fostier A., Weil C., Breton B., 1992.** The endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **39**, 65-79.
34. **Billard R., 1995.** Les carpes : biologie et élevage. INRA éditions, Paris, p. 83-123.
35. **Bjerselius R., Olsen K.H., 1993.** A study of the olfactory sensibility of crucian carp (*Carassius*

- carassius*) and goldfish (*Carassius auratus*) to $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one and prostaglandin F_{2a} . *Chem. Senses* **18**, 427-436.
36. Bjerselius R., Olsen K.H., Zheng W., 1995. Behavioural and endocrinological responses of mature male goldfish to the sex pheromone $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the water. *J. Exp. Biol.* **198**, 747-754.
 37. Bjornsson B.T., Halldorsson O., Haux C., Norberg B., Brown C.L., 1998. Photoperiod control of sexual maturation of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) : plasma thyroid hormone and calcium levels. *Aquacult.* **166**, 117-140.
 38. Blythe W.G., Helfrich L.A., Sullivan C.V., 1994. Sex steroid hormone and vitellogenine levels in striped bass (*Morone saxatilis*) maturing under 6,9 and 12 month photothermal cycles. *Gen. Comp. Endocrinol.* **94**, 122-134.
 39. Boitano S., Omoto K.C., 1991. Membrane hyperpolarisation activates trout sperm without an increase in intracellular pH. *J. Cell. Sc.* **98**, 346-349.
 40. Bon E., Breton B., Govoroun M.S., Le Menn F., 1999. Effects of accelerated photoperiod regimes on the reproductive cycle of the female rainbow trout : seasonal variations of plasma gonadotropins (GtH I and GtH II) levels correlated with ovarian follicle growth and egg size. *J. Physiol. Biochem.* **20** (2), 143-154.
 41. Bone Q., Marshall N.B., Blaxter J.H.S., 1995. Biology of Fishes. Chapman and Hall, 2nd Edition, 332 p.
 42. Borg B., Peute J., Reschke M., Van des Hurk R., 1986. Effects of photoperiod and temperature on testes, renal epithelium, and pituitary gonadotropic cells of the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Can. J. Zool.* **65**, 14-19.
 43. Borg B., 1994. Androgens in teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* **109C**, 219-245.
 44. Boujard T., 1987. Mise en évidence de deux groupes d'individus aux caractéristiques de croissance et de comportement distinct au sein d'une population de perches (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1785 ; Pisces, Perciformes) dans un étang de Bretagne (France). *Acta Oecologia* **8** (3), 179-189.
 45. Bowmaker J.K., 1990. Visual pigments of fishes. In: Douglas R.H., Djamgoz M.B.A. (Eds). The visual system of fish, Chapman and Hall, Londres, p. 81-107.
 46. Bradley J.T., Grizzle J.M., 1989. Vitellogenin induction by estradiol in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **73**, 28-39.
 47. Brann D.W., 1995. Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinol.* **61**, 213-225.
 48. Breton B., Billard R., Jalabert B., Kann G., 1972. Dosage radioimmunologique des gonadotropines plasmatiques chez le *Carassius auratus* au cours du nyctémère et pendant l'ovulation. *Gen. Comp. Endocrinol.* **18**, 463-468.
 49. Breton B., Horoszewicz L., Bieniarz K., Epler P., 1980. Temperature and reproduction in tench: Effect of a rise in the annual temperature regime on gonadotropin level, gametogenesis and spawning, II. The Female. *Repr. Nutr. Dev.* **20**, 1011-1024.
 50. Breton B., Fostier A., Zohar Y., Le Bail P.Y., Billard R., 1983a. Gonadotropine Glycoprotéique Maturante et Oestradiol - 17β pendant le cycle reproducteur chez la truite Fario (*Salmo Trutta*) femelle. *Gen. Comp. Endocrinol.* **49**, 220-231.
 51. Breton B., Maisse G., Le Menn E., 1983b. Contrôle photopériodique de la saison de

reproduction en Salmoniculture : une expérience pilote en Bretagne. *Bull. Fr. Piscic.* **288**, 35-45.

52. Breton B., Mikolajczyk T., Danger J.M., Gonnet F., Siant-Pierre S., Vaudry H., 1989. Neuropeptide Y (NPY) modulates in vitro gonadotropin release from rainbow trout pituitary glands. *Fish Physiol. Biochem.* **7**, 77-83.
53. Breton B., Weil C., Sambroni E., Zohar Y., 1990. Effects of acute versus sustained administration of GnRHa on GtH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquacult.* **91**, 371-383.
54. Breton B., Mikolajczyk T., Popek W., Biernarz K., Epler P., 1991. Neuropeptide Y stimulates in vivo gonadotropin secretion in teleost fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* **84**, 277-283.
55. Bromage N.R., Whitehead C., Breton B., 1982a. Relationship between serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 β and vitellogénine in the control of ovarian development in the rainbow trout. II. Effects of alterations in environment photoperiod. *Gen. Comp. Endocrinol.* **47**, 366-376.
56. Bromage N.R., Whitehead C., Elliot J., Breton B., Matty A., 1982b. Investigations into the importance of daylength on the photoperiodic control of reproduction in the female rainbow trout. In: Richter C., Goos H.Th. (Eds). *Reprod. Physiol. Fish.* Pudo Press, Wageningen, pp. 366-376.
57. Bromage N.R., Elliot J.A., Springate J.R.C., Whitehead C., 1984. The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. *Aquacult.* **43**, 213-223.
58. Bromage N.R., Duston J., 1986. The control of spawning in the rainbow trout using photoperiod techniques. *Rep. Inst. Fres. Res. Drott.* **63**, 26-35.
59. Bromage N.R., Duston J., Randall C., Brook A., Thrush M., Carrillo M., Zanuy S., 1990. Photoperiodic control of teleost reproduction. *Prog. Comp. Endocrinol.* **342**, 620-626.
60. Bromage N.R., Jones J., 1991. The effects of seasonal alterations in ration on fecundity and maturation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). *Proceedings of IV International Symposium on Reproductive Physiology of Fish.* Fish Symp. 91, p. 162, Sheffield.
61. Bromage N.R., Jones J., Randall C., Thrush M., Davies B., Springate J., Duston J., Barker G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout. *Aquacult.* **100**, 141-166.
62. Bromage N.R., Randall C., Thrush M., Duston J., 1993. The control of spawning in salmonids. In: Roberts R.J., Muir J. (Eds). *Recent advances in Aquaculture*, vol. 4, Blackwell, Oxford, pp. 55-65.
63. Bromage N.R., Randall C.F., Porter M.J.R., Davies B., 1995. How do photoperiod, the pineal gland, melatonin, and circannual rhythms interact to co-ordinate seasonal reproduction in salmonid fish ? In *Proc. Fifth Int. Symp. Reprod. Biol. Fish.* Austin, TX, Fish Symposium 95, pp. 164-166.
64. Bromage N.R., Roberts R.J., 1995. Broodstock management and egg and larval quality. Eds. Blackwell Science, pp. 424.
65. Bromage N., Porter M., Randall C., 2001. The environmental regulation of, maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquacult.* **197**, 63-98.
66. Brown D., Herbison A.E., Robinson J.E., Marrs R.W., Leng G., 1994. Modelling the luteinizing hormone-releasing hormone pulse generator. *Neuroscience* **63**, 869-879.

67. **Busson-Mabillot S., 1977.** Un type particulier de sécrétion exocrine: celui de l'appareil adhésif de l'œuf d'un poisson téléostéen. *Biol. Cell.* **30** (3), 233-244.
68. **Campbell P.M., Pottinger T.G., Sumpter J.P., 1992.** Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biol. Reprod.* **47**, 1140-1150.
69. **Canario A.V.M., Scott A.P., 1991.** Levels of $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, 3β , $17\alpha,20\beta$ -trihydroxy-5 β -pregnane, and other sex steroids, in blood plasma of male dab, *Limanda limanda* (Marine flatfish) injected with human chorionic gonadotrophin. *Gen. Comp. Endocrinol.* **83**, 258-264.
70. **Cardwell J.R., Stacey N.E., Tan E.S.P., McAdam D.S.O., Lang S.L.C., 1995.** Androgen increases olfactory receptor response to a vertebrate sex pheromone. *J. Comp. Physiol.* **176**, 55-61.
71. **Carlson A.R., Hale J.G., 1972.** Successful spawning of largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacépède) under laboratory conditions. *Trans. Am. Fish. Soc.* **3**, 539-542.
72. **Carlson A.R., Hale J.G., 1973.** Early maturation of brook trout in the laboratory. *Prog. Fish Cult.* **35**, 150-153.
73. **Carnevali O., Moscony G., Roncarate A., Belvedere P., Limatola E., Polzonetti-Megni A.M., 1993.** Yolk protein changes during oocyte growth in European seabass *Dicentrarchus labrax* L. *J. Appl. Ichthyol.* **9**, 175-194.
74. **Carragher J.F., Pankhurst N.W., 1993.** Plasma levels of sex steroids during sexual maturation of snapper, *Pagrus auratus* (Sparidae), caught from the wild. *Aquacult.* **109**, 375-388.
75. **Carrillo M., Bromage N., Zanuy S., Serrano R., Prat F., 1989.** The effects of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquacult.* **81**, 351-365.
76. **Carrillo M., Zanuy S., Prat F., Serrano R., Bromage N., 1993.** Environmental induction of spawning in sea bass. In : Roberts R.J., Muir J. (Eds). Recent advances in aquaculture, vol. 4, Blackwell, Oxford, pp. 43-54.
77. **Carrillo M., Zanuy S., Prat F., Cerda J., Mananos E., Bromage N., Ramos J., Kah O., 1995.** Nutritional and photoperiodic effects on hormonal cycles and quality of spawning in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Neth. J. Zool.* **45** (1-2), 204-209.
78. **Chang J.P., Kobin R.M., Wong A.O.L., 1993.** Intracellular mechanism mediating gonadotropin and growth hormone release in goldfish, *Carassius auratus*. *Fish Physiol. Biochem.* **11**, 25-33.
79. **Christen R., Gatti J.L., Billard R., 1987.** Trout sperm motility. *Eur. J. Biochem* **166**, 667-671.
80. **Ciereszko A., Dabrowski K., 1993.** Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. *Aquacult.* **109**, 367-373.
81. **Ciereszko R.E., Dabrowsky K., Ciereszko A., 1997a.** Effects of temperature and photoperiod on reproduction of female yellow perch *Perca flavescens*: plasma concentrations of steroid hormone, spontaneous and induced ovulation, and quality of eggs. *J. World Aquacult. Soc.* **28** (4), 344-356.
82. **Ciereszko R.E., Dabrowsky K., Ciereszko A., Ottobre J., 1997b.** Plasma concentrations of steroid hormones in male yellow perch *Perca flavescens* : the effect of age and photothermal manipulation. *Environ. Biol. Fish.* **51** (1), 97-105.
83. **Colette B.B., Banareseu P., 1977.** Systematics and zoogeography of the fish family Percidae. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **34** (10), 1450-1463.

84. Colette B., Ali M.A., Hokanson K.E.F., Nagiec M., Smirnov S.A., Thorpe J.E., Weatherley A.H., Willemsen J., 1977. Biology of Percids. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **34** (10), 1890-1899.
85. Collin J.P., 1969. Contribution à l'étude de l'organe pinéal. De l'épiphyse sensorielle à la glande pinéale : modalité de transformation et implication fonctionnelle. *Annls. Stn. Biol. Besse-en-Chandesse, Suppl.* **1**, 1-359.
86. Collin J.P., Okshe A., 1981. Structural and functional relationship in the nonmammalian pineal gland In: Reiter R.J. (Ed). The pineal gland. Anatomy and biochemistry, Boca Raton, FL: CRC Press Inc., p. 27-67.
87. Colombo L., Belvédère P.C., Marconato A., Bentivegna F., 1982. Pheromones in teleosts fish. In: Proc. Second. Intl. Symp. Reprod. Physiol. Fish, Richter C.J.J. and Goos H.J.Th. (Eds), Pudoc, Wageningen, p. 84-94.
88. Contor C.R., Griffith J.S., 1995. Nocturnal emergence of juvenile rainbow trout from winter concealment relative to light intensity. *Hydrobiol.* **299**, 179-183.
89. Contreras-Macbeath T., Espinoza H.R., 1996. Some aspects of the reproductive strategy of *Poeciliopsis praeclis* (Osteichthyes: Poeciliidae) in the Cuautla river, Morelos, Mexico. *J. Freshw. Ecol.* **11**, 327-338.
90. Contreras-sanchez W.M., Schreck C.B., Fitzpatrick M.S., Pereira C.B., 1998. Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* **58**, 439-447.
91. Copeland P.A., Thomas P., 1989. Control of gonadotropin release in the Atlantic croaker (*Microgonias undulates*): evidence for lack of dopaminergic inhibition. *Gen. Comp. Endocrinol.* **74**, 474-483.
92. Cornélissen G., Portela A., Halberg F., Bolliet V., Falcon J., 1995. Toward a chronome of superfused pike pineals : about weekly (circaseptan) modulation of circadian melatonin release. *In vivo* **9**, 323-330.
93. Corson B., 1955. The use of artificially controlled light to induce early spawning of brook trout. *Prog. Fish Cult.* **17**, 99-102.
94. Cosson M.P., Billard R., Letellier L., 1989. Rise of internal Ca^{2+} accompanies the initiation of trout sperm motility. *Cell Motility and the Cytoskeleton* **14**, 424-434.
95. Craig J.F., 1974. Population dynamics of perch, *Perca fluviatilis* L. in Slapton Ley. *Devon. Freshw. Biol.* **4**, 433-444.
96. Craig J.F., 1977. Seasonal changes in the day and night activity of adult perch, *Perca fluviatilis* L. *J. Fish Biol.* **8** (1), 59-68.
97. Craig J.F., 1987. The biology of perch and related fish, Croom Helm, London. 333 p.
98. Craig V.S., Berlinsky D.L., Hodson R.G., 1997. Reproduction. In : R.M. Harrell (Ed). Striped bass and other morone culture, development in aquaculture and fisheries science, vol. 30, Elsevier Sciences, p. 11-73.
99. Craig J.F., 2000. Percid fishes : Systematics, Ecology and Exploitation. Fish and Aquatic Ressources series 3, Blackwell Science Eds., pp. 352.
100. Crim L.W., Idler D.R., 1978. Plasma gonadotropins, estradiol, and vitellogenine and gonad phosvitin levels in relation to the seasonal reproductive cycles of female brown trout. *Ann. Biol. Anim. Biophys.* **18**, 1001-1005.
101. Crim L.W., Sutterlin A.M., Evans D.M., Weil C., 1983. Accelerated ovulation by pelleted LHRH analogue treatment of spring-spawning rainbow trout (*Salmo gairdneri*) held at low

- temperatures. *Aquacult.* **35**, 299-307.
102. Cyr D.G., Eales J.G., 1988. The influence of thyroidal status on ovarian function in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Exp. Zool.* **248**, 81-87.
 103. Cyr D., Eales J.G., 1996. Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* **6**, 165-200.
 104. Czesny S., Dabrowski K., 1998. The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquat. Living Resour.* **11** (6), 371-378.
 105. Dabrowski K.R., Jewson D.H., 1984. The influence of light environment on depth of visual feeding by larvae and fry of *Coregonus pollan* (Thompson) in lough Neagh. *J. Fish Biol.* **25**, 173-181.
 106. Dabrowski K., Ciereszko R.E., Ciereszko A., Czesny S., Ottobre J.S., 1994a. Reproductive function of female yellow perch can be stimulated by manipulation of temperature and photoperiod. *Biol. Reprod.* **50**, 111.
 107. Dabrowski K., Ciereszko A., Ramseyer L., Culver D., Kestemont P., 1994b. Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquacult.* **120**, 171-180.
 108. Dabrowski K., Ciereszko A., Ramseyer L., Culver D., Kestemont P., 1996. Reproductive physiology of yellow perch (*Perca flavescens*): environmental and endocrinological cues. *J. Appl. Ichthyol.* **12**, 139-148.
 109. Dalimier N., Philippart J.C., Voss J., 1982. Etude éco-éthologique de la reproduction de la perche (*Perca fluviatilis* L.): observations en plongée dans une carrière inondée. *Cah. Ethol. Appl.* **2**, 37-50.
 110. Dalimier N., Voss J. 1982. La ponte de la perche : observations en aquarium et en milieu naturel. *Rev. Fr. Aqua*, 17-19.
 111. Danger J.M., Breton B., Vallarino A., Fournier G., Pelletier G., Vaudry H., 1991. Neuropeptide Y in the trout brain and pituitary : localization, characterization and action on gonadotropin release. *Endocrinol.* **128**, 2360-2368.
 112. Davies P., Hanyu I., Furukawa K., Nomura M., 1986. Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. III Induction of spawning by manipulating photoperiod and temperature. *Aquacult.* **52**, 137-144.
 113. Davies P., Randall C.F., Bromage N.R., 1991a. Absolute daylength and the entrainment of an endogenous clock controlling reproduction in the female rainbow trout. In : Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium of reproductive physiology of Fish. Fish Symp. 91, p. 166.
 114. Davies P., Bromage N.R., 1991b. The effects of fluctuating seasonal and constant temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in females rainbow trout. In : Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium of reproductive physiology of Fish. Fish Symp. 91, p. 166.
 115. De Vlaming V.L., 1972. Environmental control of teleost reproductive cycles: a brief review. *J. Fish Biol.* **4**, 131-140.
 116. Dearth A., Barlow R.B., 1987. Circadian rhythms in the green sunfish retina. *J. Gen. Physiol.* **89**, 745-770.
 117. Delahunty G., Schreck C.B., De Vlaming V.L., 1980. Effects of photoperiod on plasma corticoid levels in the goldfish, *Carassius auratus* - role of the pineal. *Comp. Biochem. Physiol.*

65A, 355-358.

118. **Devauchelle N., 1984.** Reproduction décalée du bar (*Dicentrarchus labrax*) et de la daurade (*Sparus auratus*). In : Barnabé G., Billard R. (Eds). L'aquaculture du bar et des sparidés, INRA, Paris, p. 53-61.
119. **Devesa J., Lois N., Arce V., Ciaz V., Lima M.J., Tresgueres J.A.F., 1991.** The role of sexual steroids in the modulation of growth hormone (GH) secretion in human. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* **40**, 165-173.
120. **Dhert P., Lavens P., Sorgeloos P., 1992a.** A simple test for quality evaluation of cultured fry and marine fish. Proceedings of the Forum of Applied Biotechnology, Mededelingen, van de Faculteit Landbouwwetenschappen **57**, 2135-2143.
121. **Dhert P., Lavens P., Sorgeloos P., 1992b.** Stress evaluation: a tool for quality control of hatchery-produced shrimp and fish fry. *Mag. Europ. Aquacult. Soc.* **17**, 6-10.
122. **Dodt E., 1963.** Photosensitivity of the pineal organ in the teleost, *Salmo irideus* (Gibbons). *Experientia* **19**, 53-61.
123. **Drori S., Ofir M., Levari-Sivan B., Yaron Z., 1994.** Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide : analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependance on temperature. *Aquacult.* **119**, 393-407.
124. **Dulka J.G., Stacey N.E., Sorensen P.W., Van Der Kraak G.J., 1987.** A sex steroid pheromone synchronises male-female spawning readiness in goldfish. *Nature* **325**, 251-253.
125. **Duncan N.J., Selkirk C., Porter M., Magwood S., Bromage N., 1999.** The effect of altered photoperiods on maturation of male and female Atlantic salmon (*Salmo salar*), observations of different responses and mechanisms. In: Taranger G.L., Norberg B., Stefansson S., Hansen T., Kjesbu O., Andersson E. (Eds). Proceedings of VIth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Bergen 4-9 July 99, p.344.
126. **Duston J., Bromage N., 1986.** Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physio. Biochem.* **2** (1-4), 35-51.
127. **Duston J., Bromage N., 1987.** Constant photoperiod regimes and entrainment of the annual cycle of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **65**, 373-384.
128. **Duston J., Bromage N., 1991.** Circannual rhythms of gonadal maturation in female rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *J. Biol. Rhythms* **6**, 49-53.
129. **Eales J.G., Brown S.B., 1993.** Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* **3**, 299-347.
130. **Ekstrom P., Meissl H., 1997.** The pineal organ of teleost fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* **7**, 199-284.
131. **Engström K., Ahlbert I.B., 1963.** Cone type and cone arrangements in the retina of some flat fishes. *Acta Zool.* **44**, 119-129.
132. **Epler P., Bierniaz K., 1983.** Role of triiodothyronine and some gonadotopic and steroid hormones on the maturation of carp (*Cyprinus carpio* L.) oocyte in vitro. *Reprod. Nutr. Dev.* **23**, 1011-1017.
133. **Epler P., Bieniarz K., Marosz E., 1985.** Effect of temperature, 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone and Prostaglandin F_{2 α} on carp oocyte maturation and ovulation in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* **58**, 192-201.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54501 VILLERS-LES-NANCY Cedex

134. **Escaffre A.M., Billard R., Devantery P., 1976.** Le cycle spermatogénétique du gardon *Rutilus rutilus*. *Cah. Lab. Montereau*. **3**, 43-46.
135. **Falcon J., Voisin P., Guerlotté J., Collin J.P., 1986.** Photoreceptors in the teleosts pineal organ : daily fluctuations of indole metabolism. *Endocrinol.* **47**, 65-66.
136. **Falcon J., Guerlotté J., Voisin P., Collin J.P., 1989.** Regulation of melatonin secretion in a photoreceptive pineal organ : an in vitro study in the pike. *J. Neurosci.* **9**, 1943-1950.
137. **Fauvel C., Savoye O., Dreanno C., Cosson J., Suquet M., 1999.** Characteristics of sperm of captive seabass in relation to its fertilization potential. *J. Fish Biol.* **54**, 356-369.
138. **Favit A., Wetsel W.C., Negro-Vilar A., 1993.** Differential expression of γ -aminobutyric acid receptor in immortalized luteinising hormone-releasing hormone neurons. *Endocrinol.* **133**, 1983-1989.
139. **Fedorova G.V., Drozhzhina K.S., 1982.** Daily feeding rhythm of pike-perch, *Stizostedion lucioperca*, and perch, *Perca fluviatilis*, from lake Ladoga. *J. Ichtyol.* **22**, 213-220.
140. **Fitzpatrick M.S., Suzumoto B.K., Schreck C.B., Oberbilling D., 1984.** Luteinizing hormone-releasing hormone analogue induces precocious ovulation in adult coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquacult.* **43**, 67-73.
141. **Fitzpatrick M.S., Schreck C.B., Ratti F., Chitwood R., 1987.** Viabilities of eggs stripped from coho salmon at various times after ovulation. *Prog. Fish-Culturist.* **49**, 177-180.
142. **Flesch A., 1994.** Biologie de la perche (*Perca fluviatilis*) dans le réservoir du Mirgenbach (Cattenom, Moselle). Thèse de Docteur de l'Université, Université de Metz, 241 p.
143. **Fontaine P., Tamazouzt L., Terver D., Georges A., 1993.** Actual state of production of perch: problems and prospects, I. Mass rearing potentialities of the common perch under controlled conditions. In: Kestemont P., Billard R. (Eds.), *Aquaculture of freshwater species (except salmonid)*, European Aquaculture Society. Spec. Publ. **20**, 46-48.
144. **Fontaine P., Vlavlonou R., Tamazouzt L., Terver D., Masson G., 1994.** Elevage de perches sevrées en eau recyclée: résultats préliminaires. *Cah. Ethol. Appl.* **13**, 411-420.
145. **Fontaine P., Tamazouzt L., Capdeville B. 1996a.** Growth of the Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) reared in floating cages and in water recirculated system : first results. *J. Appl. Ichthyol.* **12**, 181-184.
146. **Fontaine P., Terver, D., Georges, A., 1996b.** Application of aquariological techniques to an intensive fish-rearing process using recycled, warmed water for the production of rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquacult. Eng.* **15** (6), 485-498.
147. **Fontaine P., Gardeur J.N., Kestemont P., Georges A., 1997.** Influence of feeding level on growth, intraspecific weight variability and sexual growth dimorphism of Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. reared in recirculation system. *Aquacult.* **157**, 1-9.
148. **Foresti F., Oliveira C., Manoel P., Junior G., 1993.** Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Genome* **36**, 1124-1128.
149. **Formacion M.J., 1991.** Overripening of ovulated eggs in goldfish, *Carassius auratus*. PhD. Thesis, National University of Syngapore, Singapore.
150. **Fornies M.A, Mananos E., Carillo M., Rocha A., Laureau S., Mylonas C.C., Zohar Y., Zanuy S., 2001.** Spawning induction of individual European sea bass females (*Dicentrarchus labrax*) using different GnRHa-delivery systems. *Aquacult.* **202**, 221-234.
151. **Fostier A., Jalabert B., Terqui M., 1973.** Action prédominante d'un dérivé hydroxylé de la

- progestérone sur la maturation *in vitro* des ovocytes de la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. *Compte-Rendu de l'Académie des Sciences, Paris* **277**, 421-424.
152. Fostier A., Weil C., Terqui M., Breton B., Jalabert B., 1978. Plasma estradiol-17 β and gonadotropin during ovulation in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* **18**, 929-936.
 153. Fostier A., Jalabert B., Billard R., Breton B., Zohar Y., 1983. The gonadal steroids. In: Randall D.J., Donaldson E.M. (Eds.), *Fish Physiology*, Academic Press, vol. 9A, pp. 227-372.
 154. Fostier A., Jalabert B., 1986. Steroidogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at various preovulatory stages: Changes in plasma hormone levels and *in vivo* and *in vitro* responses of the ovary to salmon gonadotropin. *Fish Physiol. Biochem.* **2**, 87-89.
 155. Frost W.E., Kipling C., 1967. A study of reproduction, early life, weight-length relationship and growth of pike, *Esox lucius* L. in Windermere. *J. Anim. Ecol.* **36**, 651-693.
 156. Gatti J.L., Billard R., Christen R., 1990. Ionic regulation of the plasma membrane potential of rainbow trout *Salmo gairdneri* spermatozoa : role in the initiation of sperm motility. *J. Cell. Physiol.* **143**, 546-554.
 157. Ge W., Peter R.E., 1994. Evidence for non-steroidal gonadal regulator(s) of gonadotropin release in the goldfish, *Carassius auratus*. *Zool. Science* **11**, 717-724.
 158. Gern W.A., Ralph C.L., 1979. Melatonin synthesis by the retina. *Science* **204**, 183-184.
 159. Gillet C., Breton B., Billard R., 1978. Seasonal effect of exposure to temperature and photoperiod regimes on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish (*Carassius auratus*). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18**, 1045-1049.
 160. Gillet C., 1991. Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) broodstock: effects of temperature on the timing of spawning and the quality of the eggs. *Aquatic Living Resour.* **4**, 109-116.
 161. Gillet C., Dubois J.P., Bonnet S., 1995. Influence of temperature and size of females on the timing of spawning of perch, *Perca fluviatilis* in lake Geneva from 1984 to 1993. *Env. Biol. Fish.* **42**, 355-363.
 162. Gillet C., Rideau I., Breton B., 1998. Effects of acclimatization to long days at the end of the reproductive cycle on the timing of ovulation and on gonadotropin secretion in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Bull. Fr. Pech. Piscic.* **350-351**, 241-253.
 163. Girin M., Devauchelle N., 1978. Décalage de la période de reproduction par raccourcissement des cycles photopériodique et thermique chez des poissons marins. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18** (4), 1059-1065.
 164. Goetz F.W., Bergman H.L., 1978. The effects of steroids on final maturation and ovulation of oocytes from brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and yellow perch (*Perca flavescens*). *Biol. Reprod.* **18**, 293-8.
 165. Goetz F.W., Theofan G., 1979. In vitro stimulation of germinal vesicle breakdown and ovulation of yellow perch (*Perca flavescens*) oocytes. Effects of 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone and prostaglandins. *Gen. Comp. Endocrinol.* **37**, 273-285.
 166. Goetz F.W., 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In: Hoar W.S., Randall D., E.M. Donaldson Eds. *Fish Physiology Vol IXB* Academic Press, New-York, pp. 117-170.
 167. Goetz F.W., Cetta F., 1983. Ovarian and plasma PGE and PGF levels in naturally ovulating brook trout, *Salvelinus fontinalis* and the effects of indomethacin on prostaglandins levels.

168. **Goetz F.W., Ranjan M., Berndtson A.K., Duman P., 1987.** The mechanism and hormonal regulation of ovulation : the role of prostaglandins in teleost ovulation. In: Idler D.R, Crim L.W., Walsh J.M. (Eds). Proceeding of International Symposium of reproductive Physiology of Fish. St John's, Newfoundland: Memorial University Press, pp. 16-20.
169. **Goetz F.W., Duman P., Berndtson A., Janowsky E.G., 1989.** The role of prostaglandins in the control of ovulation in yellow perch, *Perca flavescens*. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 163-168.
170. **Goetz F.W., Berndtson A.K., Ranjan M., 1991.** Ovulation: mediators at the ovarian levels. In: Pang P.K.T. and Schreibman M.P. (Eds). Vertebrate Endocrinology : Fundamentals and Biochemical Implications, Vol. 4A. New York : Academic Press, pp. 127-203.
171. **Goubier J., Souchont Y., 1986.** Contrôle de l'époque de reproduction du brochet par retard de maturation. *Bull. Fr. Piscic.* 286, 247-254.
172. **Guma'A S.A., 1978.** The effects of temperature on the development and mortality of eggs of perch, *Perca fluviatilis*. *Freshw. Biol.* 8, 221-254.
173. **Gwinner E., 1986.** Circannual rhythms. Springer-Verlag, Berlin, 154 pp.
174. **Hafeez M.A., Wagner H.H., Quay W.B., 1978.** Mediation of light-induced changes in pineal receptor and supporting cell nuclei and nucleoli in steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Photochem. Photobiol.* 28, 213-218.
175. **Harden-Jones F.R., 1956.** The behaviour of minnows in relation to light intensity. *J. Exp. Biol.* 33, 271-281.
176. **Harell R.M., Kerby J.H., Smith T.I.J., Stevens R.E., 1990.** Striped bass and striped bass hybrid culture : The next twenty-five years. In: Harell R.M., Kerby J.H., Minton R.V. (Eds). Culture and propagation of striped bass and its hybrids. American Fisheries Society, Maryland, USA, pp. 253-261.
177. **Harel M., Tandler A., Kissil G.W., 1994.** The kinetics of nutrients incorporation into body tissues of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) females and the subsequent effects on egg composition and egg quality. *Br. J. Nutr.* 72, 45-58.
178. **Harel M., Gavasso S., Leshin J., Gubernatis A., Place A.R., 2001.** The effect of tissue docohexaenoic and arachidonic acids levels on hypersaline tolerance and leukocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 24, 113-123.
179. **Harikumar S., Padmanabhan K.G., John P.A., Kortmulder K., 1994.** Dry-season spawning in a cyprinid fish of southern India. *Env. Biol. Fish.* 39, 129-136.
180. **Haux C., Norberg B., 1985.** The influence of estradiol-17 β on the liver content of protein, lipids, glycogen and nucleic acids in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 81B, 275-279.
181. **Hawryshyn C.W., 1997.** Vision. In: Evans D.H. (Ed). The physiology of fishes, second edition, CRC Press, Boca Raton, New-York, p. 345-374.
182. **Hayes D.B., Taylor W.W., 1994.** Changes in the composition of somatic and gonadal tissues of yellow perch following white sucker removal. *Trans. Am. Fish. Soc.* 123, 204-216.
183. **Hazard T.P., Eddy R.E., 1951.** Modification of the sexual cycle in brook trout (*Salvelinus alpinus*) by control of light. *Trans. Am. Fish Soc.* 80, 158-162.
184. **Heidinger R.C., Kayes T.B., 1986.** Yellow perch. In: Stickney R.R., (Ed). Culture of non salmonid freshwater fish: yellow perch.. CRC Press, Boca Raton, FL. p: 103-113.

185. Helfman G.S., 1979. Twilight activities of yellow perch, *Perca flavescens*. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **36**, 173-179.
186. Helfman G.S., Collette B.B., Facey D.E., 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science, pp. 261-270.
187. Henderson N., 1963. Influence of light and temperature on the reproductive cycle of the eastern brook trout. *J. Fish. Res. Board Can.* **20**, 859-897.
188. Henderson A., Wong J.L., Nepszky S.J., 1996. Reproduction of Walleye in Lake Erie: allocation of energy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **53**, 127-133.
189. Hergenrader G.L., 1969. Spawning behavior of *Perca flavescens* in aquaria. *Copeia* **4**, 839-841.
190. Hodson R.G., Sullivan C.V., 1993. Induced maturation and spawning of domestic and wild striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), broodstock with implanted GnRH analogue and injected hCG. *Aquacult. Fish. Manag.* **24**, 389-398.
191. Hoestlandt H., 1980. La perche en France: biologie et nanisme. *La pisciculture Française* **60**, 39-48.
192. Hokanson K.E.F., Mc Cormick J.H., Jones B.R., Tucker J.H., 1973. Thermal requirements for maturation, spawning, and embryo survival of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish. Res. Board Can.* **30**, 975-984.
193. Hokanson K.E.F., 1977. Temperature requirements of some percids and adaptations to the seasonal temperature cycle. *J. Fish. Res. Board Can.* **34**, 1524-1550.
194. Holland M.C., Mylonas C.C., Zohar Y., 1996. Sperm characteristics of precocious 1-year-old male striped bass *Morone saxatilis*. *J. World Aquacult. Soc.* **27**, 208-212.
195. Holloway A.C., Leatherland J.F., 1998. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion in teleost fishes with emphasis on the involvement of gonadal sex steroids. *Rev. Fish Biol. Fish.* **8**, 409-429.
196. Hontela A., Peter R.E., 1978. Daily cycles in serum gonadotropin in the goldfish : effects of photoperiod, temperature, and sexual condition. *Can. J. Zool.* **56**, 2430-2442.
197. Hoover E.E., 1937. Experimental modification of the sexual cycle in trout by control of light. *Science* **86**, 425-426.
198. Hoover E.E., Hubbard H., 1937. Modification of the sexual cycle in trout by control of light. *Copeia* **4**, 206-210.
199. Horvath L., 1986. Carp oogenesis and the environment. In: Billard R., Marcel J. (Eds), *Aquaculture of Cyprinids*. INRA, Paris, pp. 110-117.
200. Huet M., 1976. Reproduction, incubation et alevinage du brochet (*Esox lucius*). *EIFAC Tech. Pap.* **25**, 147-163.
201. Hunter G.A., Donaldson E.D., Dye H.M., 1981. Induced ovulation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): I. Further studies on the use of salmon pituitary preparations. *Aquacult.* **26**, 117-127.
202. Hyllner S.J., Haux C., 1995. Vitelline envelope proteins in teleost fish. In: Goetz F.W. and Thomas P. (Eds). *Reproductive Physiology of Fish*, 1995. Austin, TX. Fish Symposium 95, p. 331-335.
203. Idler D.R., 1960. Isolation of pregn-4-ene-17 α ,20 β -diol-3-one from the plasma of Pacific salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2**, 133-137.

204. Iigo M., Hara M., Ohtani-Kaneko R., Hirata K., Tabata M., Aida K., 1997. Photic and circadian regulations of melatonin rhythms in fishes. *Biol. Signals* 6, 225-232.
205. Irvine I.A.S., Sorensen P.W., 1993. Acute olfactory sensibility of wild common carp, *Cyprinus carpio*, to goldfish sex pheromones is influenced by gonadal maturity. *Can. J. Zool.* 71, 2199-2210.
206. Izquierdo M.S., Fernandez-Palacios H., Tacon A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performances of fish. *Aquacult.* 197, 25-42.
207. Jackson L.F., Sullivan C.V., 1995. Reproduction of White Perch : the annual gametogenic cycle. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 124, 563-577.
208. Jalabert B., 1976. *In vitro* oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Board Can.* 33, 974-988.
209. Jalabert B., Breton B., Brzuska E., Fostier A., Wieniawsky J., 1977. A new tool for induced spawning : The use of 17 α -hydroxy- 20 β -dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquacult.* 10, 353-364.
210. Jalabert B., Fostier A., 1984. The modulatory effect *in vitro* of oestradiol-17 β , testosterone or cortisol on the output of 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone by rainbow trout ovarian follicles stimulated by the maturational gonadotropins-GtH. *Reprod. Nut. Dev.* 24, 127-136.
211. Jalabert B., Fostier A., Breton B., Weil C., 1991. Oocyte maturation in vertebrates. In *Vertebrates endocrinology : Fundamentals and Biochemical implications*, Academic Press Eds., vol. 14, part A., pp. 23-90.
212. Jamet J.L., Desmolles F., 1994. Growth, reproduction and condition of roach (*Rutilus rutilus* L.), perch (*Perca fluviatilis* L.) and ruffe (*Gymnocephalus cernuus* L.) in eutrophic lake Aydat (France). *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.* 79, 305-322.
213. Jara F., Soto D., Palma R., 1995. Reproduction in captivity of the endangered killifish *Orestias ascotanensis* (Teleostei: Cyprinodontidae). *Copeia* 1, 226-228.
214. Jégo P., Joly J., Boisseau C., 1980. Les gangues ovulaires des Amphibiens (protéines secrétées par l'oviducte) et leurs rôles dans la fécondation. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 20, 557-567.
215. Jellyman D.J., 1980. Age, growth, and reproduction of perch, *Perca fluviatilis* L, in lake Pounui. *N. Zeal. J. Mar. Freshw. Res.* 14, 391-400.
216. Jobling M., 1995. Environmental biology of Fishes. Fish and Fisheries Series, 16, Chapman and Hall, 455 p.
217. Jobling M., Johnsen H.K., Pettersen G.W., Henderson R.J., 1995. Effects of temperature on reproductive development in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *J. Therm. Biol.* 20, 157-165.
218. Johnston C.E., 1986. Effects of photoperiod, temperature, and diet on the reconditioning response, blood chemistry, and gonad maturation of Atlantic Salmon kelts (*Salmo salar*), held in freshwater. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 44, 702-711.
219. Johnston T.A., 1997. Within-population variability in egg characteristics of walleye (*Stizostedion vitreum*) and white sucker (*Catostomus commersoni*). *Can. J. Fish. Aquat. Sc.* 54, 1006-1014.
220. Jones D.H., 1982. The spawning of perch (*Perca fluviatilis* L.) in Loch Leven, Kinross, Scotland. *Fish. Mgmt.* 13, 139-151.
221. Jorgensen E.H., Johansen S.J.S., Jobling M., 1997. Seasonal pattern of growth, lipid

- deposition and lipid depletion in anadromous Arctic charr. *J. Fish Biol.* **51**, 312-326.
222. Jourdan S., 1999. Influence des facteurs abiotiques, la photopériode et l'intensité lumineuse, sur la survie et la croissance de larves, post-larves et juvéniles de perche commune *Perca fluviatilis*. Thèse, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy-1, 146 p.
 223. Jourdan S., Fontaine P., Boujard T., Vandeloise E., Gardeur J.N., Anthouard M., Kestemont P., 2000. Influence of daylength on growth, heterogeneity, gonad development, sexual steroid and thyroid levels, and N and P budgets in *Perca fluviatilis*. *Aquacult.* **186**, 253-265.
 224. Kagawa H., Young G., Adachi S., Nagahama Y., 1982. Estradiol-17 β production in amago salmon (*Onchorhynchus rhodurus*) ovarian follicle: a role of the thecal and granulosa cells. *Gen. Comp. Endocrinol.* **47**, 440-448.
 225. Kagawa H., Young G., Nagahama Y., 1984. *In vitro* estradiol-17 β and testosterone production by ovarian follicles of goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **54**, 139-143.
 226. Kah O., Trudeau V.L., Soley B.D., Dubourg P., Chang J.P., Yu K.L., Peter R.E., 1992. Involvement of GABA in the neuroendocrine regulation of gonadotropin release in the goldfish. *Neuroendocrinol.* **55**, 396-404.
 227. Kah O., Anglade I., Lepretre E., Dubourg P., Monbrisson D., 1993. The reproductive brain in fish. *Fish Physiol. Biochem.* **11**, 85-98.
 228. Kawauchi H., Suzuki K., Itoh H., Swanson P., Naito N., Nagahama Y., Nozaki M., Nakai Y., Itoh S., 1989. The duality of teleost gonadotropins. *Fish Physiol. Biochem.* **7**, 29-38.
 229. Kayes T.B., Calber H.E., 1979. Effects of photoperiod and temperature on the spawning of yellow perch (*Perca flavescens*). *Proc. World Maric. Soc.* **10**, 306-316.
 230. Kestemont P., Dabrowski K., 1996. Recent advances in the aquaculture of Percid fish. *J. Appl. Ichthyol.* **12**, 137-200.
 231. Kestemont P., Melard C., Fiogbe E., Vlavonou R., Masson G., 1996. Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *J. Appl. Ichthyol.* **12**: 157-165.
 232. Kestemont P., Cooremans J., Abi-Ayad S.M., Mèlard C., 1999. Cathepsin L in eggs and larvae of Perch *Perca fluviatilis*: variations with developmental stage and spawning period. *Fish Physiol. Biochem.* **21**, 59-64.
 233. Kezuka H., Furukawa K., Aida K., Hanyu I., 1988. Daily cycles in plasma melatonin levels under long and short photoperiod in the common carp, *Cyprinus carpio*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **72**, 296-302.
 234. Kezuka H., Aida K., Hanyu I., 1989a. Melatonin secretion from goldfish pineal gland in organ culture. *Gen. Comp. Endocrinol.* **75**, 217-221.
 235. Kezuka H., Kobayashi M., Aida K., 1989b. Effects of photoperiod and pinealectomy on the gonadotropin surge and ovulation in Goldfish *Carassius auratus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55** (12), 2099-2103.
 236. Kim M.H., Oka Y., Amano M., Kobayashi M., Okuzawa K., Hasegawa Y., Kawahima S., Suzuki Y., Aida K., 1995. Immunocytochemical localization of sGnRH and cGnRH-II in the brain of goldfish, *Carassius auratus*. *J. Comp. Neurol.* **356**, 72-82.
 237. Kime D.E., Hews E.A., 1978. *In vitro* biosynthesis of 11 β -hydroxy- and 11-Oxotestosterone by testes of the pike (*Esox lucius*) and the perch (*Perca fluviatilis*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **36**, 604-

238. Kime D.E., Manning N.J., 1982. Seasonal patterns of free and conjugated androgens in the brown trout *Salmo trutta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **48**, 222-231.
239. Kime D.E., Dolben I.P., 1985. Hormonal changes during induced ovulation of the carp, *Cyprinus carpio*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **58**, 137-149.
240. Kime D.O., 1993. Classical and non classical reproductive steroids in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* **3**, 160-180.
241. Kime D.E., 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* **5**, 52-96.
242. Kime D.E., Ebrahimi M., 1997. Synthesis of 17, 20 alpha- and 17, 20 beta-dihydroxy-4-pregnen-3-one, 11-ketotestosterone and their conjugates by gills of teleost fish. *Fish Physiol. Biochem.* **17**, 117-121.
243. King W.V., Berlinsky D.L., Sullivan C.V., 1994. Involvement of gonadal steroids in final oocyte maturation of white perch (*Morone americana*) and white bass (*M. chrysops*) : *in vivo* and *in vitro* studies. *Fish Physiol. Biochem.* **14** (6), 489-500.
244. Kirillov A.F., Akhremenko A.K., 1982. Seasonal changes in energy substrate concentration in the tissues of the vilyui reservoir perch, *Perca fluviatilis*. *J. Ichthyol.*, 129-133.
245. Kishimoto T., 1988. Regulation of metaphase by a maturation - promoting factor. *Develop. Growth Differ.* **30**, 105-115.
246. Kissil G.W., Lupatsch I., Elizur A., Zohar Y., 2000. Long photoperiod delayed spawning and resulting increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus auratus*). *Aquacult.* **3-4**, 363-379.
247. Kjørsvik E., Mangor-Jensen, Holmefjord I., 1990. Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biol.* **26**, 71-113.
248. Kobayashi M., Aida K., Hanyu I., 1988. Hormone changes during the ovulatory cycle in goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* **69**, 301-307.
249. Kobayashi M., Aida K., Hanyu I., 1989. Involvement of steroid hormones in the preovulatory gonadotropin surge in female goldfish. *Fish Physiol. Biochem.* **7**, 141-146.
250. Kohler C.C., Sheeman R.J., Habicht C., Madison J.A., Kayes T.B., 1994. Habituation to captivity and controlled spawning of white bass. *Trans. Amer. Fish. Soc.* **123**, 964-974.
251. Kolkovski S., Dabrowski K., 1998. Off-season spawning of yellow perch. *Progress. Fish-Culturist* **60**, 133-136.
252. Kouril J., Linhart O., Relot P., 1997. Induced spawning of perch by means of a GnRH analogue. *Aquacult. Int.* **5**, 375-377.
253. Kouril J., Linhart O., 1997. Temperature effect on hormonally induced spawning in perch (*Perca fluviatilis*). *Polskie Archiwum Hydrobiologii* **44** (1-2), 197-202.
254. Kouril J., Hamackova J., 1999. Artificial propagation of european perch (*Perca fluviatilis*) by means of a GnRH analogue. *Czech J. An. Sc.* **44**, 309-316.
255. Krieger J., Fleig R., 1999. Yolk mobilization in perch, *Perca fluviatilis* L., embryos. *Fish Physiol. Biochem.* **21** (2), 157-165.
256. Kucharczyk D., Kujawa R., Mamcarz A., Skrzypczak A., 1996. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L. using carp pituitary extract and HCG. *Aquacult. Res.* **27**, 847-852.
257. Kucharczyk D., Kujawa R., Mamcarz A., Skrzypczak A., 1998. Induced spawning in perch,

- Perca fluviatilis* L. using FSH + LH with pimozide or metoclopramide. *Aquacult. Res.* **29**, 131-136.
258. **Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T., Patzner R., 1995.** Fine structure and motility of spermatozoa and composition of the seminal plasma in the perch. *J. Fish Biol.* **47**, 492-508.
 259. **Langeron M., 1942.** Précis de microscopie: technique-expérimentation-diagnostique, Masson et Cie, Paris, 1339 p.
 260. **Le Bail P.Y., 1988.** Growth-reproduction interaction in salmonids. In: Zohar Y. and Breton B. (Eds.). Reproduction in fish, Basic and Applied Aspects in endocrinology and genetics, pp. 91-108. INRA, Les colloques de l'INRA, Paris, 44.
 261. **Le Gac F., Blaise O., Fostier A., Le Bail P.Y., Loir M., Mourot B., Weil C., 1993.** Growth hormone (GH) and reproduction : a review. *Fish Physiol. Biochem.* **11**, 219-232.
 262. **Lebart L., Morineau A., Lambert T., Pleuvret P., 1996.** SPAD. Version 4. System pour l'analyse de données. Manuel de référence. Paris : Launay.
 263. **Leiner K.A., Han G.S., Mackenzie D.S., 2000.** The effects of photoperiod and feeding on the diurnal rhythm of circulating thyroid hormones in the red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **120**, 88-98.
 264. **Liley N.R., Olsen K.H., Foote C.J., Van Der Kraak G.J., 1993.** Endocrine changes associated with spawning behavior in male kokanee salmon (*Oncorhynchus mykiss*) and the effects of anosmia. *Horm. Beh.* **27**, 470-487.
 265. **Lin H.R., Kraak G.V.D., Liang J.Y., Peng C., Li G.Y., Lu L.Z., Zhou X.J., Chang M.L., Peter R.E., 1986.** The effects of LHRH analogue and drugs which block the effects of dopamine on gonadotropin secretion and ovulation in fish cultured in China. In: Billard R., Marcel J. (Eds.). Aquaculture of Cyprinids. INRA, Paris, pp. 139-150.
 266. **Littell R.C., Milliken G.A., Stroup W.W., Wolfinger R.D., 1996.** SAS. System for Mixed Models, Cary, NC, SAS Institute Inc., 633 p.
 267. **Loir M., Billard R., 1990.** Hormonal control of gamete production in male teleost fish. *Riv. Ital. Aquac.* **25**, 43-52.
 268. **Losey G.S., Cronin T.W., Goldsmith T.H., Hyde D., Marshall N.J., Mc Farland W.N., 1999.** The UV-visual world of fishes : a review. *J. Fish Biol.* **54**, 921-943.
 269. **Macquarrie D.W., Markert J., Vanstone W.E., 1978.** Photoperiod induced off-season spawning of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* **18**, 1051-1058.
 270. **Macquarrie D.W., Vanstone W.E., Markert J., 1979.** Photoperiod off-season spawning of pink salmon. *Aquacult.* **18**, 289-302.
 271. **Magwood S.J., Bromage N., Duncan N.J., Porter M., 1999.** The influence of salinity on reproductive success in female Atlantic salmon (*Salmo salar*) grilse. In: Taranger G.L., Norberg B., Stefansson S., Hansen T., Kjesbu O., Andersson E. (Eds.). Proceedings of VIth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Bergen 4-9 July 99, p.346.
 272. **Makarova N.P., 1973.** Seasonal changes in some of the physiological characteristics of the perch (*Perca fluviatilis*) of Ivan'Kovo Reservoir. *J. Ichthyol.* **13**, 742-752.
 273. **Malison J.A., Held 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. *Aquacult.* **104**, 67-78.
 274. **Malison J.A., Procarione L.S., Barry T.P., Kapuscinski A.R., Kayes T.B., 1994.** Endocrine

- and gonadal changes during the annual reproductive cycle of the freshwater teleost, *Stizostedion vitreum*. *Fish. Physiol. Biochem.* **13**, 473-484.
275. **Malison J.A., Held J.A., 1996.** Reproduction and spawning in walleye (*Stizostedion vitreum*). *J. Appl. Ichthyol.* **12**, 153-156.
 276. **Malison J.A., Procarione L.S., Kayes T.B., Hansen J.F., Held J.A., 1998.** Induction of out-of-season spawning in walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquacult.* **163**, 151-161.
 277. **Malservisi A., Magnin E., 1968.** Changements cycliques annuels se produisant dans les ovaires de *Perca fluviatilis flavescens* (Mitchill) de la région de Montréal. *Nat. Can.* **95**, 929-945.
 278. **Mananos E., Zanuy S., Carrillo M., 1997.** Photoperiodic manipulations of the reproductive cycle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and their effect on gonadal development and plasma estradiol and vitellogenin levels. *Fish Physiol. Biochem.* **16**, 211-222.
 279. **Manning N.J., Kime D.E., 1984.** Temperature regulation of ovarian steroid production in the common carp. *Gen. Comp. Endocrinol.* **56**, 376-388.
 280. **Mansueti A.J., 1964.** Early development of the yellow perch, *Perca flavescens*. *Chesapeake Sci.* **5**, 46-66.
 281. **Marza V.D., 1938.** Histophysiologie de l'ovogenèse. Hermann, Paris.
 282. **Mas F., 1952.** Contribution à l'histologie de l'ovogenèse chez un téléostéen, *Perca fluviatilis*. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **77**, 414-425.
 283. **Mathis N., Feidt C., Gardeur J.N., Brun-Bellut J., 2002.** Hiérarchisation des facteurs d'hétérogénéité de la teneur en lipides et du profil en acides gras de la chair chez une population de perches (*Perca fluviatilis*). Séminaire RP2E, 18 janvier, Nancy.
 284. **Matsuyama M., Hanaki Y., Matsuura S., 1990.** Effects of steroids on germinal vesicle breakdown in vitro of intact follicles in the Japanese whiting, *Sillago japonica*, a marine teleost. *Comp. Biochem. Physiol.* **96A**, 257-261.
 285. **Matsuyama M., Fukuda T., Ikeura S., Nagahama Y., Matsuura S., 1994.** Spawning characteristics and steroid hormone profiles in the wild female Japanese sardine, *Sardinops melanostictus*. *Fish. Sci.* **60**, 703-706.
 286. **Matsuyama M., Yoneda M., Takeuchi H., Kawaga H., Kashiwagi M., Tabata K., Nagahama Y., Ijiri S., Adachi S., Yamauchi K., 1995.** Diurnal periodicity in testicular activity in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.* **61**, 17-23.
 287. **Mc Carty C.E., Chamberlain G.W., Miget R.J., Haby M.G., 1990.** Design and operation of a photoperiod / temperature spawning system for red drum. *Red Drum Aquacul.*, pp. 44-45.
 288. **Mc Cullagh D.R., 1932.** Dual endocrine activity of the testes. *Science* **76**, 19-20.
 289. **Mc Donald G., Milligan L., 1997.** Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B., Fish stress and health in aquaculture. Society for experimental biology, seminar series 62, pp. 119-144.
 290. **Mc Evoy L.A., 1984.** Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximum* L. *J. Fish Biol.* **24**, 437-448.
 291. **Mc Nulty J.A., 1982a.** The effects of constant light and constant darkness on the pineal organ of the goldfish, *Carassius auratus*. *J. Exp. Zool.* **219**, 29-37.
 292. **Mc Nulty J.A., 1982b.** The effects of constant light and constant darkness on daily changes in the morphology of the pineal organ in the goldfish, *Carassius auratus*. *J. neural. Trans.* **53**, 277-292.

293. **Medford B.A., Mackay W.C., 1978.** Protein and lipid content of gonads, liver, and muscle of northern pike (*Esox lucius*) in relation to gonad growth. *J. Fish. Res. Board Can.* **35**, 213-219.
294. **Meissl H., Dodt E., 1981.** Comparative physiology of pineal photoreceptor organs. In: Oksche A. and Pévet P. (Eds). *The pineal Organ : Photobiology - Biochronometry - Endocrinology* Amsterdam : Elsevier, pp. 61-80.
295. **Mélard C., Kestemont P., Grignard J.C., 1996.** Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*P. fluviatilis*): effect of major biotic and abiotic factors on growth. *J. Appl. Ichthyol.* **12**: 175-180.
296. **Migaud H., Sulistyó I., Fontaine P., Kestemont P., Gardeur J.N., 2000.** Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis* : Effects of the cooling and chilling period length. World Aquaculture Society congress, AQUA 2000, Nice, p. 473.
297. **Migaud H., Fontaine P., Sulistyó I., Kestemont P., Gardeur J.N., 2001a.** Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis* : Effects of cooling and chilling periods on female gametogenesis and spawning. *Aquacult.* **205**, 253-267.
298. **Migaud H., Gardeur J.N., Fontaine P., 2001b.** Influence of the photoperiod regime on the bloodstock maturation and the eggs and larvae quality in the Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. LARVI 2001, Ghent, pp. 375-377.
299. **Migaud H., Gardeur J.N., Fordoxcel L., Fontaine P., Brun-Bellut J., 2001c.** Influence of the spawning time during the reproductive period on the larval quality of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. LARVI 2001, Ghent, pp. 371-374.
300. **Miura T., Yamauchi K., Takahashi H., Nagahama Y., 1991.** Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 5774-5778.
301. **Miura T., Yamauchi K., Takahashi H., Nagahama Y., 1992.** The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *J. Exp. Zool.* **261**, 359-363.
302. **Moeck A., Peters G., 1990.** Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport, and water pollution. *J. Fish Biol.* **37**, 873-85.
303. **Mommsen T.P., Mathilakath M., Vijayan M., Moon T.W., 1999.** Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.* **9**, 211-268.
304. **Moodie G.E.E., Loadman N.L., Wiegand M.D., 1989.** Influence of eggs characteristics on survival, growth and feeding in larval walleye (*Stizostedion vitreum*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**, 516-521.
305. **Moore A., Scott A.P., 1992.** 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnene-3-one 20-sulphate is a potent odorant in precocious male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr which have been pre-exposed to the urine of ovulated females. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* **249**, 205-209.
306. **Morineau, 1984.** Note sur la caractérisation statistique d'une classe et les valeurs-tests. Bulletin Technique. *Centre International de Statistique et d'Informatique Appliquées* **2** (1-2), 20-27.
307. **Morisawa S., Morisawa M., 1986.** Acquisition of potential for sperm motility in rainbow trout and chum salmon. *J. Exp. Biol.* **126**, 89-96.
308. **Morisawa M., Morisawa S., 1990.** Acquisition and initiation of sperm motility. In: C. Gagnon (Ed.), *Controls of sperm Motility : Biological and clinical Aspects*, CRC Press, Boca Raton, FL., pp. 137-151.
309. **Morisawa S, Ishida K., Morisawa M., 1991.** The role of extracellular pH on the acquisition of sperm motility in chum salmon. In: Baccetti B. (Ed.), *Comparative Spermatology 20 Years After*,

Raven Press, New York, pp. 503-505.

310. **Morrisson J., Smith C., 1986.** Altering the spawning cycle of the rainbow trout by manipulating water temperature. *Prog. Fish. Cult.* **48**, 52-54.
311. **Mugnier C., Gaignon J.L., Fostier A., 1997.** *In vitro* synthesis of 17, 20 β , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one by ovaries of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) during oocyte maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.* **107**, 63-73.
312. **Muira T., Yamauchi K., Takahashi H., Nagahama Y., 1992.** The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *J. Exp. Zool.* **261**, 359-363.
313. **Mutambue S., 1996.** Biologie et écologie de *Barbus holotaenia*, Boulenger, 1904, du bassin de la rivière Luki (Zaïre). *Bull. Fr. Pêche Piscic.* **340**, 25-41.
314. **Mylonas C.C., Hinshaw J., Sullivan C.V., 1991.** Induced ovulation of brown trout (*salmo trutta*) using GnRHa and T₃, and hormone treatment effects on progeny development. In: Scott, A.P., sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings IV symposium on reproductive Physiology of fish. Fish Symp. 91, Sheffield, p. 285.
315. **Mylonas C.C., Tabata Y., Langer R., Zohar Y., 1995.** Preparation and evaluation of polyanhydride microspheres containing gonadotropin-releasing hormone (GnRH), for inducing ovulation and spermiation in fish. *J. Controlled Release* **35**, 23-34.
316. **Mylonas C.C., Magnust Y., Gissis A., Klebanov Y., Zohar Y., 1996.** Application of controlled-release, GnRHa-delivery systems in commercial production of white bass x striped bass hybrids (sunshine bass), using captive broodstocks. *Aquacult.* **140**, 265-280.
317. **Mylonas C.C., Gissis A., Magnust Y., Zohar Y., 1997a.** Hormonal changes in male white bass (*Morone saxatilis*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRH delivery system. *Aquacult.* **153**, 301-311.
318. **Mylonas C.C., Magnust Y., Klebanov Y., Gissis A., Zohar Y., 1997b.** Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *J. Fish Biol.* **51**, 234-250.
319. **Mylonas C.C., Woods III L.C., Thomas P., Zohar Y., 1998a.** Endocrine profiles of female Stripped bass (*Morone saxatilis*) in captivity, during postvitellogenesis and induction of final oocyte maturation via controlled-release GnRHa-delivery systems. *Gen. Comp. Endocrinol.* **110**, 276-289.
320. **Mylonas C.C., Zohar Y., Woods III L.C., Thomas P., Schulz R.W., 1998b.** Hormone profiles of captive striped bass *Morone saxatilis* during spermiation, and long-term enhancement of milt production. *J. World Aquacult. Soc.* **29** (4), 379-392.
321. **Nagahama Y., 1983.** The functional morphology of teleost gonads. In: Hoar W. S., Randall D. J., Donaldson E. M. (Eds.). Fish Physiology, Vol. IX-A. Academic Press, Inc., London. pp 223-275.
322. **Nagahama Y., 1987.** 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one : a teleost maturation-inducing hormone. *Devel. Growth Differ.* **29**, 1-12.
323. **Nagahama Y., 1990.** Endocrine control of oocyte maturation in teleosts. *Prog. Comp. Endocrinol.* 385-392.
324. **Nagahama Y., Yoshikuni M., Yamashita M., Sakai N., Tanaka M., 1993.** Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. *Fish Physiol. Biochem.* **11**, 3-14.
325. **Nagahama Y., 1994.** Endocrine control of gametogenesis. *Int. J. Develop. Biol.* **38**, 217-229.

326. Nagahama Y., Yoshikuni M., Yamashita M., Tanaka M., 1995. Regulation of oocyte maturation in fish. In: Sherwood N.M. and Hew C.L. (Eds). Fish Physiology, vol. XIII. New York, Academic Press, pp. 393-439.
327. Nakari T., Soivio A., Pesonen S., 1988. The ovarian development and spawning time of *Salmo gairdneri* R. reared in advanced or delayed annual photoperiod cycles at naturally fluctuating water temperature in Finland. *Ann. Zool. Fenn.* **25**, 335-340.
328. Nanaware Y.K., Baker B.I., Tomlinson M.G., 1994. The effects of various stresses, corticosteroids, and antigenic agents on phagocytosis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol. Biochem.* **13**, 31-40.
329. Navas J.M., Bruce M., Thrush M., Farndale B.M., Bromage N., Zanuy S., Carrillo M., Bell J.G., Ramos J., 1997. The impact of seasonal alternation in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. *J. Fish Biol.* **51**, 760-773.
330. Ng T.B., Idler D.R., 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. In: Hoar W.S., Randall D.J., Donaldson E.M. (Eds.), Fish Physiology, Vol. IX-A. Academic Press, Inc., London. pp 373-404.
331. O'Donovan-Lockard P., Sagil G., Villcock W., Hilge V., Abraham M., 1990. Stimulation and inhibition of gonadal development in fish. In: Rosenthal H., Sarig S. (Eds.), Research in Modern Aquaculture. Proceeding of the 3rd Status Seminar, April 27 - May 1, 1987, *EAS. Spec. Publ.* **11**, 199-214
332. Okuzawa K., Amano M., Kobayashi M., Aida K., Hasegawa Y., Miyamoto K., 1990. Differences in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in discrete brain areas of male and female rainbow trout according to age and stage of maturity. *Gen. Comp. Endocrinol.* **80**, 116-126.
333. Olsen K.H., Liley N.R., 1993. The significance of olfaction and social cues in milt availability, sexual hormone status, and spawning behavior of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **89**, 107-118.
334. Osborn R.H., Simpson T.H., Youngson A.F., 1978. Seasonal and diurnal rhythms of thyroidal status in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish. Biol.* **12**, 531-540.
335. Ozon R., 1972. Androgens in fishes, amphibians, reptiles and birds. In: Idler D.R. (Ed.), Steroids in non mammalian vertebrates, Academic Press, New York, pp. 329-389.
336. Paiva M.P., Nepomuceno F.H., 1989. On the reproduction in captivity of the oscar, *Astronotus ocellatus* (CUVIER), according to the mating methods (Pisces - Cichlidae). *Amazoniana.* **10**, 361-377.
337. Pankhurst N.W., Van Der Kraak G., Peter R.E., 1986. Effects of human chorionic gonadotropin, DES-GLY¹⁰(D-ALA⁶) LHRH-ethylamide and pimozide on oocyte final maturation, ovulation and levels of plasma sex steroids in the walleye (*Stizostedion vitreum*). *Fish Physiol. Biochem.* **1**, 45-54.
338. Pankurst N.W., Dedual M., 1994. Effects of capture and recovery on plasma levels of cortisol, lactate and gonadal steroids in a natural population of rainbow trout. *J. Fish Biol.* **45**, 1013-1025.
339. Pankhurst N.W., Purser G.J., Van Der Kraak G., Thomas P.M., Fortheath G.N.R., 1996. Effects of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and *in vitro* ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. *Aquacult.* **146**, 277-290.
340. Pankhurst N.W., Van Der Kraak G., 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B. (Eds.), Fish stress and health in

aquaculture. Society for experimental biology, seminar series 62, pp. 73-93.

341. **Pankhurst N.W., Thomas P.M., 1998.** Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquacult.* **166**, 163-177.
342. **Papageorgiou N.K., 1977.** Fecundity and reproduction of perch (*Perca fluviatilis* L.) in lake Agios Vasilios, Greece. *Freshwater Biol.* **7**, 559-565.
343. **Patino R., Thomas P., 1988.** Induction of maturation of Atlantic Croaker oocytes by $17\alpha, 20\beta, 21$ trihydroxy 4 pregnen 3 one in vitro consideration of some biological and experimental variables. *J. Exp. Zool.*, 97-109.
344. **Pavlidis M., Dessypris A., Christofidis I., 1991.** Seasonal fluctuations in plasma thyroid hormones, in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), during the first and second reproductive cycle : relation with their photoperiodically altered spawning time. *Aquacult.* **99**, 365-385.
345. **Pavlidis M., Greenwood L., Mourot B., Kokkari C., Le Menn F., Divanach P., Scott A.P., 2001.** Seasonal variations and maturity stages in relation to differences in serum levels of gonadal steroids, vitellogenine, and thyroid hormones in the common dentex (*Dentex dentex*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **118**, 14-25.
346. **Perchec G., 1996.** Rôle de l'osmolalité dans la régulation de la mobilité des spermatozoïdes de carpe (*Cyprinus carpio*) et de turbot (*Scophthalmus maximus*): étude énergétique, cinétique, morphologique et échanges transmembranaires impliqués dans l'activation des spermatozoïdes. *Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Rennes 1.* 279 p.
347. **Peter R.E., Trudeau V.L., Sloley B.D. 1991.** Brain regulation of reproduction in teleosts. *Bull. Inst. zool., Academia Sinica, Monograph* **16**, 89-118.
348. **Peter R.E., Yu K.L., 1997.** Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes : basic and applied aspects. *Rev. Fish Biol. Fish.* **7**, 173-197.
349. **Petrino T.R., Greeley M.S., Selman K., Lin Y.W.P., Wallace R.A., 1989.** Steroidogenesis in *Fundulus heteroclitus*. II. Production of 17α -hydroxy- 20β -dihydroxyprogesterone, testosterone, and 17β -estradiol by various components of the ovarian follicle. *Gen. Comp. Endocrinol.* **76**, 230-240.
350. **Pickering A.D., Pottinger T.G., Carragher J., Sumpter J.P., 1987.** Effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout *Salmo trutta* L. *Gen. Comp. Endocrinol.* **68**, 249-259.
351. **Piironen J., Hyvärinen H., 1983.** Composition of the milt of some teleost fishes. *J. Fish. Biol.* **22**, 351-361.
352. **Pinter J., Thomas P., 1995.** Characterization of a progesterone receptor in the ovary of the spotted seatrout *Cynoscion nebulosus*. *Biol. Repr.* **52**, 667-675.
353. **Pinter J., Thomas P., 1999.** Induction of ovulation of mature oocytes by the maturation-inducing steroid $17, 20\beta, 21$ -trihydroxy-4-pregnen-3-one in the Spotted seatrout. *Gen. Comp. Endocrinol.* **115**, 200-209.
354. **Poncin P., 1984.** Observations sur le contrôle environnemental de la reproduction du bardeau fluviatile *Barbus barbus* (L.) en captivité. Effets de la température et de la photopériode. *Cah. Ethol. Appliquée* **4** (4), 357-358.
355. **Poncin P., Mélard C., Philippart J.C., 1987.** Utilisation de la température et de la photopériode pour contrôler la maturation sexuelle en captivité de trois espèces de poissons cyprinidés

- européens : *barbus barbus* (L.), *Leuciscus cephalus* (L.) et *Tinca tinca* (L.) - Résultats préliminaires. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* **304**, 1-12.
356. **Poncin P., 1989.** Effects of different photoperiods on the reproduction of the barbel, *Barbus barbus* (L.) reared at constant temperature. *J. Fish Biol.* **35**, 395-400.
 357. **Poncin P., 1991.** Environmental and endocrine control of barbel (*Barbus barbus*) reproduction. In: Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings IV symposium on reproductive Physiology of fish. Fish Symp. 91, pp. 148-150, Sheffield.
 358. **Popek W., Bierniarz K., Epler P., 1992.** Participation of the pineal gland in sexual maturation of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *J. Pineal Res.* **13**, 97-100.
 359. **Popek W., Breton B., Piotrowski W., Bierniarz K., Epler P., 1994.** The role of the pineal gland in the control of a circadian pituitary gonadotropin release rhythmicity in mature female carp. *Neuroendocrinol. Letters* **16**, 183-193.
 360. **Porter M.J.R., Duncan N., Roed A.J., Oppedal F., Taranger G.L., Bromage N.R., 1999.** Differential effects of light intensity on growth, maturation and plasma melatonin in Atlantic salmon and its importance in aquaculture. In: Taranger G.L., Norberg B., Stefansson S., Hansen T., Kjesbu O., Andersson E. (Eds). Proceedings of VIth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Bergen 4-9 July 99, pp.321-324.
 361. **Porter M.J.R., Duncan N., Handeland S.O., Stefansson S.O., Bromage N.R., 2001.** Temperature, light intensity and plasma melatonin levels in juvenile Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* **58**, 431-438.
 362. **Prat F., Zanuy S., Carillo M., De Mones A., Fostier A., 1990.** Seasonal changes in plasma levels of gonadal steroids of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Gen. Comp. Endocrinol.* **78**, 361-373.
 363. **Prat F., Sumpter J.P., Tyler C.A., 1996.** Validation of radioimmunoassays for two salmon gonadotropins (GTH I and GTH II) and their plasma concentrations throughout the reproductive cycle in male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* **54**, 1375-1382.
 364. **Prat F., Zanuy S., Bromage N., Carrillo M., 1999.** Effects of constant long photoperiod regimes on the spawning performance and sex steroid levels of female and male sea bass. *J. Fish Biol.* **54**, 125-137.
 365. **Rahman M.S., Takemura A., Takano K., 2000.** Correlation between plasma steroid hormones and vitellogenin profiles and lunar periodicity in the female golden rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Comp. Bioch. Physiol.* **127 B**, 113-122.
 366. **Rahman M.A., Ohta K., Chuda H., Nakano S., Maruyama K., Matsuyama M., 2001.** Gonadotropin-induced steroidogenic shift towards maturation-inducing hormone in Japanese yellowtail during final oocyte maturation. *J. Fish Biol.* **58**, 462-474.
 367. **Rahman M.S., Takemura A., Takano K., 2002.** Lunar synchronization of *in vitro* steroidogenesis in ovaries of the Golden Rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.* **125**, 1-8.
 368. **Rana K., 1995.** Preservation of gametes. In: Bromage N.R. and Roberts R.J. (Eds.), Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell Science, London, UK.
 369. **Randall C.F., Thrush M., Bromage N.R., 1991.** Absence of an endogenous component regulating melatonin secretion in the rainbow trout. In: Arendt J. and Pévet P. (Eds). Advances in Pineal Research, Vol. 5. London, J. Libbey, pp. 279-281.
 370. **Randall C.F., Bromage N.R., Thorpe J.E., Miles M.S., Muir J.S., 1995a.** Melatonin rhythms

- in Atlantis salmon (*Salmo salar*) maintained under natural and out-of-phase photoperiods. *Gen. Comp. Endocrinol.* **98**, 73-86.
371. **Randall C.F., Porter M.J.R., Bromage N.R., Davies B., 1995b.** Preliminary observations on the effects of melatonin implants and pinealectomy on the timing of reproduction in rainbow trout. In Goetz F.W. and Thomas P. (Eds). Proc. Fifth International Symposium Reprod. Biol. Fish. Austin, TX, Fish Symposium 95, p. 196.
 372. **Randall C.F., Bromage N.R., 1998.** Photoperiodic history determines the reproductive response of rainbow trout to changes in daylength. *J. Comp. Physiol.* **183**, 651-661.
 373. **Randall C.F., Bromage N.R., Porter M.J.R., Gardener J., Auchinachie N.A., 1999.** Circannual rhythms of reproduction in rainbow trout. In: Taranger G.L., Norberg B., Stefansson S., Hansen T., Kjesbu O., Andersson E. (Eds). Proceedings of VIth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Bergen 4-9 July 99, p.325-327.
 374. **Razani H., Hanyu I., 1986a.** Annual reproductive cycle of 2-3 years old female Goldfish and its artificial modification by manipulation of water temperature and photoperiod. *Bull. Jap. soc. Scientific Fish.* **52** (6), 965-969.
 375. **Razani H., Hanyu I., 1986b.** Effects of continued short photoperiod at warm temperature and following changes of regimes on gonadal maturation of Goldfish. *Bull. Jap. soc. Scientific Fish.* **52** (12), 2061-2068.
 376. **Razani H., Hanyu I., Aida K., 1987.** Critical daylength and temperature level for photoperiodism in gonadal maturation of goldfish. *Exp. Biol.* **47**, 89-94.
 377. **Reiter R.J., 1991.** The pineal gland : reproductive interactions. In: Schreibman M. and Pang P.T.K. (Eds.). Vertebrate Endocrinology : Fundamentals and Biochemical Implications, Vol. 4B. New York, Academic Press, pp. 269-310.
 378. **Rees R.A., Harrell R.M., 1990.** Artificial spawning and fry production of striped bass and hybrids. In: Harrell R.M., Kerby J.H., Minton R.V. (Eds.), Culture and Propagation of Striped bass and its hybrids. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp. 43-72.
 379. **Rinchard J., Kestemont P., Kuhne R., Fostier A., 1993.** Seasonal changes in plasma levels of steroid hormones in an asynchronous fish the gudgeon *Gobio gobio* L. (Teleostei, Cyprinidae). *Gen. Comp. Endocrinol.* **92**, 168-178.
 380. **Rinchard J., 1996.** Etude comparative de la reproduction chez les poissons à pontes unique et multiple. Thèse, Faculté universitaires Notre-dame de la Paix, Namur. Eds. Presses universitaires de Namur, p. 389.
 381. **Rinchard J., Kestemont P., Kühn E.R., Fostier A., 1996.** Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fish. I. Morphological and histological features. *J. Fish Biol.* **49**, 883-894.
 382. **Rinchard J., Kestemont P., Heine R., 1997.** Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fish. II. Sex steroid and plasma protein phosphorus concentration. *J. Fish Biol.* **50**, 169-180.
 383. **Rocha M.J., Reis-Henriques, 1999.** Plasma levels of C18, C19 and C21 steroids in captive and feral female sea bass. *J. Fish Biol.* **55**, 26-34.
 384. **Rodier J., 1984.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 7^{ème} édition Dunod, pp. 1365.
 385. **Roelants I., Mikolajczyk T., Epler P., Ollevier F., Chyb J., Breton B., 2000.** Induction of spermiation in common carp enhanced intestinal uptake of sGnRH-A and pimozone. *J. Fish Biol.*

56, 1398-1407.

386. Saligaut C., Linard B., Breton B., Anglade I., Bailhache T., Kah O., Jégo P., 1999. Brain aminergic systems in salmonids and other teleosts in relation to steroid feedback and gonadotropin release. *Aquacult.* **177**, 13-20.
387. Sanders R.L., Henderson E.B., 1988. Effect of constant day length on sexual maturation and growth of atlantic salmon (*Salmo salar*) Parr. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **45**, 60-64.
388. Sandnes K., Ulgenes Y., Braekkan O.R., Utne F., 1984. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquacult.* **43**, 167-177.
389. Sandström O., Neuman E., Thoresson G., 1995. Effects of temperature on life history variables in perch. *J. Fish Biol.* **47**, 652-670.
390. Sandstrom O., Abrahamsson I., Andersson J., Vetemaa M., 1997. Temperature effects on spawning and egg development in Eurasian perch. *J. Fish Biology* **51**, 1015-1024.
391. Sargent J.R., 1995. Origins and functions of egg lipids :nutritional implications. In: Bromage, N.R., Roberts R.J. (Eds.), Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell Science, Cambridge, pp. 353-372.
392. Schmidt-Baulain R., Holtz W., 1991. Effect of age and stage of spawning season on output, fertilizing capacity and freezability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sperm. In: Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Fish Symp. 91, Sheffield, pp. 287.
393. Schreck C.B., Contreras-Sanchez W., Fitzpatrick M.S., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquacult.* **197**, 3-24.
394. Schultz R.W., Van Der Corput L., Janssen-Dommerholt J., Goos H.J.Th., 1994. Sexual steroids during puberty in male African catfish (*Clarias gariepinus*): serum levels and gonadotropin-stimulated testicular secretion *in vitro*. *J. Comp. Physiol.* **164B**, 195-205.
395. Schultz R.W., Bogerd J., Bosma P.T., Peute J., Fem R., Zandbergen M.A., Goos H.J.T.O., 1995. Physiological, morphological, and molecular aspects of gonadotropins in fish with special reference to the African catfish, *Clarias gariepinus*. In: Goetz F.W. and Thomas P. (Eds), Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Austin, TX, 2-8 July, pp 2-6.
396. Scott D.B.C., 1979. Environmental timing and the control of reproduction in teleost fish. Symp. Zool. Soc. Lond, **44**, 105-132.
397. Scott A.P., Bye V.J., Baynes S. M., Springate J.R.C., 1980. Seasonal variations in plasma concentration of 11-ketotestosterone and testosterone in male rainbow trout *Salmo gairdnerii* Richardson. *J. Fish Biol.* **17**, 495-505.
398. Scott A.P., Sumpter J.P., Hardiman P.A., 1983. Hormones changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Gen. Comp. Endocrinol.* **49**, 128-134.
399. Scott A.P., Baynes S.M., Skarphedinsson O., Bye V.J., 1984. Control of spawning time in rainbow trout *Salmo gairdneri*, using constant long daylengths. *Aquacult.* **43**, 225-233.
400. Scott A.P., Canario A.V., 1987. Status of oocyte maturation inducing steroids in Teleosts. In: Idler D.R, Crim L.W., Walsh J.M. (Eds), Proceedings of the Third International Symposium on Reproductive Physiology in Fish, Memorial University of Newfoundland Press, St. John's, pp. 224-234.
401. Scott A.P., Sumpter J.P., 1989. Seasonal variations in testicular germ cell stages and in plasma

- concentrations of sex steroids in male rainbow trout *Salmo gairdneri* maturing at 2 years old. *Gen. Comp. Endocrinol.* **73**, 46-58.
402. **Scott A.P., Canario A.V.M., Prat F., 1990.** Radioimmunoassay of ovarian steroids in plasma of ovulating females sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **85**, 91-100.
 403. **Scott A.P., Canario A.V., 1992.** 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one 20-sulfate : a major new metabolite of the teleost oocyte maturation-inducing steroid. *Gen. Comp. Endocrinol.* **85**, 91-100.
 404. **Selman K., Wallace R.A., 1983.** Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. III. Vitellogenesis. *J. Exp. Zool.* **226**, 441-457.
 405. **Selman K., Wallace R.A., 1989.** Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zool. Sci.* **6**, 211-231.
 406. **Sheikh-Eldin M., De Silva S. S., Anderson T.A., Gooley G., 1995.** Physical characteristics, and proximate composition of oocytes, liver and muscle of wild caught and tank-reared Macquarie perch. *Aquacult. Int.* **3**, 172-185.
 407. **Sherwood N.M., Eiden L., Brownstein M., Spies J., Reveir J., Vale W., 1983.** Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **80**, 2794-2798.
 408. **Sherwood N.M., Sower S.A., Marshak D.R., Fraser B.A., Brownstein M.J., 1986.** Primary structure of gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. *J. Biol. Chem.* **261**, 4812-4819.
 409. **Sire M.F., Babin P.J., Vernier J.M., 1994.** Involvement of the lysosomal system in yolk protein deposit and degradation during vitellogenesis and embryonic development in trout. *J. Exp. Zool.* **269**, 69-83.
 410. **Slater C., Shreck C.B., Swanson P., 1994.** Plasma profile of the sex steroids and gonadotropins in maturing female spring Chinook salmon (*Oncorhynchus nerka*) in both fresh and salt water. *Aquacult.* **130**, 279-285.
 411. **Sokolowska M., Peter R.E., Nahorniak C.S., Pan C.H., Chang J.P., Crim L.W., Weil C., 1984 a.** Induction of ovulation in Goldfish, *Carassius auratus*, by pimozone and analogues of LH-RH. *Aquacult.* **36**, 71-83.
 412. **Sokolowska M., Peter R.E., Nahorniak C.S., 1984b.** The effects of different doses of pimozone and [D-Ala⁶, Pro⁹-N ethylamide]-LHRH (LHRH-a) on gonadotropine release and ovulation in female goldfish. *Can. J. Zool.* **63**, 1252-1256.
 413. **Sorensen P.W., Hara T.J., Stacey N.E., Goetz F.W., 1988.** F prostaglandins function as potent olfactory stimulants comprising the post-ovulatory females sex pheromone in goldfish. *Biol. Reprod.* **39**, 1039-1050.
 414. **Sorensen P.W., Stacey N.E., Chamberlain K.J., 1989.** Differing behavior and endocrinological effects of two female sex pheromones on male goldfish. *Horm. Behav.* **23**, 317-332.
 415. **Sorensen P.W., Brash A.R., Goetz F.W., Kellner R.G., Bowdin L., Vrieze L.A., 1995.** Origins and functions of F prostaglandins as hormones and pheromones in the goldfish. In: Goetz F.W. and Thomas P. (Eds.), *Reproductive Physiology of Fish*, 1995. Austin, TX, Fish Symposium 95, p. 252.
 416. **Sorensen P.W., Caprio J., 1998.** Chemoreception. In: Evans D.H. (Ed). *The physiology of fishes*, CRC Press, Boca Raton, New-York, p. 375-405.
 417. **Souchont Y., 1983.** Natural reproduction in pike (*Esox lucius* L., 1758); a bibliographic review. In: Billard R. (Ed). *Actes de colloque, Le brochet, gestion dans le milieu naturel*, INRA, Paris, p;

16-20.

418. Spieler R.E., 1979. Diel rhythms of circulating prolactine, cortisol, thyroxine, and triiodothyronine levels in fishes: A review. *Rev. Can. Biol.* **38**, 301-315.
419. Spieler R.E., Noeske T.A., 1979. Diel variations in circulating levels of triiodothyronine and thyroxine in goldfish, *Carassius auratus*. *Can. J. Zool.* **57**, 665-669.
420. Springate J.R.C., Bromage N.R., Elliot J.A.K., Hudson D.L., 1984. The timing of ovulation and stripping and the effects on the rates of fertilisation and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.). *Aquacult.* **43**, 313-322.
421. Springate J.R.C., Bromage N.R., 1985. Effects of egg size on early growth and survival in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquacult.* **47**, 163-172.
422. Stacey N.E., Pandey S., 1975. Effects of indomethacin and prostaglandins on ovulation in goldfish. *Prostaglandins* **9**, 597-607.
423. Stacey N.E., Sorensen P.W., 1991. Function and evolution of fish hormonal pheromones. In: Hochachka P.W., Mommsen T.P. (Eds.), *The biochemistry and molecular biology of Fishes*, Vol. 1, Elsevier, Amsterdam, p. 109-135.
424. Stacey N.E., Cardwell J.R., 1995. Hormones as sex pheromones in fish: widespread distribution among freshwater species. In: Goetz, F.W. and Thomas, P. (Eds.), *Reproductive Physiology of Fish*, 1995. Austin, TX : Fish Symposium 95, p. 244.
425. Sulistyo, I., Fontaine, P., Kestemont, P., Gardeur, J.N., Capdeville, B., Georges, A., 1997. Effect of photothermal manipulations on reproductive response in perch *P. fluviatilis* L. In: Creswell L., Harache Y. (Eds), 2nd International Workshop on aquaculture of percid fish. Martinique, May 4, European Aquaculture Society, 349-350.
426. Sulistyo I., 1998. Contribution à l'étude et à la maîtrise du cycle de reproduction de la perche Eurasiennne *Perca fluviatilis* L. Thèse, Université Henri Poincaré, Nancy-1, 145 p.
427. Sulistyo I., Rinchar J., Fontaine P., Gardeur J.N., Capdeville B., Kestemont P., 1998. Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Ressour.* **11** (2), 101-110.
428. Sulistyo I., Fontaine P., Rinchar J., Gardeur J.N., Migaud H., Capdeville B., Kestemont P., 2000. Reproductive cycle and plasma levels steroids in male Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resour.* **13** (2), 99-106.
429. Sullivan C.V., Bernard M.G., Hara A., Dickhoff W.W., 1989. Thyroid hormone in trout reproduction: enhancement of GnRH α and partially purified salmon GtH-induced ovarian maturation *in vivo* and *in vitro*. *J. Exp. Zool.* **250**, 188-195.
430. Sumpter J.P., 1990. General concepts of seasonal reproduction. In: Munro A.D., Scott A.P. and Lany T.J. (Eds). *Reproductive Seasonality in Teleosts : Environmental influences*. Boca Raton, FL : CRO. Press, pp. 13-21.
431. Sumpter, 1997. The endocrinology of stress. In: Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B. (Eds.), *Fish stress and health in aquaculture*. Society for experimental biology, seminar series 62, pp. 95-118.
432. Sundararaj B.J., Keshavanah P., 1976. Effects of melatonin and prolactin treatment on the hypophysial-ovarian system in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.* **29**, 84-96.
433. Sundararaj B.J., Vasal S., 1976. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish. *J. Fish. Res. Board Can.* **33**, 959-973.

434. Sundararaj B.J., Vasal S., Halberg, F., 1982. Circannual rhythmic ovarian recrudescence in the catfish. *Adv. Biosci.* **41**, 319-337.
435. Suquet M., Omnes M.H., Normant Y., Fauvel C., 1992. Assessment of sperm concentration and motility in turbot *Scophthalmus maximus*. *Aquacult.* **101**, 177-185.
436. Suquet M., Dreanno C., Dorange G., Normant Y., Quemener L., Gaignon J.L., Billard R., 1998. The ageing phenomenon of turbot spermatozoa: effects on morphology, motility and concentration, intracellular ATP content, fertilization, and storage capacities. *J. Fish Biol.* **52**, 31-41.
437. Suzuki K., Kawauchi H., Nagahama Y., 1988. Isolation and characterization of subunits from from two distinct salmon gonadotropins. *Gen. Comp. Endocrinol.* **71**, 302-316.
438. Sveinsson T., Hara T.J., 1995. Mature males of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, release F-type prostaglandins to attract conspecific mature females and stimulate their spawning behaviour. *Env. Biol. Fish.* **42**, 253-266.
439. Swanson P., 1991. Salmon gonadotropins: reconciling old and new idea. In: Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Fish Symp. 91, Sheffield, pp. 2-7.
440. Takahashi J.S., 1996. Ion channels get the message. *Nature* **382**, 117-118.
441. Takashima F., Yamada Y., 1984. Control of maturation in masu salmon by manipulation of photoperiod. *Aquacult.* **43**, 243-257.
442. Takeuchi T., 1997. Essential fatty acid requirements of aquatic animals with emphasis on larvae and fingerlings. *Rev. Fish. Sci.* **5**, 1-25.
443. Tamaru C.S., Lee C.S., Kelley C.D., Miyamoto G., Moriwake A., 1994. Oocyte growth in the striped mullet *Mugil cephalus* L. maturing at different salinities. *J. World Aquacult. Soc.* **25**, 109-115.
444. Tamazouzt L., Fontaine P., Terver D., 1994. Décalage de la période de reproduction de la perche commune (*Perca fluviatilis*) en eau recyclée. *Ichthyophysiol. acta.* **17**, 29-40.
445. Tamazouzt L., Dubois J.P., Fontaine P., Capdeville B., Terver D., 1996. Zootechnical performance and body composition of *Perca fluviatilis* pelleted diet in a floating cage: effect of daily ration. *Ann. Zool. Fennici.* **33**, 635-641.
446. Tanasichuk R.W., Mackay W.C., 1989. Quantitative and qualitative characteristics of somatic and gonadal growth of yellow perch (*Perca flavescens*) from Lac Ste. Anne, Alberta. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**, 989-994.
447. Taranger G.L., Haux C., Stefansson S.O., Björnsson B.T., Walther B.Th., Hansen T., 1991. Photoperiodic control of growth, incidence of sexual maturation and ovulation in adult Atlantic salmon. In: Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium on reproductive physiology of fish. Fish Symp. 91, pp. 143-147, Sheffield.
448. Taranger G.L., Hansen T., 1993. Ovulation and egg survival following exposure of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodstock to different water temperatures. *Aquacult. Fish. Manage.* **24**, 191-196.
449. Taranger G.L., Haux C., Stefansson S.O., Björnsson B.T., Walther B.Th., Hansen T., 1998. Abrupt changes in photoperiod affect age at maturity, timing of ovulation and plasma testosterone and oestradiol-17 β profiles in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquacult.* **162**, 85-98.
450. Taranger G.L., Haux C., Hansen T., Stefansson S.O., Björnsson B.T., Walther B.Th., Kryvi H., 1999. Mechanisms underlying photoperiod effects on age at maturity in Atlantic salmon,

Salmo salar. *Aquacult.* 177, 47-60.

451. Tate A.E., Helfrich L.A., 1998. Off season spawning of sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) exposed to 6 or 9 month phase shifted photothermal cycles. *Aquacult.* 167, 67-83.
452. Taylor M.H., 1984. Lunar synchronisation of fish reproduction. *Trans. Am. Fish. Soc.* 133, 484-493.
453. Taylor M.H., 1986. Environmental and endocrine influences on reproduction of *Fundulus heteroclitus*. *Am. Zool.* 26, 159-171.
454. Theofan G., Goetz F.W., 1983. The *in vitro* synthesis of final maturation steroids by ovaries of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and yellow perch (*Perca flavescens*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 51, 84-95.
455. Thomas P., Trant J.M., 1989. Evidence that 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one is a maturation-inducing steroid in spotted seatrout. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 185-191.
456. Thomas P., Boyd N.W., 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning od spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquacult.* 80, 363-370.
457. Thomas P., Holt G.J., 1995. Red drum and other sciaenids. In: Bromage N.R., Roberts R.J. (Eds). Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell, Oxford, pp. 118-137.
458. Thomas P., Pinter J., Das S., 2001. Upregulation of the maturation-inducing steroid membrane receptor in spotted seatrout ovaries by gonadotropin during oocyte maturation and its physiological significance. *Biol. Repr.* 64 (1), 21-29.
459. Thorpe J., 1977a. Synopsis of biological data on the perch *Perca fluviatilis* and *Perca flavescens*. F.A.O. Fish Synop. 113, 138 p.
460. Thorpe J., 1977b. Morphology, physiology, behaviour and ecology of *Perca fluviatilis* L. and *Perca flavescens* M. *J. Fish. Res. Bd. Can* 34, 1504-1514.
461. Trant J.M., Thomas P., Shackleton C.H.L., 1986. Identification of 17 α ,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one as a major ovarian steroid produced by the teleost *Micropogonias undulatus* during final oocyte maturation. *Steroids* 47, 89-99.
462. Treasurer J.W., 1981. Some aspects of the reproductive biology of perch *Perca fluviatilis* L. Fecundity, maturation and spawning behaviour. *J. Fish Biol.* 18, 729-740.
463. Treasurer J.W., Holliday F.G.T., 1981. Some aspects of the reproductive biology of perch *Perca fluviatilis* L. A histology description of the reproductive cycle. *J. Fish Biol.* 18, 359-376.
464. Tripanhi V., Singh T.P., 1995. Effect of some steroids and prostaglandins on GVBD and ovulation in catfish *Heteropneustes fossilis*. In: Goetz F.W. and Thomas P. (Eds), Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Austin, TX, 2-8 July, pp 378.
465. Trudeau V.L., Peter R.E., Sioley B.D., 1991. Testosterone and estradiol potentiate the serum gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in goldfish. *Biol. Repr.* 44, 951-960.
466. Trudeau V.L., Sioley B.D., Peter R.E., 1993. GABA stimulation of gonadotropin-II release in goldfish: involvement of GABA α receptors, dopamine and sex steroids. *Am. J. Physiol.* 265, 348-355.
467. Trudeau V.L., 1997. Neuroendocrine regulation of gonadotrophin II release and gonadal growth in the goldfish, *Carassius auratus*. *Rev. Reprod.* 2 (1), 55-68.
468. Turner C.L., 1919. The seasonal cycle in the spermary of the perch. *J. Morphol.* 32, 681-711.
469. Tveiten H., Mayer I., Johnsen H.K., 1998. Sex steroids, growth and condition of Arctic charr

- broodstock during an annual cycle. *J. Fish. Biol.* **53**, 714-727.
470. **Tyler C.R., 1991.** Vitellogenesis in salmonids. In: Scott A.P., Sumpter J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Fish Symp. 91 Sheffield, pp. 295-299.
 471. **Ueda H., Young G., Crim L.W., Kambegawa A., Nagahama Y., 1983.** 17α - 20β -hydroxy-dihydroxy-4-pregnen-3-one: plasma levels during sexual maturation, and *in vitro* production by the testis of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **51**, 106-112.
 472. **Ueda H., Kambegawa A., Nagahama Y., 1984.** *In vitro* 11-ketotestosterone and 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one production by testicular fragments and isolated sperm of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Exp. Zool.* **231**, 435-439.
 473. **Urho L., 1996.** Habitat shift perch larvae as survival strategy. *Ann. Zool. Fenn.* **33**, 329-340.
 474. **Valdimarsson S.K., Metcalfe N.B., Thorpe J.E., Huntingford F.A., 1997.** Seasonal changes in sheltering : effect of light and temperature on diel activity in juvenile salmon. *Anim. Behav.* **54**, 1405-1412.
 475. **Van Den Hurk R., Resink J.W., 1992.** Male reproductive system as pheromone producer in teleost fish. *J. Exp. Zool.* **261**, 204-213.
 476. **Van Der Kraak G., Wade M.G., 1994.** A comparison of signal transduction pathways mediating gonadotropin actions in vertebrates. In: Davey K.B., Peter R.E., Tobe S.S. (Eds), Perspectives in Comparative Endocrinology, National Research Council of Canada, Ottawa, pp. 59-63.
 477. **Van Veen Th., Laxmyr L., Borg B., 1982.** Diurnal variation of 5-hydroxytryptamine content in the pineal organ of the yellow eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* **46**, 322-326.
 478. **Vazzana M., Cammarata M., Cooper E.L., Parrinello N., 2001.** Confinement in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) depresses peritoneal leukocyte cytotoxicity. *Aquacult.* (sous presse).
 479. **Vermeirssen E.L.M., Scott A.P., Liley N.R., 1997.** Female rainbow trout urine contains a pheromone which causes a rapid rise in plasma 17 , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels and milt amounts in males. *J. Fish Biol.* **50**, 107-119.
 480. **Vermeirssen E.L.M., Scott A.P., 2001.** Male priming pheromone is present in bile, as well as urine, of female rainbow trout. *J. Fish Biol.* **58**, 1039-1045.
 481. **Vuthiphandchai V., Zohar Y., 1999.** Age-related sperm quality of captive Bass *Morone saxatilis*. *J. World Aquacult. Soc.* **30** (1) 65-72.
 482. **Wallace R.A., Selman K., 1981.** Cellular dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.* **21**, 325-343.
 483. **Ward J.H., 1963.** Hierarchical grouping to optimise an objective function. *J. Am. Stat. Assoc.* **58** 236-24.
 484. **Watanabe T., Koizumi T., Suzuki H., Satoh S., Takeuchi T., Yoshida N., Kitada T., Tsukashima Y., 1985.** Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **51**, 1511-1521.
 485. **Watanabe T., Kiron V., 1995.** Red sea bream (*Pagrus major*). In: Bromage N.R., Roberts R.J. (Eds). Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell, Oxford, pp. 398-413.
 486. **Wedemeyer G.A., 1997.** Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of

- fish in intensive culture. In: Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B. (Eds.), Fish stress and health in aquaculture. Society for experimental biology, seminar series 62, pp. 34-71.
487. Weil C., Bougoussa-Houadec M., Gallais C., Itoh S., Sekine S., Valotaire Y., 1995. Preliminary evidence suggesting variations GtH 1 and GtH 2 mRNA levels at different stages of gonadal development in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **100**, 327-333.
 488. White B.A., Henderson N.E., 1977. Annual variations in the circulating levels of thyroid hormones in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*, as measured by radioimmunoassay. *Can. J. Zool.* **55**, 475-481.
 489. Whitehead C., Bromage N.R., Forster J., Matty A., 1978. The effects of alterations in photoperiod on ovarian development and spawning time in the rainbow trout. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18**, 1035-1053.
 490. Whitehead C., Bromage N.R., Breton B., Matty A.J., 1979. Effect of altered photoperiod on serum gonadotropin and testosterone levels in male rainbow trout. *J. Endocrinol.* **81**, 139-140.
 491. Whitehead C., Bromage N.R., 1980. Effects of constant long and short day photoperiods on the reproductive physiology and spawning of the rainbow trout. *J. Endocrinol.* **87**, 6-7.
 492. Yaron Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquacult.* **129**, 49-73.
 493. Yoshikuni M., Adachi S., Yamauchi K., Nagahama Y., 1991. Gonadotropin induces an increase in 17α , 20β -DP levels and oocyte maturational competence in a teleost, *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci. Abstract* **9**, 1162.
 494. Young G.E., Crim L.W., Kagawa H., Kambegawa A., Nagahama Y., 1983. Plasma 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*): correlation with plasma gonadotropin and *in vitro* production by ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.* **51**, 96-105.
 495. Young M.K., 1999. Summer diel activity and movement of adult brown trout in high elevation streams in Wyoming, U.S.A. *J. Fish. Biol.* **54**, 181-189.
 496. Zanuy S., Carrillo M., 1984. La salinité: un moyen pour retarder la ponte du bar. In : Barnabé G., Billard R. (Eds). L'aquaculture du bar et des sparidés, INRA, Paris, p. 73-80.
 497. Zanuy S., Prat F., Carrillo M., Bromage N.R., 1995. Effects of constant photoperiod on spawning and plasma 17β -estradiol of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Liv. Ressour.* **8**, 147-152.
 498. Zeh M., Ritter E., Ribí, G., 1989. Spawning and egg development of *Perca fluviatilis* in Lake Zürich. *Aquat. Sci.* **51**, 101-107.
 499. Zohar Y., 1986. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. Reproduction in fish. Basic and applied aspects in endocrinology and genetics, Tel-Aviv, Israel, Ed. INRA, les colloques de l'INRA, n°44.
 500. Zohar Y., Harel M., Hassin S., Tandler A., 1995. Gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). In: Bromage N.R., Roberts R.J. (Eds.). Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell, Oxford, pp. 398-413.
 501. Zohar Y., Mylonas C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish : from hormones to genes. *Aquacult.* **197**, 99-136.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Variations de la température de l'eau observées durant la période de refroidissement dans les 10 bassins et taux de rationnement appliqués lors de l'expérience 2.

Semaine	Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ration
1	10/8	21.2	21.2	21	20.8	20.6	20.5	20.8	20.8	20.7	21.2	1%
	11/8	21.1	21.1	20.9	20.8	20.5	20.5	20.7	20.7	20.6	21.1	1%
	12/8	20.9	20.9	20.7	20.5	20.3	20.2	20.4	20.5	20.3	20.9	1%
	13/8	20.4	20.5	20.3	20	19.8	19.7	20	20	19.9	19.9	1%
	14/8	20	20	19.8	19.6	19.3	19.3	19.5	19.5	19.4	20.1	1%
	15/8	19.4	19.4	19.2	18.9	18.6	18.6	18.9	19	18.9	19.5	1%
2	16/8	18.7	18.7	18.5	18.3	18	17.9	18.3	18.4	18.2	18.9	1%
	17/8	18.6	18.7	18.4	18.3	18	18	18.3	18.4	18.3	18.9	1%
	18/8	18.6	18.7	18.4	18.2	17.9	17.9	18.2	18.4	18.1	18.7	1%
	19/8	18	18	17.7	17.5	17.2	17.1	17.5	17.6	17.5	18.1	1%
	20/8	17.4	17.4	17.1	16.8	16.5	16.5	16.9	17	16.9	17.5	0.75%
	21/8	16.8	16.8	16.5	16.3	16	16	16.4	16.5	16.4	17	0.75%
3	22/8	16.7	16.7	16.4	16.2	16	15.9	16.3	16.4	16.3	16.9	0.75%
	23/8	16.3	16.2	16	15.8	15.5	15.4	15.8	15.9	15.8	16.5	0.75%
	24/8	15.9	15.8	15.5	15.3	15	15	15.4	15.5	15.5	16	0.75%
	25/8	15.4	15.4	15	14.9	14.5	14.4	14.9	15.1	15	15.5	0.75%
	26/8	14.9	14.9	14.5	14.3	13.9	13.9	14.4	14.5	14.4	14.9	0.75%
	27/8	14.5	14.4	14	13.9	13.4	13.4	14	14.1	14	14.4	0.75%
4	28/8	14	13.9	13.5	13.4	13	13	13.6	13.7	13.6	14	0.75%
	29/8	13.5	13.4	13	12.8	12.4	12.4	13	13.1	13	13.5	0.75%
	30/8	13	12.8	12.5	12.2	11.8	11.8	12.5	12.6	12.5	13	0.75%
	31/8	12.7	12.5	12.1	11.9	11.4	11.4	12	12.2	12.1	12.6	0.50%
	1/9	12.4	12.2	11.8	11.5	11.1	11.1	11.7	11.8	11.7	12.3	0.50%
	2/9	11.8	11.5	11.1	10.9	10.4	10.4	11.1	11.2	11.1	11.7	0.50%
5	3/9	11.5	11.3	10.8	10.5	10	10	10.7	10.8	10.8	11.4	0.50%
	4/9	10.9	10.8	10.3	10	9.9	9.7	10	10.2	10.2	10.9	0.50%
	5/9	10.9	10.8	10.4	10	9.9	9.9	10.1	10.2	10.2	10.9	0.50%
	6/9	10.8	10.7	10.2	10.1	9.6	9.6	10.2	10.4	10.3	10.8	0.50%
	7/9	10.5	10.3	9.9	9.8	9.3	9.3	9.9	10.1	9.9	10.5	0.50%
	8/9	10.2	10	9.6	9.5	9.1	9	9.5	9.8	9.6	10.2	0.50%
6	9/9	9.9	9.8	9.4	9.3	8.9	8.8	9.4	9.6	9.4	10	0.25
	10/9	9.6	9.4	9.1	8.9	8.4	8.4	8.9	9.2	8.9	9.6	0.25
	11/9	8.9	8.8	8.5	8.4	8	7.9	8.5	8.8	8.4	9.3	0.25
	12/9	8.7	8.5	8.2	8.1	7.7	7.7	8.2	8.5	8.1	8.8	0.25
	13/9	8.4	8.2	8	7.8	7.5	7.3	7.9	8.1	7.8	8.5	0.25
	14/9	8.6	8.3	8	7.8	7.5	7.4	7.9	8.2	7.8	8.5	0.25
6	15/9	8.3	8.1	7.8	7.6	7.3	7.2	7.7	8	7.6	8.4	0.25
	16/9	8.1	7.9	7.6	7.4	7.1	7	7.5	7.7	7.4	8.2	0.25
	17/9	7.6	7.3	7	7	6.9	6.5	6.4	6.4	6.9	6.9	0.25
	18/9	7.2	7	6.8	6.6	6.3	6.2	6.7	6.9	6.7	7.4	0.25
	19/9	7.2	7.1	6.8	6.6	6.3	6.3	6.7	7	6.7	7.3	0.25

Annexe 2 : Protocoles de réchauffement de l'eau appliqués lors de l'expérience 2.

DATE	Réchauffement sur 1 mois	Réchauffement sur 2 mois
15-févr	7	7
18-févr	7.5	7.5
21-févr	8	
22-févr		8
24-févr	9	
26-févr		8.5
28-févr	10	
29-févr		9
02-mars	11	
04-mars		9.5
06-mars	12	
07-mars		10
09-mars	13	
11-mars		10.5
13-mars	14	
16-mars	14	11
21-mars	14	11.5
25-mars	14	12
30-mars	14	12.5
04-avr	14	13
08-avr	14	13.5
11-avr	14	14
12-avr	14	14
13-avr	14	14
14-avr	14	14
15-avr	14	14
16-avr	14	14
17-avr	14	14
18-avr	14	14
19-avr	14	14
20-avr	14	14
21-avr	14	14

Annexe 3 : Description de la station expérimentale sur le site de la Bouzule

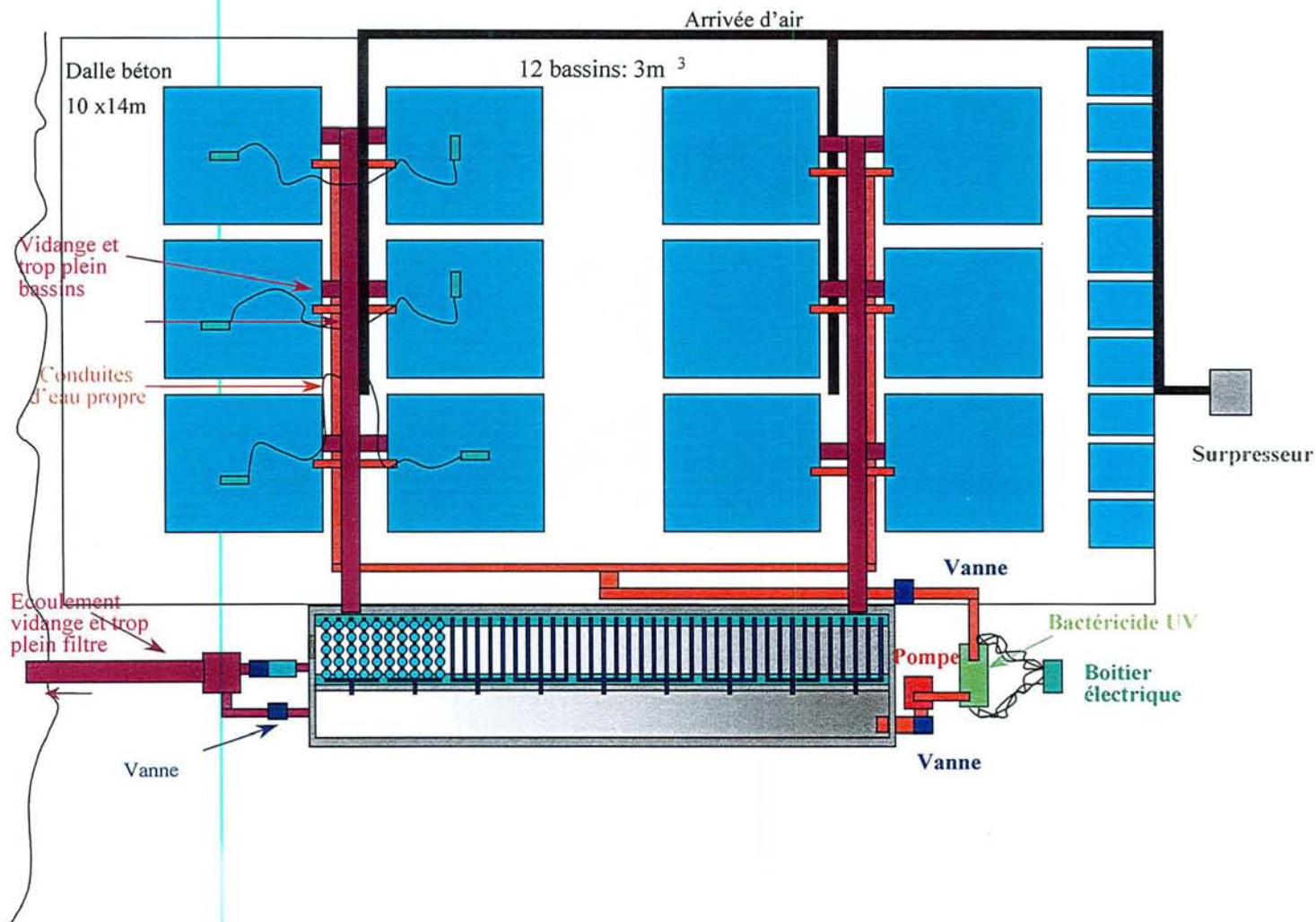
Cette structure est un circuit fermé qui comprend (photo ci-dessous) :

- 12 bassins sub-carrés d'environ 3m^3 en fibre de verre de couleur bleu ($L \times l \times H = 2 \times 2 \times 0.7 \text{ m}$),
- un compartiment de filtration mécanique et biologique d'environ 7 m^3 équipé de 250 mousses en polyuréthane montées sur un réseau en pvc,
- un compartiment d'aspiration d'eau filtré d'environ 5 m^3 ,
- une pompe centrifuge de $40 \text{ m}^3/\text{h}$ (Lamoise et Pire centrifuge basse pression triabloc).
- un bactéricide à rayons UV muni de 5 lampes germicides de 115 W chacune (RER type PZ 500),
- un surpresseur (SV5, 250/1 2kw) assurant l'oxygénation grâce à des bulleurs placés dans chaque bassin (Aqualor, type polyfibre).

L'eau est aspirée dans le compartiment d'eau propre, passe au travers du bactéricide puis est acheminée vers chaque bassin. Chaque bassin est muni d'un trop plein qui permet à l'eau de retourner au filtre grâce à une goulotte récupérant les eaux des différents bassins. Le taux de renouvellement de l'eau de chaque bassin est fixé à environ un volume par heure. Les apports en eau nouvelle n'interviennent qu'en cas de fuite d'eau ou d'évaporation trop importante en période estivale.



Annexe 4: Présentation schématique de la station expérimentale de la Bouzule.



LISTE DES ARTICLES ET COMMUNICATIONS

▪ Publications soumises à des revues internationales

Sulistyo I., Fontaine P., Rinchard J., Gardeur J.N., Migaud H., Capdeville B., Kestemont P., 2000. Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in male Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquatic and Living Ressources* 13 (2), 99-106.

Migaud H., Fontaine P., Sulistyo I., Kestemont P., Gardeur J.N., 2002. Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis*: Effects of rate of cooling and durations on female gametogenesis and spawning. *Aquaculture* 205 (3-4), 253-267.

Migaud H., Mandiki R., Gardeur J.N., Fostier A., Kestemont P., Fontaine P., 2002. Involvement of sex steroids in final oocyte maturation, ovulation and spawning in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. (Submitted to General and Comparative Endocrinology).

▪ Communications dans des congrès internationaux avec publication des actes de colloques

• Communications orales

Migaud H., Gardeur J.N., Kestemont P., Fontaine P., 2001. Influence of the photoperiod regime on the bloodstock maturation and the eggs and larval quality in the Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. LARVI 2001, Ghent, pp. 375-377.

Migaud H., Gardeur J.N., Kestemont P., Fontaine P., 2003. Environmental and hormonal control of perch reproduction, *Perca fluviatilis*. PERCIDS III, Wisconsin, USA.

• Posters

Migaud H., Sulistyo I., Fontaine P., Kestemont P., Gardeur J.N., 2000. Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis*: Effects of the cooling and chilling period length. World Aquaculture Society congress, AQUA 2000, NICE, p. 473.

Migaud H., Jourdan S., Petit E., Gardeur J.N., Fontaine P., 2001. Influence of daylength and feeding rate on survival, cannibalism and growth rates of Eurasian perch, *Perca fluviatilis*, larvae. LARVI 2001, Ghent, pp. 378-380.

Migaud H., Gardeur J.N., Fordoxcel L., Fontaine P., Brun-Bellut J., 2001. Influence of the spawning time during the reproductive period on the larval quality of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. LARVI 2001, Ghent, pp. 371-374.

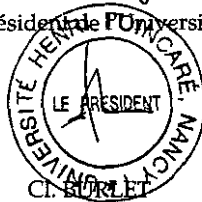
Monsieur MIGAUD Hervé

DOCTORAT de l'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1
en SCIENCES ANIMALES

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 18 juillet 2002 n° 687

Le Président de l'Université



ABSTRACT

Title : Influence of temperature and photoperiod variations on the Eurasian perch reproductive cycle, *Perca fluviatilis*, and the spawning quality.

The aim of these experimental studies was to improve our knowledge on the environmental control of Eurasian perch reproduction. Under a constant photoperiod (12L : 12D), thermal variations (6 weeks of cooling from 22 to 6°C, 5 months of chilling at 6°C and 1 month of warming from 6 to 14°C) have shown some limits on the control of the reproductive cycle. Even if all the males were spermiating after a such regime, only few females have developed their gonads (31 %) and only 6 % have spawned. Moreover, the spawning quality was low (lots of damaged ribbons, low fertilization rates and high levels of mortality). Thus, the influence of photoperiodic variations in the control of female gametogenesis was suggested and studied.

A 24 hours photophase inhibits the initiation of perch male and female reproductive cycle. Some low sex steroids levels were measured. A constant photoperiod (16L : 8D) results in a very heterogeneous gonad development, lots of atresia, and few spawnings (30 %). Under a natural photoperiod, results, in terms of plasma sex steroids variations, gonad development and eggs and larvae quality, were similar to those observed in natural habitat. In simulated photoperiod conditions, although all the broodstocks have developed their gonads, only 55 % of the mature females have spawned and low fertilization rates were observed.

Spawning seems to be triggered off by seasonal temperature and daily light intensity variations. Most of the spawnings occurred at dawn. In artificial light conditions, the sudden switch from darkness to daylight could disturb the oviposition process. The light-darkness cycle would be an important factor, but not sufficient to induce a normal gonadal development. Daylength variations are also involved in the initiation and the gonadal development during gametogenesis. Photoperiodic and temperature variations both play a crucial role in the success of perch reproduction. Finally, in April, while the water temperature rises, a high mortality increase was observed. It seems to be not linked to the reproductive cycle.

Keywords : Eurasian perch, reproduction, temperature, photoperiod, sex steroids, larval quality.

Discipline : SCIENCES

Laboratory : Laboratoire de Sciences Animales, Equipe Croissance et Qualité en Aquaculture Continentale (INPL-UHP-INRA), 34 rue Ste Catherine 54000 Nancy (FRANCE).