Nancy-Université
INPL

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 au même titre que sa version papier. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.
D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite entraîne une poursuite pénale.

Contact SCD INPL: mailto:scdinpl@inpl-nancy.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

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE (INPL)

ÉCOLE DOCTORALE : Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits, Environnement (RP2E)

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Agroalimentaires

Laboratoire : Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR AFPA)
Equipe : Domestication en Aquaculture Continentale (DAC)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement le 28 octobre 2010 pour l'obtention du grade de docteur de l'INPL
Spécialité : Sciences agronomiques

Par

Abdulbaset ABDULFATAH

Etude du déterminisme environnemental du cycle de reproduction chez la perche commune (Perca fluviatilis).

Directeur de thèse : Pascal FONTAINE
Codirecteur de thèse : Michel MARIE

Composition du jury :

Président du jury :	Pr Patrick KESTEMONT	Professeur, FUNDP Namur (Belgique)
Rapporteurs :	Dr Alexis FOSTIER	Directeur de recherche, INRA Rennes
	Dr Hervé MIGAUD	Senior Lecturer, Univ. Stirling (Royaume Uni)
Examinateurs :	Pr Patrick KESTEMONT	Professeur, FUNDP Namur (Belgique)
	Dr Charles MELARD	Chargé de cours, Univ. Liège (Belgique)
	Dr Michel MARIE	Maître de conférences, INPL Nancy
	Pr Pascal FONTAINE	Professeur, UHP Nancy

Remerciements

Cette étude a été cofinancée par l'Université d'Alep (Syrie), l'UR AFPA (Unité de Recherche Animal & Fonctionnalités des Produits Animaux) et un projet européen PERCATECH-COOP-CT-2004-512629, intitulé « **Securing juvenile production of Eurasian perch by improving reproduction and larval rearing** ».

Je tiens d'abord à remercier Monsieur Michel Marie, Maître de Conférences à l'INPL, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette recherche doctorale et son aide pour la conduite de cette étude.

Je voudrais également adresser mes remerciements à Monsieur Pascal Fontaine, Professeur à l'UHP, pour son aide et ses conseils qui m'ont permis de terminer cette étude.

Je remercie aussi Monsieur Jean-Noël Gardeur, Maître de Conférences à l'UHP, pour son aide dans la réalisation des traitements statistiques. Je remercie Monsieur Patrick Kestemont, Professeur aux FUNDP (Namur Belgique), de son aide pour la réalisation des coupes histologiques au sein des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix et d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur Guido Rychen, Professeur à l'INPL-ENSAIA, Directeur UR AFPA, pour m'avoir accueilli au sein de l'URAFPA.

Je remercie Messieurs Hervé Migaud, « Senior Lecturer » à l'Université de Stirling (Ecosse) et Alexis Fostier, Directeur de Recherche à l'INRA, pour avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse, ainsi que Mr Charles Mélard (CEFRA, Université de Liège) pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je voudrais également adresser mes remerciements à Yannick Le Doré et Alain Iuretig pour leur soutien dans la résolution des problèmes techniques et le suivi des manipulations expérimentales. Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont participé à ces études : Marielle Thomas, Neil Wang, Fabrice Teletchea, Marie-Dorothée Castets, Angélique Lazartigues, Awatef Trabelsi, Patricia Erndt et Laurent Fordoxcel (MAN).

Résumé

La maîtrise du cycle de reproduction chez la perche commune *Perca fluviatilis* est un enjeu important pour assurer la disponibilité en juvéniles en dehors de la saison naturelle de reproduction et éviter un développement sexuel précoce. L'objectif principal de ce doctorat était d'identifier les rôles respectifs de la photopériode et de la température au cours des différentes étapes du cycle de reproduction (induction du cycle, vernalisation, ponte) ainsi que leurs interactions afin d'élaborer un programme photo-thermopériodique fiable permettant le contrôle complet du cycle de reproduction chez les femelles jusqu'à l'obtention de pontes hors-saison de qualité sous des conditions contrôlées.

Dans la phase d'induction du cycle de reproduction, la photopériode est le facteur environnemental principal qui synchronise le début du cycle de reproduction chez la perche commune, la température joue uniquement un rôle modulateur pendant la phase d'induction du cycle. Le maintien d'une photopériode constante basée sur une photophase longue et constante (17L : 7D) empêche le démarrage du cycle reproductif chez la perche commune malgré l'application d'une baisse de température. Dans ces conditions, l'indice gonado-somatique (IGS), le diamètre ovocytaire (DO) et la teneur plasmatique en oestradiol (E2) observés chez les femelles restent inférieurs à 1%, 273 µm et 300 $pg.mL^{-1}$ respectivement.

Le maintien d'une température élevée et constante (22-23°C) ne permet pas d'inhiber la gonadogenèse sous l'influence d'une diminution de la photopériode ; IGS, DO et E2 atteignent 4.34%, 635 µm et 4291 $pg.mL^{-1}$ respectivement à la fin de la phase d'induction.

Une diminution de la photopériode de 4 à 8 heures est recommandée pour induire un développement gonadique normal, l'IGS, le DO et l'E2 atteignent respectivement 9-10%, 620-665 µm et 1000-1300 $pg.mL^{-1}$ en fin de phase d'induction (20 semaines). Une diminution de la photopériode d'une heure induit un développement gonadique incomplet (IGS : 4.9% et DO : 577 µm).

La cinétique de la baisse photothermique a un effet mineur sur l'induction du cycle lorsque la diminution photopériodique est élevée (4 ou 8h), alors qu'elle joue un rôle modulateur important sous une faible diminution photopériodique (1 heure).

Concernant l'effet des variations de température, une amplitude de diminution de la température de 8 ou 16°C (de 22 à 14 ou 6°C) est recommandée pour assurer un développement gonadique complet ; tous les ovocytes présentent alors un stade de vitellogenèse avancée (S5) en fin de phase d'induction. Par contre, une diminution limitée de

la température de 22 à 18°C ne permet pas d'obtenir un développement gonadique complet, le développement des ovocytes évalué en fin de phase d'induction n'atteint que le stade prévitellogenèse avancée (S3) quand la température est maintenue à 22°C ou celui de vitellogenèse précoce (S4) quand la température a été abaissée à 18°C.

Avec une phase de la vernalisation à une température de 6°C, le développement gonadique a continué de progresser de manière régulière pour atteindre une valeur maximale correspondant à la situation observée à mi-avril en milieu naturel (période de reproduction). Les ovocytes se sont également développés au stade 6 (maturation finale) ce qui correspond à des ovocytes prélevés aux mois de mars et avril en milieu naturel. Le taux plasmatique d'oestradiol est resté stable et élevé. Au contraire, le développement des ovocytes a été altéré lorsque des températures plus élevées (14 et 18°C) ont été appliquées. Le développement gonadique a ralenti, des ovocytes atrétiques sont apparus et les teneurs plasmatiques en œstradiol ont baissé chez les femelles qui ont été soumises à ces températures. Une photophase de courte durée (8L : 16D) au cours de la phase de vernalisation joue un rôle en retardant la dégénérescence gonadique observée sous des températures de 14 et 18°C, mais ne peut pas éviter la dégradation gonadique.

Dans la phase finale conduisant à la ponte, l'augmentation de la température est le facteur principal de synchronisation de la ponte à la fin du cycle de reproduction, alors que l'augmentation de la photopériode ne semble par intervenir.

Donc la photopériode et ses variations déterminent l'entrée en reproduction de la perche femelle et module l'ovogenèse au cours de la vernalisation. En parallèle, la température a premièrement un effet modulateur sur l'induction et le déroulement de l'ovogenèse et deuxièmement un effet synchronisant sur la ponte.

Cette étude a permis une meilleure compréhension des rôles respectifs des variations de photopériode et de température dans le contrôle du cycle de reproduction chez les femelles de perche commune et la mise au point d'un protocole photo-thermopériodique fiable garantissant des taux de réponse et de ponte proches de 100%.

Abstract

The control of the reproduction cyle in Eurasian perch *Perca fluviatilis* is an important issue to ensure the availability of out-of-season fingerlings and to avoid the undesirable early sexual development. The main aim of this PhD thesis was to identify the respective roles of photoperiod and temperature at the different and successive oogenesis stages (induction of the cycle - wintering period - spawning) and their interactions in order to elaborate a reliable photo-thermoperiodic program to obtain out-of-season spawning and fry.

For the initial induction phase, photoperiod is the main environmental factor which synchronizes the onset of the reproduction cycle in Eurasian perch females, temperature plays a modulating role. The maintenance of constant photoperiod based on a long photophase (17L: 7D) delays the onset of the reproductive cycle even if temperature was decreased. The gonado-somatic index (GSI), the oocyte diameter (OD) and the plasma level of oestradiol (E2) observed in females remain lower than 1%, 273 µm and 300 $pg.mL^{-1}$ respectively.

The maintenance of a warm and constant temperature (22-23°C) does not delay the onset of oogenesis when photoperiod decreased; GSI, OD and E2 increase up to 4.34%, 635µm and 4291 $pg.mL^{-1}$ respectively at the end of the induction step.

A photoperiod decrease of 4 or 8 hours is recommended to induce a normal ovarian development. GSI, OD and E2 respectively reach 9-10%, 620-665 µm and 1000-1300 $pg.mL^{-1}$ at the end of the phase of induction (20 weeks). A photophase reduction of one hour is associated to an incomplete ovarian development (GSI: 4.9% and OD: 577 µm).

Concerning the effect of temperature variations, an amplitude of temperature decrease of 8 or 16°C (from 22 to 14 or 6°C) is recommended to ensure a complete ovarian development, all oocytes achieved the advanced vitellogenesis stage (S5) at the end of the induction phase. On the opposite, a limited decrease of temperature from 22 to 18°C does not make it possible, under such conditions oocytes reach only the advanced previtellogensis stage (S3) when the temperature is maintained at 22°C or the early vitellogenesis stage (S4) when the temperature decreased to 18°C.

Over the chilling period (gametogenesis) under a temperature of 6°C, the gonad development progressed in a regular way and reached a maximum value corresponding to the situation observed in mid-April in natural environment just before spawning. The oocytes achieved the stage 6 (final maturation) which corresponds to oocytes observed in March and April in natural environment. The oestradiol levels remained stable and high. On the contrary, the oocyte development dropped when elevated temperatures (14 and 18°C) were applied during

the chilling period. The oocyte development slowed down, atretic oocytes appeared and plasma oestradiol levels also dropped in females. Under such abnormal temperature conditions during the chilling period, a photoperiod with a short photophase (8L: 16D) delays the ovarian degeneration, however that does not avoid atretic oocyte appearance.

During the final stage (spawning), the temperature increase is the principal factor which synchronizes spawning at the end of the reproduction cycle, whereas the photoperiod increase hasn't effect.

Thus photoperiod variations determine the onset of the reproductive cycle in female Eurasian perch and modulate oogenesis during the wintering period. At the same time, temperature modulates female response during the initial inductive and wintering periods, and finally determines the spawning time.

This study allows a better understanding of the respective roles of temperature and photoperiod in the environmental control of the Eurasian perch reproduction cycle and has permit to develop a reliable photo-thermal protocol to obtain out-of-season spawning with 100% rates of female response and spawning.

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX 10

LISTE DES FIGURES 12

LISTE DES ABREVIATIONS 15

INTRODUCTION GÉNÉRALE : 19

1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE : 23

1.1. BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS 24

1.1.1. Ovogenèse chez les poissons téléostéens 24
1.1.1.1. Phase de croissance initiale 24
1.1.1.2. Vitellogenèse 24
1.1.1.3. Maturation finale ovocytaire 26
1.1.1.4. Ovulation et la ponte 28
1.1.2. Phénomènes d'atrésie 30
1.1.3. Perception des facteurs environnementaux 30
1.1.3.1. Transduction des signaux environnementaux à l'axe reproducteur 30
1.1.3.2. Hormones gonadotropes hypophysaires 31

1.2. CONTROLE ENVIRONNEMENTAL DES CYCLES DE REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS. 34

1.2.1. Cycles saisonniers de reproduction chez les poissons d'eau douce tempérée 34
1.2.2. Facteurs environnementaux 35
1.2.2.1. Photopériode 39
1.2.2.2. Température 40
1.2.2.3. Effet d'une température élevée 41
1.2.3. Rôle des variations photothermiques à différents stades du cycle de reproduction 44
1.2.3.1. Induction du cycle de reproduction 44
1.2.3.2. Ovogenèse 53
1.2.3.3. Maturation finale et ponte 55

2. DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE 59

2.1. PROBLÉMATIQUE SCIENTIFIQUE : 61

2.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 65

2.2.1. Matériels biologiques 66
2.2.2. Structures expérimentales et qualité de l'eau 66
2.2.3. Paramètres étudiés 68
2.2.3.1. Poids et indicateurs morpho-anatomiques 68
2.2.3.2. Indicateurs histologiques 68
2.2.3.3. Indicateur endocrinologique 69
2.2.3.4. Ponte et fécondation 70
2.2.4. Analyses statistiques 70

2.3. PARTIE SPÉCIFIQUE A CHAQUE EXPÉRIENCE 73

2.3.1. Expérience 1 : Effets de la cinétique photo-thermopériodique et de l'amplitude de la diminution photopériodique sur l'induction du cycle de reproduction chez la femelle perche commune. **73**
2.3.1.1. Objectifs **73**
2.3.1.2. Matériels et méthodes **74**
2.3.1.2.1. Matériels biologiques 74
2.3.1.2.2. Conditions expérimentales 74
2.3.1.2.3. Traitements expérimentaux 74
2.3.1.2.4. Facteurs étudiés 75
2.3.1.3. Résultats **77**
2.3.1.3.1. Indice gonado-somatique 77
2.3.1.3.2. Diamètre des ovocytes 77
2.3.1.3.3. Stades du développement ovocytaire 78
2.3.1.3.4. Oestradiol 83
2.3.2. Expérience 2 : Effets de l'amplitude et du moment d'application de la baisse de température sur l'induction de la gonadogenèse chez la femelle perche commune. **87**
2.3.2.1. Objectifs : **87**
2.3.2.2. Matériels et méthodes **87**
2.3.2.2.1. Matériel biologique 87
2.3.2.2.2. Conditions expérimentales 88
2.3.2.2.3. Traitements expérimentaux : 88
2.3.2.2.4. Facteurs étudiés : 88
2.3.2.3. Résultats **91**
2.3.2.3.1. Indice gonado-somatique 91
2.3.2.3.2. Diamètre ovocytaire 91
2.3.2.3.3. Stade du développement ovocytaire 92
2.3.2.3.4. Oestradiol 92
2.3.3. Expérience 1b : Effets des conditions photo-thermiques appliquées pendant la phase d'induction et de la durée de la phase de vernalisation sur les performances reproductives (suite de la première expérience). **99**
2.3.3.1. Objectifs **99**
2.3.3.2. Matériels et méthodes **99**
2.3.3.2.1. Matériels biologiques 99
2.3.3.2.2. Conditions expérimentales 99
2.3.3.3. Résultats : **102**
2.3.3.3.1. Indice gonado-somatique 102
2.3.3.3.2. Diamètre ovocytaire 102
2.3.3.3.3. Moment de ponte 105
2.3.3.3.4. Taux de ponte et de fécondation 108
2.3.4. Expérience 3 : Effets de la température et de la longueur du jour durant la phase de vernalisation sur l'ovogenèse et les performances de reproduction. **110**
2.3.4.1. Objectifs **110**
2.3.4.2. Matériels et méthodes **110**
2.3.4.2. 1. Matériels biologiques 110
2.3.4.2.2. Conditions expérimentales 111
2.3.4.2.3. Traitements expérimentaux 111
2.3.4.2.4. Facteurs étudiés 111
2.3.4.3. Résultats **113**
2.3.4.3.1. Indice gonado-somatique 113
2.3.4.3.2. Pontes 114

2.3.4.3.3. Diamètre ovocytaire 117
2.3.4.3.4. Stade de développement ovocytaire 117
2.3.4.3.5. Oestradiol E2 120
2.3.5. Expérience 4 : Effet des cinétiques terminales de la photopériode et de la température sur le déclenchement des pontes. **124**
2.3.5.1. Objectifs **124**
2.3.5.2. Matériels et méthodes **124**
2.3.5.2.1. Matériels biologiques 124
2.3.5.2.2. Conditions expérimentales 124
2.3.5.2.3. Traitements expérimentaux 125
2.3.5.3. Résultats **127**

3. DISCUSSION : **131**

3.1. PHASE D'INDUCTION **133**

3.1.1. Déterminisme des conditions environnementales optimales pour l'induction de la gonadogenèse 133
3.1.1.1. Amplitude de la diminution photopériodique 133
3.1.1.2. Amplitude de la baisse thermique 134
3.1.1.3. Facteurs modulateurs secondaires 135
3.1.2. Inhibition du cycle de reproduction chez la perche commune 136
3.1.3. Conclusion 139

3.2. PHASE DE VERNALISATION **141**

3.3. SYNCHRONISATION DE LA PONTE **143**

3.3.1. Température, principal facteur synchronisant la ponte 143
3.3.2. Photophase et température de vernalisation 144
3.3.3. Durée de cycle 144

3.4. PERFORMANCES REPRODUCTIVES **146**

3.4.1. Effet des conditions photothermiques pendant la phase d'induction 146
3.4.2. Effet de la température de vernalisation 146
3.4.3. Effet de la durée du cycle 147
3.4.4. Température froide en fin du cycle 148
3.4.5. Autres facteurs modulateurs 148

3.5. PROGRAMME PHOTOTHERMIQUE PROPOSÉ **150**

4. CONCLUSION GÉNÉRALE **153**

5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES **159**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification de la perche commune…….....18

Tableau 2 : Description des différents stades de développement des ovocytes au cours de l'ovogenèse……...27

Tableau 3 : Changements photopériodiques exigés pour l'induction et la phase finale du cycle chez quelques espèces du premier groupe selon Wang *et al.* (sous presse)……36

Tableau 4 : Changements de photopériode et de température durant l'induction, la vitellogenèse et la phase finale du cycle chez quelques espèces du deuxième groupe selon Wang *et al*. (sous presse)……..37

Tableau 5 : Changements de photopériode et de température durant l'induction, la vitellogenèse et la phase finale du cycle chez quelques espèces du deuxième groupe selon Wang *et al*. (sous presse)……..38

Tableau 6 : Conditions environnementales exigées au début et à la fin du cycle de reproduction chez quelques téléostéens des eaux tempérées selon Migaud *et al*. (2010)…….39

Tableau 7 : Conditions photopériodiques utilisées en aquaculture chez différentes espèces pour retarder ou réduire le taux de maturation……..45

Tableau 8 : Manipulations de la photopériode utilisées chez différentes espèces d'élevage pour avancer la saison de reproduction…….46

Tableau 9 : Conditions de photopériode appliquées avant et pendant la manipulation photopériodique chez quelques espèces……50

Tableau 10 : Seuil thermique supérieur à partir duquel le cycle de reproduction sera perturbé et la maturation finale des ovocytes ou la ponte peuvent être inhibées chez quelques espèces des zones tempérées……..56

Tableau 11 : Composition des aliments utilisés pour nourrir les poissons……..66

Tableau 12 : Valeurs moyennes ± écart type des paramètres physico-chimiques de l'eau….68

Tableau 13 : Indices gonado-somatiques relevés chez les femelles à la fin de la phase d'induction d'un cycle de reproduction en considérant la durée des expériences (6, 9 et 16 semaines en conditions contrôlées, semi-naturelles et naturelles…….86

Tableau 14 : Effet de la cinétique photothermique, de la durée du cycle et de l'amplitude photopériodique sur le moment de ponte……106

Tableau 15 : Effet de la cinétique photo-thermopériodique, de l'amplitude photopériodique et de la durée du cycle sur les taux de pontes, de pontes fécondées et de fécondation……..108

Tableau 16 : Taux de pontes en fonction des traitements photothermiques testés lors de l'expérience 4……..128

Tableau 17 : Tableau récapitulatif des principaux effets de la température et de la photopériode observés au cours des différentes expériences et en fonction des phases du cycle de reproduction……...……130

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Variations des teneurs plasmatiques en oestradiol, testostérone et 17,20β-P chez les femelles de perche commune (Perca fluviatilis) en période pré-ovulatoire selon Migaud *et al*. (2003b)……..29

Figure 2 : Schéma récapitulatif de l'influence des facteurs environnementaux, via les synthèses hormonales, sur les principales étapes du cycle gamétogenètique chez les poissons Téléostéens femelles selon Migaud (2002)……...33

Figure 3 : Indice gonado-somatique, diamètre ovocytaire et teneurs plasmatiques en oestradiol, testostérone et vitellogenine chez le saumon atlantique maintenu sous des températures de 14, 18 et 22°C pendant les mois de février – avril selon Watts *et al*. (2004).43

Figure 4 : Effets de régimes photopériodiques sur l'indice gonado-somatique chez la perche commune femelle et mâle selon Migaud *et al*. (2006)……..47

Figure 5 : Conditions photopériodiques testées (24 heures d'éclairement, photopériode constante 16L : 8O et photopériode naturelle) selon Migaud *et al.* (2004a)…….48

Figure 6 : Programmes photopériodiques testés pour l'induction du cycle reproducteur chez la perche commune en condictions contrôlées selon Fontaine *et al.* (2006)…….48

Figure 7 : Effet de la température en association avec le moment d'application de la diminution de la photopériode sur l'augmentation de l'indice gonado-somatique, du taux plasmatique d'E2 et de la consommation du tissu adipeux périviscéral selon Wang *et al*. (2006)……51

Figure 8 : Evolution du diamètre ovocytaire et de l'indice gonado-somatique chez des géniteurs femelles de perche commune en relation avec les variations photo-thermopériodiques observées en milieu naturel selon Sulistyo *et al.* (1998)……52

Figure 9 : Premier programme thermique utilisé pour obtenir la reproduction hors saison naturelle sous des conditions photopériodique constante (12L : 12O) en milieu fermé selon Migaud *et al*. (2002)……..54

Figure 10 : Programme thermique utilisé pour obtenir la reproduction sous des conditions photopériodiques constantes (12L : 12O) en milieu fermé avec l'application de deux durées pour le réchauffement final de l'eau, 1 mois et 2 mois selon Migaud *et al*. (2004b)……...57

Figure 11 : Pourcentage de femelles gravides, de ponte et de mâles spermiants en fonction de la durée du réchauffement de l'eau (6° à 14°C) selon Migaud *et al*. (2004b)……..57

Figure 12 : Salle climatisée et bacs de 500L couverts par une bâche de polyéthylène……...67

Figure 13 : Schéma d'un bassin de 500L fonctionnant en circuit fermé…….67

Figure14 : Œuf non fécondé et œuf fécondé à 36 dégrés-jours……...70

Figure 15 : Disposition des bacs lors de l'expérience 1……...…75

Figure 16 : Programmes photothermopériodiques de l'expérience 1……..76

Figure 17 : Evolution de l'indice gonado-somatique moyen en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 1……79

Figure 18 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 1…….80

Figure 19 : Différents stades de développement ovocytaire observés durant l'expérience 1..81

Figure 20 : Evolution des stades du développement ovocytaire au cours de l'expérience... .82

Figure 21 : Evolution de la concentration plasmatique moyenne en oestradiol en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 1…….84

Figure 22 : Disposition des bacs lors de l'expérience 2…….89

Figure 23 : Programmes photo-thermopériodiques testés lors de l'expérience 2……..90

Figure 24 : Evolution de l'indice gonado-somatique moyen en fonction des différentes modalités photo-thermopériodique appliquées au cours de l'expérience 2……93

Figure 25 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 2……94

Figure 26 : Evolution du stade de développement ovocytaire au cours de l'expérience 2 en fonction des différentes températures appliquées……95

Figure 27 : Ovocytes observés sous des différentes températures 22°C, 18°C, 14°C et 6°C à la fin de l'expérience 2…….96

Figure 28 : Evolution de la concentration plasmatique moyenne en oestradiol en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 2……..97

Figure 29 : Disposition des bacs pour la fin de l'expérience 1……..100

Figure 30 : Programmes thermiques complets appliqués pour l'induction de pontes hors-saison (fin de l'expérience 1)……..101

Figure 31 : Programmes photothermiques appliqués à la fin de l'expérience 1 pour l'induction de pontes hors-saison……101

Figure 32 : Variations de l'indice gonado-somatique au cours de phases de vernalisation de durée variable……..103

Figure 33 : Variations du diamètre ovocytaire au cours de phases de vernalisation de durée variable……...103

Figure 34 : Croissance ovocytaire au cours de l'expérience 1……...104

Figure 35 : Rubans de pontes en incubation dans les clayettes de l'écloserie au cours des mois de novembre – janvier 2006……...105

Figure 36 : Moments de pontes par rapport aux programmes photothermiques……...107

Figure 37 : Disposition des bacs lors de l'expérience 3…….112

Figure 38 : Programmes photo-thermopériodiques testés lors de l'expérience 3……..113

Figure 39 : Evolution de l'indice gonado-somatique moyen en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3……..115

Figure 40 : Moments des pontes obtenues selon les programmes photo-thermopériodiques appliqués……116

Figure 41 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3……..118

Figure 42 : Evolution du stade de développement en fonction des conditions photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3…….119

Figure 43 : Ovocytes au stade de maturation finale prélevés à la fin de l'expérience dans le lot témoin (6-8)……..119

Figure 44 : Evolution de l'épaisseur de la couche gélatineuse des ovocytes en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3…...120

Figure 45 : Evolution de la concentration plasmatique moyenne en oestradiol en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3…...121

Figure 46 : Etat des gonades et des ovocytes prélevés au jour 260 en fonction des traitements photo-thermopériodiques appliqués……..122

Figure 47 : Programmes photothermopériodiques appliqués lors de l'expérience 4……...126

Figure 48 : Disposition des bacs lors de l'expérience 4, (trois cinétiques photothermiques terminales ont été testées……...127

Figure 49 : Caractéristiques des ovocytes observés à la fin de l'expérience 4 (J330)……..129

Figure 50 : Programme photo-thermopériodique proposé pour induire des pontes hors-saison sous des conditions contrôlées……151

LISTE DES ABREVIATIONS

GTH	Hormones gonadotropes hypophysaires
GTH-I	Hormones gonadotropes hypophysaires I
GTH-II	Hormones gonadotropes hypophysaires II
E2	17 β- oestradiol
IGS	Indice gonado-somatique
MPF	Facteur de promotion de la maturation
MIH	Hormone induisant Maturation
DO	Diamètre ovocytaire
17, 20β-P	17, 20β-progesterone
17α, 20β-OH-P	17α,20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one
GVDB	Germinal vesicle breakdown
GnRH	Gonadotropine libérant hormone
sGnRH	Gonadotropine libérant hormone (saumon)
sbGnRH	Gonadotropine libérant l'hormone (dorade)
SNC	Système nerveux central
PPP	Phosphore protéique plasmatique
T	Testostérone
VTG	Vitellogénine

FSH	Folicle stimulating hormone
LH	Hormone luténeisante
D2	Récepteurs dopaminergiques
NPY	Neuropeptide Y
11-KT	11 kéto- testostérone
PGFs	Prostaglandines

Phylum	**CHORDATA**	Présence d'une colonne vertébrale
Subphylum	**CRANIATA**	
Super-classe	**GNATOSTOMA**	Présence de mâchoires
Garde	**PISCES**	
Classe	**OSTEICHTHYES**	Poissons osseux, opercule, couvert d'écailles
Sous-classe	**ACTINOPTERYGII**	Présence de nageoires dorsale, anale et plaques Jugulaires
Infra-classe	**NEOPTERYGII**	
Division	**HALECOSTOMI**	
Sub-division	**TELEOSTEI**	
Infra-division	**EUTELEOSTEI**	
Superordre	**ACANTHOPTERYGII ECAILLES**	gonoïdes, nageoires dorsales
Ordre	**PERCIFORMES**	
Sous-ordre	**PERCOIDEI**	
Famille	**PERCIDE**	1,2 épines sur nageoire anale
Sous-famille	**PERCINAE**	
Tribu	**PERCINI**	
Genre	***Perca***	
Espèce	***fluviatilis***	

Tableau 1 : Classification de la perche commune selon Collette et al. (1977) et Craig (1987).

INTRODUCTION GÉNÉRALE :

L'aquaculture est devenue une part importante de l'ensemble de la production alimentaire dans le monde. Cette activité n'a cessé d'augmenter ces 20 dernières années. En 2006, la production aquacole mondiale était de 51.7 millions de tonnes, représentant ainsi 36% de la production totale des ressources vivantes aquatiques (FAO. 2008). Cette augmentation est principalement liée à la diminution des ressources naturelles et à la progression de la consommation de poissons. En France, la consommation de poissons a augmenté de 35% entre 1997 et 2006, elle atteint 24,2 kg/an/habitant en 2006 (INRA. 2007). La baisse d'approvisionnement du marché favorise la relance de la pisciculture nationale qui devient un acteur reconnu du développement local. Dans ce contexte, l'élevage de poissons à chair noble telle que la perche commune (*Perca fluviatilis*) pourrait se développer. En France, des sociétés (Lucas Perches, Asialor…) se sont lancées dans la production intensive de perche et ont opté pour un système d'élevage en circuit fermé. Ce mode d'élevage, lié à un approvisionnement régulier et constant des marchés (restaurateurs, grossistes…), nécessite d'avoir un protocole photo-thermopériodique fiable pour assurer l'obtention de reproductions hors saison et une disponibilité en alevins sur toute l'année.

Les travaux de recherche de l'équipe DAC (Domestication en Aquaculture Continentale) concernent l'expression de deux fonctions biologiques dont la maîtrise est indispensable au cours d'un processus de domestication d'une nouvelle espèce : la reproduction et la croissance. Ils visent au contrôle de la qualité des produits obtenus. Il s'agit notamment de comprendre comment les facteurs environnementaux interviennent sur ces fonctions au sein du système aquacole. Les connaissances acquises sont intégrées via une approche de modélisation du fonctionnement du système aquacole. Pour conduire cette réflexion, l'équipe DAC mène un projet de recherche sur la domestication de la perche commune *Perca fluviatilis* depuis une vingtaine d'années pour favoriser une diversification de la production en aquaculture continentale.

La perche commune *Perca fluviatilis* .L (Tableau 1) est un poisson d'eau douce tempérée. Cette espèce est essentiellement élevée en Europe de façon extensive dans les étangs de polyculture en association avec la carpe, la tanche… Cette production s'ajoute à celle, bien plus importante, issue des pêches en milieu continental, notamment en Europe de l'Est et du Nord. En lien avec l'existence de marchés de niche et dans le cadre d'une diversification des

productions aquacoles, des essais d'élevage intensif en circuit fermé sont actuellement menés dans divers pays européens (France, Irlande, Suède…). Ce type d'élevage, lié à un approvisionnement continu de la demande des marchés, exige de maîtriser le cycle de reproduction de la perche pour obtenir des pontes de qualité hors période naturelle de reproduction et produire des alevins toute l'année.

La perche commune est un poisson à ponte annuelle, la ponte intervient au printemps, aux mois de mars-avril en région lorraine. Chez les femelles de perche, la fécondité est assez élevée et varie de quelques milliers jusqu'à 100 000 oeufs (Migaud 2002), selon l'âge et la taille des femelles. Il est à noter que cette espèce acquiert sa maturité sexuelle précocement (avant la taille commerciale, Migaud 2002) ce qui peut conduire à certains problèmes en conditions d'élevage (retard de croissance, sensibilité accrue aux maladies…). Aussi, en phase de grossissement, il est nécessaire d'inhiber le développement non désiré d'un cycle de reproduction. La manipulation des facteurs environnementaux peut permettre d'atteindre cet objectif (Bromage *et al.* 2001).

Le cycle annuel de reproduction de la perche commune a été caractérisé en milieu naturel (Sulistyo *et al*. 1998, 2000). Depuis cette étude, de nombreux travaux réalisés principalement au sein de l'équipe DAC ont montrés que des variations thermiques et photopériodiques sont nécessaires au bon déroulement du cycle de reproduction (Migaud *et al.* 2002, 2003a, 2004a, 2004b, 2006, Fontaine *et al.* 2006, Wang *et al.* 2006), mais les rôles respectifs de la photopériode et de la température aux différentes étapes du cycle reproducteur de la perche commune restent en grande partie méconnus. La gestion des facteurs environnementaux (température et photopériode) n'a que rarement permis l'obtention de quelques pontes décalées hors saison, de qualité très variable (Migaud *et al.* 2004b). Ces résultats indiquent que le contrôle environnemental du cycle reste incomplet. Une meilleure connaissance de l'influence des facteurs environnementaux (température et photopériode) sur les différentes étapes du cycle de reproduction est indispensable pour sécuriser la production de juvéniles.

Donc, l'objectif principal de ce travail est d'identifier les rôles respectifs de la photopériode et de la température en considérant les différentes étapes d'un cycle de reproduction, ainsi que d'éventuelles interactions entre ces deux facteurs, afin de proposer un programme photothermopériodique fiable permettant un contrôle complet du cycle de reproduction jusqu'à l'obtention de pontes de qualité sous des conditions contrôlées.

Cette étude s'appuie sur un suivi morpho-anatomique (indice gonadosomatique, IGS), histologique (diamètre ovocytaire, DO et stade de développement ovocytaire) et

endocrinologique (teneur plasmatique en oestradiol, E2) chez les femelles pendant les phases d'induction et de vernalisation du cycle. Le calcul des taux de ponte et de fécondation en fin du cycle permet également d'évaluer les performances de reproduction.

Cette thèse se décompose en quatre parties :
La première partie concerne une synthèse bibliographique ciblée sur les mécanismes qui sont impliqués dans les processus de l'ovogenèse et le contrôle environnemental du cycle de reproduction chez les poissons d'eau douce tempérée.
La deuxième partie, à caractère expérimental, concerne une série de quatre expériences. Une première expérience porte sur l'influence de l'amplitude de la baisse photopériodique en combinaison avec la cinétique photothermique sur l'induction du cycle de reproduction. Une deuxième expérience concerne l'effet de l'amplitude de la diminution thermique et du décalage entre les baisses photopériodique et thermique sur l'induction du cycle de reproduction. Une troisième expérience concerne l'effet de la température de vernalisation en combinaison avec la durée de la photophase sur la gamétogenèse et les performances reproductives des géniteurs femelles. Une quatrième et dernière expérience vise à déterminer les rôles respectifs de la photopériode et la température sur le déclenchement de la ponte en fin du cycle de reproduction.

Enfin ce manuscrit comporte une discussion (troisième partie) afin d'analyser les résultats obtenus et une conclusion générale (quatrième partie) pour faire ressortir les principales perspectives en lien avec mes travaux.

1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE :

1.1. BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS

1.1.1. Ovogenèse chez les poissons téléostéens

L'ovogenèse est le processus biologique et cellulaire qui aboutit à la formation d'ovocytes matures. Chez les poissons Téléostéens, la description histologique des différents stades du développement ovocytaire et leur classification ont notamment été établies par Malservisi et Magnin (1968), Treasurer et Holliday (1981), Wallace et Selman (1981) et Rinchard *et al.* (1996) (Tableau 2). Les principales étapes de l'ovogenèse sont donc clairement définies :

1.1.1.1. Phase de croissance initiale

Les ovogonies se multiplient par des divisions mitotiques et deviennent des ovocytes primaires ou protoplasmiques quand les femelles deviennent matures (acquisition de l'aptitude à se reproduire), ces ovocytes possèdent un noyau central, une mince couche de cytoplasme et sont entourés par des cellules somatiques, qui donneront par la suite les enveloppes folliculaires (Wallace et Selman 1981).

1.1.1.2. Vitellogenèse

Le dépôt de vitellogénine (VTG) endogène et exogène est responsable de la croissance des ovocytes à ce stade. Dans un premier temps, la vitellogenine est d'origine endogène, elle provient de synthèses ovariennes et ovocytaires et est stockée sous la forme de vésicules vitellines (*yolk vesicles*) qui correspondent aux stades 2 et 3 (prévitellogenèse précoce et avancée) selon Rinchard *et al.* (1996). Dans un deuxième temps, elle est d'origine exogène et constitue l'essentiel du vitellus « énergétique » (stades 4 et 5, vitellogenèse précoce et avancée), qui être va utilisé pour le développement embryonnaire et des premiers stades larvaires. Les matériaux précurseurs de la VTG sont de nature extra-ovarienne et d'origine hépatique. Les composants du vitellus exogène sont donc synthétisés par les cellules du foie (hépatocytes), transférés à l'ovaire par voie sanguine sous forme complexée au calcium, à raison d'un taux maximal de 50 $mg.L^{-1}$ chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*, puis incorporés à l'ovocyte vitellogénétique suite à un mécanisme d'endocytose ovocytaire (Bruslé et Quignard 2004). La vitellogénine est incorporée par micropinocytose. La GTH I (hormone gonadotrope hypophysaire I) stimule la synthèse de 17β-œstradiol (E2) par les cellules folliculaires, qui déclenche la production de VTG par les hépatocytes. Après pénétration dans l'ovaire, la VTG sera incorporée dans les globules vitellins des ovocytes (Abraham *et al.*

1988). La production de la 17β-oestradiol dépend de l'activité de deux couches cellulaires : la thèque et la granulosa. Durant la vitellogenèse, la GTH I interagit avec des récepteurs spécifiques situés sur les cellules de la thèque et de la *granulosa* pour former l'AMPc qui stimule la synthèse de testostérone (T) dans les cellules thècales, qui diffuse dans les cellules de la *granulosa* où elle devient un substrat aromatisé pour former la 17β-oestradiol (Kagawa *et al.* 1982 ; Hyllner et Haux 1995).

La vitellogénine (VTG) est donc une protéine complexe (phospholipoglygoprotéine) fabriquée dans le foie chez les femelles des poissons sous l'influence de la teneur plasmatique en 17β-oestradiol au cours d'un cycle de reproduction (Lomax *et al.* 1998 ; Parks *et al.* 1999 ; Brion *et al.* 2000 ; Sole *et al.* 2001). Normalement, elle ne se trouve pas chez les mâles, mais les mâles portent le gène de la vitellogénine, donc l'exposition de poissons mâles aux substances de type oestrogènique peut induire l'expression de ce gène (Sumpter et Jobling 1995). La vitellogénine est un indicateur pour détecter les contaminants oestrogéniques dans le milieu aquatique (Castillo et Barcelo 1997 ; Tyler et Routledge 1998). Elle joue un rôle déterminant dans la croissance des ovocytes. Cette protéine stockée dans les ovocytes est utilisée comme nourriture pour l'embryon (Matsubara *et al.* 1999 ; Watts *et al.* 2003). Sulistyo (1998) a utilisé le phosphore-protéique plasmatique (PPP) comme un indicateur indirect de la vitellogénine chez la perche commune. La teneur plasmatique de phosphore-protéique (PPP) est faible en juillet-août (« repos sexuel », croissance somatique), puis augmente en septembre (> 0.7 $\mu g.mL^{-1}$) et reste proche de cette valeur jusqu'au mois de février où la concentration en PPP est de 1.0 ± 0.4 $\mu g.mL^{-1}$. Début mars, la teneur plasmatique en PPP s'élève à 2.5 ± 1.3 $\mu g.mL^{-1}$, ce qui correspond au début de la période de réchauffement de l'eau au printemps avant la période de ponte. La teneur en PPP se maintient autour de 2 $\mu g.mL^{-1}$ jusqu'à la période de ponte en avril. Après la ponte, la teneur en PPP baisse très vite (0.5 ± 0.6 $\mu g.mL^{-1}$) (Sulistyo 1998).

Rôle de la 17-oestradiol (E2)

Cette hormone régule la croissance des ovocytes. 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; 1983 ; Young *et al.* 1983). Cette hormone est transportée vers les hépatocytes où elle va stimuler la synthèse de vitellogénine qui sera transportée dans le sang et incorporée dans l'ovocyte, sous stimulation gonadotrope, formant les globules vitellins

(Wallace et Selman 1981 ; Scott *et al.* 1983 ; Mommsen et Walsh 1988). Elle agirait également sur le maintien de la viabilité des ovocytes, une fois la vitellogenèse terminée (Kime 1993). Les teneurs plasmatiques d'E2 vont augmenter et former un pic pré-ovulatoire quand la température et la photopériode augmentent au printemps chez la perche commune (Migaud *et al*. 2003b) (Figure 1).

L'aromatase, enzyme qui convertit la testostérone T en 17β-oestradiol, joue un rôle-clé dans la différenciation sexuelle des femelles. En effet, E2 agit comme un indicateur naturel de la différenciation ovarienne, un inhibiteur de l'aromatase comme le fadrozole induit une masculinisation des femelles génétiques (Piferrer *et al.*1994). Chez le tilapia *Oreochromis niloticus* (Kwon *et al.* 2002), il a été démontré que l'expression du gène de l'aromatase durant la période critique de la différenciation gonadique est sous-régulée chez les mâles génétiques et super-régulée chez les femelles génétiques.

1.1.1. 3. Maturation finale ovocytaire

Quand l'ovocyte a terminé sa croissance, son noyau migre du centre de l'ovocyte vers le pôle animal où se situe le micropyle qui permettra la pénétration du spermatozoïde lors la fécondation (Nagahama 1983). L'ovocyte subit une hydratation importante se traduisant par une rapide augmentation de son volume (Wallace et Selman 1981).

Les progestagènes sont les hormones inductrices de la maturation sexuelle chez les salmonidés (Prat *et al.* 1990), les cyprinidés (Yaron 1995), les labridés comme *Pseudolabrus sieboldi* (Ohta *et al.* 2001) et bien d'autres espèces… En effet, elles sont responsables de la production d'un facteur de promotion de la maturation ovocytaire (MPF) composé d'une cycline B et d'une kinase (Yaron 1995), la 17, 20β-P est dénommée « *maturation – inducing hormone* » ou MIH, elle stimule la reprise de méiose, la rupture de la « *vésicule germinative* » GVDB, l'émission du premier globule polaire et l'ovulation. Outre la 17,20β-P, un autre progestagène, la 17,20β, 21-P, s'est révélé efficace pour obtenir la maturation ovarienne du loup américain *Morone saxatilis* traité par des injections de GnRHa (Mylonas et Zohar 2001).

Chez les salmonidés, les prostaglandines (PGFs) et la 17, 20β-P agissent comme des phéromones, elles sont produites par les femelles gravides, libérées dans l'eau avec l'urine et via les branchies, et exercent un effet attractif sur les mâles, ces phéromones ne sont pas spécifiques si l'on considère différentes espèces de salmonidés (truite commune *S. trutta* et saumon atlantique *S. salar*), ce qui pourrait expliquer certains cas d'hybridation entre espèces (Vermierssen et Scott 2001).

N° du stade de développement	Stade de l'ovaire	Stade ovocytaire présent dans l'ovaire	Description des ovocytes les plus avancés
1	Immature	Ovocytes protoplasmiques	Ovocyte sans substance vitellogénique
2	Prévitellogenèse précoce	Ovocytes protoplasmiques et ovocytes en prévitellogenèse précoce	Apparition de vésicules de glycoprotéines sur 2 ou 3 rangées en périphérie du cytoplasme
3	Prévitellogenèse avancée	Ovocytes protoplasmiques et ovocytes à différents stades de la prévitellogenèse	Ovocytes avec le cytoplasme rempli de vésicules glycoprotéiques Différentiation des membranes folliculaires.
4	Vitellogenèse précoce	Ovocytes protoplasmiques, ovocytes à différents stades de la prévitellogenèse et ovocytes en vitellogenèse précoce	Les globules de vitellus (lipoprotéines) apparaissent et occupent le centre de l'ovocyte autour du noyau
5	Vitellogenèse avancée	Ovocytes protoplasmiques et ovocytes à différents stades de la prévitellogenèse et de la vitellogenèse	Le cytoplasme est rempli de globules de vitellus qui repoussent en périphérie les vésicules de glycoprotéines. Apparition du micropyle et migration du noyau vers celui-ci
6	Maturation finale	Ovocytes protoplasmiques et ovocytes à différents stades de la prévitellogenèse et de la vitellogenèse, apparition de GVBD (Germinal Vesicle BreakDown), goutte lipidique et ovules	Accolement et éclatement du noyau près du micropyle. Reprise de la méiose jusqu'à la métaphase II (bloquée jusqu'ici en prophase I) et ovulation
7	Interponte	Ovocytes protoplasmiques et ovocytes à différents stades de la prévitellogenèse et de la vitellogenèse, apparition de follicules postovulatoires.	Hypertrophie des cellules granulaires et thécales, apparition d'autophagocytose.
8	Postponte	Ovocytes protoplasmiques et follicules pré et post ovulatoires	Les cellules de la granulosa s'hypertrophient et la substance vitelline dégénère

Tableau 2 : Description des différents stades de développement des ovocytes au cours de l'ovogenèse (Rinchard et al. 1996).

Une corrélation significative a été observée entre le niveau d'E2 plasmatique et la sensibilité folliculaire aux GTHs, mais pas entre la teneur en E2 plasmatique et la sensibilité de l'ovocyte à la 17α, 20β-OH-P. Il a été conclu que la migration périphérique de la vésicule germinale est un événement morphologique qui coïncide avec une augmentation de la sensibilité des ovocytes, et qu'E2 est un régulateur physiologique de la sensibilité folliculaire aux GTHs chez la truite arc-en-ciel *Salmo gairdneri* (Jalabert et Fostier 1984). Chez la perche commune, la concentration plasmatique de 17,20β-P augmente au printemps pour présenter des pics en mars et avril (Migaud *et al.* 2003b) (Figure 1).

1.1.**1.4. Ovulation et la ponte**

A la fin de la phase de maturation, l'ovocyte entouré du chorion se sépare du follicule et est expulsé dans la lumière ovarienne ou dans la cavité cœlomique (comme chez les salmonidés) : 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 (Krieger et Fleig 1999).

Les mécanismes neuroendocriniens qui régulent l'ovulation impliquent la sécrétion, pendant la période « pré-ovulatoire » de GTH II par l'hypophyse, sécrétion qui est stimulée par la *GnRH* hypothalamique et est parallèlement liée à un arrêt de la production de dopamine qui a une fonction inhibitrice (Peter et Yu 1997). Des effets *feed back* positifs pour la sécrétion de GnRH et *feed back* négatifs pour la levée de l'inhibition dopaminergique sont exercés par les stéroïdes sexuels. Les prostaglandines PGFs participent à l'induction de l'ovulation via une stimulation de la synthèse de protéases qui dégradent la paroi du follicule ovarien. En fait, l'ovulation est stimulée par une hormone stéroïdienne de type progestagène, telle que la 17α, 20β-P, qui constitue le signal chimique qui va induire l'ovulation et la ponte (Yaron 1995).

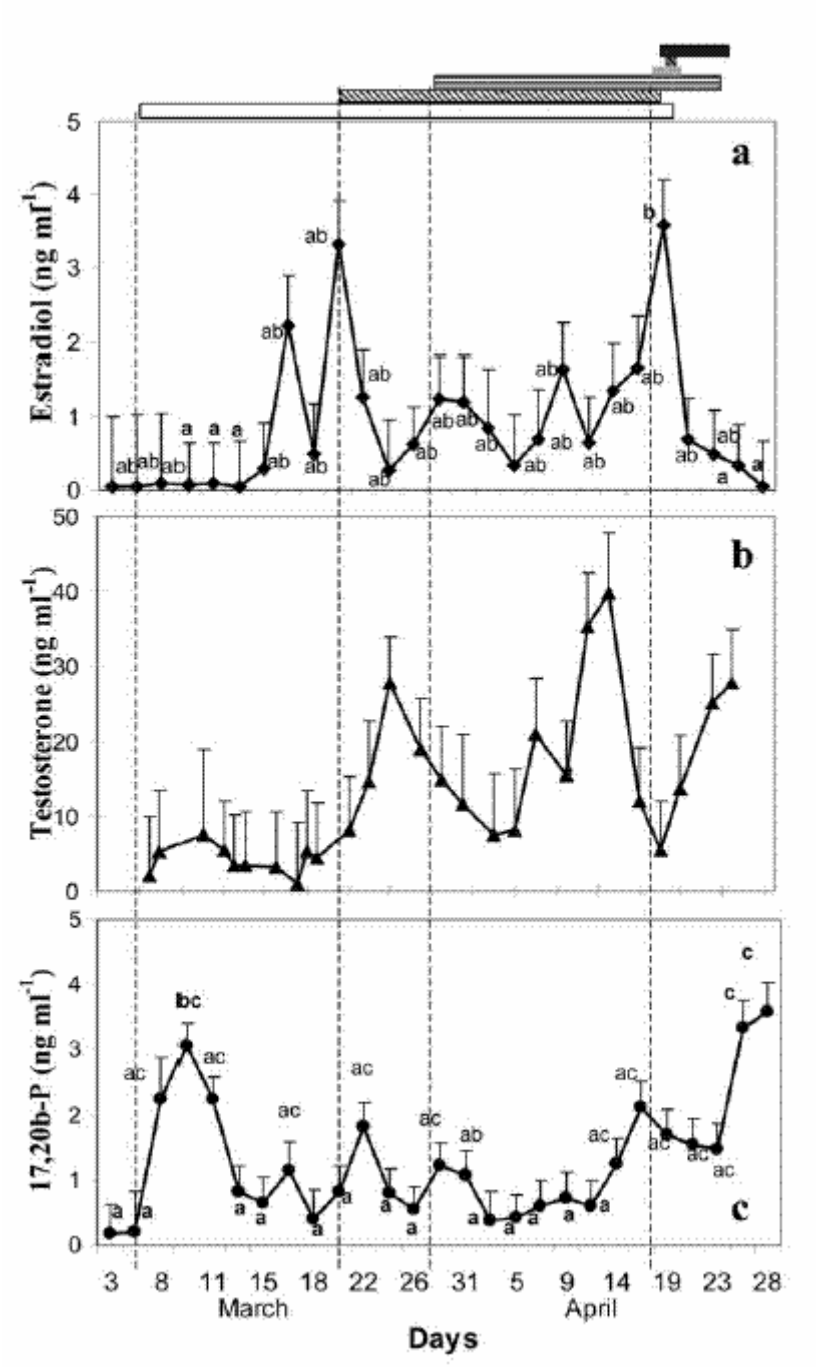


Figure 1 : Variations des teneurs plasmatiques en oestradiol, testostérone et 17,20β-P chez les femelles de perche commune (Perca fluviatilis) en période pré-ovulatoire selon Migaud et al. 2003b.

1.1.2. Phénomènes d'atrésie

Les ovocytes vitellogéniques non déhiscents (tous les ovocytes ne sont pas ovulés) qui restent dans l'ovaire après la ponte entrent en dégénérescence et deviennent atrétiques (Bruslé et Quignard 2004). Des follicules atrétiques peuvent apparaître à tout moment du développement de l'ovocyte. L'atrésie est généralement déclenchée par des facteurs environnementaux comme la température, la photopériode, l'alimentation, des facteurs de stress…, ou physiologiques comme l'âge des géniteurs (Treasurer et Holliday 1981). L'atrésie folliculaire commence généralement par une prolifération et une hypertrophie des cellules de la granulosa. Les cellules folliculaires deviennent irrégulières. Une atrésie précoce liée à la dégénérescence d'ovocytes prévitellogéniques et vitellogéniques peut être provoquée accidentellement par une élévation de la température comme cela a été observé chez le gardon *Rutilus rutilus (*Lukšiené et Sandström 1994) ou chez la perche commune (Lukšiené *et al.* 2000).

1.1.3. Perception des facteurs environnementaux

1.1.3.1. Transduction des signaux environnementaux à l'axe reproducteur

Les facteurs environnementaux jouent un grand rôle dans les activités et comportements des poissons comme la migration, l'alimentation, la reproduction…..etc. Les principaux stimuli environnementaux qui influencent la physiologie et le comportement des organismes aquatiques sont la lumière, la température, les stimuli électriques et l'ensemble des substances chimiques (Bone *et al.* 1995 ; Bromage *et al.* 2001). La réponse à ces stimulations peut être immédiate et/ou peut induire des modifications à plus long terme. Par exemple, les variations photopériodiques constituent un stimulus important dans les schémas de reproduction. Les poissons possèdent des systèmes de détection et réception des signaux environnementaux ainsi que des systèmes afférents de transmission au système nerveux central (SNC).

La rétine et la glande pinéale sont les deux organes essentiels impliqués dans la détection des signaux photopériodiques. Ces signaux vont être interprétés au niveau du cerveau. Ces deux organes sont à la base de la cascade de transmission de l'information environnementale au niveau de l'axe cerveau - hypophyse – gonade. Les différents signaux externes et internes vont être intégrés par le système nerveux central pour une bonne synchronisation des processus biologiques impliqués dans la reproduction. La stimulation environnementale va

conduire à la synthèse de neuro-hormones (gonadolibérines, GnRH), qui vont elles-mêmes permettre la stimulation des gonades et la production de stéroïdes sexuels via la synthèse de gonadotropines hypophysaires (GTH) (Jalabert *et al.* 1998).

1.1.3.2. Hormones gonadotropes hypophysaires

Chez les poissons, il existe deux types de GTH, (GTH -I et GTH -II), correspondant à la FSH et la LH des mammifères. La GTH -I joue un rôle dans les premières étapes de la gamétogenèse des poissons alors que GTH -II stimule les étapes finales (Swanson 1991 ; Van der Kraak et Wade 1994 ; Jobling 1995 ; Bon *et al.* 1999) (figure 2). Un certain débat demeure sur le nombre de GTHs présentes chez les femelles des téléostéens. Une seule GTH contrôle la spermatogenèse et la spermiation tandis qu'une ou plus, généralement deux (une chez le poisson rouge *Carassius auratus* et deux chez la carpe *Cyprinus carpio* et le saumon chum *O. keta*) contrôlent l'ovogenèse, la vitellogenèse (incorporation de vitellogénine VTG) et l'ovulation.

En fonction du sexe et du cycle de reproduction, les GTHs stimulent la synthèse de différents stéroïdes comme la testostérone (T), la 11-kétotestostérone (11-KT), la 17β-oestradiol (E2) et des progestagènes. La dualité des gonadotropines est généralement connue chez les salmonidés et chez la plupart des cyprinidés (Yaron 1995). Chez les femelles de truite arc-en-ciel, le profil saisonnier des niveaux plasmatiques en GTH I a semblé être multiphasique. Les phases successives de niveaux élevés de GTH I semblent être reliées au déclenchement de la croissance ovarienne et à la vitellogenèse et aussi, à la synchronisation des étapes tardives de la maturation et de l'ovulation. En revanche, le profil saisonnier des teneurs plasmatiques en GTH II est monophasique, avec un simple pic à l'ovulation, confirmant que la GTH II n'est pas associée à la croissance ovarienne, mais favorise la maturation et l'expulsion de gamète (Bon *et al*. 1999).

La synthèse de GtH-I augmente au moment du déclenchement de la vitellogenèse, se maintient durant cette phase et diminue avant la maturation finale de l'ovocyte. Au contraire, la synthèse de GtH-II semble commencer à la fin de la vitellogenèse et devient plus importante pendant la maturation de l'ovocyte et l'ovulation (Goetz 1983 ; Peter *et al.* 1991 ; Weil *et al.* 1995). La sécrétion de GTH-II par l'hypophyse est stimulée par les GnRHs (gonadotropine releasing hormone) libérées par l'hypothalamus. Aucune donnée existe sur le contrôle neuroendocrinien de la GTH-I. Il y a deux formes de GnRH, la GnRH de saumon (sGnRH) et la GnRH de la daurade (sbGnRH). La plus importante chez les poissons est la sGnRH, elle est proche de la GnRH des mammifères (Breton *et al*. 1972).

Le neuropeptide Y (NPY) a été découvert chez le poisson rouge (Kah *et al*. 1993) et la truite arc-en-ciel (Danger *et al.* 1991). Des expériences réalisées in vitro sur des fragments d'hypophyse de truite arc-en-ciel dans des milieux perfusés montrent que l'introduction de NPY stimule la sécrétion de GTH hypophysaire (Breton *et al*. 1989). Cependant, il existe un inhibiteur neurohormonal s'opposant à cette sécrétion de GTH-II, la dopamine (Trudeau 1997). C'est une amine biogène, voisine de l'adrénaline, contenue dans le noyau pré-optique de l'hypothalamus. 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) présents dans 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'hypophyse associée au blocage de l'effet inhibiteur dû à la dopamine constitue un mécanisme neuroendocrinien important permettant la libération de GtH-II en période pré-ovulatoire chez de nombreuses espèces (Peter *et al*. 1991 ; Peter et Yu 1997).

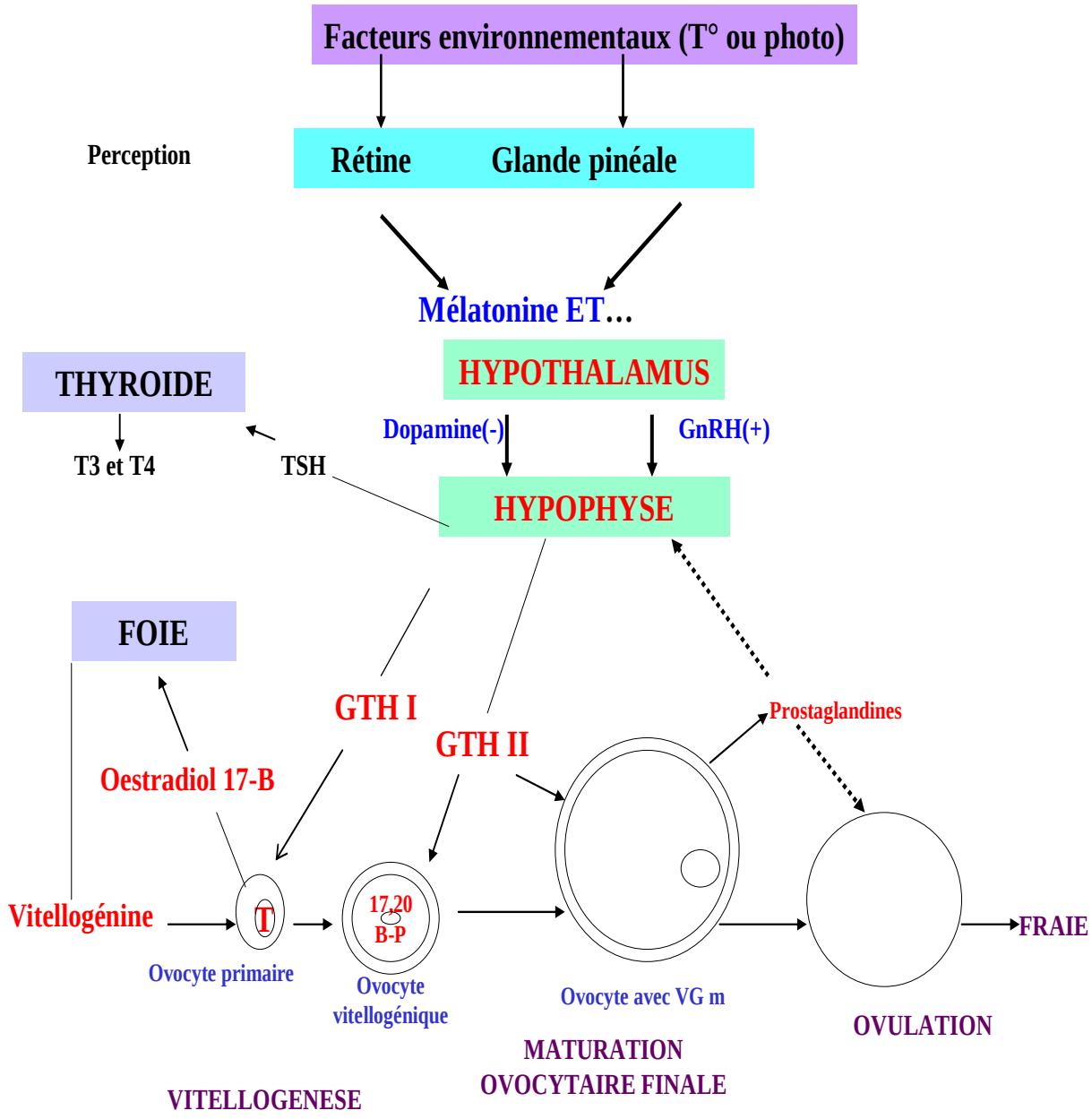


Figure 2 : *Schéma récapitulatif de l'influence des facteurs environnementaux, via les synthèses hormonales, sur les principales étapes du cycle gamétogenètique chez les poissons Téléostéens femelles selon Migaud (2002).*

1.2. CONTROLE ENVIRONNEMENTAL DES CYCLES DE REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS.

1.2.1. Cycles saisonniers de reproduction chez les poissons d'eau douce tempérée

Les espèces des régions tempérées et des zones froides (moyennes et hautes latitudes) présentent des cycles saisonniers de reproduction (Billard et Breton 1981 ; Munro *et al.* 1990), qui permettent l'émergence des larves et juvéniles aux meilleurs moments, c'est-à-dire à une période où la disponibilité en nourriture appropriée, généralement du zooplancton, est maximale, tant par la taille des proies que par leur qualité, optimisant ainsi leur chance de survie (Sumpter 1990). Chaque cycle de reproduction débute dès la fin du cycle précédent et généralement dès la résorption des produits sexuels non émis avec une dégénérescence et une élimination des ovocytes non pondus chez les femelles, c'est-à-dire pendant le repos sexuel. Par comparaison avec ces poissons, les poissons tropicaux, notamment les poissons des eaux profondes, et les espèces cavernicoles, qui vivent dans un environnement stable, n'ont pas des cycles de reproduction saisonniers, ils émettent leurs gamètes tout au long de l'année, avec des périodes de reproduction plus intenses que d'autres (Bruslé et Quignard 2004). Les cycles saisonniers de reproduction sont synchronisés par les évènements climatiques régionaux et locaux (variations de la photopériode et de la température, diminution de la pression atmosphérique, crues, saison des pluies et saison sèche …). En fait, sous nos latitudes, ils sont essentiellement sous le contrôle de la température et de la photopériode, le couple température - lumière, étant pratiquement indissociable dans la nature, tant chez les espèces d'eau douce (Billard *et al.* 1981 ; Poncin 1996) que chez les espèces marines (Carrillo *et al.* 1989). A ces facteurs fondamentaux se superposent ou même parfois se substituent d'autres facteurs comme la hauteur d'eau (saison des pluies en région tropicale), la disponibilité trophique qui conditionne le niveau des réserves énergétiques des géniteurs...

La perche commune qui sera mon objet d'étude, est un poisson qui présente une ovogenèse de type groupe–synchrone dans lequel on peut distinguer deux populations d'ovocytes : une population composée de gros ovocytes au développement plutôt synchrone et une population assez hétérogène composée de plus petits ovocytes. C'est le cas de la majorité des poissons téléostéens d'eau douce tempérée (Wallace et Selman 1981). La ponte intervient naturellement une fois par an au mois d'avril en Lorraine quand la photopériode et la température augmentent respectivement à 12L : 12O et 12-14°C. Une classification basée sur

l'analyse des traits biologiques liés à la reproduction et regroupés dans une base de données spécifique (STOREFISH, Teletchea *et al.* 2008), a permis de regrouper les espèces et de proposer des groupes fonctionnels en lien avec des stratégies de reproduction. Il en ressort d'une part que les paramètres biologiques les plus structurants sont étroitement liés à la saisonnalité des événements et par conséquent aux variations annuelles de température et de photopériode et d'autre part que la perche commune appartient au groupe des pondeurs printaniers précoces (Teletchea *et al.* 2009a).

1.2.2. Facteurs environnementaux

Chez les poissons des eaux tempérées qui présentent un cycle saisonnier, leur cycle de reproduction est fortement influencé par les variations de la photopériode et/ou de la température (Bromage *et al.* 2001 ; Migaud *et al.* 2010 ; Taranger *et al.* 2010). La manipulation de ces deux facteurs a permis d'obtenir la reproduction hors saison naturelle de reproduction chez de nombreuses espèces. Par exemple, la photopériode a été utilisée en salmoniculture pour induire la reproduction en dehors de la saison naturelle (Bromage *et al.* 1995). Plus récemment la photopériode a été utilisée par les pisciculteurs pour retarder ou empêcher la reproduction chez quelques espèces et éviter une maturité sexuelle trop précoce qui réduirait notamment la croissance (Bromage *et al.* 2001).

Les poissons des eaux tempérées ont été classés en trois grands groupes principaux en fonction du déterminisme environnemental de leur cycle de reproduction, c'est-à-dire le lien existant entre les variations saisonnières des stimulations environnementales et la succession des événements majeurs d'un cycle de reproduction (Wang *et al.* sous presse) (tableaux 3, 4 et 5) :

Le premier groupe est composé de salmonidés. L'induction du cycle chez les espèces de cette famille est initiée par l'augmentation de la photopériode alors que la vitellogenèse et la fin du cycle sont synchronisées par la diminution de la photopériode et dans certains cas la diminution de la température comme chez le saumon atlantique *S. salar* (Pankhurst et Porter 2003) (tableau 6).

Le deuxième groupe concerne les moronidés, les percidés et les gadidés. L'induction du cycle chez les poissons de ces familles est contrôlée par la diminution de la photopériode et de la température. Une période froide ou de « vernalisation » est nécessaire pour la vitellogenèse. Cependant, la fin du cycle serait synchronisée par l'augmentation de la température.

Enfin le troisième groupe associe des cyprinidés. L'induction du cycle est initiée, soit par la diminution de la photopériode, soit par la diminution de la température alors que la fin du cycle nécessite l'augmentation de la température et le dépassement d'un seuil thermique.

Les variations de température et de photopériode étant couplées dans le milieu naturel, chacune est susceptible d'interagir avec l'autre. L'influence combinée de la durée et de l'intensité d'application de ces deux facteurs est généralement très stricte dans la nature et responsable de différences interspécifiques avec des décalages temporels dépendant des conditions climatiques locales (Bruslé et Quignard 2004). La reproduction des poissons des eaux douces tempérées est fortement influencée par la photopériode et la température (Van Der Kraak et Pankhurst 1997).

	Induction - vitellogenèse	**Vitellogenèse- stage finale**	
Espèces	**Diminution photopériodique**	**Augmentation photopériodique**	**auteurs**
Coregonus shiniz palea	Exigée (suggérée)	Exigée (suggérée)	Gillet. 1991
Oncorhynchus mykiss	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Witehead *et al.* 1978 ; Bon *et al*. 1997 ; Davies et Bromage. 2002.
Oncorhynchus tshawytsha	Exigée (suggérée)	Exigée (très suggérée)	Johnson. 1984 ; Zaugg *et al.* 1986.
Salmon salar	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Taranger *et al.* 1998 ; 1999.
Salvelinus fontinalis	Exigée	Exigée (montrée)	Holcombe *et al.* 2000.
Salvelinus alpinus	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Duston *et al.* 2003 ; Frantzen *et al.* 2004.

Tableau 3 : Changements photopériodiques exigés pour l'induction et la phase finale du cycle chez quelques espèces du premier groupe, (montrée)= connaissance assez claire, (très suggérée)= fortes évidences mais besoin de le démontrer par la recherche, (suggérée)= le résultat a été cité dans la référence bibliographique mais le niveau de preuve est faible (Wang et al. sous presse).

Paralichthys lethostigma	Exigée (suggérée)	Exigée (suggérée)	Pas étudiée	Non nécessaire	Pas nécessaire	Smith *et al.* 1999 ; Watanabe *et al.* 2006.
Paralichthys dentatus	Exigée (suggérée)	Exigée (suggérée)	Pas étudiée	Pas nécessaire	Pas nécessaire	Watanabe *et al.* 1998.
Gadus morhua	Exigée (montrée)	Pas nécessaire (hypothèse)	Exigée (très suggérée)	Pas nécessaire	Possible exigée	Buckley *et al.* 2000 ; Hansen *et al.* 2001 ; Norbberg *et al.* 2004 ; Van der Meeren et Ivannikov, 2006.
Melangrammus aegfeinus	Exigée (très suggérée)	Pas nécessaire (hypothèse)	Exigée (très suggérée)	Non étudiée	Pas étudiée	Buckley *et al.* 2000 ; Martin-Robichaud et Berlinsky. 2004.
Perca flavescens	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Exigée (très suggérée)	Exigée (montrée)	Pas étudiée	Hokanson, 1977 ; Ciereszko *et al.* 1997 ; Kolkovski et Dabrowski. 1998 ; Shewmon *et al.* ; 2007.
Sander vitreus	Exigée (suggérée)	Exigée (suggérée)	Exigée (suggérée)	Exigée (montré)	Pas étudiée	Hokanson. 1977 ; Malison *et al.* 1998.
Sander lucioperca	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Exigée (suggérée)	Exigée (montrée)	Pas étudiée	Schlumberger et Proteau. 1996 ; Zakes et Szczepkowski. 2004 ; Ronayai. 2007 ; Zakes. 2007.
Sparus aurata	Exigée (très suggérée)	Non nécessaire	Pas nécessaire	Non nécessaire	Pas étudiée	Kadmon *et al.* 1985 ; Zohar *et al.* 1995 ; Kissil *et al.* 2001.
Dicentrarchus labrax	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Facultatif (très suggérée)	Pas étudiée	Zanuy *et al.* 1986, 1995 ; Carrillo *et al.* 1989, 1991, 1995 ; Prat *et al.* 1999.
Morone chrysops	Exigée (suggérée)	Exigée (hypothèse)	Exigée (hypothèse)	Exigée (hypothèse)	Pas étudiée	Berlinsky *et al.* 1995 ; Smith *et al.* 1996.
Morone saxatilis	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Exigée (montrée)	Exigée (suggérée)	Pas étudiée	Vuthiphandchai *et al.* 2003 ; Clark *et al.* 2005.

Tableau 4 : Changements de photopériode et de température durant l'induction, la vitellogenèse et la phase finale du cycle chez quelques espèces du deuxième groupe, (montrée)= connaissance assez claire, (très suggérée)= fortes évidences mais besoin de le démontrer par la recherche, (suggérée)= le résultat a été cité dans la référence bibliographique mais le niveau de preuve est faible, (hypothèse)= les données disponibles conduisent à cette hypothèse (Wang et al. sous presse).

	Induction -vitelogenèse		Vitellogenèse-stage finale		
espèces	**Diminution photopériode**	**Diminution température**	**Augmentation température**	**Augmentation photopériode**	**auteurs**
Gobio gobio	Optionnel si la diminution température (montrée)	Optionnel si la diminution photopériode (montrée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	Kestemont. 1990 ; Kestemont *et al.* 1990
Carassius auratus	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Optionnel si la diminution photopériode (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (suggérée)	Gillet *et al.* 1978
Cyprinus carpio	Optionnel si la diminution température (très suggérée)	Optionnel si la diminution photopériode (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	Exigée si d'abord baissée (très suggérée)	Rothbard et Yaron. 1995 ; Dvies et Hanyu. 1986 ; Davie *et al.* 1986a,b
Squalus cephalus	Optionnel si la diminution température (hypothèse)	Optionnel si la diminution photopériode (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	Exigée si d'abord baissée (suggérée)	Poncin *et al.* 1987, 1989
Notemigonus crysoleucas	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	De Vlaming. 1975
Rutilus rutilus	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (montrée)	Exigée si d'abord baissée (très suggérée)	Worthington *et al.* 1982 ; Jafri. 1989.
Dentex dentex	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Optionnel si la diminution température (suggérée)	Exigée si d'abord baissée (suggérée)	Pas étudiée	Pavllidis *et al.* 2000, 2001 ; Loir *et al.* 2001 ; Rueda et Martinez. 2001.

Tableau 5 : Changements de photopériode et de température durant l'induction, la vitellogenèse et la phase finale du cycle chez quelques espèces du troisième groupe, (montrée)= connaissance assez claire, (très suggérée)= fortes évidences mais besoin de le démontrer par la recherche, (suggérée)= le résultat a été cité dans la référence bibliographique mais le niveau de preuve est faible, (hypothèse)= les données disponibles conduisent à cette hypothèse (Wang et al. sous presse).

	Initiation du cycle de reproduction			*Achèvement du cycle de reproduction*			
Espèces	**Photopériode dominante**	**Besoins thermiques spécifiques**	**Initiation de la gamétogenèse**	**Photopériode**	**Besoins thermiques spécifiques**	**Moment de ponte**	**Référence**
Salmo salar	augmentation	non	janvier–avril	diminution	oui	octobre–décembre	Taranger *et al.* (1999); Pankhurst et Porter (2003)
Oncorhynchus mykiss						décembre–mars	Stevenson (1987); Gall and Crandell (1992)
Salmo trutta						octobre–décembre	Jones & Ball (1954)
Hippoglossus hippoglossus	augmentation	non	janvier–juin	diminuer	oui	décembre–avril	Haug (1990); Norberg *et al.* (2001)
Gadus morhua	diminuer	non	juin–décembre	augmenter	oui	février–juin	Cohen *et al.* (1990); Davie *et al.* (2007*a*, *b*)
Dicentrarchus labrax	diminuer	oui	juin–décembre	augmenter	oui	janvier–juin	Moretti *et al.* (1999)
Perca fluviatilis	diminuer	oui	juin–décembre	augmenter	oui	mars–mai	Migaud *et al.* (2002); Wang *et al.* (2006)

Tableau 6 : Conditions environnementales exigées au début et à la fin du cycle de reproduction chez quelques téléostéens des eaux tempérées selon Migaud et al. (2010).

1.2.2.1. Photopériode

Les variations photopériodiques sont principalement responsables de la synchronisation des phases successives d'un cycle de reproduction chez la majorité des poissons des milieux tempérés (Bromage *et al.* 2001 ; Migaud *et al.* 2010). La prépondérance des variations photopériodiques a clairement été démontrée chez les salmonidés (Davies et Bromage 1991; Bromage *et al.* 2001; Taranger *et al.* 2010 ; Migaud *et al.* 2010). Davies et Bromage (1991) ont confirmé que la photopériode est le facteur déterminant principal de la synchronisation de la reproduction, la température de l'eau joue une influence régulatrice chez la truite arc-en-ciel. Cependant, l'effet de la photopériode est différent selon les espèces et dépend des effets de facteurs modulateurs comme la température, l'âge, la taille, la sex-ratio ou l'alimentation (Taranger *et al.* 1999a ; Oppedal *et al.* 2006 ; Taylor *et al.* 2008).

Plusieurs études montrent qu'une manipulation de la photopériode est une méthode efficace pour avancer, retarder ou empêcher la reproduction chez un grand nombre de poissons

d'élevage et plus particulièrement chez les salmonidés comme le saumon atlantique (Oppedal *et al.* 2006), la truite arc-en-ciel (Taylor *et al.* 2008), le saumon chinook (Unwin *et al.* 2005) ou le saumon rose (Beacham et Murray 1993 ; Beacham *et al.* 1994), les percidés comme la perche commune (Migaud *et al.,* 2003a ; Migaud *et al.,* 2006), ou la perche jaune (Ciereszko *et al.* 1997 ; Shewmon *et al.* 2007) et les moronidés comme le bar européen (Begtashi *et al.* 2004 ; Rodriguez *et al.* 2005) ou le loup américain (Clark *et al.* 2005).

1.2.2.2. Température

Chez les poissons des eaux tempérées, la température de l'eau joue une double action, elle est capable de moduler et réguler tous les processus physiologiques et endocrinologiques impliqués dans la gamétogenèse (Taranger *et al.* 2010). Elle interagit également avec le signal photopériodique pour synchroniser les étapes finales du développement gonadique et intervient plus spécifiquement à la fin du cycle de reproduction pour le déclenchement des pontes (Pankhurst et Porter 2003).

Bien que la température soit considérée comme un facteur mineur chez les salmonidés notamment pendant le début du cycle reproducteur (Bromage *et al.* 2001 ; Davies et Bromage 2002), elle est souvent considérée comme un facteur-clé chez les cyprinidés (Peter et Yu 1997). En plus chez les espèces qui se reproduisent au printemps comme les percidés et les moronidés, la baisse initiale de température joue un rôle important pour l'induction du cycle de reproduction (Dabrowski *et al.* 1996 ; Prat *et al.* 1999 ; Migaud *et al.* 2002 ; Clark *et al.* 2005). L'absence de variations de température peut inhiber le déroulement d'un cycle de reproduction. Ainsi chez le loup américain *Morone saxatilis* (Clark *et al.* 2005), aucun cycle de reproduction n'est observé sous des conditions thermiques élevées (18°C) quelles que soient les conditions photopériodiques testées (jours longs constants 15L : 9O ou photopériode naturelle). Certaines conditions de température sont nécessaires pour permettre à la gamétogenèse soit d'avancer jusqu'à certains stades de développement soit d'achever son cycle de développement comme chez le bar européen (Zanuy *et al.* 1986 ; Prat *et al.* 1999 ; Maňanós *et al.* 1997) et le loup américain (Clark *et al.* 2005). Chez certaines espèces, notamment les salmonidés, la température est considérée comme un facteur majeur pendant la fin du cycle de reproduction. La maturation ovocytaire et l'ovulation peuvent être inhibées quand la température dépasse certains seuils thermiques : 6°C chez le flétan atlantique (Brown *et al.* 1995), 8°C chez l'omble chevalier (Gillet 1991), 12°C chez le saumon atlantique (Taranger et Hansen 1993), ou 28°C chez la carpe herbivore *Ctenopharyngodon idella* (Glasser *et al.* 2004).

La température interagit avec la photopériode pour déterminer le moment de reproduction en fin du cycle. Chez le saumon atlantique, une diminution photopériodique brutale précoce (de 15L : 9O à 9L : 15O) au mois de décembre, suivie par une diminution thermique au mois de mars, avance la saison de reproduction par rapport aux lots témoins : conditions naturelles ou diminution photopériodique seule (King et Pankhurst 2007).

Enfin, la température est un facteur important qui synchronise la reproduction en fin de cycle chez un grand nombre de poissons des eaux tempérées (Pankhurst et Porter 2003 ; Pankhurst et King 2010). L'augmentation de la température augmente les taux des sécrétions hormonales chez les poissons qui se reproduisent au printemps, cependant cet effet ne peut pas être considéré chez les poissons qui se reproduisent en automne comme les salmonidés. Dans ce cas, les variations de la température produisent des variations dans l'expression de gènes et par conséquence, certaines activités de protéines impliquées dans les étapes critiques de la cascade endocrinienne (Pankhurst et Porter 2003). Par exemple, le prolongement d'une température élevée en automne décale ou réduit la capacité de la truite arc-en-ciel à produire de la 17,20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one en réponse à une injection de GnRH exogène (Pankhurst et Thomas. 1998).

1.2.2.3. Effet d'une température élevée

La reproduction des poissons des eaux tempérées est susceptible d'être affectée par une augmentation de la température de l'eau, particulièrement sous l'influence des changements climatiques (Pankhurst et King 2010). En condition d'élevage, il a été montré qu'une élévation de la température pendant la phase de maturation altère le steroïdogenèse gonadique, retardant ou empêchant la production des stéroïdes sexuels (Taranger *et al.* 2003).

Le début du cycle de reproduction chez les salmonidés est moins influencé par les variations de la température, autrement dit ces espèces ne nécessitent pas des conditions thermiques spécifiques pour l'induction de leur cycle de reproduction (Taranger *et al*. 1999a ; Pankhurst et Porter 2003). Ce constat semble également pouvoir être valable chez d'autres espèces comme *Hippoglossus hippoglossus* (Haug 1990 ; Norberg *et al*. 2001) et *Gadus morhua* (Cohen *et al*. 1990 ; Davie *et al*. 2007b). Chez la perche commune, une température élevée au début du cycle reproducteur en automne réduit la capacité reproductive, augmente le taux d'atrésie et désynchronise le développement des ovocytes (Lukšiené *et al.* 2000). Une température de 16°C en avril inhibe complètement l'ovulation chez *S. salar* (King et Pankhurst 2000).

L'effet d'une température élevée pendant la phase de vitellogenèse a été fortement étudié chez les salmonidés (Gillet 1991 ; Pankhurst *et al.* 1996), et notamment le saumon atlantique *S. salar L.* (Taranger et Hansen 1993 ; King et Pankhurst 2000 ; 2004) et d'autres espèces comme le loup atlantique (*Anarhichas lupus L.*) (Pavlov et Mokness 1994 ; Tveiten et Johnsen. 2001).

Une étude a été réalisée par Pankhurst *et al.* (1996) chez la truite arc-en-ciel sur l'influence des températures élevées sur la maturation des ovocytes (pendant la vitellogenèse), la production d'œufs reste normale jusqu'à 15°C, puis elle diminue significativement avec des températures plus élevées. Si la température est de 20°C pendant la phase de maturation des ovocytes, les ovocytes ne sont pas viables (Davies et Bromage 2002). Des températures entre 12 et 16°C retardent la maturation chez l'omble chevalier *Salvelinus alpinus* (Hokanson *et al.* 1973 ; Jobling *et al.* 1995).

Des géniteurs de *S. salar* ont été soumis à trois niveaux de température (14, 18 et 22°C) du milieu de l'été à la fin de l'automne. La température élevée de 22°C a induit des petits ovocytes et a réduit les taux de fécondité et de survie larvaire. Ce résultat s'est accompagné d'une réduction de la sécrétion d'oestradiol et par conséquence d'une diminution de la synthèse de la vitellogenine (King *et al.* 2003 ; Watts *et al.* 2004) (figure 3). Une température chaude pendant la vitellogenèse réduit la qualité des œufs, le taux de fécondation et augmente les malformations du chorion. Des résultats similaires ont été observés chez la truite commune (Campbell *et al.* 1994). Chez O. *mykiss*, une température maintenue entre 9-15°C pendant la vitellogenèse induit une fertilité élevée en comparaison à celle relevée chez des géniteurs maintenus à une température 18-21°C (Pankhurst *et al.* 1996). Chez cette espèce, le développement gonadique est arrêté si la température atteint 22-23°C (Chmilevsky 2000). L'exposition des géniteurs à une température trop élevée réduit la sécrétion des stéroïdes sexuels (E2, T) comme cela a été observé chez le loup atlantique *Anarhichas denticulatus* (Tveiten et Johnsen 2001) et la Pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Soria *et al.* 2008).

L'effet d'une température trop élevée est très variable, il dépend des espèces et du niveau d'avancement du cycle de reproduction (Kagawa *et al.* 1983, Khan *et al.* 1999) et des facteurs de régulation impliqués à chaque stade (Van Der Kraak et Pankhurst 1997). En résumé, une température trop élevée réduit la croissance des ovocytes ; cet effet s'accompagne d'une diminution de la sécrétion d'oestradiol et de la production de vitellogénine. Par conséquence elle réduit les performances reproductives (Pankhurst et King 2010).

Une température trop chaude a un effet à la fin du cycle de reproduction et plus particulièrement chez les salmonidés. Des études sur l'influence d'une température élevée

pendant la phase de maturation finale montre un décalage ou une inhibition de l'ovulation. Chez *S. alpinus*, une température de 11°C inhibe complètement l'ovulation, alors qu'une température de 8°C la décale (Gillet 1991). Chez S. *fontinalis* et *S. salar*, une exposition à des températures de 14-16°C en automne décale l'ovulation (Hokanson *et al.* 1973 ; Taranger et Hansen 1993). Chez tous les salmonidés, une ovulation sous une température trop élevée s'accompagne d'une diminution de la fertilité et de la survie des œufs (Pankhurst et King 2010). La teneur plasmatique en 17,20β-P présente un pic chez les femelles de saumon atlantique *S. salar* qui sont maintenues sous des températures froides, par contre ce pic a disparu sous une température élevée de 14-16°C (Taranger *et al.* 2003).

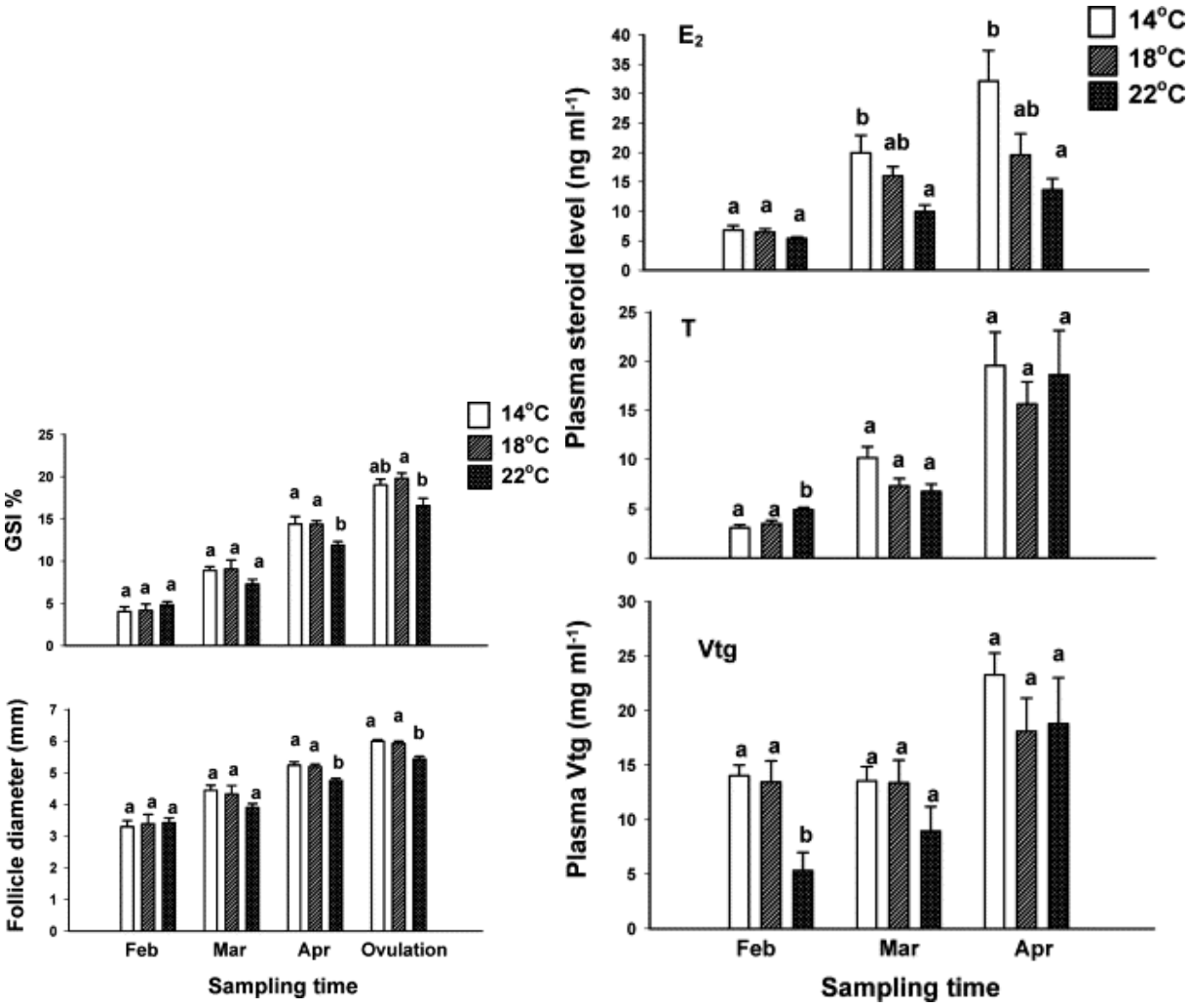


Figure 3 : Indice gonado-somatique, diamètre ovocytaire et teneurs plasmatiques en oestradiol (ng/ml), testostérone (ng/ml) et vitellogenine (mg/ml) (moyen ± SE) chez le saumon atlantique maintenu sous des températures de 14, 18 et 22°C pendant les mois de février – avril selon Watts et al. 2004.

L'effet principal d'une exposition à une température trop élevée est de retarder ou d'empêcher la production de stéroïdes liés à la maturation, soit en empêchant la synthèse de GTH II soit

en supprimant l'activité de la déshydrogénase 20β-hydroxysteroïde (20βHSD) ce qui empêche la conversion des précurseurs de la 17,20βP (Pankhurst et King 2010).
Finalement, l'effet des variations de la température pendant les phases de la vitellogenèse et de la maturation ovocytaire finale a été peu étudié chez les espèces non salmonicoles.

1.2.3. Rôle des variations photothermiques à différents stades du cycle de reproduction

1.2.3.1. Induction du cycle de reproduction

Le contrôle de cette partie du cycle de reproduction est indispensable chez les poissons d'élevage pour soit initier et synchroniser le cycle de reproduction ou soit au contraire empêcher l'induction du cycle et éviter une maturation sexuelle précoce.
Chez la majorité des espèces, le contrôle environnemental du cycle de reproduction est étudié de manière globale, sans distinguer les différentes phases d'un cycle de reproduction. En plus, les effets de la photopériode et de la température sont rarement dissociés. De nombreuses études ont montré que la direction du changement photopériodique est plus important que la longueur initiale de la photophase (Carrillo *et al.* 1993, 1995 ; Randall et Bromage 1998 ; Randall *et al.* 1988, 1998). L'augmentation de la photopériode est un facteur indispensable pour initier le cycle de reproduction chez les salmonidés (Bromage *et al.* 2001). Cependant, les diminutions de la photopériode et de la température sont les deux facteurs importants pour initier le cycle de reproduction chez les moronidés (Clark *et al.* 2005) et chez les percidés (Shewmon *et al.* 2007 ; Wang *et al.* 2006). Chez la perche commune, le programme photothermique s'appuie sur une diminution de la photopériode suivie par une diminution modérée de la température pour induire la totalité de géniteurs dans le cycle de reproduction (Wang *et al.* 2006).
A l'opposé, l'éclairement continu (LL) inhibe totalement le cycle de reproduction chez la perche commune (Migaud *et al.* 2004a ; 2006). Un éclairement continu (LL) peut être un moyen efficace de réduire la maturation précoce chez plusieurs espèces de poisson comme le bar, le saumon atlantique, la morue atlantique et le flétan atlantique. Un éclairement continu (LL) appliqué à partir du milieu de l'hiver réduit le taux de maturité précoce chez le saumon atlantique (Taranger *et al.* 1995 ; Porter *et al.* 1999a). Les effets d'un éclairement continu sur la maturité sexuelle varient selon les études (tableaux 7 et 8) et dépendent notamment du moment d'application de la manipulation photopériodique durant l'année (Taranger *et al.*

1998) et très probablement d'autres facteurs tels que la taille des poissons, le niveau d'adiposité et/ou le stade de développement gonadique (Taranger *et al.* 1999a). Dans certains cas, un traitement LL peut donner des résultats opposés avec une augmentation de la maturation précoce chez le saumon atlantique (Kråkenes *et al.* 1991 ; Endal *et al.* 2000). Toutefois, l'éclairement continu est une méthode coûteuse pour l'élevage des poissons. Aussi réduire la durée d'éclairement par l'application d'une photopériode constante avec une longue photophase pour bloquer ou empêcher l'initiation du cycle de reproduction peut être une méthode à privilégier pour la pisciculture.

Espèce	**Nom latin**	**Condition photopériodique**	**Auteurs**
saumon atlantique	*Salmo salar*	*24L : 0O (octobre)*	Oppedal *et al.* 2006
saumon chinook	*Oncorhynchus tshawytscha*	*24L : 0O (mai)*	Unwin *et al.* 2005
omble chevalier	*Salvelinus alpinus*	*De 18L : 6O à 8L : 16O (février)*	Duston *et al.*2003
truite de ruisseau	*Salvelinus fontinalis*		Holcombe et al. 2000
aiglefin	*Melanogrammus aeglefinus*	*24L : 0O (janvier ou juillet)*	Davie *et al.* 2007a.
bar européen	*Dicentrarchus labrax*	*24L : 0O (mai)*	Begtashi *et al.*2004 ; Rodriguez *et al.* 2005
dorade royale	*Sparus aurata*	*15.5L : 8.5O (fin juillet)*	Kissil *et al*, 2001 ; Gines *et al.* 2003, 2004
flétan atlantique	*Hippoglossus hippoglossus*	*LL à SNP Juin ou 18L : 6O+12mois cycle*	Norberg *et al.* 2001 ; 2004
turbot	*Hippoglossus hippoglossus*	*24L : 0O mars*	Imsland *et al.* 2003 ; Imsland et Jonassen. 2003
sole	*Solea senegalensis*	*24L : 0O mars*	Garcia-Lopez *et al.* 2006
tilapia du Nil	*Oreochromis niloticus*	*6L : 6D*	Biswas *et al*. 2005 ; Rad *et al*. 2006

Tableau 7 : Conditions photopériodiques utilisées en aquaculture chez différentes espèces pour retarder ou réduire le taux de maturation.

Espèces	Nom latin	Conditions photothermopériodiques	Auteurs
trompettiste rayé	*Latris forsteri*	*Cycle compressé de 9 M*	Morehead *et al.* 2000.
queue jaune	*Seriola quinqueradiata*	*Accélération des variations photothermopériodiques (septembre)*	Mushiake *et al.* 1994 ; Mushiake *et al.* 1998 ; Hamada et Mushiake 2006
dorade basse de la Mer Noire	*Cetropristis striata*	*Accélération des variations photothermopériodiques (décembre)*	Howell *et al.* 2003
truite arc-en-ciel	*Oncorhynchus mykiss*	*Avancement des variations photopériodiques (février)*	Taylor *et al.* 2008
saumon rose	*Oncorhynchus gorbuscha*	*Accélération des variations photopériodiques*	Beacham et Murray 1993 ; Beacham *et al.*1994
morue atlantique	*Gadus morhua*	*De Naturelle à LL (décembre)*	Hansen *et al.* 2001
truite arc en ciel	*Oncorhynchus mykiss*	*Accélération des variations photothermopériodiques (janvier)*	Bonnet *et al.* 2007
truite arc en ciel	*Oncorhynchus mykiss*	*Accélération des variations photopériodiques (décembre ou février)*	Bon *et al.* 1997
flétan atlantique	*Hippoglossus hippoglossus*	*6L : 18O+12mois cycle*	Norberg *et al.* 2004

Tableau 8 : Manipulations de la photopériode utilisées chez différentes espèces d'élevage pour avancer la saison de reproduction.

Chez la perche commune, appliquer un jour constant (16L : 8O) ou (12L : 12O) induit des réponses variables. Le maintien d'une photopériode constante avec une longue photophase (16L : 8O) induit seulement 54% de femelles gravides et 30% de mâles spermiants (Migaud *et al.* 2006) (figure 4), le taux de femelles gravides chute à 33-38% si la photopériode constante est de type 12L : 12O (Migaud *et al.* 2004b). Une inhibition complète a été observée chez la perche jaune sous des conditions photopériodiques constantes de type 14L : 10O (Shewmon *et al.* 2007). Dans ce dernier cas, le jour long et constant est appliqué depuis des stades précoces (juvéniles 1,7 g), alors que Migaud *et al.* (2004a ; 2006) ont appliqué les traitements photopériodiques sur des géniteurs plus âgés pesant 300g. De plus, lors de leurs

études, les géniteurs ont été soumis à une phase d'acclimatation d'un mois sous des conditions photopériodiques naturelles entre le17 juin et le 17 juillet 2000 (Figures 4 et 5).

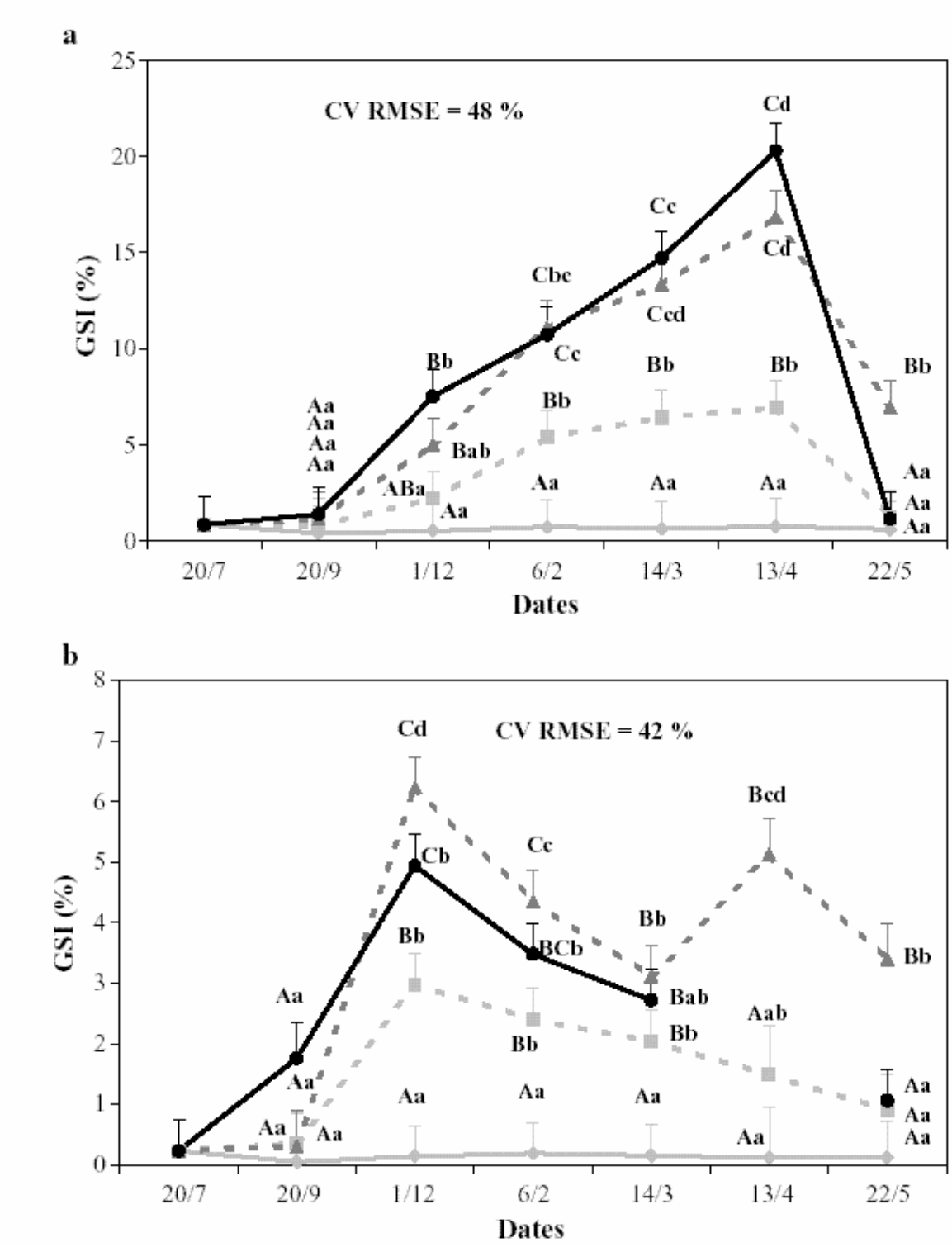


Figure 4 : Effets de régimes photopériodiques sur l'indice gonado-somatique chez la perche commune femelle (a) et mâle (b), (trait plein noir : photopériode naturelle, trait gris foncé en pointillés : photopériode naturelle simulée, trait gris clair en pointillés photopériode conctante 16 :8, trait plein gris : éclairement continu) selon Migaud et al. 2006.

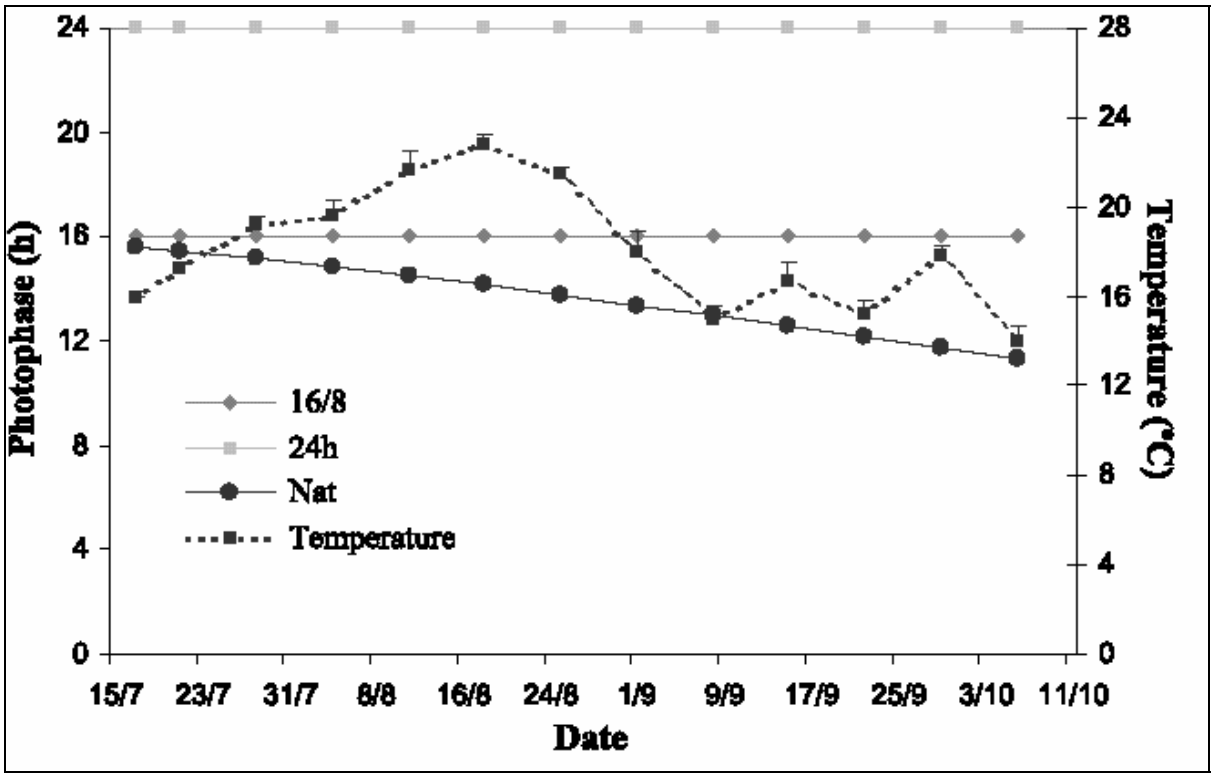


Figure 5 : Conditions photopériodiques testées (24 heures d'éclairement, photopériode constante 16L : 8O et photopériode naturelle) selon Migaud et al. (2004a).

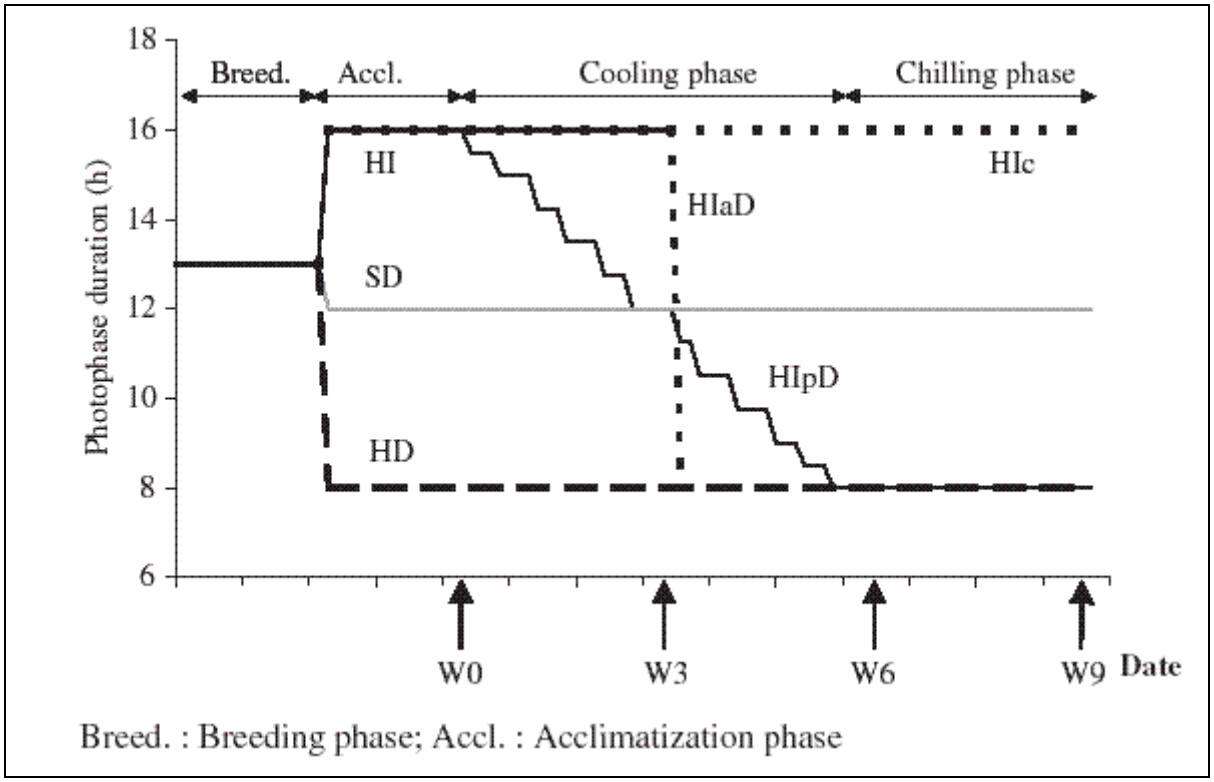


Figure 6 : Programmes photopériodiques testés pour l'induction du cycle reproducteur chez la perche commune en condictions contrôlées selon Fontaine et al. (2006).

Donc les poissons ont reçu une diminution photopériodique d'une heure. Wang *et al.* (2006) démontrent également qu'une diminution de la photopériode de 2 heures est suffisante pour induire la gamétogenèse. Cependant, une baisse de la photopériode d'une heure semble être suffisante selon Fontaine *et al.* (2006) pour induire le cycle de reproduction (figure 6).

Chez le saumon atlantique, il a été montré que les conditions photopériodiques appliquées pendant la phase d'élevage larvaire peuvent modifier la réponse future des géniteurs aux stimulations photopériodiques (Berrill *et al.* 2003 ; 2006). L'exposition à une durée de 8 ou 12 semaines de photopériode courte (10L : 14O) aux mois de mai ou juin pendant la première phase de croissance peut modifier la maturation chez le saumon atlantique *S. Salar* (Berrill *et al.* 2006). Chez la perche commune, l'histoire photopériodique vécue avant l'induction environnementale du cycle de reproduction joue également un rôle important, une augmentation photopériodique bloque l'induction de cycle (Fontaine *et al.* 2006) (figure 6).

Chez certaines espèces comme *O. mykiss* (Duston et Bromage 1986, 1988b, Randall *et al.* 1998), *G. morhua* (Norberg *et al*. 2004), *D. labrax* (Carrillo *et al.* 1995) ou *G. aculeatus* (Bornestaf et Borg 2000), il a été remarqué l'existence d'un cycle endogène de reproduction sous des conditions environnementales constantes. Par exemple, quand des femelles de truite arc-en-ciel sont maintenues sous des conditions photopériodiques constantes (6L : 18O) pendant 51 mois, elles montrent un rythme circannuel durant trois cycles. Pendant cette période, des différences marquées entre les individus et les saisons de reproduction ont été observées (Duston et Bromage 1991).

Le moment d'application du traitement photopériodique durant l'année agit fortement sur les poissons et leur aptitude à être entraînés dans un cycle de reproduction (Duston et Bromage 1986, 1988a ; Ranadall *et al.* 1998 ; Norberg *et al.* 2004 ; Davie *et al.* 2003). Par exemple, chez le bar, l'application d'un jour long sur une courte durée avant le solstice d'été avance le cycle de reproduction et induit un effet contraire s'il est appliqué après le solstice d'été (Carrillo *et al.*1993, 1995). Une exposition à deux mois de lumière continue à différents moments de l'année chez la truite arc-en-ciel induit des réponses variables (Randall *et al.* 1998).

Toutefois, dans ces études, la réponse des poissons à l'application d'une photopériode constante est liée aux conditions appliquées avant. Il faut également noter que, dans ces études, les poissons ont toujours été au préalable soumis à des conditions photopériodiques naturelles avant la manipulation photopériodique (tableau 9).

espèces	Nom latin	Conditions environnementales pré-expérimentales	Conditions environnementales expérimentales	Auteurs
truite arc- en-ciel	*Oncorhynchus mykiss*	*Naturelle 2ans*	*18L : 6O*	Duston et Bromage. *1988*
truite arc- en-ciel	*Oncorhynchus mykiss*	*Naturelle 2ans*	*24L : 0O*	Randall *et al. 1998*
bar	*Dicentrarchus labrax*	*Naturelle 4 mois*	*15L : 9O*	Rodriguez *et al. 2001*
loup américain	*Morone saxatilis*	*Naturelle 3ans*	*15L : 9O*	Clark *et al.* 2005
bar	*Dicentrarchus labrax*	*Naturelle 3ans*	*9L : 15O*	Mañanós *et al.* 1995

Tableau 9 : Conditions de photopériode appliquées avant et pendant la manipulation photopériodique chez quelques espèces.

L'effet d'une photophase longue et constante est lié aux conditions expérimentales. Les manipulations de la photopériode peuvent être moins efficaces dans des conditions extérieures en comparaison avec des conditions d'élevage en milieux fermés et contrôlés. Les résultats obtenus chez le bar (Rodríguez *et al.* 2001 ; Carrillo *et al.* 2010) et la morue atlantique *Gadus morhua* (Karlsen *et al.* 2006 ; Taranger *et al.* 2006) vont dans ce sens.

Les réponses à la manipulation photopériodique suggèrent que le cycle de reproduction est contrôlé par un rythme circannuel et ce rythme est en co-ordination avec les stimulations environnementales (*zeitgeber*) pour synchroniser et contrôler le timing nécessaire au déroulement d'un cycle de reproduction (Migaud *et al.* 2010).

Concernant les variations de la température, la diminution thermique joue un rôle très important pour l'initiation du cycle de reproduction chez les moronidés et percidés. La vitellogenèse n'est pas observée avant la diminution de la température chez le bar (Zanuy *et al*. 1986 ; Mananos *et al.* 1997 ; Prat *et al.* 1999) et le loup américain (Clark *et al.* 2005). Similairement chez les percidés comme la perche jaune et la perche commune la recrudescence gonadique n'augmente pas avant la diminution de la température (Hokanson 1977 ; Dabrowski *et al.* 1996 ; Ciereszko *et al.* 1997 ; Migaud *et al.* 2000, 2003, 2004a, 2006 ; Wang *et al.* 2006 ; Shewmon *et al.* 2007). Toutefois, l'effet de la température est lié aux variations photopériodiques. Ainsi le moment d'application de la diminution de la photopériode par rapport celle de la température constitue un facteur très important. Une diminution photopériodique précoce suivie par une diminution thermique modérée favorise une meilleure réponse des géniteurs (Wang *et al.* 2006). L'indice gonado-somatique (IGS%) est supérieur (3,8%) lorsque les femelles sont soumises à une faible diminution de température (de 23 à 14°C) appliquée 2 semaines après une diminution précoce de la

photopériode. Par contre, il est le plus bas (1,1%) après une forte diminution de température (de 23 à 6°C) et avec une diminution simultanée de la photopériode (figure 7). Cette étude montre que l'amplitude de la diminution de température et le moment d'application de la baisse de photopériode sont des deux facteurs majeurs contrôlant l'induction du cycle de reproduction chez la perche commune, la réponse des géniteurs pouvant cependant être modulée par les manipulations (stress) (Wang *et al.* 2006). Cette étude montre que la chute rapide de la photopériode et de la température joue un rôle négatif sur la vitellogenèse. Cet effet pourrait être lié soit au stress soit à l'insuffisance des stimulations environnementales.

En milieu naturel, la diminution de la photopériode et de la température est lente (22- 24 semaines) (Sulistyo *et al.* 1998), l'IGS et le diamètre ovocytaire augmentent progressivement jusqu'à la fin de la diminution de la photopériode et la température, puis restent constants jusqu'au commencement de l'augmentation de la température au printemps (figure 8). Ici, une question se pose : quel est le lien éventuel entre les stimulations environnementales et la gonadogenèse (vitellogenèse) ?

Enfin, l'effet de l'amplitude de la baisse de la température en relation avec les variations de la photopériode est méconnu.

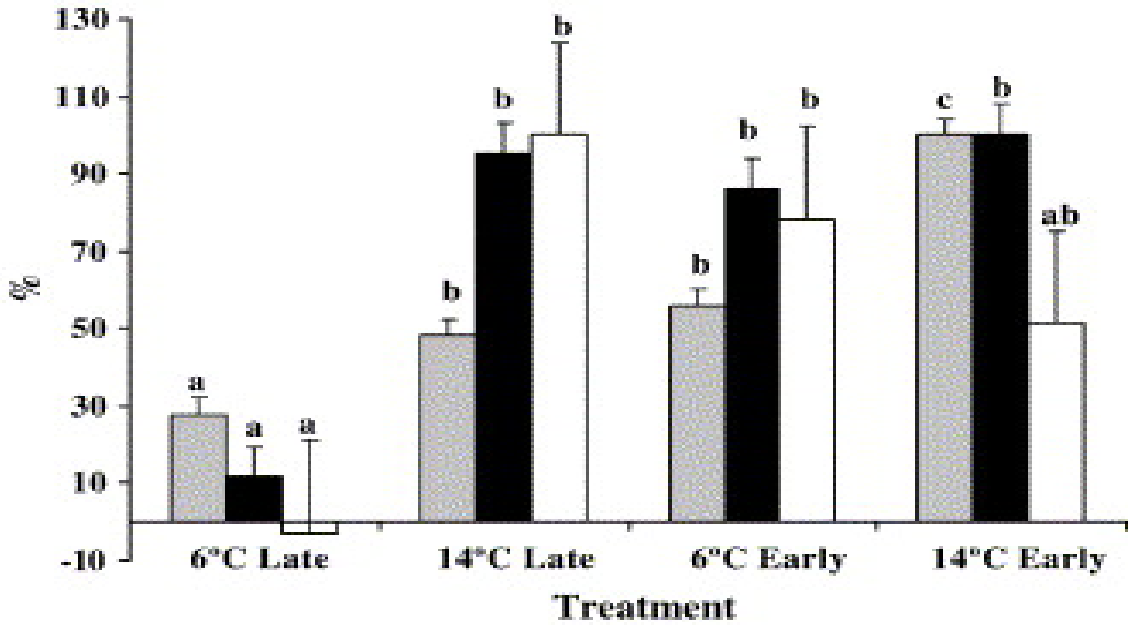


Figure 7 : Effet de la température en association avec le moment d'application de la diminution de la photopériode sur l'augmennation de l'IGS (barres grises), du taux plasmatique d'E2 (barres noires) et de la consommation du tissu adipeux périviscéral (barres blanches) selon Wang et al. (2006).

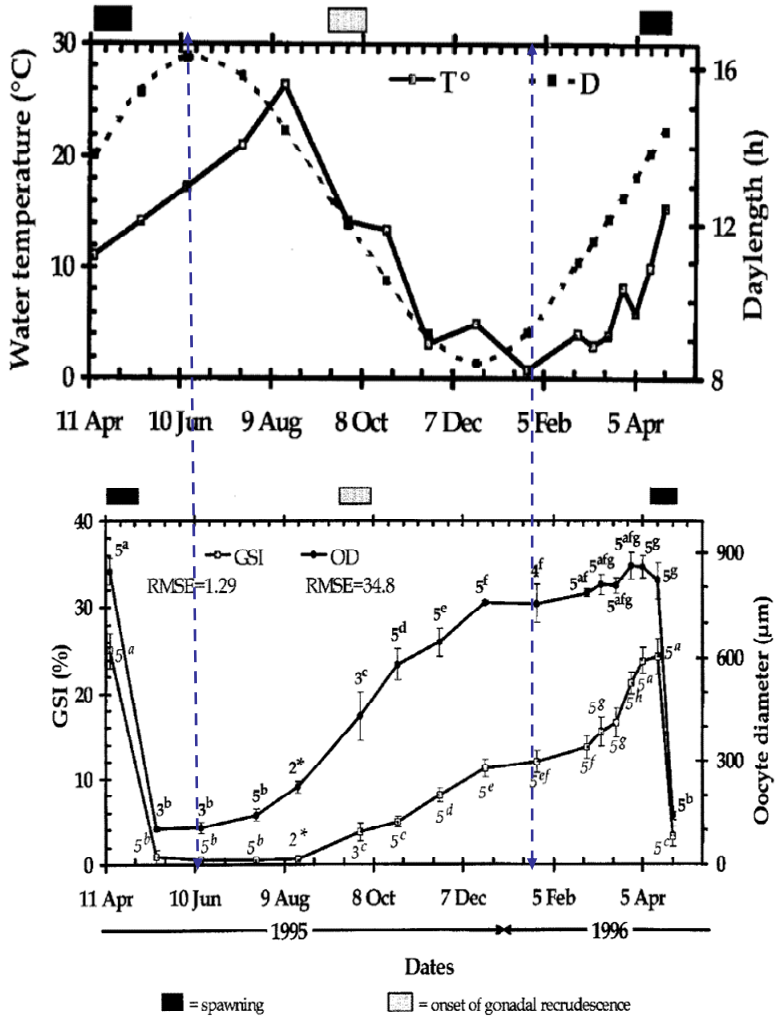


Figure 8 : Evolution du diamètre ovocytaire (DO) et de l'indice gonado-somatique (IGS) chez des géniteurs femelles de perche commune en relation avec les variations photo-thermopériodiques observées en milieu naturel selon Sulistyo et al. (1998).

1.2.3.2. Ovogenèse

Chez certaines espèces de moronidés et de percidés, l'ovogenèse nécessite une période avec des températures froides (vernalisation) pour un bon déroulement de la gamétogenèse et être capable de se reproduire, comme la perche commune (Migaud *et al.* 2004b), la perche jaune (Ciereszko *et al.* 1997) ; le bar (Zanuy *et al.* 1996 ; Carrillo *et al.* 1995) et le loup américain (Clark *et al.* 2005). La température de vernalisation est variable selon l'espèce, des températures inférieures à 15°C chez le bar (Carillo *et al.* 1995), à 10 chez la perche jaune et la perche commune (Hokanson 1977 ; Gillet et Dubois 2007) et à 17°C chez le loup américain (Clark *et al.* 2005) sont recommandées. Chez la perche commune, 20% des femelles se sont reproduites après 85 jours de vernalisation à 9-10C et 111 jours à 14-15°C, mais les œufs n'étaient pas fécondés. Par contre après 113 jours à 6-8°C, 50% des femelles pondent et le taux d'éclosion avoisine 20% (Abi-Ayad 1997).

Chez la plupart des espèces d'eau douce tempérée, la température joue un rôle modulateur, c'est-à-dire qu'il y a des limites thermiques entre lesquelles le déroulement du cycle de reproduction sera optimal et en dehors desquelles le cycle de reproduction sera perturbé. Par exemple, une température trop froide (9°C) retarderait la vitellogenèse et la croissance des ovocytes en comparaison à une température plus élevée (15°C) chez la truite arc-en-ciel (Mackay et Lazier 1993). Une température supérieure à 6° baisse la production d'œufs et la survie larvaire chez le flétan (Brown *et al.* 1995).

La durée de vernalisation doit être longue chez la perche commune (Migaud *et al.* 2002). Une période de 5 mois (6°C) 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 vernalisation (Migaud *et al.* 2002). La majeure partie des ovocytes était mature avec une durée de vernalisation de 5 mois (Migaud *et al.* 2002) (figure 9).

Une performance reproductive nulle (aucune ponte obtenue) a été observée en appliquant un protocole photo-thermopériodique sous des conditions contrôlées (Wang 2006). Les ovocytes étaient atrétiques à la fin de l'application du protocole qui était basé 1- sur une diminution brutale de la photopériode (de 16h à 8h) suivie par une diminution thermique rapide (de 23 à 8 ou 3°C pendant 6 semaines) pour l'induction de la gonadogenèse, 2- puis une phase de vernalisation (3 ou 8°C) durant 3 mois et 3- un réchauffement de l'eau à 14°C pendant deux semaines. Ces mauvaises performances de reproduction pourraient être liées à l'inadaptation

des conditions environnementales appliquées à un ou plusieurs moments du cycle de reproduction (induction, vernalisation, ponte).

Le rôle de cette phase de vernalisation et ses modalités d'application sont une énigme ? A quel niveau la température agît-elle ? Comment la vernalisation affecte-t-elle la qualité de l'ovogenèse et des ovocytes expulsés par la femelle lors de la ponte ? Y-a-t-il une durée de vernalisation incompressible ? Y-a-t-il un seuil en dessous duquel il faut impérativement se maintenir ? La durée de vernalisation était-elle dépendante de la température appliquée (besoin de recevoir une quantité de frigories ?) ?

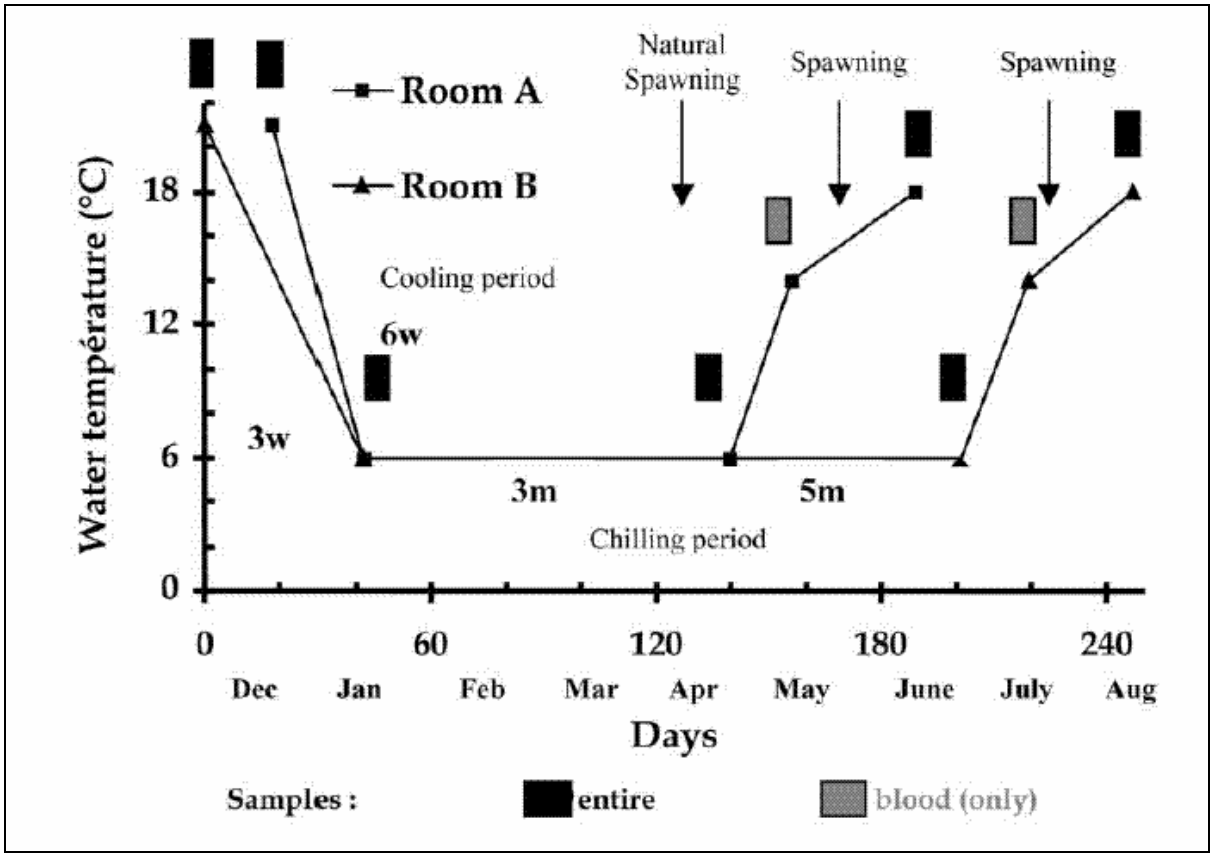


Figure 9 : Premier programme thermique utilisé pour obtenir la reproduction hors saison naturelle sous des conditions photopériodique constante (12L : 12O) en milieu fermé selon Migaud et al. 2002.

1.2.3.3. Maturation finale et ponte

Après la période de vernalisation, une période de réchauffement de l'eau est nécessaire pour compléter la maturation des ovocytes et la ponte chez les percidés comme la perche commune et la perche jaune (Wang *et al.* sous presse). A l'opposé, un refroidissement de l'eau apparaît comme un facteur important pour la maturation finale chez les salmonidés (Pankhurst et King 2010). Le maintien d'une température chaude en fin de cycle peut inhiber ou retarder la ponte chez un grand nombre d'espèces de salmonidés et chez d'autres espèces (tableau 10).

Chez la perche commune, le programme de déclenchement de la ponte s'appuie plutôt sur un réchauffement de l'eau (de 6 à 14°C) que sur une augmentation de la photopériode (Migaud *et al.* 2002 ; 2004b) (figure 10). En l'absence d'une phase de réchauffement, les femelles n'ont pas ovulé chez la perche jaune (Ciereszko *et al.* 1997). Chez la perche commune, une période de réchauffement d'un mois (de 6 à 14°C) a permis l'achèvement du développement des gonades, l'obtention de pontes et un taux de mâles spermiants d'un nombre significativement plus important de femelles et de mâles qu'avec un réchauffement de l'eau sur une période de deux mois. Avec un réchauffement sur un mois, 33 à 38% des femelles ont pondu et 17 pontes ont été récoltées avec des taux de fécondation de 5 à 90% (Migaud *et al.* 2004b) (figure 11).

Chez la perche jaune, Kayes et Calbert (1979) ont comparé dans une expérience préliminaire deux cinétiques photopériodiques différentes associées à une augmentation de la température de 4 à 14°C à partir du mois de février. Le taux de ponte était supérieur à 89% avec une augmentation progressive de la photopériode comme dans le milieu naturel et de 56% avec une photopériode maintenue constante. Les étapes finales du cycle de reproduction (maturation) peuvent être contrôlées par l'augmentation de la photopériode (Henderson 1963 ; Whitehead et Bromage 1980). Une augmentation de la photopériode à la fin de la période de vernalisation avance la reproduction d'un mois en comparaison avec le maintien de conditions naturelles chez la morue (Hansen *et al.* 2001). Donc, une augmentation de la photopériode pourrait jouer un rôle dans l'induction finale de la ponte chez la perche commune.

En conclusion, aucun protocole basé sur une manipulation des facteurs environnementaux déterminants dans le pilotage du cycle de reproduction, la photopériode et la température, ne permet l'obtention de pontes hors-saison de manière fiable (faibles taux de ponte et de fécondation). Cela s'explique en grande partie par une méconnaissance des rôles respectifs de la photopériode et de la température dans les différentes phases successives d'un cycle de

reproduction chez les femelles (induction de la gamétogénèse, vitellogenèse, induction de la maturation ovocytaire et de la ponte).

Espèces	Nom latin	Seuil thermique	Auteurs
flétan atlantique	*Hippoglossus hippoglossus*	≥ *6°C*	Brown *et al.* 1995
omble chevalier	*Salvelinus alpinus*	≥ *8°C*	Gillet 1991
clupea pallasi	*Clupea pallasi*	≥*10°C*	Hay 1986
perche jaune	*Perca flavescens*	≥*10°C*	Ciereszko *et al.* 1997
saumon atlantique	*Salmo salar*	≥*12°C*	Taranger et Hansen.1993
esturgeon blanc	*Acipenser transmontanus*	≥ *15°C*	Pankhurst *et al.* 1996 ; Webb *et al.* 1999
truite arc-en-ciel	*Oncorhynchus mykiss*	≥ *15°C*	Pankhurst *et al.* 1996 ; Webb *et al.* 1999
bar	*Dicentrarchus labrax*	≥ *17°C*	Zanuy *et al.* 1986
loup américain	*Morone saxatilis*	≥ *18°C*	Clark *et al.* 2005
sole	*Solea senegalensis*	≥ *18°C*	Garcia-Lopez *et al.* 2006
carpe herbivore	*Ctenopharyngodon idella*	≥ *28°C*	Glasser *et al.* 2004

Tableau 10 : Seuil thermique supérieur à partir duquel le cycle de reproduction sera perturbé et la maturation finale des ovocytes ou la ponte peuvent être inhibées chez quelques espèces des zones tempérées.

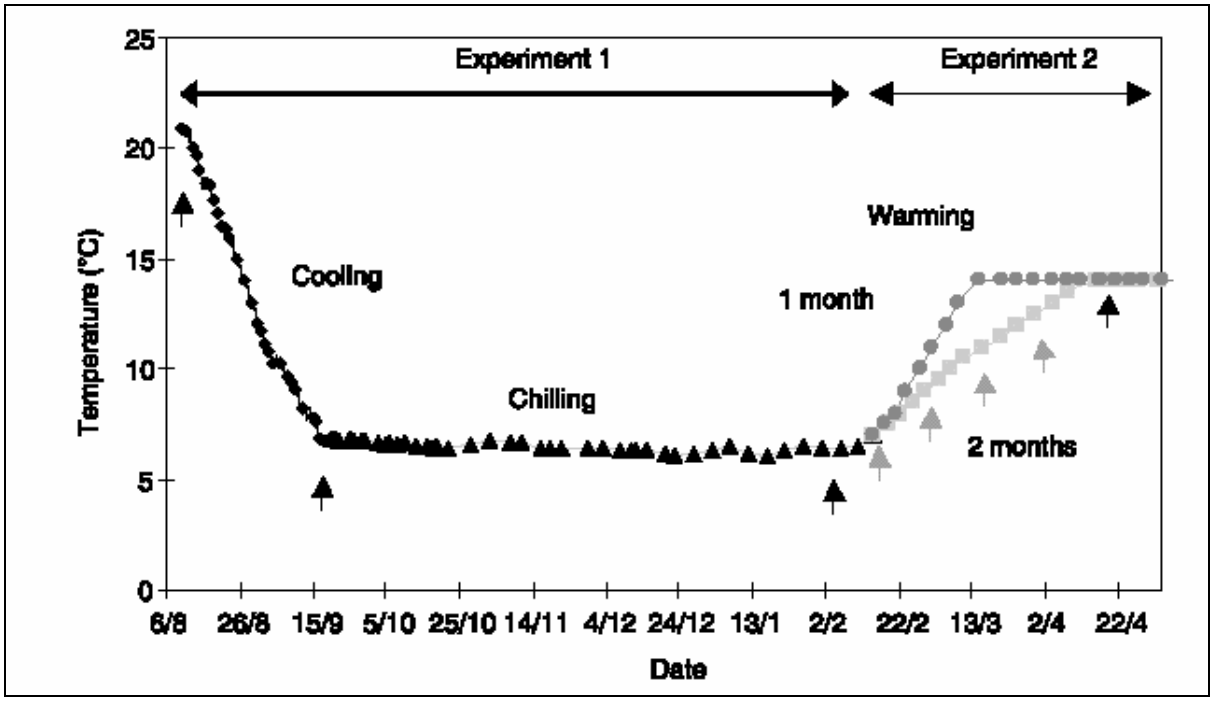


Figure 10 : Programme thermique utilisé pour obtenir la reproduction sous des conditions photopériodiques constantes (12L : 12O) en milieu fermé avec l'application de deux durées pour le réchauffement final de l'eau, 1 mois et 2 mois selon Migaud et al. (2004b).



Figure 11 : Pourcentage de femelles gravides, de ponte et de mâles spermiants en fonction de la durée du réchauffement de l'eau (6° à 14°C) selon Migaud et al. (2004b).

2. DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

2.1. PROBLÉMATIQUE SCIENTIFIQUE :

En Europe, l'élevage intensif des percidés, en particulier celui de la perche commune *Perca fluviatilis*, s'est développé au cours des 5 dernières années (Fontaine *et al.* 2008). Les systèmes d'élevage en circuit fermé supportent le développement de cette production. Ce mode d'élevage nécessite la maîtrise du cycle de reproduction pour atteindre deux principaux objectifs :

- Eviter la maturité sexuelle précoce pendant la production avant d'atteindre la taille commercialisable,
- Assurer une disponibilité en larves toute l'année.

De tels objectifs peuvent être atteints par la maîtrise des conditions environnementales à travers la gestion de la photopériode et de la température (Bromage *et al.* 2001 ; Taranger *et al.* 2010).

Concernant le premier objectif, il est acquis qu'un protocole photopériodique basé sur un éclairement continu (24L : 0O) peut inhiber complètement le cycle de reproduction sous des variations thermiques naturelles chez la perche commune (Migaud *et al.* 2004a). Toutefois, ce type de protocole est coûteux et en conséquence peu adapté à des conditions de pisciculture. Un protocole basé sur une photophase longue et constante (17 ou 16 heures) serait plus accessible pour les pisciculteurs. Une photophase de 16 heures peut inhiber partiellement le début du cycle de reproduction sous des conditions thermiques naturelles (Migaud *et al.* 2004a ; 2006). Carrillo *et al.* (2010) indiquent que l'application d'une telle photophase est surtout efficace avec des conditions contrôlées.

L'application d'une photophase longue et constante pendant toute la croissance peut-elle inhiber complètement le début du cycle de reproduction sous des conditions contrôlées ?

Jourdan (1999) a suggéré que, chez des perches en phase de croissance somatique (grossissement), une température supérieure à 20°C peut inhiber la gonadogenèse. Pour un futur géniteur, malgré une baisse de la photopériode, une température constante et supérieure à 20°C inhibe-t-elle la gonadogenèse comme c'est le cas chez le loup américain (Clark *et al.* 2005) ?

Concernant le deuxième objectif, de nombreuses études réalisées au sein de l'équipe DAC ont montré que des variations thermiques et photopériodiques sont nécessaires au bon déroulement du cycle de reproduction chez la perche commune. La gestion des facteurs

environnementaux (température et photopériode) a permis l'obtention de quelques pontes décalées hors saison (Migaud *et al.* 2002, 2004b ; Wang 2006). Ces pontes ont été de qualité très variable avec de mauvaises performances reproductives (faibles taux de ponte, de fécondation et d'éclosion). A noter que l'obtention de mâles seprmiants ne constitue pas un problème.

Pour mieux comprendre l'influence des variations photothermiques, on propose de diviser le cycle de reproduction est divisé en trois parties : induction du cycle, vernalisation (ovogenèse) et- phase finale et ponte :

Pour l'induction du cycle de reproduction, toutes les études se sont basées sur une diminution rapide de la photopériode (0 à 6 semaines) et de la température (3 à 6 semaines) (Sulistyo 1998 ; Migaud *et al.* 2002 ; Migaud *et al.* 2004b ; Fontaine *et al.* 2006 ; Wang 2006 ; Wang *et al.* 2006). Cependant, dans le milieu naturel, la durée de la diminution de la photopériode et de la température est plus longue (22-26 semaines).

Une étude récente a montré que la chute rapide de la température (de 23° à 6°C, en 3 ou 6 semaines) et de la photopériode (brutale ou progressive) réduit la vitellogenèse et augmente le stress chez les géniteurs de perche (Wang *et al.* 2006). Ici, on pose les questions suivantes : l'application d'une cinétique photo-thermopériodique proche des variations photothermiques du milieu naturel améliore-t-elle l'ovogenèse et plus particulièrement la vitellogenèse ?

Autrement dit, la vitellogenèse nécessite-elle d'augmenter la durée de la diminution de la photopériode et de la température pour bien se dérouler ?

La chute rapide des variations photo-thermopériodiques jouerait-elle un effet négatif sur la gamétogenèse?

Concernant l'amplitude de la diminution photopériodique, Fontaine *et al.* (2006) ont suggéré qu'une diminution d'une heure peut assurer l'induction de la gonadogenèse chez la perche. Or des résultats différents ont été observés par Migaud *et al.* (2003a). La réponse à une faible baisse de la photopériode est-elle modulée par d'autres facteurs comme la cinétique photo-thermique ? Existe-t-il une amplitude photopériodique minimale à partir de laquelle la gonadogenèse est induite ?

Wang *et al.* (2006) ont montré qu'une diminution thermique de faible amplitude (22°C à 14°C) précédée d'une diminution photopériodique favorise la vitellogenèse pendant l'initiation du cycle de reproduction. Cette faible amplitude thermique a été considérée comme optimale pendant l'induction de cycle. Des amplitudes de diminution de la température plus ou moins grandes ont-elles une influence sur la gonadogenèse ?

Pour l'ovogenèse, selon Mackay et Lazier (1993), une température basse retarde la vitellogenèse et la croissance des ovocytes chez la truite arc-en-ciel. D'un autre côté, une température élevée réduirait la vitellogenèse chez les salmonidés (King et Pankhurst 2010). Pour obtenir un bon déroulement de l'ovogenèse, il serait donc nécessaire de trouver un seuil thermique optimal et une photophase optimale.

En fin de cycle de reproduction, reste à déterminer le rôle respectif de la photopériode et de la température dans la synchronisation de la phase finale du cycle de reproduction. Quel est le facteur déterminant dans le déclenchement des pontes en fin de cycle chez la perche ?

Finalement, comprendre le rôle respectif de la photopériode et la température au cours des différentes étapes du cycle de reproduction (induction de cycle- vernalisation- maturation finale et pontes) doit permettre de proposer un protocole photo-thermopériodique sécurisé à appliquer sur les géniteurs de perche pour induire une reproduction en dehors de la saison naturelle de reproduction.

Considérant la capacité d'accueil limitée des structures expérimentales en place d'une part et le fait que le principal point de blocage pour le contrôle de la reproduction concerne l'obtention d'oeufs de qualité en grande quantité d'autre part, cette étude ne concernera que les femelles.

2.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.2.1. Matériels biologiques

Les géniteurs utilisés sont des poissons « domestiqués » fournis par la Société Lucas Perches (Hampont, Moselle, France) qui, elle-même, s'approvisionne en juvéniles sevrés (quelques grammes) auprès de la société Percitech (Chavornay, Suisse). Ces deux fermes aquacoles fonctionnent en circuit fermé. L'histoire de ces animaux (parcours de domestication) reste cependant méconnue. Les alevins réceptionnés au laboratoire ont été placés dans des bacs de 1700L, puis dans les bacs 6000L. Globalement, les poissons réceptionnés ont été élevés depuis l'éclosion sous des conditions de température et de photopériode contrôlées et relativement constantes.

A partir de leur réception au laboratoire, les poissons ont été manuellement nourris à satiété, selon leur appétit et aussi la qualité de l'eau (pH, $NO2^-$, $NH4^+$ et O2 dissous). L'aliment est fourni par la société BioMar, il est de type Bio-optimal N°1.9, 3 et 4.5. Le type d'aliment utilisé dépend de la taille des poissons (tableau 11) :

	Protéines brutes	**Lipides bruts**	**Cendres**	**Fibres**
N° 1.9	48%	22%	8.3%	1.5%
N° 3	41 %	14%	7.3%	3.2%
N 4.5	44%	16%	7.3%	3.2%

Tableau 11 : Composition des aliments utilisés pour nourrir les poissons.

2.2.2. Structures expérimentales et qualité de l'eau

Deux salles climatisées ont été mobilisées pour nos études expérimentales (figure 12). Chaque salle était équipée de huit bacs de 500L fonctionnant en circuit fermé (figure 13).

Pour chaque expérience, la qualité de l'eau a été mesurée trois fois par semaine, le pH a été mesuré grâce à un pH-mètre (WTW pH/0xi 340i) et maintenu entre 7 et 7,5 par des ajouts de bicarbonate de soude $NaHCO_3$. La température et la teneur en oxygène dissous ont été mesurées grâce à un oxymètre (WTW pH/0xi 340i). La teneur en oxygène a été maintenue supérieure à 6 mg/L. Les concentrations en azote nitreux et azote ammoniacal total ont été mesurées par spectrophotométrie (UV-visible spectrophotométrie CARY IE, VARIAN) et sont restées inférieures 1mg/L (tableau 12).



Figure 12 : Salle climatisée et bacs de 500L couverts par une bâche de polyéthylène.

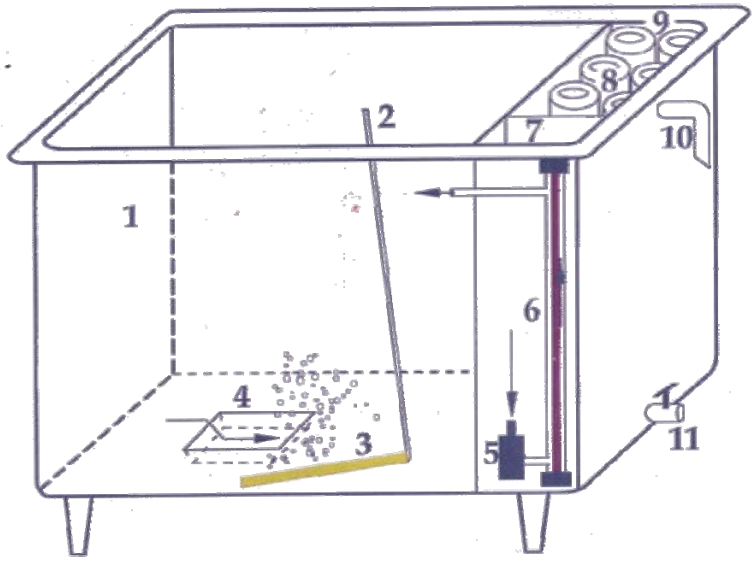


Figure 13 : Schéma d'un bassin de 500L fonctionnant en circuit fermé (Source : UR AFPA). 1=volume utile, 2=arrivée d'air surpressé, 3=diffuseur, 4=évacuation équipée d'une crépine, 5=pompe immergée (750 L.h^{-1}), 6=stérilisateur UV, 7=compartiment d'eau filtrée, 8=mousse de filtration, 9=compartiment de décantation et de filtration, 10=trop plein, 11=vanne de vidange, Flèches=circulation de l'eau.

	pH	O_2 (mg/L)	$NH4^+$ (mg/L)	$NO2^-$ (mg/L)
Expérience 1	7.3±0.1	9.2±1.8	0.12±0.07	0.10±0.05
Expérience 2	7.3±0.2	8.3±1.6	0.28±0.7	0.09±0.29
Expériences 3+4	7.5±0.3	10.6±2.2	0.13±0.3	0.37±2.50

Tableau 12 : Valeurs moyennes ± écart type des paramètres physico chimiques de l'eau.

2.2.3. Paramètres étudiés

2.2.3.1. Poids et indicateurs morpho-anatomiques

A chaque prélèvement, 5 poissons par bac étaient capturés. Ces individus ont été systématiquement anesthésiés (0.4 mL/litre de l'eau de 2-phénoxyéthanol, d=1.11g/ml). Le prélèvement de 5 poissons par bac a été décidé d'une part en visant à obtenir en moyenne 5 femelles par traitement et d'autre part en considérant les effectifs initiaux. Pour tout prélèvement, chaque géniteur était pesé à l'aide d'une balance (SARTORIUS, 0.2g) et disséqué pour son sexage, les gonades ont été prélevées et pesées à l'aide d'une balance (DENVER INSTRUMENT APX-323, 0.0001g).

A partir de ces données, l'indice gonado-somatique (IGS, %) a été calculé.

IGS (%) = (poids des gonades/poids total)*100.

2.2.3.2. Indicateurs histologiques

Des fragments de gonade on été prélevés lors des dissections et fixés dans une solution de Bouin Hollande pendant une semaine, avant d'être rincés trois fois et conservés dans l'éthanol absolu à 99,5% jusqu'à la réalisation des coupes histologiques. Le traitement histologique des gonades a été effectué au Département d'Histologie et d'Embryologie des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix (FUNDP**)** à Namur (Belgique) comme défini par Rinchard *et al.* (1996). Une procédure de déshydratation et d'enrobage dans de la paraffine à 58°C est appliquée sur les fragments d'ovaire à traiter. Les fragments d'ovaire 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 (hématoxyline Gille III, phloxine B 0.5%, vert lumière), déshydratées et montées au DPX (lame) (Langeron 1942).

La description histologique des différents stades du développement ovocytaire suit la classification établie par Malservisi et Magnin (1968) complétée par les travaux de Treasurer et Holliday (1981) et Rinchard *et al.* (1996) (tableau 2).
Pour chaque coupe histologique à l'aide d'un microscope optique équipé d'un oculaire micromètrique, la mesure du diamètre ovocytaire (DO) a été faite sur 20 ovocytes présentant le stade de développement le plus avancé.

2.2.3.3. Indicateur endocrinologique

Sur chaque poisson capturé et anesthésié, une prise de sang (1 mL) a été réalisée au niveau du pédoncule caudal, sous la ligne latérale de l'animal, grâce à une seringue héparinée. Les échantillons sanguins ont ensuite été placés dans de la glace pilée, puis centrifugés ultérieurement pendant 25 minutes à 4500 tpm afin de récolter le plasma qui a été congelé et conservé à –20C°. Ces échantillons ont permis le dosage des teneurs plasmatiques en 17β-oestradiol par la méthode ELISA (kits SpiBio, référence : 582251).
Le principe du dosage ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) repose sur la compétition entre une molécule à doser libre et un complexe de la même molécule liée à une enzyme, l'acétylcholine estérase (AchE) pour la fixation sur un nombre limité d'anticorps libres (antisérum) spécifiques de la molécule à doser. Les anticorps de l'antisérum sont ensuite captés par des anticorps spécifiques de l'antisérum et fixés sur la plaque.
Les échantillons dosés dans les trois expériences (1, 2, 3) ont été dilués 10 fois dans du tampon pour placer les valeurs de l'oestradiol au milieu de la courbe étalon.
L'oestradiol (E2) a été dosé en déposant 50µL d'échantillon dilués en 10 fois dans un puits avec 50µL de traceur et 50 µL d'antisérum. Le mélange a incubé ensuite pendant une heure à l'obscurité à température ambiante (phase d'incubation). Ensuite, un lavage a été appliqué cinq fois en utilisant un tampon de lavage afin d'éliminer les complexes non liés à la paroi de la plaque.
Enfin, 200µL d'un substrat de l'AchE (réactif Ellman) ont été déposés dans chaque puits et incubés pendant deux heures à température ambiante dans l'obscurité. Le substrat se dégrade et donne un métabolite coloré. La concentration de l'échantillon a ensuite été déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 405 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Biotek instruments GmbH).

Dosages

Expériences 1 : La sensibilité du dosage était de 20 pg.mL^{-1} et les coefficients de variation intra et inter analyse étaient de 5.7 et 19.0% respectivement, pour une concentration en plasma de 1470 pg.mL^{-1}.

Expérience 2 et 3 : La sensibilité était 210 pg.mL^{-1}, les coefficients de variation intra et inter analyse étaient de 6.3 et 10.2%, respectivement, pour une concentration en plasma de 3702 pg.mL^{-1}.

2.2.3.4. Ponte et fécondation

Les pontes ont été récoltées dans les bassins chaque jour (matin) en période de reproduction et la fécondation a été naturelle sans stripping ni injection hormonale. L'incubation des pontes a été réalisée dans une écloserie équipée de clayettes sous des conditions photopériodiques (12L : 12O) et thermiques (12°C) constantes.

Pour chaque bassin expérimental, le taux de pontes a été calculé à partir du nombre de pontes récoltées et du nombre de femelles gravides.

Trois jours après la ponte (36°J), trois fragments d'œufs ont été prélevés sur chaque ruban. 500 œufs/ponte ont été examinés pour évaluer le nombre d'œufs fécondés (figure 14) et déterminer les taux de fécondation.

Le taux de pontes fécondées a été calculé de la même manière en considérant le nombre de pontes fécondées par rapport au nombre total de pontes récoltées.

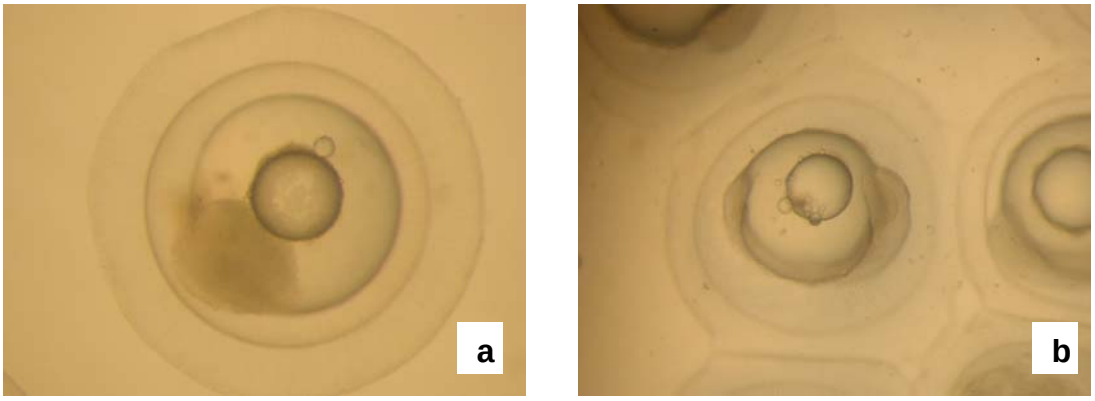


Figure 14 : (a) Œuf non fécondé et (b) œuf fécondé à 36 dégrés-jours

2.2.4. Analyses statistiques

Les données des expériences 1, 2 et 3 ont été analysées en tant que mesures répétées (Robinson *et al.* 1982) selon la méthode du maximum de vraisemblance résiduelle (REML) à l'aide du logiciel GenStat v12 (VSN International Ltd, UK) (Thompson et Welham 2000). Le

choix de la méthode statistique REML est justifié par son adaptation au traitement de mesures répétées, son aptitude à traiter des groupes d'effectifs inégaux, et du fait quelle ne nécessite pas une homogénéité des variances entre les modalités d'un traitement.

Le plan expérimental utilisé s'appuie sur un plan en randomisation. Le temps a été considéré comme un facteur, l'unité expérimentale étant le bac. L'interaction entre les différents facteurs étudiés a été considérée. Les effets ont été testés à l'aide d'un test de Wald et les moyennes ont été comparées par la méthode des plus petites différences significatives avec un risque de première espèce de 5%.

Les valeurs obtenues dans les expériences 1, 2 et 3 ont été présentées sous la forme suivante : moyenne ± erreur standard de la moyenne.

2.3. PARTIE SPÉCIFIQUE A CHAQUE EXPÉRIENCE

2.3.1. Expérience 1 : Effets de la cinétique photo-thermopériodique et de l'amplitude de la diminution photopériodique sur l'induction du cycle de reproduction chez la femelle perche commune.

2.3.1.1. Objectifs

De nombreuses études ont été réalisées au sein de l'équipe sur l'induction du cycle de reproduction, ces études se sont basées sur une diminution rapide de la photopériode (0 à 6 semaines) et de la température (3 à 6 semaines) (Sulistyo 1998 ; Migaud *et al.* 2002 ; Migaud *et al.* 2004b ; Fontaine *et al.* 2006 ; Wang 2006 ; Wang *et al.* 2006). Cependant, dans le milieu naturel, la durée de la diminution de la photopériode et de la température est beaucoup plus longue (22-26 semaines).

Cette expérience a été réalisée pour réponse aux questions suivantes :

Est ce que la chute rapide de la diminution de la photopériode et de la température affecte la vitesse de la gonadogenèse en comparaison avec des variations proches de celles relevées en milieu naturel ?

Est-ce que la gonadogenèse a besoin d'être soutenue par le maintien d'une stimulation environnementale prolongée en appliquant des variations photo-thermiques sur une longue période, proches des variations naturelles ?

Le maintien d'une photophase longue et constante inhibe-t-il la gonadogenèse sous des conditions photothermiques contrôlées ? Il s'agira ici de reconsidérer et préciser les résultats obtenus par Migaud *et al.* (2004a ; 2006).

Faut-il appliquer une forte diminution de la photopériode ? Autrement dit, est ce que la dynamique de l'ovogenèse est liée à l'amplitude de diminution de la photopériode ou y a-t-il une amplitude de diminution photopériodique à partir de laquelle la gonadogenèse sera optimale ?

Donc, le but de cette étude est (i) de déterminer l'influence de la cinétique photothermique et de l'amplitude de la réduction photopériodique sur l'induction de la gonadogenèse, en considérant deux cinétiques très éloignées (une première courte en référence aux protocoles appliqués lors des précédentes études (Migaud *et al.* 2002, Fontaine *et al.* 2006 ; Wang *et al.* 2006), et une seconde lente en référence aux variations observées en milieu naturel, Sulistyo *et al.* 1998). A ce niveau, l'application d'une baisse photopériodique modérée d'une heure

visera à mieux comprendre certains résultats contradictoires (Migaud *et al.* 2003, 2004a ; Fontaine *et al.* 2006).

2.3.1.2. Matériels et méthodes

2.3.1.2.1. Matériels biologiques

Des juvéniles (10kg) de perche (6ème génération de domestication) sont arrivés le 16 juin 2005 avec un poids moyen de 4 g. A leur arrivée au laboratoire, ils ont été placés dans un bac 1700L. Ils ont été transférés dans le bac 6003 (6000L), le 28 juin 2005. Ils ont été élevés sous des conditions environnementales constantes : température (21 ± 2°C), photopériode (17L : 7O, allumage de l'éclairage à 6 heure) et intensité lumineuse de 200 lx à la surface de l'eau. Un tri a été réalisé sur les poissons le 14 août 2005, puis ils ont été distribués selon leur taille dans trois bacs de 6000L (6001, 6002 et 6003). La lumière était fournie par des tubes fluorescents (36W, Daylight 2500 lm). Le taux de croissance moyen des perches pendant la période pré-expérimentale a été de 0.5g/jour.

2.3.1.2.2. Conditions expérimentales

Les géniteurs ont été transférés dans les bacs expérimentaux le 1er février 2006 à un poids moyen de 114 g. 56 poissons ont été placés par bac (biomasse : 6,7 kg/bac). Ils ont été soumis à une phase d'acclimatation jusqu'au 13 mars 2006 (6 semaines). La durée de cette expérience a été de 20 semaines. La diminution de la photopériode a débuté le 14 mars 2006. Après quatre semaines, la diminution de la température a commencé. Un premier prélèvement de poissons et d'organes a été réalisé le 14 mars 2006 (J0), dès lors un prélèvement a été opéré toutes les quatre semaines jusqu'à la fin de l'expérience.

2.3.1.2.3. Traitements expérimentaux

Deux cinétiques photo-thermiques ont été appliquées avec un décalage de quatre semaines entre la diminution de la photopériode et la diminution de la température, la première a été rapide, les diminutions de la photopériode et de la température ont été conduites sur six semaines, et la deuxième lente, diminution sur seize semaines. Quatre amplitudes de baisse photopériodiques ont été appliquées dans chaque cinétique, (0 heure = photopériode constante, abaissement d'une heure, de 4 heures ou de 8 heures) (figures 15 et 16).

2.3.1.2.4. Facteurs étudiés

Deux facteurs ont été étudiés (amplitude photopériodique, cinétique photo-thermique) avec quatre niveaux pour l'amplitude photopériodique (0 heure, 1 heure, 4 heures, 8 heures) et deux niveaux pour la cinétique photo-thermique (6 semaines, 16 semaines). Chaque combinaison a été répétée deux fois : N = 2*4*2=16 bacs.

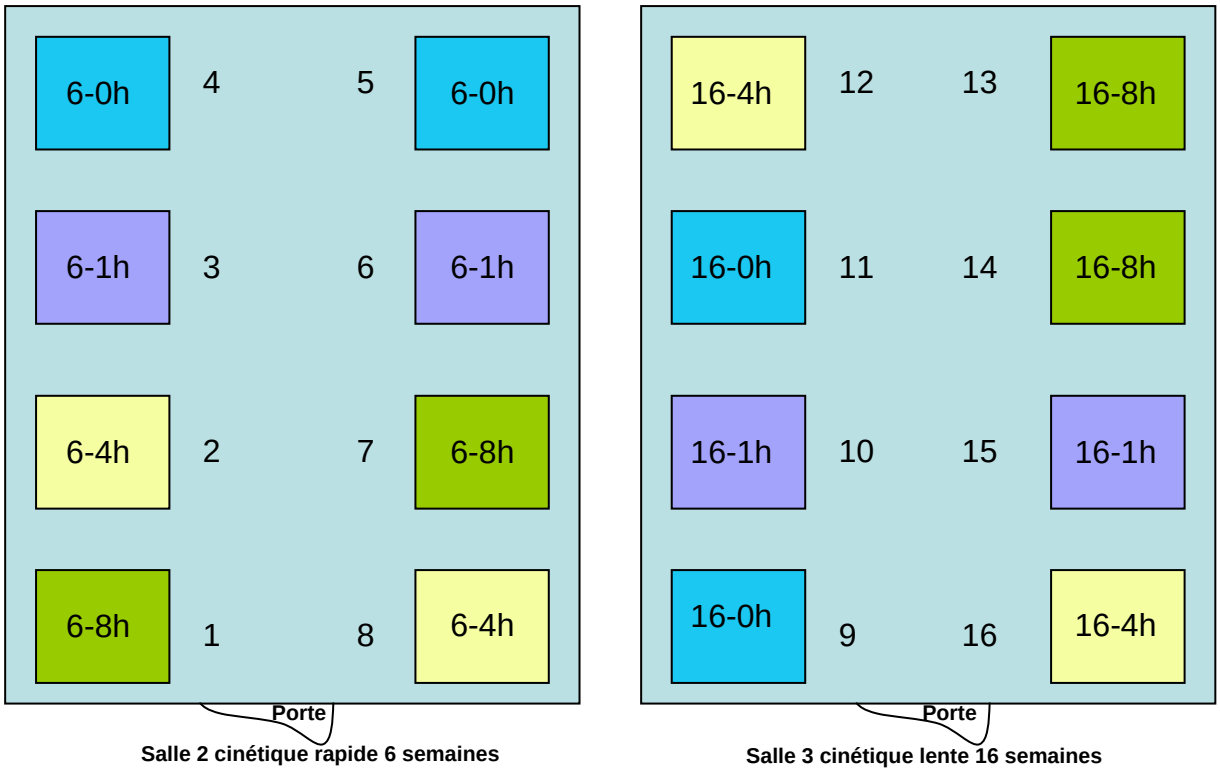


Figure 15 : Disposition des bacs lors de l'expérience 1.

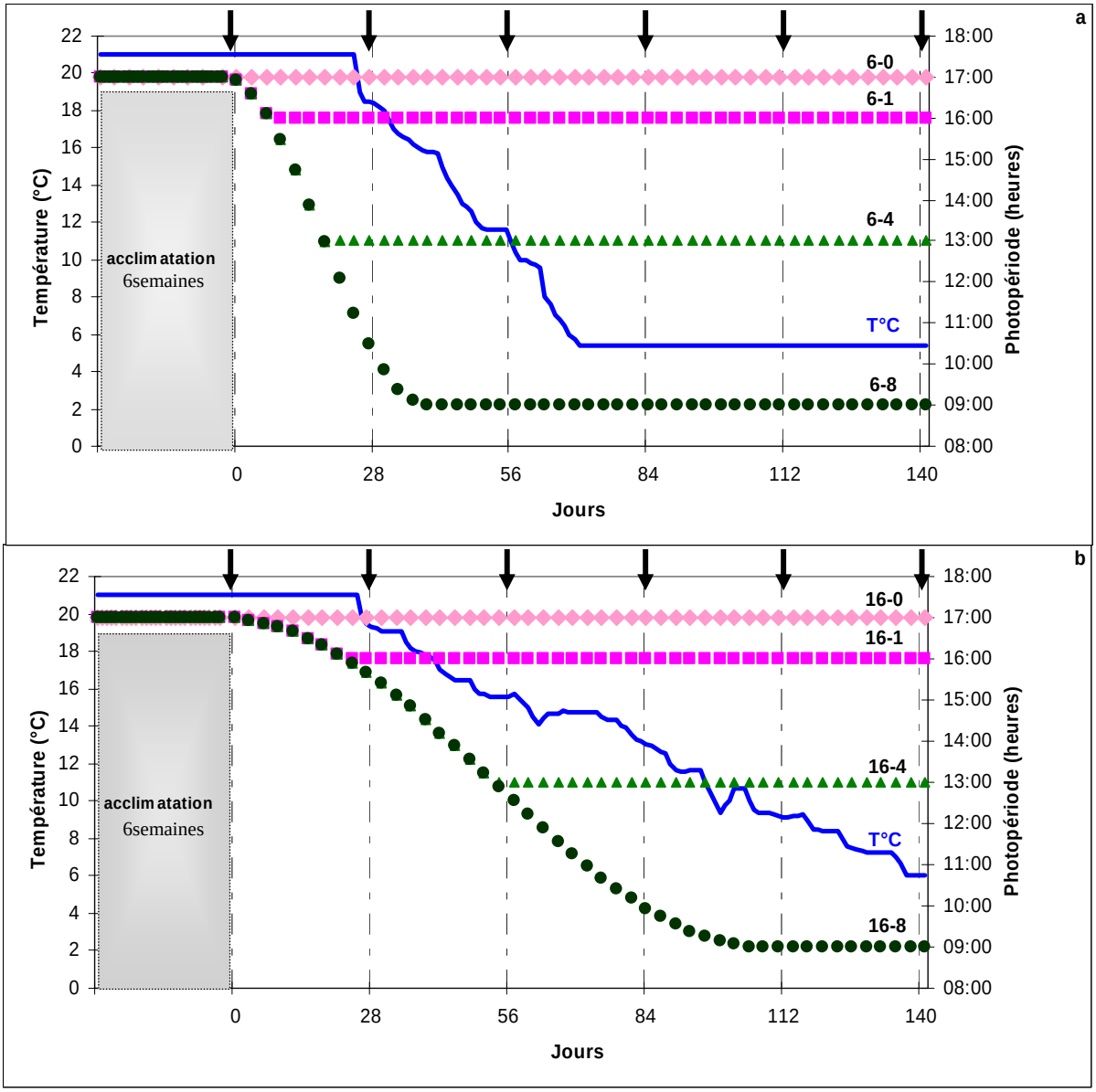


Figure 16: Programmes photothermopériodiques de l'expérience 1, a- Cinétique photothermique rapide de 6 semaines, combinée avec quatre amplitudes d'abaissement photopériodique (6-0, 6-1, 6-4 et 6-8), b- Cinétique photothermique lente de 16 semaines, combinée avec quatre amplitudes d'abaissement photopériodique (16-0, 16-1, 16-4 et 16-8) (les flèches noires indiquent les moments des prélèvement).

2.3.1.3. Résultats

2.3.1.3.1. Indice gonado-somatique

La figure 17 montre que l'IGS (%) est resté à un niveau faible et constant (aucune croissance significative) lorsque la photopériode est restée constante (traitements 16-0 et 6-0). Sur l'ensemble de la période expérimentale, l'IGS moyen a présenté des valeurs de 0.70 ± 0.84% et 1.09± 0.84% pour les traitements 6-0 et 16-0, respectivement. Une réduction d'une heure de la durée de la photophase induit un développement de la masse ovarienne chez les femelles qui ont été soumises à une cinétique photo-thermique lente (traitement 16-1, IGS final de 4.97 ± 0.84%), mais pas sous une cinétique photo-thermique rapide (traitement 6-1, IGS de 1.31± 0.84% à J140). Pour le traitement 16-1, l'augmentation de l'IGS est significative entre J84 et J112. A partir de 112, l'IGS observé chez les femelles du traitement 16-1 est significativement supérieur à celui des femelles des traitements 6-0, 16-0 et 6-1. Indépendamment de la cinétique photo-thermique, une diminution de 4 ou 8 heures de la photopériode (traitements 16-4, 16-8, 6-4 et 6-8) induit un développement gonadique similaire, caractérisé par une augmentation significative de l'IGS au cours des 140 jours et quantifiable dès J84. À la fin de l'expérience, les IGS moyens étaient 9.23 ± 0.84 %, 10.36 ± 0.84 %, 9.68 ± 0.84 % et 9.44 ± 0.84 % dans les traitements 6-4, 6-8, 16-4 et 16-8, respectivement. A partir de J84, les IGS observés pour ces 4 traitements sont tous significativement supérieurs à ceux relevés pour les 4 autres traitements. Pour le traitement 16-1, à partir de J84, l'IGS des femelles est significativement inférieur à ceux relevés dans les traitements 6-4, 6-8, 16-4 et 16-8.

2.3.1.3.2. Diamètre des ovocytes

La figure 18 montre que, excepté pour J140, le diamètre ovocytaire (DO) reste petit et constant sous des conditions photopériodiques constantes (DO moyen final 166.5 ± 28.2 µm et 245.7 ± 28.2 µm pour traitements 6-0 et 16-0, respectivement). Pour le traitement 6-1, une augmentation significative du DO est observée entre les jours 0 et 56, puis le DO est resté stable jusqu'à J140 (DO final moyen : 268.5± 28.2 µm, figure 6). A J56, J112 et J140, les femelles du traitement 6-1 ont présenté un diamètre ovocytaire moyen significativement supérieur à celui observé chez les femelles du traitement 6-0. Lorsque l'amplitude de la baisse photopériodique a été de 4 ou 8 heures (traitements 6-4, 6-8, 16-4 et 16-8), un accroissement significatif du diamètre ovocytaire a été observé entre J28 et J56. Au terme de l'étude (J140), toutes les femelles de ces traitements présentent un diamètre ovocytaire similaire (627.8 ±

28.2 µm, 638.2 ± 28.2 µm, 649.6 ± 28.2 µm et 665.8 ± 28.2 µm pour les traitements 6-4, 6-8, 16-4 et 16-8 respectivement). Concernant le traitement 16-1, le DO augmente de manière significative entre J0 et J56, puis à partir de J84, pour atteindre une valeur maximum (577.8 ± 28.2 µm) à jour 140. Jusqu'à J112, le DO des femelles du traitement 16-1 est similaire à celui des femelles des traitements 16-0 et 6-1, alors qu'il devient significativement supérieur à celui des femelles du traitement 6-0 à partir de J56. L'augmentation tardive du DO (J84-J140) relevée chez les femelles du traitement 16-1 conduit à l'enregistrement d'un diamètre ovocytaire moyen final similaire à ceux observés pour les traitements 6-4, 6-8, 16-4 et 16-8.

2.3.1.3.3. Stades du développement ovocytaire

En rapport avec l'augmentation du diamètre des oocytes, nous avons observé des dynamiques différentes de l'évolution des stades de développement ovocytaire (figures 19 et 20). Sous des conditions photopériodiques constantes (6-0 et 16-0), les ovaires présentent presque exclusivement des ovocytes au stade immature (S1) et prévitellogenèse précoce (S2). A noter cependant qu'une femelle du traitement 16-0 a présenté des ovocytes au stade 3 lors du prélèvement à J84. Avec une diminution photopériodique d'une heure et une cinétique rapide sur 6 semaines (figure 20), les femelles ont principalement montré des oocytes aux stades 1 et 2, toutefois 4 femelles ont montré des oocytes au stade prévitellogenèse avancée (S3), aux jours 56, 84 et 112. Avec une diminution semblable de photopériode, mais sous une cinétique lente de 16 semaines, un développement ovocytaire plus avancé a été observé, les ovaires présentaient des ovocytes au stade vitellogenèse précoce (S4) et des oocytes au stade de vitellogenèse avancée (S5) aux jours 112 et 140 (figure 20). Au jour 140, les ovaires des femelles du traitement 16-1 (n = 3) possédaient uniquement des oocytes aux stades S4 et S5. Pour une de ces femelles, des ovocytes atrétiques ont été observés au jour 140. Indépendamment de la cinétique photo-thermique, une diminution plus élevée de photopériode (4 ou 8 heures) a été associée à un développement plus rapide et plus complet des oocytes, toutes les femelles correspondantes (n = 34) n'ont présenté que des oocytes au stade vitellogenèse exogènes (S5) à partir du jour 112.

Concernant l'atrésie, à partir du jour 112, 20 à 50% des ovocytes les plus développés sont devenus atrétiques, cependant, quelques ovocytes atrétiques ont été observés à jour 140 dans la modalité 16-1 (2-3%).

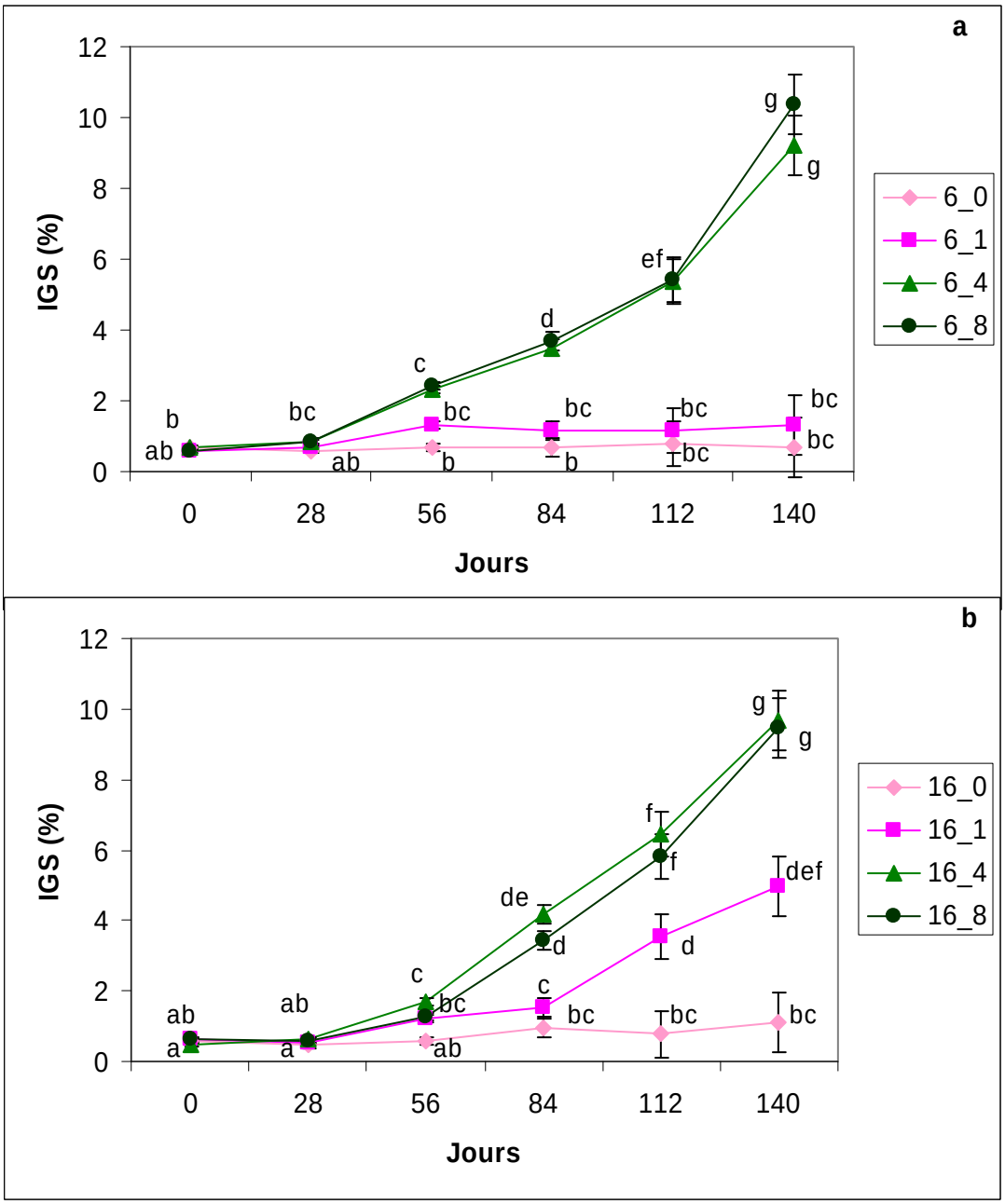


Figure 17 : Evolution de l'IGS moyen (% ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 1, a= cinétique rapide (6 semaines), b= cinétique lente (16 semaines), (les différentes lettres indiquent des différences statistiquement significatives), 0, 1, 4 et 8 indiquent l'amplitude de la diminution de photopériode en heure.

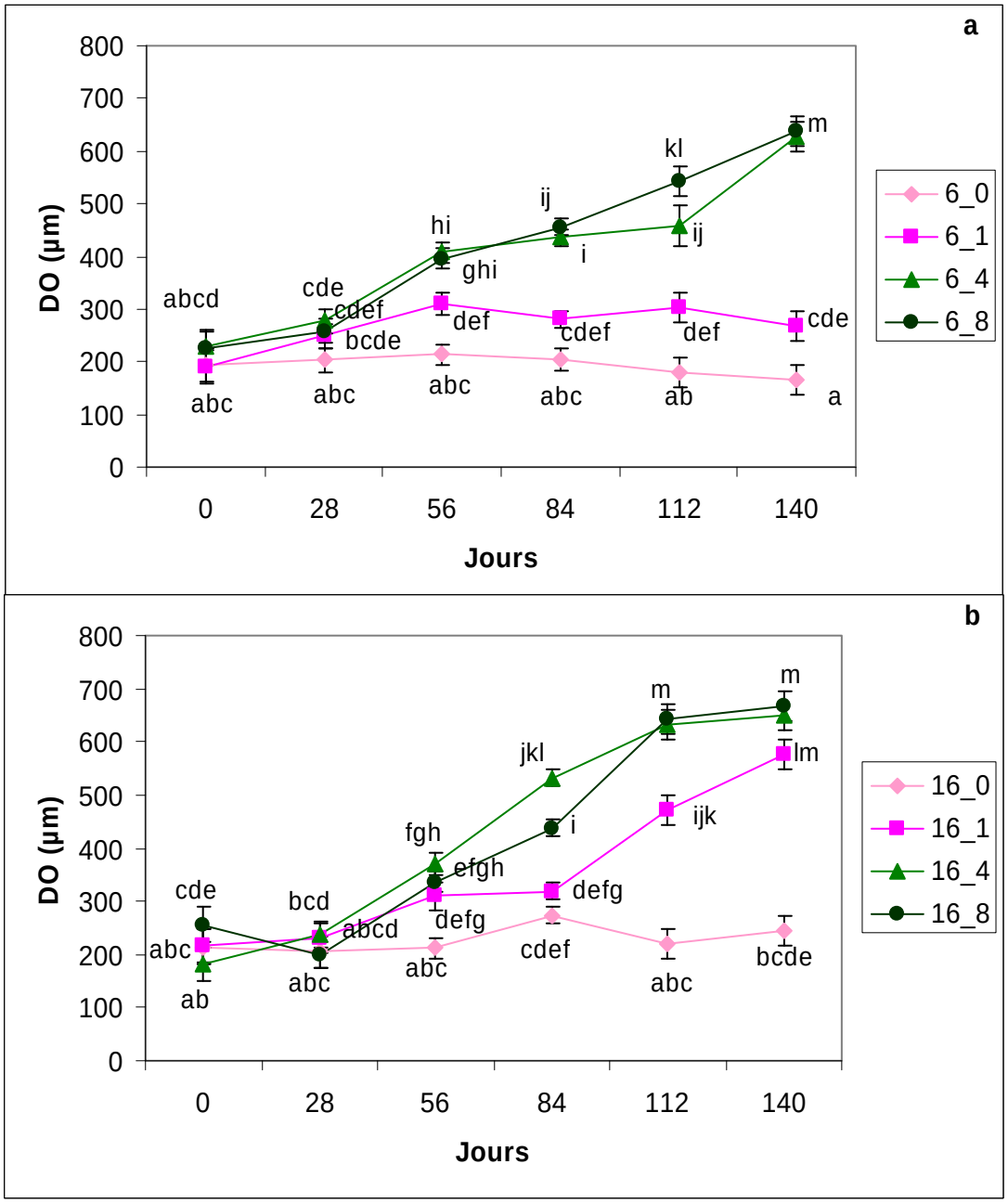


Figure 18 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen (µm ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 1, a= cinétique rapide (6 semaines), b= cinétique lente (16 semaines) (les différentes lettres indiquent des différences statistiques significatives), 0, 1, 4 et 8 indiquent l'amplitude de la diminution de photopériode en heure.

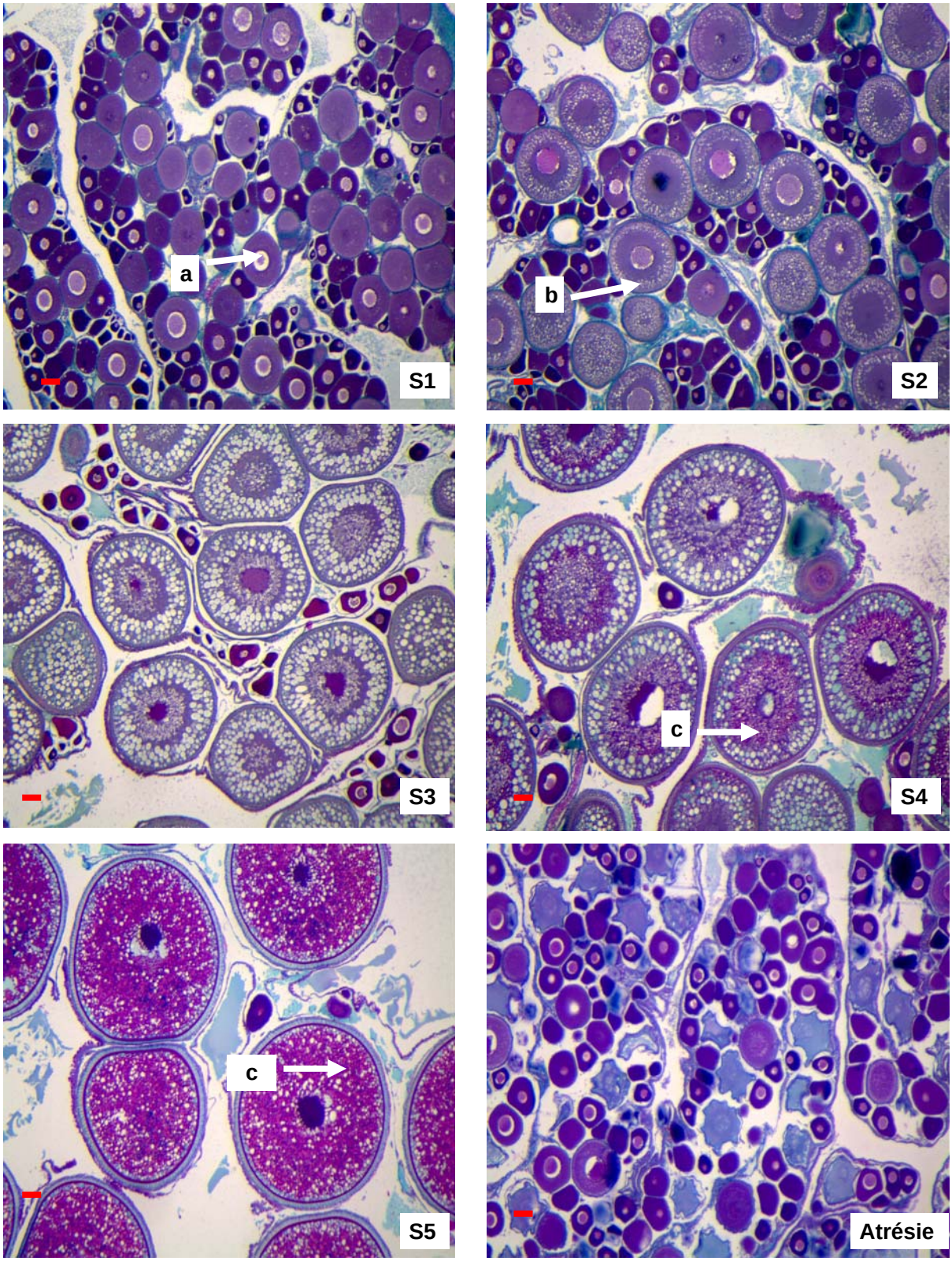


Figure 19 : Différents stades de développement ovocytaire observés durant l'expérience 1 : S1=stade immature, S2=stade prévitellogenèse précoce, S3=stade prévitellogenèse avancée, S4=stade vitellogenèse précoce, S5=stade vitellogenèse avancée et atrésie, (a, noyau, b, vésicule de vitellus, c globules du vitellus. Grossissement 87X, échelle : 100µ).

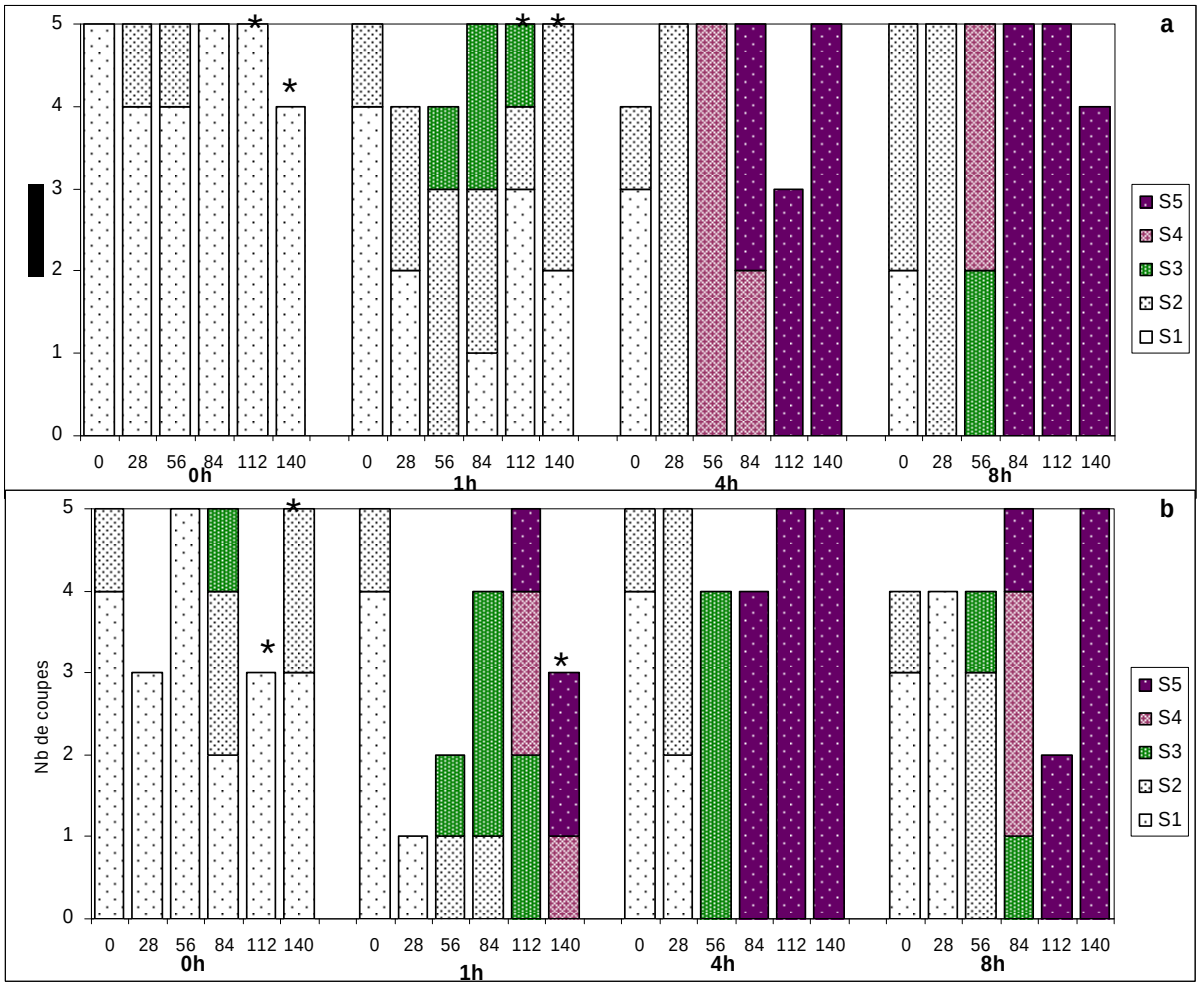


Figure 20 : Evolution des stades du développement ovocytaire au cours de l'expérience 1, a= cinétique rapide (6 semaines), b= cinétique lente (16 semaines), S1=stade immature, S2=stade prévitellogenèse précoce, S3=stade prévitellogenèse avancée, S4=stade vitellogenèse précoce, S5=stade vitellogenèse avancée (les étoiles indiquent la présence d'ovocytes atrétiques), 0, 1, 4 et 8 indiquent l'amplitude de la diminution de photopériode en heure.

2.3.1.3.4. Oestradiol

La figure 21 montre que la teneur plasmatique en 17β-oestradiol (E2) a varié selon le développement des gonades. De faibles concentrations (< 300 $pg.mL^{-1}$) sont enregistrées quand premièrement la photopériode est restée constante (traitements 6-0 et 16-0) et deuxièmement quand une diminution de la photopériode d'une heure a été appliquée avec une cinétique photo-thermique rapide (traitement 6-1).

A partir de J84, les teneurs plasmatiques en E2 relevées chez les femelles des traitements 16-4 et 16-8 sont significativement plus fortes que celles mesurées dans les femelles des traitements 6-0, 6-1 et 16-0. Cette différence devient également significative à partir de J112 avec les teneurs mesurées pour les femelles des traitements 16-1, 6-4 et 6-8. Sous la cinétique photo-thermique lente (16 semaines), une forte augmentation des teneurs en E2 a lieu entre J56 et J84 pour les traitements 16-4 et 16-8 pour atteindre des teneurs maximales de 1400-1700 $pg.mL^{-1}$. A partir de ce moment les teneurs en E2 resteront élevées et stables. A J84, la teneur en E2 chez les femelles du traitement 16-4 est significativement supérieure à celle des femelles des traitements 6-4 et 6-8. A cette date, une différence significative est également observée entre les traitements 6-4 et 16-8. Sous une cinétique rapide (6 semaines), une augmentation significative des teneurs plasmatiques en E2 est observée plus tardivement, à J112. Cette élévation plus tardive de la teneur en E2 est également observée pour le traitement 16-1.

Remarque : les teneurs plasmatiques de l'oestradiol ont précocement augmenté dans les modalités 6-4 et 6-8 (cinétique rapide) entre les jours 0 et 28, ceci correspond à une diminution photopériodique réelle de 4 à 6 heures contre une heure dans les modalités 16-1, 16-4 et 16-8 (cinétique lente). Cette différence est visible dans les figures, même si aucun effet significatif n'a été statistiquement observé.

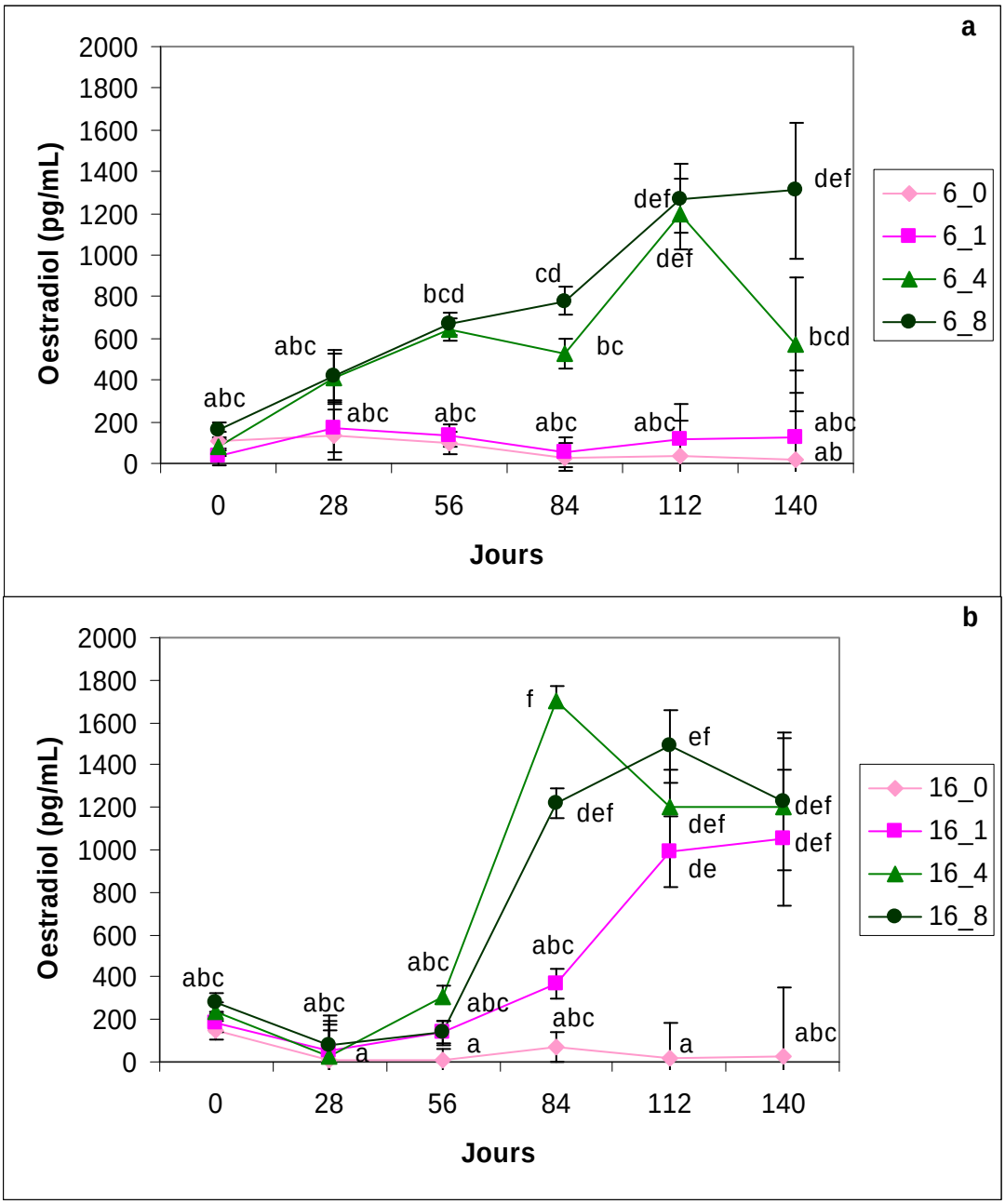


Figure 21 : Evolution de la concentration plasmatique moyenne en oestradiol (pg/mL ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 1, a= cinétique rapide (6 semaines), b= cinétique lente (16 semaines) (les différentes lettres indiquent les différences statistiques significatives), 0, 1, 4 et 8 indiquent l'amplitude de la diminution de photopériode en heure.

Conclusion :

Les valeurs enregistrées (IGS, DO et oestradiol) sont restées faibles et constantes au cours des 140 jours de l'expérience sous une photophase longue et constante de 17 heures malgré une diminution thermique. De plus, les ovocytes ne se sont pas développés au-delà des stades observés au début de l'expérience. Ce résultat permet d'atteindre un objectif initial, l'inhibition du cycle de reproduction.

Une amplitude de diminution photopériodique d'une heure induit des réponses variables selon la cinétique photothermique appliquée. (1) Une inhibition complète a été observée lorsque la cinétique était rapide, les valeurs de l'IGS, du DO et d'oestradiol restent faibles et constantes au cours des 140 jours, malgré une faible augmentation de ces valeurs en comparaison avec les valeurs sous des conditions photopériodiques constantes. (2) Un développement gonadique incomplet ou tardif est observé lorsque la cinétique photothermique est lente. Les valeurs de l'IGS, du DO et de l'oestradiol ont significativement augmenté à partir de jour 112 et les ovocytes ont également avancé aux stades 4 et 5 en fin de l'expérience dans la modalité 16-1. Ce résultat permet de comprendre les résultats contradictoires relevés dans de précédentes expériences, par exemple la variabilité des réponses sous une photophase longue et constante (16h) dans le milieu naturel.

Une amplitude élevée (4 ou 8h) de la diminution de photopériode induit un développement gonadique complet (en référence aux observations récoltées en milieu naturel, tableau 13) et similaire dans les deux cinétiques photothermiques (rapide et lente). L'IGS, le DO et l'oestradiol ont significativement augmenté au cours des 140 jours pour atteindre des valeurs similaires à la fin de cette expérience dans les quatre modalités 6-4, 6-8, 16-4 et 16-8.

Ce résultat montre que la cinétique photothermique a un effet modulateur mineur pendant la phase d'induction si une forte amplitude de baisse photopériodique est appliquée (4 ou 8 heures). Autrement dit, dès que la gonadogenèse est déclenchée, elle se déroule toute seule. Cependant, cet effet modulateur est plus fort avec une faible amplitude photopériodique (1 heure).

température	photopériode	durée	IGS (%)	Auteurs
De 20 à 6°C	Constante 16L :8O	20 semaines	5	Migaud *et al*. 2006
De 20 à 6°C	16L :8O à 8L :16O	20 semaines	10	Migaud *et al.* 2006
De 20 à 6°C	Milieu naturel	20 semaines	10	Sulistyo *et al.* 1998
De 20 à14°C	Milieu naturel	6-8 semaines	4	Sulistyo *et al.* 1998
De 20 à 14°C	Constante 16L :8O	6 semaines	0.8	Migaud *et al.* 2004a
De 20 à 14°C	16L :8O à 8L :16O	8 semaines	4.6	Migaud *et al.* 2004a
De 20 à 6°C	Constante 12L :12O	6 semaines	2.8	Migaud *et al.* 2002
De 20 à 6°C	Constante 12L :12O	6 semaines	0.6	Migaud *et al.* 2004b
De 20 à 14°C	16L :8O à 8L :16O	9 semaines	4.1	Wang *et al.* 2006
De 20 à 6°C	13L :11O à 12L :12O	9 semaines	4.1	Wang *et al.* 2006
De 20 à 6°C	13L :11O à 8L :16O	9 semaines	4.1%	Wang *et al.* 2006
De 22 à 6°C	17L :7O à 13L :11O	20 semaines	9,44– 10,36	Notre étude
De 22 à 6°C	17L :7O à 9L :15O	20 semaines	9 ,23 - 9,68	Notre étude
De 22 à 6°C	Constante 17L :7O	20 semaines	≤ 1	Notre étude

Tableau 13 : Indices gonado-somatiques relevés chez les femelles à la fin de la phase d'induction d'un cycle de reproduction en considérant la durée des expériences (6, 9 et 16 semaines en conditions contrôlées, semi-naturelles et naturelles.

2.3.2. Expérience 2 : Effets de l'amplitude et du moment d'application de la baisse de température sur l'induction de la gonadogenèse chez la femelle perche commune.

2.3.2.1. Objectifs :

Jourdan (1999) a suggéré que, chez des perches communes en grossissement, une température supérieure à 20°C peut inhiber la gonadogenèse. Toutefois cette étude concernait des animaux juvéniles (5 g) et aucune étude n'a été menée sur des perches femelles matures. Est-ce que le maintien d'une température constante et supérieure à 20°C inhibe la gonadogenèse, malgré une baisse de la photopériode, comme c'est le cas chez le loup américain (Clark *et al*. 2005) ?
L'induction du cycle de reproduction chez la perche commune nécessite un abaissement de la photopériode suivi par une diminution thermique modérée de 22°C à 14°C. Ces conditions photo-thermiques ont été considérées comme des stimulations environnementales idéales pour initier la gonadogenèse (Wang *et al.* 2006).
Dans un tel contexte (température élevée et constante), des amplitudes de diminution de la température plus ou moins importantes ont-elles une influence sur la réponse des perches femelles ? Quels sont les effets du moment d'application de la baisse de la température en fonction de l'amplitude d'abaissement de la température ?
Est ce qu'il y a une température à partir de laquelle le cycle commencera à être perturbé comme c'est le cas chez le loup américain (18°C, Clark *et al.* 2005) et le bar (17°C, Zanuy *et al.* 1986) ?
L'objectif général de cette expérience est ainsi (i) d'étudier l'effet du maintien d'une température élevée et constante (22°C) sur la gonadogenèse, (ii) de déterminer l'influence du moment de la diminution de température sur l'induction de la gonadogenèse et (iii) de déterminer l'amplitude optimale de la diminution de température pour l'induction de la gonadogenèse chez la femelle de perche commune.

2.3.2.2. Matériels et méthodes

2.3.2.2.1. Matériel biologique

Des juvéniles des perche (6000 juvéniles) sont arrivés le 4 octobre 2006 (poids moyen : 10g) (« souche Léman domestiquée », 8ème génération). A partir de leur arrivée au laboratoire, ils ont été élevés sous des conditions environnementales constantes : température (22 ± 2°C), photopériode (16L : 8O, heure de l'allumage : 6 heure) et intensité lumineuse de 200 lx à la

surface de l'eau dans deux bacs de 6000L (6003 et 6004). La lumière était fournie par des tubes fluorescents (36W, Daylight 2500 lm). Un tri a été réalisé sur les poissons le 28 février 2007, puis ils ont été distribués selon leur taille dans quatre bacs de 6000L (6001, 2002, 6003 et 6004).

2.3.2.2.2. Conditions expérimentales

48 poissons ont été transférés dans chaque bac expérimental (biomasse 7.8 kg/bac), le 2 août 2007 à un poids moyen de 164±50 g, et ont été soumis à une phase d'acclimatation de 7 semaines jusqu'au 26 septembre 2007. La durée de cette expérience a été de 20 semaines. La diminution de la photopériode a débuté le 26 septembre 2007 (J0). La diminution de la température a commencé soit simultanément avec la diminution de la photopériode soit quatre semaines plus tard. Un premier prélèvement de poissons et d'organes a été réalisé le 24 septembre 2007. Des prélèvements de poissons et d'organes ont été ensuite opérés à J0, J28, J70, J112 et J140.

Un thermoplongeur mobile (1000 W - 230 V) associé à un thermostat à canne réglable de 0 à 36°C +/-2 a été placé dans chaque bac pour contrôler la température. Les bacs ont été couverts avec des matériaux isolants minces d'une épaisseur de 20mm pour réduire les échanges thermiques entre l'air de la salle et les bacs.

2.3.2.2.3. Traitements expérimentaux :

Quatre amplitudes de baisse de température ont été appliquées. Les deux premières amplitudes ont été appliquées dans la première salle ($\Delta 0$: 22°C) et $\Delta 4$: 18°C). Chaque amplitude a été combinée avec deux moments de baisse de température (0 semaine et 4 semaines). Similairement dans la deuxième salle, deux amplitudes de baisse de température ($\Delta 8$: 14°C) et $\Delta 16$: 6°C) ont été appliquées, et chaque amplitude a été également combinée avec des deux moments de baisse de température (0 semaine et 4 semaines). La vitesse de diminution de la température était similaire pour tous les traitements (1°C/semaine).

Des variations photopériodiques identiques ont été appliquées pour tous les traitements thermiques. La cinétique photopériodique était lente et l'amplitude d'abaissement photopériodique était de 8 heures (figures 22 et 23).

2.3.2.2.4. Facteurs étudiés :

Nous avons étudié deux facteurs (température, décalage entre la température et la photopériode) avec quatre niveaux pour la baisse de température (Δ0, Δ4, Δ8, Δ16°C), soit les températures finales suivantes (22, 18, 14 et 6°C), et deux niveaux pour le décalage (0 semaine, 4 semaines). Chaque combinaison a été répétée deux fois N = 2*4*2=16 bacs.

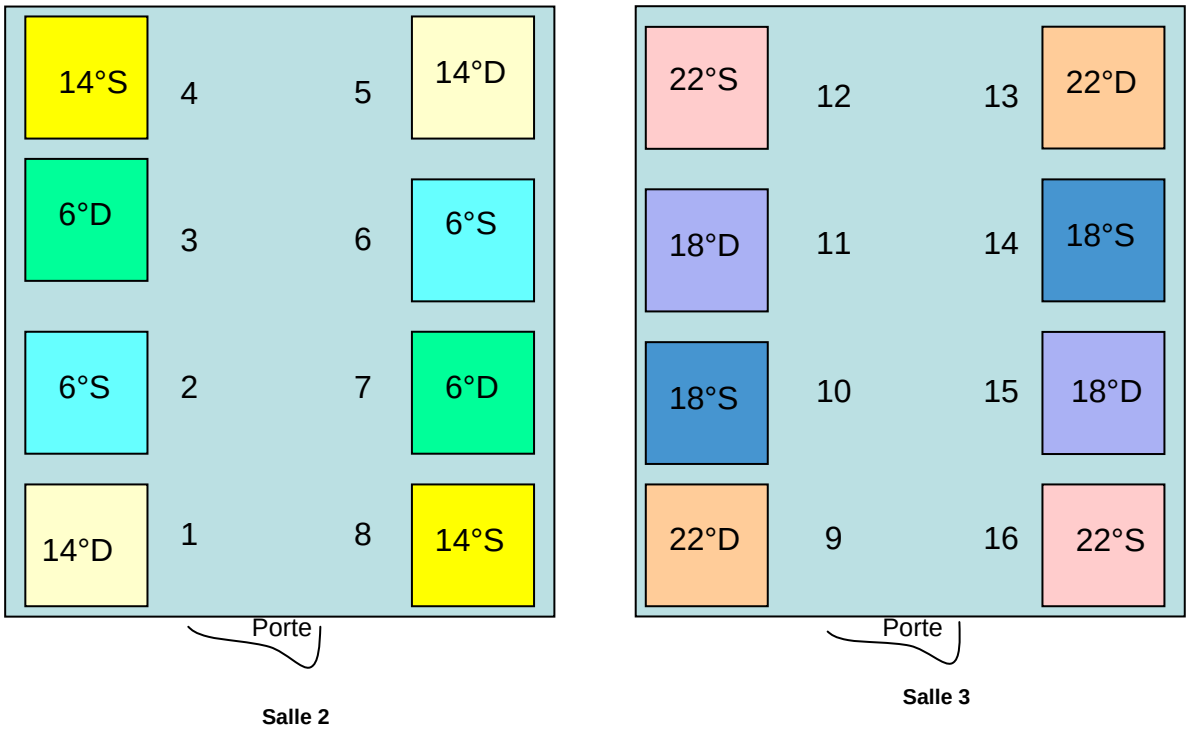


Figure 22 : Disposition des bacs lors de l'expérience 2 (variations thermiques avec décalage=D ou sans décalage=S).

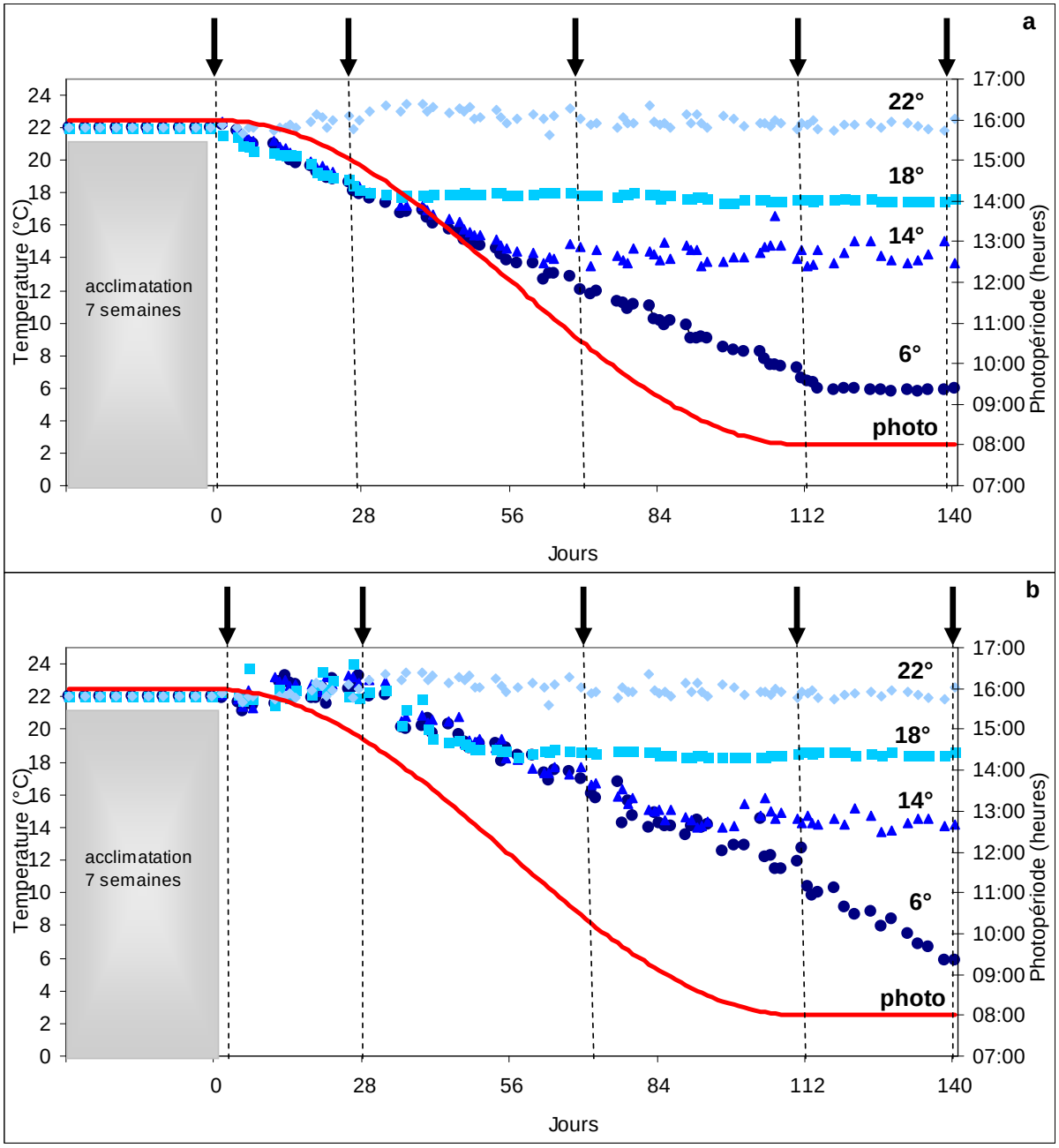


Figure 23 : Programmes photo-thermopériodiques testés lors de l'expérience 2. a) diminution précoce de la température (sans décalage), combinée avec quatre niveaux de température 22°C, 18°C, 14°C et 6°C (modalités:22S, 18S, 14S et 6S), b) diminution tardive de la température (avec décalage) combinée avec quatre niveaux de température 22°C, 18°C, 14°C et 6°C (modalités : 22D, 18D, 14D et 6D),(les flèches noires indiquent les moments des prélèvements).

2.3.2.3. Résultats

2.3.2.3.1. Indice gonado-somatique

La figure 24 montre que l'IGS augmente significativement dans les traitements 22D et 22S sur la période J28 – J112, puis n'augmente plus entre J112 et J140. Il atteint 4.33 ± 0.29% et 3.99±0.29% pour les traitements 22S et 22D, respectivement. A partir de J112 (excepté à J112 pour les traitements 6S et 22S), les IGS relevés chez les femelles des traitements 22S et 22D sont significativement inférieurs à ceux mesurés dans tous les autres traitements. Concernant les autres traitements, on remarque une élévation significative de l'IGS à partir de J28 pour les traitements 6S, 6D et 18D ou à partir de J56 pour les traitements 14S, 14D et 18S. Dès lors, pour tous ces traitements, une augmentation continue de l'IGS a été relevée jusque J140. Au terme de l'étude, des IGS significativement supérieurs sont relevés dans le traitement 14S (9.42±0.29%) et 14D (8.9±0.29%). Lorsqu'un décalage entre les baisses de la photopériode et de la température a été appliqué, on constate que les IGS finaux des traitements 6D (8.21±0.29%) et 18D (7.84±0.29%) ne sont pas significativement différents de ceux relevés lorsque la température a été abaissée à 14°C (14D). Par contre, sans décalage, des différences très significatives sont notées en fonction de l'amplitude de la baisse thermique. Le moment d'application de la baisse de température (avec ou sans décalage) n'a pas d'effet pour les températures élevées 14, 18 et 22°C (aucune différence significative observée), mais a un effet significatif pour la température la plus froide (6°C). A J140, l'IGS des femelles du traitement 6D est significativement supérieur à ce celui des femelles du traitement 6S.

2.3.2.3.2. Diamètre ovocytaire

La figure 25 montre que comme l'IGS, le diamètre des ovocytes (DO) a augmenté dans tous les traitements photo-thermiques entre J0 et J70. Toutefois, à J70, le DO est similaire chez les femelles quel que soit le traitement. A partir de J112, des différences significatives sont observées en fonction des traitements, les ovocytes des femelles des traitements 6S, 6D, 14S, 14D et 18S ont des diamètres significativement plus élevés que ceux des femelles des traitements 22D et 22S. Au terme de l'étude, à J140, un effet significatif du moment d'application de la baisse de température est uniquement observé lorsque la température est amenée à 6°C (6D, 727±23µm > 6S, 637±23µm). Par contre, des différences significatives sont observées en fonction de ce dernier paramètre. Des DO significativement supérieurs sont observés pour les traitements 14S (753±23µm), 6D et 14D (712±23µm) par rapport aux

traitements 22S (577±23µm), 22D (635±23µm) et 6S. Un abaissement de la température à 18°C a conduit à des diamètres ovocytaires finaux de taille intermédiaire (673±23µm et 688±23µm pour 18D et 18S).

2.3.2.3.3. Stade du développement ovocytaire

La figure 26 montre que les oocytes ont évolué jusqu'au stade 3 (prévitellogenèse avancée) lorsque la température a été maintenue à 22°C quel que soit le moment d'application de la réduction thermique. Lorsque la température a été abaissée à 18°C, les ovocytes ont évolué jusqu'au stade 4 (vitellogenèse précoce). Par contre, quand la température a été amenée à 6 ou 14°C, la majorité des oocytes était au stade 5 (vitellogenèse avancée) à partir du jour 112. Aucune différence n'est observée en fonction du moment d'application de la baisse de température (figure 27).

2.3.2.3.4. Oestradiol

La figure 28 montre qu'une forte élévation des teneurs plasmatiques en oestradiol est observée chez les géniteurs femelles entre les jours 28 et 70, quel que soit le traitement. A partir de cette date, les taux plasmatiques d'E2 sont restés élevés et relativement constants au sein d'un même traitement. Aux jours 70, 112 et 140, une teneur significativement plus faible est observée chez les femelles du traitement 22S par rapport à celle des femelles des traitements 6D, 14D (uniquement à J140), 18D (uniquement à J140), 14S (J70, J112) et 6S (uniquement à J140). Les niveaux d'oestradiol fluctuent entre 3062 ± 528 et 5255 ± 528 $pg.mL^{-1}$ au jour 140.

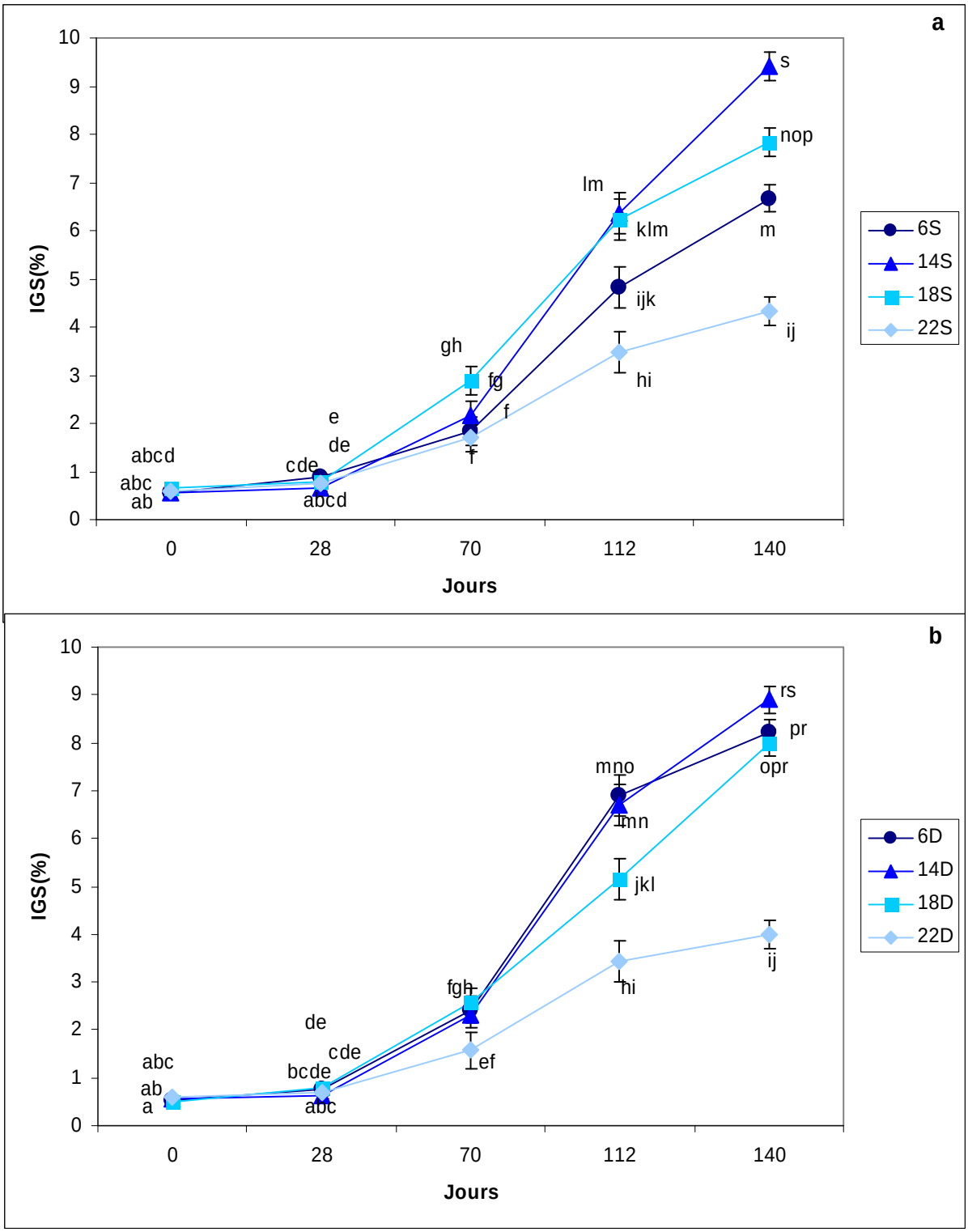


Figure 24 : Evolution de l'IGS moyen (% ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodique appliquées au cours de l'expérience 2, a = sans décalage, b= avec décalage (les différentes lettres indiquent des différences statistiques significatives)

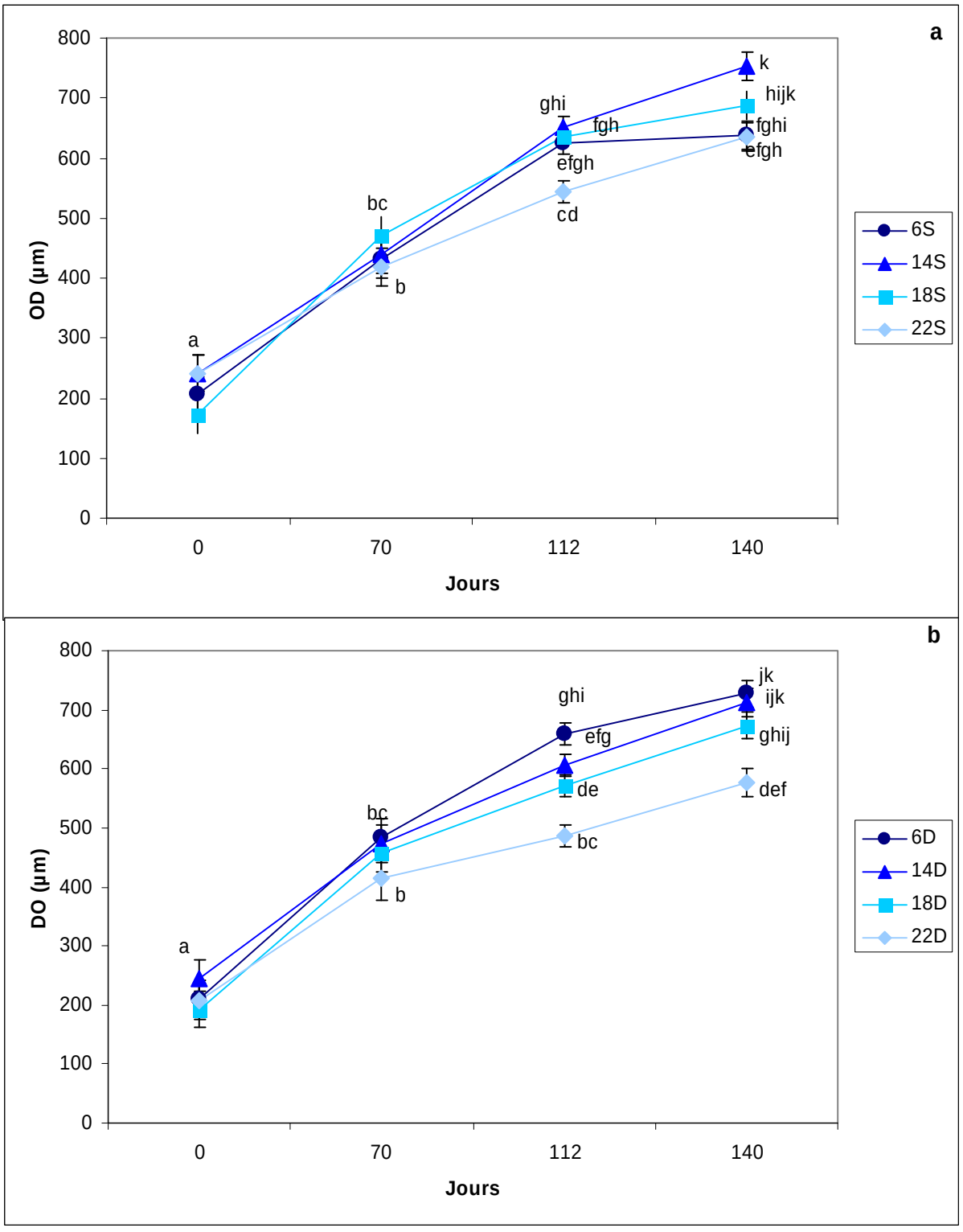


Figure 25 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen (µm ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 2, a= *sans décalage, b= avec décalage (les différentes lettres indiquent des différences statistiques significatives).*

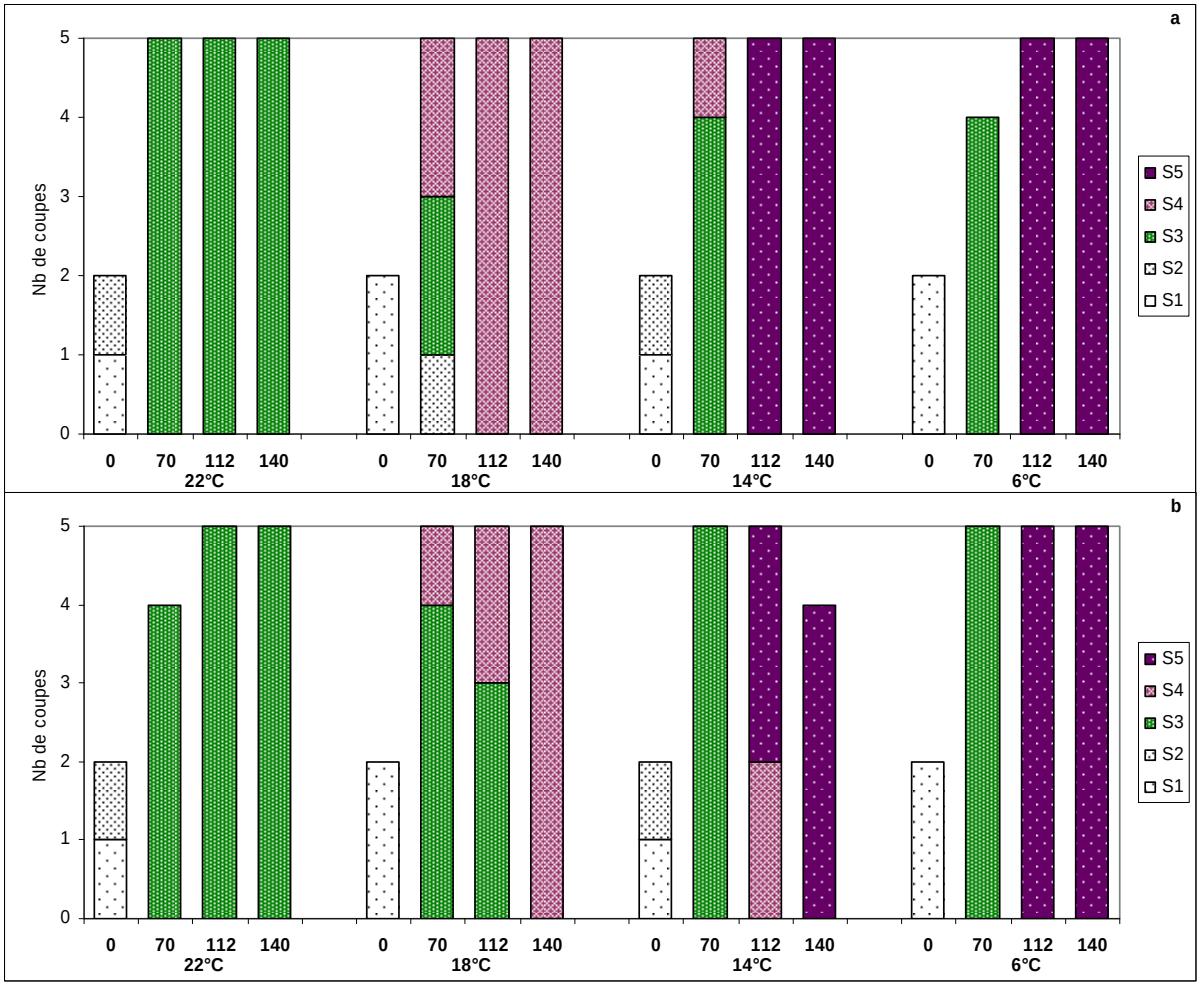


Figure 26 : Evolution du stade de développement ovocytaire au cours de l'expérience 2 en fonction des différentes températures appliquées (22°C, 18°C, 14°C et 6°C), (a) sans décalage (b) avec décalage, S1=stade immature, S2=stade prévitellogenèse précoce, S3=stade prévitellogenèse avancée, S4=stade vitellogenèse précoce, S5=stade vitellogenèse avancée.

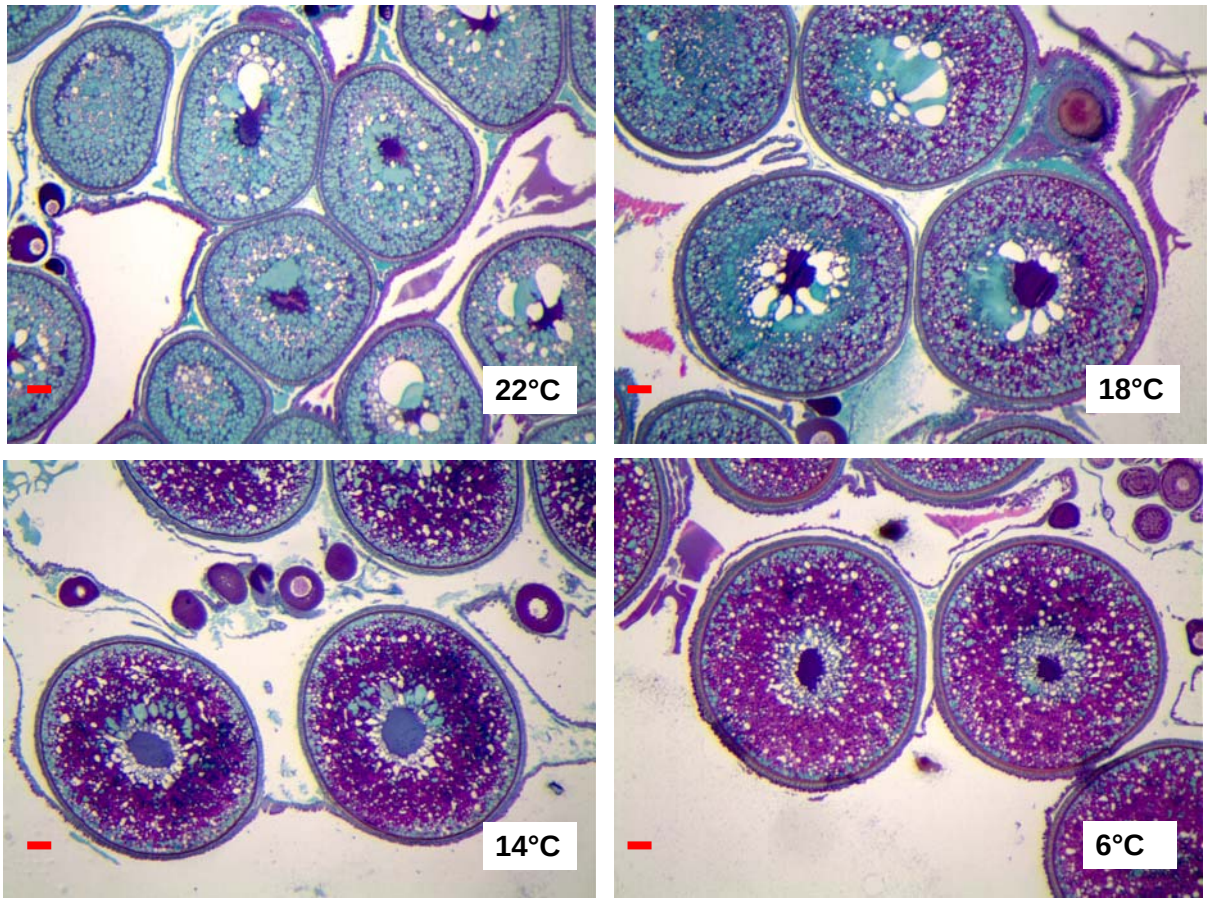


Figure 27 : Ovocytes observés sous des différentes températures 22°C, 18°C, 14°C et 6°C à la fin de l'expérience 2. Grossissement 87X, échelle : 100µm.

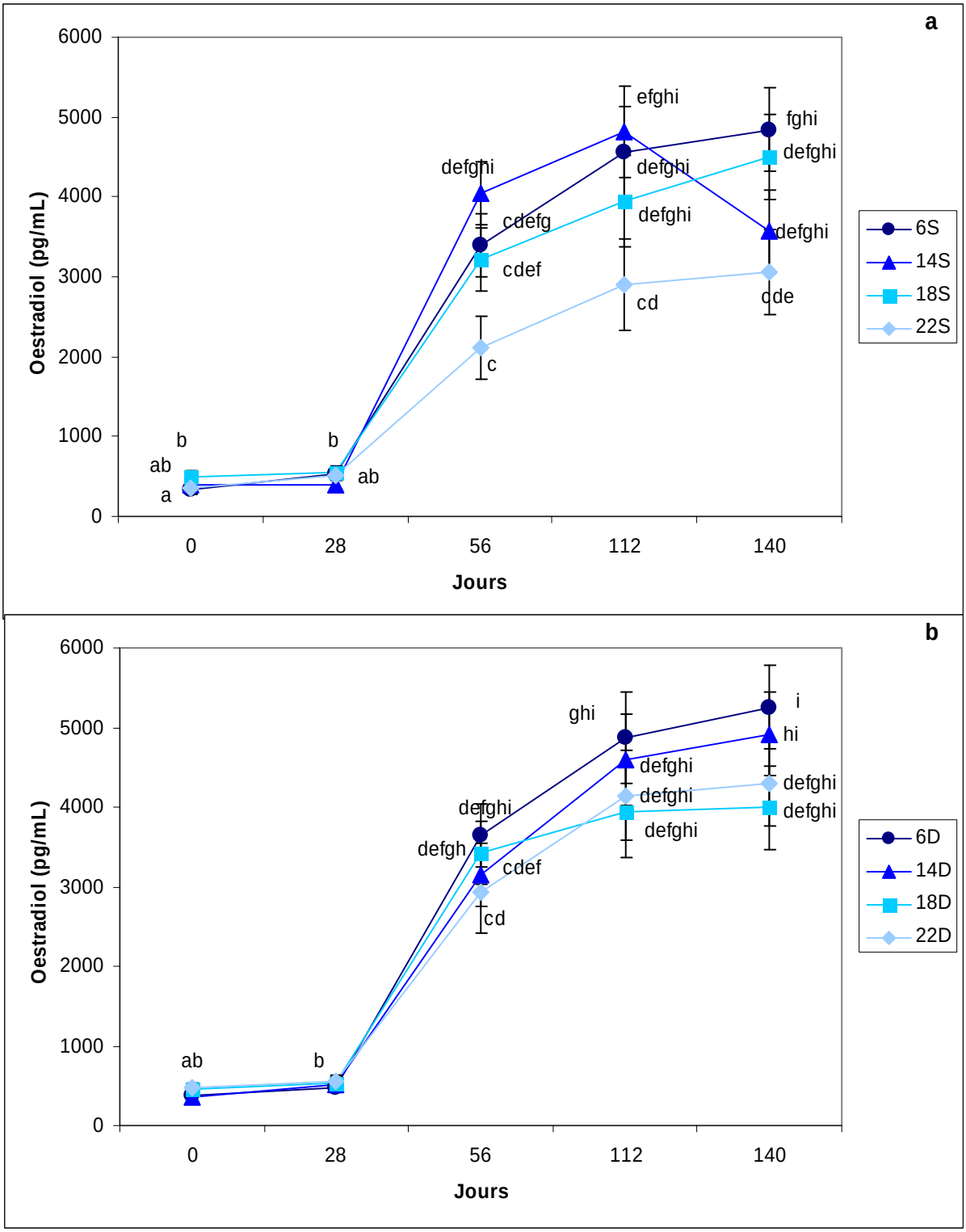


Figure 28 : Evolution de la concentration plasmatique moyenne en oestradiol (pg/mL ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 2, a sans décalage, b avec décalage.

Conclusion :

Ces résultats montrent que la gonadogenèse a significativement démarré à partir du jour 70. A ce jour, tous les traitements ont été soumis à une diminution de la photopériode de 6 heures quel que soit le moment et l'amplitude thermique testés. L'IGS, le DO et la teneur en oestradiol ont significativement augmenté entre J0 et J70 et tous les ovocytes se sont développés au moins jusqu'au stade 3.

Ces résultats confirment que la photopériode est le facteur principal qui synchronise le début du cycle de reproduction chez la perche commune. Ils montrent aussi que la température élevée et constante (22°C) n'est pas capable d'inhiber le début du cycle de reproduction.

Bien que la gonadogenèse ait été enregistrée chez tous les géniteurs, le niveau du développement gonadique a varié selon le moment et l'amplitude thermique testés.

L'IGS a été significativement moins important sous une température élevée (22°C) en comparaison avec les autres traitements thermiques. Le DO et la teneur en oestradiol étaient globalement petits et faibles. Ainsi, les ovocytes ne se sont plus développés au-delà du stade 3 (vitellogenèse endogène).

Un développement gonadique plus avancé a été observé sous une température de 18°C. Mais, Les ovocytes ne se sont plus développés au-delà du stade 4. Le développement gonadique est devenu optimal ou complet à partir de la température de 14°C. Tous les ovocytes se sont développés au stade 5 (vitellogenèse avancée). Mais on remarque que le développement gonadique a ralenti lorsque la température arrive à 6°C même si les traitements statistiques n'ont pas présenté d'effet significatif entre les traitements 14D et 6D, alors qu'un effet significatif a été remarqué entre les traitements 14S et 6S. Ce résultat est-il dû au temps d'exposition à la température froide ?

Donc, ces résultats montrent que la température présente une action modulatrice au cours de phase d'induction du cycle de reproduction. La diminution de la température favorise le développement gonadique jusqu'à une température optimale (14°C), puis elle commence à réduire la métabolisme dans les ovocytes.

L'effet du moment d'abaissement thermique est apparu lorsque l'amplitude d'abaissement thermique était élevée (Δ16C soit 6°C). La diminution simultanément de la température avec la photopériode a réduit le développement gonadique (par comparaison à une diminution plus tardive).

Ce résultat pourrait être dû à la durée d'exposition à la température froide, ou au lien entre les amplitudes d'abaissement photopériodique et thermique.

2.3.3. Expérience 1b : Effets des conditions photo-thermiques appliquées pendant la phase d'induction et de la durée de la phase de vernalisation sur les performances reproductives (suite de la première expérience).

2.3.3.1. Objectifs

A partir des géniteurs issus de l'expérience 1, l'objectif principal était d'obtenir des pontes décalées en dehors de la saison naturelle sous des conditions contrôlées en testant différentes durées de vernalisation. Logiquement, les effets observés intégreront ceux induits par les facteurs testés dans l'expérience 1, la cinétique photo-thermique et l'amplitude de la baisse photopériodique. Cette étude préliminaire comparera différents programmes d'induction de pontes hors saison en considérant certaines études antérieures. Migaud *et al.* (2002) ont indiqué que la durée de vernalisation interagit avec les conditions appliquées pendant la phase d'induction. En milieu naturel, la durée de cycle est de 10 mois (de l'induction de la gonadogenèse à la ponte) (Sulistyo *et al.* 1998). En conditions contrôlées, des durées plus courtes (7-8 mois) ont été appliquées (Migaud *et al.* 2002 ; 2004b ; Wang *et al.* 2006). Donc, l'objectif de cette étude est de comparer deux durées de cycle, une première, courte, de 8 mois et une seconde, longue, de 10 mois plus proche de celle observée en milieu naturel.

2.3.3.2. Matériels et méthodes

2.3.3.2.1. Matériels biologiques

A la fin de l'expérience 1, le 7 septembre 2006, les lots de géniteurs (mâles et femelles) ayant présenté un développement gonadique satisfaisant (traitements 16-1, 16-4, 16-8, 6-4 et 6-8) ont été conservés, les géniteurs des autres lots (16-0, 6-0 et 6-1) ont été euthanasiés.

2.3.3.2.2. Conditions expérimentales

Un réplicat de chaque traitement conservé (5) a été placé dans les deux chambres froides. Dès lors, deux traitements photo-thermopériodiques différents ont été appliqués (1 traitement par salle) dans le but d'induire des pontes (reproduction naturelle) (figure 29).

Un prélèvement a été effectué sur trois femelles avant d'appliquer le programme de déclenchement des pontes (jours 185 et 246) pour mesurer l'IGS et le diamètre ovocytaire.

Après une semaine d'acclimatation (changement de bassin), le programme de déclenchement des pontes a commencé le 15 septembre 2006 dans la salle 3, par (i) une augmentation de la photopériode (8 min/jour) jusqu'au retour aux conditions initiales qui prévalaient au jour 0 (17L : 7O), (durée du cycle de 8 mois) et (ii) trois semaines plus tard, par l'augmentation de la température sur 3 semaines (1-2°C/3jour) pour atteindre la température de 14°C. Dans la salle 2, le même programme a été appliqué deux mois plus tard, à partir du 15 novembre 2006 (durée du cycle de 10 mois) (Figures 30 et 31).

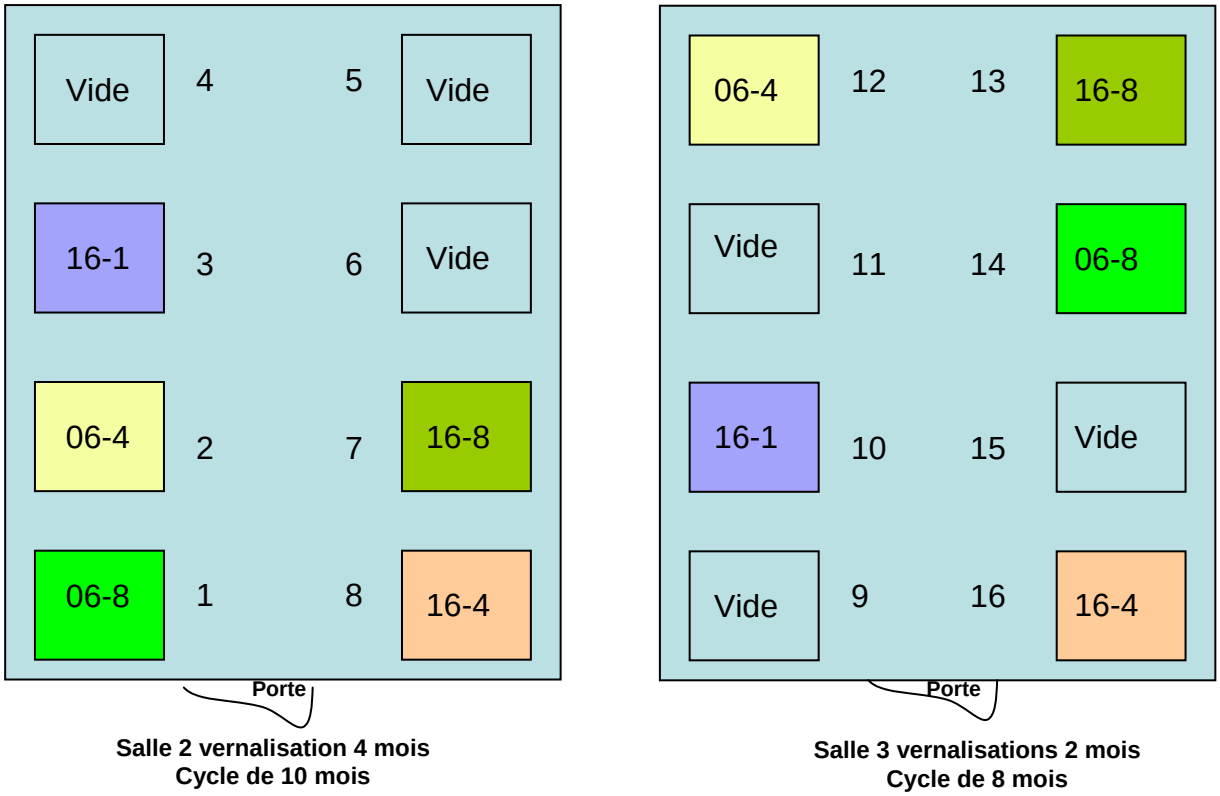


Figure 29 : Disposition des bacs pour la fin de l'expérience 1(fin de cycle, déclenchement de la ponte) pour un cycle complet de 8 ou 10 mois.

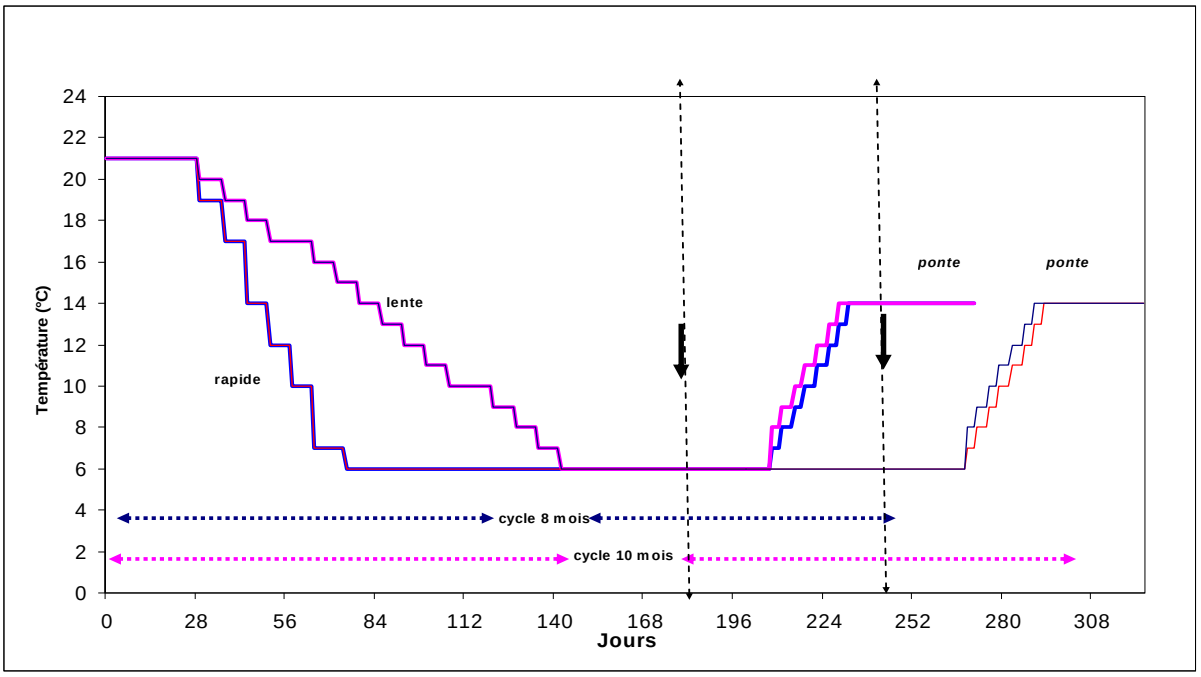


Figure 30 : Programmes thermiques complets appliqués pour l'induction de pontes hors-saison (fin de l'expérience 1) (la flèche noire indique les prélèvements).

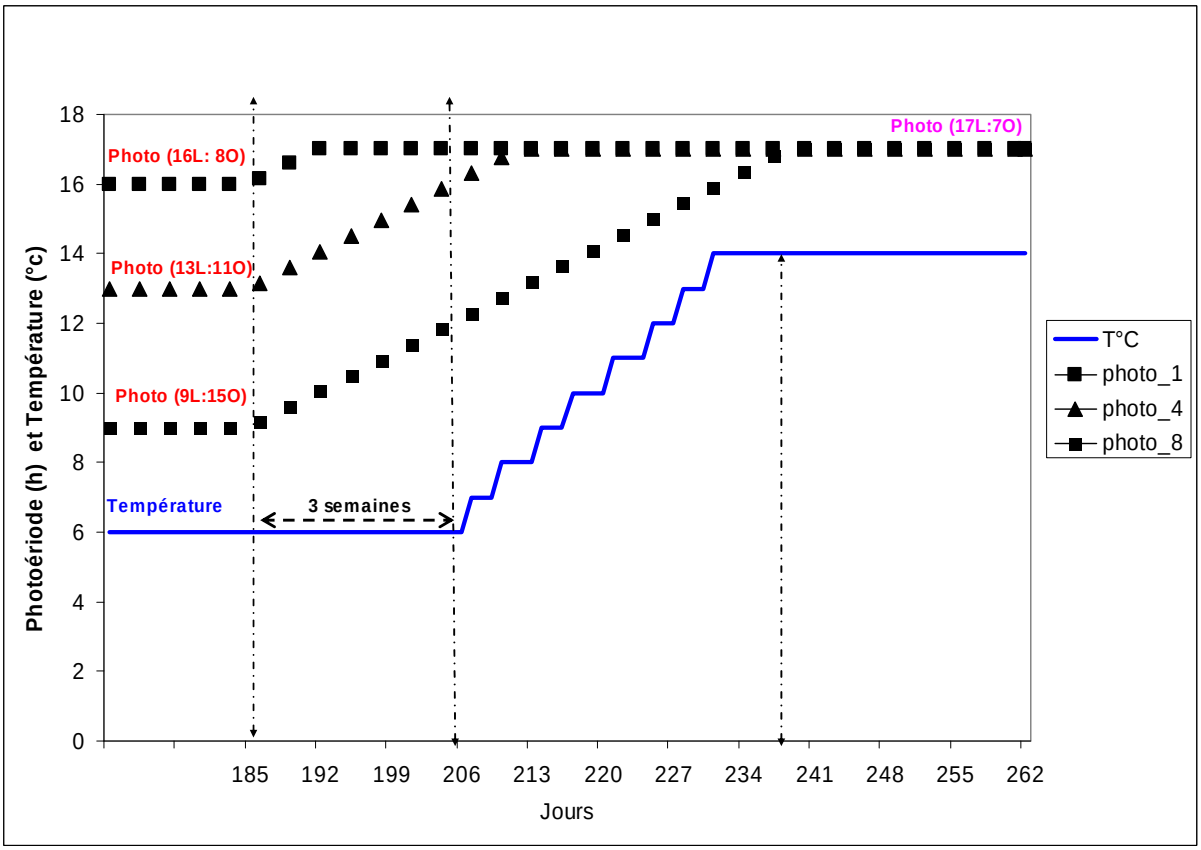


Figure 31 : Programmes photothermiques appliqués à la fin de l'expérience 1 pour l'induction de pontes hors-saison (décalage de 3 semaines entre l'augmentation de la température et l'augmentation photopériodique).

2.3.3.3. Résultats :

2.3.3.3.1. Indice gonado-somatique

La figure 32 montre que l'IGS a clairement augmenté entre les jours 185 et 246. A J185 (vernalisation de deux mois), les femelles présentaient un IGS moyen de (13.48±2.43% ; 11.09±2.43% ; 13.92±2.43% et 13.34±2.43%) (n = 3) respectivement pour les quatre modalités photopériodiques (16-4, 16-8, 6-4 et 6-8), tandis qu'il n'était que de 6.48± 2.43% (n = 3) chez les femelles du traitement 16-1.

A J247 (vernalisation de quatre mois), les femelles présentaient un IGS moyen de (22.60±2.32% ; 19.19±2.32% ; 19.29±2.32% et 20.29±2.32%) (n = 3) respectivement pour les quatre modalités photopériodiques (16-4, 16-8, 6-4 et 6-8), tandis qu'il n'était que de 13.10± 2.32% (n=3) chez les femelles du traitement 16-1.

2.3.3.3.2. Diamètre ovocytaire

La figure 32 montre que le DO a également augmenté entre les jours 185 et 246. A J185, le diamètre ovocytaire (DO) était de 716 ± 51µm ; 749 ± 51µm ; 695± 51µm et 712 ± 51µm (n = 3) dans les quatre traitements 16-4, 16-8, 6-4 et 6-8 respectivement, tandis qu'il était de 473±51µm (n = 3) chez les femelles du traitement (16-1).

Au jour 246, le DO était de 752±18, 797±18, 776±18µm et 715±18µm (n = 3) dans les quatre traitements (16-4, 16-8, 6-4, 6-8) respectivement. Cependant, il a augmenté très rapidement chez les femelles du traitement (16-1) pour atteindre une valeur de 699±18µm (n = 3).

L'épaisseur de la couche gélatineuse externe des ovocytes augmente très clairement avec l'augmentation de la durée de vernalisation quelles que soient les cinétiques photo-thermopériodiques et les amplitudes d'abaissement photopériodique testées (figure 34).

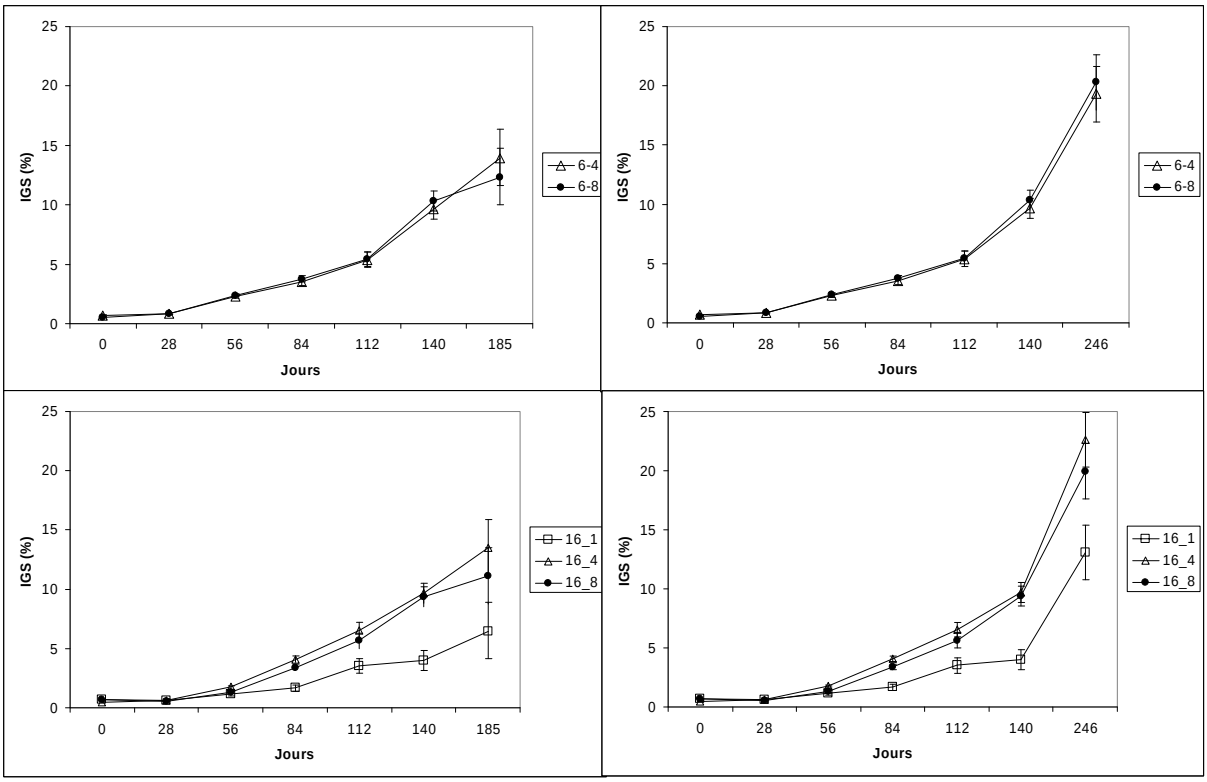


Figure 32 : Variations de l'IGS (moyenne ± erreur standard) durant une courte durée (185 jours, à gauche) et une longue durée (246 jours, à droite) de vernalisation.

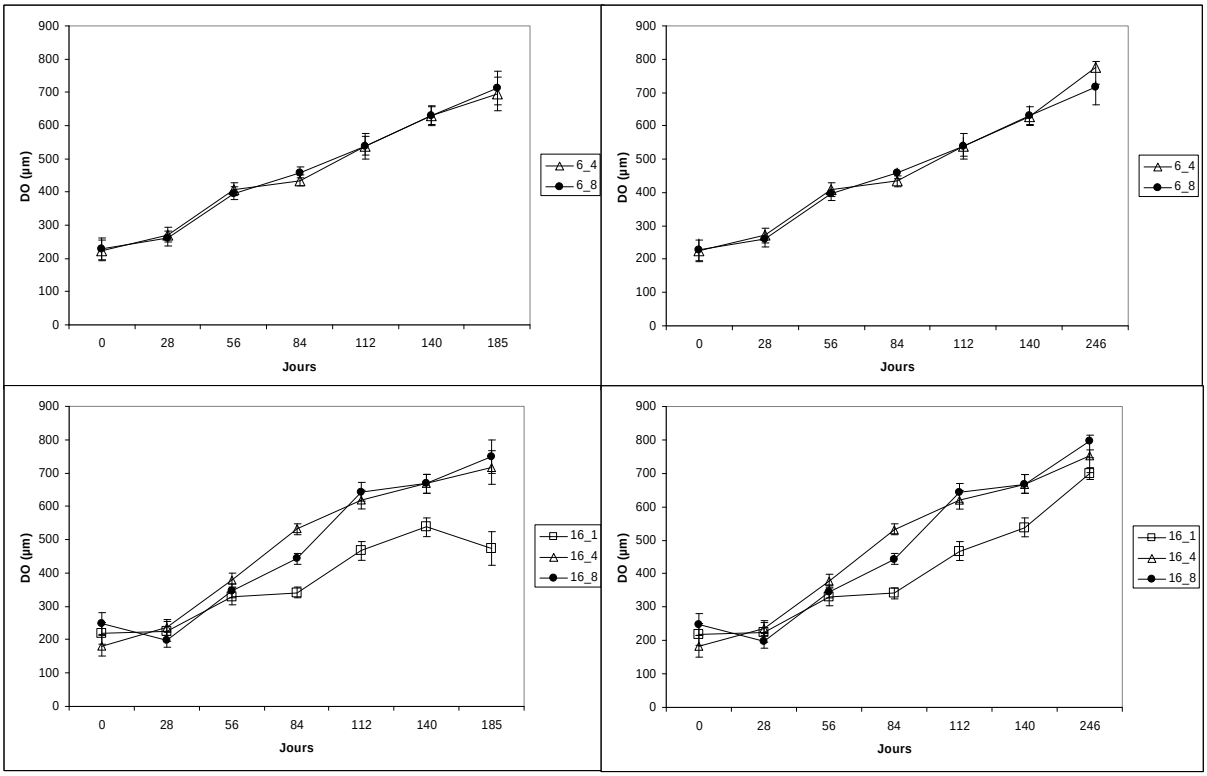


Figure 33 : Variations du DO (moyenne ± erreur standard) durant une courte durée (185 jours, à gauche) et une longue durée (246 jours, à droite) de vernalisation.

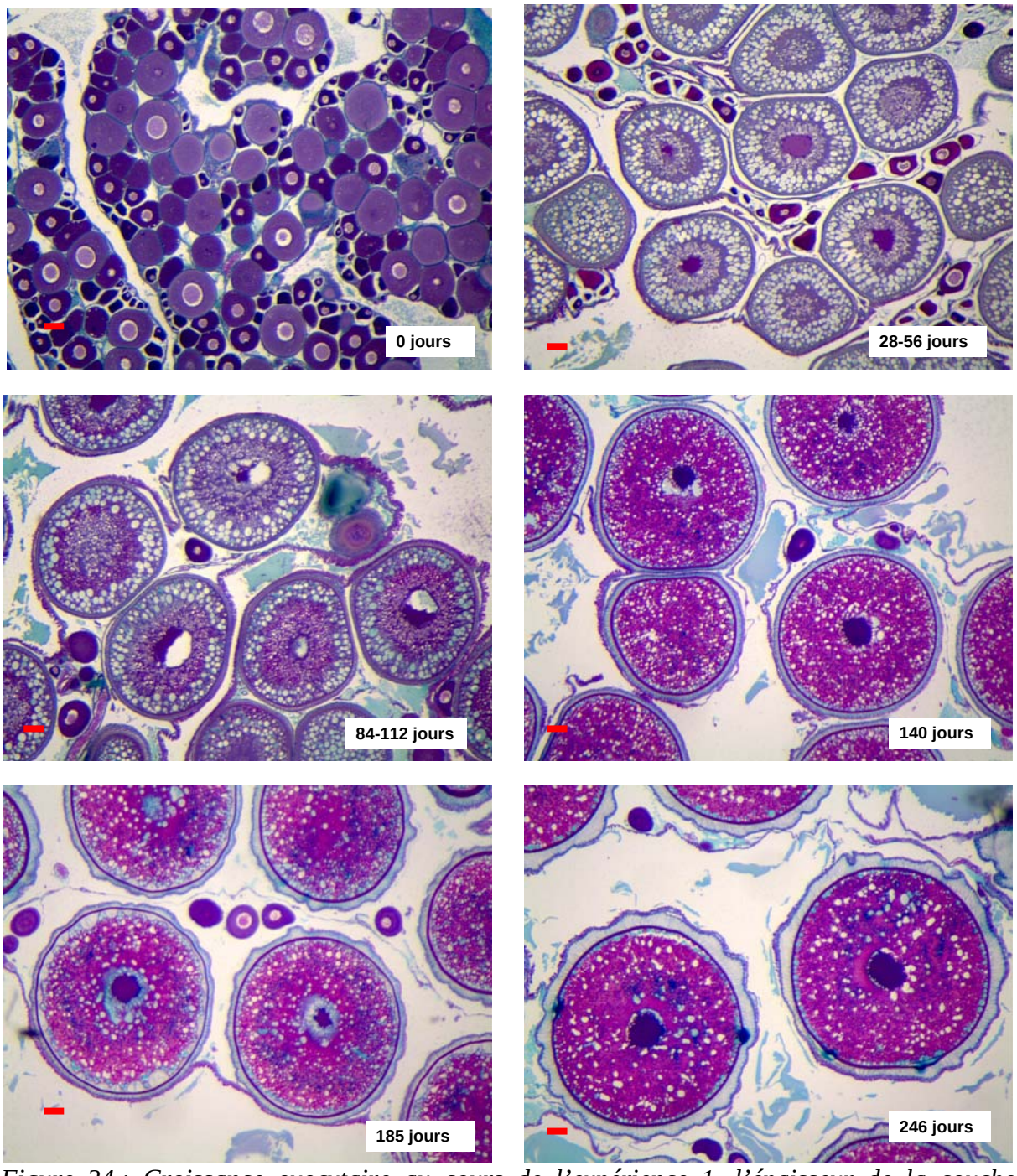


Figure 34 : Croissance ovocytaire au cours de l'expérience 1, l'épaisseur de la couche gélatineuse externe (zona radiata) a augmenté avec la durée de vernalisation (185 jours vs 246 jours). Grossissement 87X, échelle : 100µm.

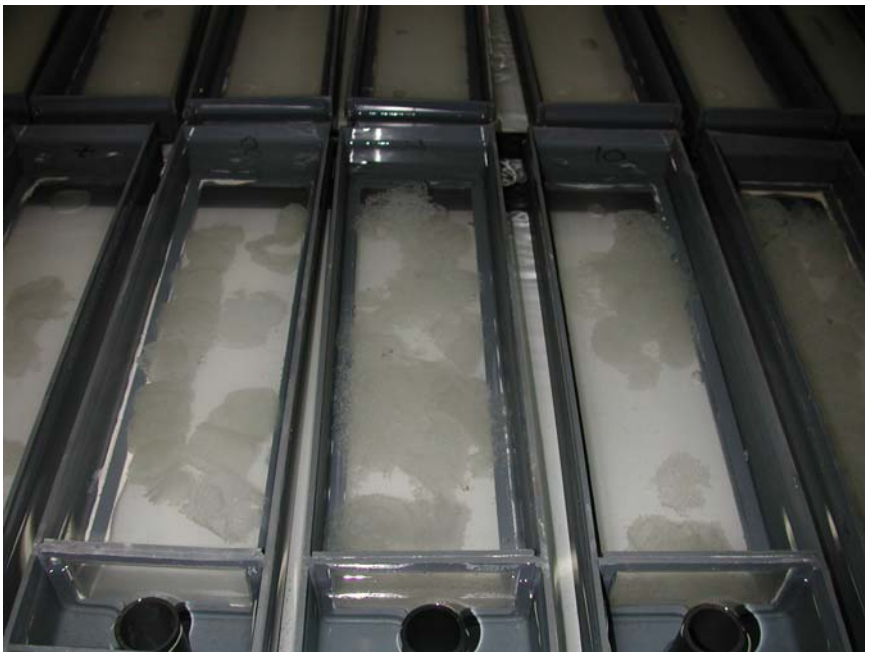


Figure 35 : Rubans de pontes en incubation dans les clayettes de l'écloserie au cours des mois de novembre – janvier 2006.

2.3.3.3.3. Moment de ponte

La première femelle (traitement 6-4) a pondu naturellement le 14 novembre 2006, 2 semaines après la fin du programme de déclenchement des pontes, soit 8 mois après le début du programme d'induction, puis toutes les femelles gravides ont naturellement pondu sur la période du 14 novembre 2006 au 26 novembre 2006.

Pour les lots de géniteurs ayant subi une plus longue durée de cycle (10 mois), dès que la température a atteint 14°C la première femelle a pondu le 30 décembre 2006, puis toutes les femelles ont pondu entre le 30 décembre 2006 et le 21 janvier 2007 (3 semaines).

Une plus longue durée de vernalisation a induit des pontes plus précoces (entre 26 et 39 jour) par rapport au début de l'augmentation de la température en comparaison avec une durée courte (durée du cycle 8 mois) (entre 42 et 48 jours). Le tableau 14 présente les moments de ponte par rapport au début du programme de réchauffement. La modalité 16-1 est associée à des pontes plus tardives par rapport aux autres modalités lorsque la durée totale du cycle a été de 8 mois, et, au contraire, aux premières pontes avec une durée de cycle de 10 mois (figure 36).

Cinétique	**Durée du cycle**	**Traitement**	**Jour de ponte/début du réchauffement** (moyenne)
Rapide	8 mois	6-4	42.8
Rapide	8 mois	6-8	47
Lente	8 mois	16-1	**63**
Lente	8 mois	16-4	47.7
Lente	8 mois	16-8	48.7
Rapide	**10 mois**	**6-4**	**27.8**
Rapide	**10 mois**	**6-8**	**39.2**
Lente	**10 mois**	**16-1**	**26.5**
Lente	**10 mois**	**16-4**	**32.7**
Lente	**10 mois**	**16-8**	**36.2**

Tableau 14 : Effet de la cinétique photothermique, de la durée du cycle et de l'amplitude photopériodique sur le moment de ponte.

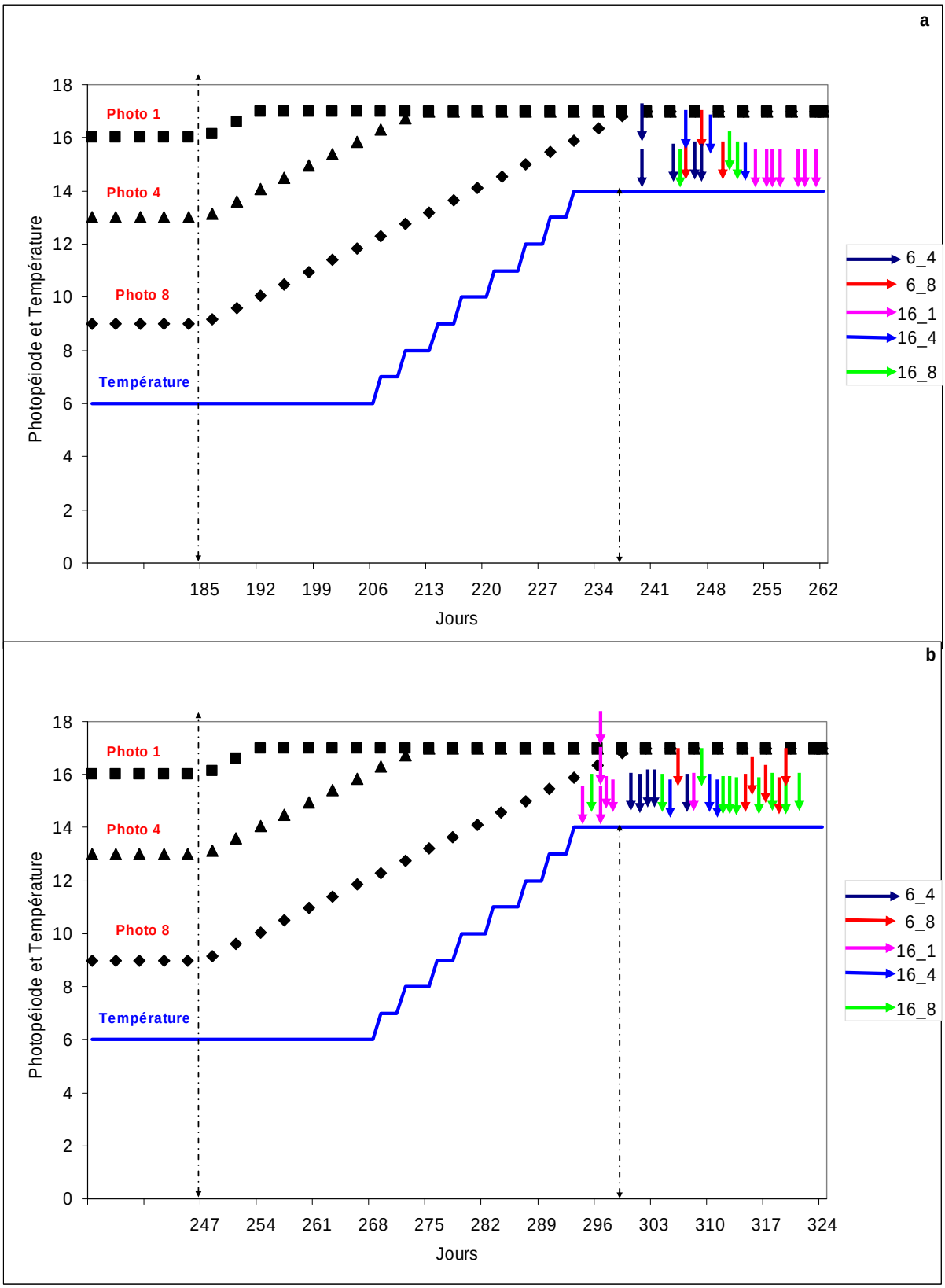


Figure 36 : Moments de pontes par rapport aux programmes photothermiques. (a) cycle court de reproduction court (8 mois) (b) cycle long (10 mois), (les flèches indiquent le moment des pontes), 6 et 16 indique à la durée de la cinétique photothermique initiale, 1, 4 et 8 indiquent l'amplitude de la diminution photopériodique en heures.

2.3.3.3.4. Taux de ponte et de fécondation

Au terme d'un cycle de conditionnement d'une durée de 8 mois, toutes les femelles gravides ont naturellement pondu dans les cinq modalités photo-thermopériodiques (16-1, 16-4, 16-8, 6-4 et 6-8), mais le taux de fécondation a été très faible quelles que soient les cinétiques photo-thermiques et les amplitudes des baisses photopériodiques testées, une seule ponte était fécondée dans la modalité 6-8 avec un taux de fécondation 90%. Par contre, pour une durée de conditionnement plus longue (10 mois), le taux de pontes fécondées a augmenté de 0 à 33-55% avec un taux d'ovocytes fécondés de 55 à 90% et toutes les femelles gravides ont pondu lorsque la cinétique photo-thermique initiale a été lente et ceci quelle que soit l'amplitude photopériodique testée. Cependant, lorsque la cinétique photo-thermique initiale a été rapide le taux de pontes a baissé de 100% à 62-75% et le taux de pontes fécondées et des ovocytes fécondés ont été presque nul (une seule ponte fécondée avec taux de fécondation de 3%) et quelle que soit l'amplitude photopériodique testée (tableau 15).

L'amplitude de la baisse initiale et de la remontée finale de la photopériode n'a, semble-t-il, pas d'effet sur les taux de pontes, de pontes fécondées et de fécondation dans les deux cinétiques photo-thermopériodiques testées.

Cinétique	Amplitude photopériodique	Durée du cycle	Nb de femelles	Nb de pontes	Taux de pontes	Taux de pontes fécondées	Taux de fécondation
Rapide	4	8m	5	5	100%	0%	0±0%
Rapide	8	8m	3	3	100%	33.3%	90±0%
Lente	1	8m	7	7	100%	0%	0±0%
Lente	4	8m	3	3	100%	0%	0±0%
Lente	8	8m	3	3	100%	0%	0±0%
Rapide	4	10m	8	6	75%	0%	0±0%
Rapide	8	10m	8	5	62.5%	20%	3±0%
Lente	1	10m	9	6	100%	50%	54.5±46%
Lente	4	10m	3	3	100%	33.33%	90±0%
Lente	8	10m	11	11	100%	54.55%	76.3±25%

Tableau 15 : Effet de la cinétique photo-thermopériodique, de l'amplitude photopériodique et de la durée du cycle sur les taux de pontes, de pontes fécondées et de fécondation (moyenne ± écart-type).

Conclusion

Cette expérience montre que la durée de cycle et la cinétique photothermique ont semblé jouer un rôle important sur la ponte et le taux de fécondation. Par contre, l'amplitude de la diminution de la photopériode a eu un effet négligeable sur ces paramètres.

Un cycle de 8 mois a induit des ovocytes immatures et des pontes non fécondées quelles que soient l'amplitude de la diminution de la photopériode et la cinétique photothermique appliquée pendant la phase d'induction du cycle de reproduction. Cependant, un cycle de 10 mois a induit des taux plus élevés de pontes fécondées et de fécondation, plus particulièrement si une cinétique photothermique lente a été appliquée pendant la phase d'induction.

Ce résultat indique que la durée du cycle reproducteur appliquée dans les précédentes expériences n'était pas suffisante pour avoir une performance reproductive optimale et que cette durée devrait être plus longue.

Ce résultat suggère également qu'une chute rapide de la température et la photopériode pendant la phase d'induction a eu un effet nocif sur la performance reproductive en fin du cycle de reproduction. Les taux de pontes fécondées et de fécondation étaient quasiment nuls lorsque la cinétique photothermique était rapide pendant la phase d'induction. Par contre, ce taux a clairement augmenté lorsque la cinétique était lente.

Bien que l'effet de la cinétique photothermique n'ait été pas clair pendant la phase d'induction, cette étude montre clairement que la cinétique photothermique utilisée dans les précédentes expériences n'était pas idéale pour induire une reproduction de qualité.

2.3.4. Expérience 3 : Effets de la température et de la longueur du jour durant la phase de vernalisation sur l'ovogenèse et les performances de reproduction.

2.3.4.1. Objectifs

Chez la plupart des espèces d'eau douce tempérée, la température joue un rôle modulateur c'est-à-dire qu'il y a des limites thermiques entre lesquelles le déroulement du cycle de reproduction sera optimal et en dehors desquelles le cycle de reproduction sera perturbé. Par exemple, une température froide (9°C) retarderait la vitellogenèse et la croissance des ovocytes par comparaison avec une température de 15°C chez la truite arc-en-ciel (Mackay et Lazier 1993) alors qu'une température élevée jouerait un rôle opposé (King et Pankhurst 2010). Wang et *al.* (2006) ont considéré que la température de 14°C est une valeur optimale pour induire la vitellogenèse chez la perche commune. Est ce que ce seuil thermique doit être maintenu pendant la phase de vernalisation chez la perche commune ?

Quels sont les effets de températures plus élevées et plus basses sur l'ovogenèse au cours de la phase de vernalisation ?

La température interagit également avec le signal photopériodique pour synchroniser les étapes finales du développement gonadique et intervient plus spécifiquement à la fin du cycle de reproduction pour le déclenchement des pontes (Pankhurst et Porter 2003). Ici, se pose la question suivante : Est-ce que la photopériode appliquée intervient dans le déclenchement des pontes chez la perche commune ?

Les objectifs de cette expérience sont donc de déterminer les effets de la température (6, 14 et 18°C) et de la durée de la photophase (12 heures et 8 heures) appliquées pendant la phase de vernalisation sur l'ovogenèse et la qualité des performances de reproduction.

2.3.4.2. Matériels et méthodes

2.3.4.2. 1. Matériels biologiques

500 géniteurs (8ème génération de domestication) ont été réceptionnés au laboratoire le 7 avril 2008 et placés dans des bacs de 6000. Ils ont été acclimatés dans nos structures expérimentales sous des conditions environnementales constantes : photopériode de 16L : 8O, température de 22 ± 2°C et une intensité lumineuse de 200 lx. La lumière était fournie par des tubes fluorescents (36W, Daylight 2500 lm).

2.3.4.2.2. Conditions expérimentales

50 poissons pesant 119±32 g (biomasse 5.9 kg/bac) en moyenne ont été placés par bac, le 8 avril 2008. Ils ont alors subi une phase d'acclimatation jusqu'au 1er juin 2008 (soit 7.5 semaines). La diminution photopériodique a commencé le 1er juin 2008 (J0). Quatre semaines plus tard, la diminution de la température a commencé (1°C/semaine). Un thermoplongeur a été placé dans chaque bac pour contrôler la température. Les bacs ont été couverts avec des matériaux isolants minces d'une épaisseur de 20 mm pour réduire les échanges thermiques entre l'air de la salle et les bacs.

La cinétique photo-thermique appliquée a été lente (16 semaines) et un décalage de 4 semaines entre les diminutions photopériodique et thermique a été respecté. Quatre prélèvements de poissons et d'organes ont été opérés à J140, J200, J260 et J310 (figures 37 et 38).

2.3.4.2.3. Traitements expérimentaux

Deux régimes thermiques ont été appliqués (18°C, 14°C) dans la salle 2 et un dans la salle 3 (6°C). Pour les régimes thermiques de la salle 2, deux photopériodes (12L : 12O et 8L : 16O) ont été combinées avec chaque régime thermique. Dans la salle 3, seule la photopériode 8L : 16O a été testée. La combinaison photo-thermopériodique appliquée dans la salle 3 peut être considérée comme un traitement témoin (cinétiques appliquées dans l'expérience 1). Tous les traitements (combinaisons photo-thermiques) ont été appliqués en duplicat ; 10 bacs en tout ont été utilisés.

A la fin de la phase de vernalisation, l'augmentation de la photopériode (8 min/jour) a été appliquée pour tous les traitements thermiques pour déclencher la ponte jusqu'au retour aux conditions initiales (juin 2008). Trois semaines plus tard, l'augmentation de la température (1°C/2-3jour) a commencé jusqu'au retour aux conditions thermiques initiales pour les températures 18°C et 14°C, sauf pour le traitement témoin pour lequel la température a été portée, puis maintenue à 14°C (figure 38).

2.3.4.2.4. Facteurs étudiés

Nous avons étudié deux facteurs (l'amplitude thermique, l'amplitude photopériodique) avec trois niveaux (Δ4°C, Δ8°C et Δ16°C) pour l'amplitude thermique et deux niveaux pour l'amplitude photopériodique (Δ4h, Δ8h). Les deux niveaux thermiques (Δ4°C, Δ8°C) ont été

combinés avec les deux amplitudes photopériodiques (Δ4h, Δ8h). Chaque combinaison a été répétée deux fois, N = 2*2*2=8 +2 bacs témoin (Δ16°C, Δ8h)=10 bacs.

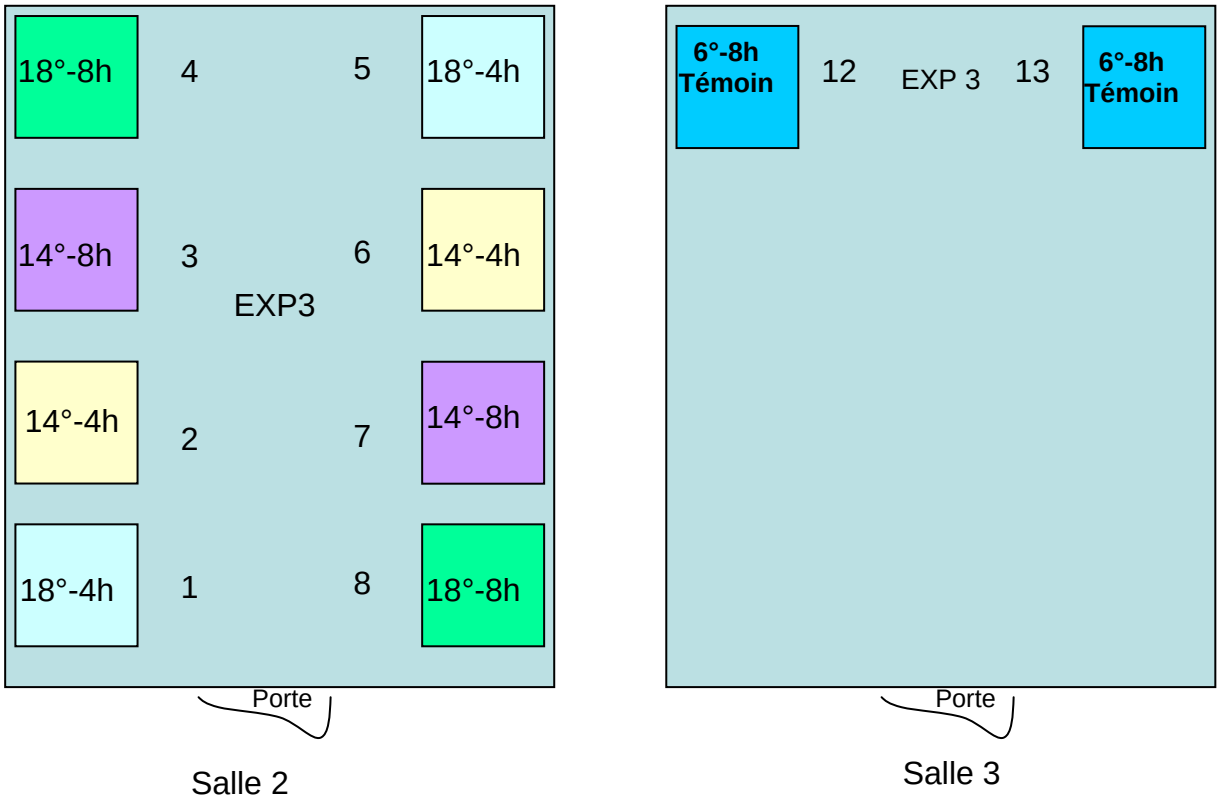


Figure 37 : Disposition des bacs lors de l'expérience 3. Salle 2, seuils thermiques de 14 et 14°C combinés avec deux amplitudes de la baisse photopériodique (4 ou 8 heures), Salle 3, seuil thermique de 6°C combiné avec une amplitude de la baisse photopériodique (8 heures).

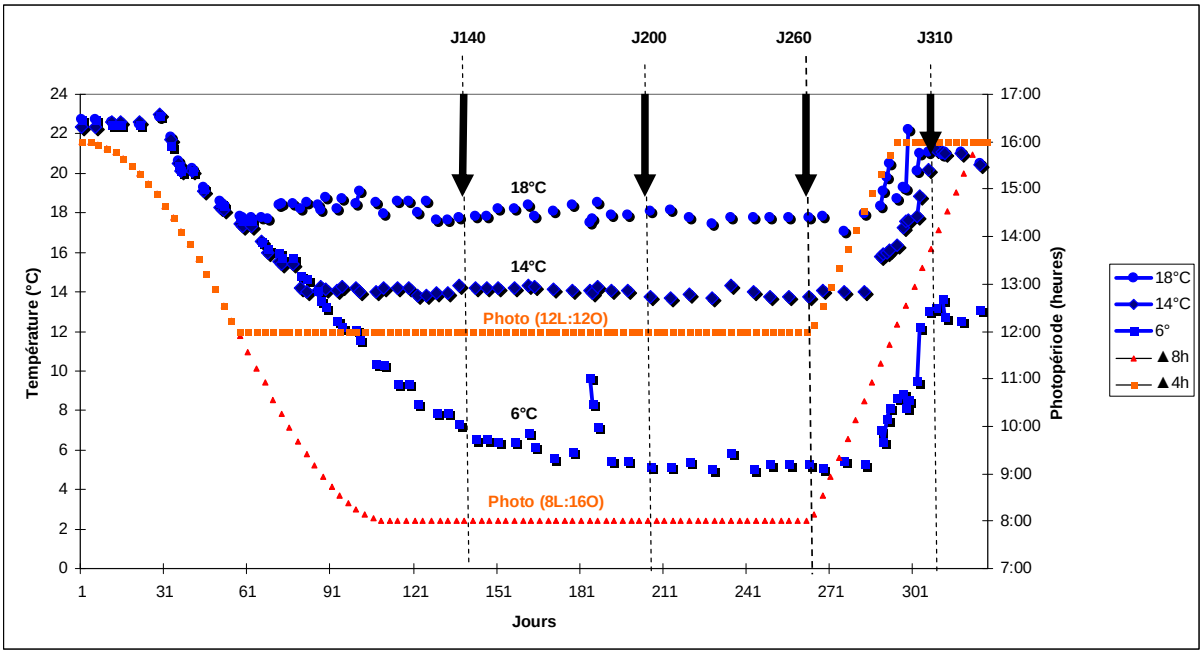


Figure 38: Programmes photothermopériodiques testés lors de l'expérience 3, trois niveaux de température (18, 14 et 6°C) et deux photopériodes (12L :12O) et (8L : 16O) ont été appliqués, les deux niveaux thermiques 18°C et 14°C ont été combinés avec les deux photopériodes (12L :12O) et (8L :16O), alors que la température 6°C n'a été combinée qu'avec la photopériode (8L :16O), (les flèches noires indiquent les moments des prélèvements).

2.3.4.3. Résultats

2.3.4.3.1. Indice gonado-somatique

La figure 39 montre que les femelles présentaient un IGS proche de 7% à la fin de la phase d'induction dans tous les lots expérimentaux Ensuite, entre le 17 octobre (J140) et le 19 décembre (J200) 2008, on constate que l'IGS a augmenté de manière significative dans tous les traitements. Entre le 19 décembre (J200) et le 8 avril 2009 (J310), l'IGS a évolué très différemment selon les traitements appliqués.

L'IGS a augmenté régulièrement significativement dans le traitement 6-8 pour atteindre une valeur maximale de 29.67± 2.22% (n = 7) à J 310.

Par contre, l'IGS a augmenté significativement dans les traitements 14-4 et 14-8 pour atteindre des valeurs maximales respectivement de 21.18±0.61 (n=6) et 18.16± 0.61% (n = 5) à J260, puis a chuté rapidement dans le traitement 14-4 à une valeur minimale de 1.40±2.21%, (n= 9) au jour 310. Toutefois, cette diminution était liée à la ponte des femelles. Dans le

traitement 14-8 il a légèrement baissé pour atteindre une valeur intermédiaire de 12.48±2.21%, (n= 10) au jour 310.

Entre J200 et J260, l'IGS est resté stable dans le traitement 18-8 sans différence significative, puis a baissé à 3.42±2.21% (n = 10) à J310. Cet abaissement a été observé plus précocement dans le traitement 18-4 : l'IGS a chuté à une valeur minimale de 1.26± 0.61% (n = 2) à partir du jour 200, puis il est resté constant jusqu'à la fin de l'expérience (J310). Sous la température de 18°C, la chute d'IGS n'est pas due à la ponte (aucune ponte n'a été obtenue sous cette température).

2.3.4.3.2. Pontes

Des pontes (28 pontes) n'ont été obtenues que pour 3 traitements (6-8, 14-4 et 14-8). Concernant le traitement 14-4, des pontes précoces (8) ont été récoltées sur une longue durée (du 2 janvier au 21 février) (de J216 à J266). Les femelles du traitement 14-8 ont pondu (4 pontes) plus tardivement après l'augmentation photopériodique (du 4 mars au 5 avril) (du J277 à J309). Pour le traitement 16_8, les pontes ont été encore plus tardives, les femelles ont pondu (8 pontes) à partir de 10°C sur une durée plus courte (1er avril au 18 avril) (J305 à J322) (figure 40).

Toutes les pontes récoltées sous une température de 14°C étaient mortes et fragmentées avec des œufs blancs quelle que soit la durée de photophase appliquée. Par contre, les pontes récoltées sous une température de 6°C (traitement 6-8) étaient moins fragmentées avec des œufs translucides.

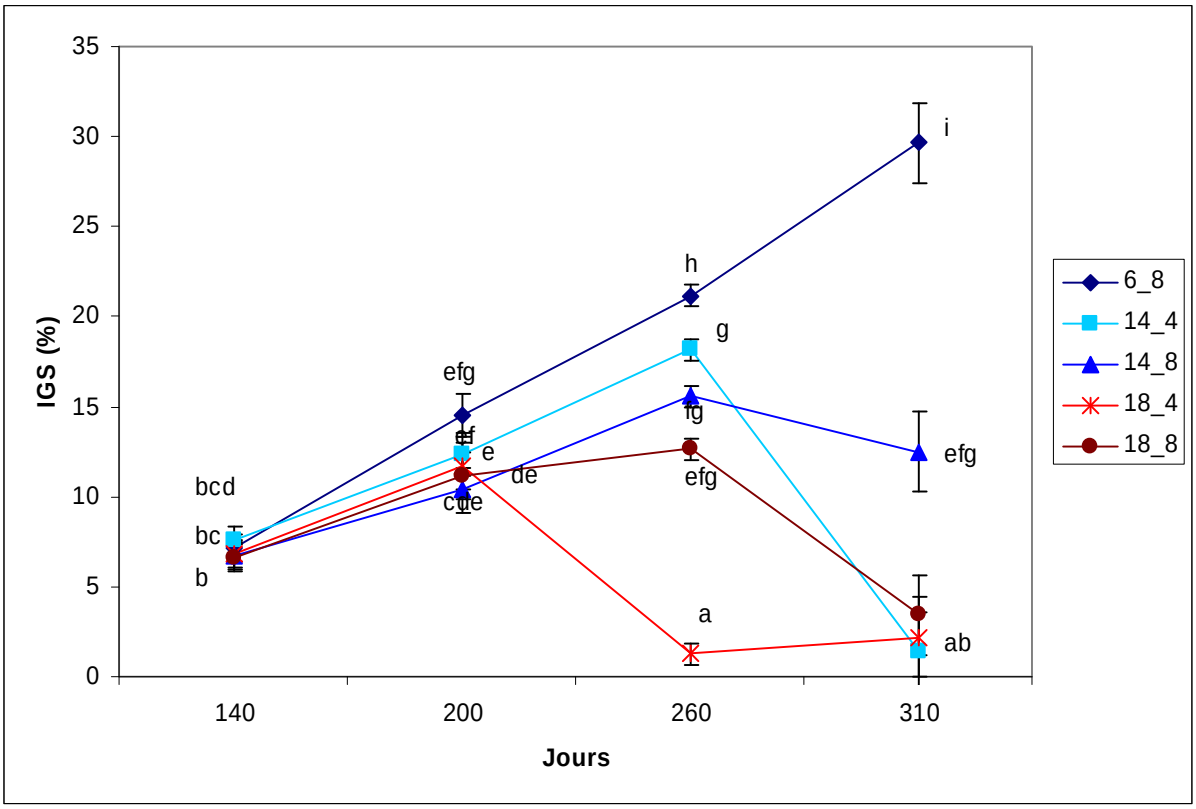


Figure 39 : Evolution de l'IGS moyen (% ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3. Les différentes lettres indiquent les différences statistiques significatives.

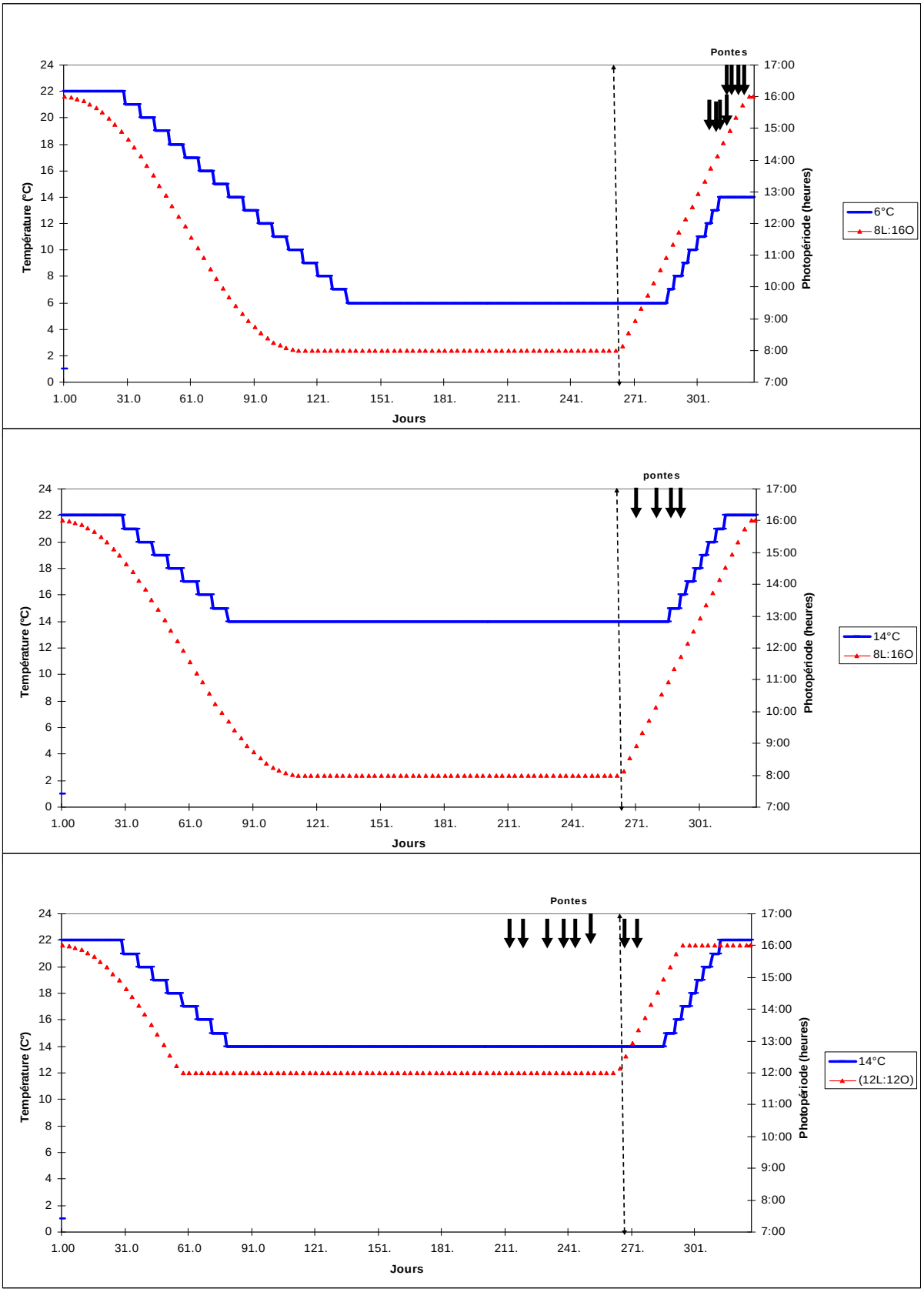


Figure 40 : Moments des pontes obtenues selon les programmes photo-thermopériodiques appliqués.

2.3.4.3.3. Diamètre ovocytaire

A J140, les diamètres ovocytaires moyens variaient entre 578 et 659µm (figure 41). A cette date, le diamètre ovocytaire des ovocytes des femelles du traitement 18-8 était significativement inférieur à celui des ovocytes des femelles des 4 autres traitements. Entre J140 (P0) et J200 (P1), le diamètre ovocytaire a augmenté dans tous les traitements avec un maintien de la différence observée à J140. Entre J200 et J260, le DO a fortement régressé dans le traitement 18-4 avec un diamètre ovocytaire moyen de 245±46.90µm (n = 2), significativement inférieur à ceux relevés dans les autres traitements. A J260, les valeurs de DO pour les 4 autres traitements ne sont pas significativement différentes. Les valeurs moyennes maximales ont été enregistrées à J260 pour les traitements 14-4 (DO= 945.9 ± 46.9µm, n =5) et 14-8 (891.5±46.9µm, n = 4). Entre J260 et J310, DO n'a pas cru significativement, mais a atteint sa valeur maximale (DO= 880±33µm, n = 4) pour le traitement 6-8. En parallèle, le DO a significativement baissé dans les traitements 14-8, 18-8 et 14-4 pour atteindre respectivement les valeurs moyennes suivantes : 742.1±33 ; 524.2±33 et 298.2±33µm. A J310, des différences significatives très nettes sont relevées en fonction des traitements (6-8 > 14-8 > 18-8 > 14-4, 18-4). Comme pour l'IGS, il convient de rappeler ici qu'à cette date, les prélèvements effectués sur les femelles du traitement 14-4 concernent des femelles ayant pondu.

2.3.4.3.4. Stade de développement ovocytaire

A J140 (figure 42), les ovaires présentent des ovocytes au stade 4 (vitellogenèse précoce) lorsque la température a été maintenue à 18°C ou des ovocytes au stade 5 (vitellogenèse avancée) lorsque la température a été amenée à 6 ou 14°C. Ces résultats sont similaires aux résultats relevés lors de l'expérience 2. Au cours du temps, les ovocytes ont évolué vers le stade 6 (maturation finale) (figure 43) dans le traitement 6-8 et vers le stade 5 pour les traitements 18-4 et 18-8. Aucun stade 6 n'a été observé chez les femelles maintenues à 14 ou 18°C.

A J260 et J310, de nombreuses coupes histologiques ont montré des ovocytes atrétiques à partir de J260 sous des températures de 14 et 18°C, et ceci quelle que soit la durée du jour appliquée. Cependant, l'effet de la durée du jour apparaît sur la vitesse de dégradation ovocytaire. A J260, 4 ovaires sur 5 présentaient des ovocytes atrétiques pour les traitements 14-4 et 2 sur 2 pour le traitement 18-4, alors que seulement 2 ovaires sur 5 présentaient des ovocytes atrétiques pour les traitements 14-8 et 18-8.

A J200, l'épaisseur de la couche « gélatineuse » observée autour de l'ovocyte ne dépasse pas 30µm et reste constante pour les traitements thermiques 14°C et 18°C quelle que soit la durée de jour appliquée (12L : 12O) ou (8L : 16O). Par contre, cette épaisseur augmente régulièrement et significativement pour atteindre une valeur maximale de 130µm chez les femelles du lot soumis à 6°C (figure 44).

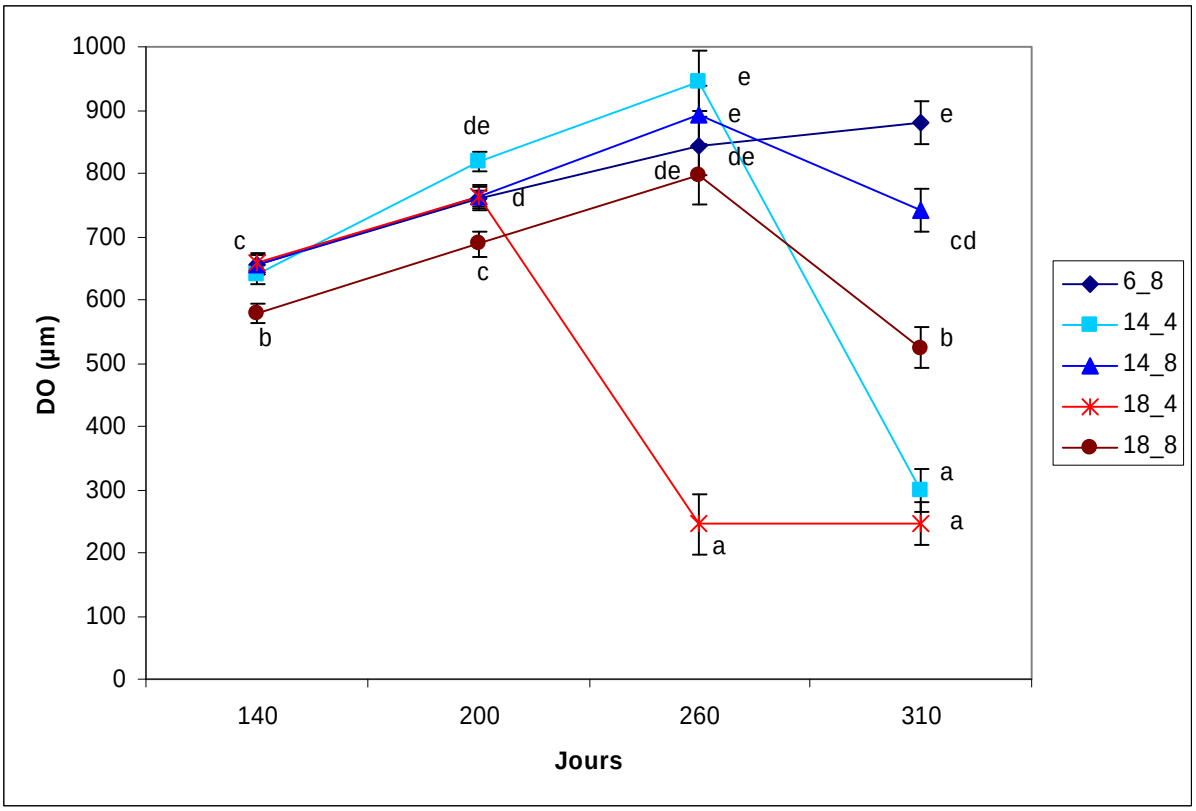


Figure 41 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen (µm ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3 (les différentes lettres indiquent les différences significatives.

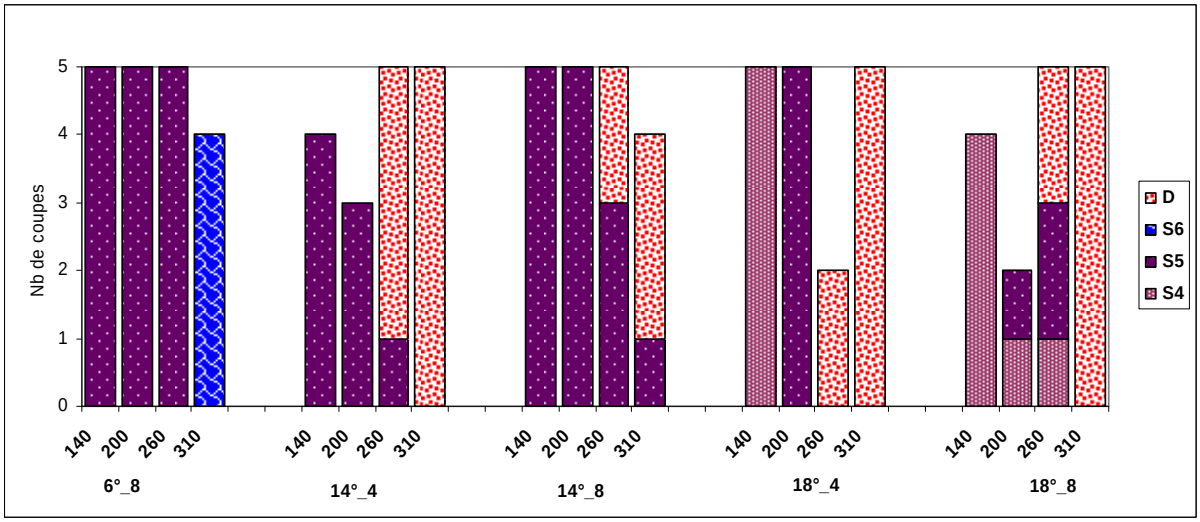


Figure 42 : Evolution du stade de développement en fonction des conditions photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3. S4 : stade vitellogenèse précoce, S5 : stade vitellogenèse avancée, S6 : stade maturation finale, D : ovocyte atrétique.

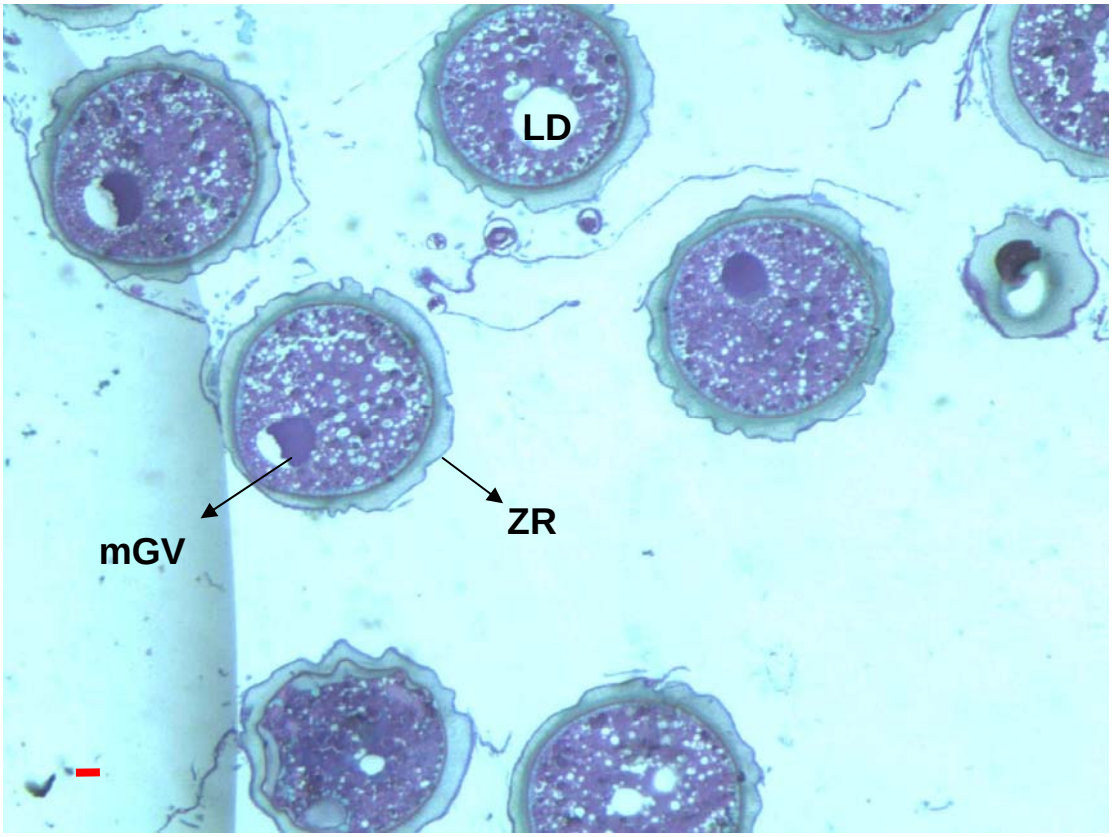


Figure 43 : Ovocytes au stade de maturation finale prélevés à la fin de l'expérience dans le lot témoin (6-8). LD : goutte lipidique, ZR : zona radiata, mGV : migration de la vésicule germinale. Grossissement 87X, échelle : 100µm.

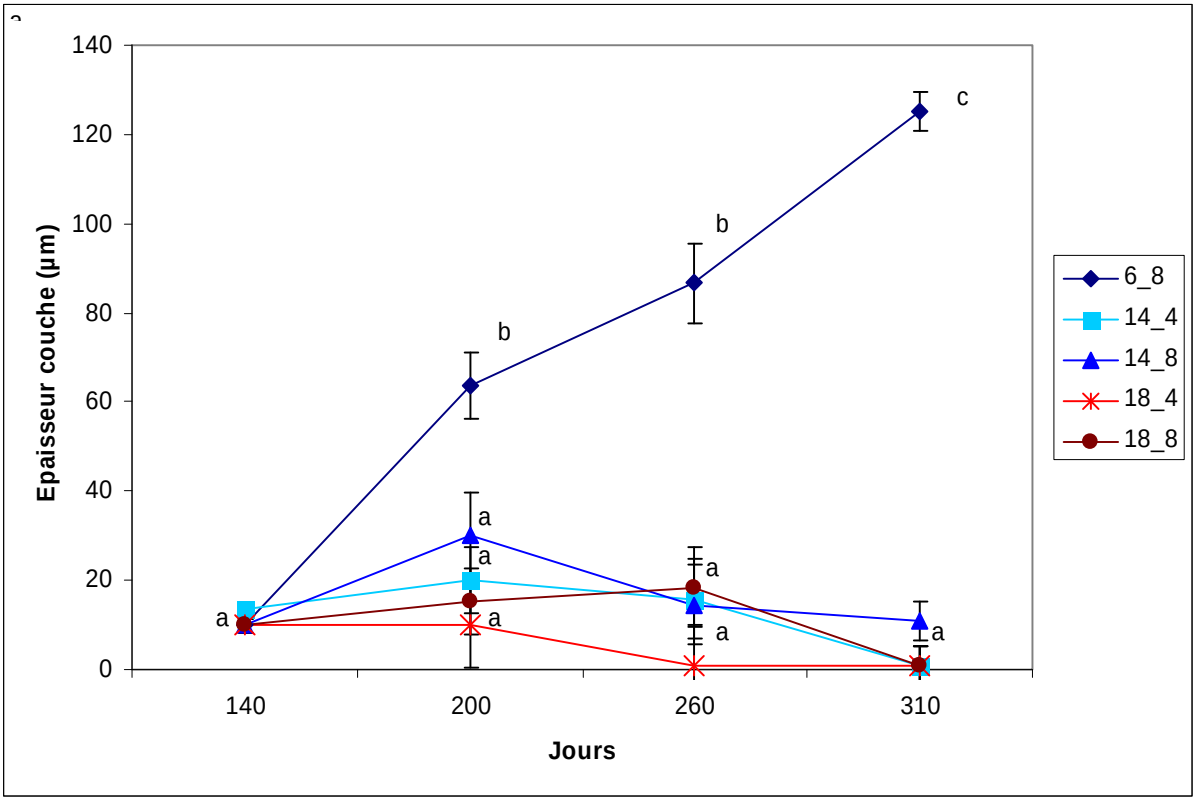


Figure 44 : Evolution de l'épaisseur de la couche gélatineuse des ovocytes (µm ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3. (Les différentes lettres indiquent les différences significatives).

2.3.4.3.5. Oestradiol E2

La figure 45 montre que les teneurs plasmatiques en E2 sont restées élevées et constantes (3035-3285pg/ml) dans le traitement 6-8 (T : 6°C, photopériode : L8 : O16) entre J140 et J310. Par contre ces teneurs plasmatiques en E2 ont globalement baissé dans les quatre autres traitements photo-thermiques appliqués (< 500pg/ml), même si du fait d'une forte variabilité des mesures, des différences significatives ne sont pas systématiquement observées (effet significatif uniquement relevé pour les traitements 14-4 et 18-4). A J260 et J310, des teneurs plasmatiques en E2 significativement supérieures sont dosées chez les femelles du traitement 6-8 par rapport à celles des quatre autres traitements. Pour les quatre autres traitements, aucun effet lié aux conditions photothermopériodiques appliquées n'a été observé.

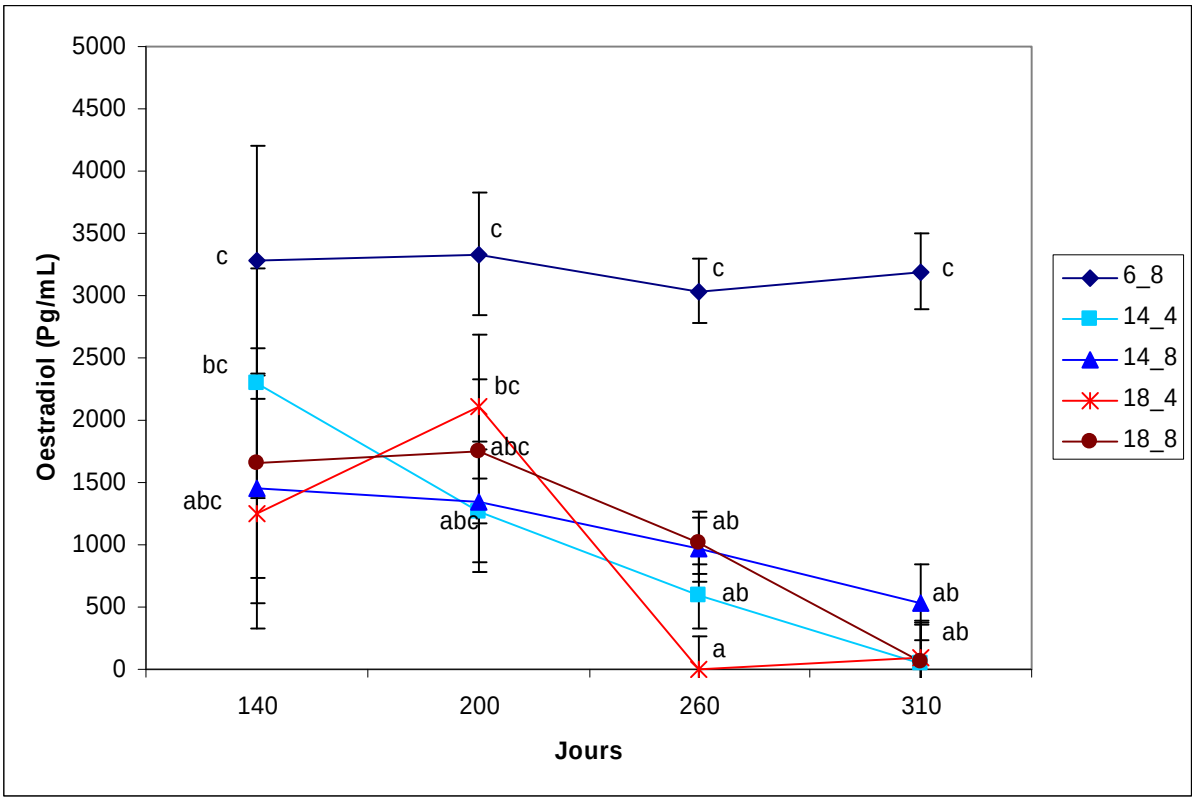


Figure 45 : Evolution de la concentration plasmatique moyenne en oestradiol (pg/mL ± erreur standard) en fonction des différentes modalités photo-thermopériodiques appliquées au cours de l'expérience 3. Les différentes lettres indiquent les différences statistiques significatives.

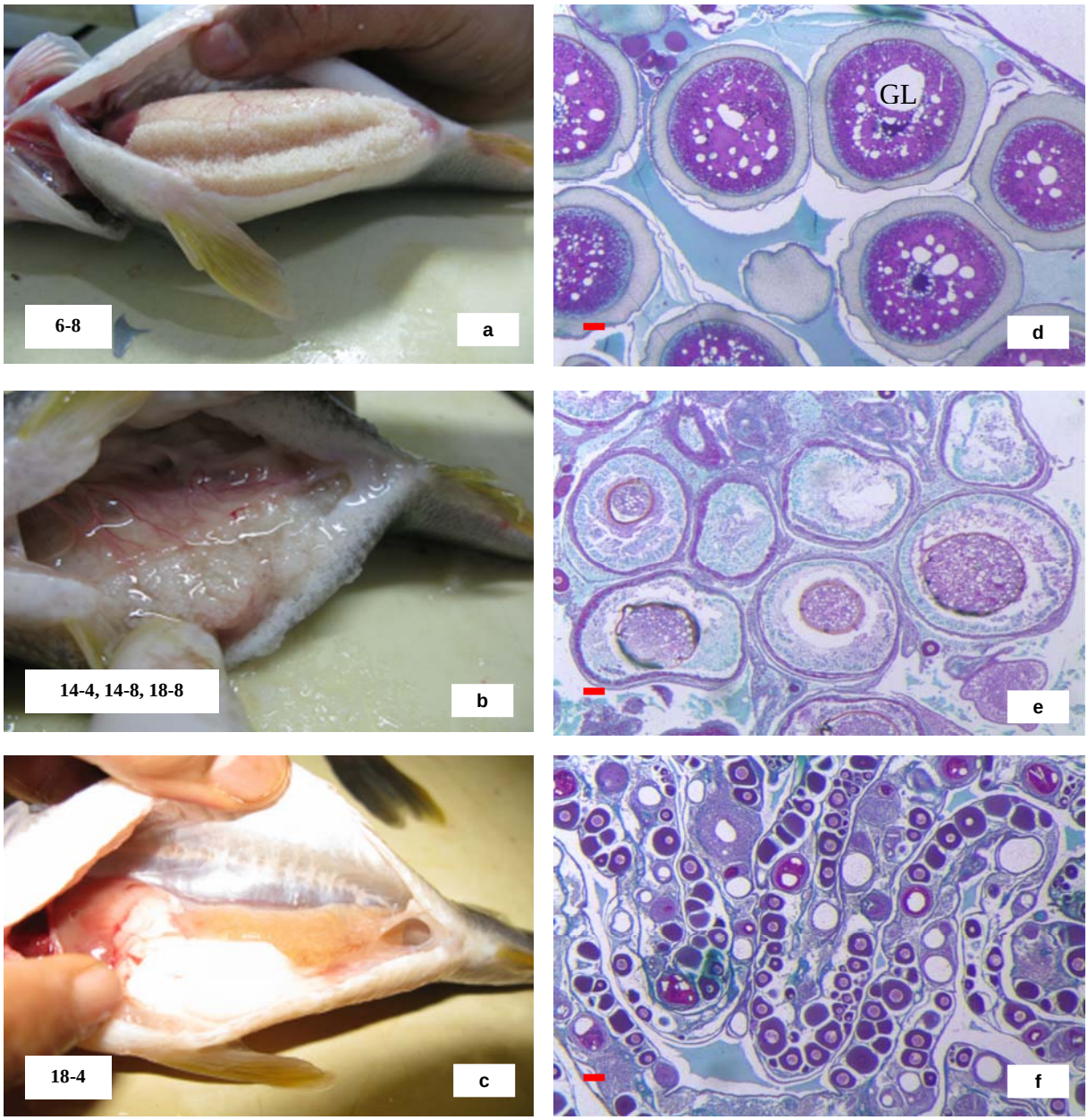


Figure 46 : Etat des gonades et des ovocytes prélevés au jour 260 en fonction des traitements photo-thermopériodiques appliqués, d = ovocytes normaux, e= ovocytes dégradés (atrétiques), f=ovocytes résorbés atrétiques. Grossissement 87X, échelle100µm.

Conclusion :

Les résultats observés à la fin de la phase d'induction sont quasiment similaires à ceux enregistrés à la fin de l'expérience 2.

Au cours de temps, l'effet du niveau de température et de la photophase est devenu plus clair.

Au jour 240, la qualité des ovocytes a commencé à baisser sous des températures de 14°C et 18°C. Les ovocytes atrétiques sont apparus chez les femelles qui ont été soumises à ces températures, les teneurs plasmatiques en oestradiol ont également commencé à baisser de manière significative, le développement gonadique a été ralenti en comparaison avec celui observé pour le lot témoin (traitement 6-8).

Cependant, sous une température de 6°C, le développement gonadique s'est poursuivi régulièrement, des ovocytes normaux ont subi une atrésie et le niveau de l'oestradiol est resté quasiment stable et élevé jusqu'à la fin de l'expérience.

Ces résultats montrent que des températures entre 18°C et 14°C ne sont pas adaptés pour la phase de vernalisation (gamétogenèse). Au contraire, des températures entre 14 et 6°C seraient indispensables pour maintenir la qualité des ovocytes et la stabilité du développement gonadique.

La température élevée (18°C) a inhibé complètement la ponte et aucune ponte n'a été enregistrée. Cependant, la température de 14°C a induit des œufs blancs en comparaison avec les observations faites sous une température de 6°C.

L'effet de la photophase sur le maintien de qualité des ovocytes pendant la phase de gamétogenèse a été mineur. Cependant, cet effet a été plus clair sur la vitesse de régression gonadique et le moment des pontes. Une photophase longue a accéléré la vitesse de régression gonadique et a avancé le moment des pontes en comparaison avec une photophase courte.

Ces résultats indiquent que la photophase joue un rôle de synchronisation des pontes au cours du cycle de reproduction. Son effet est déterminé par le niveau de température appliqué.

Le niveau de température a deux actions, premièrement un effet modulateur et déterminant sur la qualité de l'ovogenèse et deuxièmement un effet synchronisant de la ponte.

Enfin, la photopériode joue un rôle synchronisant au cours de l'ovogenèse (régression gonadique et pontes). La longueur de la photophase et la direction du changement de la photopériode (augmentation photopériodique) sont les deux principales variables impliquées dans la synchronisation.

2.3.5. Expérience 4 : Effet des cinétiques terminales de la photopériode et de la température sur le déclenchement des pontes.

2.3.5.1. Objectifs

Dans la plupart des expériences qui ont été réalisées sur la perche commune, le programme de déclenchement des pontes s'appuie uniquement sur une augmentation de la température sans modification de la photopériode (Migaud *et al*. 2002, 2004b). Chez la perche jaune, Kayes et Calbert (1979) ont comparé deux cinétiques photopériodiques différentes associées à une augmentation de la température de 4 à 14°C à partir de mois février. Le taux de ponte était supérieur (89%) avec l'augmentation de la photopériode par rapport au traitement avec une photopériode maintenue constante (56%). Migaud *et al.* (2002) ont maintenu une photopériode constante (12L : 12O). L'application de cette modalité s'est accompagnée de l'obtention de pontes partielles (fragments de rubans) de mauvaise qualité chez la perche commune (21% des femelles ont pondu).

En conséquence, l'objectif de cette expérience est de montrer si une élévation parallèle de la température et de la photopériode est nécessaire ou si une élévation de la température seule est suffisante pour induire la ponte. Quel est le facteur qui synchronise la fin du cycle de reproduction de la perche commune, la température, la photopériode ou les deux ?

2.3.5.2. Matériels et méthodes

2.3.5.2.1. Matériels biologiques

Des géniteurs de perche (8ème génération de domestication) ont été réceptionnés au laboratoire le 17 septembre 2007 avec un poids moyen de 65g. Ils ont été élevés dans nos structures expérimentales (deux bacs de 6000 L) sous des conditions environnementales constantes : photopériode de 16L : 8O, température de 22 ± 2°C et l'intensité lumineuse de 200 lx.

2.3.5.2.2. Conditions expérimentales

45 géniteurs ont été transférés dans les bacs expérimentaux (salle 3) le 2 avril 2008 (poids moyen 184± 42g). Ils ont subi une phase d'acclimatation jusqu'au 1er juin 2008 (8 semaines). Un thermoplongeur a été placé dans chaque bac pour contrôler la température. Les bacs ont été couverts avec des matériaux isolants d'une épaisseur de 20 mm pour réduire les échanges thermiques entre l'air de la salle et les bacs. La température de l'eau dans les bacs a été

augmentée en utilisant le thermoplongeur, la température de la salle étant maintenue à 6°C pendant la phase de déclenchement de la ponte.

2.3.5.2.3. Traitements expérimentaux

Une cinétique photothermique lente unique a été initialement appliquée (cinétique photothermique de 16 semaines, amplitude photopériodique de 8 heures et décalage de 4 semaines entre les abaissements photopériodique et thermique) pour l'induction de la gonadogenèse. L'expérience a commencé le 1er juin par l'abaissement de la photopériode, et quatre semaines plus tard, l'abaissement de la température a été initié. A la fin de la phase d'induction, les géniteurs ont été maintenus à une température de 6°C pendant 4 mois. Ce programme photothermique a été identique pour tous les traitements jusqu'au début de la phase de déclenchement de la ponte.

Trois traitements photothermiques ont été appliqués en duplicat pour déclencher la ponte. La photopériode a été augmentée de 8 min/jour jusqu'au retour aux conditions initiales prévalant au mois de juin 2008 (16L : 8O) dans les traitements qui comportent une augmentation photopériodique. La température a augmenté trois semaines plus tard (de 6°C à 14°C, +1-2°C/3jour) dans les traitements qui comportent une augmentation de température comme cela est montré dans les figures 47 et 48.

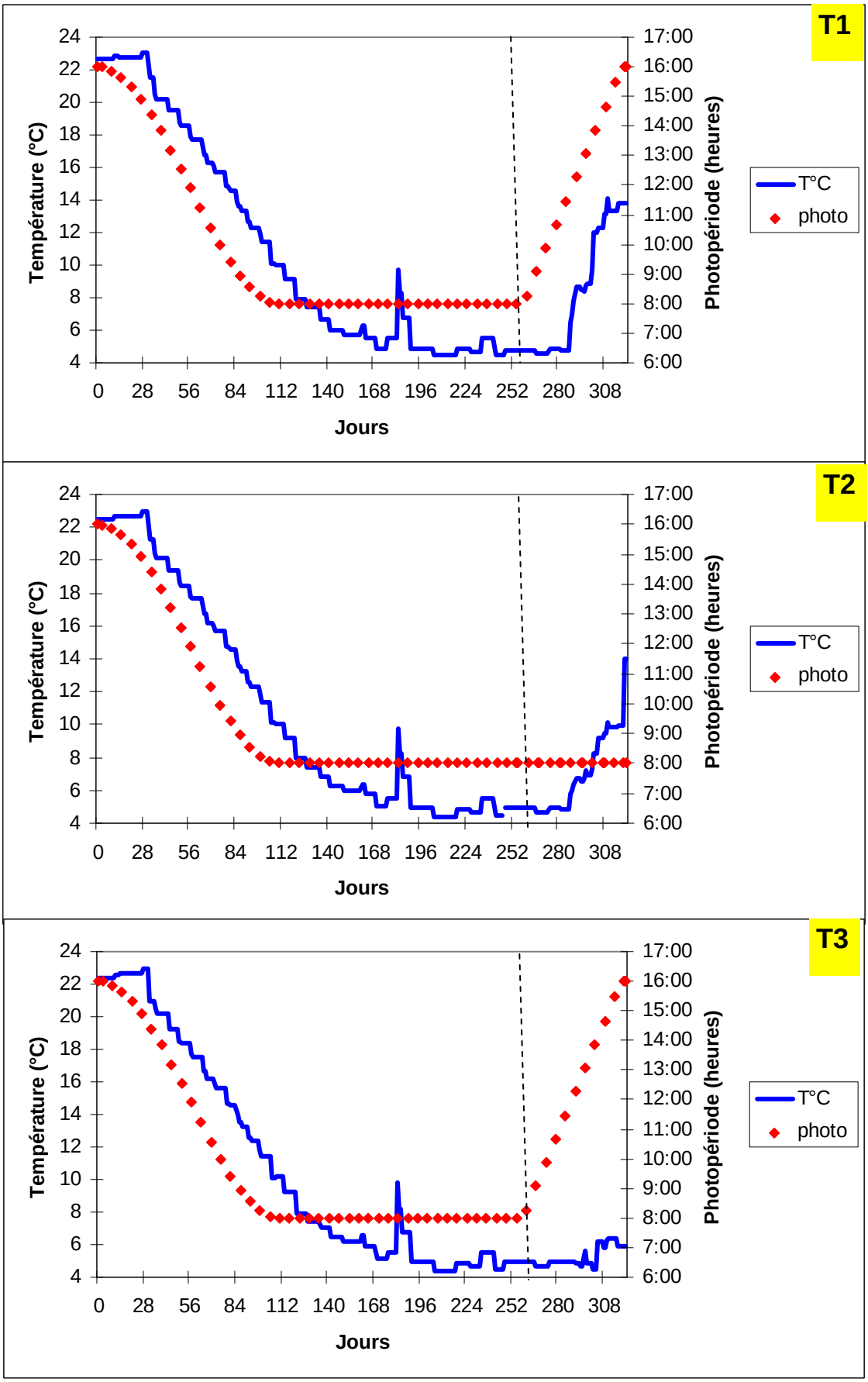


Figure 47 : Programmes photothermopériodiques appliqués lors de l'expérience 4 (trois cinétiques photothermiques terminales ont été testées (T1, T2 et T3) pour déclencher la ponte.

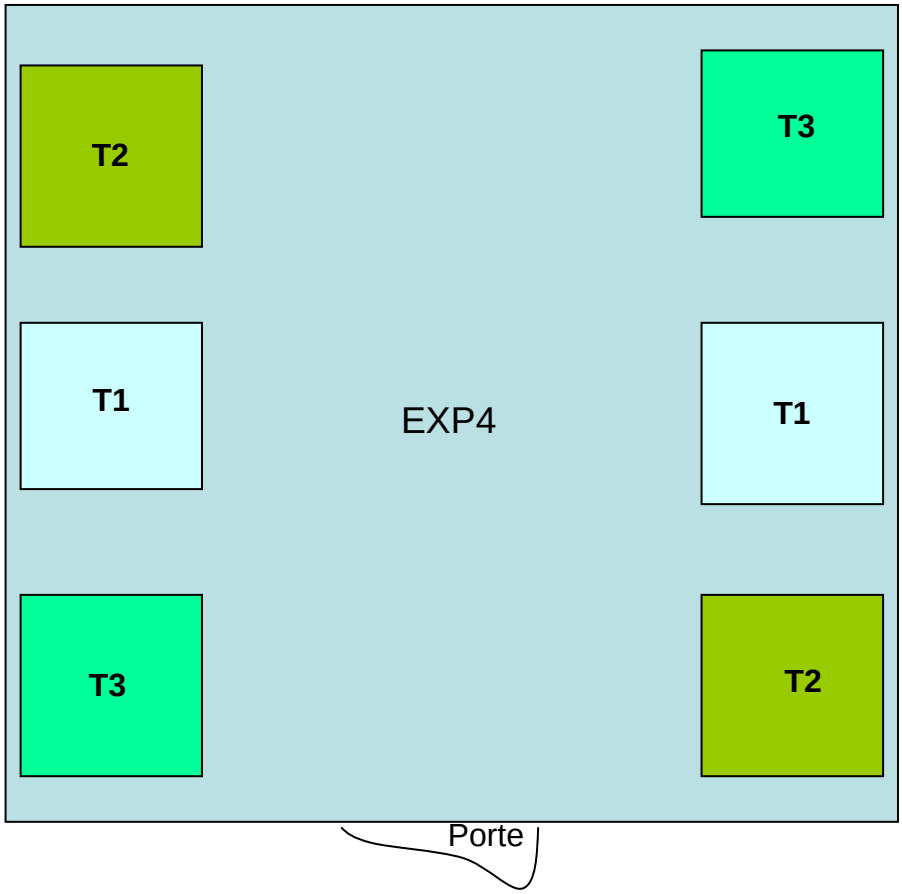


Figure 48 : Disposition des bacs lors de l'expérience 4, (trois cinétiques photothermiques terminales ont été testées : T1, T2 et T3).

2.3.5.3. Résultats

Le taux de ponte est resté nul (0%) lorsque la température a été maintenue à 6°C et la photopériode a été augmentée (T3). Par contre, le taux de ponte a été de 100% lorsque la température a été augmentée de 6 à 14°C quelle que soit la cinétique photopériodique terminale appliquée (stable ou augmentation) (tableau 16). Toutes les femelles ont pondu entre le 30 mars 2009 (J303) et le 26 avril 2009 (J330) dans les traitements T1 et T2. Pour les pontes récoltées dans les traitements T1 et T2, les taux de fécondation ont toujours été nuls.

Un essai de fécondation artificielle a été réalisé sur quatre femelles du traitement T3 après la fin de l'étude (le 27 avril 2009), les taux de fécondation et d'éclosion ont été quasiment nuls.

Un prélèvement a été effectué sur 6 femelles du traitement T3 (température stable). Les femelles présentaient un IGS de 26.40±3.04%.

Les données histologiques ont montré que la moitié des ovocytes observés étaient atrétiques, les globules vitellins étaient de forme anormale dans les ovocytes des femelles du traitement

T3 (figure 49 b). 3/6 des ovaires présentaient des ovocytes atrétiques, et 3/6 présentaient des ovocytes au stade de maturation finale (figure 49a).

	Nb de femelles	Nb de femelles ayant pondu	Taux de pontes
Traitement 1 (T1)	12	12	100%
Traitement 2 (T2)	22	22	100%
Traitement 3 (T3)	17	0	0%

Tableau 16 : Taux de pontes en fonction des traitements photothermiques testés lors de l'expérience 4.

Conclusion

Ce résultat montre que l'augmentation de la température est le facteur principal qui synchronise la fin du cycle et déclenche la ponte, l'augmentation de la photopériode joue un rôle mineur.

Le maintien d'une température froide et constante bloque les ovocytes dans l'ovaire et la moitié des ovaires présente des ovocytes atrétiques. Donc ce résultat suggère que la durée du cycle est limitée et que son prolongement au-delà de 10 mois conduit à une altération des ovocytes.

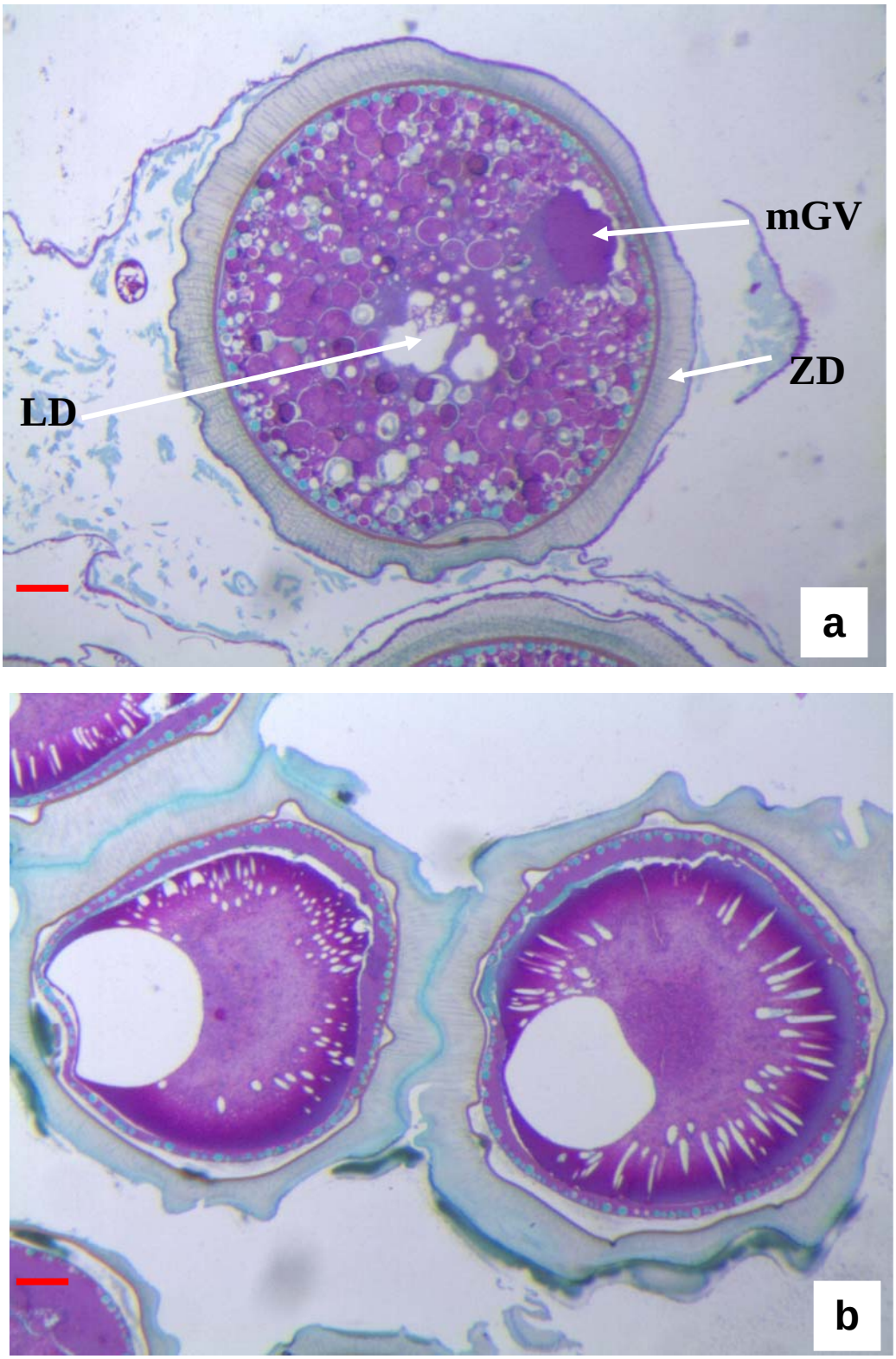


Figure 49 : Caractéristiques des ovocytes observés à la fin de l'expérience 4 (J330), a= ovocyte au stade de maturation finale, b= ovocytes atrétiques à 6°C. LD : goutte lipidique, ZR : zona radiata, mGV : migration de la vésicule germinale. Grossissement 100X, échelle : 100µm.

Tableau de synthèse des principaux résultats obtenus pendant notre étude.

Expérience	Facteur étudié	Induction	Ovogenèse	Ponte
Expérience 1	Amplitude d'abaissement photopériodique (0,1, 4 et 8 heures)	*Action déterminante* *(de 4 à 8h)*	-	-
	Cinétique photothermique (6 et 16 semaines)	*Action mineure* *(16 semaines)*	-	-
Expérience 1b	Cinétique photothermique (6 ou 16 semaines)	-	-	*Action déterminante* *(16 semaines)*
	Amplitude photopériodique (1, 4 et 8 heures)	-	-	*Action mineure*
	Durée du cycle (8 et 10 mois)	-	-	*Action déterminante* *(10 mois)*
Expérience 2	Amplitude d'abaissement thermique (Δ0°C, Δ4°C, Δ8°C et Δ16°C)	*Action modulatrice* *(Δ8°C et Δ16°C)*	-	-
	Moment d'abaissement thermique (0 et 4 semaines)	*Action modulatrice* *(4 semaines)*	-	-
Expérience 3	Photophase (12h et 8 heures)	-	*Action mineure*	*Action modulatrice* *(12h avance la ponte)*
	Seuil thermique 18°, 14° et 6°C	-	*Action déterminante* *(6°C)*	*Action déterminante* *(6°C)*
Expérience 4	Cinétique terminale de la T°C	-	-	*Action déterminant* *(Augmenter la T°C)*
	Cinétique terminale de la photopériode	-	-	-

Tableau 17 : Tableau récapitulatif des principaux effets de la température et de la photopériode observés au cours des différentes expériences et en fonction des phases du cycle de reproduction.

3. DISCUSSION :

3.1. PHASE D'INDUCTION

3.1.1. Déterminisme des conditions environnementales optimales pour l'induction de la gonadogenèse

3.1.1.1. Amplitude de la diminution photopériodique

Notre étude indique clairement que l'induction de la gonadogenèse est liée à l'amplitude de la diminution photopériodique avec deux situations différentes :

Premièrement, quand la diminution de la photophase a été importante (4 ou 8 heures) et 20 semaines après le début de l'induction, toutes les femelles sont entrées dans un cycle reproductif et ont développé une gonadogenèse normale semblable à celle observée dans le milieu naturel à fin du mois de décembre (Sulistyo *et al.* 1998), et indépendamment de la cinétique photothermique appliquée (6 ou 16 semaines). Donc, ce résultat montre que l'amplitude photopériodique optimale à partir de laquelle la gonadogenèse est induite de manière fiable se trouve entre une heure et quatre heures. Une étude antérieure a montré que les effets induits par une diminution limitée de 2 heures (de 16L : 8D à 14L : 10D) étaient identiques à ceux provoqués par une diminution de 8 heures (de 16L : 8D à 8L : 16D) (Wang *et al.* 2006). En fait, Fontaine *et al.* (2006) ont indiqué que les géniteurs de perche commune pourraient être sensibles à une diminution de seulement une heure de photophase, les femelles et les mâles ayant franchement répondu quand la photopériode a été changée de 13L : 11D à 12L : 12D (baisse brutale) avec des résultats semblables à ceux observés avec une diminution de 5 heures (de 13L : 11D à 8L : 16D). La réponse différente des géniteurs à une faible baisse de la photopériode (1 heure) pourrait être liée à l'implication d'autres facteurs comme la durée initiale de la photophase, l'importance relative de baisse de l'amplitude de photopériode / durée de la photophase, les caractéristiques intrinsèques des géniteurs (vécu, âge…)..

Deuxièmement, quand la diminution de photophase a été faible (une heure), nous avons observé une inhibition complète ou un développement gonadique incomplet. Dans le cas d'un développement incomplet, les données morpho-anatomiques (IGS), histologiques (diamètre des oocytes) et endocrinologiques, (teneur plasmatique en E2) montrent un retard dans le développement des gonades. Dans ce cas, nos résultats sont très semblables à ceux obtenus par Migaud *et al.* (2004a. 2006) : quand une photopériode constante (16L : 8D) a été appliquée (Migaud *et al.* 2006), une réponse partielle chez les géniteurs (seulement 54% de femelles gravides et 30% des mâles spermiants) a été enregistrée. Une telle réponse

hétérogène des géniteurs (mâles et femelles) suggère une inhibition partielle sous des conditions photopériodiques constantes. Il faut noter ici que Migaud *et al.* (2004a, 2006) n'ont appliqué leurs conditions d'éclairage constant qu'uniquement à partir du 17 Juillet. Entre mi-juin et mi-juillet 2000, les géniteurs ont été acclimatés dans les bacs expérimentaux avec des variations naturelles de la photopériode et par conséquence, ont été soumis à une diminution de photopériode d'une heure (Sulistyo *et al.* 1998). Ceci pourrait expliquer la variabilité de la réponse chez les géniteurs qui ont été soumis à une diminution de la photophase d'une heure (Migaud *et al.* 2003, 2004a ; Fontaine *et al.* 2006 ; l'étude présente). Chez la truite arc-en-ciel, il a été montré que de fortes diminutions et augmentations de la photophase (7.5-13.5 heures) étaient associées à des taux de ponte supérieurs (87-100%) par comparaison à la réponse de femelles soumises à des variations photopériodiques plus faibles de 0-3.5 heures (62-78%) (Duston et Bromage 1988b ; Randall et Bromage 1998).

En conclusion, considérant une situation initiale d'éclairement constant de type jour long (photophase de 17 heures) en période pré-inductive, l'induction du cycle de reproduction chez la perche commune nécessite une amplitude de diminution photopériodique minimale supérieure à une heure (2-4 heures) pour assurer un développement gonadique optimal avec un taux de réponse élevé chez les géniteurs.

3.1.1.2. Amplitude de la baisse thermique

Notre étude indique également que l'induction de la gonadogenèse est liée à l'amplitude de la baisse de température pendant la phase d'induction avec, là encore, deux situations différentes :

Premièrement, quand l'amplitude de cette baisse a été élevée (Δ8°C ou Δ16°C), la gonadogenèse a été complète et similaire à celle observée dans le milieu naturel. L'IGS et le diamètre ovocytaire ont augmenté pour atteindre des valeurs proches des valeurs relevées à la fin du mois de décembre dans le milieu naturel (Sulistyo *et al.* 1998) et, à la fin de la phase d'induction, tous les ovaires présentaient des ovocytes au stade vitellogenèse avancée (S5). Ceci atteste qu'une baisse de température de 8°C (de 22 à 14°C) peut être considérée comme une amplitude favorable pour l'induction de la gonadogenèse, comme l'avaient déjà observé Wang *et al.* (2006).

Deuxièmement, quand l'amplitude de l'abaissement thermique a été faible (Δ0 ou Δ4°C), la gonadogenèse n'a pas été complète et, les données histologiques (stade de développement) montrent que la gamétogenèse s'arrête (lorsque nous avons décidé d'arrêter l'étude : 140

jours) au stade (S3) (prévitellogenèse avancée) sous une température chaude (22°C). Une diminution thermique faible (4°C) permet un bon développement gonadique (bon accroissement de l'IGS), mais la gamétogenèse n'atteint que le stade 4 (vitellogenèse précoce) à la fin de la phase d'induction (140 jours).

Les données histologiques montrent que la vitellogenèse exogène n'est pas observée sous des températures élevées (18-22°C). Ainsi, nos résultats (stade du développement, diamètre des ovocytes, teneurs plasmatiques en oestradiol) suggèrent que la diminution de la température joue un rôle important dans le métabolisme et la croissance des ovocytes. Une baisse de la température de 22 à 14 ou 6°C est nécessaire pour permettre un développement normal de la gonadogenèse, par contre le cycle reproductif est perturbé si la température est maintenue à 22°C ou abaissée faiblement (de 22 à 18°C) chez la perche commune.

La diminution thermique est un facteur important pendant la phase d'induction chez de nombreuses espèces des eaux tempérées, par exemple il n'a jamais été observé de vitellogenèse exogène avant la diminution de la température chez le bar *Dicentrarchus labrax* (Zanuy *et al.* 1986 ; Moretti *et al*. 1999 ; Prat *et al.* 1999 ; Maňanós *et al.* 1997). La recrudescence gonadique augmente seulement quand la température diminue chez le loup américain *Morone saxatilis* (Clark *et al.* 2005) et la perche jaune *Perca flavescens* (Dabrowski *et al.* 1997 ; Shewmon *et al.* 2007).

D'autres espèces moins exigeantes ne nécessitent pas une diminution thermique, comme *Salmo salar* (Taranger *et al*. 1999b ; Pankhurst et Porter 2003), *Hippoglossus hippoglossus* (Haug 1990 ; Norberg *et al*. 2001) et *Gadus morhua* (Cohen *et al*. 1990 ; Davie *et al*. 2007a).

Ces résultats montrent que la température joue un rôle modulateur au cours d'induction de la gonadogenèse et que la diminution thermique joue un rôle important dans la dynamique de l'ovogénèse chez la perche commune.

Pour conclure, l'induction du cycle de reproduction chez la perche commune nécessite une diminution thermique de 8°C (de 22°C à 14°C) pour assurer un développement gonadique optimal, et en dessous d'une telle amplitude, le cycle sera perturbé (retard de développement).

3.1.1.3. Facteurs modulateurs secondaires

Nos résultats montrent que la cinétique photo-thermique et le moment d'application de la baisse thermique apparaissent comme des facteurs modulateurs secondaires pendant la phase d'induction du cycle de reproduction.

La cinétique photothermique interagit avec l'amplitude de la diminution photopériodique sur l'initiation du cycle de reproduction. Quand la diminution de photophase a été faible (une

heure), la réponse des femelles a varié selon la cinétique photothermique. On a observé une inhibition totale du début de cycle reproductif quand une diminution de photophase d'une heure a été associée à une diminution photothermique rapide sur 6 semaines ; par contre, quand une diminution photothermique lente sur 16 semaines a été appliquée, une diminution de photophase d'une heure a induit un développement gonadique incomplet. Cependant, on rappellera que lorsque l'amplitude de diminution photopériodique était forte (4 ou 8 heures), aucun effet de la cinétique photothermique n'a été enregistré. En conséquence, la cinétique photothermique n'apparaît pas être un facteur modulateur fort. Ce facteur peut être considéré comme un facteur modulateur mineur considérant ses effets observés, lorsque la diminution de la photopériode est limitée, sur le diamètre ovocytaire et la teneur plasmatique en oestradiol et ses effets suggérés sur les performances reproductives comme les taux de ponte et de fertilisation (étude préliminaire, Abdulfatah *et al.* 2008).

Enfin, la cinétique des variations photothermiques joue un rôle négligeable sur la vitesse de la gonadogenèse, une fois que la gonadogenèse est déclenchée, elle se déroule de manière autonome.

Concernant le moment d'application de la baisse thermique, notre étude montre que la diminution simultanée de la température (à 6°C) et de la photopériode a conduit à des IGS plus faibles (6.67%) que ceux observés (8.21%) lorsque la diminution de la température a été décalée. Par contre cet effet a disparu lorsque la diminution thermique a été plus modérée (baisse de 0 à 8°C).

Ainsi, l'effet du décalage joue un rôle positif sur le développement gonadique en accord avec les résultats obtenus par Wang *et al.* (2006).

En conclusion, la cinétique photothermique et le moment de l'abaissement thermique sont apparus comme des facteurs modulateurs secondaires ou mineurs sur l'induction du cycle de reproduction.

3.1.2. Inhibition du cycle de reproduction chez la perche commune

Notre étude montre clairement que le maintien d'une photopériode constante basée sur une photophase longue et constante (17L : 7O) pendant toute la durée expérimentale (y compris lors des phases préalables d'acclimatation et d'élevage) empêche le démarrage du cycle reproductif chez la perche commune, malgré une diminution de la température de 21 à 6°C durant 6 ou 16 semaines.

L'IGS est resté stable et inférieur ou égal à 1%, le diamètre ovocytaire est également resté stable et inférieur de 300µm, les ovaires présentaient des ovocytes aux stades immature et de

prévitellogenèse précoce en fin d'expérience avec la présence d'ovocytes atrétiques au cours des derniers 56 jours. Les teneurs plasmatiques en oestradiol sont restées inférieures à 300 $pg.mL^{-1}$ et aucune augmentation n'a été enregistrée au cours des 140 jours de l'expérience. Ces résultats montrent que la diminution de la photopériode est un facteur indispensable et déterminant pour initier le début du cycle de reproduction chez la perche commune. Un tel effet inhibiteur d'une photopériode constante comprenant une photophase longue et constante a été observé chez la perche jaune *Perca flavescens* sous une photopériode 14L : 10D (Shewmon *et al.* 2007), alors qu'une inhibition partielle a été obtenue avec une photophase constante plus courte (12L : 12O) sous des conditions photothermiques contrôlées chez la perche commune (Migaud *et al.* 2002, 2004b). A partir de ces résultats, il apparait que la durée de la photophase constante pourrait jouer un rôle dans l'expression du niveau d'inhibition.

Chez certaines espèces des eaux tempérées comme chez la truite arc en ciel *O. mykiss* (Duston et Bromage 1988a ; Randall *et al.* 1998), la morue atlantique *G. morhua* (Norberg *et al.* 2004), le bar *D. labrax* (Carrillo *et al.* 1995) et *G. aculeatus* (Bornestaf et Borg 2000), un développement des gonades est observé malgré l'application d'une photopériode constante avec une photophase longue. Ce développement est attribué à l'existence d'un cycle endogène de reproduction.

La cause (ce qui est responsable) de ce développement sous des conditions environnementales constantes est variable et dépend du moment d'application de ces conditions constantes au cours l'année. En effet, appliquer temporairement un jour long avant le solstice d'été avance le cycle de la reproduction et, au contraire, le retarde si ces conditions sont appliquées après le solstice d'été chez le bar (Carrillo *et al.* 1993 ; 1995). Pareillement, une exposition à deux mois de lumière continue à différents moments de l'année chez la truite arc-en-ciel induit des réponses différentes (Randall *et al.* 1998). Ceci laisse penser que les poissons possèdent une horloge interne qui dirige l'entraînement des cycles de reproduction (Migaud *et al.* 2010), même en absence de variations photopériodiques.

L'existence de cycles endogènes sous des conditions photopériodiques constantes pourrait avoir comme origine les conditions environnementales préalables rencontrées avant l'application du régime photopériodique constant. Par exemple, Berrill *et al.* (2003 ; 2006) indiquent que les conditions photopériodiques appliquées pendant la phase d'élevage larvaire peuvent modifier la réponse des futurs géniteurs aux stimulations photopériodiques chez le saumon atlantique.

L'apparition d'un développement gonadique, sous des conditions environnementales constantes, dépend en fait des conditions expérimentales dans lesquelles le cycle de reproduction se déroule. Carrillo *et al.* (2010) ont indiqué que les régimes photopériodiques appliqués peuvent être moins efficaces dans des conditions extérieures par comparaison avec des conditions contrôlées en milieu fermé. Donc, le contact avec les conditions environnementales externes peut modifier la réponse des poissons au régime photopériodique appliqué. Par exemple, chez le bar, une photopériode longue est moins efficace dans la réduction de l'incidence de la maturation sexuelle lorsqu'elle est appliquée sur des cages flottantes en mer (Carrillo *et al.* 2010) par rapport à une application dans un élevage en milieu fermé (Rodríguez *et al.* 2001).

En complément, Kissil *et al.* (2001) ont montré que les réponses des géniteurs à un même régime photopériodique étaient différentes selon la saison de reproduction. La majorité des géniteurs est restée à l'état immature sous une photopériode constante (15,5L : 8,5O) lors de la première saison de reproduction, alors que 45% des mâles ont été spermiants et 25% des femelles ont présentés des ovocytes au stade de vitellogenèse avancée lors de la deuxième saison de reproduction chez la dorade *Sparus aurata*.

Dans notre étude, les juvéniles ont été élevés sous des conditions photopériodiques constantes (17L : 7O) depuis leur arrivée dans nos structures expérimentales. Ils n'ont jamais été au contact des conditions environnementales externes, et ne s'étaient jamais reproduits (premier cycle de reproduction). Ces trois arguments pourraient expliquer l'inhibition complète sous une photophase longue et constante que nous avons observée sur des périodes de conditionnement longues (10 mois).

Lorsqu'une température constante et élevée (22°C) est maintenue, un développement gonadique est enregistré à la suite d'une diminution de la photopériode de 8 heures. Sous ces conditions, l'IGS a augmenté significativement à 4,34%, le diamètre ovocytaire a également augmenté significativement à 635µm, et tous les ovocytes se sont développés jusqu'au stade de prévitellogenèse avancée. Les teneurs plasmatiques en oestradiol ont également augmenté significativement à 4291pg.mL^{-1} au cours des 140 jours de l'expérience. Donc, le maintien d'une température élevée et constante (22°C) ne permet pas d'inhiber la gonadogenèse chez les femelles de perche.

Ce résultat confirme que la photopériode est le facteur principal qui synchronise le début de cycle de reproduction chez la perche commune et que la température joue un rôle modulateur pendant la phase d'induction de la gonadogenèse.

Des résultats similaires ont été obtenus par Shewmon *et al.* (2007) sous des conditions thermiques constantes (23°C) avec des variations photopériodiques semi-naturelles chez la perche jaune *Perca flavescens*.
Chez la plupart des poissons des eaux tempérées, et plus particulièrement chez les salmonidés, la photopériode a été considérée comme le facteur principal qui synchronise le début du cycle de reproduction (Bromage *et al.* 2001 ; Migaud *et al.* 2010), la température de l'eau n'ayant qu'une action modulatrice (Bromage *et al.* 2001 ; Taranger *et al.* 2010).
Ce résultat confirme également que la photopériode est le premier et principal signal qui intervient dans l'axe reproducteur (hypothalamus- hypophyse- ovaires).

Enfin, notre étude permet de proposer une modalité photopériodique basée sur une photophase longue et constante (17L : 7O ou 16L : 8O) pour inhiber ou retarder la maturité sexuelle précoce qui a un effet négatif sur la croissance pendant la phase de production (Taranger *et al.* 2010) En fait, la maturité sexuelle précoce mobilise de l'énergie vers le développement gonadique au détriment des muscles des poissons. Il faut également éviter des contacts avec les variations photopériodiques externes.

3.1.3. Conclusion

Pour une induction optimale de la gonadogenèse, il faut appliquer une diminution photopériodique entre 4 et 8 heures et une diminution thermique de 8 à 16 °C (de 22 à 14 ou 6°C). La cinétique photo-thermique et le moment d'abaissement thermique apparaissent comme des facteurs modulateurs secondaires pour l'induction de la gonadogenèse. La réponse des géniteurs aux variations photopériodiques est déterminée par l'amplitude de la diminution photopériodique, la cinétique photothermique et la longueur absolue de la photophase. Cette étude montre que la photopériode est le facteur signal principal qui synchronise le début du cycle reproductif et la température joue un rôle modulateur pendant la phase d'induction. Une photopériode constante avec une photophase longue et constante (17h) inhibe complètement le début du cycle de reproduction, alors que le maintien d'une température élevée et constante (22°C) ne permet pas d'inhiber le début de cycle de reproduction sous l'influence de la diminution de la photopériode.
A l'avenir, afin de comprendre les mécanismes qui sont impliqués dans l'axe reproducteur en réponse à ces variations environnementales, il faudra étudier les effets à d'autres niveaux et prendre en compte d'autres paramètres qui participent à la transmission des signaux externes

(photopériode) à l'axe reproducteur comme le mélatonine, la Kisspeptin, la GnRH et la GTH-I pour identifier les cibles des facteurs environnementaux et la chaine des réactions conduisant aux effets.

3.2. PHASE DE VERNALISATION

Notre étude montre qu'avec une température de 6°C durant la vernalisation, la masse ovarienne a poursuivi son développement de manière régulière pour atteindre une valeur maximale correspondant au niveau de développement observé mi-avril en milieu naturel (Sulistyo *et al.* 1998). Les ovocytes se sont également développés jusqu'au stade 6 (maturation finale), cela correspond à des ovocytes prélevés aux mois de mars et avril en milieu naturel (Migaud *et al.* 2003b). La teneur en oestradiol est quasiment restée stable et élevée au cours de cette période (de J140 à J310, expérience 3).

Cependant, la qualité des ovocytes a baissé lorsque des températures plus élevées (18° ou 14°C) ont été maintenues. Le développement gonadique a ralenti, des ovocytes atrétiques sont apparus et les teneurs plasmatiques en œstradiol ont également baissé avant la fin de la phase de vernalisation chez les femelles soumises à ces températures. A partir de ces résultats, il apparait qu'une température de 14°C qui peut être considérée comme une température optimale pendant la phase d'induction, ne convient pas pour l'achèvement de la maturation gonadique, elle doit être plus basse. Gillet et Dubois (2007) ont suggéré que la température de vernalisation devrait être inferieure à 10°C chez la perche commune. En fait, pour les espèces nécessitant une phase de vernalisation hivernale, la température optimale de vernalisation est variable selon l'espèce, ainsi des températures de moins de 17°C chez le loup américain (Clark *et al.* 2005), de moins de 15°C chez le bar (Carillo *et al.* 1995) et de moins de 10 °C chez la perche jaune (Hokanson 1977) sont recommandées.

Dans le milieu naturel, des cas d'atrésie précoce provenant d'une dégénérescence des ovocytes en prévitellogenèse et vitellogenèse ont été observés sous l'influence d'effluents thermiques chauds issus d'usines en Suède et en Lituanie chez le gardon *Rutilus rutilus* et chez la perche commune (Lukšiené et Sandström. 1994 ; Lukšiené *et al.* 2000). Or, du point de vue de sa stratégie de reproduction, le gardon est très proche de la perche commune (groupe des pondeurs printaniers précoce, Teletchea *et al*. 2009b).

Des températures élevées sont également accompagnées par de faibles teneurs plasmatiques en oestradiol comme cela a été relevé chez le saumon atlantique *S. salar,* sous des températures de 18 et 22°C (King *et al.* 2003 ; Watt *et al.* 2004).

Chez le saumon atlantique *Salmo salar,* l'exposition à des températures élevées durant la gamétogenèse altère la synthèse des stéroïdes sexuels gonadiques et la production de vitellogénine hépatique, modifie la dynamique des récepteurs aux oestrogènes hépatiques et, finalement, réduit et la viabilité des gamètes. Il y a aussi des effets délétères sur le

déroulement de l'ovogenèse chez les géniteurs femelles de truite arc en ciel *Oncorhynchus mykiss* et de l'omble chevalier *Salvelinus alpinus* quand ils sont exposés à des températures élevées. (Pankhurst et King 2010).

Notre travail montre également que la durée de la photophase appliquée au cours de la phase de vernalisation joue un rôle dans le contrôle de la gonadogenèse, une photophase courte avec une photopériode de type 8L :16O retarde la régression de l'IGS, l'apparition d'ovocytes atrétiques et le moment des pontes par comparaison à une photopériode de type 12L :12O. Toutefois, cela n'empêche pas la dégradation gonadique (expérience 3) quand la température n'est pas favorable.

Nos résultats montrent que des températures de 14 et 18°C pendant la phase de vernalisation ne sont pas favorables. L'effet de températures inférieures à 14°C et supérieures à 6°C reste à déterminer. Nos observations indiquent que le maintien d'une température froide est un facteur nécessaire et indispensable pour l'achèvement de la maturation gonadique et le maintien d'une vitellogenèse active et que la photophase pourrait jouer un rôle non négligeable dans le pilotage de cette phase (facteur de régulation secondaire ou facteur de sécurité). Toutefois, l'efficacité de cette régulation secondaire a ses limites. Ainsi une photophase courte (8 heures) retarde la régression gonadique lorsque que les conditions thermiques sont défavorables, mais ne peut pas éviter la dégradation des ovocytes.

A l'avenir, il semble nécessaire de préciser d'une part s'il existe un seuil thermique entre 6 et 14°C au dessous duquel le cycle de reproduction n'est pas perturbé et d'autre part le rôle de photopériode et de ses variations au cours de la phase de vernalisation.

3.3. SYNCHRONISATION DE LA PONTE

3.3.1. Température, principal facteur synchronisant la ponte

Nos résultats montrent que les géniteurs de perche ne pondent pas si la température est maintenue froide (6°C) et constante quelles que soit les conditions photopériodiques testées en fin du cycle. Par opposition, toutes les femelles gravides ont pondu quand la température a augmenté de 6 à 14°C, quelles que soient les conditions photopériodiques testées (stable ou augmentée). Donc ces observations montrent que l'augmentation de la température est le facteur principal qui synchronise la ponte à la fin du cycle de reproduction. Elle est capable à elle seule de déclencher la ponte même sous des conditions photopériodiques constantes et une photophase courte (8L : 16O). Ces observations sont en accord avec les résultats de Migaud *et al* (2004b), qui suggèrent que la photopériode joue un rôle mineur pendant cette phase.

En fait, la photopériode est le facteur principal qui synchronise le début du cycle de reproduction (Abdulfatah *et al.* 2007), alors que la température de l'eau est le facteur déterminant qui synchronise la ponte en fin de cycle. C'est aussi le cas chez le saumon atlantique pour lequel la photopériode est le signal environnemental qui initie le début du cycle de reproduction et la température celui qui permet l'achèvement de la maturation sexuelle et déclenche la ponte (Heggberget 1988 a et b ; Taranger *et al.* 2010).

L'effet d'une température élevée en fin de cycle de reproduction a été largement étudié chez les salmonidés. Chez cette famille, la fin de la maturation sexuelle est conditionnée par une diminution de la photopériode associée à une baisse de la température (automne, hiver). Une température élevée pendant cette phase décale ou inhibe l'ovulation. Chez *S. alpinus,* une température de 11°C a inhibé complètement l'ovulation, alors qu'une température de 8°C l'a décalée (Gillet 1991). Chez *S. fontinalis* et *S. salar*, l'exposition à une température élevée (14°-16°C) en automne a décalé l'ovulation (Hokanson *et al.* 1973 ; Taranger et Hansen 1993). Chez ces espèces, l'ovulation sous une température élevée s'accompagne d'une faible fertilité et survie des œufs, et de niveaux d'oestradiol bas (Pankhurst et King 2010).

Chez la perche, nos résultats montrent que le déclenchement de la ponte nécessite une augmentation de la température (Migaud *et al.* 2004b). Le maintien d'une température froide décale ou inhibe la ponte (observations d'ovocytes atrétiques), comme une température chaude bloque ou décale la ponte chez les salmonidés. Toutefois des travaux récents conduits au laboratoire (thèse de M.-D. Castets) montrent que des pontes spontanées peuvent survenir en fin de phase de vernalisation sans qu'il y ait eu de modifications préalables de

l'environnement photo-thermopériodique. Cela semble lié aux caractéristiques des géniteurs et notamment à leur origine géographique.

3.3.2. Photophase et température de vernalisation

Notre étude montre que la photophase interagit avec le niveau de la température de l'eau en phase de vernalisation avec des effets observables à différents niveaux : premièrement sur la vitesse de dégénérescence des gonades lorsque la gonadogenèse ne va pas à son terme et deuxièmement sur le moment de ponte lorsque le processus va à son terme. Une photophase longue (16h) induit des pontes plus précoces en comparaison avec une photophase courte (8h) avec une température de 14°C. Un effet similaire a été observé au niveau de la dégénérescence gonadique sous une température de 18°C. De même, les femelles qui ont été soumises à 6°C ont pondu plus tard que celles maintenues sous une température de 14°C quelle que soit la photophase testée (longue ou courte).

L'effet de la température élevée pendant la vitellogenèse a été également observé sur le moment de reproduction chez d'autres espèces. Par exemple, quand les géniteurs de *S. alpinus* ont été maintenus sous des températures de 12°C ou 16°C durant l'été, l'ovulation a été décalée de 3-4 semaines en comparaison avec une température 4°C (Jobling *et al.* 1995).

Bien qu'il ait été montré que la direction du changement photopériodique est plus importante que la durée initiale de la photophase (Bromage et Duston 1986 ; Carrillo *et al.* 1993, 1995 ; Randall et Bromage 1998 ; Randall *et al.* 1988 ; 1998), nos résultats indiquent que la durée de la photophase pendant la phase de vernalisation joue aussi un rôle important dans la synchronisation de la reproduction chez la perche commune.

La photopériode joue un rôle chez les espèces des zones tempérées, en interagissant avec le signal de température pour synchroniser la phase finale du développement ovarien de manière à permettre une reproduction dans des conditions optimales et signalant la fin des épisodes de la reproduction (Van Der Kraak et Pankhurst 1997). Les résultats de notre étude sont en accord avec cette analyse, la photophase joue un rôle dans le déroulement de l'ovogenèse et le déclenchement du moment de ponte. Son effet est lié à la température de vernalisation appliquée. La température a une double action, un rôle déterminant sur la vitellogenèse et l'ovogenèse, ainsi qu'un rôle inducteur des dernières étapes de la fin du cycle chez la perche commune.

3.3.3. Durée de cycle

Bien que basée sur des résultats préliminaires à confirmer, notre étude suggère qu'un cycle de courte durée (8 mois, de l'induction à la ponte) conduit à des pontes plus précoces par rapport à un programme d'une durée plus longue (10 mois) avec un réchauffement de l'eau et une élévation de la photopériode plus précoces (2 mois plus tôt). Par contre, plus le réchauffement de l'eau et l'élévation de la photopériode sont précoces, plus les pontes surviennent tardivement par rapport au changement photo-thermique. Ce résultat peut être dû au développement plus ou moins avancé des ovocytes lorsque la durée de vernalisation est trop courte. Par conséquent, les femelles ont pondu plus tard. Nos résultats suggèrent que Wang (2006) n'a pas obtenu de ponte car la période, après le réchauffement final et l'élévation de la photopériode, a été trop courte.

3.4. PERFORMANCES REPRODUCTIVES

Dans notre étude, un taux de ponte naturelle de 100% (sans stripping ni injection hormonale) a été enregistré sous certaines conditions photo-thermiques, mais les taux de ponte et de fécondation ont varié selon les conditions photo-thermiques appliquées pendant les différentes étapes du cycle de reproduction et entre les expériences.

3.4.1. Effet des conditions photothermiques pendant la phase d'induction

Migaud *et al* (2004b) ont indiqué que les conditions appliquées pendant la phase d'induction peuvent influer sur la performance reproductive en fin du cycle. Notre étude confirme ce résultat. L'influence de la cinétique photo-thermopériodique appliquée pendant la phase d'induction a joué un rôle sur les taux de pontes fécondées et de fécondation en fin de cycle de reproduction. Ces taux sont restés quasiment nuls lorsque la cinétique photo-thermique était rapide, quelles que soient la durée de vernalisation appliquée (4,5 ou 6,5 mois) et la durée du cycle (8 ou 10 mois). Cependant, ces taux se sont élevés à 55% et 75% respectivement lorsque la cinétique photo-thermique initiale (phase d'induction) a été lente.
Ces différences entre les deux cinétiques peuvent être expliquées par l'effet nocif de la chute rapide de la température sur la gonadogenèse. Wang *et al. (*2006) ont montré que la chute rapide de la température réduit la vitellogenèse et augmente le stress et par conséquence, réduit la qualité des gamètes chez la perche commune.
Nos résultats montrent également que l'amplitude de la diminution photopériodique appliquée (1, 4 ou 8 heures) pendant la phase d'induction ne jouerait pas de rôle important sur les performances reproductives.

3.4.2. Effet de la température de vernalisation

Nos résultats montrent qu'une température élevée et stable de 18°C appliquée pendant la phase de vernalisation empêche totalement la ponte quelle que soit l'amplitude de la baisse photopériodique testée chez les femelles de perche. Aucune ponte n'a été enregistrée sous cette température. Des résultats semblables ont été observés chez le loup américain *Morone saxatilis*, pour lequel le cycle de reproduction est bloqué quand une température élevée est maintenue (18°C) quelle que soit la photopériode testée, constante (15L : 9O) ou normale comme dans le milieu naturel (Clark *et al.* 2005).
Nos résultats montrent également qu'il est possible d'obtenir des pontes sous une température de 14°C. Mais ce niveau de température provoque des pontes fragmentées avec des œufs

blancs quelle que soit la durée de la photophase testée. Au contraire, des pontes fécondées ont été récoltées après une température de vernalisation froide de 6°C. Les rubans récoltés sont complets et les œufs sont transparents sous cette température.

Des résultats similaires chez la truite arc-en-ciel montrent que la production d'œufs reste normale jusqu'à une température 15°C, puis elle diminue significativement. De plus, aucun œuf vivant n'est observé à partir de cette température (15°C) (Pankhurst *et al.* 1996). Pareillement, chez l'esturgeon *Acipenser transmontanus*, des températures de 15 ou 18°C inhibent la ponte et réduisent la fertilité (Webb-Brewer *et al.* 1999), de même chez le flétan atlantique (Brown *et al.* 1995).

Une température froide peut avancer ou permettre la reproduction, alors qu'une température élevée arrête ou retarde la ponte et la spermiation chez le saumon atlantique *S. salar* (Taranger et Hansen 1993 ; Taranger *et al.* 2003 ; King et Pankhurst 2000 ; King et Pankhurst 2004 ; Vikingstad *et al.* 2008).

Des résultats similaires ont été observés chez le bar : sous une température ambiante froide, les géniteurs peuvent se reproduire naturellement sans manipulation thermique ou hormonale. Si la température est élevée (16°C), les géniteurs ne peuvent pas se reproduire (Carrillo *et al.* 1991, 1993).

Ces observations indiquent qu'une température froide est un facteur nécessaire pour compléter la maturation gonadique, obtenir des ovocytes viables et enfin, assurer le succès de la reproduction chez la perche commune *Perca fluviatilis.*

3.4.3. Effet de la durée du cycle

Nos résultats confirment qu'une durée de cycle de 8 mois n'est pas suffisante pour la maturation gonadique, une seule ponte fécondée ayant été enregistrée, quelle que soit la cinétique photothermopériodique testée et l'amplitude photopériodique appliquée. Par contre, le résultat qui a été obtenu avec une durée du cycle de 10 mois (de l'induction à ponte) montre clairement l'effet positif de la prolongation de la durée du cycle et de la cinétique photo-thermopériodique sur la maturation gonadique et par conséquent sur le taux de fécondation et le taux de ponte : 55% des pontes récoltées ont été fécondées avec un taux de fécondation de 75% sous une durée du cycle de 10 mois et une cinétique photo-thermopériodique lente utilisée pendant la phase d'induction.

Ces résultats pourraient expliquer la mauvaise performance reproductive dans les précédentes expériences utilisant un cycle court de 8 mois (Migaud *et al.* 2002, 2004b ; Wang 2006).

Une stimulation précoce de la ponte sur des ovocytes immatures bloque la ponte ou induit des pontes partielles ou des pontes avec une mauvaise qualité comme chez *Esox lucius* après une stimulation avec des gonadotropines (PPSG) (João Rocha *et al.* 2008). Donc, il est nécessaire de bien déterminer le moment optimal d'application de la stimulation pour induire la ponte. Chez les salmonidés, la manipulation photopériodique ou l'accélération des variations photopériodiques avance la saison de reproduction, autrement dit réduit la durée du cycle et réduit la performance reproductive chez la truite arc en ciel *Oncorhynchus mykiss* (Bon *et al.* 1997, 1999 ; Bonnet *et al.* 2007). Donc le raccourcissement d'un cycle de reproduction peut jouer un rôle important dans la qualité de la reproduction.

3.4.4. Température froide en fin du cycle

Notre étude montre que le maintien de la température de vernalisation à 6°C inhibe la ponte et, en conséquence la moitié des ovaires a présenté des ovocytes atrétiques chez les femelles à la fin de l'expérience 4. Les globules de vitellogénine étaient « explosés » ou dégradés dans le cytoplasme des ovocytes. Des résultats similaires ont été observés chez le bar *Dicentrarchus labrax,* quand la reproduction a été retardée sous l'influence d'un jour long appliqué à partir du mois d'avril (Zanuy *et al.*1995).

La chute de la qualité des œufs apparaît si les œufs sont retenus dans les gonades des femelles après l'ovulation et avant le stripping ou si les œufs sont maintenus *in vitro* dans du liquide ovarien après stripping (Bromage et Roberts 1995). Donc, la température froide pourrait jouer un rôle dans le blocage de l'ovulation et par conséquent provoquer l'apparition d'œufs atrétiques par surmaturation.

3.4.5. Autres facteurs modulateurs

Deux expériences semblables ont été réalisées pendant cette étude au niveau des variations photothermiques appliquées. Lors de la première, en 2006, des taux de pontes fécondées et de fécondation de 55% et 75% respectivement ont été relevés, alors que des taux quasiment nuls ont été notés en 2009. Ces résultats montrent que d'autres facteurs pourraient jouer un rôle important dans le contrôle des performances reproductives.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer ce résultat :

Premièrement, en 2006, les poissons étaient de la même origine géographique (même pool génétique), mais le niveau de domestication était différent ($6^{ème}$ génération contre $8^{ème}$ génération en 2009). Le niveau de domestication et les caractéristiques intrinsèques des géniteurs pourraient jouer un rôle sur la qualité et les performances de reproduction.

Deuxièmement, en 2009, la température de la salle a été inférieure à 6°C. Dans cette expérience, la température était plus variable, ces conditions thermiques pourraient agir sur le comportement des poissons ou induire un stress (Wang *et al*. 2006), alors que dans la première expérience en 2006 la température de la salle a varié plus lentement et plus régulièrement.

Troisièmement, le moment de pontes a été différent entre les deux expériences. En 2006 la ponte est intervenue aux mois de novembre et janvier, alors que la ponte est intervenue aux mois de mars et avril en 2009. Le moment de ponte, et le niveau de décalage hors-saison, pourrait jouer un rôle.

Quatrièmement, le type d'aliment (granulés standard pour bar) utilisé dans toutes nos expériences a vraisemblablement pu jouer un rôle important, considérant notamment l'influence des teneurs en acides gras polyinsaturés sur les performances de reproduction des percidés (Henrotte, 2009).

Enfin, le passage brutal de l'obscurité au jour pourrait avoir influencé les comportements des géniteurs et par conséquence, agir sur le taux de fécondation (Migaud *et al*., 2006).

En conclusion, les performances reproductives sont déterminées par les conditions photo-thermiques appliquées lors des différentes étapes du cycle de reproduction, ainsi que par les effets d'autres facteurs modulateurs comme des facteurs populationnels ou autres.

3.5. PROGRAMME PHOTOTHERMIQUE PROPOSÉ

Dans notre étude, pour assurer une gonadogenèse complète, il faut appliquer une diminution photopériodique minimale de 4 heures et un abaissement thermique de 22°C à 6°C pendant seize semaines.

La cinétique photo-thermique lente est apparue comme plus performante pour l'induction de la gonadogenèse à cause notamment de ses effets positifs sur les performances reproductives.

Le décalage entre les diminutions de la photopériode et de la température est recommandé pour assurer un développement gonadique optimal.

Pendant la phase de vernalisation, il faut appliquer une température de 6°C pendant 4 mois pour un bon déroulement du cycle de reproduction.

A la fin de la vernalisation, un programme photo-thermique basé sur l'augmentation de la photopériode jusqu'au retour aux conditions photopériodiques initiales et suivie, trois semaines plus tard, par une augmentation de la température de 6°C à 14°C sur trois semaines, est recommandé pour déclencher la ponte.

L'application de ces recommandations permet d'assurer un taux de ponte de 100% avec 55% des pontes fécondées avec un taux moyen de fécondation de 75%.

En comparaison avec les précédents protocoles photo-thermiques utilisés chez la perche commune, ce protocole intègre une baisse photo-thermique initiale lente sur seize semaines contre six semaines auparavant. En plus, la durée globale du cycle de reproduction est étendue à dix mois (de l'induction de la gonadogenèse à la ponte) contre 8 mois auparavant.

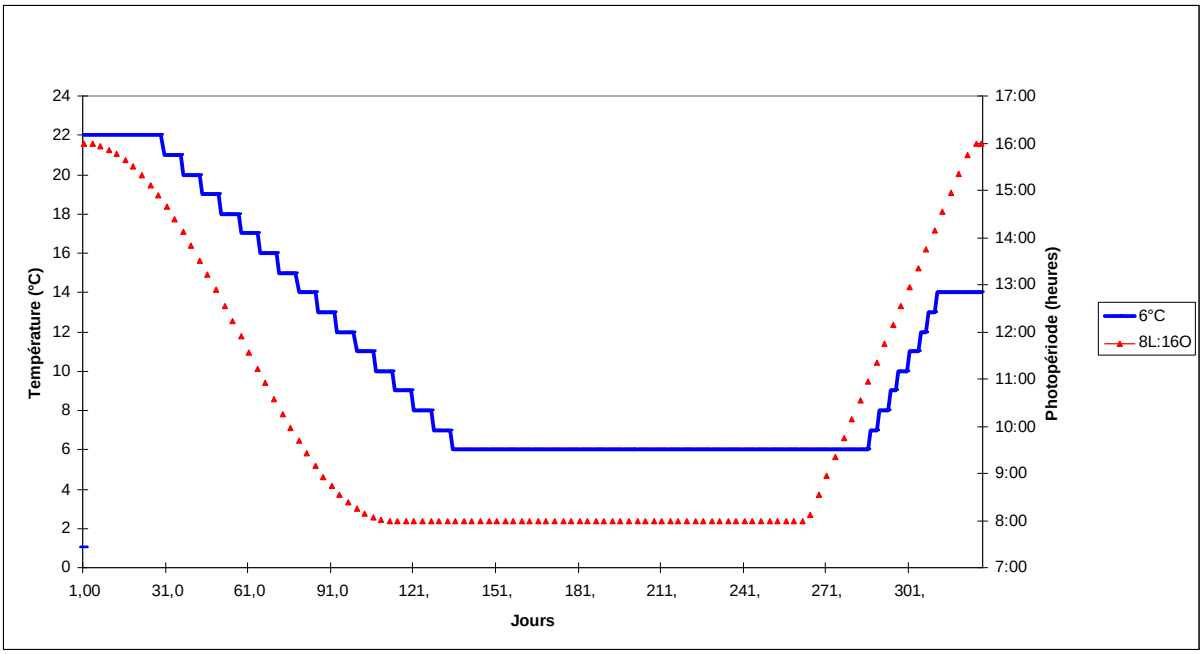


Figure 50 : Programme photo-thermopériodique proposé pour induire des pontes hors-saison sous des conditions contrôlées.

4. CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre étude montre que la photopériode est le facteur environnemental principal qui synchronise le début du cycle de reproduction et que la température joue un rôle modulateur pendant la phase d'induction chez les femelles de perche commune *Perca fluviatilis*. Le maintien d'une photopériode constante basée sur une photophase longue (17L : 7D) empêche ou supprime complètement l'induction du cycle reproductif malgré l'application d'une diminution thermique durant six ou seize semaines.

Le maintien d'une température constante et élevée ne permet pas d'inhiber le début du cycle de reproduction sous l'influence de la diminution de la photopériode. Ce résultat confirme que la température joue un rôle modulateur pendant la phase d'induction.

La réponse des géniteurs femelles aux variations photopériodiques est déterminée par l'amplitude de la diminution de la photopériode et dans une moindre mesure par la cinétique photo-thermique. Une amplitude de diminution photopériodique supérieure à 1 heure est recommandée pour obtenir un développement gonadique complet, ainsi qu'une amplitude d'abaissement thermique élevée de 8°C (de 22 à 14°C) ou 16°C (de 22 à 6°C). Le maintien de températures élevées (18° et 22°C) perturbe le début du cycle de reproduction (retards dans le développement des ovocytes), ainsi qu'une diminution photopériodique limitée (une heure). La cinétique photo-thermique et le moment d'abaissement thermique sont apparus comme des facteurs modulateurs secondaires sur l'induction du cycle. La cinétique photo-thermique n'a pas d'effet lorsque de fortes amplitudes de diminution photopériodique sont appliquées (4-8 heures) et, au contraire, joue un rôle modulateur si l'amplitude de la baisse photopériodique est faible.

Notre étude montre qu'avec une température de 6°C durant la phase de vernalisation, le développement gonadique a continué de progresser de manière régulière pour atteindre une valeur maximale correspondant à la situation observée mi-avril en milieu naturel, c'est à dire quelques jours avant la ponte. Les ovocytes se sont développés jusqu'au stade 6 (maturation finale). Au contraire, la qualité des ovocytes a baissé lorsque des températures élevées (14 et 18°C) ont été appliquées. Le développement gonadique a ralenti, des ovocytes atrétiques sont apparus et les teneurs plasmatiques en œstradiol ont également baissé chez les femelles qui ont été soumises à ces températures. Ces résultats montrent que des températures entre 14 et 18°C sont défavorables pour l'ovogenèse, alors que des températures entre 6 et 14°C seraient convenables pour garantir le bon déroulement de l'ovogenèse.

Une fois l'ovogenèse induite, la température a présenté deux niveaux d'action : premièrement, un effet modulateur et déterminant sur la qualité de l'ovogenèse et deuxièmement, un effet synchronisant principal sur le moment de ponte. Il est clair également que la durée de la

photophase appliquée au cours de la vernalisation joue un rôle sur le déroulement de l'ovogenèse (régression gonadique accélérée avec une photopériode de 12 :12 *vs* 8 :16) et le moment des pontes. La durée de la photophase pendant la phase de vernalisation et l'augmentation de la température sont les principaux facteurs impliqués dans le déclenchement des pontes en fin de cycle de reproduction.

Les conditions photothermiques appliquées pendant la phase d'induction, la température de vernalisation et la durée de cette phase, et par conséquent la durée du cycle, sont des facteurs déterminants sur la performance reproductive.

A partir de cette étude, de nouveaux résultats ont donc été obtenus sur le déterminisme et le contrôle environnemental du cycle de reproduction le perche commune femelle :

Premièrement : la photopériode est le facteur principal inducteur du cycle de reproduction, alors que la température joue un rôle modulateur.
Deuxièmement : le maintien d'une photophase constante et longue (L :O 17 :7) inhibe l'induction du cycle de reproduction, ce n'est pas le cas lorsque l'on maintient une température élevée et constante (22°C).
Troisièmement : une température froide (6°C) est recommandée pour la phase de vernalisation, même si des pontes ont été obtenues avec une température de 14°C. Un abaissement initial modéré de la température à 14°C est souhaitable pendant la phase de induction, mais le maintien par la suite de celle-ci ne convient pas pour la phase de vernalisation (ovocytes atrétiques, pontes fragmentée et œufs blancs).
Quatrièmement : la température est le facteur principal qui synchronise la ponte, mais le type de photopériode appliqué pendant la vernalisation joue également un rôle important.

Cette étude permet (1) de proposer un programme photopériodique basé sur le maintien d'une photopériode constante comprenant une photophase longue et constante (17L : 7O) pour éviter la maturation sexuelle précoce pendant la phase de croissance et (2) de proposer un programme photo-thermopériodique capable de diriger l'ovogenèse au cours d'un cycle complet de reproduction en garantissant un taux de réponse maximal des femelles et un taux maximal de ponte (100%). Sur la base d'une reproduction naturelle (pas d'injection hormonale, pas de fécondation selon des méthodes artificielles), des taux de fécondation de 75% peuvent être espérés.

Dans le cadre d'un transfert de technologie en direction de la Société Lucas Perches, ce protocole a été appliqué à grande échelle (400 géniteurs) et a permis l'obtention de pontes décalées en septembre-octobre 2010 en accord avec les performances attendues.

A l'avenir, plusieurs perspectives de recherche peuvent être engagées pour poursuivre cet axe de recherche et améliorer le contrôle du cycle de reproduction :

1 – Considérant nos résultats et ceux d'études précédentes conduites sur cette même espèce, la variabilité de la réponse des géniteurs à la suite d'une baisse limitée de la photophase (1 heure), avec une durée de photopériode constante (24 heures), pose diverses questions. Une question principale nous interpelle : est-ce qu'une baisse d'une heure à la même valeur en termes d'impact quelle que soit la durée de la photophase initiale ? Est-ce que les géniteurs répondent préférentiellement à des variations absolues ou relatives de la photophase ? Cela pose la question, pour les prochaines expérimentations, de l'évaluation de la perception des stimuli environnementaux par les géniteurs et de la compréhension des mécanismes qui sont impliqués dans la transmission des signaux environnementaux en utilisant d'autres indicateurs comme le mélatonine, le kisspeptin, la GnRH ou la GTH-I.

2 - Cette étude montre qu'une température froide est nécessaire pendant la phase de vernalisation et que des températures élevées supérieures à 14°C altèrent le déroulement de l'ovogenèse. Toutefois notre étude n'a pas permis de définir un seuil thermique en dessous duquel le déroulement normal de l'ovogenèse est garanti. Il sera nécessaire à l'avenir de préciser les effets des températures comprises entre 6 et 14°C afin de définir ce seuil.

3 - Une grande variabilité a été relevée au niveau des performances reproductives entre les résultats obtenus lors des première et quatrième expériences. Afin de sécuriser la qualité de la reproduction lors des pontes décalées, il est indispensable de mieux comprendre les effets d'autres facteurs modulateurs ou de régulation (facteurs environnementaux, nutritionnels et populationnels). Ainsi des travaux très récents ont montré que l'origine géographique pouvait influer fortement sur le moment de ponte des géniteurs en conditions de ponte décalées.

4 – Dans le cadre de la mise en place d'une approche générique de la domestication et d'une extrapolation des connaissances, une modélisation du déterminisme environnemental du cycle

de reproduction de la perche commune femelle pourrait permettre de faciliter le contrôle de la reproduction d’autres espèces du groupe des pondeurs printaniers précoces (sandre).

5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdulfatah, A., Fontaine, P., Marie, M., 2007**. Effects of the photoperiodic and thermal kinetics on the induction of the reproduction cycle in the perch (*Perca fluviatilis)*. Abstract book of the 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, June 3-8, 2007, Saint-Malo, France, p. 203.

2. **Abdulfatah, A., Fontaine, P., Marie, M., 2008.** Effects of photothermal kinetic, photoperiod amplitude and duration on the rates of out-of-season spawning and egg fertilization in Eurasian perch, (*Perca fluviatilis)*. Workshop on Percid Fish Culture: from research to production, January 23-24, Namur, Belgium. Abstract book: 92-93.

3. **Abi-Ayad, A., 1997.** Etude expérimentale de la biologie de la reproduction de la perche fluviatilis (*Perca fluviatilis*). Effet de la composition en acides gras de la série (n-3) de l'alimentation des géniteurs sur la qualité des œufs et des larves. Thèse de l'Université de Liège, 147p.

4. **Abraham, M., Hilge, V., Akert, K., Sandri, C., 1988.** The teleost oocytes and the follicle cells in relation to transport and incorporation of vitellogenin, In: Zohar Y., Breton B., (Eds). Reproduction in fish- Basic and applied aspects in endocrinology and genetic, French- Israeli Symposium, 10-10 November 1986, Tel Aviv. Les Colloques de l'INRA. 44, 750-759.

5. **Beacham, T.D., Murray, C.B., 1993.** Acceleration of maturity of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) using photoperiod control. *Aquaculture* 109**,** 315-325.

6. **Beacham, T.D., Murray, C.B., Barner, L.W., 1994**. Influence of photoperiod on the timing of reproductive maturation in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) and its application to gentic transfers between oo-year and even year spawning populations. Can. *J. Zool.* 72**,** 826- 833.

7. **Begtashi, I., Rodríguez, L., Molés, G., Zanuy, S., Carrillo, M., 2004.** Long-term exposure to continuous light inhibits precocity in juvenile male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*,L.). I. Morphological aspects. *Aquaculture* 241, 539-559.

8. **Berlinsky, D.L., Jakson, L.F., Smith, T.I.G., Sullivan, C.V., 1995.** The annual reproductive cycle of the white bass (*Morone chrysops). J. World Aquaculture Soc* 26, 252-260.

9. **Berrill, IK., Porter, M.J.R., Smart, A., Mitchel, D., Bromage, N.R., 2003.** Photoperiodic effects on precocious maturation, growth and smoltification in Atlantic salmon (*Salmo Salar). Aquaculture* 222, 239-252.

10. **Berrill, IK., Smart, A., Porter, M.J.R., Bromage, NR., 2006.** A decease in photoperiod shortly after first feeding influences the development of Atlantic salmon (*Salmo salar). Aquaculture* 254, 625-636.

11. **Billard, R., Berton, B., 1981.** Le cycle reproducteur chez les poissons Téléostéens. *Cah Lab Montereau*, 12, 43-56.

12. **Billard, R., Bry, C., Gillet, C., 1981**. Stress, environment and reproduction in Teleost. In : stress and fish , Pickering AD ed, Acad perss, New York: 185-208.

13. **Biswas, A.K., Morita, T., Yoshizaki, G., Maita, M., Takeuchi, T., 2005**. Control of reproduction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by photoperiod manipulation. *Aquaculture* 243**,** 229-239.

14. **Bon, E., Corraze, G., Kaushik, S., Le Menn, F., 1997**. Effects of Accelerated Photoperiod Regimes on the Reproductive Cycle of the Female Rainbow Trout: I—Seasonal Variations of Plasma Lipids Correlated with Vitellogenesis. *Comparative Biochem. Physiol - Part A: Physiol* 118, 183-190.

15. **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: II Seasonal variations of plasma gonadotropins (GTH I and GTH II) levels correlated with ovarian follicle growth and egg size. *J. Fish Physiol. Biochem* **20,** 143–154.

16. **Bone, Q., Marshall, N.B., Blaxter, J.H.S., 1995.** Biology of Fishes. C. Hall.2nd Eddition, 332P.

17. **Bonnet, E., Montfort, J., Esquerre, D., Hugot, K., Fostier, A., Bobe, J., 2007**. Effect of photoperiod manipulation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality: A genomic study. *Aquaculture* 268, 13-22.

18. **Bornestaf, C., Borg, B., 2000.** Endogenous breeding cycles in male three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. *Behaviour* **137,** 921–932.

19. **Breton, B., Billard, R., Jalabert, B., Kann, G., 1972.** Dosage radio immunologique des gonadotropines plasmatiques chez le *Carassius auratus* au cours du nycthémère et pendant l'ovulation. *Gen. Comp. Endocrinol* 18,463-468.

20. **Breton, B., Horoszewicz, L., Bieniaz, K., Epler, P., 1980.** Temperature and reproduction in tench: Effect of a rise in the anual temperature regime on gonadotrpin level, gametogenesis and spawning, II. The female. *Repr. Nutr. Dev*. 20, 1011-1024.

21. **Breton, B., Mikolajczyk, T., Danger, J.M., Gonnet, F., Sian-Pierre, S., Vaudry, H., 1989.** Neuropeptide Y (NPY) modulates in vitro gonadotropin release form rainbow trout pituitary glands. *Fish Physiol. Biochem*. 7, 77-83.

22. **Brion, F., Rogerieux, F., Noury, P., Migeon, B., Flammarion, P., Thybaud, E. and Porcher, J.M., 2000.** Two-step purification method of vitellogenin from three teleost fish species: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), gudgeon (*Gobio gobio*) and chub (*Leuciscus cephalus*). *J. Chromatogr B* **737**, 3–12.

23. **Bromage, N.R., Randall, C.F., Porter, M.J.R., 1995**. How do photoperiod, the pineal gland, melatonin and circannual rhythms interact to coordinate seasonal reproduction in salmonids? In: Goetz, F., Thomas, P. (Eds.), Reproductive physiology of Fish V Symposium. University of Texas Publication, Austin, USA, pp. 164-166.

24. **Bromage, N.R., Roberts, R.J., 1995.** Broodstock management and egg and larval quality. Eds. Blackwell Sience, pp. 424.

25. **Bromage, N.R., Porter, M., Randall, C., 2001.** The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonine. *Aquaculture* 197, 63-98.

26. **Brown, N.P., Bromage, N.R., Shields, R.J., 1995.** The effect of spawning temperature on egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). In: Goetz, F., Thomas, P (Eds), Reproductive physiology of Fish V Symposium. University of Texas Publications, Austin, USA, p. 181.

27. **Bruslé, J., Quignard, J.P., 2004.** Les poissons et leur environnement, écophysiologie et comportement s adaptifs. Editions TEC& DOC LONDRES- PARIS-NEW YORK, p1522.

28. **Buckley, S., Bradley, T.M., Allen-Guilmettes, J., 2000.** Production, quality, and low temperature incubation of egg of Alantic cod *Godus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus* in captivity. *J. World Aquaculture Soc.* 31, 22-29.

29. **Campbell, P. M., Pottinger, T. G., Sumpter, J. P., 1994.** Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture* **120,** 151–169.

30. **Carrillo, M., Bromage, N, Zanuy, S., Serrano, R, Prat, F., 1989.** The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrachus labrax* L). *Aquaculture* 81, 351-365.

31. **Carrillo, M., Bromage, N., Zanuy, S., Serrano, R., Ramos, J., 1991.** Egg quality and fecundity in sea bass. *Dicentraxchus labrax* and the effects of photoperiodically induced advances and delays of spawning time. In: Scott, A.P., Sumpter, J., Kime, D., Roffe, M. Eds, Proceedings of IVth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Norwich, UK, pp. 259–261.

32. **Carrillo, M., Zanuy, S., Prat, F., Serrano, R., Bromage, N., 1993.** Environmental and hormonal control of reproduction in sea bass. In: Bromage, N., Donaldson, E.M., Carrillo, M., Zanuy S., Planas, J. (Eds.), Recent Advances in Aquaculture IV. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, pp. 43-54.

33. **Carrillo, M., Zanuy, S., Prat, F., Cerda, J., Ramos, J., Mañanós, E., Bromage, N, 1995.** Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality Bromage, N.R., Roberts R.J. (Eds.). Blackwell Science, Oxford, pp. 138-168.

34. **Carrillo, M., Begtashi, I., Rodríguez, L., Marin, M.C., Zanuy, S., 2010.** Long photoperiod on sea cages delays timing of first spermiation and enhances growth in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 299, 157–164.

35. **Castillo M,. Barcelo D,. 1997.** Analysis of industrial effluents to determine endocrine-disrupting chemicals, *Trac-Trend. Anal. Chem.* **16**, pp. 574–583.

36. **Chmilevsky, D. A., 2000.** Effects of extreme temperature on oogenesis in tilapia and rainbow trout. In Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish (Norberg, B., Kjesbu, O. S., Taranger, G. L., Andersson, E., Stefansson, S. O., (eds), p. 344. Bergen: John Grieg A/S.

37. **Ciereszko, R.E., Dabrowski, K., Ciereszko, A., Ebeling, J., Ottobre, J. S., 1997.** Effects of temperature and photoperiod on reproduction of female yellow perch (*Perca flavescens)*: Plasma concentrations of steroid hormones, spontaneous and induced ovulation, and quality of eggs. *J. World Aquaculture Soc.* 28**,** 344-356.

38. **Clark, R.W., Henderson-Arzapalo, A., Sullivan, C.V., 2005**. Disparate effects of constant and annually-cycling day length and water temperature on reproductive maturation of striped bass *(Morone saxatilis). Aquaculture* 249, 497-513.

39. **Cohen, D. M., Inada, T. & Scialabba, N., 1990**. Gadiform fishes of the world: an annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. *FAO Fisheries Synopsis* **10**.

40. **Colette, B.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. Fisheries Research Board Canada* 34, 1890-1899.

41. **Craig, J. F., 1978.** A study of the food and feeding of perch, *Perca fluviatilis* L., in Windermere. *Frishwater Biology*. **8**, 59-68.

42. **Craig, J.F., 1987.** The biology of perch and related Fish, Croom Helm, London. 333p.

43. **Dabrowski, K., Ciereszko, R. E., Ciereszko, A., Toth, G. P., Christ, S. A., ElSaidy, D., Ottobre, J. S., 1996.** Reproductive physiology of yellow perch (*Perca flavescens*): Environmental and endocrinological cues. *J. Appl. Ichthyol.* 12**,** 139-148.

44. **Danger, J.M., Breton, B., Vallarino, A., Fournier, G., Pelletier, G., Vaudry, H., 1991.** Neuropeptide Y in the trout brain and pituitary: localisation, characterisation and action on gonadotropin release. *Endocrionl*.128, 2360-2368.

45. **Davies, P.R., Hanyu, I., 1986.** Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. I. under conditions of high temperature. *Aquaculture* 51, 277-288.

46. **Davies, P.R., Hanyu, I., Furukawa, K., Nomura, M., 1986a**. Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp II. Under low conditions of temperature. *Aquaculture*, 52, 51-58.

47. **Davies, P.R., Hanyu, I., Furukawa, K., Nomura, M., 1986b**. Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp III. Induction of spawning by manipulating photoperiod and temperature. *Aquaculture*, 52,137-144.

48. **Davies, P., Randall, C.F., Bromage, N.R., 1991.** Absolute daylength and the entrainment of an endogenous clock controlling reproduction in female rainbow trout. In: Scott A.P.,

Sumpetr J., Kime D., Roffe M. (Eds). Proceedings of IV International Symposium of reproductive physiology of Fish; Fish Symp.91, P.166.

49. **Davies, B., Bromage, N.R., 1991**.The effects of fluctuating seasonal and constant temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in female rainbow trout. In: Scott, A. P., Sumpter, J., Kime, D., Roffe M. (Eds), Proceeding of IV international Symposium on reproductive physiology of fish. Fish Symp. 91, pp 154-157.

50. **Davies, B., Bromage, N., 2002**. The effects of fluctuating seasonal and constant water temperatures on the photoperiodic advancement of reproduction in female rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss). Aquaculture*, 205, 183-200.

51. **Davie, A., Porter, M.J.R., Bromage, N.R., 2003.** Photoperiod manipulation of maturation and growth of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiol. Biochem.* 28, 399–401.

52. **Davie, A., de Quero, C. M., Bromage, N., Treasurer, J., Migaud, H., 2007a.** Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods. *Aquaculture* 270**,** 379-389.

53. **Davie, A., Porter, M.J.R., Bromage, N.R., Migaud, H., 2007b.** The role of seasonally altering photoperiod in regulating physiology in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Part I. Sexual maturation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 64, 84–97.

54. **De Vlaming, V.L., 1975.** Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the Cyprinid telost, (*Notemigonus crysoleucas)*. *Biological Bulletin* 148, 402-415.

55. **Duston, J., Bromage, N., 1986.** Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem* **2**, 35-51.

56. **Duston, J., Bromage, N.R., 1988a.** Constant photoperiod regimes and the entrainment of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri). Gen. Comp. Endocrinol.* 65, 373–384.

57. **Duston, J., Bromage, N.R., 1988b.** The entrainment and gating of the endogenous circannual rhythm of reproduction in females rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Comp. Physiol* 164, 259-268.

58. **Duston, J., Bromage, N.R., 1991.** Circannual rhythms of gonadal maturation in female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J.Biological Rhythms* **6,** 49–53.

59. **Duston, J., Astatkie, T., Maclsaac, P. F., 2003.** Long-to-short photoperiod in winter halves the incidence of sexual maturity among Arctic charr. *Aquaculture* 221**,** 567-580.

60. **Endal, H. P., Taranger, G. L., Stefansson, S. O., Hansen, T., 2000.** Effects of continuous additional light on growth and sexual maturity in Atlantic salmon, (*Salmo salar),* reared in sea cages. *Aquaculture* 191**,** 337-349.

61. **Fontaine, P., Pereira, C., Wang, N., Marie, M., 2006.** Influence of pre-inductive photoperiod variations on Eurasian perch (*Perca fluviatilis)* broodstock response to an inductive photothermal program. *Aquaculture* 255, 410-416.

62. **Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N., 2008.** Percid Fish Culture : From Research to Production. Workshop on Percid Fish Culture, Namur (Belgium) 23-24 January 2008. Abstract book, Presses Universitaires de Namur. 150 pp.

63. **Frantez, M., Arnesen, A.M., Damsgard, B., Tveiten, H., Johnsen, H.K., 2004.** Effects of photoperiod on sex steroids and gonadal maturation in Arctic charr. *Aquaculture* 240, 561-574.

64. **ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0250f/i0250f01.pdf** - La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2008.

65. **Gall, G. A. E., Crandell, P. A., 1992.** The rainbow trout. *Aquaculture* **100,** 1–10.

66. **Garcia-Lopez, A., Pascual, E., Sarasquete, C., Martinez-Rodriguez, G., 2006.** Disruption of gonadal maturation in cultured Senegalese sole *Solea senegalensis* Kaup by continuous light and/or constant temperature regimes. *Aquaculture* 261**,** 789-798.

67. **Gillet, C., 1991.** Egg production in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) broodstock: effects of temperature on the timing of spawning and the quality of eggs. *Aquat. Living Resour.* **4**, 109–116.

68. **Gillet, C., Breton, B., Billard, R., 1978.** Seasonal effects exposure to temperature and photoperiod regimes on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish *(Carassius auratus). Annales de Biologie Biochimie Biophysique* 18 1045-1049.

69. **Gillet, C., Dubois, J.P., 2007.** Effect of water temperature and size of females on the timing of spawning of perch (*Perca fluviatilis* L.) in Lake Geneva from 1984 to 2003. *J. fish Biol* 70, 1001-1014.

70. **Gines, R., Afonso, J.M., Arguello, A., Zamorano, M.J., Lopez, J.L., 2003.** Growth in adult gilthead sea bream (*Sparus aurata* L) as a result of interference in sexual maturation by different photoperiod regimes. *Aquaculture. Res* 34**,** 73-83.

71. **Gines, R., Afonso, J.M., Arguello, A., Zamorano, M.J., Lopez, J.L., 2004.** The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin colour in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture. Res* 35**,** 1207-1212.

72. **Glasser, F., Mikolajczyk, T., Jalabert, B., Baroiller, J.F. Breton, B., 2004.** Temperature effects along the reproductive axis during spawning induction of grass carp (*Ctenopharyngodon idella). Gen. Comp. Endocrinol.* 136,171-179.

73. **Goetz, F.W., 1983.** Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In: Hoar W.S., Ranadall D., E.M. Donaldson Eds. Fish. Fish physiology Vol IXB Academic Press, Nex-York, pp 117-170.

74. **Hamada, K., Mushiake, K., 2006.** Advanced spawning of yellowtail (*Seriola quinqueradiata)* as early as December by manipulations of both photoperiod and water temperature. *Nippon Suisan Gakkaishi* 72**,** 186-192.

75. **Hansen, T., Karlsen, O., Taranger, G.L., Hemre, G.I., Holm, J.C., Kjesbu, O.S., 2001**. Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. *Aquaculture* 203**,** 51-67.

76. **Haug, T., 1990.** Biology of the Atlantic halibut, (*Hippoglossus hippoglossus)* (L., 1758). *Advances in Marine Biology* **3,** 1–70.

77. **Hay, D.E., 1986.** Effects of delayed spawning on viability of eggs and larvae of Pacific herring. *Trans. Am. Fish. Soc.,* 115, 155-161.

78. **Heggberget, T.G., 1988a**. Reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar*) - Aspects of spawning, incubation, early life history and population structure. A summary of studies in Norwegian streams. PhD thesis, University of Trondheim, Norway.

79. **Heggberget, T.G., 1988b.** Timing of spawning in Norwegian Atlantic salmon (*Salmo Salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 845-849.

80. **Henderson, N., 1963.** Influence of light and temperature on the reproductive cycle of the eastern brook trout *Saluelinus fontinalis* (Mitchell). *J. Fish Res.Board Can.* **20**, 859-897.

81. **Henrotte, E., 2009.** Effects of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on the lipid metabolism and on reproductive physiology and performances of Eurasian perch breeders (Perca fluviatilis). Presses universitaires de Namur. 178P.

82. **Hokanson, K.E.F., MCCormick, J.H., Jones, B.R., Tucher, 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.

83. **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.

84. **Holcombe, G.W., Pasha, M. S., Jensen, K.M., Tietge, J.E., Ankley, G.T., 2000.** Effects of photoperiod manipulation on brook trout reproductive development, fecundity, and circulating sex steroid concentrations. *North American Journal of Aquaculture.* 62**,** 1-11.

85. **Howell, R.A., Berlinsky, D.L., Bradley, T.M., 2003.** The effects of photoperiod manipulation on the reproduction of black sea bass, *Centropristis striata*. *Aquaculture* 218**,** 651-669.

86. **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, 331-335.

87. **Imsland, A.K., Dragsnes, M., Stefansson, S.O., 2003**. Exposure to continuous light inhibits maturation in turbot (*Scophthalmus maximus)*. *Aquaculture* 219**,** 911-919.

88. **Imsland, A. K., Jonassen, T. M., 2003.** Growth and age at first maturity in turbot and halibut reared under different photoperiods. *Aquaculture. Inter* 11**,** 463-475.

89. **Jafri, S.I.H., 1989.** The effects of photoperiod and temperature manipulation on reproduction in the roach (*Rutilus rutilus* L.) (Teeostei). Pakistan *J. Zoo* 21, 289-299.

90. **INRA., 2007** - 5 scénario pour la pisciculture française en 2021.Septembre 2007. Commission Filière Poissons.

91. **Jalabert, B; Fostier, A., 1984.** The follicular sensitivity in vitro to maturation-inducing hormones in rainbow trout, (*Salmo gairdneri)*: Role of oestradiol-17β. *Aquaculture* 43, 1-11.

92. **João, R.M., Agustine, A., Kapoor, B.G 2008**. Fish reproduction. SCIENCE PUBLISHERS, *An imprint of Edenbridge Ltd., Isles*. Enfield, New Hampshire 03748, United states of America., P, 629.

93. **Jalabert, B., Breton, B., Fostier, A., Le Gac, F., Loir, M., 1998.** Bases physiologiques de la reproduction chez les poissons. La pisciculture française 133, 5-12.

94. **Jobling, M., 1995.** Environmental biology of fishes**.** Fish and Fisheries Series,16, Chapman and Hall, P, 455.

95. **Jobling, M., H. K. Johnsen, H.K., Pettersen, G.W., Henderson, R.J., 1995.** Effect of temperature on reproductive development in artic charr, *Salvenus alpinus* (L.). *J. Therm. Biol* **20**, 157-165.

96. **Johnson, W.S., 1984.** Photoperiod induced delayed maturation of freshwater reared Chinook salmon. *Aquaculture* 43, 279-287.

97. **Jones, J., Ball, J., 1954.** The spawning behaviour of brown trout and salmon. *British J. Animal Behavi* **2,** 103–114.

98. **Jourdan, S., 1999**. Influence des facteurs abiotiques, la photopériode et l'intensité lumineuse, sur la survie et la croissance de larve, post-larve et juvéniles de perche commune Perca fluviatilis L. Ecole doctorale Sciences et Ingénierie des ressources, Procédés, Produits, Environnement, Nancy, France, 168p.

99. **Kadmon, G., Yaron, Z., Gordin, H., 1985.** Sequence of gonadal events and estradiol levels in (*Sparus aurata* L.) under two photoperiod regime. *J. Fish Biol.* 26, 609-620.

100. **Kagawa, H,. Young G,. Nagahama, Y., 1983**. Relationship between seasonal plasma estradiol-17β and testosterone levels and in vitro production by ovarian follicles of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Biol. Reprod.* **29**, 301–309.

101. **Kagawa, H., Young, G., Adachi, S., Nagahama, Y., 1982.** Estradiol-17B production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicle: a role of the thecal and granulosa cells. *Gen. Comp. Endocrinol*.47, 440-448.

102. **Kah, O., Anglade, I., Lepertre, E., Dubourg, P., Monbrisson, D., 1993.** The reproductive brain in fish. *Fish physiol. Biochem.* 11, 85-98.

103. **Karlsen, Ø., Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L., 2006**. Effects of photoperiod and exercise on growth, liver size, and age at puberty in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *ICES. J. Mar.Sci.* 63**,** 355-364.

104. **Kayes, T.B. et Calbert, H.E., 1979.** Effects of photoperiod and temperature on the spawning of yellow perch (*Perca flavescens*). Proceedings of the World Mariculture Society **10**, 307–316.

105. **Kestemont, P., 1990**. Dynamic aspects of ovogenesis in an asynchronous fish, the gudgeno *Gobio gobio* (L.) (Teleostei, Cyprinidae), under controlled temperature and photoperiod conditions. *Aquatic. Living Resour.* 3, 61-74.

106. **Kestemont, P., Van Driessche, I., Mélard, C., 1991.** Etude du cycle reproducteur du goujon, *Gobio gobio*, L. Maturation des gonades sous régimes thermique ovulatoire et sub-ovulatoire. *J. App. Ichthy 7*, 205-216.

107. **Khan, I.A., Hawkins, M.B., Thomas, P., 1999**. Gonadal stage dependent effects of gonadal steroids on gonadotropin II secretion in the Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). *Biol. Reprod.* **61**, 834–841.

108. **Kime, D.O., 1993.** Classical and non classical reproductive in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 3, 160-180.

109. **King, H. R., Pankhurst, N. W., 2000.** Ovulation of Tasmanian Atlantic salmon maintained at elevated temperatures: implications of climate change for sustainable industry development. In *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. In: Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L. Andersson, E., Stefansson, S. O., (eds), pp. 396–398. Bergen: John Grieg A/S.

110. **King, H.R., Pankhurst, N.W., 2003**. Ovarian growth and plasma sex steroid and vitellogenin profiles during vitellogenesis in Tasmanian female Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 219, 797–813.

111. **King, H.R., Pankhurst, N.W., Watts, M., 2003**. Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* **63**, 154–167.

112. **King, H.R., Pankhurst, N.W., 2004.** Effect of maintenance at elevated temperatures on ovulation and luteinizing hormone releasing hormone analogue responsiveness of female 25 Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Tasmania. *Aquaculture* 233, 583-597.

113. **King, H.R., Pankhurst, N.W., 2007.** Additive effects of advanced temperature and photoperiod regimes and LHRHa injection on ovulation in Atlantic salmon (*Salmo salar*)**.** *Aquaculture* 273, 729-738.

114. **King, H.R., Pankhurst, N.W., Watts, M., 2007**. Reproductive sensitivity to elevated water temperatures in female Atlantic salmon is heightened at certain stages of vitellogenesis. *J.Fish Biol.* 70**,** 190-205.

115. **Kissil, G.W., Lupatsch, I., Elizur, A., Zohar, Y., 2001.** Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata). Aquaculture* 200, 363-379.

116. **Kolkovski, S., Dabrowski, K., 1998.** Off-season spawning of yellow perch. *Progressive Fish-Culturist* 60, 133-136.

117. **Kråkenes, R., Hansen, T., Stefansson, S.O., Taranger, G.L., 1991.** Continuous light increases growth rate of Atlantic salmon (*Salmo salar* L) postsmolts in sea cages. *Aquaculture* 95**,** 281- 287.

118. **Krieger, J., Fleig, R., 1999**. Yolk mobilization in perch, *Perca fluviatilis* L., embryons. *Fish. physiol. Biochem* 21, 157-165.

119. **Kwon, J.Y., McAndrew, B.J., Penman, D.J., 2002.** Treatment with an aromatase inhibitor suppresses high-temperature feminization of genetic male (YY) Nile tilapia. *J Fish biol* 10, 121-173.

120. **Loir, M., Le Gac, F., Somarakies, S., Pavilidis, M., 2001.** sexuality and gonadal cycle of the common dentex (*Dentex dentex)* in intensive culture. *Aquaculture* 194, 363-381.

121. **Lomax, D.P., Roubal, W.T., Morre, J.D., Johnson, L.L., 1998.** An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring vitellogenin in English sole (*Pleuronectes vetulus*): development, validation and cross-reactivity with other pleuronectids. *Comp Biochem Physiol Part B* 121, 425–436.

122. **Lukšiené D, Sandström O 1994.** Reproductive disturbance in a roach (*Rutilus rutilus)* population effected by cooling water discharge. *J. Fish Biol*. 45,613-625.

123. **Lukšiené, D., Sandström, O., Lounasheimo, L., Andersson, J., 2000.** The effects of thermal effluent exposure on the gametogenesis of female fish. *J. Fish Biol.* **56**, 37–50.

124. **Mackay, M.E., Lazier, CB., 1993.** Estrogen responsiveness of vitellogenin gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kept at different temperatures. *Gen. Comp. Endocrinol.* 89**,** 255–66.

125. **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)*. *Aquaculture* 163, 151-161.

126. **Malservisi, A., Magnin, E., 1968.** Changements cycliques annuels se produisant dans les ovaires de (*Perca flavescens)* (Mitchill) de la région de Montréal. *Nat. Can.* 95, 929– 945. (*in French*).

127. **Mañanós, E.L., Zanuy, S., Carrillo, M., 1997.** Photoperiodic manipulations of the reproductive cycle in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and their effect on gonadal

development, and plasma 17ß-estradiol and vitellogenin levels. *Fish Physiol. Biochem*. 16, 211-222.

128. **Martin-Robichaud, D.J., Berlinsky, D.L., 2004.** The effects of photothermal manipulation on reproductive development in females haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.) *Aquaculture Res* 35, 465-472.

129. **Matsubara, T., Ohkubo, N., Andoh, T., Sullivan, C.V., Hara, A., 1999.** Two forms of vitellogenin, yielding two distinct lipovitellins, play different roles during oocyte maturation and early development of barfin flounder, *Verasper moseri*, a marine teleost that spawns pelagic eggs. *Dev. Biol.* **213**, 18–32.

130. **Migaud, H., 2002. I**nfluence des variations de la température et de la photopériode sur le cycle de reproduction et la qualité des pontes de la perche commune (*Perca fluviatilis).* Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 167p.

131. **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 rates of cooling and cooling durations on female gametogenesis and spawning. *Aquaculture* 205, 253-267.

132. **Migaud, H., Fontaine, P., Kestemont, P., Wang, N., Brun-Bellut, J., 2004a.** Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch (*Perca fluviatilis).* *Aquaculture* 241, 561-574.

133. **Migaud, H., Gardeur, J.N., Kestemont, P., Fontaine, P., 2004b**. Off-season spawning of Eurasian perch (*Perca fluviatilis). Aquaculture. Inter* 12, 87-102.

134. **Migaud, H., Mandiki, R., Gardeur, J.N., Kestemont, P., Bromage, N.R., Fontaine, P., 2003a.** Influence of photoperiod regimes on the Eurasian perch gonadogenesis and spawning. *Fish Physiol. Biochem*. 28, 395–397.

135. **Migaud, H., Mandiki, R. Gardeur, J.N., Alexis F., Kestement, P., Fontaine, P., 2003b.** Synthesis of sex steroids in final oocyte maturation, ovulation and spawning in female Eurasian perch (*Perca fluviatilis). Aquat. Living Resour.* 16, 380-388.

136. **Migaud, H., Wang, N., Gardeur, J-N., Fontaine, P., 2006.** Influence of photoperiod on reproductive performances in Eurasian perch (*Perca fluviatilis). Aquaculture* 252, 385-393.

137. **Migaud, H., Davie, A., Taylor, J.F., 2010.** Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *J. Fish Biol* 76, 27–68.

138. **Mommsen, T.P., Walsh, P.J., 1988.** Vitellogenesis and oocyte assembly. In: W.S. Hoar and D.J. Randall, Editors, *Fish Physiology* vol. XIA, Academic Press, New York, pp. 347–406.

139. **Moretti, A., Pedini Fernandez-Criado, M., Cittolin, G., Guidastri, R., 1999.** Manual of Itatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, Vol. 1. Rome: FAO.

140. **Morehead, D.T., Ritar, A.J., Pankhurst, N.W., 2000.** Effect of consecutive 9-or 12-month photothermal cycles and handling on sex steroid levels, oocyte development, and

reproductive performance in female striped trumpeter (*Latris lineata)* (Latrididae). *Aquaculture* 189**,** 293-305.

141. **Munro, A.D., Scott, A.P., Lam, T.J., 1990**. Reproductive seasonality in Teleosts: environmental influences. CRC Press Inc, Boca Raton Florida: 254P.

142. **Mushiake, K., Kawano, K., Kobayashi, T., Yamasaki, T., 1998.** Advanced spawning in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, by manipulations of the photoperiod and water temperature. *Fish. Sci.* 64**,** 727-731.

143. **Mylonas, C.C., Zohar Y., 2001.** Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus Morone. *Aquaculture* 202, 205-220.

144. **Nagahama, Y.,1983.** The functional morphology of teleost gonads. In: Fish Physiology, Vol. IXA. W.S. Hoar, D.J. Randall, and E.M. Donaldson, eds. Academic Press, NewYork, pp. 223–275.

145. **Norberg, B., Weltzien, F.A., Karlsen, O., Holm, J.C., 2001.** Effects of photoperiod on sexual maturation and somatic growth in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 129B**,** 357-365.

146. **Norberg, B., Brown, C.L., Halldorsson, O., Stensland, K., Björnsson, B.T., 2004.** Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroidhormone profiles in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 229**,** 451-467.

147. **Ohta, K., Mine, T., Yamaguchi, A., Matsuyama, M., 2001.** Steroidogenic Pathway to Estradiol-17.BETA. Synthesis in the Ovarian Follicles of the Protogynous Wrasse, *Pseudolabrus sieboldi. Zool. Sci* 18, 937-945.

148. **Oppedal, F., Taranger, G. L., Hansen, T., 2003.** Growth performance and sexual maturation in diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater tanks exposed to continuous light or simulated natural photoperiod. *Aquaculture* 215**,**145-162.

149. **Oppedal, F., Berg, A., Olsen, R. E., Taranger, G. L., Hansen, T., 2006.** Photoperiod in seawater influence seasonal growth and chemical composition in autumn sea-transferred Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) given two vaccines. *Aquaculture* 254**,** 396-410.

150. **Pankhurst, N.W., Purser, G.J., Van Der Kraak, G., Thomas, P.M., Forteath, G.N.R., 1996.** Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, and plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 146, 277-290.

151. **Pankhurst, N.W., Thomas, P.M., 1998.** Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout (*Oncohynchus mykiss)* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture* 166, 163-177.

152. **Pankhurst, N.W., Porter, M.J.R., 2003.** Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiol. Bioch.* 28, 385–389.

153. **Pankhurst, N.W., King, H. R., 2010.** Temperature and salmonid reproduction: implications for aquaculture *J. Fish Biol.* 76, 69–85.

154. **Parks, L.G., Cheek, A.O., Denslow, N.D., Hepell, S.A., McLachlan, J.A., LeBlanc, G.A. and Sullivan, C.V., 1999.** Fathead minnow (*Pimephales promelas*) vitellogenin: purification, characterization and quantitative immunoassay for the detection of estrogenic compounds. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 123, 113–125.

155. **Pavlidis, M., Loir, M., Fostier, A., Mölsä, H., Scoth, A., 2000.** Recent advances in reproductional aspects of *Dentex dentex*. Cahiers Options Méditerranéennes 47, 169-176.

156. **Pavlov, D.A., Mokness, E., 1994.** Reproductive biology, early ontogeny, and effect of temperature on development in wolffish: comparisons with salmon. *Aqua. Int.* 2, 133–143.

157. **Peter, R.E., Trudeau, V.L., Sloley, B.D., 1991.** Brain regulation of reproduction in teleosts. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, monograph 16, 89-197.

158. **Peter, R.E.,Yu, K.L., 1997.** Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspect. *Rev. Fish Biol. Fish.* 7, 173-197.

159. **Piferrer, f., Zanuy S., Carrillo, M., Solar, I., Devlin, R.H., Donaldson, E.M., 1994.** Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation causes chromosomally female salmon to develop as normal, functional males. *J. Exp. Zool* 270, 255-262.

160. **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.), *Leucicus cephalus* (L.) *Tinca tinca* (L.) – Résultats préliminaires. *Bulletin Français de la pêche et de la Pisciculture* 304, 1-12 (in French).

161. **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.

162. **Poncin, P., Mélard, C., Philippart, J.C., 1989.** Controlled reproduction of chub, *(Leuciscus cephalus* L.) in captivity. Aquaculture- a Biotechnology in Progress 26, 567-571.

163. **Poncin, P., 1996.** Reproduction chez nos poissons. Le pêcheurs belge (éd.), Bruxelles : 76p.

164. **Porter, M.J.R., Duncan, N., Mitchell, D., Bromage, N.R., 1999**. The use of cage lighting to reduce plasma melatonin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its effects on the inhibition of grilsing. *Aquaculture* 176, 237–244.

165. **Prat, F., Zanuy, S., Carrillo, 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.

166. **Prat, F., Zanuy, S., Bromage, N., Carrillo, M., 1999.** Effects of constant short and long photoperiod regimes on the spawning performance and sex steroid levels of female and male sea bass. *J. Fish Biol.* 54, 125–137.

167. **Rad, F., Bozaoglu, S., Gozukara, S.E., Karahan, A., Kurt, G., 2006.** Effects of different longday photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture* 255**,** 292-300.

168. **Randall, C.F., Bromage, N.R., 1998.** Photoperiodic history determines the reproductive response of rainbow trout to changes in daylength. *Comp. Physiol.* 183, 651-661.

169. **Randall, C.F., Bromage, N.R., Duston, J., Symes, J., 1998**. Photoperiod induced phase-shifts of the endogenous clock controlling reproduction in the rainbow trout: a circannual phaseresponse curve. *J. Reprod. Fertil.* 112, 399–405.

170. **Rinchard, J., Kestemont, P., Kühne E.R., Fostier A., 1996.** Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fish: I. Morphological and histological features. *J. Fish Biol.* 49, 883– 894.

171. **Robinson, D.L., Thompson, R., Digby, P.G.N., 1982.** REML – a program for the analysis of non-orthogonal data by restricted maximum likehood. Compstat 1982 proceedings in computational statistics, Part II (supplement), Physica-Verlag (Ed.), Vienna, 231-232.

172. **Rodríguez, L., Zanuy, S., Carrillo, M., 2001.** Influence of daylength on the age at first maturity and somatic growth in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L). *Aquaculture* 196, 159-175.

173. **Rodriguez, L., Begtashi, I., Zanuy, S., Carrillo, M., 2005.** Long-term exposure to continuous light inhibits precocity in European male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.): hormonal aspects. *Gen. Comp. Endocrinol.* 140**,** 116-125.

174. **Ronyai, A., 2007**. Induction out-of-season and seasonal tank spawning and stripping of Pike perch (*Sander lucioperca*L.). *Aquaculture Res* 38, 1144-1151.

175. **Rothbard, S., Yaron, Z. 1995.** Carps (Cyprinidae). In Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Bromage, N.R., Roberts, R. J., (eds), pp. 321–352. Oxford: Blackwell Science.

176. **Rueda, F.M., Martinez, F.J., 2001**. A review on the biology and potential aquaculture of Dentex dentex. *Rview in fish Biology and Fisheries* 11, 57-70.

177. **Schlumberger, O., Proteau, J.P., 1996.** Reproduction of Pike-perch *Stizostedion lucioperca* in captivity. *J. App. Ichthy* 12, 149-152.

178. **Scott, A.P., Sumpter, J.P., Hardiman, P.A., 1983.** Hormones changes during ovulation in rainbow trout *(Salmo gairdneri* Richardson). *Gen. Comp. Endocrinol*. 49, 128-134.

179. **Shewmon, L.N., Godwin, J.R., Murashige, R.S., Daniels, H.V., 2007.** Environmental manipulation of growth and sexual maturation in yellow perch, *Perca flavescens*. *J. World Aquacult. Soc.* 38**,** 383-394.

180. **Solé**, **M**., **Porte**, **C**., **Barceló**, **D**., **2001.** Analysis of the estrogenic activity of sewage treatment works and receiving waters using vitellogenin induction in fish as biomarker, Trac-Trend. Anal. Chem. pp. 518–525.

181. **Soria, F. N., Strüssman, C. A., Miranda, L. A., 2008.** High water temperatures impair the reproductive ability of the pejerrey fish *Odontesthes bonariensis*: effects on the hypophyseal-gonadal axis. *Physiol. Biochem. Zool* **81,** 898–905.

182. **Smith, T.I.J., Jenkins, W.E., Heyward, L.D., 1996.** Production and extended spawning of cultured white bass broodstock. *The progressive Fish Culturist* 58, 85-91.

183. **Smith, T.I.J., McVey, D.C., Jenkins, W.E., Denson, M.R., Heyward, L.D. Sullivan, C.V., Berlinsky, D.L., 1999.** Broodstock management and spawning of southernflounder, *Paralichthys lethostigma*. *Aquaculture* 176, 87–99.

184. **Sulistyo, I., 1998.** Contribution à l'étude et à la maîtrise du cycle de reproduction de la perche eurasienne *Perca fluviatilis* L. Nancy, Université Henri Poincaré**. p** 145.

185. **Sulistyo, I., Rinchard J., Fontaine P., Gardeur J.N., Capdeville B., Kestemont P., 1998.** Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in females Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resour*. 11, 101-110.

186. **Sulistyo, I., Rinchard, J., Fontaine, P., Gardeur, J.N., Migaud, H., Capdeville, B., Kestemont, P., 2000.** Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in males Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resour.* 13, 99-106.

187. **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 Baton, FL, CRO Press, pp 13-21.

188. **Sumpter, J.P., Jobling, S,. 1995.** Vitellogenesis as biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment, *Environ. Health Perspect.* **103**, 173–178.

189. **Stevenson, J. P., 1987.** Trout Farming Manual, 2nd edition. Fishing News Books, Farnham (UK), 239 p.

190. **Swanson, P., 1991.** Salmon gonadotropins: reconciling old and new idea. In: Scott A.P., Sumpter J. Kime D., Roffe M. (Eds), and Proceeding of IV international Symposium on reproductive physiology of fish. Fish Symp.91, Sheffield, 2-7.

191. **Taranager, G.L., Hansen, T., 1993**. Ovulation and egg Survival flowing exposure of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodstoock to different water temperatures. *Aquacult. Fish. Manage*. 24, 151-156.

192. **Taranger, G.L., Daae, H., Jørgensen, K.O. and Hansen, T., 1995.** Effects of continuous light on growth and sexual maturation in sea water reared Atlantic salmon, *Salmo salar* L. In: Goetz, F.W., Thomas, P., (Eds.). Proceedings of the 5th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. University of Texas, Austin, Texas, 2-8 July 1995, p. 200.

193. **Taranger, G.L., Haux, C., Stefansson, S.O., Bjôrnsson, 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, *Salmon salar. Aquaculture* 162, 85-98.

194. **Taranger, G.L., Haux, C., Hansen, T., Stefansson, S.O., Bjornsson, B.T., Walther, B.T., Kryvi, H., 1999a.** Mechanisms underlying photoperiodic effects on age at sexual maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 177, 47-60.

195. **Taranger, G.L., Stefansson, S.O., Oppedal, F., Andersson, E., Hansen, T., Norberg, B., 1999b.** Photoperiod and temperature affects gonadal development and spawning time in Atlantic salmon *Salmo salar* L. 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, p. 345.

196. **Taranger, G.L. Vikingstad, E. Klenke, U. Mayer, I. Stefansson, S.O. Norberg, B. Hansen, T. Zohar Y. and Andersson E., 2003**. Effects of photoperiod temperature and GnRHa treatment on the reproductive physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) broodstock. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 403-406.

197. **Taranger, G.L., Aardal, L., Hansen, T., Kjesbu, O.S., 2006.** Continuous light delays sexual maturation and increases growth of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in sea cages. ICES. *J. Mar. Sci.* 63**,** 365-375.

198. **Taranger, G.L., Carrillo, M., Schulz, R.W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip A., Weltzien F.A., Dufour, S., Karlsen, Ø., Norberg, B., Andersson, E., Hansen, T., 2010.** Control of puberty in farmed fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165, 483–515.

199. **Taylor, J. F., Porter, M. J. R., Bromage, N. R., Migaud, H., 2008**. Relationships between environmental changes, maturity, growth rate and plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 155**,** 257-270.

200. **Teletchea, F., Fostier, A., Kamler, E., Gardeur, G.N., Fontaine, P., 2008.** Comparative analysis of reproductive strategies of European freshwater fishes: Applications to the domestication of new species in aquaculture Cybium, 32(2) suppl. 300-302.

201. **Teletchea, F., Gardeur, G.N., Kamler, E., Fontaine, P., 2009a.** The relationship of oocyte diameter and incubation temperature to incubation time in temperate freshwater fish species. *J. Fish. Biol.* 74, 652–668.

202. **Teletchea, F., Fostier, A., Kamler, E., Gardeur, J.N., Le Bail, *P.Y* 2009b.** Comparative analysis of reproductive traits in 65 freshwater fish species: application to the domestication of new fish species. *J. Fish. Fish.Biol.*19, 403-430

203. **Thompson, R., Welham, S.J., 2000.** REML analysis of mixed models. In: The guide to GenStat, Part 2: Statistics. Lawes Agricultural Trust (Ed.), 413-503.

204. **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.

205. **Trudeau, V.L., 1997**. Neuroendocrine regulation of gonadotrophin-II release and gonadal growth in the gold fish, (*Carassius auratus). Rev. Reprod.* 2, 55-68.

206. **Tveiten, H., Johnsen, H.K., 2001.** Thermal influences on temporal changes in plasma testosterone and oestradiol-17β concentrations during gonadal recrudescence in female common wolffish. *J. Fish Biol.* **59**, 175–178.

207. **Tyler, C.R. Routledge E.J., 1998.** Oestrogenic effects in fish in English rivers with evidence of their causation, *Pure Appl. Chem.* **70**, 1795–1804.

208. **Unwin, M. J., Rowe, D. K., Poortenaar, C. W., Boustead, N. C., 2005.** Suppression of maturation in 2-year-old Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared under continuous photoperiod. *Aquaculture* 246**,** 239-250.

209. **Van Der Kraak, G., Wade, M.G., 1994.** A comparison of signal transduction pathways mediating gonadotropin actions in vertebrales. In: Davey K.B., Peter R.E., Tobe S.S(Eds). Perspectives in Comparative Endocrinology, National Research Council of Canada, Ottawa, PP. 59-63.

210. **Van Der Kraak G., Pankhurst N.W., 1997.** Temperature effects on the reproductive performance of fish. In: C.M. Wood and D. Macdonald, Editors, Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish, Cambridge University Press, Cambridge. pp. 159–176.

211. **Van der meeren, T., Ivannikov , V.P., 2006.** Seasonal shift in spawning og Alantic cod *Gadus mohua* L. by photoperiod manipulation: egg quality in relation to temperature and intensive larval rearing. *Aquaculture. Res 37*, 898-913.

212. **Vermeirssen, E.L.M., Scott. P., 2001.** Male priming pheromone is present in bile, as well as urine, of female rainbow trout. *J. fish biol.* 58, 1039-1045.

213. **Vikingstad, E., Andersson, E., Norberg, B., Mayer, I., Klenke, U., Zohar, Y., Stefansson, S. O., Taranger, G. L., 2008.** The combined effects of temperature and GnRHa treatment on the final stages of sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) females. *Fish Physiol. Biochem*. 34**,** 289-298.

214. **Vuthiphandchai, V., Stubbleefield, J., Zohar, J., 2003.** Effects of phase-shiffted photoperiod regime on oocytes growth and hormonal profiles in female striped bass *Morone saxatilis. J. World aquaculture. Soc.* 33, 358-368.

215. **Wallace, R.A., Selman, K., 1981**. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.* **21**, 325-343.

216. **Wang, N., 2006.** Déterminisme de la Qualité du cycle de Reproduction chez la perche Commune, *Perca fluviatilis*. Approche Multifactorielle. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy 1, P 140.

217. **Wang, N., Gardeur, J.N., Henrotte, E, Marie, M., Kestemont, P., Fontaine, P., 2006.** Determinism of the induction of the reproductive cycle in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*: Identification of environmental cues and permissive factors. *Aquaculture* 261, 706-714.

218. **Wang, N., Teletchea, F., Kestemont, P., Milla, S., Fontaine, P**. Photoyhermal control of the reproductive cycle in temperate fishes, in press.

219. **Watnabe, W.O., Ellis, S.C., Feeley, M.W., 1998.** Progress in controlled maturation and spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus* broodstook. *J. World aquaculture. Soc* 29, 393-403.

220. **Watts, M., Pankhurst, N.W., Pryce, A., Sun, B., 2003.** Vitellogenin isolation, purification and antigenic cross-reactivity in three teleost species. *Comp Bioch. Physiol* B 134, 467–476.

221. **Watts, M., Pankhurst, N.W., King, H.R., 2004.** Maintenance of Atlantic salmon *(Salmo salar)* at elevated temperature inhibits cytochrome P450 aromatase activity in isolated ovarian follicles. *Gen.Comp. Endocrinol.*135, 381-390.

222. **Webb-Brewer, M.A.H., van Eenennam, J .P., Doroshov, S.I., Moberg, G.P., 1999.** Preliminary observations on the effects of holding temperature on reproductive performance of female white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* 176, 315-329.

223. **Weil C., Bougoussa-Houadec M., Gallais C., Itoh S., Sekine S., Valotaire Y., 1995.** Preliminary evidence suggesting variations GtH I and GtH 2 mRNA levels at different stages of gonadal development in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss. Gen. Comp. Endocrinol*. 100, 327-333.

224. **Whitehead, C., Bromage, N. R., Fostier, J.R.M., Matty, A.J., 1978.** Effect of alterations in photoperioid on ovarian development and spawning time in the rainbow trout Salmo gairdneri. *Annales Biologie Animale Biochimie Biophysique* 18, 1035-1043.

225. **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. Endcrinol.* 87, 6-7.

226. **Worthington, A.D., Macfarlane, N.A.A., Easton, KW., 1982.** Controlled reproduction in the roach (*Rutilus rutilus* L.). In: Richter, C.J.J., Goos, H.J.T.h (eds) Proceedings of the international Symposium on Reproductive Physiology of fish, Wageningen, the Netherlands, pp. 220-223.

227. **Yaron, Z., 1995.** Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture* 129, 49-73.

228. **Young, G.E., Crim L.W., Kawaga, H., Kambegawa, A., Nagahama, Y., 1983.** Plasma 17α, 20β-dihdroxy-4-prgnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*O. rhodurus*): correlation with plasma gonadotropin and in vitro production by ovarian follicIles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 51, 96-105.

229. **Zakes, Z., Szczepkowski, M., 2004.** Induction of out-of-season spawning of Pikeperch *Sander lucioperca* (L.) *Aquaculture. Inter.*12, 11-18.

230. **Zakes, Z., 2007.** Out-of-season spawning in cultured pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture. Res* 1419-1427.

231. **Zanuy, S., Carrillo, M., Ruiz, F., 1986.** Delayed gametogenesis and spawning of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) kept under different photoperiod and temperature regimes. *Fish Physiol. Biochem.* 2, 53-63.

232. **Zanuy, S., Prat, F., Carrillo, M., Bromage, N.R., 1995.** Effects of constant photoperiod on spawning and plasma 17ß-estradiol levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour*. 8, 147-152.

233. **Zaugg, W.S., Bodle, J.E., Manning J., Wold, E., 1986.** Smolt transformation and seaward migration in 0-age progeny of adult spring chinook salmon (*Oncorhnchus tschawytscha*) matured early with photoperiod control. Canadian. *J. Fisheries. Aquatic. Scien.* 43, 885-888.

234. **Zohar, Y., Harel, M., Hassin, S., Tandler, A., 1995.** Gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). In: Bromage, N.R., Robert, R.J., (edt) Broodstock management and Egg an Larval Quality, pp. 94-117. Blackwell Science, Oxford.

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

Abdulfatah A., Fontaine P., Kestemont P., Marie M., 2009. Effects of photo-thermal kinetics and photoperiod amplitude decrease on the induction of the reproductive cycle in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture (accepté).

Abdulfatah A., Fontaine P., Kestemont P., Marie M., 2010. Effects of initial temperature variations on the initiation of reproduction cycle in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Fish physiology and biochemistry (*à soumettre au novembre) 2010*).

Azadeh Hatef, Sayyed Mohammad Hadi Alavi, Abdulbaset Abdulfatah, Pascal Fontaine, Otomar Linhart. Anti-androgenic activity of Bisphenol A in male goldfish (*Carassius auratus* L.) after short-term exposure. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C (*soumis en September 2010)*

Abdulfatah A., Fontaine P., Kestemont P., Marie M., 2010. Effects of the level of temperature and the length of photophase on the performance of reproductive cycle and moment of spawning in the female of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture (au cours de rédaction).

Abdulfatah A., Fontaine P., Kestemont P., Marie M., 2010. Temperature increase is the major stimulating factor to induce Eurasian perch spawning. Aquaculture research (*Short communication*)

COMMUNICATIONS INTERNATIONALES

Abdulfatah A., Fontaine P., Marie M., 2007. Effects of photoperiod and temperature kinetics on the induction of the reproductive cycle in Eurasian perch. 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, June 3-8, St-Malo, France.

Abdulfatah A., Fontaine P., Marie M., 2008. Effects of photothermal kinetic, photoperiod amplitude and duration on the rates of out-of-season spawning and egg fertilization in Eurasian perch *Perca fluviatilis.* Percid Fish Culture - From Research to Production, Namur (Belgium) 23 - 24 January.

COMMUNICATIONS NATIONALES

Abdulfatah A., Fontaine P., Marie M., 2007. Effets des cinétiques photopériodiques et thermiques sur l'induction du cycle de reproduction chez la perche commune, *Perca fluviatilis*. 11 janvier, Séminaire RP2E, Nancy.

Fontaine P., Wang N., Abdulfatah A., Gardeur J.N., Marie M., 2007. Contrôle environnemental du cycle de reproduction de la perche commune *Perca fluviatilis*. *1ères Journées de la Recherche Filière Piscicole*, 3-4 Juillet 2007, Paris, France.

Fontaine P., Wang N., Abdulfatah A., Gardeur J.N., Marie M., 2007. Contrôle environnemental du cycle de reproduction de la perche commune *Perca fluviatilis*. Colloque sur l'aquaculture de la perche, 19 octobre 2007, Poisy, France.

INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE
DE LORRAINE

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :
Monsieur Hervé MIGAUD, Senior Lecturer, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland

Monsieur Alexis FOSTIER, Directeur de Recherche, INRA, Rennes

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Monsieur ABDULFATAH Abdulbaset

NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 54501
VANDŒUVRE CEDEX

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, une thèse intitulée :

"Etude du déterminisme environnemental du cycle de reproduction chez la perche commune (*Perca fluviatilis*)"

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : **« Sciences Agronomiques »**

Fait à Vandoeuvre, le 20 octobre 2010
Le Président de l'I.N.P.L.,
F. LAURENT



TEL. 33/03.83.59.59.59
FAX. 33/03.83.59.59.55

Résumé

Etude du déterminisme environnemental du cycle de reproduction chez la perche commune (Perca fluviatilis).

Cette thèse a déterminé les rôles respectifs de la photopériode et de la température lors des différentes et successives étapes du cycle de reproduction (induction du cycle, vernalisation, ponte) chez la perche commune *Perca fluviatilis* femelle. La photopériode est le facteur environnemental principal qui synchronise l'induction du cycle de reproduction chez la perche commune, la température joue uniquement un rôle modulateur. Une baisse importante de la durée de la photophase de 4-8 heures est recommandée. Le maintien d'une photopériode constante basée sur une photophase longue et constante (17L : 7D) inhibe l'induction, alors que le maintien d'une température élevée et constante (22-23°C) ne le permet pas. Pour la phase de vernalisation, une photopériode de type jour court (8L : 16D) est nécessaire. Concernant les effets de la température, une forte et progressive baisse de la température (de 22 à 6°C sur 16 semaines) est recommandée pour assurer un développement gonadique complet (ovocytes aux stades de vitellogenèse avancée en fin de phase d'induction et de la maturation finale avant la période de ponte). Des baisses de température plus modérées (de 22 à 14-18°C) altèrent la reproduction, notamment pendant la phase de vernalisation. L'augmentation finale de la température après la vernalisation est le facteur principal de synchronisation de la ponte. Cette étude a permis la mise au point d'un protocole photo-thermopériodique fiable garantissant des taux d'induction et de ponte très élevés, proches de 100%, chez les femelles.

Mots-clés : Photopériode, température, reproduction hors saison, femelle, perche commune.

Abstract

Study of the environnemental determinism of the reproductive cycle in female Eurasian perch (Perca fluviatilis).

This PhD thesis has determined the respective roles of photoperiod and temperature at the different and successive steps of the reproductive cycle (induction of the cycle, wintering period, spawning) in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Photoperiod is the main environmental factor which synchronizes the onset of the reproduction cycle in Eurasian perch female, temperature plays only a modulating role. A high photoperiod decrease of 4 or 8 hours is recommended. The maintenance of constant photoperiod based on a long photophase (17L: 7D) delays the onset of the reproductive cycle, whereas the maintenance of a warm and constant temperature (22-23°C) does not delay it. For the wintering period, a photoperiod with a short daylight period (8L : 16D) is required. Concerning the effect of temperature variations, a high and progressive temperature decrease (from 22 to 6°C over 16 weeks) is recommended to ensure a complete ovarian development (all oocytes achieved the advanced vitellogenesis stage at the end of the induction phase and and final maturation stage just before spawning). Slight temperature decreases (from 22 to 14-18°C) alter the reproduction, especially during the chilling period (wintering period). The final increase of temperature (up to 14°C) after the wintering period is the main factor for spawning synchronization. This study allowed the development of a reliable photo-thermal protocol for out-of-season spawning with very high rates (close to 100%) of female response and spawning.

Keywords : Photoperiod, temperature, out-of-season spawning, female, Eurasian perch.