ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY

AgroParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY FOR LIFE, FOOD AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

Ecole Doctorale ABIES
Agriculture Agriculture Alimentation Food Biologie Biology Environnement Environment Santé Health

Doctorat ParisTech

T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement

(AgroParisTech)

Spécialité : Sciences de la vie et de la santé

présentée et soutenue publiquement par

Richard LE BOUCHER

le 16 décembre 2011

Génétique de l'utilisation des aliments d'origine végétale chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et le bar européen (*Dicentrarchus labrax*)

Co-directrice de thèse : **Béatrice CHATAIN**
Co-directrice de thèse : **Edwige QUILLET**
Co-encadrement de la thèse : **Mathilde Dupont-Nivet**

Jury

Mme Pascale LE ROY, Directrice de recherches, INRA	Rapporteur
M. Johan VERRETH, Senior Scientist, Université de Wageningen	Rapporteur
M. Thierry BOUJARD, Directeur de recherches, INRA	Examinateur
Mme Béatrice CHATAIN, Chercheur, Ifremer	Examinateur
M. Hervé CHAVANNE, Coordonnateur de projet, NOFIMA	Examinateur
Mme Edwige QUILLET, Directrice de recherches, INRA	Examinateur
M. Etienne VERRIER, Professeur, AgroParisTech	Examinateur

Glossaire 5
Remerciements 7
1 Introduction 11
1-1) Des aquacultures dans le monde 14
1-2) Des aquacultures en Europe 15
1-3) Des aquacultures en France 16
Chapitre 2. 19
Les produits d'origine végétale dans l'alimentation pour poisson 19
2-1) L'aliment des poissons carnivores d'hier à aujourd'hui 20
2-1-1) Une évolution vers des aliments hautement énergétiques 21
2-1-2) La transition vers les produits d'origine végétale 22
2-1-3) Des liens étroits avec la pêche 24
2-2) Le rôle des lipides dans l'organisme et particularités des huiles végétales 26
2-2-1) Le métabolisme lipidique 28
Les besoins 28
Le transport 30
La synthèse endogène et la bioconversion des acides gras 31
Le stockage 33
2-2-2) Les caractéristiques essentielles des huiles végétales 33
2-2-3) Les impacts de la substitution 34
Sur l'ingestion des poissons 34
Sur la croissance 35
Sur la composition de la chair 38
Sur le métabolisme lipidique 38
Sur la santé 39
2-3) Le rôle des protéines dans l'organisme et particularités des farines végétales 40
2-3-1) Le métabolisme protéique 40
Les besoins 40
Origine et utilisation des protéines 40
2-3-2) Les caractéristiques essentielles des farines végétales 41
Les glucides 41
Les facteurs antinutritionnels 42
2-3-3) L'impact de la substitution 43
Sur l'ingestion des poissons 43
Sur la croissance 43
Sur la composition de la chair 44

Sur le métabolisme lipidique 44
Sur la santé 44
2-4) Les autres particularités de l'aliment végétal 45
2-4-1) Les polluants 45
2-4-2) Les minéraux et vitamines 46
2-4-3) Les plantes OGM (organismes génétiquement modifiés) 46
Chapitre 3. 47
Les principes de l'amélioration génétique et leur application en pisciculture 47
3-1) Les objectifs de sélection en pisciculture 49
3-1-1) Les caractères d'intérêt 49
Le sex-ratio, l'âge à la maturation sexuelle et la reproduction 49
La croissance 50
La résistance aux maladies 52
La qualité de la chair et des carcasses 53
L'efficacité alimentaire 53
3-1-2) Les objectifs et programmes de sélection chez la truite et le bar 54
3-2) Les particularités de l'estimation de l'héritabilité en pisciculture 55
3-2-1) L'héritabilité des caractères quantitatifs 55
Les caractères quantitatifs 55
L'héritabilité 56
3-2-2) L'estimation de l'héritabilité par l'étude de la covariance entre apparentés 57
La précision et la répétabilité de la mesure 57
La structure du plan de croisement 58
Les effets d'environnement communs 58
3-3) Les méthodes de sélection en pisciculture 59
3-3-1) La population de base 59
3-3-2) Les méthodes de sélection 61
La sélection individuelle (ou sélection massale) 61
La sélection fondée sur l'information familiale 62
L'utilisation des marqueurs génétiques en sélection 63
3-3) Les interactions génotype-environnement (IGE) 64
3-3-1) La problématique 64
3-3-2) L'estimation 66
3-3-3) Les IGE chez les poissons ? 67
3-3-4) Le cas particulier des interactions génotype-aliment 69
Contexte et objectifs de l'étude 73

Chapitre 4. 80
L'estimation des paramètres génétiques dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale. 80
4-1) Chez le bar européen, en fin de croissance 81
Eléments de discussion 94
Principaux résultats 94
Un faible effet aliment sur les performances zootechniques tardives 94
Une variabilité génétique lorsque des bars sont nourris avec PB 95
Des interactions génotype-environnement 95
Un dispositif peu puissant 97
4-2) Chez le bar, dès les stades précoces 99
Elements de discussion 130
Principaux résultats 130
Effet de l'aliment PB : fort sur le taux de survie mais faible sur le taux de croissance 130
L'IGA affecte les vitesses de croissance plus que le poids 131
Une stratégie de sélection conservative face à l'évolution de l'aliment 132
4-3) Chez la truite, dès la première alimentation 133
Eléments de discussion 144
Principaux résultats 144
Un effet modéré de l'aliment 144
Des héritabilités plus élevées dans le lot PB 145
Les paramètres génétiques des caractères liés à la qualité du filet 146
Une IGA modérée qui tend à diminuer dans le temps 147
Chapitre 5. 149
La sélection pour l'aptitude survivre et grandir en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale 149
5-1) Mesure de la réponse à la sélection chez la truite arc-en-ciel 150
Eléments de discussion 174
Principaux résultats 174
La sélection confirme les résultats obtenus sur l'IGA 174
Les phases précoces au cœur de l'effet phénotypique et du gain génétique 175
5-2) Etude des réponses corrélées à la sélection chez la truite arc-en-ciel : conséquences sur l'utilisation de l'aliment 177
Eléments de discussion 202
Principaux résultats 202
Des résultats confus sur l'IGA pour l'efficacité alimentaire 202
Un incident sanitaire qui complique l'interprétation 203

5-3) Etude préliminaire à la sélection chez le bar européen : Liens entre croissance et utilisation de l'aliment 205
Eléments de discussion 226
Principaux résultats 226
Une croissance et un ingéré altérés 227
Chapitre 6. 230
Discussion générale 230
6-1) Principaux résultats 231
Un effet aliment contrasté selon l'espèce 231
L'héritabilité des caractères 233
L'interaction génotype-aliment 234
6-2) Les contraintes du dispositif 235
Le choix de la substitution totale 235
Interactions sociales et cannibalisme 236
Les limites statistiques 238
L'importance des phases précoces 239
Des estimations en conditions de production 241
6-3) Adapter les schémas de sélection aux transitions alimentaires 242
Quel point de départ ? 244
Scénario 1. Une sélection s'appuyant sur l'environnement alimentaire de production 245
Scénario 2. Une sélection utilisant l'aliment commercial 245
Scénario 3. Une sélection utilisant un aliment tout végétal 246
Scénario 4. On identifie les points de blocage des aliments PB et on en fait un critère de sélection. 246
Des enseignements pour la sélection génétique en aquaculture 247
Références 249
Formations suivies 281
Valorisations 282
Résumé 286

Glossaire

AA	:	acide aminé
AAI	:	acide aminé indispensable
AANI	:	acide aminé non indispensable
ACV	:	analyse de cycle de vie
ADC	:	apparent digestibility coefficicent
ADN	:	acide désoxyribonucléique
AFSSA:		Agence Française de sécurité sanitaire des aliments
AGI	:	acide gras insaturé
AGPI	:	acide gras poly-insaturé
AGPI-LC :		acide gras poly-insaturé longue chaine
AGPI-LC n-3:		acide gras poly-insaturé longue chaine de la série n-3
AGPI-LC n-6:		acide gras poly-insaturé longue chaine de la série n-6
AGS	:	acide gras mono-saturé
ANC	:	apports nutritionnels conseillés
BKD	:	bacterial kidney disease
BLUP	:	best linear unbiaised prediction
BPC	:	biphényle polychloré
BW	:	body weight
DGC	:	daily growth rate
DHA	:	acide docosahexaénoïque (22:6n-3)
Dpf	:	days post fertilization
EA	:	efficacité alimentaire (= FE : feed efficiency)
EATIP :		European aquaculture technology and innovation platform
EBV	:	estimated breeding value
EDPB	:	ether diphényle polybromé
EPA	:	acide eicosapentaénoïque (20:5n-3)
FAO	:	Food and Agriculture Organization
FCR	:	feed conversion rate
FE	:	feed efficiency (= EA : efficacité alimentaire)
FIFO	:	fish-in-fish-out (= FI/FO)
FL	:	fork length
FM	:	fish meal

FMr	:	fish meal replacement
FO	:	fish oil
FOr	:	fish oil replacement
GIFT	:	genetically improved farmed tilapia
h^2	:	héritabilité
HDL	:	high density lipoprotein
IGA	:	interaction génotype aliment
IGE	:	interaction génotype environnement
NHI	:	Nécrose hématopoïétique infectieuse
NPI	:	Nécrose pancréatique infectieuse
K	:	coefficient de condition de Fulton
LDL	:	low density lipoprotein
M	:	marine - aliment compose de produits d'origine marine
MS	:	matière sèche
NH_3	:	ammoniaque
OGM	:	organisme génétiquement modifié
PEIMA	:	pisciculture expérimentale de monts d'Arrée
PB	:	plant-based - aliment compose de produits d'origine végétale
PBB	:	polybromodiphényle
POP	:	polluant organique persistant
PROSPER	:	procédure optimisée de sélection individuelle par épreuves répétées
Rg	:	correlation génétique
SGR	:	specific growth rate
SHV	:	septicémie hémorragique virale
SL	:	standard length
SYSAAF	:	Syndicat des sélectionneurs avicoles et aquacoles français
TAC	:	total admissible de capture
TGC	:	thermal growth rate
VLDL	:	very low density lipoprotein
VM	:	vegetable meal
VO	:	vegetable oil

Remerciements

En premier lieu, je souhaite remercier les organismes financeurs qui ont permis la réalisation de ces travaux, à savoir l'INRA et l'Ifremer par l'intermédiaire du GDR et le fond unique interministériel (FUI) grâce auquel le projet VEGEAQUA a pu voir le jour. Le montage de tels projets est complexe et je remercie dans le même temps les différents partenaires qui sont intervenus lors de l'élaboration et la réalisation du projet VEGEAQUA.

Mes premières pensées vont à Mathilde Dupont-Nivet qui a su être, pour moi, une encadrante idéale. En m'aiguillant sans me contraindre, elle m'a appris tout ce que la recherche nécessite de rigueur, d'esprit d'entreprise et de volonté. Sans le plaisir d'échanger en toute décontraction avec elle, ces trois années n'apparaitraient pas, aujourd'hui, comme une heureuse et trop brève aventure.

Mathilde est aussi un membre essentiel d'un quintette talentueux de chercheurs avec qui j'ai eu la chance de travailler. Lorsque ceux-ci m'ont accueilli en thèse, j'ignorais qu'ils le feraient avec cette tendre rigueur et cet enthousiasme de « bande ». J'ai énormément appris auprès d'Edwige Quillet, Béatrice Chatain, Françoise Médale et Marc Vandeputte et je suis extrêmement honoré d'avoir pu être leur élève. Si les mots peuvent manquer pour leur exprimer ma reconnaissance, je souhaite sincèrement être à la hauteur de leurs enseignements et avoir la chance de les transmettre avec la même ferveur et les mêmes attentions.

Travailler au sein de plusieurs équipes de recherche n'a rendu cette aventure que plus humainement riche et je suis autant reconnaissant qu'admiratif envers les personnes qui gravitent dans les équipes INRA GABI Genaqua de Jouy-en-Josas, Ifremer Palavas-les-Flots, INRA Numea Saint Pée-sur-Nivelle et INRA PEIMA Sizun. Avec des nuances variées, elles épousent toute la passion de chercher mieux pour en savoir plus, et elles composent chacune l'étudiant que j'ai été. Un grand merci à Nicolas Dechamp, Alain Vergnet, Lionel Goardon, Laurent Labbé, Thierry Kerneïs, Jean Michel Lecalvez, Vincent Gayet, Jonathan Heurteaux, Lise-Anna Leven, Matthieu Gaumé, François Guyvarch, Béatrice Saout, Francine Krieg, Caroline Hervet, Bernard Chevassus-au-Louis, Eloi Verrier, Carine Genet, Patricia Houdoux, Martine Andriamanga, René Guyaumard, Céline Ciobotaru, Aurélie Charlet, Mekki Boussaha, Matthieu Besson, François Ruel, Denis Covès, Emmanuel Rezzouk, Benoist de Vogüé, Benoit Rollin, Christian Fauvel, Vivianne Boulo, Stéphane Lallement, Marie-Odile Vidal, Monique Alliau, Marie-Claire Helleringer, Cédric Vilard, Cyril Przypyla.

Une chose est sûre, avec vous, j'ai souvent du forcer ma nature pour ne pas (trop) verser dans la camaraderie afin de rester concentré et c'est finalement une frustration toute relative…

J'ai également une pensée sincèrement amicale pour les chercheurs de Saint Pée-sur-Nivelle, Inge Geurden et Sadasivam Kaushik ainsi que pour les techniciennes qui m'ont appris en un temps record les techniques d'analyse indispensables à ces travaux. Merci à Laurence et Marie Jo.

Paul et Solenn, vous m'avez beaucoup apporté (probablement plus que je ne l'ai fait) et vos stages ont été essentiels à la fois à la réalisation de ces travaux, à mon appréhension du sujet et à mon apprentissage.

J'oublie certainement des personnes et je m'en excuse par avance mais je sais que j'aurai l'occasion de les remercier de vive voix car je ne pars pas très loin…

Emilie, merci pour l'équilibre, il n'a pas de prix, et pourtant je te dois beaucoup. Sans toi, je crois pas…

Mes parents, Marc et Marthe, ont fait la plus belle chose qui soit, ils m'ont donné l'envie d'avoir des rêves et les moyens de les réaliser. Je vous remercie très fort, de même qu'Edouard et William, mes frères.

La fin de cette thèse est, à l'évidence pur moi, une douce finalité et un réel commencement. Merci à tous.

Avec une grande tendresse, à ma maman,

1 Introduction

Entre 2002 et 2006, alors que la Terre accueillait 300 millions d'êtres humains supplémentaires, la consommation humaine des produits issus de la pêche et de l'aquaculture passait de 100,7 à 110,4 millions de tonnes (FAO, 2008). Dans l'histoire de l'humanité, il s'agit d'une époque charnière qui voit un basculement global dans le mode d'exploitation des milieux aquatiques. Cette hausse de la consommation a, en effet, été entièrement couverte par une activité récente à l'échelle des productions animales : l'aquaculture. Dès lors, l'être humain moyen dispose d'une majorité de produits issus de la culture des environnements aquatiques et voit s'éloigner encore un peu plus le temps de la cueillette au chalut. Si la part des produits issus de l'aquaculture a rapidement augmenté, c'est en raison de deux mutations synchrones. D'une part, la croissance démographique, l'amélioration globale du niveau de vie (la Chine est, par exemple, passée de 60 % à 16 % de personnes pauvres en 20 ans (Parmentier, 2007)) et l'évolution profonde des comportements alimentaires ont mené naturellement à une hausse de la consommation des produits aquatiques. D'autre part, l'évaluation des stocks naturels exploités par les pêcheries et le constat que certains étaient en danger ont rappelé, ces dernières années, que les milieux aquatiques étaient vastes mais limités. En réponse à ces mutations, les taux de croissance annuels du secteur aquacole ont affiché des records (8-10 % par an au niveau mondial) dans les années 1990 et 2000, conférant à ses acteurs les responsabilités conjointes d'absorber la hausse des besoins pour la consommation humaine envisagée par la FAO (+ 1,3 millions de tonnes supplémentaires par an, FAO, 2008) et de gérer durablement les zones de production.

Les farines et les huiles de poisson produites à partir de petites espèces pélagiques ont, rapidement été adoptées pour la formulation des aliments piscicoles, en particulier pour les espèces carnivores. Cependant, l'exploitation de ces stocks sauvages s'est, à son tour, dangereusement rapprochée de la limite de durabilité et la quête de produits alternatifs pour l'alimentation des poissons est devenue un enjeu majeur dans les années 1990. L'incorporation dans ces derniers de farines et d'huiles végétales disponibles en grande quantité a fait l'objet de nombreuses recherches en nutrition. Si bien que les produits composant aujourd'hui les aliments piscicoles diffèrent grandement des régimes alimentaires des poissons sauvages (80 % de produits d'origine végétale, Anonyme, 2010). Ce bouleversement s'est, dans l'ensemble, opéré sans altération de la croissance et de la qualité des produits pour des taux de substitution inférieurs à 80 %. Cependant, il s'accompagne fréquemment d'une diminution de la quantité d'acides gras poly-insaturés longue chaine de la série n-3 dont les produits aquatiques sont les premiers pourvoyeurs en alimentation humaine.

De plus, de forts impacts sur la croissance, la qualité et la santé sont observés pour des taux de substitution plus élevés (>80 %).

De façon concomitante à cette évolution brutale de l'environnement alimentaire, une autre révolution technique a touché l'élevage piscicole. Les programmes de sélection se sont multipliés et visent aujourd'hui à l'amélioration génétique des poissons, en particulier carnivores. A partir des travaux de recherche menés dans les années 1980, des gains importants ont été possibles chez le saumon atlantique (*Salmo salar*), la truite arc-en-ciel (*Onchorhynchus mykiss*) et le bar européen (*Dicentrarchus labrax*) notamment. Les critères de croissance, de santé puis de qualité ont été incorporés aux programmes de sélection et, depuis peu, la prise en compte de l'environnement d'élevage. C'est dans ce contexte qu'intervient le questionnement de cette étude avec pour hypothèse de base que ces deux bouleversements interagissent entre eux et qu'une adéquation entre les perspectives d'amélioration en nutrition et en génétique serait favorable.

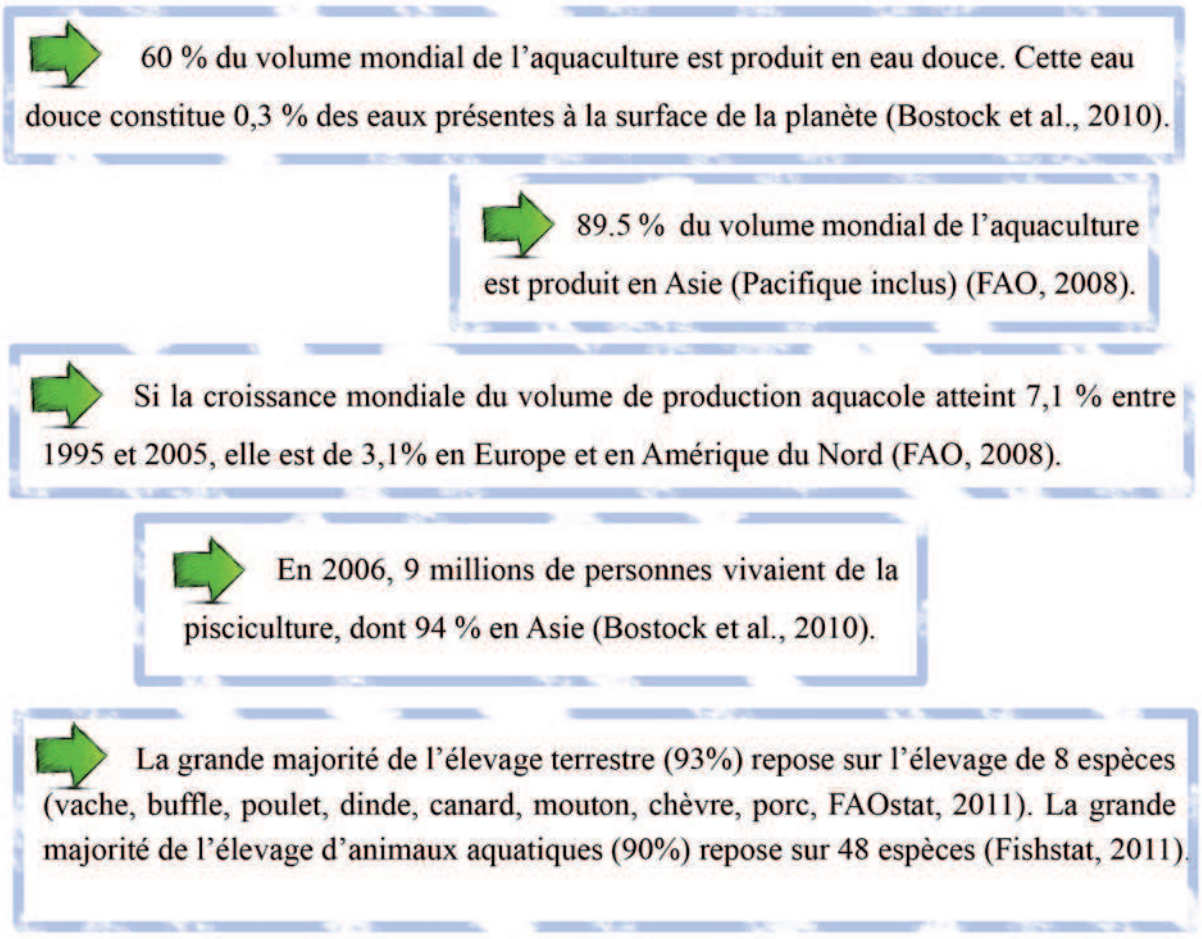
Après un avant-propos portant sur les productions aquacoles et les enjeux auxquels elles sont confrontées, nous détaillerons tout d'abord le contexte et les spécificités de l'utilisation de produits d'origine végétale dans l'aliment pour poisson. Nous apporterons ensuite un éclairage particulier sur les méthodes de sélection génétique utilisées en pisciculture en insistant sur l'estimation des paramètres génétiques et le cas particulier des interactions génotype-environnement.

Après avoir introduit ces notions, nous présenterons et commenterons six travaux de recherche répartis dans deux axes. L'un traitera de l'estimation de l'interaction génotype-aliment chez le bar européen et la truite arc-en-ciel en opposant un aliment d'origine marine (M) et un aliment entièrement d'origine végétale (PB). L'autre détaillera la réalisation (truite) ou la préparation (bar) d'une sélection pour l'aptitude à grandir et à survivre en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale en s'attardant particulièrement sur l'utilisation de cet aliment et des ces nutriments (protéines, lipides, acides gras, énergie).

Enfin, nous proposerons une discussion générale mettant en relief les conclusions de cette étude dans le contexte actuel.

1-1) Des aquacultures dans le monde

La production aquacole a connu, à l'échelle mondiale, une croissance record en comparaison des autres secteurs de production animale (+ 6,1 % / an en volume et + 11,0 % / an en valeur entre 2004 et 2006, FAO, 2008). Mais, considérer l'aquaculture comme un unique secteur de production, autant d'un point de vue agronomique que sémantique est en soi, une source dangereuse de raccourcis et d'amalgames. Il existe un grand nombre d'environnements, d'itinéraires techniques, d'espèces, de niveaux trophiques et de positionnements économiques. Au mieux, pourrait-on la comparer à l'ensemble de la production végétale tant ces distinctions en font une mosaïque complexe. Afin de dresser un rapide tableau de cette diversité et de son impact, on peut citer les chiffres clés suivants:



1-2) Des aquacultures en Europe

La production aquacole européenne représente 4,5 % de la production mondiale (en volume, FAO, 2008) et est dominée par la salmoniculture norvégienne (36 % du volume, FAO, Fishstat, 2011). En 2008, quatre autres espèces dépassaient les 100 000 t : la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*, 294 000 t), l'huître creuse (*Crassostrea gigas*, 125 000 t), la moule (*Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus edulis*, 453 500 t) et la carpe commune (*Cyprinus carpio*, 144 700 t) (FAO, Fishstat, 2011). Le bar européen (*Dicentrarchus labrax*), produit essentiellement dans le bassin méditerranéen se trouvait alors à la 8ème place avec 60 495 t.

Le choix de ces espèces d'élevage est fortement dicté par la demande des consommateurs européens (20,8 kg/habitant, FAO, 2008), les conditions environnementales et les habitudes alimentaires. L'Union Européenne est le premier importateur mondial de produits de la mer (26 milliards € en 2005) et affiche, en la matière, un déficit commercial de 11 milliards € (Ifremer, 2008b) et un taux d'auto-approvisionnement de 40 % (Guillou et Fischer, 2011). Les nombreux échanges en font un secteur dynamique puisque 84 % des exportations européennes sont destinées à d'autres pays de l'union. Le marché des poissons d'aquaculture souffre particulièrement d'une importante volatilité des prix (Ernst and Young, 2009) au sein même de l'union et a connu des crises majeures ces dernières années. Cette volatilité serait liée à la diversité des produits, à la complexité du secteur et au manque de continuité dans les outils de surveillance (Ernst and Young, 2009). La faible régulation économique internationale et la forte concurrence ont favorisé des épisodes de dumping sur les poissons marins (par exemple, plainte contre la Grèce en 2003; European ombudsman, 2006). Certains épisodes de croissance incontrôlée ont également fragilisé le secteur en induisant une surproduction annuelle de bar et daurade pouvant atteindre 40 % en 2010 (Mutter, 2010). Un des objectifs de la politique européenne en matière d'aquaculture est de maintenir un cadre réglementaire strict pour l'importation ainsi que pour la production dans les 13 139 petites et moyennes entreprises du secteur (Bostock et al, 2010).

Les espèces privilégiées sur le marché européen sont donc essentiellement des carnivores (salmonidés, poissons marins) et la communauté européenne a fait de ce constat un moteur pour la recherche de technologies de pointe dans les domaines de la zootechnie, de la nutrition et de l'amélioration génétique. Ainsi, l'Europe investit fortement dans des projets de

recherche internationaux tels que *Competus*, *Aquamax*, *EATIP*, *Aquaexcel*[1] en ciblant les espèces produites.

1-3) Des aquacultures en France

La conchyliculture est la plus ancienne et la plus importante production aquacole française, elle a débuté en 1850 et atteint aujourd'hui 109 000 t (CNC, 2011). Si le secteur est confronté à certaines difficultés (captage insuffisant, épisodes répétés de mortalités, limite d'expansion et fragilité sociale), il reste le leader de la production métropolitaine. Dans les départements et régions d'Outre-mer, plusieurs structures de production à petite échelle existent sur l'huître perlière en Polynésie, la crevette en Nouvelle-Calédonie et les poissons tropicaux dans les Antilles et l'océan Indien.

La pisciculture française produit aujourd'hui 50 420 t pour une valeur de 180 millions d'euros (FranceAgriMer, 2010). Trois types d'environnements sont exploités : les bassins artificiels d'eau douce (truite arc-en-ciel), les étangs (brochet (*Esox lucius*), carpe (*Cyprinus carpio*), gardon (*Rutilus rutilus*)) et les cages en mer (bar, daurade (*Sparus aurata*), maigre (*Argyrosomus regius*), saumon (*Salmo salar*) et turbot (*Psetta maxima*)). Les produits majoritaires sont la truite (36 000 t), la carpe (6 000 t), le bar (4 800 t), le saumon (1 800 t) et la daurade (1 400 t).

En 10 ans, la consommation de produits aquatiques en France est passée de 25 à 35 kg/an et par habitant et cette hausse a été principalement comblée par la hausse des importations (Guillou et Fischer, 2011). Sur ces 35 kg de produits aquatiques consommés par an, 9 proviennent de l'élevage de poissons (FranceAgriMer, 2010) (**Figure 1**).

---

[1] ***Competus*** **est un projet européen lancé en 2005 travaillant à l'amélioration génétique du bar européen.** ***Aquamax*** **est un projet européen lancé en 2006 travaillant à la production durable d'aliments dans le but de maximiser les bienfaits de la consommation de poissons d'élevage pour la santé humaine. L'*EATIP* est une plate-forme européenne de technologie et d'innovation en aquaculture.** ***Aquaexcel*** **est un projet européen « Infrastructures » coordonné par l'INRA, qui mettra, dès 2011, en réseau les meilleures installations européennes de recherche aquacole (17 partenaires, 11 pays).**

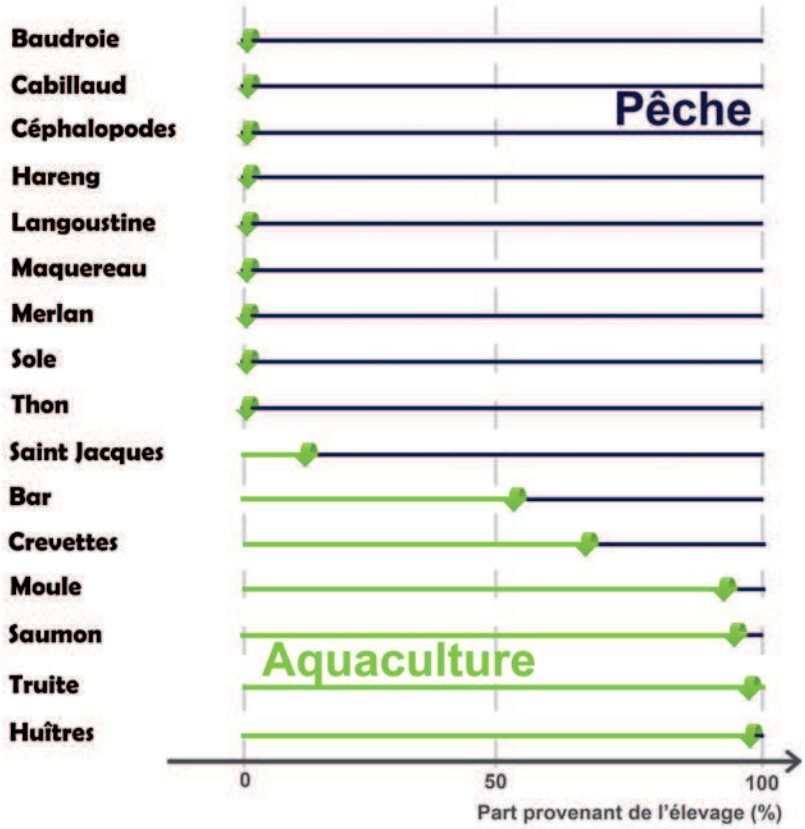


Figure 1. Proportion (en % du volume) d'animaux provenant de l'élevage pour 21 produits représentatifs de la consommation française de produits aquatiques (FranceAgriMer, 2010)

Le secteur génère 2 500 emplois directs et 4 fois plus d'emplois indirects (Commission Filière poisson, 2007). Le développement des systèmes de culture intensifs mono-spécifiques à terre ou sur le littoral, est confronté à des conflits d'usage majeurs pour l'accès à l'eau et aux espaces côtiers. Sur terre, cette réticence du grand public s'est traduite politiquement par une restriction des accès aux sites de production (aucune création de sites dans les 10 dernières années). La conséquence en truiticulture, est une diminution de la production depuis 2000 et un rassemblement des sites de production sous l'égide de grands groupes (3 principaux producteurs en France). Les exigences amenées par la réforme de la directive cadre sur l'eau[2] ainsi que les contraintes locales liées au retraitement des rejets, ont réduit le

[2] Directive Cadre sur l'Eau (DCE) a établi en 2000 un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau et a pour objectifs le « bon état » des eaux en 2015, la réduction progressive des rejets, des émissions et des pertes des substances prioritaires et la suppression des rejets des substances prioritaires dangereuses en 2021 (http://www.developpement-durable.gouv.fr/Directive-cadre-EAU.html).

développement de l'élevage de truites sans permettre son évolution (Tanguy, 2008). Dans le cas de l'élevage de bar, les sites côtiers sont peu nombreux (trois en Méditerranée et un dans le Nord). Aujourd'hui, les systèmes d'élevage utilisant la recirculation de l'eau permettant de contrôler finement la consommation d'eau, les rejets et les conditions de production (Roque d'Orbcastel et al., 2009) ouvrent des perspectives nouvelles de développement.

Pour conclure, l'aquaculture est donc une production animale jeune et diversifiée. La forte croissance à l'échelle mondiale puise son dynamisme chez les pays asiatiques et la production européenne fait encore face à un contexte contraignant. Les avancées scientifiques et technologiques font cependant de l'Europe un bassin innovant et dynamique dans lequel les innovations dans les domaines de la nutrition et de la génétique ont, en particulier, été nombreuses.

Chapitre 2.

Les produits d'origine végétale dans l'alimentation pour poisson

2-1) L'aliment des poissons carnivores d'hier à aujourd'hui

« *Pendant des années, les producteurs de poissons pensaient que la truite ne pourrait pas être élevée sans l'inclusion de viande crue dans l'aliment* » (Hastings et Dickie, 1972)

A la fin des années 1960, l'utilisation d'aliments composés, plus faciles à utiliser que les premiers aliments frais, s'est généralisée dans l'élevage des salmonidés puis des poissons marins (Guillaume et al., 1999). La formulation de ce type d'aliments est fondée sur l'identification des besoins nutritionnels de l'espèce. Or, la connaissance de ces besoins s'est améliorée progressivement à cette période, d'abord grâce à l'étude du régime alimentaire dans le milieu naturel. Puis l'analyse de la composition corporelle et les expérimentations de nutrition ont affiné ces connaissances. Ces dernières ont, en particulier, permis de mettre en évidence des risques de carences mais aussi des facteurs limitants comme la digestibilité des nutriments, la présence de facteurs antinutritionnels ou encore des déficits d'appétence (2-4). La formulation doit également tenir compte des conditions d'élevage (environnement, température, conditions de nourrissage), des rejets, du comportement alimentaire de l'espèce, de la qualité du produit fini et des interactions existant entre ces nombreux paramètres. Enfin, la formulation est une étape exigeante, tant en raison de la disponibilité des matières premières utilisées que des technologies de fabrication. Ces deux facteurs façonnent le coût de production et le prix de l'aliment. En élevage piscicole, l'alimentation peut représenter 60 % du coût de production (Kaushik, 2009) contre 75 % chez le porc (Rieu, 2008) et 70 % chez le poulet (De Verdal, communication personnelle). C'est pourquoi le meilleur aliment aquacole peut être défini comme « *celui qui assure le profit le plus élevé à un ensemble de personnes ou d'entreprise concernées, comprenant les fabricants, les éleveurs, les transformateurs, ainsi que la communauté chargée de la préservation du milieu* » (Guillaume et al., 1999). La formulation des aliments a beaucoup évolué ces 50 dernières années en fonction de la disponibilité et du coût des matières premières, des avancées technologiques, des progrès des connaissances en nutrition, des exigences des éleveurs et de la demande des consommateurs en produits finaux. Nous détaillons ici les étapes importantes qui ont mené au développement des aliments d'origine végétale.

2-1-1) Une évolution vers des aliments hautement énergétiques

Tout organisme vivant a besoin d'énergie pour assurer le maintien de ses fonctions vitales et le renouvellement de ses tissus. Contrairement aux mammifères et aux oiseaux qui puisent l'essentiel de leur énergie dans le catabolisme du glucose, les poissons utilisent préférentiellement les protéines et les lipides, en particulier les poissons carnivores. Les farines et les huiles issues de la transformation des pêches minotières ont alors été grandement utilisées en raison de leur disponibilité et de leur richesse en acides gras essentiels (AGE) et en acides aminés indispensables (AAI). Les besoins protéiques élevés de ces espèces (38-40 % de la matière sèche (MS) chez la truite arc-en-ciel, 45-50 % MS chez le bar européen, NRC, 2011) ont nécessité un apport important en protéines dans les premiers aliments composés. Dans les années 1970, la volonté de diminuer, à la fois, les rejets azotés et la dépendance envers des matières premières comme la farine de poisson a orienté les efforts de recherche vers la recherche d'une plus grande épargne protéique (Lee et Putman, 1973; Johnsen et al., 1993; Arzel et al., 1994; Hemre and Sandness, 1999; Santinha et al., 1999; Médale et Kaushik, 2009). Entre 1970 et 1999, le taux protéique des aliments d'élevage a ainsi diminué. Dans le même temps, la part d'énergie digestible non protéique a augmenté (**Tableau 1**) via l'utilisation de lipides hautement caloriques (Corraze et Kaushik, 2009). L'introduction massive de lipides dans l'aliment a eu pour conséquence une augmentation des dépôts lipidiques corporels, y compris dans la chair (Watanabe, 1982; Greene et Selivonchick, 1987; Arzel et al.1994; Corraze, 1999).

Tableau 1. Composition (%) d'aliments pour truite arc-en-ciel adulte utilisés en production depuis le développement des aliments composés. (n.d. non disponible) ([1] Hastings et Dickie, 1972; [2] Ghittino, 1972; [3] Guillaume et al., 1999)

	1963[1]	1972[2]	1999[3]	2006	2010
Protéines (%)	40,0	43,0	38,0	39,0	39
Lipides (%)	n.d.	8,0	15,0	27,0	27
Eau (%)	n.d.	9,0	n.d.	n.d.	n.d.
Energie (KJ/g)	14,7	n.d.	17,2	21,1	22,8

L'incorporation de composants alternatifs (**Tableau 2**) comme les coproduits d'abattoir (farine de plume, de viande, d'os, de sang), de l'industrie laitière (bactéries, lactosérum) ou de brasserie (drèches de brasserie, malt) (Médale et Kaushik, 2009) a également augmenté. Cependant, après les crises sanitaires touchant l'élevage bovin en Europe dans les années

1990, l'utilisation de protéines animales terrestres a été interdite y compris dans les aliments aquacoles en 2000 (Arrêtés du 14 novembre 2000, Légifrance, 2000; la levée de l'interdiction est aujourd'hui évoquée).

Tableau 2. Evolution des ingrédients entrant dans la composition (%) d'aliments pour truite arc-en-ciel adulte utilisés en production. (* Extrait soluble de poissons condensés; 1 Hastings et Dickie, 1972; 2 Guillaume et al. 1999)

1940[1]	1963[1]	1970[1]	1999[2]
Poudre de lait (24)	Farine de poisson (38)	Farine de hareng (35)	Farine de poisson (30)
Farine de poisson (24)	Farine de blé (22)	Farine de blé (7)	Gluten de maïs (17)
Farine de coton (24)	Farine de coton (15)	Huile alimentaire (6)	Germes de blé (16)
Farine de blé (24)	Levure de bière (10)	Poudre de lait (5)	Tourteau de soja (13)
Sel (4)	Poudre de lait (5,5)	Gluten de maïs (5)	Huile de poisson (11)
	Farine d'os (5)	E.S.P.C.* (5)	Lactosérum (10)
	Huile (3)	Farine de foie (5)	Mélange vitaminique (1)
	Vitamines (1)	Farine de soja delipidisé (5)	Mélange minéral (1)
		Levure de bière (4)	
		Premix vitamines (4)	
		Farine de sang (2)	
		Farine de kelp (2)	

Ces exemples ont été sélectionnés dans des ouvrages de nutrition ayant servis de références de formulation dans les années qui ont suivies.

2-1-2) La transition vers les produits d'origine végétale

La forte croissance de l'aquaculture entre 1990 et 2000 s'est accompagnée d'une augmentation de la demande d'aliments composés. Dans le même temps, le volume de pêche minotière est resté stable autour de 21-23 millions de t fournissant environ 6 millions de t de farine et 1 million de t d'huile de poisson. La pression exercée sur ce volume disponible a donc augmenté. Ainsi, en 2003, la fabrication des aliments aquacoles utilisait respectivement 58,2 % et 88,5 % de la production mondiale de farine et d'huile de poisson (Tacon et Metian., 2008). Les mises en garde se multiplient signalant que la production issue de la pêche minotière ne fournira probablement pas suffisamment de matières premières pour accompagner la croissance de l'aquaculture. Les prévisions estiment alors qu'en l'absence de réaction du secteur, l'utilisation maximale serait atteinte en 2010 (New and Wijkström, 2002; Kaushik, 2004) pour l'huile et en 2020 (New and Wijkstroem, 2002) pour la farine de poisson. Dès 1995, les prix augmentent (Montero et al., 2003) et les travaux visant à s'affranchir partiellement de cette dépendance en incluant des huiles issues de produits végétaux terrestres se multiplient (Kaushik et al., 1995; Regost et al., 2003; Bell et Waagbo, 2008). La prise de conscience collective de la limitation de la ressource et l'augmentation du

prix des farines de poisson encouragent cette tendance tandis que les mesures de gestion des stocks assurent le maintien de la ressource (Shepherd et al., 2005; Tacon et Metian, 2008).

Entre 1997 et 2005, la proportion d'huile de poisson dans l'aliment des poissons marins a été divisée par deux (de 15 % à 7 %) et la proportion de farine de poissons est passée de 50 % à 30 % (Naylor et al., 2009). De nos jours, les aliments commerciaux utilisés pour nourrir les bars européens peuvent contenir jusqu'à 80 % de farines et d'huiles végétales. De nombreux travaux ont accompagné cette transition pour assurer un impact minimum sur la croissance, la santé et la qualité des poissons (voir 2-2-1 et 2-2-2).

Tableau 3. Evolution de la production mondiale (milliers de tonnes) de l'huile de poisson et des huiles végétales utilisées en aquaculture entre 1980 et 2006 (d'après Turchini et al., 2009).

Huiles (x 103t)	1980	1985	1990	1995	2000	2006
Poisson	1 217	1 481	1 412	1 379	1 307	988
Palme	4 543	6 832	11 020	20 332	25 594	36 733
Soja	13 382	13 974	16 097	15 119	21 743	35 187
Colza	3 478	6 066	8 160	10 936	14 496	18 340
Tournesol	5 024	6 564	7 869	7 003	9 808	11 094
Coton	2 992	3 942	3 782	3 312	3 815	4 917
Noix de coco	2 716	2 627	3 387	3 253	3 147	3 166
Olive	1 701	1 796	1 855	1 863	2 513	2 746
Maïs	-	-	-	1 855	1 966	2 252
Sésame	-	-	-	589	705	871
Lin	-	-	-	701	705	710

Si les tonnages mondiaux de farines (soja, blé, maïs) et d'huiles (soja, lin, palme) d'origine végétale offrent un potentiel d'approvisionnement intéressant (**Tableau 3**), la demande est forte et les cours sont variables. Notons qu'il peut en être de même pour les prix de l'huile et de la farine de poisson. Après une hausse spectaculaire, ces derniers ont par exemple perdu 45 % de leur valeur entre mars et mai 2011, (Mittaine, 2011), redevenant attractifs pour les provendiers.

2-1-3) Des liens étroits avec la pêche

Si l'aquaculture et la pêche se partagent l'approvisionnement en produits aquatiques pour la consommation humaine, elles sont également liées par le marché des farines et des huiles de poissons. Pour comprendre ces liens, on distingue fréquemment les débarquements directement destinés à la consommation humaine (81 %, 115,1 millions de t en 2008, FAO, 2010) du reste (19 %, 27,2 millions de t, FAO, 2010) en majorité transformé en farine et en huile. La consommation humaine directe de poissons repose majoritairement sur trois espèces, le lieu d'Alaska (*Theragra chalcogramma*), la bonite à ventre rayé (*Katsuwonus pelamis*) et le hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus*) (FAO, 2008). Les deux premières proviennent de plusieurs stocks gérés à l'équilibre tandis que la gestion des stocks de la troisième est plus irrégulière (comprend des stocks sous-exploités, pleinement exploités et surexploités). Dans les grands pays exportateurs de farine et d'huile de poisson (Chili et Pérou, 39 % de la production mondiale (Ifremer 2008a)), la production repose sur l'anchois (*Engraulis ringens*) et le chinchard (*Trachurus murphyi*) (FAO, 2005) provenant de stocks dont la durabilité de la gestion varie selon les années (pleinement exploités/surexploités, FAO, 2008; ou pleinement exploités/sous-exploités, Sánchez Durand et Gallo Seminario, 2009). En Europe, le Danemark, l'Islande et la Norvège sont également des producteurs importants (10 % de la production mondiale), mais utilisent essentiellement du lançon (*Hyperoplus lanceolatus*), du tacaud (*Trisopterus luscus*), du sprat (*Sprattus sprattus*), du capelan (*Mallotus villosus*), du merlan bleu (*Micromesstius poutassou*) et du hareng (issu de l'excédent du TAC (total admissible de capture)).

Cette distinction entre poissons destinés à la consommation humaine ou à la production de farine et d'huile est utile pour classer les prélèvements, mais elle ne représente pas la réalité des écosystèmes dans lesquels de nombreuses espèces cohabitent. Si l'on considère l'ensemble des stocks, 28 % sont surexploités, épuisés ou en cours de relèvement, 52 % sont correctement gérés et 20 % sont modérément exploités ou sous-exploités (FAO, 2008). Aussi, la gestion des stocks de pêche s'oriente de plus en plus vers une approche éco systémique (Larkin, 1996) qui prend en compte la quantité, le niveau trophique, le rôle de chacune des espèces ainsi que les interactions existant entre elles et les différents usages d'un écosystème (Garcia, 2005). Elle devrait permettre, à l'avenir, de considérer l'impact d'un prélèvement sur l'ensemble de l'écosystème.

La prise de conscience collective du régime alimentaire des poissons d'élevage consommés, en particulier dans les pays riches, a initié la création de critères d'impact de l'aquaculture sur les espèces sauvages. Ils permettent d'évaluer la quantité de produits prélevés dans le milieu aquatique nécessaire à la production de poissons d'élevage. Le ratio ''fish-in to fish-out'' (FI/FO ou FIFO) est un indice de cette quantité relative (Poids de poissons sauvages prélevés/ Poids de poisson d'élevage produit, Jackson, 2009). Pour ce calcul, il faut convertir les volumes de farine et d'huiles marines utilisés en tonnage de poissons sauvages nécessaires à leur fabrication. En combinant ces données au taux de conversion d'une espèce d'élevage dans un environnement, il est possible de déterminer l'importance de l'impact de la production d'un poisson d'élevage sur les ressources sauvages. Cet indice est d'autant plus intéressant qu'il évolue rapidement depuis sa création et fournit une représentation assez claire des avancées réalisées dans la recherche d'autonomie vis-à-vis des ressources marines. En 2007, Gatlin et al. ont ainsi mis en évidence qu'à l'échelle mondiale, ce ratio (FI/FO) avait diminué d'un tiers entre 1995 (1,04) et 2007 (0,63). Au début du phénomène de médiatisation de cet indice, les estimations courantes annonçaient que la transformation de 7 t de poissons pélagiques non consommés par l'homme était nécessaire pour produire 1 t de saumon. Cet indice se situerait, en 2006 entre 2,7 et 3,5 (Kaushik, 2006). En se basant sur les estimations de Jackson (2009), le FI/FO de la truite serait compris ente 2,0 et 3,4 et celui des poissons marins entre 2,0 et 2,2.

Toutefois, l'usage de cet indicateur est difficile car chaque combinaison espèce/aliment/environnement est unique et les taux de conversion sont extrêmement variables en fonction de l'espèce, de son âge, de l'environnement et des pratiques d'élevage. L'usage croissant des coproduits issus de la pêche (Tacon et Metian, 2009) ou de la transformation des produits aquacoles (Kaushik et Troell, 2010) est rarement pris en compte et pourrait compter pour une part non négligeable de l'apport en farine et en huile.

Pour terminer, il est important de préciser que cet indicateur n'est pas destiné à évaluer l'impact sur la gestion des ressources ou la biodiversité. Aucune distinction n'est faite concernant le type d'espèces péchée et la prise en compte des niveaux trophiques ou de l'impact sur les écosystèmes seraient des compléments pertinents. De même, les produits de substitution utilisés peuvent être issus de filières (végétales ou autres) affichant un bilan carbone élevé, une gestion lacunaire des sols ou des ressources. Ces aspects nécessitent encore des progrès et certaines approches comme l'analyse de cycle de vie appliquée à la

fabrication de l'aliment aquacole pourraient fournir des réponses utiles (Papatryphon et al., 2004; Aubin et al., 2009).

2-2) Le rôle des lipides dans l'organisme et particularités des huiles végétales

Il existe un grand nombre d'études portant sur les possibilités d'utilisation d'aliment d'origine végétale et leurs limites chez les poissons et des revues complètes ont été publiées sur le sujet (Lim et Webster, 2008; Turchini et al., 2009; Corraze et Kaushik, 2009; Médale et Kaushik, 2009; Montero et Izquidero, 2010). Ces études sont souvent réalisées dans des conditions expérimentales variables, avec des souches de poissons et surtout des aliments très différents. Afin de gagner en lisibilité, nous les classerons en fonction des taux de substitution des farines (FMr) et des huiles (FOr). Ces taux sont calculés à partir des tables de composition d'aliments fournis dans les articles : FMr = Farine d'origine végétale terrestre (g) / Farine total de l'aliment (g) et FOr = Huile d'origine végétale terrestre (g) / Huile total de l'aliment (g).

Afin de mieux comprendre les conséquences de l'utilisation de produits d'origine végétale, nous fournirons, dans ce chapitre, les bases concernant les métabolismes lipidique et protéique chez les poissons en s'appuyant sur les exemples de la truite arc-en-ciel et du bar européen.

Les AG en alimentation humaine

En alimentation humaine, l'apport lipidique est un enjeu de santé publique en raison du rôle essentiel de certains acides gras notamment des acides gras poly-insaturés longue chaîne de la série n-3 (AGLPI-LC n-3) dans le développement et le fonctionnement de l'organisme (Ruxton et al., 2005). L'être humain semble capable de synthétiser les AGPI-LC au niveau du foie à partir d'acide linolénique mais le rendement est insuffisant, en particulier chez les personnes âgées ou malades.

Il est donc indispensable de compléter ces besoins par l'apport d'AGPI-LC alimentaires. Or, les sources principales d'AGPI-LC n-3 alimentaires facilement disponibles, en particulier l'EPA (20:5n-3) et le DHA (22:6n-3), sont les produits aquatiques (**Figure 3**) (Ackman, 2000). De plus, il a été montré que les AGPI sont bien mieux absorbés *via* une alimentation à base de poissons que *via* des gélules de compléments alimentaires (Harris et al., 2007). Le rôle majeur des AGPI *n*-3 en santé humaine a été mis en évidence pour la première fois dans les années 1970 chez les Inuits qui présentaient un risque dix fois moins élevé d'infarctus du myocarde que leurs compatriotes malgré un régime similaire en lipides (Bang et al., 1980).

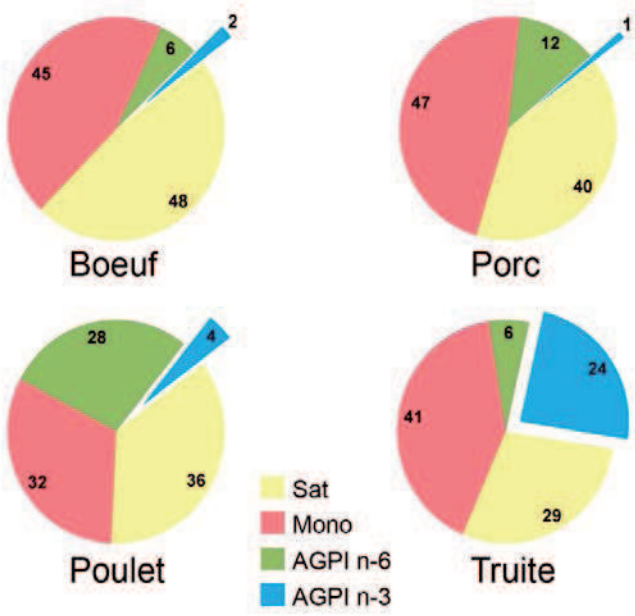


Figure 2. Proportion (% d'acides gras) des différents types d'acides gras dans la chair de bœuf, de porc, de poulet et de truite. Acides gras saturés (Sat), mono-insaturés (Mono), poly-insaturés de la série *n*-6 (AGPI *n*-6) et poly-insaturés de la série *n*-3 (AGPI *n*-3), (d'après Médale, 2007).

Depuis, de nombreuses études (épidémiologiques et cliniques) ont confirmé cette action bénéfique. On sait que l'apport important d'AGPI n-3 permet de réduire de 30 % à 40 % les risques d'évènements cardio-vasculaires, coronariens et la mortalité par cardiopathie ischémique (Lecerf, 2004; 2008).

En France, il est recommandé de consommer 100 mg/jour de DHA (Martin et al., 2000). Il est difficile de savoir si ces apports nutritionnels conseillés (ANC) sont respectés car il existe une grande variabilité de la consommation entre les individus (Bourre, 2005). Cependant, une estimation montre qu'à l'échelle de la France, les adultes consomment en moyenne une quantité d'EPA et de DHA deux fois supérieure à l'ANC français (Astorg et al., 2004). Dans le même temps, des études menées à l'échelle régionale montrent que la consommation de ces AG atteint moins de la moitié de l'ANC (Weill et al., 2002). Chez la femme enceinte, l'ANC atteint 300 mg/jour en raison de l'effet positif démontré de l'apport de DHA sur le développement cérébral du fœtus (Neuringer et al., 1984; Salem et al., 2001; Cheatham et al., 2006; Levant et al., 2006). Enfin, des études cliniques ont montré que la consommation d'huile de poisson et de supplément d'EPA et de DHA est associée à une diminution du taux de triglycérides plasmatique, à une réduction de la pression artérielle (Mori et Beilin, 2001; Balk et al., 2006) et limite les risques d'apparition de diabètes de type II (Cheruku et al., 2002).

2-2-1) Le métabolisme lipidique

Les besoins

La compréhension du cheminement des lipides de l'aliment des poissons jusqu'à l'assiette est essentielle en élevage. Selon leurs formes (voir Encart *Les acides gras*), ces molécules hydrophobes composées essentiellement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène (**Tableau 4**) s'accumulent avec plus ou moins d'efficacité dans la chair du filet et les enjeux de la substitution sont à la fois la santé des poissons, leur croissance ainsi que la qualité nutritionnelle et organoleptique de la chair. Les lipides provenant de l'alimentation doivent en premier lieu satisfaire les besoins en acides gras essentiels (AGE) non synthétisés par l'organisme (Corraze, 1999). Ils apportent également une part importante de l'énergie alimentaire (Parpoura and Alexis, 2001, Sargent et al., 2002), d'autant plus importante que la majorité des poissons digèrent mal les glucides complexes. Enfin, ils participent à l'absorption intestinale des vitamines liposolubles et des pigments caroténoïdes (Corraze, 1999). Dans l'aliment, les lipides sont présents majoritairement sous forme de triglycérides (ou TAG, triester de glycérol et de trois acides gras (AG)), de phospholipides (PL, un ester de deux AG et d'un acide phosphorique lié à un autre alcool) et de cérides (ester d'un AG et d'un

alcool). Il existe une grande variété d'AG (voir Encart *Les acides gras*) mais les poissons dits carnivores ont des besoins spécifiques en acide gras poly-insaturés (AGPI) longue chaine (20 atomes de carbone ou plus) de la série n-3 (en particulier EPA, 20:5n-3 et DHA, 22:6n-3). Cette dépendance s'explique, en partie, par la présence de ces AG dans les proies de l'environnement naturel (Sargent et Tacon, 1999). Les apports en AGE ont été abondamment étudiés en nutrition aquacole car ces derniers interviennent dans des fonctions clés de l'organisme. Sous forme de phospholipides, ils entrent dans la composition des membranes cellulaires dont les compositions doivent rester stables pour permettre la croissance des tissus. Les AGPI longue chaîne (AGPI-LC, plus de 20 carbones) de la série n-3 assurent le maintien de la fluidité membranaire à basse température, ce qui explique en partie les besoins des poissons d'eau froide (Corraze, 1999). Ils interviennent également dans les mécanismes de régulation du système hormonal car ils servent de substrats (**Figure 3**) à la synthèse de composés comme les prostaglandines servant de relais entre les hormones et les sites cellulaires (Corraze, 1999). La balance des apports entre AGPI n-3 et n-6 est d'ailleurs essentielle pour la régulation hormonale car ils sont utilisés comme substrats de différents types de prostaglandines ayant parfois des effets antagonistes (Corraze, 1999).

Les acides gras

Les acides gras sont classés selon le nombre de carbone (X:2n-6), le nombre d'insaturations dans le squelette carboné (18:Xn-6) et la position de la première double-liaison par rapport au groupement méthyl-terminal (18:2n-X). On distingue en particulier les séries d'AGPI n-3 et n-6 ainsi que les AGPI-LC à partir de 20 carbones.

Tableau 4. Dénomination abrégée, nom commun, nom scientifique et formule chimique des acides gras majoritaires chez les poissons.

Série	abrégée	Nom commun	Nom scientifique	Formule
Insaturés				
	10:0	caprique	Décanoïque	$C_{10}H_{20}O_2$
	14:0	myristique	Tétradécanoïque	$C_{14}H_{28}O_2$
	15:0	pentadécylique	Pentadécanoïque	$C_{15}H_{30}O_2$
	16:0	palmitique	Hexadécanoïque	$C_{16}H_{32}O_2$
	17:0	margarique	Heptadécanoïque	$C_{17}H_{34}O_2$
	18:0	stéarique	Octodécanoïque	$C_{18}H_{36}O_2$
	20:0	arachidique	Eicosanoïque	$C_{20}H_{40}O_2$
Mono-insaturés				
	16:1n-7	palmitoléique	Hexadécénoïque	$C_{16}H_{30}O_2$
	20:1n-11	gadoléique		$C_{20}H_{42}O_2$
	22:1n-9	érucidique		$C_{22}H_{46}O_2$
	18:1n-9	oléique	Octadécénoïque	$C_{18}H_{34}O_2$
Poly-insaturés				
	16:2n-4	-	Hexadecadiénoïque	$C_{16}H_{28}O_2$
	16:3n-4	-	Hexadecatriénoïque	$C_{16}H_{26}O_2$
	16:4n-1	-		
	18:2n-6	linoléique (LA)	Octadécadiénoïque	$C_{18}H_{32}O_2$
	18:2n-9			
	18:3n-3	linolénique (ALA)	Octadécatriénoïque	$C_{18}H_{30}O_2$
	18:4n-3			
	20:4n-3			
	20:4n-6	arachidonique (AA)	Eicosatetraénoïque	$C_{20}H_{32}O_2$
	20:5n-3	EPA	Eicosapentaénoïque	$C_{20}H_{30}O_2$
	21:5n-3			
	22:2n-6	-	Docosadiénoïque	$C_{22}H_{40}O_2$
	22:5n-3	DPA	Docosapentaénoïque	$C_{22}H_{34}O_2$
	22:6n-3	DHA	Docosahéxaénoïque	$C_{22}H_{32}O_2$

Le transport

Les AG apportés par l'alimentation sont absorbés au niveau des entérocytes, incorporés dans des lipoprotéines (Corraze, 2010) avant d'être acheminés vers le foie principalement par la voie lymphatique. Ces AG ainsi que ceux synthétisés *de novo* sont alors transportés du foie vers les tissus dans les capillaires sanguins et lymphatiques (Corraze, 2010) via trois classes

de lipoprotéines : les VLDL (very low density lipoprotein), LDL (low density lipoprotein) et HDL (high density lipoprotein)).

La synthèse endogène et la bioconversion des acides gras

Chez les poissons, le foie est le lieu privilégié de la synthèse des AG par le biais du complexe AG synthétase (Corraze, 1999). Les principaux AG produits sont le palmitate (16:0), le stéarate (18:0) et le myristate (14:0) qui pourront être bio-convertis en AG à plus longue chaine ou plus insaturés. Les mécanismes de cette bioconversion font intervenir les Δ6 et Δ5 désaturase (**Figure 3**), tout comme chez les mammifères (Corraze, 2010). Chez la truite arc-en-ciel, cette voie permet une production efficace d'AGPI à partir d'acide linolénique (18:3n-3) ou d'acide linoléique (18:2n-6). A l'inverse, chez plusieurs poissons marins, comme le bar (Mourente et al., 2005b), le turbot (Owen et al, 1975; Cowey et al, 1976), cette voie est peu efficace vraisemblablement en raison d'une faible activité de la Δ5 désaturase. Cette faible activité pourrait s'expliquer par la relative abondance des AGPI-LC n-3, en particulier EPA et DHA, dans le milieu naturel qui aurait rendu dormantes les capacités de biosynthèse de n-3 (Sargent et al., 2002). La présence de ces AG dans la chair de poissons est pourtant un atout essentiel en nutrition humaine (voir Encart *Les AG en alimentation humaine*). C'est pourquoi les capacités de rétention, de synthèse, de conversion et de dégradation de ces AG sont très étudiées (Robin et Skalli, 2007), de même que les différents mécanismes du métabolisme lipidique (Zheng et al., 2004; Stubhaug et al., 2005; Turchini et al., 2009; Panserat et al., 2009).

Figure 3. Schéma des principales voies métaboliques de bioconversion des acides gras (adaptée de Guillaume et al., 1999; Geay, 2011).

Le stockage

Une part importante des AG du poisson est stockée sous forme de phospho-lipides (PL) et constitue la double couche membranaire des cellules et des organites. Les lipides de réserve (Tri-acyl-glycérols (TAG), cérides) sont stockés sous forme de gouttelettes cytoplasmiques dans différents tissus : adipeux péri-viscéral, sous-cutané, le muscle et le foie (Sheridan, 1988), en proportion variable selon les espèces. Chez le bar, on les retrouve en grande majorité dans le foie (Corraze et Kaushik, 2009) alors que chez les salmonidés, ils sont stockés en priorité dans le tissu adipeux péri-viscéral puis dans le muscle (Corraze et Kaushik, 2009). Si la nature des AG alimentaires n'influence pas la teneur globale en lipides de la chair du poisson (Hardy et al, 1987; Arzel et al, 1994), elle détermine directement la composition en AG de la chair (Watanabe, 1982; Guillou et al., 1995; Torstensen et al., 2000; Izquierdo et al., 2003). Ce phénomène a été confirmé chez la truite arc-en-ciel (Caballero et al., 2002; Corraze et al., 2004) et chez le bar européen (Izquidero et al., 2005; Montero et al., 2005; Mourente et al., 2005a). Face à l'enjeu que représente cette composition en AG pour la santé publique (voir Encart *Les AG en alimentation humaine*) et pour les qualités organoleptiques de la chair de poisson, une attention particulière est aujourd'hui portée à la composition de l'aliment et aux capacités de rétention des AG des poissons.

2-2-2) Les caractéristiques essentielles des huiles végétales

Les huiles végétales (VO, pour vegetable oils) constituent une source d'énergie comparable aux huiles de poissons. Elles diffèrent cependant par leur composition en AG. Aucune VO n'assure un apport équivalent en AGPI-LC n-3 (**Tableau 5**) alors qu'elles contiennent fréquemment des proportions élevées d'AG de la série n-6 et n-9, en particulier d'acide linoléique 18:2n-6 et d'acide oléique 18:1n-9 (Corraze et Kaushik, 2009). Aujourd'hui, les formulations s'orientent fréquemment vers des mélanges d'huiles afin d'utiliser au mieux les atouts de chacune et de se rapprocher de la composition en classes d'AG de l'huile de poisson. En cas d'absence d'huile de poissons dans l'aliment, les apports en AGPI et AGPI-LC peuvent être comblés par la fraction lipidique contenue dans les farines de poisson. Notons que les VO diffèrent également de FO par le peu de vitamines A et D (Guillaume, 1999) mais sont exemptes de polluants organiques (voir 2-4-1).

Tableau 5. Composition (% d'acides gras) d'huiles d'origine marine ou végétale (adapté de Turchini et al., 2009). Acides gras insaturés (AGI), mono-saturés (AGS), polyi-nsaturés de la série n-6 (AGPI n-6), acide linoléique 18:2n-6, acide arachidonique 20:4n-6, poly-insaturés de la série n-3 (AGPI n-3), acide linolénique 18:3n-3, acide eicosapentaénoïque (EPA) 20:5n-3, acide docosahéxaénoïque (DHA) 22:6n-3

	AGI	AGS	AGPI n-6	18:2n-6	20:4n-6	AGPI n-3	18:3n-3	EPA	DHA	n-3/n-6 ratio
Marine										
Anchois	28,8	24,9	1,3	1,2	0,1	31,2	0,8	17,0	8,8	24,0
Capelin	20,0	61,7	1,8	1,7	0,1	12,2	0,4	4,6	3,0	6,8
Menhaden	30,5	24,8	1,5	1,3	0,2	25,1	0,3	11,0	9,1	16,7
Hareng	20,0	56,4	1,4	1,1	0,3	17,8	0,6	8,4	4,9	12,7
Foie/morue	19,4	46,0	3,0	1,4	1,6	27,0	0,6	11,2	12,6	9,0
Végétale										
Palme	48,8	37,0	9,1	9,1	-	0,2	0,2	-	-	0,0
Soja	14,2	23,2	51,0	51,0	-	6,8	6,8	-	-	0,1
Colza/canola	4,6	62,3	20,2	20,2	-	12,0	12,0	-	-	0,6
Tournesol	10,4	19,5	65,7	65,7	-	0,0	-	-	-	0,0
Coton	45,3	17,8	51,5	51,5	-	0,2	0,2	-	-	0,0
Arachide	11,8	46,2	32,0	32,0	-	0,0	-	-	-	0,0
Maïs	12,7	24,2	58,0	58,0	-	0,7	0,7	-	-	0,0
Lin	9,4	20,2	12,7	12,7	-	53,3	53,3	-	-	4,2

2-2-3) Les impacts de la substitution

Sur l'ingestion des poissons

Les lipides jouent un rôle mineur dans l'attractivité d'un aliment (Turchini et al., 2009). La perception sensorielle des poissons s'appuie majoritairement sur des composés nitrogénés, des nucléotides et des nucléosides (de la Higuerra, 2001; Kasumayan et Døving, 2003). Cependant, les huiles de poissons sont rarement pures et peuvent contenir ce type de molécules attractantes. Ce phénomène pourrait expliquer le fait que l'utilisation de VO soit parfois associée à une réduction de la prise alimentaire (Davis et al., 1995; Stickney et al., 1996), voire du taux de conversion alimentaire (FCR pour Feed Conversion Rate) (Caballero et al., 2002 (FOr: 61 %)). Ce domaine a été peu étudié mais il a été récemment démontré que la truite arc-en ciel était capable de distinguer deux aliments contenant des huiles végétales ou de poisson et montrait une préférence pour le second (Geurden et al., 2005) se traduisant par une plus forte demande d'aliments (Geurden et al. 2007). Cette distinction semble également liée aux propriétés nutritionnelles de ces aliments puisque les rétrocontrôles d'origine postprandiale pourraient jouer un rôle important dans la régulation de l'appétit chez la truite (Sànchez-Vàzquez et al., 1999; Cuenca et al., 1993), la daurade (Paspatis et al., 1997) et le bar (Hidalgo et al., 1988; Brotons Martinez et al., 2004).

Sur la croissance

La croissance reste un critère essentiel en élevage et la plupart des études portant sur le remplacement des huiles de poisson (FO, pour fish oil) par des VO évalue avant tout son impact sur le poids et les taux de croissance. En dessous d'un seuil critique de substitution et/ou lorsque les besoins en AGE sont couverts, on constate que l'utilisation d'huiles végétales n'a pas d'impact négatif sur la croissance. La **Figure 4** constitue le résumé d'une revue bibliographique réalisée sur 24 essais portant directement ou indirectement sur l'impact de différents taux de substitution sur la croissance de la truite arc-en-ciel. Elles sont classées en fonction du taux de remplacement des huiles (FOr) et des farines (FMr), les points rouges correspondant à une différence significative observée entre le lot nourri avec un aliment substitué et le lot nourri avec l'aliment témoin. Les points verts correspondent à des travaux rapportant une croissance similaire dans les deux lots tandis que les chiffres renseignent sur la chronologie de ces travaux. On remarque que les 4 études réalisées avant les années 2000 se focalisent sur le remplacement des farines tandis que les études plus récentes ont testés des taux de substitution plus élevés en associant remplacement des huiles et des farines. Plusieurs études ont confirmé que la substitution totale des FO chez la truite était possible sans impact sur la croissance (Fonseca-Madrigal et al., 2005 (FOr: 100 %); Richard et al., 2006a (FOr: 100 %); Drew et al., 2007 (FOr: 100 %); Oo et al., 2007 (FOr: 100 %)). Pour une substitution conjointe des farines et des huiles (**Figure 4**), la croissance est plus faible (Drew et al., 2007 (FOr: 100 %, FMr: 100 %); Panserat et al., 2009 (FOr: 100 %, FMr: 100 %)).

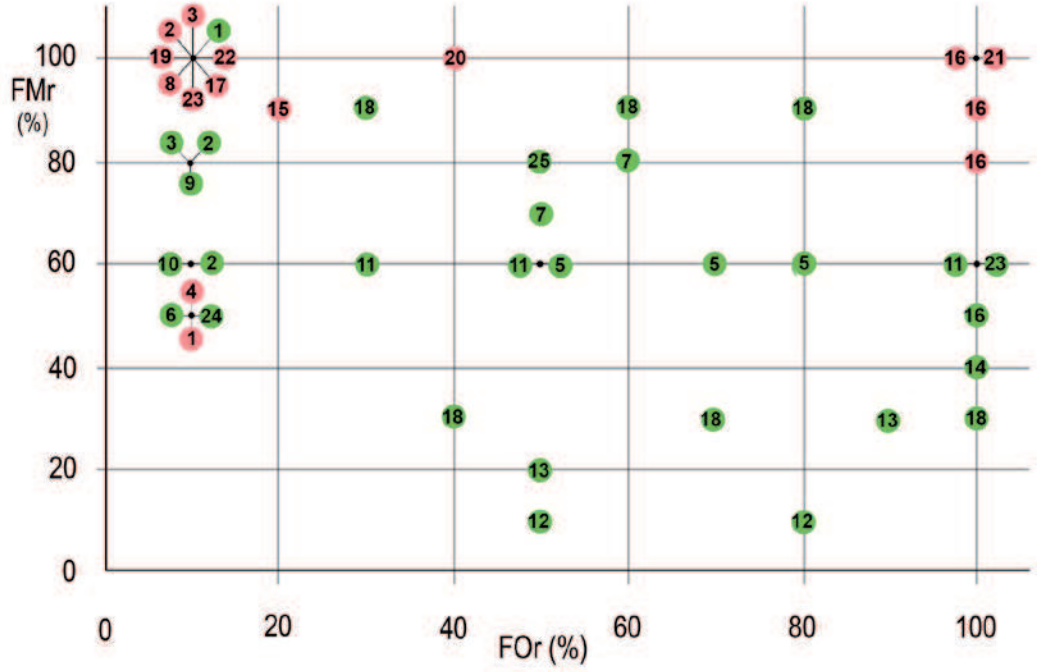


Figure 4. Impact de l'utilisation de farines et d'huiles végétales terrestres dans l'aliment sur la croissance de la truite arc-en-ciel. FMr vaut (Poids de farine d'origine végétale terrestre/ Poids total de farine dans l'aliment)*100 et FOr vaut (Poids d'huile d'origine végétale terrestre/ Poids total d'huile dans l'aliment)*100. Revue bibliographique réalisée sur 24 articles. Les points verts indiquent une absence d'effet sur la croissance et les points rouges une croissance significativement plus faible. Les taux de substitution sont arrondis à la dizaine supérieure et les chiffres renvoient aux études suivantes : [1]Kaushik et al., 1995; [2]Gomes et al., 1995; [3]Médale et al., 1998; [4]Alvarez et al., 1999; [5]Caballero et al., 2002; [6]Glencross et al., 2004; [7]Liu et al., 2004; [8]Vilhelmson et al., 2004; [9]Thiessen et al., 2004; [10]Morris et al., 2005; [11]Fonseca-Madrigal et al., 2005; [12]Figueiredo-silva et al., 2005; [13]Martins et al., 2006; [14]Richard et al., 2006; [15]Palti et al., 2006; [16]Drew et al., 2007; [17]Barrows et al., 2007a; [18]Oo et al., 2007; [19]Santigosa et al., 2008; [20]Pierce et al., 2008; [21]Panserat et al., 2009; [22]Dupont-Nivet et al., 2009; [23]Alami-Durante et al., 2010; [24]Stone et al., 2010; [25]Trushenski et al., 2011

En raison de l'hétérogénéité des résultats obtenus, certaines études ont tenté de les normaliser à l'aide des outils développés par la méta-analyse. Celles-ci ont avant tout sélectionné parmi la littérature disponible les travaux respectant les exigences expérimentales (durée, présence de réplicats, clarté des informations publiées, traitements statistiques pertinents) puis elles définissent un nouveau critère prenant en compte les particularités de chaque étude qui permettra de les classer sur une même échelle. A partir de ces nouvelles données, il est possible de proposer des conclusions générales sur le thème choisi. Une première méta-analyse a confirmé l'efficacité des VO en analysant plusieurs essais d'alimentation en salmoniculture (Drakeford et Pascoe, 2008). La seconde a mis en évidence un effet significatif de la substitution sur les taux de croissance, en analysant 20 essais

d'alimentation menés sur différentes espèces (Sales et Glencross, 2010), en particulier pour l'huile de colza et l'huile de lin.

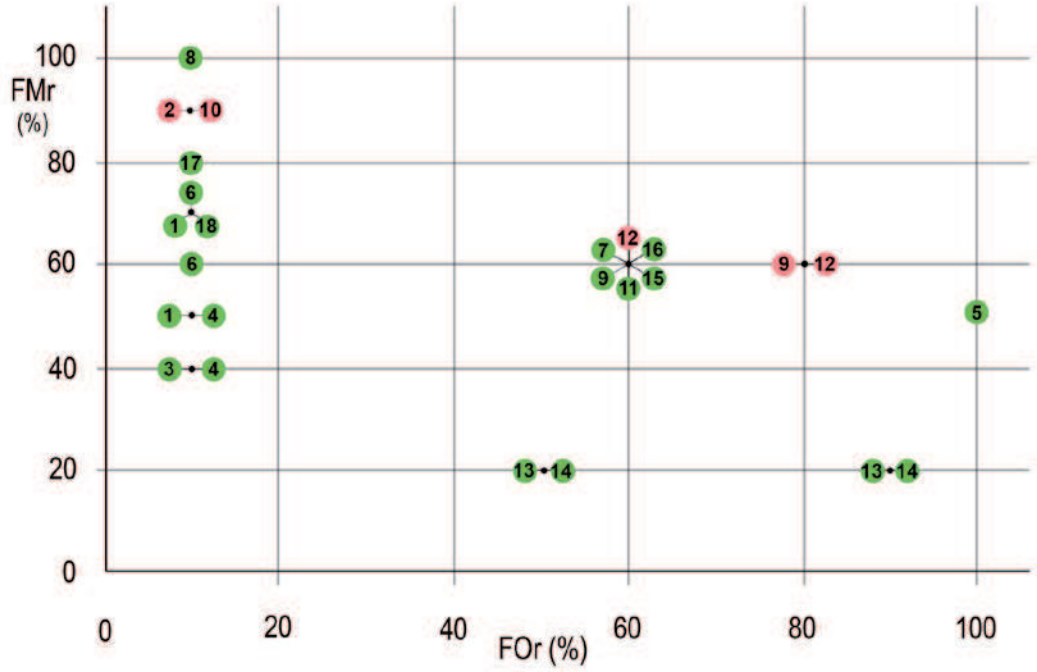


Figure 5. Impact de l'utilisation de farines et d'huiles végétales terrestres dans l'aliment sur la croissance du bar européen. FMr vaut (Poids de farine d'origine végétale terrestre/ Poids total de farine dans l'aliment)*100 et FOr vaut (Poids d'huile d'origine végétale terrestre/ Poids total d'huile dans l'aliment)*100. Revue bibliographique réalisée sur 18 articles. Les points verts indiquent une absence d'effet sur la croissance et les points rouges une croissance significativement plus faible. Les taux de substitution sont arrondis à la dizaine supérieure et les chiffres renvoient aux études suivantes : [1]Ballesterazzi et al., 1994; [2]Dias et al., 1997; [3]Alvarez et al., 1999; [4]Gouveia et al., 2000; [5]Parpoura et Alexis, 2001; [6]Olivia-Teles et al., 2001; [7]Izquierdo et al., 2003; [8]Kaushik et al., 2004; [9]Izquidero et al., 2005; [10]Dias et al., 2005; [11]Mourente et al., 2005a; [12]Montero et al., 2005; [13]Figueiredo-Silva et al., 2005; [14]Martins et al., 2006; [15]Richard et al., 2006; [16]Mourente et al., 2005b; [17]Messina et al., 2007; [18]Adamidou et al., 2009.

Chez le bar européen, les travaux sont moins nombreux mais des aliments de plus en plus substitués ont également été testés. Les premiers effets négatifs sur la croissance sont observés autour de FOr : 80 % (**Figure 5**). Certaines études montrent des croissances similaires entre aliment témoin et aliment partiellement d'origine végétale (Izquidero et al., 2005 (FOr: 60 %); Mourente et al., 2005 (FOr: 60 %); Figueiredo-silva et al., 2005 (FOr: 80 %); Alves-Martins et al., 2006 (FOr: 80 %). D'autres observent des différences de croissance (Parpoura et Alexis, 2001 (FOr: 100 %); Montero et al., 2005 (FOr: 80 %); Izquidero et al., 2005 (FOr: 80 %)). La quantité d'AGPI-LC n-3 semble limitante pour la croissance mais une

faible quantité suffirait pour assurer la croissance du bar : entre 0,7 % (Geay, 2011) et 0,88 % des AGPI-LC n-3 (Parpoura et Alexis, 2001).

Sur la composition de la chair

L'utilisation de VO modifie peu la teneur globale en lipides musculaires (Izquidero et al., 2005; Richard et al., 2006a)). Cependant, elle fait varier la composition en AG de la chair de la plupart des espèces de poissons dont les salmonidés (Bell et al., 2003, 2004; Kaushik et Corraze, 2004; Richard et al., 2006a) et les poissons marins (Glencross et al., 2003; Izquidero et al., 2003, 2005; Mourente et al., 2005). La chair des poissons nourris avec des VO, contient moins d'EPA et de DHA et plus d'acides gras caractéristiques des huiles végétales incorporées (acide oléique, linoléïque et linolénique). Les AGPI-LC n-3 ne sont cependant pas totalement absents dans la chair des salmonidés puisque ces derniers présentent une capacité à la bioconversion à partir de l'acide linolénique. A l'inverse, Montero et al. (2005) ont montré que des filets de bar européens nourris pendant 8 mois avec un aliment à base de VO (FOr: 60 % et FOr: 80 %) ne contenaient plus respectivement que 45 % et 50 % du taux d'AGPI-LC n-3 du lot témoin nourri avec de l'huile de poisson avec, en particulier, une réduction importante de l'EPA. Afin d'éviter que la chair de poisson ne perde son intérêt nutritionnel (voir Encart *Les AG en alimentation humaine*), des stratégies utilisant un aliment de finition riche en huiles marines sont préconisées afin de restaurer en quelques mois des niveaux d'AG présentant un intérêt pour la santé humaine. Dans la même étude, Montero et al., (2005) montrent qu'une période de 150 jours pendant laquelle les poissons sont nourris avec un aliment riche en huile de poisson suffit à restaurer la proportion de DHA dans le filet, mais le taux d'EPA reste en dessous du témoin (65-87 % du témoin).

Sur le métabolisme lipidique

Si les AG stockés reflètent les AG contenus dans l'aliment, l'impact de l'utilisation de VO dans l'aliment sur le métabolisme lipidique est également étudié. Chez plusieurs espèces d'eau douce nourries avec un aliment riche en AGPI C:18 (acides oléique, linoléique, linolénique) caractéristiques des VO, les niveaux d'activité d'élongase et de désaturase augmentent et permettent une production d'AGPI-LC n-3 (EPA, DHA) (Tocher et al., 2001; Tocher et al., 2004). Une substitution modérée des FO par des VO chez le bar européen n'a

pas de conséquences sur les activités de désaturation, d'élongation et de β-oxydation dans les hépatocytes et les entérocytes (Mourente et al., 2005 (FOr: 60 %)). Toutefois, chez le bar, la substitution totale (FMr: 100 %, FOr: 100 %) provoque une expression préférentielle des gènes intervenant dans les mécanismes de la biosynthèse du cholestérol et du catabolisme des héxoses (Geay et al., 2011). Cette même étude a avancé l'hypothèse que la faible capacité du bar européen à élonguer les acides gras provient d'une perturbation de la régulation post-transcriptionnelle de la Δ6-désaturase (FADS2).

Sur la santé

Les effets des VO sur la santé sont souvent discutés et une synthèse complète des effets positifs, neutres ou négatifs sur la santé des poissons a été réalisée par Montero et Izquidero (2010). Il existe peu d'étude sur l'impact de l'utilisation de VO sur la résistance aux pathogènes. Il est certain que la modification du profil en AG de l'aliment modifie le fonctionnement du système immunitaire mais il est difficile de savoir si les conséquences sont négatives sur la santé et le bien être des poissons.

2-3) Le rôle des protéines dans l'organisme et particularités des farines végétales

2-3-1) Le métabolisme protéique

Les besoins

Les protéines apportées par l'alimentation doivent à la fois couvrir les besoins azotés et une partie des besoins énergétiques des poissons. C'est pourquoi la quantité et la qualité des acides aminés (AA) doivent être adéquats (Médale et Kauskik, 2009). Le niveau optimal d'apport protéique est élevé chez les poissons, bien supérieur à celui nécessaire pour les mammifères et les oiseaux. Chez le poulet, il est de 20 % de la matière sèche (MS) de l'aliment tandis qu'il atteint 38-40 % MS chez la truite arc-en-ciel, 45-50 % MS chez le bar européen et 30 % MS chez des espèces herbivores comme la carpe ou le tilapia (Médale et Kaushik, 2009; NRC, 2011). L'ammoniotélie (le principal produit final du catabolisme azoté est l'ammoniaque NH_3) des poissons en est une cause essentielle puisqu'ils se différencient des vertébrés terrestres par l'oxydation d'une grande partie des AA composant les protéines pour la production d'énergie (Mambrini et Guillaume, 1999).

Afin d'éviter les carences, la composition de l'apport protéique doit couvrir les besoins en acide aminés indispensables (AAI). Ceux-ci sont bien identifiés et sont communs aux autres animaux d'élevage : arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine. Des valeurs seuils ont été déterminées chez les principales espèces d'élevage piscicole (NRC, 2011). Lorsque les deux apports en AAI et en acides aminés non indispensables (AANI) sont complémentaires, la rétention azotée est optimale (Médale et Kaushik, 2009).

Origine et utilisation des protéines

Les protéines de l'organisme ont quatre origines possibles : l'absorption intestinale, la synthèse de novo, les inter-conversions et l'hydrolyse des protéines corporelles. Chez les poissons, l'absorption intestinale des AA est efficace et la digestibilité des protéines est généralement haute (90 %), mais dépend de la composition en AA et de l'absence de facteurs anti-protéasique (Kaushik, 1999). Les protéines synthétisées *de novo* proviennent en majorité

de l'estomac, du foie et des branchies. Elles peuvent alors être utilisées comme substrat de la lipogenèse contrairement aux mammifères et oiseaux chez qui l'utilisation du glucose est privilégiée (Hillgartner et al., 1995). Les protéines restantes sont retenues dans le muscle avec une très grande efficacité : 50-70 % contre 25-40 % chez les mammifères (Mambrini et Guillaume, 1999). Cette efficacité élevée associée aux faibles besoins énergétique inhérents à la poïkilothermie (température du corps identique à la température du milieu) fait des poissons des convertisseurs très efficaces des protéines malgré un catabolisme oxydatif important.

2-3-2) Les caractéristiques essentielles des farines végétales

Plusieurs caractéristiques des FM rendent difficile leur remplacement par des farines végétales (VM) dans l'aliment pour poisson. La première provient du faible taux protéique de beaucoup de VM : 26 % pour le pois, 45 % pour le tourteau de soja, 48-50 % pour le tourteau d'arachide (Médale et Kaushik, 2009) contre environ 70 % dans les farines de poissons. Il est possible d'extraire une fraction plus dense en protéine de ces farines (gluten de blé, de maïs, concentrés de soja, de colza) mais le procédé est coûteux. De plus, la composition en AA des farines végétales est peu adaptée aux besoins des poissons, en particulier du fait d'une carence fréquente en méthionine et en lysine (Médale et Kaushik, 2009). L'apport en AGPI des farines végétales est très faible et ne permet pas de combler les besoins.

Les glucides

Les farines végétales terrestres ont également pour caractéristique des taux élevés de glucides, en particulier en amidon faiblement digestible par les poissons et en glucides membranaires complexes (pectines, hémicellulose, pentosanes, cellulose, lignine) (Métayer et Guillaume, 1999). Constitués de sucres associés de façon plus ou moins complexe, leur digestibilité varie en fonction de leur taille, de la nature et de la quantité d'amidon mais aussi de l'espèce étudiée et de la température d'élevage (Médale, 2007). Si les coefficients de digestibilité apparente (ADC) des glucides simples sont élevés (99 % pour le glucose, 92 % pour le maltose, Médale, 2007), ceux des glucides complexes comme l'amidon sont très faibles (ADC: 38 %, Kaushik, 1999). Ces molécules sont parfois abondantes et constituent une source d'énergie peu utilisable. Une revue récemment publiée portant sur les spécificités

de l'utilisation des glucides chez le bar et la daurade précise que les aliments utilisés chez ces espèces peuvent contenir jusqu'à 20 % de glucides digestibles sans impact sur la croissance et rappelle la meilleure propension du bar européen à utiliser l'amidon plutôt que le glucose (Enes et al., 2011). La digestibilité a été partiellement améliorée grâce au développement de la cuisson-extrusion. Cette méthode, initialement destinée à augmenter le taux d'incorporation de lipides dans les aliments des salmonidés associe broyage, hausse de la température et de la pression suivi d'un cisaillement. Elle permet de gélatiniser l'amidon et d'améliorer la digestibilité des nutriments, l'appétence, la conservation des granulés et la stabilité dans l'eau (Barrows et al., 2007b).

Les facteurs antinutritionnels

La présence de certains facteurs antinutritionnels dans l'aliment a été étudiée en détail chez les animaux terrestres et fait aujourd'hui l'objet d'une attention particulière dans la formulation des aliments piscicoles. Ils sont fréquemment présents dans les produits d'origine végétale et peuvent diminuer l'appétit, la digestion, la disponibilité des acides aminés et des minéraux ou perturber le métabolisme (Médale et Kaushik, 2009). Parmi eux, on pourra citer les facteurs antitrypsiques que l'on retrouve chez certaines légumineuses comme le soja ou la féverole, particulièrement concentrés dans les tourteaux. Ce sont des antinutriments qui limitent l'action de la trypsine (action anti-protéase) et diminue la digestibilité des protéines. L'acide phytique est également un composé qui limite les processus de digestion soit en se liant avec divers nutriments, les rendant indisponibles, soit en agissant directement sur certaines enzymes digestives. D'autres substances, comme les glucosides, peuvent interagir directement avec les hormones thyroïdiennes, on les retrouve sous une forme plus complexe (glucosinolates) dans le colza (Guillaume, 1999). Si la présence et l'impact de ces composés ont été confirmés chez les poissons (Kaushik et al., 1990; Francis et al., 2001; Gatlin et al., 2007), les mécanismes d'action de certains facteurs antinutritionnels sont encore mal connus. Il est, par exemple, difficile d'identifier le composant responsable de l'apparition d'entérites chez le saumon atlantique nourri avec un aliment contenant de la farine de soja. Notons enfin que des progrès ont été réalisés en génétique végétale visant à l'obtention de souches contenant peu ou pas de facteurs antinutritionnels. Le canola ou soja « double zéro » est par exemple une souche de navette (*Brassica campestris*) pauvre en glucosinolates (Guillaume, 1999).

2-3-3) L'impact de la substitution

Sur l'ingestion des poissons

Chez le saumon, on observe une appétence plus faible pour un aliment contenant du soja en comparaison à des aliments contenant de la farine de poisson (Fowler, 1980; Smith et al., 1988; Wilson, 1992). Même si les farines végétales sont réputées moins appétentes, la plupart des essais concluent à un ingéré similaire au témoin (Kaushik et al., 2004; Montero et al., 2005).

Sur la croissance

De même que pour l'utilisation de VO, il semble exister une valeur seuil pour le remplacement de FM par VM en dessous de laquelle la croissance n'est pas modifiée. Ainsi, chez la truite arc-en-ciel, ce seuil se situe aux environs de 90 % mais il existe une certaine variabilité en fonction des substituts utilisés, des conditions d'élevage ou de l'âge des animaux. Entre 10 % et 80 %, de nombreux travaux concluent à l'absence d'effets négatifs sur la croissance (**Figure 4**) tandis que des taux de substitution supérieurs mènent le plus souvent à un ralentissement de la croissance (Vilhelmsson et al., 2004 (FMr: 100 %); Barrows et al., 2007a (FMr: 100 %); Panserat et al., 2009 (FMr: 100 %); Alami-Durante et al., 2010 (FMr: 100 %); Dupont-Nivet et al., 2009 (FMr: 100 %)). L'utilisation de concentré protéique ou de gluten diminue beaucoup l'impact des VM sur la croissance (Kaushik et al., 1995), en particulier quand une attention particulière est accordée à la composition en acides aminés (Médale et al., 1998). Pour conclure sur l'aspect des remplacements conjoints de FM et FO, des taux croissants de FMr et FOr ont été expérimentés avec succès et les limites supérieures se situent aujourd'hui respectivement autour de 60 % et 80 %.

Chez le bar européen, les premiers effets négatifs sur la croissance sont observés autour de 90 % de substitution pour la farine (**Figure 5**). En effet, il est possible de remplacer 80 % des VM dans l'aliment (**Figure 5**) sans impact sur la croissance (Olivia-Teles et al., 2001 (FMr: 65 %); Mourente et al., 2007 (FMr: 52 %); Messina et al., 2007 (FMr: 77 %) ; Kaushik et al., 2004 (FMr: 95 %)). Cependant, l'aspect limitant de certains AG peut altérer ces performances et il est conseillé d'ajuster les apports en AGPI-LC n-3 afin de comparer l'effet des VM. Ainsi, dans les études de Kaushik et al., (2004), Dias et al, (2005) et Gomez-Requeni et al. (2004), le remplacement de la farine s'accompagne d'une augmentation de la

quantité d'huile de poisson. Le remplacement conjoint de farine et d'huile n'a jamais été publié et les quelques résultats existants évoquent des conséquences importantes sur la santé des poissons.

Sur la composition de la chair

Le remplacement de farine a peu d'effet sur la composition du muscle (Alvarez et al. 1999 (FMr: 41 %); Ustaoglu and Rennert, 2002 (FM: 100 %)) ou les qualités organoleptiques du filet (Adamidou et al., 2009 (FMr: 68,8 %); Alvarez et al., 1999 (FMr: 41 %); Montero et al., 2005 (FM : 80 %)). Cependant, le remplacement total des FM par des farines végétales entraîne une altération des qualités organoleptiques et produit une chair plus dure et moins odorante (jury, test triangulaire, de Francesco et al., (2004)). La proportion d'AGPI dans la chair peut varier sensiblement avec le remplacement des FM (Médale et Kaushik, 2009) mais l'apport en AG des farines est faible et a généralement peu d'impact (Figeiredo-Silva et al., 2005; Richard et al., 2006a, 2006b). On constate cependant qu'elle entraîne une diminution de l'absorption des nutriments chez la truite arc-en-ciel (Alvarez et al. 1999) et la daurade (Santigosa et al., 2011).

Sur le métabolisme lipidique

Le métabolisme lipidique semble également être affecté par le remplacement des FM via la diminution du taux de cholestérol plasmatique chez la truite arc-en-ciel (Kaushik et al., 1995; Richard et al., 2006) et la daurade (Gómez-Requeni et al., 2004). L'origine de cette diminution peut être la grande proportion d'acides gras insaturés (acide oléique, acide linoléique) contenus dans l'aliment (Dietschy et al., 1998) ou les phytostérols souvent très présents dans les huiles végétales notamment de colza (Phillips et al., 2002). Certaines études montrent également une diminution de l'oxydation des lipides liée à l'utilisation de farines végétales (Alvarez et al. 1999 (FMr : 39 %); Ustaoglu et Rennert, 2002 (FMr: 100 %)).

Sur la santé

Chez les salmonidés, l'usage important de farine de soja semble induire l'apparition d'entérites intestinales (Baeverfjord et Krogdahl, 1996; Burrells et al., 1999). Ces travaux

montrent une perte de l'intégrité des muqueuses de l'intestin ainsi qu'une augmentation des inflammations sur leurs couches inférieures. En dehors de ces études, il semble qu'il y ait peu d'impact de l'utilisation de farines végétales sur la santé des poissons mais des travaux complémentaires sont nécessaires dans ce domaine. Chez le bar européen, (Sitjà-Bobdilla et Pérez-Sànchez, 1999) et la daurade (Sitjà-Bobdilla et al., 2005), les études mettent progressivement en évidence l'impact des taux de substitution élevés de FM sur la santé et les mécanismes immunitaires des poissons.

2-4) Les autres particularités de l'aliment végétal

2-4-1) Les polluants

Les poissons carnivores sont des bio-accumulateurs privilégiés de certaines substances produites par l'industrie et leur consommation peut représenter un risque pour la santé humaine (Alcock et al., 1998). Les substances incriminées sont les polluants organiques persistants (POP), qui comptent les biphényles polychlorés (BPC), les pesticides organochlorés, les polybromodiphényles (PBB), les éthers diphényles polybromés (EDPB) et les métaux lourds dont le mercure (Bélanger-Lamonde, 2008). Si l'accumulation de ces composés est connue depuis longtemps chez les poissons sauvages, elle est étudiée depuis peu chez les poissons d'élevage. Or, les huiles de poissons contiennent ces substances (et dans une moindre mesure les farines) et sont distribuées à un taux élevé dans les systèmes d'élevage. Les résultats provenant des comparaisons d'accumulations entre populations d'élevage et populations sauvages sont hétérogènes. Chez le saumon (plusieurs espèces comparées), ils montrent soit une accumulation supérieure chez les poissons d'élevage (Hites et al., 2004), soit chez les poissons sauvages (Morin, 2006; Blanchet et al., 2005). Sans distinction entre les origines, l'AFSSA déconseille aux femmes enceintes et allaitantes la consommation de poisson situé en haut de la chaîne alimentaire. Dans ce contexte, l'utilisation d'huiles d'origine végétale peut diminuer les risques de contamination (Bélanger-Lamonde, 2008), comme il l'a été confirmé en salmoniculture pour les polluants organiques (Berntssen et al., 2010).

2-4-2) Les minéraux et vitamines

Les minéraux nécessaires au développement des poissons ont de nombreux rôles dans le métabolisme et sont généralement apportés à la fois par l'aliment et par l'eau. Dans le cas de l'utilisation de produits d'origine végétale, il est utile de contrôler l'apport en phosphore, calcium, magnésium, potassium, sodium et soufre. Cependant, il n'existe pas de carences particulièrement liés aux VO et VM et la balance vitaminique est ajustée à l'aide de prémélanges respectant les recommandations existantes (NRC, 2011). Chez la truite arc-en-ciel, les rôles et les symptômes associés aux carences en minéraux et en oligo-éléments sont détaillés dans Kaushik (1999).

2-4-3) Les plantes OGM (organismes génétiquement modifiés)

La production de certaines farines végétales fait aujourd'hui appel à des espèces génétiquement améliorées (OGM). Parmi les farines utilisées en aquaculture, les provendiers s'approvisionnent en particulier en soja, maïs et coton résistants au glyphosate. La commercialisation de ces farines est fortement réglementée en Europe et leur utilisation dans l'aliment piscicole fait l'objet d'une certaine crainte du consommateur. C'est pourquoi les études se multiplient afin d'en évaluer l'impact sur la santé et la qualité des poissons (Sanden, 2004; Sissener, 2009). Pour le moment, aucun impact sur la croissance, la santé ou le stress des saumons n'a été observé lorsque ces derniers sont nourris avec du maïs ou du soja génétiquement modifiée. La traçabilité dans l'organisme des fragments d'ADN issus de l'alimentation réalisée chez l'espèce modèle qu'est le zébra fish (*Danio rerio*) ne laisse pas présager que l'ADN transgénique passe préférentiellement dans l'organisme ni que celui-ci ait un effet négatif sur l'individu (Sissener, 2009). Cependant, des travaux complémentaires sont nécessaires afin de préciser les limites des risques pour le consommateur de poisson d'élevage.

Chapitre 3.

Les principes de l'amélioration génétique et leur application en pisciculture

Très schématiquement, l'amélioration génétique peut se résumer à la sélection d'individus dont les descendants auront, en moyenne, des performances supérieures à celles de leurs parents. Fondée sur l'existence d'une variabilité interindividuelle au sein d'une population, elle a permis, dès le début du 20ème siècle, une amélioration significative des caractères d'intérêt en élevage. Tandis qu'une poule pondeuse de 1940 produisait, en moyenne 120 œufs, ses descendantes issues de programmes de sélection en produisaient 320 en 1980. Durant la même période, la production moyenne de lait par vache est passée de 2000 kg (1945) à 5000 kg (1980) et les gains de poids journaliers chez le porc sont passés de 450 g en 1960 à 800 g en 1980 (Gjedrem, 2005, d'après Eknath et al., 1991). Il faut cependant préciser que ces progrès englobent l'amélioration zootechnique potentielle réalisée chez chacune des espèces durant cette période. Si l'objectif des sélectionneurs est d'identifier les meilleurs candidats pour la reproduction, ils sont également en charge du maintien d'un niveau suffisant de variabilité génétique au sein de la population. Cette variabilité assure une certaine adaptabilité face à des variations environnementales non contrôlées (facteurs abiotiques, pathogènes) et diminue les risques de croisements entre individus fortement apparentés. De plus, elle est également source de stabilité des performances moyennes de la population (Falconer, 1995).

Chez toutes les espèces sélectionnées, les objectifs ont évolué, se sont adaptés à la demande des consommateurs, aux exigences des éleveurs et des filières de transformation mais aussi aux environnements d'élevage. En comparaison des espèces terrestres, la sélection piscicole est plus récente puisqu'elle a débuté dans les années 1970 mais elle a connu des évolutions similaires en un temps réduit. Elle comporte certaines particularités liées à la grande diversité des espèces, leurs modes de reproduction et leurs cycles d'élevage. Dans ce chapitre, nous identifierons d'abord les objectifs de sélection et les programmes existant chez le bar et la truite arc-en-ciel. Ensuite, nous introduirons le concept d'héritabilité et les méthodes d'estimations utilisés en pisciculture. Puis, nous verrons quelles méthodes de sélection existent et comment elles utilisent l'héritabilité estimée. Enfin, nous détaillerons la problématique des interactions génotype-environnement (IGE) avant de se concentrer sur les interactions génotype-aliment (IGA).

3-1) Les objectifs de sélection en pisciculture

3-1-1) Les caractères d'intérêt

Le sex-ratio, l'âge à la maturation sexuelle et la reproduction

Une voie majeure de l'amélioration génétique provient de la maîtrise des caractères liés à la reproduction. Chez la truite arc-en-ciel, la maturation précoce des mâles entraîne un ralentissement de la croissance, une augmentation des mortalités et l'altération de la qualité de la chair. C'est pourquoi, malgré un léger dimorphisme sexuel pour la croissance en faveur des mâles pendant la phase de croissance immature (environ + 10 % par rapport aux femelles, Vandeputte et al., 2008), la production de femelles est plus rentable en élevage, car la puberté est plus tardive, ce qui permet un cycle de croissance prolongé. Chez la truite arc-en-ciel, l'existence d'un déterminisme génétique majeur pour le sexe a été démontrée grâce aux techniques d'inversion sexuelle et de reproduction par gynogenèse (Quillet et al., 1988). La possibilité de produire des lots mono-sexe femelle (Chevassus et al., 1986; Chourrout et al., 1988) a permis de s'affranchir des maturations précoces des mâles. Enfin, la stérilisation des femelles de truite par triploïdisation (Chourrout et al., 1986; Quillet et al., 1988) a été transférée aux professionnels qui la réalisent aujourd'hui en appliquant un choc hyperbare sur les lots d'œufs. Dans ces conditions, la sélection d'individus dont la maturation est tardive reste possible (**Figure 6**) mais elle est peu utilisée en production. De même, la date de ponte est un caractère héritable (Siitonen et al., 1989; Quinton et al., 2002) mais le décalage de la photopériode suffit généralement à contrôler la saison de reproduction et à étaler la production d'œufs au cours de l'année.

Chez le bar européen, la croissance est fortement à l'avantage des femelles (revue de Piferer et al., 2005) et le sex-ratio des populations d'élevage est déséquilibré (70-80 % de mâles, Chavanne et al., 2008). De plus, le déterminisme du sexe est vraisemblablement polygénique (Saillant et al., 2002; Vandepute et al., 2007) et sous influence environnementale (Saillant et al., 2001). Une héritabilité (h^2) modérée pour le sex-ratio a récemment été démontrée (Vandeputte et al., 2007). Des travaux complémentaires sont nécessaires sur le déterminisme sexuel et la maitrise de ce caractère représente une attente forte de la part des éleveurs. Certaines techniques comme la triploïdisation (Peruzzi et Chatain, 2000; Peruzzi et al., 2004) et la production de populations monosexes (Chatain et al., 1999) ont été étudiées.

La croissance

En pisciculture comme dans de nombreuses productions animales, la croissance, le poids et l'âge à la commercialisation sont des caractères essentiels qui ont tous pour objectif de produire des individus de grande taille le plus rapidement possible. Dès les années 1950, des essais préliminaires ont montré chez la truite arc-en-ciel un potentiel de gain génétique pour la croissance (Donaldson et Olson, 1957, cité dans Vandeputte et al., 2008). Chez cette espèce, les premières évaluations de réponse à la sélection ont ensuite confirmé que des progrès importants étaient possibles sur le poids (+ 22 %, Kincaid et al., 1977) et le taux de croissance (+ 4,3 %, Gjerde, 1986; entre + 4,8 et + 12,5 %, Kause et al., 2005). L'estimation d'h^2 pour le poids (BW), la longueur (L) et le coefficient de condition (K) a été réalisée dans un grand nombre de travaux. La moyenne d'h^2 faite sur 22 d'entre eux confirme des valeurs élevées pour BW: 0,31 ± 0,16, L: 0,30 ± 0,15 et K: 0,41 ± 0,21 (**Figure 6**).

Chez le bar européen, les travaux portant sur le sujet sont plus récents et moins nombreux (**Figure 6**) et concluent à des valeurs élevées pour le poids (h^2 = 0,54 ± 0,14) et la longueur (h^2 = 0,37 ± 0,16), plus faibles pour K (h^2 = 0,1) (moyenne réalisée sur 9 études publiées). Ces moyennes donnent une indication pour chaque caractère mais les estimations de chaque étude sont faites dans des conditions spécifiques (âge, souche, température) (**Figure 6**).

De manière générale, le poids est un caractère héritable chez la plupart des poissons d'élevage (Gjedrem et Olesen, 2005) incluant le saumon atlantique (h^2 = 0,35 ± 0,10, Rye et Refstie, 1995), le saumon coho (*Oncorhynchus kisutch*, h^2 = 0,19 ± 0,11, Hershberger et al., 1990), la carpe commune (h^2 = 0,25, Gjedrem et Olesen, 2005), le poisson chat (*Ictalurus punctatus*, h^2 = 0,52 ± 0,42, El-Ibiary et Joyce, 1978), le tilapia (h^2 = 0,32, Jarimopas, 1990) et le turbot (h^2 = 0,70 ± 0,19, Gjerde et al., 1997). Cette h^2 élevée pour le poids (comme pour d'autres caractères) chez les poissons peut provenir de la forte variabilité génétique des populations récemment domestiquées.

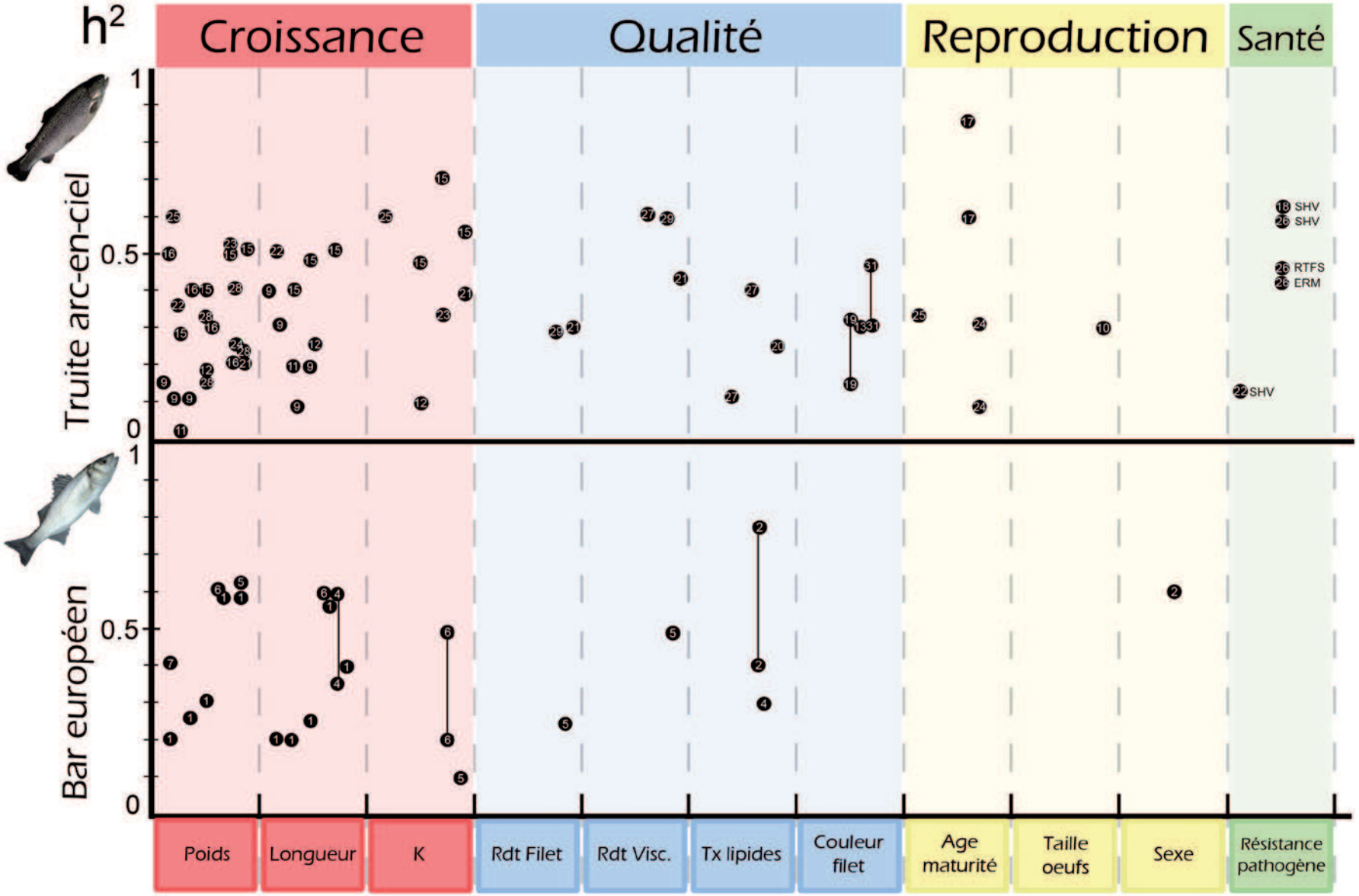

h²
Croissance
Qualité
Reproduction
Santé
Truite arc-en-ciel
Bar européen
1
0.5
0
SHV
SHV
RTFS
ERM
SHV
Poids
Longueur
K
Rdt Filet
Rdt Visc.
Tx lipides
Couleur filet
Age maturité
Taille oeufs
Sexe
Résistance pathogène

Figure 6. Héritabilités estimées pour plusieurs caractères d'intérêt chez la truite arc-en-ciel et le bar européen. Pour chaque caractère, l'ordre des points indique l'âge auquel la mesure a été réalisée. Les traits verticaux indiquent que l'étude fournit plusieurs estimations contenues dans cet intervalle. K: coefficient de condition, SHV: Septicémie hémorragique virale, RTFS : *Flavobacterium psychrophilum*, ERM : *Yersinia ruckeri.*

Les chiffres renvoient aux études suivantes : 1 : Saillant et al ., 2006; 2 : Haffray et al., 2007; 3 : Vandeputte et al., 2007; 4 : Vandeputte et al., 2009; 5 : Saillant et al., 2009; 6 : Dupont-Nivet et al., 2008; 7 : Grima et al., 2010; 8 : Dupont-Nivet et al., 2010; 9 : Chevassus et al., 1976; 10 : Gall et Gross, 1978; 11 : Refstie et al., 1980; 12 : Gunnes et Gjedrem, 1980; 13 : Gjerde et Schaeffer, 1989; 14 : Rye et al., 1990; 15 : Elvingson et Johansson, 1993; 16 : Crandell et Gall, 1993a; 17 : Crandell et Gall, 1993b; 18 : Dorson et al., 1995; 19 : Choubert et al., 1997; 20 : Quillet et al., 2001; 21 : Kause et al. 2002; 22 : Henryon et al., 2002; 23 : Kause et al., 2003a; 24 : Kause et al., 2003b; 25 : Martyniuk et al., 2003; 26 : Henryon et al., 2005; 27 : Tobin et al., 2006; 28 : Kause et al., 2006a; 29 : Kause et al., 2007a; 30 : Kause et al., 2007b; 31 Kause et al., 2008.

La résistance aux maladies

La plupart des espèces d'élevage sont victimes d'épisodes pathogènes et ceux qui touchent les poissons ont souvent des conséquences désastreuses. Aussi, la génétique de la résistance aux maladies est de plus en plus explorée (Quillet et al., 2007, revue) afin d'intégrer la résistance aux principaux pathogènes dans les programmes de sélection (**Figure 6**). Chez la truite arc-en-ciel, on sait aujourd'hui que la résistance à certains virus est héritable : h^2 est comprise entre 0,13 et 0,69 (Dorson et al., 1995; Henryon et al., 2002, 2005) pour la SHV (septicémie hémorragique virale) et entre 0,05 et 0,51 pour la NPI (Yamamoto et al., 1991). De même, la résistance à certaines bactéries a été étudiée et h^2 est de 0,42 pour la résistance à *Yersinia ruckeri* (Henryon et al., 2005), 0,46 pour *Flavobacterium psychrophilum* (Henryon et al., 2005). Chez le saumon atlantique, l'h^2 de la résistance vaut $0,48 \pm 0,17$ pour la furonculose (Gjedrem et al., 1991), $0,23 \pm 0,10$ pour le BKD (maladie bactérienne du rein, Gjedrem et Gjøen, 1995) et $0,25 \pm 0,07$ pour le pou de mer (*Lepeophtheirus salmonis*, Kolstad et al., 2004).

L'estimation des paramètres génétiques de la résistance aux pathogènes nécessite souvent la mise en place de tests de résistance coûteux en installations. C'est pourquoi, des critères indirects de sélection sont recherchés comme les paramètres sanguins, immunologiques ou la culture de virus sur explants de nageoires (Quillet et al., 2007). Enfin, la recherche et la validation de QTL (Quantitative Trait Loci) est une voie privilégiée des travaux portant sur les maladies et plusieurs résultats existent chez la truite arc-en-ciel pour l'NHI (Nécrose hématopoïétique infectieuse, Khoo et al., 2004; Rodriguez et al., 2004), la NPI (Nécrose pancréatique infectieuse, Ozaki et al., 2007) et la SHV (Quillet, non publié). Chez le bar, il n'existe pas encore d'étude à ce sujet.

La qualité de la chair et des carcasses

La qualité des poissons renvoie à la fois aux paramètres de transformation, à la conformation et à la composition du filet. Il est possible d'améliorer les rendements en carcasse et en filet chez le bar et la truite (**Figure 6**) pour lesquels les h^2 valent respectivement 0,25 et 0,29-0,33. De même, le coefficient de condition de Fulton (K) qui fournit une mesure de la conformation du poisson est héritable chez les deux espèces (**Figure 6**) même si le critère utilisé en sélection est plus complexe et s'appuie sur une note visuelle de conformation globale. Le taux de lipides du filet peut être estimé à travers la peau par l'absorption de micro-ondes (FatMeter, Quillet et al., 2005; Saillant et al., 2009) et l'héritabilité de ce caractère est moyenne à élevée chez la truite (0,13-0,40, **Figure 6**) et le bar (0,28-0,77, **Figure 6**). Le déterminisme génétique de la couleur du filet a été beaucoup étudié chez les salmonidés et est fortement influencé par l'utilisation de pigments alimentaires. Récemment, des travaux ont prouvé que la rétention en AG était également un caractère héritable chez le saumon (0,77 ± 0,14 pour les AGPI-LC n-3, Leaver et al. 2010) et le tilapia du Nil (Nguyen et al., 2010), confirmant que des progrès sur la qualité nutritionnelle sont envisageables.

L'efficacité alimentaire

En prise directe avec les objectifs de la production, la capacité à convertir efficacement l'aliment ingéré est un enjeu essentiel. L'efficacité alimentaire (EA) est le rapport entre le gain de poids d'un individu et la quantité d'aliment ingéré. Chez les poissons, ce ratio est élevé (environ 1,2 chez la truite arc-en-ciel, 0,7 chez le bar) et les progrès obtenus en sélection chez les animaux terrestres sur ce critère ont encouragé les travaux chez les poissons. Aujourd'hui, cet objectif n'a pas encore pu être intégré aux programmes de sélection car il n'existe pas de critère d'efficacité alimentaire facilement mesurable chez les poissons. En effet la connaissance de la consommation individuelle est très difficile mais deux critères ont donné des résultats encourageants. Le premier utilise un aliment contenant des billes radio-opaques et consiste à évaluer l'ingéré immédiat (une heure après le repas) à l'aide de photographies aux rayons X de poissons anesthésiés (Kause et al., 2006b; Grima et al., 2008). Le second est un critère indirect utilisant la corrélation génétique existant entre l'efficacité alimentaire, la résistance au jeun et la croissance compensatrice après un jeun (Grima et al., 2010). Si la variabilité génétique existe chez le bar européen pour ce critère complexe, il nécessite cependant des travaux complémentaires pour vérifier son efficacité en sélection.

3-1-2) Les objectifs et programmes de sélection chez la truite et le bar

Si les programmes de sélection se sont développés récemment, ils sont à présent incontournables, en particulier dans le secteur de la production de poissons carnivores. Toutes espèces confondues, l'Europe compte 22 organismes de sélection, majoritairement privés (Aquabreeding, 2009) et leur localisation est indépendante des bassins de production.

Chez la truite arc-en-ciel, 8 entreprises de sélection dont 4 en France fournissent œufs et juvéniles pour 15 pays. Les caractères intégrés aux programmes de sélection européens sont en majorité la croissance (8 programmes sur 8), la qualité des produits (6/8), la morphologie (6/8), les rendements de transformation (5/8), la résistance aux maladies (3/8), et la maturité/fécondité (3/8) (Aquabreeding, 2009).

Chez le bar européen, on dénombre 2 programmes de sélection (l'un en France, l'autre en Grèce). La maitrise du cycle de production est plus récente mais la croissance du secteur est rapide. La production de juvéniles en Europe atteignait un demi-milliard d'individus en 2008 et on peut considérer que seul 20 % de ceux-ci étaient issus d'un programme de sélection génétique (Chatain et Chavanne, 2009). Chez cette espèce, les deux entreprises européennes de sélection axent leur travail sur la croissance (2/2), la qualité des produits (1/2), la morphologie (1/2) et la résistance aux maladies (1/2) (Aquabreeding, 2009).

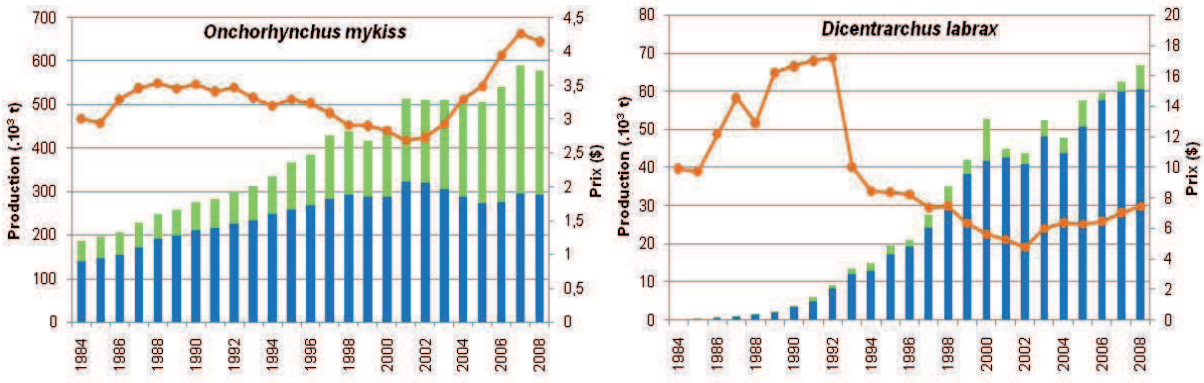


Figure 7. Production en 10^3 t de truite arc-en-ciel et de bar européen en Europe (en bleu) et dans le reste du monde (en vert). Le prix de vente (en orange) de chacune de ces espèces est indiqué par kilo (FAO, Fishstat, 2008).

La diffusion du progrès génétique vers d'autres pays risque de s'intensifier tant les bassins de production se développent en dehors de l'Europe. C'est le cas de la truite dont la production mondiale augmente mais stagne en Europe (**Figure 7**). C'est la situation à laquelle

ont été confrontées les entreprises de sélection norvégiennes lors du développement de la production chilienne de saumon atlantique. Aujourd'hui, les sélectionneurs norvégiens produisent une grande quantité d'œufs destinée au grossissement en Amérique du Sud.

3-2) Les particularités de l'estimation de l'héritabilité en pisciculture

3-2-1) L'héritabilité des caractères quantitatifs

Les caractères quantitatifs

Orr (1999) décrit l'histoire de la génétique quantitative comme une curieuse torsion. D'un côté, les théoriciens comme Fisher affirmaient dès 1930 que la réponse à la sélection et l'adaptation impliquaient l'intervention de nombreux gènes aux effets phénotypiques faibles. De l'autre côté, presque tous les exemples étudiés suggéraient l'implication d'un nombre modeste de gènes (souvent un) ayant chacun un fort effet. Aujourd'hui, les deux approches coexistent dans la conduite de programme de sélection mais l'amélioration des caractères d'intérêt de type quantitatif est fondée en grande partie sur la première approche. Ces caractères quantitatifs se mesurent sur une échelle métrique ou continue et la répartition de leurs performances (aussi appelée valeurs phénotypiques) est continue au sein d'une population. On considère ainsi que des caractères comme la croissance ou le volume de lactation sont des caractères contrôlés par plusieurs dizaines de gènes et qu'ils font appel à plusieurs processus biologiques (Minvielle, 1990). La valeur phénotypique (P) d'un individu est décomposable en une valeur génotypique (G) et une valeur environnementale (E).

$$P = G + E$$

La valeur génotypique G se décompose en une composante génétique additive (A), une composante génétique de dominance (D) et une composante d'épistasie (I).

$$P = A + D + I + E$$

(A) correspond aux effets additifs des gènes, leur somme constitue la valeur génétique additive de l'animal. L'amélioration génétique des caractères quantitatifs s'appuie fortement sur cette valeur génétique additive car il s'agit de la composante génétique transmissible entre parent et descendant. En espérance, la valeur génétique additive des descendants vaut la

moyenne de la valeur des parents. Cette valeur génétique est répartie selon une distribution normale dès que le caractère est gouverné par un nombre suffisamment élevé de gènes. (D) correspond aux effets d'interactions existantes entre les allèles d'un même locus. La somme de ces effets représente la valeur génétique de dominance. Ces effets ne sont pas transmissibles à la descendance. (I) provient des effets des interactions complexes entre gènes et leur somme représente la valeur génétique d'épistasie. De manière générale, (I) est négligée en amélioration génétique car elle ne se transmet pas non plus de façon prévisible et son étude est particulièrement complexe. La valeur environnementale regroupe tous les facteurs non génétiques qui peuvent influer sur la valeur phénotypique. Selon qu'on considère les valeurs génotypique et environnementale strictement additive ou non, on néglige l'effet de l'interaction entre ces valeurs ou au contraire, cette interaction (G x E) intervient comme une composante de la valeur phénotypique (3-3).

L'héritabilité

Avant même l'évaluation des géniteurs, la mise en place d'un programme d'amélioration génétique nécessite de déterminer les objectifs prioritaires de sélection. Ils dépendent des objectifs d'amélioration du secteur de production mais aussi de l'efficacité potentielle de la sélection pour ce caractère. Pour évaluer cette efficacité, le sélectionneur doit disposer d'une estimation de l'héritabilité, une valeur d'autant plus élevée que le caractère est transmissible aux descendants. Il en existe deux définitions (au sens large et au sens restreint) mais seule sa forme restreinte est suffisamment précise pour être utilisée en sélection. Au sens large, elle est calculée comme le ratio entre la variance génotypique sur la variance phénotypique du caractère dans un environnement donné. Elle est comprise entre 0 et 1 et peut être considérée faible ($h^2<0,2$), modérée ($0,2<h^2<0,4$) ou élevée ($h^2>0,4$). Dans sa définition restreinte, la valeur génétique est réduite à sa partie transmissible et l'héritabilité (h^2) s'écrit :

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_P^2}$$

Où σ^2_A est la variance additive et σ^2_P la variance phénotypique. Dans le cas d'une sélection individuelle, on peut estimer le gain génétique prévu pour ce caractère à partir d'h^2 :

$$\Delta G = i \times h^2 \times \sigma_P$$

Avec ΔG le gain génétique prévu en unité du caractère, i l'intensité de sélection, h^2 l'héritabilité du caractère et σ_P l'écart-type phénotypique du caractère. Il existe plusieurs méthodes pour estimer h^2. Il est possible de calculer une régression entre parents et descendants, de mesurer le gain effectivement réalisé après une sélection ou d'utiliser les covariances entre individus apparentés. Les particularités de cette dernière méthode en pisciculture sont détaillées dans le chapitre sui suit.

3-2-2) L'estimation de l'héritabilité par l'étude de la covariance entre apparentés

Cette méthode d'estimation est couramment utilisée en pisciculture car elle ne nécessite ni la production d'une lignée sélectionnée (estimation de l'héritabilité réalisée) ni la connaissance des performances parentales (régression parents-descendants). Toutefois, un certain nombre de paramètres conditionne la précision de l'estimation. Nous en donnons ici un aperçu en insistant sur les spécificités des poissons.

La précision et la répétabilité de la mesure

La mesure du caractère étudié doit être précise, répétable et doit interagir le moins possible avec les conditions environnementales. Chez les poissons, la mesure de nombreux paramètres nécessite l'anesthésie et la sortie de l'eau des individus. Les mesures doivent donc être rapides et réalisables sur un grand nombre d'individus dans le respect du bien-être des animaux. Lors de l'étude de caractères « létaux » comme les rendements technologiques (éviscération, filetage) ou la qualité de la chair (texture, couleur), on optimise classiquement cette répétabilité par un étalonnage régulier des appareils et en conservant le même opérateur pour une série de mesure.

Dans le cas où aucune mesure satisfaisante n'existe, il est possible d'estimer la corrélation génétique existant entre le caractère d'intérêt et un caractère facilement mesurable et ainsi d'identifier un critère indirect. Chez la truite, cette démarche a été utilisée pour la mise au point de critères de sélection non invasifs informant sur la qualité du filet (composition en lipides, rendement filetage). On a, par exemple, utilisé la forte corrélation génétique (0,7) existant entre le taux de lipides du filet et la proportion d'eau détectée dans la

chair par micro-ondes (Fish Fatmeter, Douirin et al., 1998; Haffray et al., 2004) pour sélectionner deux lignées expérimentales de truites grasse/maigre (Quillet et al., 2005). Chez le bar européen, la corrélation génétique existant entre l'épaisseur de la paroi abdominale et le rendement à l'éviscération a permis de mettre au point un critère de sélection pour ce dernier en l'associant à un descripteur anatomique de la répartition des masses corporelles (Haffray et al., 2004).

La structure du plan de croisement

Chez les poissons, la fertilité des femelles permet d'envisager des croisements de grande envergure. Ils sont utiles pour estimer précisément les variances intra/inter familiales. Toutefois, ils nécessitent la maitrise de la reproduction artificielle et l'obtention de gamètes de qualité homogène. Si cela est possible depuis longtemps chez la truite arc-en-ciel, ces croisements sont maitrisés depuis peu chez le bar, en particulier grâce à la synchronisation des maturations sexuelles et à la cryo-préservation des spermes.

Divers types de croisement sont alors envisageables et présentent chacun leurs particularités (Gjerde, 2005; Vandeputte, 2010). Pour l'estimation de paramètres génétiques, les croisements factoriels (tous les mâles avec toutes les femelles et toutes les femelles avec tous les mâles) sont souvent préférés aux croisements hiérarchiques (un mâle pour plusieurs femelles et un seul mâle par femelle) et aux croisements par paires (un mâle avec une femelle) car ils permettent de constituer de grandes familles de demi-frères/sœurs issus de nombreuses mères et de distinguer les effets génétiques additifs, les effets maternels, de dominance et d'environnement (Dupont-Nivet et al., 2002). Le nombre optimum de parents, de descendants et le type de croisement sont également discutés dans Vandeputte et al. (2001) pour le bar européen selon la valeur de l'h^2 du caractère.

Les effets d'environnement communs

La petite taille des œufs et des juvéniles rend impossible le marquage précoce, il est impossible de connaitre les parents d'un individu issu d'un groupe de familles mélangées. Deux stratégies sont classiquement utilisées dans le cas de l'estimation des paramètres génétiques. La première consiste à différencier les familles dès le croisement et à les élever dans des bassins distincts. Lorsque les poissons atteignent la taille suffisante pour les marquer

individuellement, il est alors possible de mélanger les familles. Cette méthode peut s'avérer coûteuse en termes d'installations expérimentales et est source de confusion entre l'effet familial et l'effet d'environnement commun avant marquage (propre à un bac d'élevage) (Herbinger et al., 1999). Refstie et Steine (1978) ont prouvé que l'effet environnemental lié au bassin d'élevage pouvait contribuer à 10 % de la variance totale pour la croissance, aussi, le biais peut-il être important.

La seconde stratégie bénéficie des avancées faites récemment en génétique moléculaire chez les espèces aquatiques (Herbinger et al., 1995; Estoup et al., 1998). Les microsatellites mis en évidence chez ces espèces permettent de reconstituer les parentés à partir d'un échantillon d'ADN prélevé sur les individus et les parents potentiels. Ainsi, les familles peuvent être mélangées dès les premiers stades et distinguées *a posteriori* (Norris et Cunningham, 2004; Vandeputte et al., 2004). En associant cette méthode à un marquage individuel, il est possible de suivre les performances de chaque famille dans le temps, y compris lors de transfert entre bassins. Le marquage se fait à l'aide de transpondeurs magnétiques passifs (PIT-tag) lorsque les poissons ont atteint une taille suffisante pour tolérer la marque mais elle peut engendrer des mortalités post-marquage. Il existe une part de la variabilité environnementale qui est difficile à estimer, elle provient de l'hétérogénéité des conditions d'élevage entre bassins supposés identiques, des interactions sociales et des comportements agressifs. Afin d'estimer au mieux les performances réelles des familles, les lots sont souvent répliqués.

3-3) Les méthodes de sélection en pisciculture

3-3-1) La population de base

Tout programme de sélection doit débuter par la constitution d'une population de base présentant une forte variabilité génétique (Gjedrem, 2005). La récente domestication de la plupart des espèces de poisson facilite souvent l'obtention de cette variabilité. Toutefois, il peut être utile de disposer d'un état des lieux des ressources génétiques naturelles disponibles. Chez le bar, par exemple, des échantillonnages régionaux associés à des analyses de marqueurs génétiques ont mis en évidence l'existence de trois populations génétiquement distinctes, en Atlantique Nord-est, en Méditerranée Ouest et en Méditerranée Est (Chavanne

et al., 2008; Chatain et Chavanne, 2009). Le sélectionneur peut alors choisir une population ou collecter des individus issus de sous-populations distinctes afin de créer une population « synthétique ». C'est la méthode choisie par le programme de sélection norvégien pour le saumon (Gunnes et Gjedrem, 1978). Celui-ci a prélevé des reproducteurs dans 40 rivières de plusieurs régions norvégiennes et a mis en compétition les sous-populations durant les premières générations. Dans ce cas, l'absence de mélange des différentes sous-populations aboutît rapidement à la disparition des moins performantes (Gjerde, 2005).

Il est possible d'éviter cette perte initiale de variabilité génétique en réalisant, dès la première génération, un croisement complet entre les populations. Il s'agit de la stratégie utilisée pour la méthode PROSPER (3-3-2) développée par l'INRA dans les années 1980 sur la truite commune (*Salmo trutta*). Elle a été également choisie pour le programme de sélection GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) mis en place chez le tilapia en Asie.

La population de base peut également trouver son origine dans l'hybridation de souches présentant des performances intéressantes, visant alors la recherche de vigueur hybride (*heterosis*). On trouve des exemples de cette stratégie pour le poisson chat, la carpe et le tilapia (Fjalestad, 2005). Dans ce dernier cas, la population hybride provenait d'un croisement entre une souche à forte croissance (*Oreochromis Mossambicus*) et une souche résistante à une salinité élevée (*Oreochromis Niloticus*), à partir de laquelle la croissance a été ensuite sélectionnée.

Dans toutes ces situations, l'identification d'un lot témoin est essentielle. Il sert de référence pour le calcul du gain génétique apporté par la sélection indépendamment des variations interannuelles fréquentes en élevage (Bolivar et Newkirk, 2002). De même, l'entretien de cette souche dans des conditions d'élevage similaires au lot sélectionné évite de comptabiliser involontairement les gains dus à l'amélioration de la maîtrise zootechnique. Pourtant, l'entretien d'une telle population est souvent coûteux et les sélectionneurs y ont rarement recours, si bien que les comparaisons se font essentiellement avec les souches concurrentes.

3-3-2) Les méthodes de sélection

Il existe aujourd'hui plusieurs méthodes de sélection utilisée en pisciculture. Elles diffèrent essentiellement par la quantité d'informations disponibles sur les individus soumis à la sélection et leur apparentés. On distingue 1) la sélection individuelle : on ne connait que la performance de l'individu par rapport à la moyenne de la population 2) la sélection familiale : on connait les performances des apparentés (parents, frères-sœurs, grands-parents) de l'individu et parfois celle de l'individu 3) la sélection assistée par marqueurs : un certain nombre de marqueurs génétiques propres à l'individu sont connus.

Elles sont liées aux nombreuses contraintes propres à l'élevage de poissons. Tout d'abord, l'accès direct aux individus est rendu difficile par le milieu d'élevage et les mesures nécessitent souvent l'anesthésie, la sortie de l'eau, et engendre une augmentation du stress. Ensuite, l'impossibilité de marquer les individus précocement rend impossible les suivis individuels avant l'acquisition d'une taille limite. Le nombre important d'individus au sein d'une même unité d'élevage (bac, étang) fait souvent d'une biométrie exhaustive un chantier de longue durée. Pour ces raisons et pour les particularités inhérentes à chaque espèce, le choix du type de sélection est un aspect essentiel et peut différer des modèles observés chez les animaux terrestres.

La sélection individuelle (ou sélection massale)

Il s'agit probablement de la méthode de sélection la plus utilisée en pisciculture dans le monde en raison de la facilité de sa mise en œuvre et de son faible coût. Elle consiste à sélectionner les individus présentant les meilleures performances sans distinction familiale. Elle est peu coûteuse et permet d'imposer une pression de sélection élevée. Toutefois, il est impossible de contrôler la consanguinité dans les lots sélectionnés, ce qui peut mener à une forte réduction du gain génétique (Hulata et al., 1986; Teichert-Coddington et Smitherman, 1988). Or, la taille des œufs et la date de ponte peuvent avoir une forte influence sur la croissance des individus (Crandell et Gall, 1993a) et la méconnaissance des familles représentées peut facilement mener à la sélection d'apparentés. La sélection massale est efficace pour des caractères présentant une forte héritabilité (Vandeputte, 2010) mais ne peut être pratiquée que sur un seul caractère à la fois et sur des individus vivants. Il est néanmoins

possible de sélectionner successivement des caractères différents en pratiquant une sélection séquentielle.

Dans les années 1980, une méthode de sélection individuelle optimisée pour la croissance (PROSPER, PRocédure Optimisée de Sélection individuelle Par Epreuves Répétées) a été mise en place sur la truite commune (Chevassus et al., 2004). Elle tient compte des risques potentiels d'effets maternels non génétiques, des interactions sociales pouvant mener à la sélection d'individus d'une valeur phénotypique plus intéressante que leur valeur génotypique et des risques de réduction rapide de la variabilité génétique. Cette méthode a permis un doublement du poids moyen après 4 générations de sélection. Dès 1993, cinq producteurs français de truite arc-en-ciel ont investi dans cette méthode, assistés par le SYSAAF (Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français) avec pour objectif l'amélioration de la croissance. Depuis, de nouveaux critères liés à la qualité de la chair ont été intégrés.

La sélection fondée sur l'information familiale

Une estimation plus fine de la valeur génétique d'un individu peut être obtenue par l'utilisation des valeurs phénotypiques de ses apparentés. A l'issue d'un croisement, l'élevage des différentes familles dans des bassins séparés permet de différencier les performances de demi/plein frères/sœurs. Lorsque les poissons ont atteint une taille suffisante, ils peuvent être individuellement marqués puis mélangés afin de limiter les effets d'environnement communs. Lorsque cette information est disponible, la sélection familiale utilise les meilleures familles sans distinguer les individus à l'intérieur de chacune, la sélection intra-familiale utilise les individus avec les meilleurs phénotypes issus de chacune des familles et la sélection combinée utilise les deux critères de sélection. L'efficacité de ces méthodes dépend de nombreux facteurs (Gjerde, 2005; Vandeputte, 2010) mais la sélection combinée a été majoritairement adoptée par les sélectionneurs européens de truite arc-en-ciel (Aquabreeding, 2009). Chez le bar européen, les deux programmes de sélection existant ont recours à la sélection individuelle et à la sélection intra-familiale (Aquabreeding, 2009).

Une autre méthode très utilisée en sélection bovine consiste à sélectionner les géniteurs sur la base des performances de leurs descendants, il s'agit du testage sur descendance. Elle est la plus précise, en particulier lorsqu'il est possible de tester un grand nombre de

descendants. Toutefois, la mesure des performances des descendants impose un délai d'autant plus important que l'intervalle de génération est grand et les géniteurs sont souvent fragiles. Après l'émission de gamètes, les saumons atlantique meurent massivement et il est parfois difficile de maintenir en vie des truites arc-en-ciel mâles. Ces dernières années, la standardisation de la cryopréservation des spermes a permis de reconsidérer ce problème. La création de banque de spermes facilite l'usage des semences après testage sur descendance.

La dernière source d'information familiale provient des générations précédentes. Certains programmes de sélection ont établi un suivi des performances pour plusieurs caractères et sur plusieurs générations. C'est le cas des programmes de sélection norvégien et finlandais qui estiment la valeur génétique d'un individu et les effets liés à l'environnement grâce à la procédure BLUP (Best Linear Unbiaised Prediction) associée à un modèle animal.

L'utilisation des marqueurs génétiques en sélection

Un artefact problématique de l'estimation des valeurs génétiques individuelles à partir des performances phénotypiques individuelles et de celles des apparentés est leur confusion potentielle avec les effets environnementaux. En élevage piscicole, la part de variance due à l'environnement peut être importante et les différences observées entre des familles élevées dans des bassins identiques (ou voulus identiques) peuvent être d'origine non génétique. Pour limiter ce biais, le marquage des individus et l'élevage en commun est une solution efficace. Elle est utilisée pour la sélection de saumon en Norvège mais le marquage n'est possible qu'au-delà d'une taille limite et n'empêche pas l'effet de l'élevage précoce des familles en bassins séparés. Grâce aux avancées réalisées sur les marqueurs génétiques moléculaires, il est aujourd'hui possible de reconstituer les parentés des individus à partir d'un échantillon de leur ADN. Les marqueurs présents sur leur génome sont comparés à ceux identifiés chez les parents. Chez le bar et la truite, on dispose de jeux de microsatellites à partir desquels il est possible d'identifier les généalogies avec une grande précision. De nouveaux marqueurs sont en développement, comme les SNP (Single Nucleotid Polymorphism), et pourrait modifier les méthodes et leurs prix à court terme. Cette méthode présente plusieurs avantages. En premier lieu, l'élevage en commun dès les premiers stades limite le nombre de bassins d'élevage. Ensuite, cette méthode est utilisable en conditions de production et permet d'estimer les performances individuelles dans les conditions réelles de production.

3-3) Les interactions génotype-environnement (IGE)

3-3-1) La problématique

En fournissant des œufs ou des juvéniles, le sélectionneur s'engage à fournir à ses clients une population dont les performances seront supérieures à la moyenne au vu des objectifs de sélection. Le producteur opère ainsi un contrôle de l'efficacité du programme sur son site via la mesure des phénotypes. Cependant, les conditions d'élevage peuvent différer fortement d'un site à l'autre. Le seul secteur français de pisciculture de truite compte environ 800 sites de production (Roque d'Orbcastel et al., 2009), et l'exportation des individus sélectionnés est très courante (3-1-2).

Or, une hypothèse forte faite lors de l'estimation des gains génétiques est que l'interaction entre variances génétiques et environnementales est négligeable, i.e. que la covariance entre celles-ci est nulle. Dès 1947, Hammond recommandait que le testage des animaux sélectionnés ait lieu sur le lieu d'élevage supposant l'existence d'interactions entre les génotypes et l'environnement (IGE). Depuis, l'IGE a été mise en évidence chez plusieurs espèces, montrant la propension de génotypes à exprimer des phénotypes contrastés selon l'environnement. En découle un biais dans l'estimation de la valeur génétique effective d'un individu ou d'une famille en fonction du milieu d'élevage. Il faut cependant différencier la réaction d'un génotype à un environnement et l'interaction génotype environnement. S'il existe une stricte additivité entre l'effet du génotype et l'effet environnemental (**Figure 8-1**), l'écart entre les moyennes relatives aux différentes modalités de milieu est le même pour tous les génotypes (Falconer et Mackay, 1995).

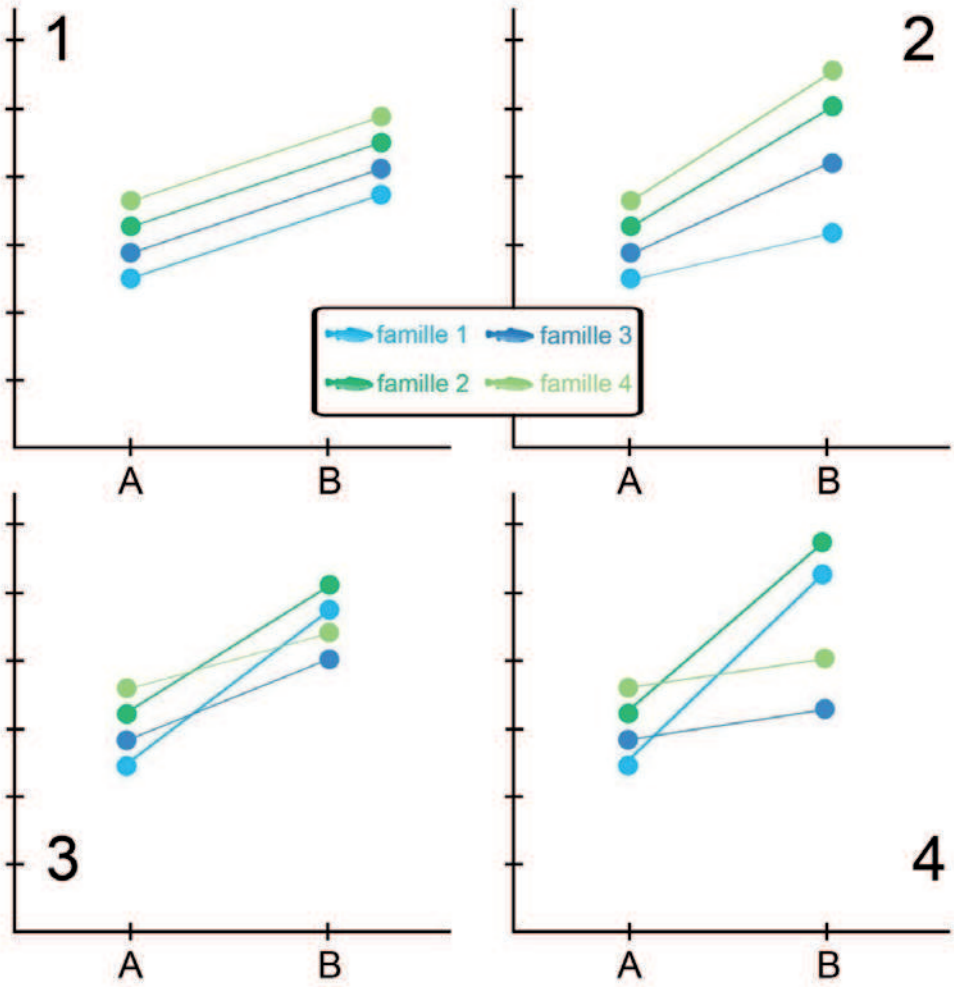


Figure 8. Classifications des différents types d'interaction entre génotype et l'environnement.

L'écart entre les génotypes et leur classement reste alors inchangé quel que soit l'environnement. C'est la situation idéale, qui n'exige pas d'adaptation du programme de sélection en fonction de l'environnement dans lequel seront élevés les descendants sélectionnés (Verrier, 2001). Lorsque les environnements ont un impact différent sur les génotypes, trois situations peuvent se produire. Les écarts entre génotypes sont modifiés mais le classement reste inchangé (**Figure 8-2**); le classement et les écarts sont modifiés (**Figure 8-3**); le classement, les écarts et la variabilité dans le milieu sont modifiés (**Figure 8-4**). Dans les deux derniers cas, on peut parler d'une interaction génotype-environnement (IGE) que Dickerson (1955) nomme dérapage génétique. Il existe différents types de classification des IGE, la plus répandue étant celle développée par Haldane (1946). Celle-ci a été reprise et complétée par la suite (Lerner, 1950; Weber et Le Roy, 1956; Pani, 1976; Trüger et Hühn, 2000, cités dans N'Dri, 2006), ces classifications reposent sur le classement entre l'effet du

génotype, de l'environnement et de l'interaction et peuvent être simplifiées, dans notre cas, aux quatre situations précédemment décrites. Des reclassements importants tendent à prouver que des gènes favorables dans un environnement peuvent devenir moins avantageux dans un autre ou que leur expression peut être fortement modifiée selon ces environnements (Lecomte, 2005).

3-3-2) L'estimation

Il existe trois méthodes utilisées classiquement pour estimer l'importance des IGE. La première est fondée sur l'approche mono-caractère, l'expression de la performance dépend du génotype, de l'environnement et de l'interaction entre le génotype et l'environnement (Van der Werf et al., 1991; Dimov et al., 1995). Dickerson (1962) précise que l'utilisation de cette méthode est difficile lorsque les données sont déséquilibrées ou qu'il existe une hétérogénéité de variance entre les environnements (Hammami et al., 2009). Le modèle utilisé est :

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + E_j + GxE_{ji} + e_{ijk}$$

où Y_{ijk} est le phénotype de l'individu k (k = 1, 2, …, N) de génotype i dans le milieu j, G_i la déviation attribuable au génotype i (i = 1, 2, …n), E_j la déviation attribuable à l'environnement j (j = 1, 2, …, m), GxE_{ji} la déviation attribuable à l'interaction entre le génotype i et l'environnement j et e_{ijk} les déviations résiduelles dues aux microenvironnements. On suppose que G_j, GxE_{ij} et e_{ijk} suivent une loi normale d'espérance nulle et de variances σ^2G_j, σ^2GE_{ij} σ^2E_{ijk}.

Une seconde méthode repose sur l'approche multi-variée, elle consiste à considérer le même caractère dans chacun des environnements comme des caractères différents. Cette méthode décrite par Falconer (1952), dite des différents « états du caractère » ou « character state » repose sur l'estimation de la corrélation génétique existant entre deux environnements. Le modèle utilisé est le suivant :

$$Y_{ijk} = \mu_i + g_{ij} + e_{ijk}$$

où Y_{ijk} est le phénotype d'un individu k (k = 1, 2, …, N) de génotype j (j = 1, …, m) dans le milieu i (i = 1, …, n), μ_i est l'effet fixe du milieu i, g_{ij} l'effet aléatoire du génotype j dans le milieu i et e_{ijk} la résiduelle du modèle. On suppose que g_{ij} suit une distribution normale d'espérance nulle de variance $\sigma^2 g_i$, de covariance $cov(g_{ij}, g_{i'j}) = \sigma^2 g_{ii'}$ pour $i \neq i'$ et $cov(g_{ij}, g_{ij'}) = \sigma^2 g_{jj'}$ pour $j \neq j'$.

Une étude récente de Sae-Lim et al. (2010) a identifié les conditions de croisement pour lesquelles l'estimation de l'IGE est la plus précise chez les poissons. Pour un caractère ayant une héritabilité faible (0,1), un faible nombre de familles (50) de grande taille (25 individus par familles, 1000 individus au total) suffit pour estimer la corrélation génétique avec précision. Pour un caractère ayant une héritabilité modérée (0,3), l'analyse de 100 familles de 10 individus (1000 individus au total) est efficace pour l'évaluation de l'IGE, et ce, même si la survie est plus faible dans un des environnements.

Il existe une troisième méthode d'estimation de l'IGE dîtes des normes de réaction et fondée sur la comparaison de plus de deux environnements, mais on rencontre rarement ce cas dans les travaux réalisés sur les poissons.

Si les démonstrations de l'existence d'IGE s'accumulent depuis plusieurs années chez des espèces végétales et animales, le choix a été fait, dans ce mémoire, de se limiter aux exemples connus chez les poissons et de fournir, par la suite, des exemples multi espèces pour le cas particulier des interactions génotype aliment.

3-3-3) Les IGE chez les poissons ?

Chez les poissons, les études portant sur les IGE sont peu nombreuses et les conclusions sont contrastées. Si la plupart mettent en évidence l'existence d'IGE en comparant des conditions d'élevage, l'effet de cette interaction sur les performances reste faible.

Dès 1976, Gunnes et Gjedrem mélangèrent 37 lignées (issues de 37 rivières) de saumon atlantique et étudièrent leur croissance dans 5 types de cages sur la côte norvégienne. Ils

conclurent que les lignées se classaient de façon similaire pour le poids dans tous les sites (Gjedrem, 2005). L'interaction entre lignée et environnement était significative mais la part de variance phénotypique que celle-ci expliquait était faible (entre 1,3 et 3,1 %). A cette époque, ces conclusions poussèrent l'organisme de sélection norvégien à produire une seule population pour l'ensemble des élevages en négligeant l'impact des IGE. Cependant, les mêmes sélectionneurs sont aujourd'hui conscients du risque que représente cette stratégie à l'heure où le nombre de stations de testage a diminué et que les destinations d'expédition des animaux sélectionnés se diversifient (The Research Council of Norway, 2007). Chez le saumon chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), aucune interaction n'a été observée lors de la comparaison de trois sites de grossissement de Colombie-Britannique à l'aide de deux lignées (Winkelman and Peterson, 1994). Chez la truite arc-en ciel, les premières estimations ont été réalisées en Norvège (Gunnes et Gjedrem, 1981) sur un grand nombre d'individus (23 086) élevés pendant 18 mois dans des fermes disposant de cages en mer. Les analyses ont confirmé l'existence d'une interaction père-ferme significative pour le poids mais la part de variance expliquée demeurait faible (< 5,5 %). Sylven et al. (1991) ont travaillé sur le poids à l'abattage pour des individus issus d'un croisement hiérarchique entre 35 mâles et 131 femelles. Après un an et demi d'élevage en eau douce, trois environnements d'élevage ont été comparés en Norvège et en Suède en estimant la corrélation génétique pour le poids entre ceux-ci. Ils ont constaté que l'IGE était faible entre un élevage en eau saumâtre et en eau de mer (Rg = 0,86) et entre un élevage en eau de mer et en eau douce (Rg = 0,72), mais qu'elle était forte entre un élevage en eau douce et en eau saumâtre (Rg = 0,58). De même, Eknath (1993) a mis en évidence une IGE significative pour le poids chez le tilapia du Nil aux Philippines, mais n'expliquant qu'une faible part de la variance phénotypique totale (0,3 %). Cette étude se concentrait sur la comparaison de systèmes contrastés : étangs classiques, systèmes intensifs, co-culture riz tilapia et cages.

D'autres études ont observé des IGE plus significatives en comparant les performances de lignées de truite arc-en-ciel dans différents lacs (Klupp et al., 1978; Ayles et Baker, 1983), à différentes densités d'élevage (Rg = 0,32-0,90, Bagley et al., 1994) ou à des salinités différentes (saumâtre-eau douce) (Rg = 0,6, Kause et al., 2003a). L'élevage de saumons atlantique issus de croisements dans des cages de différentes zones côtières a également confirmé une IGE pour l'âge de maturité sexuelle (Wild et al., 1994). Enfin, chez le bar

européen, une première étude en 2006 a montré une faible corrélation entre les EBV (Estimated Breeding Value) des pères dans des environnements à haute/basse température ou à faible/haute densité (Saillant et al., 2006). Ceci confirme que la température et la densité d'élevage peuvent être source d'IGE. Dupont-Nivet et al. (2008; 2010) ont ensuite mis en évidence l'existence d'IGE en comparant des structures d'élevage contrastées dans le bassin méditerranéen : système recirculé semi-fermé (France), bassin en béton alimenté en eau de forage (Italie), étang estuarien semi-intensif (Portugal), cage en mer à température élevée (Israël)). Les interactions les plus importantes ont été obtenues pour le taux de croissance (Rg = 0,21-0,39) en comparant le système recirculé aux autres. De plus, l'étude du taux de croissance (DGC) de juvéniles ayant eu une part d'élevage en commun a confirmé ces résultats. En comparant 61 familles de daurades élevées en bassins ou dans des cages en mer, Navarro et al. (2009) ont récemment mis en évidence une IGE pour le taux d'humidité (Rg = 0,27), le taux de lipides (Rg = 0,22) et le taux de collagène (Rg = 0,35) du filet mais pas pour le taux de gras viscéral (Rg = 0,81). Enfin, en simulant un programme de sélection appliqué à l'échelle nationale sur la carpe (*Cyprinus carpio*) au Vietnam, Ponzoni et al. (2008) ont montré que le bénéfice économique de la sélection diminuait en même temps que l'IGE augmentait.

3-3-4) Le cas particulier des interactions génotype-aliment

Les pressions diverses qui s'exercent sur les approvisionnements en matières premières des différentes filières de production animale ont rendu l'environnement alimentaire variable dans le temps et l'espace. Aussi, ces contrastes de régime ont été pris en compte dans les programmes de sélection via l'estimation de l'interaction génotype-aliment (IGA) dans des conditions diverses. Chez les espèces terrestres, les caractères étudiés sont nombreux et concernent la croissance, la qualité des produits, la fertilité, l'efficacité alimentaire (**Tableau 6**). Ainsi, il existe chez la Holstein-Friesian un reclassement de génotypes lorsque les animaux sont nourris avec des régimes contrastés à base d'herbe ou d'aliments concentrés (**Tableau 6**). On retrouve également une IGA significative chez la chèvre Girgentana nourrie avec différentes concentrations de luzerne tandis qu'elle n'a pas été observée chez des porcs nourris avec des aliments contrastés pour leur taux de lysine ou leur concentration (**Tableau 6**).

Tableau 6. Exemples d'études portant sur l'existence d'interactions génotype-aliment (IGA) chez des espèces d'élevage terrestre.

Caractère étudié	Espèce	Lignées utilisées	IGA	Aliment utilisés	Référence
Santé, fertilité	Holstein Friesian	Taux de lipide et protéines élevés/faibles	Oui	Aliments concentrés (fort/faible)	Pryce et al, 1999
Poids, croissance, performance de reproduction, production de lait, ingéré sec	Holstein Friesian	USA/NZ	Oui	Aliments concentrés (fort/faible)	McCarthy et al., 2007; Horan et al., 2005a; 2005b; 2006
Production, qualité lait, croissance, reproduction	Holstein Friesian	Race locale/étranger	Oui	Pâture/ration mixte	Kolver et al, 2002
Taux de caséine, composition acide gras du lait	Chèvre Girgentana	Polymorphisme expression caséine/témoin	Oui	Forte/moyenne concentration luzerne	Valenti et al., 2010
Indice de conversion, croissance, qualité carcasse	Porc	Large White/Large White x Piétrain	Non	Taux de lysine faible/élevé	Gatel et Grosjean, 1992
Composition acide gras muscle	Porc	Iberian/Iberian x Duroc	Non	Pâture/Ration concentrée	Tejeda et al., 2002

La prise en compte des IGA en pisciculture provient de l'évolution des produits utilisés dans l'aliment (2-1-2) et du développement des programmes de sélection (3-1-2). Ainsi, la plupart des études chez les poissons ont porté sur l'utilisation d'aliments alternatifs contenant des produits végétaux. Chez des juvéniles de truites arc-en-ciel (de la première alimentation jusqu'à 5 g), Blanc (2002) ne mettait pas en évidence d'interaction pour la croissance et le poids. Sur une plus large période (de la première alimentation jusqu'à 380 g), Palti et al. (2006) faisait la même observation pour la croissance. En 2007, deux études sur le corégone (*Coregonus lavaretus* L.) ne mettaient pas en évidence de reclassement familiaux significatifs entre 40 et 130 g pour les taux de lipides, de protéines (Quinton et al., 2007b) et la croissance, l'ingéré et l'efficacité alimentaire (Quinton et al., 2007a). A l'inverse, Pierce et al. (2008) prouvaient l'existence d'une interaction significative pour le poids entre les familles de père et l'aliment pour des truites arc-en-ciel de 600 g nourries dès le premier repas avec des aliments contrastés. La même conclusion a été obtenue pour la croissance, l'ingéré et l'efficacité alimentaire grâce à l'utilisation de clones de truites (Dupont-Nivet et al., 2009). On voit que les résultats sont hétérogènes mais les différences peuvent provenir des différences de compositions d'aliment d'une étude à l'autre. Si l'on estime les taux de substitution utilisés dans ces études, on retrouve l'existence d'interactions pour des taux élevés (**Tableau 7**), à l'exception de Palti et al. (2006). Cette observation explique, en partie, le choix d'utiliser dans notre étude un aliment entièrement composé de produits végétaux et donc totalement

dépourvus de matières premières d'origine marine afin de compléter les résultats de la littérature. Notons également que la plupart de ces travaux ont mis en évidence des héritabilités modérées pour les caractères de croissance lorsque les individus sont nourris avec un aliment contant peu de FM et FO. Ces estimations montrent que des gains potentiels sont réalisables sur ces caractères dans un environnement alimentaire contenant des produits d'origine végétale terrestre.

Tableau 7. Revue des études portant sur l'interaction génotype-aliment chez différentes espèces de poissons. Le caractère étudié, les poids initial (Pds initial), final (Pds final), le taux de substitution des huiles (FOr) et des farines (FMr) sont indiqués, ainsi que la valeur de corrélation génétique estimée entre les aliments et la conclusion de l'auteur sur l'existence d'une IGA.

Espèce	Caractère étudié	Pds initial (g)	Pds final (g)	FOr (%)	FMr (%)	Corr.Gen.	IGA	Référence
Truite arc-en-ciel	Poids	1	5	0	47,6	-	Oui	Blanc, 2002
Truite arc-en-ciel	Poids, longueur	1	380	11,4	87	-	Non	Palti et al., 2006
Truite arc-en-ciel	Poids	1	600	37,2	93,7	0,73±0,13	Oui	Pierce et al., 2008
Truite arc-en-ciel	Poids	1,2	4,2	0	100	-	Oui	Dupont-Nivet et al., 2009
Truite arc-en-ciel	Ingéré	1,2	4,2	0	100	-	Oui	Dupont-Nivet et al., 2009
Truite arc-en-ciel	Efficacité alimentaire	1,2	4,2	0	100	-	Oui	Dupont-Nivet et al., 2009
Corégone	Gain journalier	40	130	0	73	0,97±0,21	Non	Quinton et al., 2007a
Corégone	Ingéré	40	130	0	73	0,93±0,28	Non	Quinton et al., 2007a
Corégone	Ingéré journalier	40	130	0	73	1,00±0,95	Non	Quinton et al., 2007a
Corégone	Taux de lipides (corps entier)	40	130	0	73	0,95±0,15	Non	Quinton et al., 2007b
Corégone	Taux de protéines (corps entier)	40	130	0	73	0,89±0,53	Non	Quinton et al., 2007b
Tilapia du Nil	Poids	-	-	-	-	-	Oui	Romana-Eguia et Doyle, 1992

Contexte et objectifs de l'étude

L'aquaculture joue donc, à l'heure actuelle un rôle clé dans l'approvisionnement en produits aquatiques. La forte demande européenne en salmonidés et en poissons marins, tous carnivores, soulève de nombreuses questions de durabilité en particulier au sujet de la composition des aliments utilisés. Si la transition des FM et FO vers des produits d'origine végétale est en cours, les taux de remplacement élevés ont des conséquences négatives sur la croissance des poissons, en particulier sur celle des poissons marins. L'utilisation de certains produits d'origine végétale peut également dégrader la santé, la quantité d'aliment ingéré ou la composition chimique de la chair (2-2-3 et 2-3-3). Les mécanismes impliqués dans ces phénomènes ne sont pas tous connus mais les carences en AGE, la présence de facteurs antinutritionnels, la plus faible appétence et les pathologies induites par certaines matières premières constituent les hypothèses les plus étayées (2-2, 2-3 et 2-4). En conséquence, l'augmentation attendue des taux de substitution est une problématique à laquelle les professionnels cherchent une réponse.

Les progrès réalisés ces dernières années dans la conduite de programmes de sélection sur les espèces aquacoles ont permis des gains significatifs chez la truite arc-en-ciel et plus récemment chez le bar européen. Outre l'amélioration des caractères de reproduction, de croissance, de qualité et de résistance aux maladies (3-1-1), des progrès sont aujourd'hui envisageables dans la prise en compte des effets de l'aliment sur l'expression du potentiel génétique des individus sélectionnés (3-3-3). En raison de l'importance des programmes de sélection dans la production de juvéniles de salmonidés et de poissons marins en Europe, il est essentiel de mieux comprendre les conséquences du bouleversement alimentaire en cours sur l'efficacité des pratiques en matière d'amélioration génétique des cheptels.

Au moment où ce travail a débuté, l'existence d'une variabilité génétique pour l'utilisation d'aliment d'origine partiellement végétale avait été confirmée essentiellement chez les salmonidés (3-3-4). Il n'existait cependant aucune donnée dans ce domaine chez les poissons marins. L'étude des IGA dans un contexte de substitution partielle avait été abordée, là encore chez les salmonidés, mais les résultats étaient hétérogènes (3-3-4) et ne permettaient pas de conclure. Or, la connaissance des valeurs d'h^2 et d'IGA chez la truite arc-en-ciel et le bar européen, les deux espèces majeures de la pisciculture française, est un préalable indispensable pour anticiper l'évolution éventuelle des programmes de sélection mis en place par les entreprises françaises. Compte tenu des différences importantes soulignées

précédemment entre poissons d'eau douce et poissons marins en matière de synthèse des AGPI (2-2-3), il s'avèrait, en outre, nécessaire de disposer d'informations spécifiques à ces deux contextes biologiques très différents.

Le premier objectif des travaux présentés ici était donc l'obtention d'estimations fiables de ces deux paramètres (h^2 et IGA) chez les deux espèces, pour les principaux caractères d'intérêt commercial (3-1-1), et ce dans un contexte de substitution forte des matières premières d'origine marine par des matières premières d'origine végétale. Le tour d'horizon bibliographique des méthodes d'estimations des paramètres génétiques (3-2-1) et en particulier des IGE (3-3-2) a encouragé le choix d'un élevage en commun des animaux suivi d'un marquage individuel puis du génotypage afin de reconstituer les parentés. De même, les dispositifs expérimentaux ont été déterminés afin de permettre une estimation précise de la corrélation génétique entre environnements (3-3-2). Chez la truite, cette approche a été complétée par une sélection expérimentale pour l'aptitude à grandir et survivre sur un aliment entièrement d'origine végétale, afin de vérifier les estimations d'h^2 et d'IGA a priori par une mesure du progrès réalisé après une génération de sélection. Afin d'intégrer l'ensemble du cycle de croissance, y compris les phases précoces souvent déterminantes, un des choix de cette étude a été d'appliquer le challenge alimentaire le plus tôt possible dans la vie de l'animal.

Le second objectif des travaux était d'apporter les premiers éléments sur l'origine de la variabilité de réponse à l'aliment d'origine végétale, en particulier pour des caractéristiques associées aux **modalités d'utilisation de l'aliment (ingestion, efficacité alimentaire, composition corporelle ou rétention de divers nutriments)**. On souhaite ainsi mieux **cerner les déterminants de l'adaptation à un régime totalement exempt de composés d'origine marine**.

Les travaux de ce manuscrit s'articulent autour de deux axes :

_ L'estimation des paramètres génétiques dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale

_ La sélection pour l'aptitude à survivre et grandir en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale

Afin d'améliorer la lisibilité de ce mémoire, certaines abréviations seront gardées sous leur forme anglaise dans les transitions et discussions en français. Ce sera le cas pour l'aliment végétal (PB, pour plant-based), le poids (BW, pour body weight), les farines de poisson (FM, pour fish meal), les huiles de poisson (FO, pour fish oil).

Malgré les différences de composition des aliments utilisés chez la truite arc-en-ciel et le bar européen, l'aliment composé de produits d'origine végétale terrestre sera toujours dénommé PB et l'aliment contenant des produits d'origine marine sera dénommé M. Pour chacune des espèces, les compositions détaillées des aliments seront fournis dans le corps de l'article.

Plan détaillé

Chapitre 4. L'estimation des paramètres génétiques dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale.

4-1) Chez le bar européen, en fin de croissance



Objectifs:

Estimer l'h^2 et l'IGA dans un contexte de remplacement total des produits d'origine marine (FOr: 100 %, FMr: 100 %) chez des bars européens à partir de 192 g (challenge alimentaire tardif)

Caractères étudiés : Poids, longueur, taux de lipides du filet

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S. et Chatain B. 2011. A first insight into genotype-diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L. 1756) in the context of plant-based diet use. *Aquaculture Research*, 42, pp 583–592.

4-2) Chez le bar européen, dès les stades précoces



Objectifs:

Estimer l'h^2 et de l'IGA dans un contexte de remplacement total des produits d'origine marine (FOr: 100 %, FMr: 100 %) à partir de 2,5 g chez le bar européen (challenge alimentaire précoce)

Estimer l'efficacité potentielle d'un programme de sélection, selon que les géniteurs ou les descendants sont élevés avec un aliment contenant des produits d'origine marine ou un aliment entièrement d'origine végétale

Caractères étudiés : Poids, longueur, conformation, taux de croissance, taux de survie, distribution au sein de la population

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Ruelle F., Vergnet A., Kaushik S., Médale F. et Chatain B. Strategies for breeding programs in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed totally plant-based diets. *Submitted in Journal of Animal Science*

4-3) Chez la truite, dès la première alimentation



Objectifs:

Estimer l'h^2 et l'IGA dans un contexte de remplacement total des produits d'origine marine (FOr: 100 %, FMr: 100 %) chez la truite arc-en-ciel dès la première alimentation

Obtenir des résultats compatibles avec les conditions de production : comparaison des poissons au même âge et au même poids, abattage à taille commerciale, étude des caractères de transformation en plus des caractères de croissance

Caractères étudiés : Poids, longueur, conformation, taux de croissance, rendement de transformation (carcasse, viscères, tête, filet) à taille commerciale

Le Boucher R., Quillet E., Vandeputte M., Lecalvez J.M., Goardon L., Chatain B., Médale F., Dupont-Nivet F. Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.): are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine *vs.* plant-based diets from the first meal? *In press, in Aquaculture*

Chapitre 5. La sélection pour l'aptitude à survivre et grandir en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale

5-1) Mesure de la réponse à la sélection chez la truite arc-en-ciel



Objectifs:

Estimer la réponse à la sélection après une génération de sélection sur l'aptitude à grandir et survivre en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale

Caractères étudiés : Taux de survie, poids moyen à différents âges, distribution au sein de la population, biomasse produite,

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M. Kerneïs T., Goardon L., Labbé L., Chatain B., Médale F. et Quillet E. From individual foraging diversity to breeding to adapt to dietary shifts in carnivorous fish farming. *rejected in Science, planned to submit in Plos One*

5-2) Etude des réponses corrélées à la sélection chez la truite arc-en-ciel : conséquences sur l'utilisation de l'aliment



Objectifs:

Evaluer la réponse indirecte à la sélection pour l'aptitude à grandir et survivre avec de l'aliment 100 % d'origine végétale pour des caractères d'ingestion, de composition corporelle (compartiments corporels et composition chimique) et de rétention

Préciser l'origine des gains observés dans le chapitre précédent pour la survie et la croissance

Caractères étudiés : Ingestion, efficacité alimentaire, rendement de transformation (carcasse, viscères, tête, filet), composition chimique du poisson entier (taux de protéines, de lipides, énergie, matière sèche), composition en acides gras, rétentions protéique, lipidique, énergétique, et rétention en acides gras

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Kerneïs T., Goardon L., Labbé L., Chatain B., Quillet E. et Médale F. Rainbow trout selected for their ability to grow on a totally plant-based diet: consequences on feed efficiency and fatty acid metabolic pathways. *Manuscript*

5-3) Etude préliminaire à la sélection chez le bar européen : Liens entre la croissance et l'utilisation de l'aliment chez le bar européen



Objectifs:

Décrire l'utilisation de l'aliment chez des bars européens présentant une meilleure aptitude à

grandir en utilisant un aliment 100 % d'origine végétale

Caractères étudiés : Poids, longueur, taux de survie, ingestion, efficacité alimentaire, composition chimique du poisson entier (taux de protéines, de lipides, énergie, matière sèche), composition en acides gras, rétentions protéique, lipidique, énergétique, et rétention en acides gras

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Vergnet A., Soriano S., Médale F., Kaushik S. et Chatain B. Feed efficiency and metabolic retention of European sea bass with high/low growth on marine/plant-based diet. *Manuscript*

Chapitre 4.

L'estimation des paramètres génétiques dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale.

4-1) Chez le bar européen, en fin de croissance

Les taux de substitution pour lesquels la croissance du bar européen est maintenue ne sont pas clairement identifiés (2-2-3) et le remplacement total des FM et FO par des produits d'origine végétale n'a jamais été testé chez un poisson marin. L'existence d'IGA a été étudiée chez les salmonidés (3-3-4) mais aucune étude n'existe chez les poissons marins. Un essai préliminaire a donc été mis en place en 2007 chez le bar européen à l'Ifremer de Palavas-les-Flots dans des conditions de challenge alimentaire modéré, dans la mesure où les poissons n'ont reçu les aliments expérimentaux qu'à un stade de croissance avancé. Ainsi. 550 individus issus d'un croisement entre 41 pères et 8 mères ont été nourris avec un aliment commercial jusqu'à 192g puis aléatoirement répartis dans deux lots, l'un nourri avec un aliment entièrement d'origine végétale (PB), l'autre avec un aliment contenant FM et FO (M) (**Figure 9**).

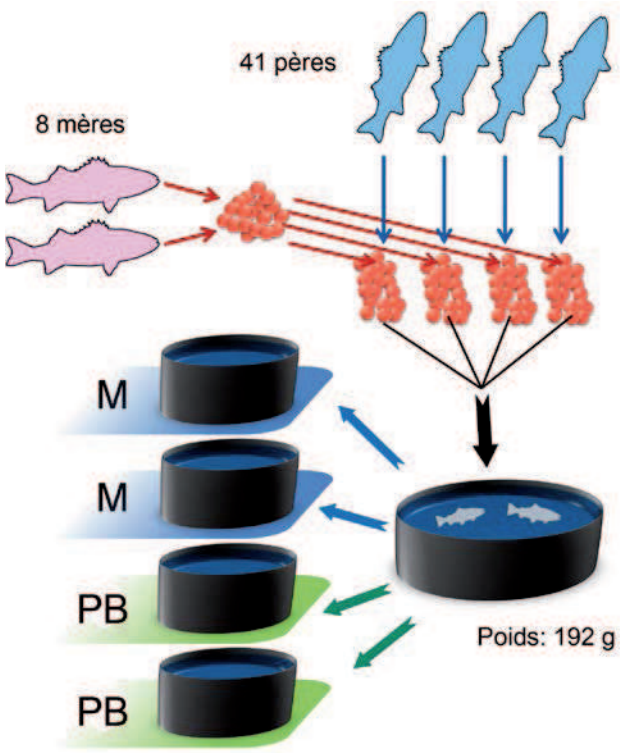


Figure 9. Schéma expérimental de l'essai portant sur les interactions génotype-aliment chez le bar européen dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale. M est un aliment contenant des produits d'origine marine, PB est un aliment qui n'en contient pas.

La première hypothèse de cet essai est qu'il est possible de remplacer les FM et FO de l'aliment par un mélange de farines et d'huiles végétales terrestres en assurant un doublement

du poids corporel sans impact sur la santé des poissons. La seconde hypothèse est que les familles de père peuvent ne pas être classées dans le même ordre selon qu'elles sont nourries avec l'aliment M ou l'aliment PB. L'objectif est donc d'estimer l'**h^2 du poids, de la longueur et du taux de lipides du filet lorsque les poissons sont nourris sur chacun de ces aliments ainsi que la corrélation génétique (Rg) entre un même caractère pris dans les deux lots.**

A first insight into genotype-diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L. 1756) in the context of plant-based diet use

Le Boucher R.,[1,2,3] Vandeputte M.,[1,2] Dupont-Nivet M.,[1] Quillet E.,[1] Mazurais D.,[4] Robin J.,[4] Vergnet A.,[2] Médale F.,[5] Kaushik S.,[5] Chatain B.[2]

[1] INRA, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas

[2] Ifremer, Chemin de Maguelone, F-34250 Palavas-les-Flots, France

[3] AgroParisTech, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-75231 Paris 05

[4] Ifremer, UMR 1067, Laboratoire de Nutrition, Aquaculture et Génomique , Equipe Nutrition des poissons marins, F-29280 Plouzane, France

[5] INRA, UMR1067, Laboratoire de Nutrition, Aquaculture et Génomique, F-64310 St Pée-sur-Nivelle, France

Published in Aquaculture Research 42:583–592

Aquaculture Research

Aquaculture Research, 2010, 1–10 doi: 10.1111/j.1365-2109.2010.02654.x

A first insight into genotype × diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1756) in the context of plant-based diet use

Richard Le Boucher[1,2,3], Marc Vandeputte[1,2], Mathilde Dupont-Nivet[1], Edwige Quillet[1], David Mazurais[4], Jean Robin[4], Alain Vergnet[2], Françoise Médale[5], Sadasivam Kaushik[5] & Béatrice Chatain[2]

[1]INRA, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, Jouy-en-Josas, France

[2]Ifremer, Chemin de Maguelone, Palavas-les-Flots, France

[3]AgroParisTech, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, Paris, France

[4]Ifremer, UMR 1067, Laboratoire de Nutrition, Aquaculture et Génomique, Equipe Nutrition des poissons marins, Plouzane, France

[5]INRA, UMR1067, Laboratoire de Nutrition, Aquaculture et Génomique, St Pée-sur-Nivelle, France

Correspondence: R Le Boucher, Ifremer, Chemin de Maguelone, F-34250 Palavas-les-Flots, France. E-mail: richard.le.boucher@ifremer.fr

Abstract

This preliminary study assessed genotype × diet interaction in late growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed with either a fish meal (FM)- or a fish oil (FO)-based diet (M) or an all-plant-based (PB) diet. A total of 550 fish from 224 families were reared together and tagged. DNA was sampled and microsatellites were used to assign parentage. When fish weight was 192 ± 54 g, two tanks were fed with M (FM: 100%; FO: 100%) and two others with PB (FM: 0% and FO: 0%). Body weight (BW), fork length (FL) and fillet lipid content (*CorrFat*) were analysed with a linear model and with REML methodology. We observed no significant differences between groups, but a slightly lower ($P = 0.03$) daily growth coefficient in sea bass fed PB than in those fed M. Heritability estimates of BW differed significantly from zero (PB: 0.37 ± 0.18; M: 0.47 ± 0.24). Sire × diet interactions were significant and genetic correlations ranged between 0.51 and 0.87, showing genotype × diet interaction for BW and *CorrFat*. For the first time, genetic parameters in the context of total replacement of marine fishery by-products were estimated in European sea bass, showing re-ranking of family performances with extremely contrasted diets.

Keywords: genotype by diet × environment interaction, European sea bass, plant diet, genetic correlation

Introduction

Over the past decades, aquaculture has become an animal production sector with the highest annual growth rate (FAO 2008, State of World Aquaculture), thus trying to meet the increasing demands for seafood supplies coming from economically viable, environmentally friendly and socially acceptable production systems.

To make the production system sustainable, one of the well-known targets in aquaculture is to reduce the reliance on feeds based on ingredients derived from wild fishery resources (Tacon & Metian 2008). Replacement of fish meal (FM) by plant protein sources has hence been a target of many studies and recent works on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) concluded that anywhere from 50% to even 98% of FM-derived proteins can be replaced using plant protein sources, with growth similar to that when fish oil (FO) is used as the lipid source (Oliva-Teles & Gonçalves 2001; Kaushik, Covès, Dutto & Blanc 2004; Messina, Tulli, Messina, Franchin & Tibaldi 2005; Dias, Conceição, Ribeiro, Borges, Valente & Dinis 2009), although in some cases, total replacement of FM by single plant protein sources has been shown to lead to depressed growth (Dias, Alvarez, Arzel, Corraze, Diez, Bautista & Kaushik 2005).

Replacement of FO by vegetable oils (VO) has also been widely studied in European sea bass and replacement of 60% of FO has been shown to have no

© 2010 The Authors
Journal Compilation © 2010 Blackwell Publishing Ltd

negative impact on survival, growth and health of fish (Izquierdo, Obach, Arantzamendi, Montero, Robaina & Rosenlund 2003; Figueiredo-Silva, Rocha, Dias, Silva, Rema, Gomes & Valente 2005; Mourente, Dick, Bell & Tocher 2005; Richard, Mourente, Kaushik & Corraze 2006), whereas growth performances were reduced at higher levels of substitution (80%) (Montero, Robaina, Caballero, Ginés & Izquierdo 2005), contrary to what has been observed in salmonids, where total replacement of FO by VOs has been shown to have no adverse consequences in terms of growth performance (Torstensen, Bell, Rosenlund, Henderson, Graff, Tocher, Lie & Sargent 2005; Richard, Kaushik, Larroquet, Panserat & Corraze 2006). This difference between salmonids and marine teleosts such as the European sea bass is possibly linked to putative differences in fatty acid bioconversion capacities between freshwater and marine finfish (Watanabe 1982; Sargent, Tocher & Bell 2002).

In the general context of reducing the dependence on marine ingredients (FO and FM) for developing aquafeeds, genetic improvement of farmed fish appears as an interesting complementary target (Gatlin, Barrows, Brown, Dabrowski, Gaylord, Hardy, Herman, Hu, Krogdahl, Nelson, Overturf, Rust, Sealey, Skonberg, Souza, Stone, Wilson & Wurtele 2007), and recent studies on salmonids suggest the existence of genetic variability for utilization of plant-based (PB) diets (Palti, Silverstein, Wieman, Phillips, Barrows & Parsons 2006; Pierce, Palti, Silverstein, Barrows, Hallerman & Parsons 2008; Dupont-Nivet, Médale, Leonard, Le Guillou, Tiquet, Quillet & Geurden 2009). Because, in general, selection programmes targeting mainly on growth rate using mostly commercial feeds using hitherto conventional feed ingredients, studying genetic parameters including genotype × diet interactions when using PB diets is a major step forward to address two issues: (1) will the rankings of European sea bass families fed on marine feeds be conserved or not if increased proportions of plant ingredients are used in the feed?; and (2) whether it is possible to specifically select fish for growth on PB diets, thus making it a more environmentally sustainable genotype of interest to future aquaculture?

The existence of genotype × diet interactions has been studied in Rainbow trout *Onchorynchus mykiss* (Blanc 2002, Palti *et al.* 2006; Pierce *et al.* 2008; Dupont-Nivet *et al.* 2009) and European whitefish *Coregonus lavaretus* (Quinton, Kause, Koskela & Ritola 2007; Quinton, Kause, Ruohonen & Koskela 2007). Significant interactions only appeared in the studies of Pierce *et al.* (2008) and of Dupont-Nivet *et al.* (2009), both of which had the highest replacement rate (37.2 and 0% for FO and 93.75 and 100% for FM respectively), while the other works performed only partial replacement [FO: 11.4%, FM: 87% for early stage and 100% later as in Palti *et al.* (2006); FO: 0%, FM: 73.3% in Quinton, Kause, Ruohonen *et al.* (2007)]. For European sea bass, a leading aquaculture species in the Mediterranean, no such studies exist, but bear significance as this species is reported to show a very high fish in/fish out ratio (Naylor, Goldburg, Primavera, Kautsky, Beveridge, Clay, Folke, Lubchenco, Mooney & Troell 2000). Besides, high genetic gains for growth are possible in this species (Vandeputte, Dupont-Nivet, Haffray, Chavanne, Cenadelli, Parati, Vidal, Vergnet & Chatain 2009) using conventional feeds rich in FM and FO.

The present work focused on weight, length and lipid content. Known as a valuable trait in this species, fat deposition is known to be affected by dietary carbohydrate levels as well as protein sources (Dias *et al.* 2005). Saillant, Dupont-Nivet, Sabourault, Haffray, Laureau, Vidal and Chatain (2009) demonstrated that the quality of prediction of lipid content with Distell Fish Fatmeter, previously used on rainbow trout (Douirin, Haffray, Vallet & Fauconneau 1998; Quillet, Le Guillou, Aubin & Fauconneau 2005; Quillet, Le Guillou, Aubin, Labbé, Fauconneau & Médale 2007), was accurate enough to assess genetic parameters in sea bass, with a moderate heritability (0.28 ± 0.12) for this trait. We measured and followed this trait during our trial.

We focused on growth of juvenile sea bass, where feed consumption is the highest, and chose to compare a marine ingredients-based diet with a totally PB diet, free of any marine ingredient (FO: 0%, FM: 0%), in order to exacerbate any possible differences. All families were mixed in tanks to avoid confusion of genetic and environmental effects and pedigrees were redrawn *a posteriori* with microsatellite markers. In this study based on a total replacement of marine products, diet effect, heritability and genotype × diet interactions are assessed and analysed.

Materials and methods

Experimental design

This study was conducted in the Ifremer aquaculture station (Palavas-les-flots, France) with wild-caught West Mediterranean European sea bass broodstock. A full factorial mating design was used to cross eight dams and 41 sires in order to obtain 328 families.

© 2010 The Authors

Sperm was collected as described in Fauvel, Suquet, Dreanno, Zonno and Menu (1998). After hormonal induction of ovulation (10 μg kg $^{-1}$ luteinizing-releasing hormone, Sigma D-TRP6LHRH Chesnes, France), females were manually stripped and the same volume of eggs were collected, mixed and divided into 41 aliquots. Each aliquot of eggs was then fertilized with sperm of one single sire to avoid sperm competition, as described by Saillant, Chatain, Fostier, Przybyla and Fauvel (2001). All fertilizations were carried out within a 30-min period and eggs were pooled in conical-bottom incubators. Floating (live) and sinking (dead) eggs were separated at 48-h post fertilization (14 °C) by decanting at a salinity of 48‰ (Chatain 1994). Viable eggs (50 mL) were transferred in a 0.5 m^3 incubator (in triplicate) containing all families and hatched. Until day 68, larvae were kept in the same tank and the temperature increased from 14 to 20 °C. Fish were fed *Artemia* for 40 days and then weaned on artificial feed.

At 306 day post fertilization (dpf), 2000 randomly chosen fish (mean weight: 48.5 ± 16.0 g, mean standard length: 13.9 ± 1.4 cm) were tagged using a Passive Integrated Transponder (AEG-Id, Ulm, Germany) and individual fin clips were stored in 100% ethanol for DNA extraction, genotype analysis and parentage assignment. Until day 588, fish were used in a feed deprivation trial to assess heritability of weight loss as detailed in Grima, Chatain, Ruelle, Vergnet, Launay, Mambrini and Vandeputte (2010). On day 588, 785 of them were then randomly sampled, distributed in four 5 m^3 tanks (196 fish per tank) and fed with a commercial feed for 135 days to avoid potential effect of the previous study. Water temperature was 21 °C on average, salinity was 38‰ and the system was recirculated (10–30% renewal per day). The feeding trial, described in this paper, started with fish aged 588 days and weighing 192 ± 54 g.

Feeding trial and experimental diets

Two tanks received a marine (M) experimental diet containing FM and FO and the other two received a PB experimental diet devoid of FM and FO. Both diets were manufactured using a twin-screw extruder (Clextral BC45, Clextral, Firminy, France) at the INRA experimental facilities (Donzacq, France). Ingredients and proximate composition of diets are presented in the Table 1. Diet M contained a blend of FM, corn gluten meal, wheat gluten and extruded wheat as protein sources, whereas diet PB contained a blend of corn gluten meal, soybean meal, wheat gluten, extruded wheat and white lupin. In order to obtain a total replacement of fish products, only linseed oil (9.4%) was used in the PB diet, whereas diet M contained FO (8.5%). Linseed oil is rich in 18:3 n-3 (50% of total fatty acids), whose incorporation was thus intended to supply high levels of 18:3 n-3 but no long-chain n-3 poly-unsaturated fatty acids (PUFA) such as the EPA or DHA in the PB diet and to verify the potential bioconversion capacities of 18 carbon fatty acids in this euryhaline species. The fatty acid composition of the two feeds is provided in Table 2. Diet PB also contained an attractant mix to increase the palatability (Table 1), which contained only non-essential amino acids (alanine, glycine), a physiological amino acid (taurine) and betaine. The nitrogen contents of these were also taken into account in formulating the feeds to be comparable between the two feeds. Both diets were isoproteic (digestible protein: 43% of dry matter), isolipidic (fat: 13% of dry matter) and isoenergetic (17 MJ kg $^{-1}$). Fish were fed one daily meal until apparent satiation (determined when uneaten pellets started to be collected in the faecal

Table 1. Ingredients and proximal composition of the experimental diets

Diets	M	PB
Ingredients (g kg $^{-1}$)		
Fish meal	380	0
Corn gluten meal	180	200
Soybean meal	0	182
Wheat gluten	72	20
Extruded wheat	253	72
White lupin	0	140
Fish oil	85	0
Linseed oil	0	94
Soy lecithin	0	10
L-lysine	0	27
$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	0	30
Binder (sodium alginate)	10	10
Attractant mix*	0	15
Min. premix†	10	10
Vit. premix†	10	10
Chemical composition		
Dry matter (DM) (%)	88.9	94.5
Crude protein (%DM)	49.4	49.6
Crude fat (%DM)	14.4	14.1
Ash (%DM)	7.0	6.1
Nitrogen-free extract (NFE) (%DM)‡	18.1	24.7

*Attractant mix contained (g kg $^{-1}$ feed) taurine (3), betaine (3), glycine (2), alanine (2) and glucosamine (5).
†As in Guillaume *et al.* (2001).
‡NFE = dry matter–crude protein–crude fat–ash.
M: fish meal and fish oil diet, PB: all fish meal and fish oil replaced by plant products.

© 2010 The Authors
Journal Compilation © 2010 Blackwell Publishing Ltd,

Table 2 Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the two diets used for growing European sea bass

Fatty acid	M	PB
8:0	0.02	0.02
10:0	0.68	0.81
12:0	0.08	0.01
14:0	7.01	0.09
15:0	0.70	0.04
16:0	19.26	8.19
17:0	0.46	0.11
18:0	3.07	3.07
20:0	0.16	0.21
14:1	0.07	–
16:1	5.79	0.16
17:1	0.03	0.04
18:1	15.70	21.72
20:1	5.74	0.59
22:1	4.53	0.21
16:2 n-4	1.09	–
16:3 n-4	0.85	–
16:4 n-1	1.26	–
18:2 n-6	7.51	21.97
18:3 n-6	0.19	–
20:2 n-6	0.20	0.04
20:3 n-6	0.06	–
20:4 n-6	0.47	–
22:2 n-6	0.15	0.10
18:3 n-3	0.99	41.31
18:4 n-3	1.43	0.01
20:3 n-3	0.11	–
20:4 n-3	0.58	–
20:5 n-3 (EPA)	7.41	–
21:5 n-3	0.27	–
22:5 n-3	1.29	–
22:6 n-3 (DHA)	8.78	–
Sum saturates	31.43	12.54
Sum monoenes	31.85	22.72
Sum n-6 fatty acids	8.58	22.11
Sum n-3 fatty acids	20.85	41.33
Sum fatty acids	96.14	98.79

M: fish meal and fish oil diet; PB: all fish meal and fish oil replaced by plant products.

traps), and all uneaten pellets were counted. The meal duration was between 1 h and 1 h 30 min every day and the trial lasted 262 days.

Data collection

The feeding trial was divided into six periods flanked by seven measures at 588, 605, 647, 679, 736, 787 and 850 dpf in order to get a measure approximately every 40 days. Fish weights and standard lengths were measured at each date and lipid content was indirectly measured with a Fish Fatmeter (FM692, Distell, Fauldhouse, UK) at the same days using the SEABASS-1 calibration (mean of four measurements, two on each side of the fish, in percentage fresh matter). The daily growth coefficient (DGC)60 = $(W_6^{1/3} - W_0^{1/3})/(t_6 - t_0)$ was also calculated (with W_6 being the weight at the end of period 6, W_0 being the weight at the end of period 0, $t_6 - t_0$ being the duration in days between dates).

Parentage assignment

Rapid DNA extractions were performed from the fin clips, using Chelex resin as described in Estoup, Largiader, Perrot and Chourrout (1996). Parents and offspring were assayed at five or six microsatellite loci as described in Chistiakov, Hellemans and Volckaert (2006) and García de León, Dallas, Chatain, Canonne, Versini and Bonhomme (1995). Four loci were combined in two multiplex panels (multiplex 1: DLA0016 and DLA0014; multiplex 2: Labrax 8 and Labrax 17), while the locus Labrax 29 was assayed singly. Parentage was performed by exclusion using VITASSIGN (Vandeputte, Mauger & Dupont-Nivet 2006). When more than one parent pair was found per individual, the locus Labrax 3 was used to discriminate the potential families. At the end of this process, 99.2% of the fish sampled (778 of 784) had been successfully and unambiguously assigned to their parents.

Statistical analyses

Traits followed at the end of each period were the body weight (BW), the standard length and the mean muscle fat content assessment divided by the decimal logarithm of BW of each period (*CorrFat*) as bigger sea bass are known to be fatter.

Fish were sexed by visual inspection of the gonads on slaughtered fish at the end of the experiment, as sex is known to have a highly significant effect on the growth of European sea bass. Because of data collection problems, sex could only be recorded on 554 individuals. Parentage analyses showed that some fish belonged to under-represented half-sib families. Offspring from half-sib families with less than five fish were not used for further statistical analyses. Finally, 550 individuals from seven dams and 32 sires were used (224 full-sib families).

Preliminary analyses indicated that the sire × dam effect was never significant for any trait and was therefore not included in the models. To determine the significance of fixed effects (sex, diet) and to evaluate the significance of genotype × diet inter-

© 2010 The Authors

actions, data were first analysed using SAS-GLM (SAS Institute, Cary, NC, USA) with the following model:

$$Y_{ijklmn} = \mu + \text{diet}_i + \text{sex}_j + \text{tank(diet)}_{k(i)} + \text{sire}_l + \text{dam}_m + \text{sire} \times \text{diet}_{il} + \text{dam} \times \text{diet}_{im} + e_{ijk(i)lmn} \quad (1)$$

where Y_{ijklmn} is the performance of individual n, μ is the general mean, diet_i is the fixed effect of the diet, sex_j is the fixed effect of sex j (1 = male, 2 = female), $\text{tank}_{k(i)}$ is the random effect of the tank k ($k = 1, 2$) nested within diet i, sire_l is the random effect of sire l, dam_m is the random effect of dam m, sire × diet_{il} the random interaction between sire l and diet i, dam × diet_{in} the random interaction between dam n and diet i and e_{ijklmn} is the random residual.

Genotype × diet interactions were also quantified through genetic correlations between the trait of interest with diet M and the same trait with diet PB, considered as two different traits in the analysis. In this case, G × E (genetic × environment) interaction is the difference between 1 and the genetic correlation, and the closer to 1 the correlation, the smaller the G × E interaction. To estimate this correlation as well as trait heritability, the following model was used in ASREML (Gilmour, Gogel, Cullis *et al.* 2006):

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{sex}_i + \text{tank}_j + \text{sire}_k + \text{dam}_l + e_{ijklm} \quad (2)$$

where Y_{ijklm} is the performance of individual m, μ is the general mean, sex_i is the fixed effect of sex j (1 = male, 2 = female), tank_j is the fixed effect of tank j ($j = 1, 2$; two tanks per diet), sire_k is the random effect of sire k, dam_l is the random effect of dam l and e_{ijklm} is the random residual. The sire component of variance (σ^2_s) was used to estimate the additive genetic variance (σ^2_A) through the formula $\sigma^2_A = 4\sigma^2_s$ (Becker 1984) and heritability was estimated as the ratio $h^2 = \sigma^2_A/\sigma^2_P$, with σ^2_P being the estimate of phenotypic variance.

Results

Diet effect

After 9 months of the growth trial, the total mortality was 0.3% (0.6% in PB, 0.0% in M). Descriptive statistics of studied traits at the end of the study are given in Table 3. Linear model estimates of the mean weight show a 3.1-fold increase with the M diet and a 2.7-fold increase with the PB diet. Body weight of fish fed the PB diet was never significantly lower than that of fish fed diet M throughout the entire experimental period (Table 4). However, differences between diets increased from period 1 (+11.1%) to period 6 (+16.4%) where it became suggestive ($P < 0.06$, see Fig. 1). No differences were observed between fish fed with the two diets for muscle lipid content (*CorrFat*, $P > 0.51$, see Table 4). The daily growth coefficient calculated between the last (6) and the first (0) sampling dates was smaller in fish fed diet PB ($P < 0.03$).

Linear model, heritability estimates and genetic correlations

Diet effects or dam × diet effects were not significant on BW and *CorrFat* at any sampling point (Table 4). Sire × diet interactions on BW and *CorrFat* were

Table 3 Effect of total replacement of fish oil and fish meal (M) by plant products (PB) on body weight (BW), fork length (FL), estimates of lipid content divided by the weight (*CorrFat*) and daily growth coefficient (DGC = $\text{FBW}^{1/3} - \text{IBW}^{1/3}$)/duration with IBW (g) and FBW (g)

Traits	M	PB	*F*	*P*-value
BW (g)	647.1 ± 10.8	556.1 ± 10.7	14.34	0.06
FL (mm)	313.9 ± 1.9	299 ± 1.9	5.19	0.15
CorrFat	3.1 ± 0.06	3.1 ± 0.06	0.02	0.89
DGC	1.08 ± 0.01	0.92 ± 0.01	31.71	0.03

IBW, initial body weight; FBW, final body weight.

Table 4 *P*-values for diet, tank (diet), sex, and interactions sire × diet and dam × diet effects for body weight (BW) and estimates of lipid content divided by the weight (*CorrFat*) for each date

	Diet	Tank (diet)	Sex	Dam × diet	Sire × diet
BW					
(588) 0	0.57	0.47	<0.0001	0.17	0.15
(605) 1	0.31	0.01	<0.0001	0.14	0.05
(647) 2	0.31	<0.0001	<0.0001	0.30	<0.01
(679) 3	0.25	<0.0001	<0.0001	0.35	<0.01
(736) 4	0.20	<0.0001	<0.0001	0.30	<0.01
(787) 5	0.14	<0.01	<0.0001	0.21	<0.01
(850) 6	0.06	0.08	<0.0001	0.16	0.01
CorrFat					
(588) 0	0.65	0.08	<0.0001	0.15	0.88
(605) 1	0.84	<0.01	0.22	0.34	0.64
(647) 2	0.65	0.1	<0.0001	0.83	0.66
(679) 3	0.63	<0.01	<0.0001	0.99	0.29
(736) 4	0.59	0.24	<0.0001	0.99	0.05
(787) 5	0.51	<0.0001	<0.0001	0.97	0.01
(850) 6	0.89	<0.0001	<0.0001	0.96	<0.01

In column 1, the ages of fish (in dpf) are indicated within parentheses before the sampling time.
dpf, days post fertilization.

© 2010 The Authors
Journal Compilation © 2010 Blackwell Publishing Ltd,

significant, showing a significant re-ranking of the sire families between diets for these traits. The multiple measures and individual tagging enabled us to observe an increase of significance of the sire × diet interaction during the trial.

Heritability estimates of BW differed significantly from zero (± 1.65 SE for a 90% certainty of rejecting the null hypothesis), whether both diets were combined (BW_6: 0.30 ± 0.13) or considered separately [BW_6 (PB): 0.37 ± 0.18; BW_6 (M): 0.47 ± 0.24], except for date 3 in the PB batch (Table 5). The highest heritability estimates were obtained for *CorrFat* at measure 3 (0.78 ± 0.21). Two heritability values for *CorrFat* were over 1, probably due to estimation problems resulting from the small size of the dataset. Heritability estimates were always higher with diet M and tended to decrease over time for both diets, although no significant differences could be shown because of the high values of standard errors (Table 5).

Genetic correlations calculated using model (2) are shown in Table 5. They are all comprised between 0.51 and 0.99, lower values suggesting the existence of genotype × environment interactions. Between dates 3 and 6, the genetic correlation reduced from 0.81 to 0.51 for BW and from 0.99 to 0.83 for *CorrFat*. Standard errors of estimated genetic correlations are too high to show a significant difference between them and it does not allow one to conclude that the decreasing trend at the end of each period is significant (Fig. 1).

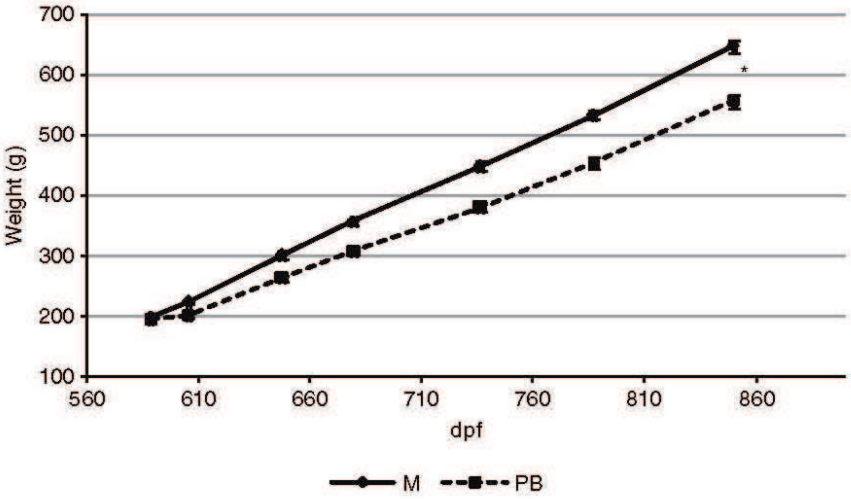


Figure 1. Evolution of the mean weight (g) of European sea bass fed diet M or plant-based diet over 37 weeks. *Significant difference ($P < 0.1$); dpf, days post fertilization.

Table 5 Genetic correlations between diets and heritability (± standard errors) for plant-based, marine and both diets

	Genetic correlation	h^2 (PB) (± SE)	h^2 (M) (± SE)	h^2 (total) (± SE)
BW				
(588) 0	0.99 ± 0.00	0.25 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.34 ± 0.14
(605) 1	0.99 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.52 ± 0.04	0.31 ± 0.13
(647) 2	0.99 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.52 ± 0.04	0.32 ± 0.13
(679) 3	0.81 ± 0.38	0.21 ± 0.16	0.54 ± 0.24	0.31 ± 0.13
(736) 4	0.64 ± 0.35	0.29 ± 0.17	0.51 ± 0.24	0.31 ± 0.13
(787) 5	0.51 ± 0.34	0.36 ± 0.18	0.48 ± 0.24	0.30 ± 0.13
(850) 6	0.51 ± 0.34	0.36 ± 0.18	0.47 ± 0.24	0.30 ± 0.13
CorrFat				
(588) 0	0.99 ± 0.00	0.46 ± 0.1	0.60 ± 0.08	0.63 ± 0.19
(605) 1	NE	NE	NE	0.63 ± 0.19
(647) 2	0.99 ± 0.00	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.11	0.61 ± 0.18
(679) 3	0.99 ± 0.09	0.70 ± 0.22	1.02 ± 0.29	0.78 ± 0.21
(736) 4	0.87 ± 0.16	0.59 ± 0.22	0.83 ± 0.27	0.60 ± 0.18
(787) 5	0.80 ± 0.16	0.57 ± 0.22	1.10 ± 0.29	0.65 ± 0.19
(850) 6	0.83 ± 0.17	0.56 ± 0.22	0.94 ± 0.23	0.65 ± 0.19

Ages (in dpf) of the fish are indicated before the period number.
NE, nonestimated due to lack of model convergence.

© 2010 The Authors

Discussion

The objectives of this preliminary study were to evaluate genotype × diet interactions in European sea bass in the case of total replacement of fish products in the diet, together with the estimation of heritabilities of BW, length and fat content in both feeding contexts.

Diet effect

A 16.4% difference in final weight between fish fed the marine (M) diet and fish fed the PB diet was found after 262 days of trail, but it was not statistically significant. Kaushik *et al.* (2004) have shown previously that an almost total replacement of FM does not have any adverse effect on the growth of European sea bass. The present results clearly proved that it is possible to go further as the total replacement of FO and FM can lead to good performances under similar conditions. Because the feeds were extruded, the putative presence of anti-nutritional factors from plant protein sources were reduced, as also demonstrated by the more or less equivalent growth performance of the two groups. This lack of significant effects could also be due to the experimental design, which was probably not optimal to detect feed effects (only two replicate tanks per feed, with significant tank effects for some dates), because the primary goal of this study was to detect genotype by feed interactions.

The growth rate recorded was lower than those reported in earlier studies (Dias, Corraze, Arzel, Alvarez, Bautista, Lopez-Bote & Kaushik 1999; Kaushik *et al.* 2004). A smaller growth rate has also been reported with sea bass in the case of partial FM or FO replacement (Dias *et al.* 2005; Montero *et al.* 2005). The daily growth coefficient calculated on the entire period takes into account the initial weight of each individual and is higher in the M batch, contrary to weight. The fact that PB fed fish took up to 2 weeks to feed normally after the initiation of the experiment, while M fish ate normally after 2–3 days, supports the hypothesis of a low initial palatability of the PB diet and the need for a period of adaptation.

Estimates of muscle lipid contents did not show differences between fish from the two dietary groups, which is consistent with results obtained in Atlantic salmon fed vegetable-oil-based feeds (Torstensen *et al.* 2005; Nanton, Vegusdal, Rørå, Ruyter, Baeverfjord & Torstensen 2007). Indeed, dietary lipid sources are known not to affect lipid deposition in either liver or muscle in sea bass, but inclusion of VOs in fish diets modifies the body fatty acid profile (Izquierdo *et al.* 2003).

To our knowledge, this is the first ever study with European sea bass fed with a complete marine ingredients-free diet. Even if a VOs blend can mimic the fatty acid profile of FO for total saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids and PUFA (Torstensen *et al.* 2005; Francis, Turchini, Jones & De Silva 2007), deficiency in n-3 long-chain PUFA can still occur (Turchini, Bente, Torstensen & Ng 2009). Moreover, it is generally recognized that marine fish have a lower ability to convert 18C fatty acids into longer PUFAs (Watanabe 1982) and will exhibit direct requirements for HUFA (Sargent *et al.* 2002). Previous works have reported the necessity of 1.0% of n-3 HUFA to fulfil essential fatty acid requirements in sea bass (review by Turchini *et al.* 2009). The total absence of such fatty acids in diet PB was probably partially compensated by fish reserves inherited from common feeding past, although the final BW was almost three times the initial BW. Muscle fatty acid profiles on a subsample of the same fish have shown differences between the two dietary groups reflecting dietary fatty acid profiles but still maintaining non-negligible levels of the long-chain w3 fatty acids (Geay, Santigosa, Culi, Corporeau, Boudry, Dreano, Corcos, Bodin, Vandeputte, Zambonino-Infante, Mazurais & Cahu 2010).

Genetic parameters

Sire × diet interaction became significant for both traits (BW and *CorrFat*) during the growth trial, indicating that a general re-ranking of the sire families occurred in response to the diet challenge. A statistical procedure (GLM procedure in SAS) allowed us to check whether one of the effects is significant inside each level of the other effect of the interaction. Known as simple effects (Winer 1971), it confirms that significance of diet effect on BW exists for 10 of the 32 sire families ($P < 0.05$).

One interesting finding of the present study is the existence of sire × diet interactions for both BW and muscle lipid content measured with fatmeter in European sea bass in case of total replacement of marine products in the diet in a late growth context. In the whitefish, Quinton, Kause, Koskela *et al.* (2007) found only weak genotype × diet interaction for growth (genetic correlation for daily gain: 0.99 ± 0.13). Therefore, they predicted that changing from FM-based to soybean meal-based diets should have only a minor influence on fish breeding programmes. Palti

© 2010 The Authors
Journal Compilation © 2010 Blackwell Publishing Ltd,

et al. (2006) found no family × diet interactions for growth in rainbow trout fed with FM or gluten-based diet. In our experiment, total substitution leads to clear interactions for BW and brings results close to the conclusions of Pierce *et al.* (2008) and Dupont-Nivet *et al.* (2009) in rainbow trout. Analysis of the evolution of sire × diet interaction shows that it became significant very soon in the trial (after 17 days) for BW and much later for *CorrFat* (after 199 days). Same pattern of changes is observed with genetic correlation (after 91 days for BW and 148 days for *CorrFat*) showing that both calculations are consistent. Considering that weight measurement is accurate on fish of such size, increase of interaction with time could be due to the amplification in differences between families who differ in genetic values (Saillant, Dupont-Nivet, Haffray & Chatain 2006). This would indicate that variability appears fast and remains or increases under these conditions.

Estimates of BW heritability when M and PB diets are combined were almost all significantly higher than 0, but lower than or equal to those found previously in the European sea bass: 0.60 for logarithm of BW (Saillant *et al.* 2006); 0.34–0.46 (Dupont-Nivet, Vandeputte, Vergnet, Merdy, Haffray, Chavanne & Chatain 2008); 0.63 (Saillant *et al.* 2009); and 0.34–0.60 (Vandeputte *et al.* 2009). Notwithstanding the moderate sample size of the present study, heritability estimates can be considered moderate to high for BW and confirm that European sea bass is a good candidate for selection on these traits (Dupont-Nivet *et al.* 2008; Vandeputte *et al.* 2009). The main conclusion is that sea bass fed on PB diet are also good candidates for selection and that heritability estimates are not significantly different between diets.

High heritabilities of *CorrFat* confirm that rapid genetic gain is also possible for this quality trait, as already shown on rainbow trout (Quillet *et al.* 2005), common carp (Kocour, Mauger, Rodina, Gela, Linhart & Vandeputte 2007), European sea bass (Haffray, Pincent, Dupont-Nivet, Vandeputte, Merdy, Chavanne & Chatain 2007) and European whitefish (Kause, Quinton, Ruohonen & Koskela 2009). Selection can be efficient on this trait, whatever be the diet (M or PB). Fat content of the muscle is a valuable trait for industry, but impact of selection on the fatty acid profiles should also be studied in the context of lesser availability or increasing cost of FO. Further studies are warranted to check whether fatty acid profiles can present a genetic variability. The source of global ability to grow better on diets less dependent on wild marine fishery resources could be diverse: a better HUFA conversion, a better endurance of HUFA restriction or a better appetence to PB diets. We should add that this ability can express itself to a smaller extent possibly even with less extreme feeds.

Conclusion

Our results allow us to expect that total replacement of marine products in late growth of European sea bass could be performed with moderate effect on BW and lipid content. The significance of genotype × diet interaction in the linear model and moderate genetic correlations between dietary groups for BW and muscle fat content estimated by Fish Fatmeter correspond to a big step towards the consideration of feed products origin in future fish selection. In this trial, we demonstrate that the performance ranking of the families for these traits is not similar with both diets. Extreme contrasts in diet composition as used here are not likely to be encountered in the industry today and a lower interaction may then be observed with commercial diets. However, these diets were chosen to give rise to an increased genotype × diet interaction. The existence of such interactions and of the high genetic variability on diet PB suggests that it is possible to identify fish with a global ability to grow better on the future feeds.

This study proves that genetic improvement can be impacted by extreme changes in diet and the use of PB products. Still, this has to be confirmed in larger experiments, over a longer time period.

References

Becker W.A. (1984) *Manual of Quantitative Genetics*. Academic Enterprises, Pullman, WA, USA.

Blanc J.M. (2002) Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* **33**, 563–568.

Chatain B. (1994) Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*). *Aquaculture* **119**, 371–379.

Chistiakov D.A., Hellemans B. & Volckaert F.A.M. (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: a review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* **255**, 1–29.

Dias J., Corraze G., Arzel J., Alvarez M.J., Bautista J.M., Lopez-Bote C. & Kaushik S.J. (1999) Effets du rapport protéine/énergie des régimes alimentaires chez la truite et le bar en élevage. Perspectives de contrôle nutritionnel des dépôts lipidiques. *Cybium* **23** (Suppl.), 127–137.

© 2010 The Authors

Dias J., Alvarez M.J., Arzel J., Corraze G., Diez A., Bautista J.M. & Kaushik S.J. (2005) Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology* **142**, 19–31.

Dias J., Conceiçao L.E.C., Ribeiro A.R., Borges P., Valente L.M.P. & Dinis M.T. (2009) Practical diet with low fish-derived protein is able to sustain growth performance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during the grow-out phase. *Aquaculture* **293**, 255–262.

Douirin C., Haffray P., Vallet J.L. & Fauconneau B. (1998) Determination of the lipid content of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets with the torry fish fat meter (R). *Sciences des Aliments* **18**, 527–535.

Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Vergnet A., Merdy O., Haffray P., Chavanne H. & Chatain B. (2008) Heritabilities and G × E interactions for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) using a marker-based pedigree. *Aquaculture* **275**, 81–87.

Dupont-Nivet M., Médale F., Leonard J., Le Guillou S., Tiquet F., Quillet E. & Geurden I. (2009) Evidence of genotype-diet interactions in the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clones to a diet with or without fishmeal at early growth. *Aquaculture* **295**, 15–21.

Estoup A., Largiader C., Perrot E. & Chourrout D. (1996) Rapid one tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **5**, 295–298.

Fauvel C., Suquet M., Dreanno C., Zonno V. & Menu B. (1998) Cryopreservation of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) spermatozoa in experimental and production simulating conditions. *Aquatic Living Resources* **11**, 387–394.

Figueiredo-Silva A., Rocha E., Dias J., Silva P., Rema P., Gomes E. & Valente L.M.P. (2005) Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* **11**, 147–155.

Food and Agriculture Organization. (2008) *The State of World Fisheries and Aquaculture 2008*. FAO, Rome, Italy, p. 24.

Francis D.S., Turchini G.M., Jones P.L. & De Silva S.S. (2007) Dietary lipid source modulates in vivo fatty acid metabolism in the freshwater fish, murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**, 1582–1591.

García de León F.J., Dallas J.F., Chatain B., Canonne M., Versini J.J. & Bonhomme F. (1995) Development and use of microsatellite markers in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Serrandidae). *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **4**, 62–68.

Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G.S., Krogdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R. & Wurtele E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* **38**, 551–579.

Geay F., Santigosa I., Culi E., Corporeau C., Boudry P., Dreano Y., Corcos L., Bodin N., Vandeputte M., Zambonino-Infante J., Mazurais D. & Cahu C. (2010) Regulation of FADS2 expression and activity in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed a vegetable diet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **156**, 239–243.

Gilmour A.R., Gogel B.J., Cullis B.R. & Thompson R. (2006) *ASReml User Guide Release 2.0*. VSN International Ltd., Hemel Hempstead, UK.

Grima L., Chatain B., Ruelle F., Vergnet A., Launay A., Mambrini M. & Vandeputte M. (2010) In search for indirect criteria to improve feed utilization efficiency in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Part II: heritability of weight loss during feed deprivation and weight gain during refeeding periods. *Aquaculture* **302**, 169–174.

Guillaume J., Kaushik S., Bergot P. & Métailler R. (2001) *Nutrition and Feeding of Fish and Crustacea*. Springer-Praxis Publishing, Chichester, UK, 408pp.

Haffray P., Pincent C., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Merdy O., Chavanne H. & Chatain B. (2007) Heritabilities and G × E interactions for quality traits in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* **272**, 265.

Izquierdo M.S., Obach A., Arantzamendi L., Montero D., Robaina L. & Rosenlund G. (2003) Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquaculture Nutrition* **9**, 397–407.

Kause A., Quinton C.D., Ruohonen K. & Koskela J. (2009) Genetic potential for the regulation of variability in body lipid and protein content of European whitefish (*Coregonus lavaretus*). *British Journal of Nutrition* **101**, 1444–1451.

Kaushik S.J., Covès D., Dutto G. & Blanc D. (2004) Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* **230**, 391–404.

Kocour M., Mauger S., Rodina M., Gela D., Linhart O. & Vandeputte M. (2007) Heritability estimates for processing and quality traits in common carp (*Cyprinus carpio L.*) using a molecular pedigree. *Aquaculture* **270**, 43–50.

Messina M., Tulli F., Messina C., Franchin C. & Tibaldi E. (2005) Partial substitution of fish meal with vegetable protein sources in a diet for sea bass: effects on lipogenesis. *Veterinary Research Communications* **29**, 371–374.

Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Ginés R. & Izquierdo M.S. (2005) Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of a refeeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* **248**, 121–134.

Mourente G., Dick J.R., Bell J.G. & Tocher D.R. (2005) Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and [beta]-oxidation of [1-14C]18:3n-3 (LNA) and [1-14C]20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and

© 2010 The Authors
Journal Compilation © 2010 Blackwell Publishing Ltd,

enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Aquaculture* **248**, 173–186.

Nanton D.A., Vegusdal A., Rørå A.M.B., Ruyter B., Baeverfjord G. & Torstensen B.E. (2007) Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. *Aquaculture* **265**, 230–243.

Naylor R.L., Goldburg R.J., Primavera J.H., Kautsky N., Beveridge M.C.M., Clay J., Folke C., Lubchenco J., Mooney H. & Troell M. (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* **405**, 1017–1024.

Oliva-Teles A. & Gonçalves P. (2001) Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccaromyces cerevisae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* **202**, 269–278.

Palti Y., Silverstein J.T., Wieman H., Phillips J.G., Barrows F.T. & Parsons J.E. (2006) Evaluation of family growth response to fishmeal and gluten-based diets in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **255**, 548–556.

Pierce L.R., Palti Y., Silverstein J.T., Barrows F.T., Hallerman E.M. & Parsons J.E. (2008) Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype × diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **278**, 37–42.

Quillet E., Le Guillou S., Aubin J. & Fauconneau B. (2005) Two-way selection for muscle lipid content in pan-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **245**, 49–61.

Quillet E., Le Guillou S., Aubin J., Labbé L., Fauconneau B. & Médale F. (2007) Response of a lean muscle and a fat muscle rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) line on growth, nutrient utilization, body composition and carcass traits when fed two different diets. *Aquaculture* **269**, 220–231.

Quinton C.D., Kause A., Koskela J. & Ritola O. (2007) Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. *Genetics Selection Evolution* **39**, 431–446.

Quinton C.D., Kause A., Ruohonen K. & Koskela J. (2007) Genetic relationships of body composition and feed utilization traits in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and implications for selective breeding in fishmeal- and soybean meal-based diet environments. *Journal of Animal Science* **85**, 3198–3208.

Richard N., Kaushik S., Larroquet L., Panserat S. & Corraze G. (2006) Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition* **96**, 299–309.

Richard N., Mourente G., Kaushik S. & Corraze G. (2006) Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* **261**, 1077–1087.

Saillant E., Chatain B., Fostier A., Przybyla C. & Fauvel C. (2001) Parental influence on early development in the European sea bass. *Journal of Fish Biology* **58**, 1585–1600.

Saillant E., Dupont-Nivet M., Haffray P. & Chatain B. (2006) Estimates of heritability and genotype-environment interactions for body weight in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions. *Aquaculture* **254**, 139–147.

Saillant E., Dupont-Nivet M., Sabourault M., Haffray P., Laureau S., Vidal M.O. & Chatain B. (2009) Genetic variation for carcass quality traits in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources* **22**, 105–112.

Sargent J.R., Tocher D.R. & Bell J.G. (2002) The lipids. In: *Fish Nutrition* (ed. by J.E. Halver & R.W. Hardy), pp. 181–257. Academic Press, San Diego, CA, USA.

Tacon A.G.J. & Metian M. (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* **285**, 146–158.

Torstensen B.E., Bell J.G., Rosenlund G., Henderson R.J., Graff I.E., Tocher D.R., Lie O. & Sargent J.R. (2005) Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetable oil blend. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 10166–10178.

Turchini G.M., Bente E., Torstensen B.E. & Ng W.W.-K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* **1**, 10–57.

Vandeputte M., Mauger S. & Dupont-Nivet M. (2006) An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. *Molecular Ecology Notes* **6**, 265–267.

Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Haffray P., Chavanne H., Cenadelli S., Parati K., Vidal M.O., Vergnet A. & Chatain B. (2009) Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. *Aquaculture* **286**, 20–27.

Watanabe T. (1982) Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology B* **73**, 3–15.

Winer B.J. (1971) *Statistical Principles in Experimental Design*, 2nd edn. New York, NY, USA: McGraw-Hill Book Co..

© 2010 The Authors
Journal Compilation © 2010 Blackwell Publishing Ltd,

Eléments de discussion

Principaux résultats

Aucune différence n'a été observée pour le poids, la longueur et le taux de lipides entre les lots nourris avec l'aliment M et l'aliment PB ($P>0,05$). Le taux de croissance calculé sur toute la période d'étude est légèrement plus élevé dans le lot M ($P<0,03$). Les estimations de l'h^2 pour le poids sont toutes significativement différentes de 0 (PB: 0,37 ± 0,18; M: 0,47 ± 0,24). Pour le poids et le taux de lipides, l'interaction père x aliment est significative ($P<0,05$) et la corrélation génétique (Rg) entre environnements varie entre 0,51 et 0,87. Ces résultats confirment qu'il existe une IGA dans le cas d'une comparaison de bars européens nourris avec un aliment contenant des produits d'origine marine et un aliment contenant des produits d'origine végétale.

Cette étude préliminaire a permis de confirmer deux hypothèses essentielles pour la suite des travaux. La première est qu'il est possible de nourrir des bars européens de 192 g avec un aliment entièrement d'origine végétale sans impact sur la survie. Des animaux de relativement grande taille sont donc capables de faire face à des modifications profondes et durables du régime alimentaire en cours d'élevage. La seconde est que les familles pourraient présenter des performances contrastées selon le type d'aliment avec lequel elles sont nourries.

Un faible effet aliment sur les performances zootechniques tardives

Les taux de survie (M: 0,0 % et PB: 0,6 %), ainsi que les poids finaux des lots M et PB ne sont pas significativement différents ($P>0,05$). Si le poids moyen des poissons nourris sur PB est légèrement plus faible que celui des poissons nourris sur M, cela provient des plus faibles taux de croissance (DGC pour daily growth rate) dans le lot PB dans la première partie de l'essai (**Figure 10**). La différence de DGC entre lots s'efface progressivement ($P>0,05$, dès 647 dpf). Ce résultat évoque qu'après une période d'adaptation, les poissons sont capables de grandir aussi rapidement avec l'aliment PB qu'avec l'aliment M (**Figure 10**).

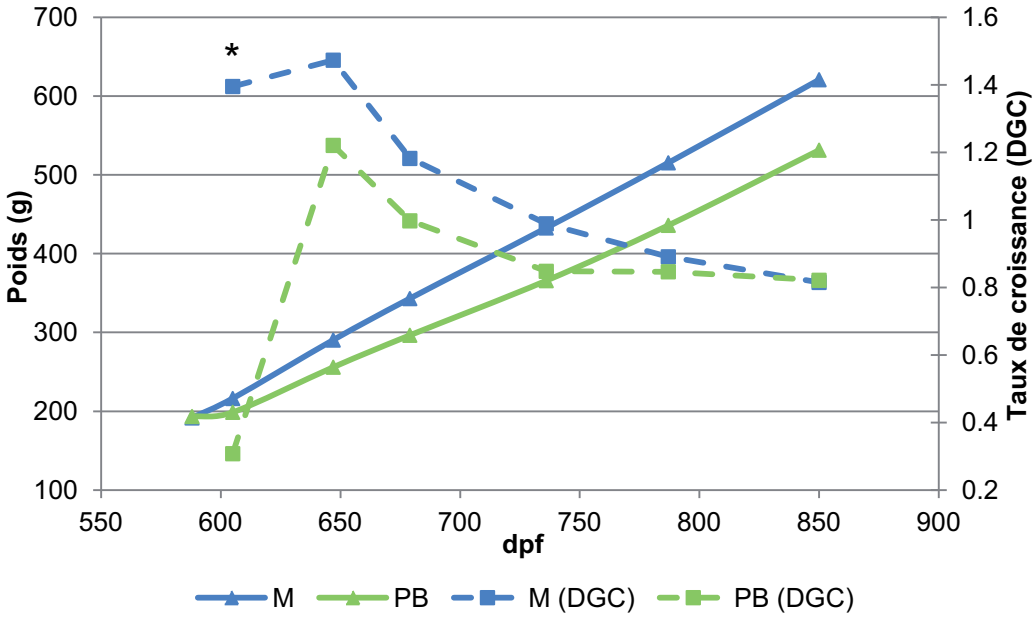


Figure 10. Poids moyens et taux de croissance moyens (DGC) chez deux lots de bars européens nourris avec un aliment d'origine végétale (PB) ou avec un aliment contenant des produits d'origine marine (M) en fonction du nombre de jours après fécondation (dpf). * indique une différence significative entre les taux de croissance (P<0,05).

Une variabilité génétique lorsque des bars sont nourris avec PB

Après 372 jours, le poids et le taux de lipides du filet sont tous deux héritables (respectivement 0,36 ± 0,18 et 0,56 ± 0,22) chez des bars nourris avec l'aliment PB. Ces estimations permettent d'envisager une sélection de ces caractères chez des individus privés de produits d'origine marine (+ 16% du poids pour une pression de sélection de 5%). Si les h^2 ne sont pas significativement différentes entre lots (> 2 erreurs types), on remarque cependant qu' elles sont toujours plus élevées dans le lot M. De plus, l'h^2 dans le lot PB est fortement diminuée dans les premières semaines qui suivent le changement d'alimentation, la différence entre les lots se réduisant par la suite. L'expression du potentiel génétique des individus est perturbée à la suite de la transition alimentaire puis semble se rétablir, ce qui laisse suggérer que cette transition représente un challenge pour les animaux mais aussi qu'ils parviennent à le surmonter.

Des interactions génotype-environnement

Après avoir reçu un aliment commercial jusqu'à 192 g, un passage sur un aliment entièrement d'origine végétale entraîne des réponses de croissance contrastées selon les

familles de pères. Des reclassements de familles entre les lots nourris avec M ou PB sont observés pour le poids (**Figure 11**) et le taux de lipides du filet.

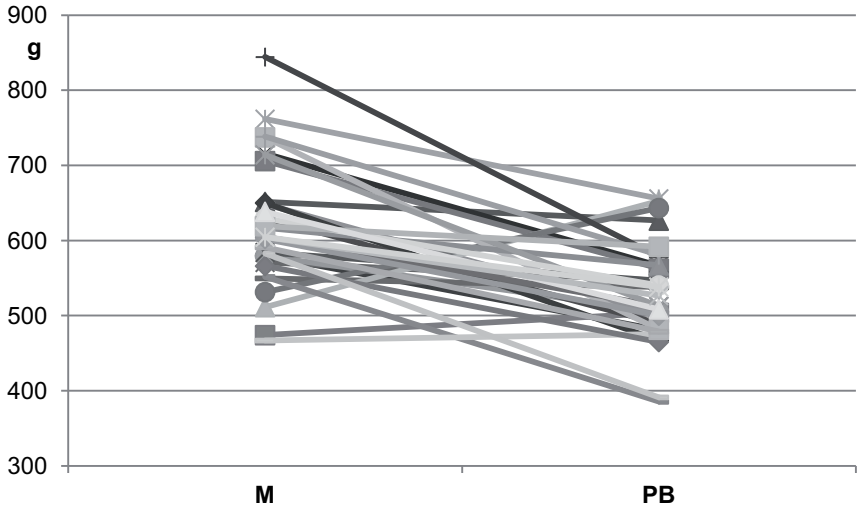


Figure 11. Poids moyen des individus issus de chacune des familles de père selon qu'ils sont nourris avec l'aliment M ou PB. M contient de la farine et de l'huile de poisson. PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre.

L'existence de ces reclassements est confirmée par l'interaction significative entre l'effet père et l'effet aliment (**Figure 12**) ainsi que par les corrélations génétiques entre aliment différentes de 1 (**Figure 12**). L'évolution de ces deux indicateurs montre que les classements de familles sont peu modifiés pendant les 150 premiers jours suivant le changement d'aliment. A partir de cette date, les deux aliments ont des effets différents sur les différentes familles de père. Ainsi, si l'effet sur le poids apparaît au début de l'expérience (600 dpf), l'effet sur le classement des familles devient significatif plus tardivement. On peut penser que ce délai reflète l'existence de réponses différentes des familles face au passage sur aliment PB et donc le temps nécessaire pour que les moyennes de famille évoluent assez pour se reclasser les unes par rapport aux autres.

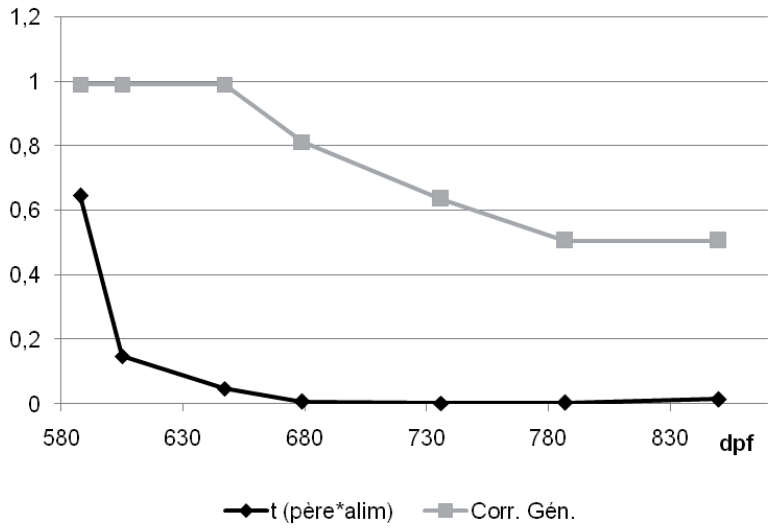


Figure 12. Estimation de l'interaction génotype-environnement pour le poids en fonction du temps. En noir, la valeur du test de Fisher relative à l'interaction entre l'effet de la famille de père et l'effet de l'aliment. En gris, la corrélation génétique du poids estimée entre les deux aliments.

Un dispositif peu puissant

Toutefois, le dispositif expérimental était sans doute peu adapté à la détection d'interactions entre aliments. En effet, si le nombre et la taille des familles est suffisant pour l'estimation des h^2 (Dupont-Nivet et al., 2002), le nombre de bassins (2 par lot) est probablement trop faible pour estimer avec précision les effets d'environnements communs. De plus, une estimation précise de la Rg nécessite un plus grand nombre d'individus par famille (Sae-Lim et al., 2010). La représentation familiale finale dépend du succès des différents croisements entre géniteurs, de l'échantillonnage de la population, du succès de l'identification des allèles des microsatellites lors du génotypage et de la possibilité de réattribution des parentés à partir des microsatellites identifiés. Pour certaines familles (**Figure 13**), le nombre d'individus représentés était faible et ces familles ont du être retirées du jeu de données sous peine de biaiser l'estimation finale des paramètres génétiques.

La **Figure 13** met également en évidence des familles dont la longueur est plus élevée dans le lot PB que dans le lot M. Si ce cas de figure peut exister, on remarque qu'ici les familles concernées sont de petite taille. Cette différence peut provenir d'un biais d'échantillonnage, ceci confirme l'importance de vérifier les représentations familiales.

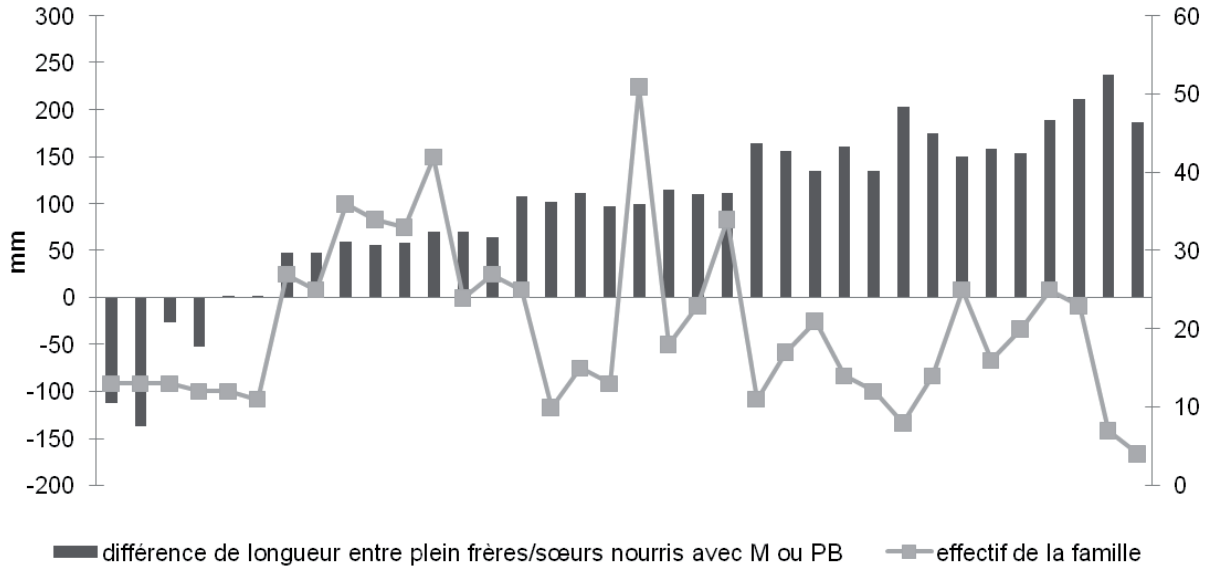


Figure 13. Différences de longueur entre aliments par famille de père et nombre d'individus issu de cette famille. Les barres indiquent la différence moyenne de longueur entre des individus issus de la même famille de père nourris avec l'aliment M et avec l'aliment PB. La courbe grise indique le nombre d'individus génotypés issus de la famille correspondante.

Cette étude a donc démontré un faible effet de l'aliment PB sur la croissance tardive mais une modification des classements des familles. Il était donc important de confirmer ou non ces résultats en étendant la période d'étude aux stades précoces. D'une part, les stades précoces sont souvent déterminants dans les performances globales à l'issue du cycle d'élevage. D'autre part, les individus issus des programmes de selection sont transférés vers les sites de grossissement au stade juvenile. C'est donc à ce stade que les changements de régime sont susceptibles d'intervenir. Ce second essai a été conduit avec un dispositif expérimental plus puissant.

4-2) Chez le bar, dès les stades précoces

La faisabilité d'un sevrage précoce directement sur un aliment de type PB avait été testée par l'équipe de nutrition de l'INRA de Brest (Geay, 2011). Les mortalités massives dans ce lot ont confirmé les résultats préliminaires obtenus par cette équipe sur les besoins précoces du bar en AGPI-LC. Aussi, il a été décidé de conduire les estimations de paramètres génétiques en ne distribuant l'aliment PB qu'après un sevrage sur un aliment artificiel commercial. Le protocole est similaire à celui de l'essai précédent à l'exception de deux aspects. Les individus sont issus d'un croisement utilisant moins de pères (25) et plus de mères (9) et trois réplicats sont utilisés pour chaque aliment (**Figure 14**).

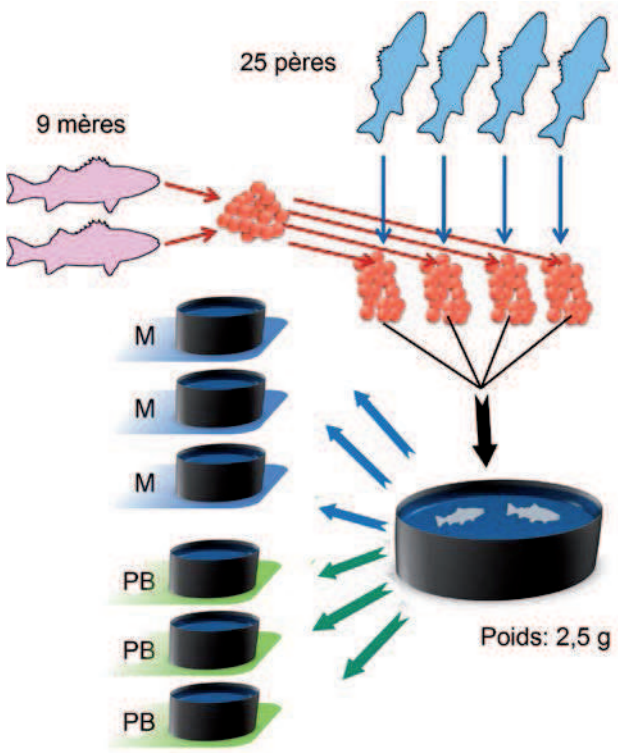


Figure 14. Schéma expérimental de l'essai portant sur les interactions génotype-aliment chez le bar européen dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale, chez les stades précoces. M est un aliment contenant des produits d'origine marine, PB est un aliment qui n'en contient pas.

L'objectif est d'estimer l'h^2 et l'IGA dans un contexte de remplacement total des produits d'origine marine (FOr: 100 %, FMr: 100 %) dès les plus jeunes stades (2.5 g) chez le bar européen. Les estimations obtenues ont été utilisées pour comparer l'efficacité potentielle d'un programme de sélection, selon que les géniteurs et/ou les descendants sont élevés avec

un aliment contenant des produits d'origine marine ou un aliment entièrement d'origine végétale. Les caractères étudiés seront la survie, le poids et la longueur (moyenne et variabilité), la conformation et le taux de croissance.

Genotype by diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax, L.*) in case of a nutritional challenge on totally plant-based diets [1]

R. Le Boucher,*†‡[2] M. Vandeputte,*† M. Dupont-Nivet,* E. Quillet,* F. Ruelle,† A. Vergnet,† S. Kaushik,§ F. Médale,§ and B. Chatain†

*INRA, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas, France

†Ifremer, UMR110 Intrepid, Chemin de Maguelone, F-34250 Palavas-les-Flots, France

‡AgroParisTech, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-75231 Paris 05

§INRA, UMR1067, Nutrition, Métabolisme, Aquaculture, F-64310 St Pée-sur-Nivelle, France

[1]This research was financed by the VEGEAQUA grant from the French Ministry of Economy. It is part of the work programme of GDR AGpi between INRA and Ifremer.

[2]Corresponding author: Ifremer, Chemin de Maguelone, F-34250 Palavas-les-Flots, France, E-mail : richard.le.boucher@ifremer.fr

Submitted in Journal of Animal Science

Abstract

Aquaculture of carnivorous species has strongly relied on fish meal and fish oil for feed formulation and higher and higher replacement by terrestrial plant-based products is occurring now. This rapid change in dietary environment has been a significant evolution and has to be taken into consideration in breeding programs. The present study analyzed potential risks of this tendency for selective breeding, by estimating genetic parameters of body weight and growth rates estimated by TGC (Thermal Growth Coefficient) over different periods with extremely contrasted diets. European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) issued from a factorial cross (1,526 fish) between 25 sires and 9 dams were used to estimate heritabilities and genotype by diet interaction. Starting 87 days after fertilization (2.5 g), half of them were fed a diet containing marine products (M) and the other half was fed a totally plant-based (PB) diet (without any fishmeal and any fish oil). They were individually tagged, reared in a recirculated system and DNA was sampled to rebuild parentage of individuals. Body weight and TGC were measured during 335 days until fish fed M diet reached 108.3 g. They were significantly lower in fish fed the PB diet ($P<0.05$) in the very first stages following the dietary shift but the difference in TGC between diets rapidly disappeared ($P>0.1$). Survival was significantly lower in fish fed the PB diet (PB: 64.7% M: 93.7% after 418 days, $P<0.05$). This work evidenced moderate heritabilities (0.18-0.46) for body weight (*BW*) with both diets and high genetic correlations between diets (0.78-0.93) meaning low genotype by diet interactions, although diets were extremely contrasted. Heritabilities of TGC (0.11-0.3) were lower than for *BW* as well as genetic correlations between diets (0.43-0.64. Using such extremely contrasted diets, predicted gains in different scenarii indicated that selecting fish for growth on a marine diet should be the most efficient way to increase growth on plant-based diets, meaning that in this case indirect selection should be more efficient than direct selection.

Keywords: European sea bass, genetic correlation, genotype by diet interaction, genotype by environment interaction, plant based diet

1 Introduction

Following the decline of fisheries worldwide, aquaculture now supplies an increasing proportion of aquatic products for human consumption. Farmed fish are supposed to cover the increase in demand in the next 20 years (FAO, 2008) when fisheries will not be able to meet it (Tacon and Metian, 2008; Naylor et al., 2009). Carnivorous species, like the European sea bass, were pointed out for their high use of fishmeal (FM) and fish oil (FO) issued from small pelagic species. The pressure to reduce dependency on such marine resources is high (Naylor et al., 2009) and higher and higher substitution rates with plant-based products have been tested in the diets (Powell, 2003).

In the late 1990's, the first breeding programs started on European sea bass and strong progress for growth (+ 23 to 42% per generation) was demonstrated to be feasible (Vandeputte et al., 2009) as heritability estimates (h^2) were estimated to be medium to high (Dupont-Nivet et al., 2008; Saillant et al., 2006). However, recent trials showed that genotype by environment interactions could impact growth when fish were reared in different culture conditions (Dupont-Nivet et al., 2010). By extension, diet composition is projected to be highly variable and estimates of genotype by diet interactions are now needed to know how fingerlings will perform in different dietary environments. Most published results on this issue have been obtained in salmonids. Some found high genetic correlation between diets (0.97 ± 0.21, Quinton et al., 2007a, b) and did not evidence significant genotype by environment interactions (Palti et al., 2006; Quinton et al., 2007a, b). Some others found moderate genetic correlation between diets (0.73 ± 0.13, Pierce et al., 2008) and concluded to significant interactions (Pierce et al., 2008; Dupont-Nivet et al, 2009). Starting at early stages (2.5 g), we assessed heritabilities of growth traits and genetic correlations between and within diets comparing totally plant-based diet and a diet containing marine products.

The objectives of the present study were to 1) assess the potential efficiency of a breeding program when fish had been selected using a given diet (containing FM and FO or not) and transferred in a different dietary environment; 2) estimate the usefulness of new orientations for breeding programs taking into account new dietary environments.

2 Material and methods

Experimental diets

Two experimental diets were formulated by INRA to be isoproteic, isolipidic and isoenergetic. Plant-based (PB) and marine (M) diets were extremely contrasted for what concerns the proportion of marine products. The M diet contained both fish meal and fish oil when the PB diet was totally devoid of marine products (Table 1). Both diets contained minerals and vitamins premix to meet European sea bass nutritional requirements according to NRC (1993). A first batch was processed in INRA facilities (Donzacq, France) and distributed until 344 days of age and a second batch was processed by Biomar (Denmark) and distributed until the end of the trial. The formulation and analytical composition were identical (Table 1). Pellet size was adjusted according to mean body weight of fish and rations based on estimated biomass were distributed using self-feeders.

Fish

This study was conducted in the Ifremer aquaculture station (Palavas-les-Flots, France) with wild-caught West Mediterranean European sea bass broodstock. A factorial cross between 9 dams and 25 sires was done in order to obtain 225 families. Sperm had been collected one year earlier and cryopreserved. After hormonal induction of ovulation (10 $\mu g.kg^{-1}$ luteinizing releasing hormone, Sigma D-TRP6LHRH), females were manually stripped and same volume of eggs from each female was collected, mixed and divided into 25 aliquots of 40 ml. Each aliquot of eggs was then fertilized by thawed sperm from a single male to avoid sperm competition. All fertilizations were performed within 30 minutes. After anaesthesia (phenoxyethanol, 300 ppm), fin clips were collected on the parents and stored in ethanol pending DNA extraction. In this experiment, the age of the fish is expressed in days post-fertilization. Until 68 days, larvae were all kept in the same tank and the temperature rose from 14°C to 20°C (Chatain, 1994). Fish were fed on *Artemia* nauplii for 40 days then weaned on a commercial diet (Marin Start, Le Gouessant, Lamballe, France). At 83 days, 9,600 fish (2.5 g) were distributed in 6 conical-bottom 1.5 m^3 tanks (3 per diet). Recirculated water with regulated temperature (mean ± SD; 20.8 ± 1.1°C, range; 16.9-25.3) was supplied, a temperature below the optimum temperature for the maximal growth of European sea bass

which is about 27°C (Lemarié, pers. comm.). Experimental diets were loaded in self-feeders (87 days) and active feeding for both diets started 3 days later. When they reached approximately 20 g (mean ± SD; M (224 days): 23.3 ± 8.1 g; PB (266 days): 17.9 ± 7.6 g), fish were individually tagged with passive integrative transponders (AEG-Id, Germany). After anaesthesia (phenoxyethanol, 300 ppm), all fish were transferred (360 days, mean ± SD; M: 70.3 ± 1.6 g and PB: 36.6 ± 2.06 g) to 6 tanks (5 m^3) in order to keep the same batches and maintain low fish densities (<20 kg/m^3). During the transfer, fin samples were collected from each fish after anesthesia (phenoxyethanol, 300 ppm) and kept into absolute ethanol. A high sensitivity of sea bass juvenile to plant-based products has been evidenced in preliminary trials and little is known about the origin of this sensitivity. This is the reason why it was preferred to use a commercial diet rather than 1:1 mixture of experimental diets prior to the beginning of trial, which would have been another possible option.

Data collection

To estimate early growth (before tagging), random samples of 50 fish per tank were measured at 4 dates (83 days, 116 days, 151 days and 224 days) for body weight (*BW*, in grams) and standard length (*SL*, in millimeters). After tagging, *BW* and *SL* were individually measured monthly (266, 298, 326, 361, 389, 418 days) and survival was monitored daily. Fish shape was estimated computing Fulton's condition factor ($K = (BW/ SL^3)*100$). Between the second and the third measurement (300 days), a technical problem in the oxygen circuit led to massive mortality in one tank of the PB batch without involving the other tanks. Consequently, only 2 PB tanks were further considered for analyses. At the end of the trial (418 days), DNA samples of 1,526 randomly chosen fish (3 x 272 in M and 2 x 355 in PB) were analyzed for parentage assignment and the corresponding fish were slaughtered and dissected to determine their sex. The trial ended when M fish reached approximately one third of their commercial size, which is usually 300-450g.

Thermal-unit growth coefficient (*TGC*) was chosen as a standardized measure of growth (Dumas et al., 2007) that is assumed to be unaffected by body weight, time interval and water temperature (Iwama and Tautz, 1981), as long as temperature is below the optimum

temperature for growth, which is the case in the present study. For a period starting on day n and ending on day m, it is calculated as following

$$TGC_{nm} = 1000 * \frac{BW_m^{(1/3)} - BW_n^{(1/3)}}{\sum_{i=n}^{m} (T_i - 10)}$$

Where BW_n and BW_m were fish body weight (g) on day n and m, T_i (°C) was the daily temperature.

Parentage assignment

Parents and offspring were assayed at 13 microsatellite loci described in Chistiakov et al. (2006) and García De Leon et al. (1995). Rapid DNA extraction and genotyping were done by LABOGENA (Jouy-en-Josas, France). Parentage assignment was performed by exclusion allowing a maximum of 2 allelic mismatches using VITASSIGN (Vandeputte et al., 2006). At the end of this process, 98.7% of the fish sampled had been successfully and unambiguously assigned to their parents. Some families were poorly represented and only half-sib families containing more than 10 individuals per diet were kept for the analyses, meaning that the offspring analyzed in both diets were finally issued from the same factorial cross between 9 dams and 22 sires. Similar sizes of half-sib families were obtained in the M diet (mean ± SD; 37.1 ± 22.0 for sire half-sib families; range: 12, 95, 90.8 ± 78.0 for dam half-sib families; range: 25, 247) and the PB diet (33.2 ± 19.5 for sire half-sib families; range: 13, 85, 81.1 ± 75.5 for dam half-sib families; range: 21, 248). In the same way, half-sib families were also evenly distributed among tanks.

Statistical analyses

For measurements collected before individual tagging, the significance of diet and tank effects was tested with the following model in the MIXED procedure of SAS using the REPEATED command (SAS Institute Inc., Cary, NC) to account for variance heterogeneity between diets:

$$Y_{ijk} = \mu + Diet_i + \text{tank}(diet)_{j(i)} + e_{ijk} \quad (1)$$

Where Y_{ijk} is the individual performance, μ is the overall mean, $Diet_i$ is the fixed effect of the diet (i=1, 2), $tank_{j(i)}$ is the random effect of the tank j (j=1, 2, 3 for M batch and 1, 2 for PB batch) nested within diet i and e_{ijk} is the random residual. At this stage, fish were not yet identified and sex, dam and sire were not known.

For measurements collected after tagging, the significance of diet, sex, tank, sire and dam effects as well as sire-diet and dam-diet interactions were tested with the following model in the MIXED procedure of SAS using the REPEATED command (SAS Institute Inc., Cary, NC) to account for variance heterogeneity between diets:

$$Y_{ijklmn} = \mu + Diet_i + Sex_j + \tan k(diet)_{k(i)} + sire_l + dam_m + sire * Diet_{il} + dam * Diet_{im} + e_{ijklmn} \quad (2)$$

Where Y_{ijklmn} is the performance of individual n, Sex_k is the fixed effect of sex k (1=male, 2=female), $sire_l$ is the random effect of sire l, dam_m is the random effect of dam m, $sire*diet_{il}$ the random interaction between sire l and diet i, $dam*diet_{in}$ the random interaction between dam n and diet i and e_{ijklmn} is the random residual. Preliminary analyses indicated that the sire-dam interaction was never significant for any trait and it was therefore not included in the models. Preliminary analyses also showed that *K* was influenced by *BW* which could lead to biased estimates when comparing fish fed different diets. Body weight was tested as a covariate, but as there was a significant interaction between *BW* as covariate and diet (heterogeneous slopes), log (*BW*) for which slopes were homogeneous was preferred and added as a covariate in model, so that the comparison of K between diets was corrected for the phenotypic effect of BW.

Coefficient of variation (standard deviation/mean in %, *CV*), skewness (*Skew*) and kurtosis (*Kurt*) were calculated for each tank within each diet. They were considered significantly different from 0 when their absolute value was higher than twice the standard errors [√(6/N) for skewness and √(24/N) for kurtosis].

The effect of diet on *CV* was studied by comparing models with homogeneous (MIXED procedure of SAS Institute Inc., Cary, NC) or heterogeneous (REPEATED command in MIXED procedure) variance. Chi-square tests (1 df, $P<0.05$) were computed between log-likelihood to estimate the diet effect. To analyze the diet effect on the survival, we used the R

software (Ihaka and Gentleman, 1996) and its lme4 library (Bates and Sarkar, 2006) associated with a binomial model.

ASREML (Gilmour et al., 2008) was used to estimate heritabilities (using univariate models) of the traits in both diets, as well as genetic correlations (using bivariate models) between and within diets according to the following model:

$$Y_{ijklmno} = Diet_{ij} + Sex_{ik} + Tank(diet)_{il(ij)} + an_{im} + dam_{in} + e_{ijklmno} \quad (3)$$

Where i is the trait, Y_{ijklmo} is the i performance of individual m (i=1 for univariate models and i=1,2 for bivariate models), $Diet_{ij}$ is the fixed effect of diet j on trait I, Sex_{ik} is the fixed effect of sex k (1=male, 2=female) on trait i, $Tank_{il(ij)}$ is the fixed effect of tank l (l=1, 2, ... , 5) nested within diet k on trait i, an_{im} is the random additive genetic effect of trait i on animal m, dam_{in} is the random effect of dam n on trait i (accounting for non-genetic maternal effect) and $e_{ijklmno}$ is the random residual error for trait i.

To analyze family rankings evolution over time within each diet, genetic correlations between different measurements were estimated (one per measurement pair). The closer to 1 the correlation, the more consistent the family rankings. To analyze the genotype by diet interaction, genetic correlations between a trait in the M batch and the same trait in PB batch were estimated. The closer to 1 the correlation, the smaller the genotype-by-diet interaction. To know how genotype by diet interaction evolved with time, these correlations were also computed between non simultaneous dates (for instance between *BW* in M fish at 265 days and *BW* in PB fish at 361 days).

Heritabilities and genetic correlations of *BW* and *TGC* were used to predict the potential relative gain (% of *BW*, *TGC*) for one generation of individual selection (Falconer, 1952). Direct response expected for *BW* on diet X was given by:

$$R_X = i_X h_X^2 \sigma_X$$

Where R_X is the direct response when fish were fed a diet X for an i_x intensity of selection, h^2_X is the heritability of *BW* in diet X and σ_X is the phenotypic standard deviation of

BW fed diet X. The correlated response expected for *BW* on diet Y when selection pressure was applied on individuals fed a diet X was given by:

$$RC_Y = i_X h_X h_Y r_A \sigma_Y$$

Where RC_Y is the correlated response on body weight (g) for fish fed a diet Y, for a selection intensity i_x applied on candidates fed a diet X, h_X is the square root of the heritability of *BW* with diet X, h_Y is the square root of heritability of *BW* with diet Y, r_A is the genetic correlation of *BW* between the diets X and Y, and σ_Y is the phenotypic standard deviation of *BW* with diet Y.

Under farming conditions, fish are usually reared until an expected weight, thus correlated response was estimated for similar weights instead of similar ages. To be consistent with this choice, corresponding heritabilities and genetic correlations estimates were used. For example, assuming that mean *BW* of fish fed M diet at date 3 is similar to *BW* of fish fed PB diet at date 6, the correlated response of *BW* on plant-based diet after a selection on marine diet was given by:

$$RC_{PB_6} = ih_{M_3} h_{PB_6} r_{3-6} \sigma_{PB_6}$$

Where RC_{PB6} is the correlated response of *BW* in fish fed a PB diet (based on their weight at date 6) for a selection intensity i applied when fed a M diet at date 3, h_{M3} is the square root of heritability of *BW* with M diet (date 3), h_{PB6} is the square root of heritability of *BW* with PB diet at date 6, $r_{3\text{-}6}$ is the genetic correlation of *BW* between the M diet at date 3 and PB diet at date 6, σ_{PB6} is the phenotypic standard deviation of *BW* on PB diet at date 6.

3 Results

Table 1. Formulae and analytical composition of the experimental diets (M: fish meal and fish oil diet, PB: all fish meal and fish oil replaced by plant products)

Diets	M	PB
Ingredients ($g.kg^{-1}$)		
Fishmeal	380	0
Corn gluten meal	180	200
Soybean meal	0	182
Wheat gluten	72	20
Extruded wheat	253	72
White lupin	0	140
Fish oil	85	0
Linseed oil	0	94
Soy lecithin	0	10
L-Lysine	0	27
$CaHPO_4$, $2H_20$	0	30
Binder (Sodium alginate)	10	10
Attractant Mix[1]	0	15
Min. Premix[2]	10	10
Vit. Premix[2]	10	10
Chemicals composition		
DM, %	92.3	93.7
Crude protein, % DM	50.6	49.6
Crude fat, % DM	15.3	14.3
Nitrogen free extract (NFE)[3], %DM	23.0.1	19.3
Energy, kj/g DM	23.0	23.3

[1]Attractant mix contained (g/kg feed) taurine (3), betaine (3), glycine (2), alanine (2) and glucosamine (5)

[2]As in Guillaume et al. (2001).

[3]NFE = Dry matter-Crude protein-crude fat-Ash

Diet effect

Survival was lower (Table 1, P<0.01) in fish fed the PB diet (83.9%) than in fish fed the M diet (99.3%) at 224 days and this difference was stronger at the end of the trial (418 days), when survival were 64.7% with the PB diet and 93.7% with the M diet (Table 3).

Before the first feeding with experimental diets, *BW* ls-means were similar (P=0.66) in both the M and the PB samples (Table 2). As early as the second measurement (116 days), fish fed the M diet were significantly heavier (P<0.001) and longer (P<0.01) than fish fed the

PB diet and these differences remained significant all along the trial ($P<0.01$). When considering *TGC* (Table 2), the PB fish grew less than the M fish in the first 2 periods ($P<0.05$) but the difference disappeared after 151 days (except between 266 days and 298 days). The diet effect was important on shape (Table 4) and fish fed the M diet were thinner than fish fed the PB diet after 266 days. *CV* of *BW* (Table 4) were almost always significantly higher ($P<0.1$) in the PB diet (43.3% to 34.7%) than in the M diet (34.5% to 30.5%). Higher kurtosis of *BW* distribution in fish fed the PB diet indicated that population shape was peakier than in fish fed M diet. Higher skewness (Table 4) showed that smaller fish were proportionally more present in the PB batch.

Table 2. Least square means (Mean), standard errors (SE) for traits on 2 diets, and statistical tests for diet effect

			M		PB		Statistical test for diet effect		
Days	**Trait[1]**	**Unit**	**Mean**	**SE**	**Mean**	**SE**	**Df**	**F**	**P-value**
83	BW[2]	g	2.5	± 0.1	2.6	± 0.1	4	-0.5	0.6555
116	BW[2]	g	6.9	± 0.2	4.8	± 0.2	4	9.3	0.0007
151	BW[2]	g	11.4	± 0.4	6.6	± 0.4	4	7.9	0.0014
224	BW[2]	g	23.5	± 0.5	13.5	± 0.6	4	11.7	0.0003
266	BW[3]	g	36.1	± 1.8	20.5	± 1.9	3	8.0	0.0041
298	BW[3]	g	47.6	± 2.3	24.8	± 2.5	3	8.7	0.0032
326	BW[3]	g	55.9	± 2.2	29.5	± 2.3	3	12.0	0.0012
361	BW[3]	g	72.1	± 2.8	38.3	± 2.8	3	12.1	0.0012
389	BW[3]	g	85.3	± 2.8	48.4	± 2.7	3	14.7	0.0007
418	BW[3]	g	108.3	± 3.7	64.6	± 3.9	3	11.7	0.0013
83	SL[2]	mm	59.3	± 1.0	60.0	± 1.0	4	-0.5	0.6535
116	SL[2]	mm	78.9	± 0.8	71.7	± 0.7	4	6.8	0.0025
151	SL[2]	mm	97.5	± 1.4	83.0	± 1.4	4	7.3	0.0019
224	SL[2]	mm	126.5	± 1.5	105.0	± 1.6	4	9.7	0.0006
266	SL[3]	mm	148.7	± 2.6	120.2	± 2.8	3	11.6	0.0014
298	SL[3]	mm	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.			
326	SL[3]	mm	173.4	± 2.7	134.8	± 2.8	3	16.2	0.0005
361	SL[3]	mm	191.4	± 2.5	148.8	± 2.6	3	20.0	0.0003
389	SL[3]	mm	197.5	± 2.5	154.4	± 2.6	3	18.3	0.0004
418	SL[3]	mm	207.8	± 2.6	167.3	± 2.7	3	15.6	0.0006
83	K[2]		1.17	± 0.02	1.15	± 0.02	4	0.6	0.5812
116	K[2]		1.37	± 0.02	1.26	± 0.02	4	3.8	0.0192
151	K[2]		1.18	± 0.01	1.10	± 0.01	4	4.4	0.0112
224	K[2]		1.12	± 0.01	1.10	± 0.01	4	0.8	0.4587
266	K[3]		1.0	± 0.01	1.12	± 0.01	3	-4.2	0.0244
298	K[3]		n.e.	n.e.	n.e.	n.e.			n.e.
326	K[3]		1.02	± 0.01	1.15	± 0.01	3	-16.7	0.0005
361	K[3]		0.97	± 0.01	1.12	± 0.01	3	-9.2	0.0027
389	K[3]		1.05	± 0.02	1.28	± 0.02	3	-10.8	0.0017
418	K[3]		1.15	± 0.01	1.35	± 0.01	3	-15.1	0.0006
83	TGC[2]								
116	TGC[2]		1.78	± 0.06	1.04	± 0.04	4	10.2	0.0005
151	TGC[2]		0.89	± 0.08	0.48	± 0.11	4	2.9	0.0424
224	TGC[2]		0.98	± 0.16	0.98	± 0.09	4	0.0	0.9919
266	TGC[3]		0.77	± 0.06	0.52	± 0.11	4	2.0	0.1121
298	TGC[3]		0.89	± 0.05	0.52	± 0.06	3	1.0	0.0202
326	TGC[3]		0.63	± 0.06	0.52	± 0.06	3	0.9	0.4187
361	TGC[3]		0.79	± 0.07	0.67	± 0.09	3	1.1	0.3502
389	TGC[3]		0.69	± 0.07	0.80	± 0.06	3	1.0	0.2582
418	TGC[3]		1.24	± 0.09	1.28	± 0.01	3	-0.3	0.7899

[1] BW = body weight, SL = standard length, K = condition factor, TGC = thermal growth rate calculated for the previous shortest period.
[2] Analyses were done with model (1)
[3] Analyses were done with model (2)
n.e. : non estimated

Genetic parameters

Table 3. Means, standard deviation (SE) for survival on 2 diets, and statistical tests for diet effect

			M		PB		Statistical test for diet effect		
Days	**Trait**	**Unit**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	**Df**	**F**	**P-value**
83	S	%	100.0	0.0	100.0	0.0	4		
116	S	%	99.9	0.1	97.9	0.7	4	4.9	0.0001
151	S	%	99.8	0.2	96.5	0.7	4	4.4	0.0001
224	S	%	99.3	0.5	83.9	7.5	4	2.8	0.0005
266	S	%	98.8	0.6	79.3	9.0	4	2.6	0.0009
298	S	%	98.1	1.4	72.9	9.6	4	2.3	0.0195
326	S	%	98.1	1.4	71.0	9.7	4	2.2	0.0260
361	S	%	93.8	1.5	68.0	9.5	4	2.5	0.0135
389	S	%	93.7	1.4	65.5	10.0	4	2.3	0.0229
418	S	%	93.7	1.4	64.7	9.9	4	2.2	0.0270

Table 4. Coefficients of phenotypic variation (CV), kurtosis (Kurt), skewness (skew) of body weight, and statistical tests for diet effect

	M			PB			Statistical test for diet effect		
Days	**CV**	**Kurt**	**Skew**	**CV**	**Kurt**	**Skew**	**CV[1]**	**Kurt[2]**	**Skew[2]**
83	30.5	0.0	0.7	34.7	0.8	0.7	*	*	n.s.
116	30.9	0.4	0.7	29.0	1.6	0.8	*	*	n.s.
151	32.0	-0.3	0.3	38.9	2.2	1.1	*	*	*
224	34.5	0.4	0.7	41.4	0.9	1.0	*	*	n.s.
266	32.7	0.6	0.7	40.9	1.8	1.2	*	*	*
298	31.9	0.5	0.7	43.3	2.4	1.3	*	*	*
326	31.3	0.5	0.7	42.9	2.9	1.3	*	*	*
361	31.7	0.4	0.6	42.9	3.7	1.4	*	*	*
389	31.1	0.2	0.6	40.3	2.8	1.2	*	*	*
418	31.1	0.1	0.5	38.3	2.2	1.1	*	*	*

Table 5. Heritabilities (h^2), common environment ratios (c^2), their SE, and variance components of genetic (σ_G), maternal (σ_m) and residual (σ_r) variance for TGC on 2 diets, genetic correlations for these traits between diets Table 5.

	PB[4]							M[4]							Gen.Corr.	
	h^2	SE	c^2	SE	σ_G	σ_m	σ_r	h^2	SE	c^2	SE	σ_G	σ_m	σ_r	ρ	SE
TGC[1]	0.11	± 0.06	0.0	±0.0	0.5	0.0	2.4	0.33	±0.10	0.0	±0.0	0.7	0.0	1.9	0.64	±0.28
TGC[2]	0.20	± 0.08	0.0	±0.0	0.5	0.0	1.8	0.35	±0.13	0.0	±0.1	1.0	0.0	1.8	0.43	±0.27
TGC[3]	0.19	± 0.07	0.0	±0.0	0.2	0.0	1.4	0.31	±0.09	0.0	±0.0	0.6	0.0	1.3	0.56	±0.35

[1]TGC = thermal growth coefficients calculated for the longest period (152 days between 266 (date 5) and 418 days (date 10))
[2]TGC = thermal growth coefficients calculated for intermediary period (60 days between 266 (date 5) and 326 days (date 7)
[3]TGC = thermal growth coefficients calculated for intermediary period (92 days between 326 (date 7) and 418 days (date 10)).

Heritability estimates were moderate (between 0.18 and 0.46) for *BW*, stable over time in M fish, and tending to decrease in PB fish (Figure 1). They were higher in M fish at each measurement but the difference between diets was never significant (less than 2 standard errors). The genetic correlation for *BW* calculated between simultaneous measurements (Figure 1) in both diets was a little less than 1 for the first measurement and slightly decreased during the trial to finally stabilize around 0.8.

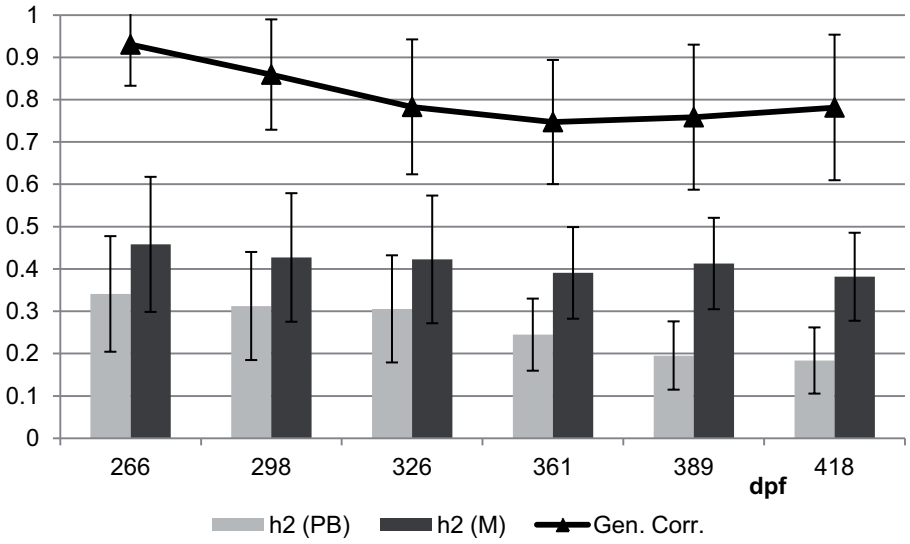


Figure 1. Heritabilities of Body Weight for both PB and M diet and genetic correlations for this trait between diets. Estimates are calculated for each measurement in days post fertilization (dpf) and vertical bars indicate standard errors.

Figure 2.A shows genetic correlations for *BW* between diets with a time dimension. For synchronous measurements (on the diagonal), the estimates are the same as those presented in Figure 1. For asynchronous measurements, genetic correlations decreased with time interval. Decreasing around the diagonal was slightly unbalanced and evolution can be considered as similar in both diets. Lower diagonal (Figure 2.A, dotted line) indicates measurement when *BW* in each diet were similar (Table 2), genetic correlation were then between 0.8 and 0.9 in this case. Within-diet genetic correlations were high (Figure 2.B and 2.C) showing a strong consistence for family structures within diets.

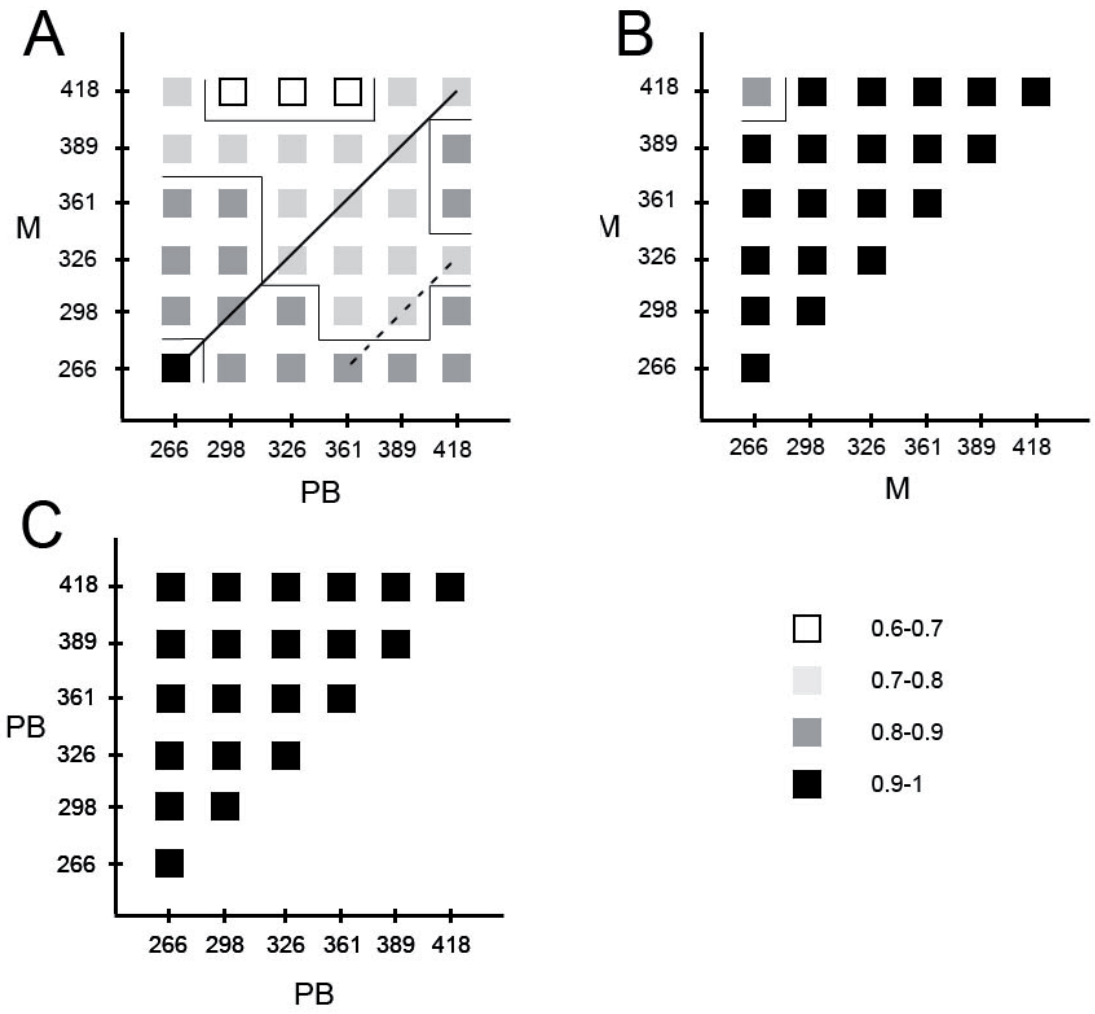


Figure 2.Genetic correlations for BW between fish fed M diet or PB diet (A), estimates are calculated for each pair of dates. Genetic correlations for BW within the PB batch (B) and within the M batch (C) were also estimated for each date pair of dates.

Heritabilities and genetic correlations for *TGC* are shown in Table 3. When focusing on the longest period (152 days between 266 and 418 days), heritability estimates were low in both diets and significantly lower in fish fed the PB diet than in fish fed the M diet (more than 2 standard errors). For shorter periods (60 days between 266 and 326 days and 92 days between 326 and 418 days), heritability estimates were similar in both diets. Genetic correlations between diets were moderate, ranging from 0.43 for the shortest period to 0.64 for the longest one (Table 3).

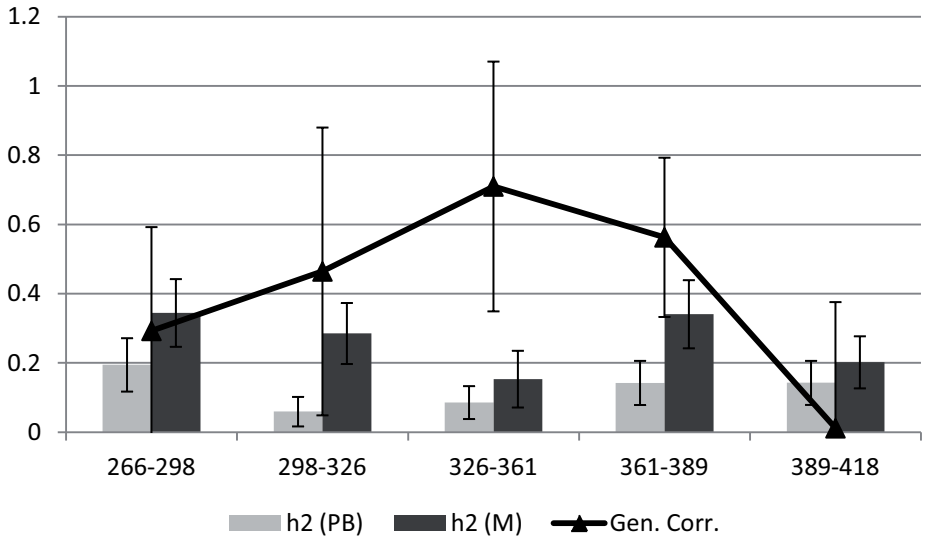


Figure 3. Heritabilities of thermal growth rates (TGC) for both PB and M diet and genetic correlation for this trait between diets. Estimates are calculated between measurement days in days post fertilization and vertical bars indicate standard errors.

When focusing on shorter periods (around 30 days), heritability estimates of *TGC* were low (between 0.06 and 0.34), without a consistent trend over time (Figure 3). They were higher in M fish for each measurement but the difference between diets was only significant between 298 and 326 days and between 361 and 389 days. Genetic correlations for *TGC* calculated between simultaneous measurements in both diets were strongly variable with time, ranging from 0.0 to 0.7 (Figure 3). They were always lower than those found for *BW* at the same age. Figure 4 shows genetic correlations for *TGC* between diets with a time dimension. For synchronous measurements (on the diagonal, Figure 4.A), the estimates are the same as those presented in Figure 3. For asynchronous measurements, genetic correlations of *TGC* between diets were generally positive ranging from 0.0 to 0.7. In 4 date pairs, correlations were negative indicating a strong re-ranking of families. Genetic correlations for *TGC* when *BW* in each diet were similar (Table 2) ranged from -0.4 to 0.4, as indicated by the lower diagonal (Figure 4.A, dotted line). Within-diet genetic correlations in the M batch were moderate to high for successive measurements (Figure 4.B) but became lower when measurements were more distant in time. Growth rates in the PB batch were negatively correlated in the first half of the trial (between -1.0 and 0.2) and positively correlated (between 0.6 and 1.0) in the second half of the trial (figure 4).

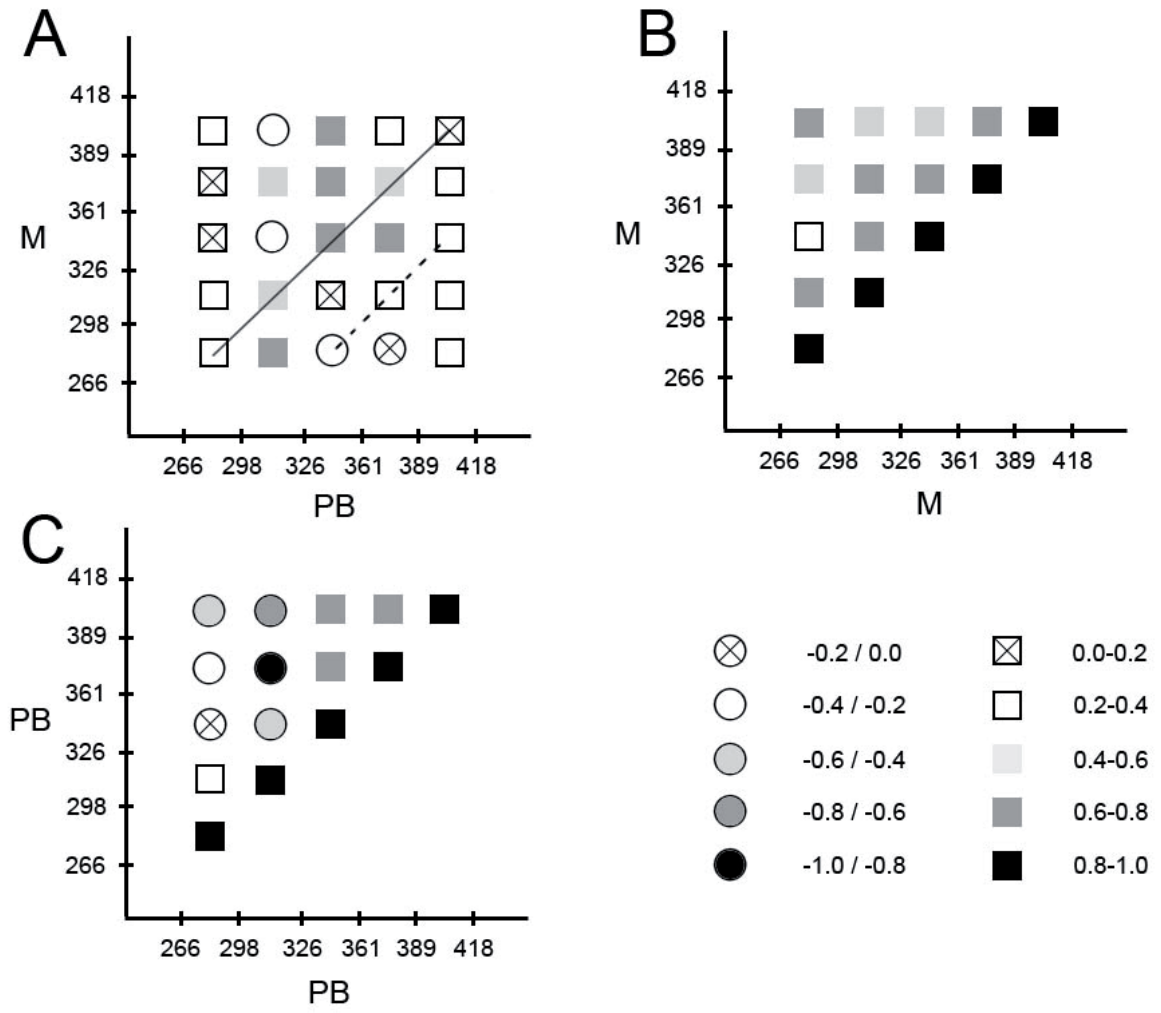


Figure 4. Genetic correlations for TGC between fish fed M diet or PB diet (A), estimates are calculated for each dates pair. Genetic correlations for TGC within PB batch (B) and within M batch (C) were also estimated for each date pair.

Expected genetic gains

Heritability and genetic correlation estimates of *BW* were used to predict the expected genetic gain by individual selection on BW, with a proportion of selected animals of 5 % (Figure 5). In a first scenario, selection response was estimated for fish fed the PB diet and selected when they reach approximately 37g. If progenies were fed PB diet, a 18.3% gain in *BW* per generation could be expected. If these progenies were fed M diet, the expected gain would be reduced to 14.9%. However, there would not be any difference between these strategies if fish were selected around 46g (+ 13.4% vs +13.1%) or 52g (+ 11.8% vs +11.2%).

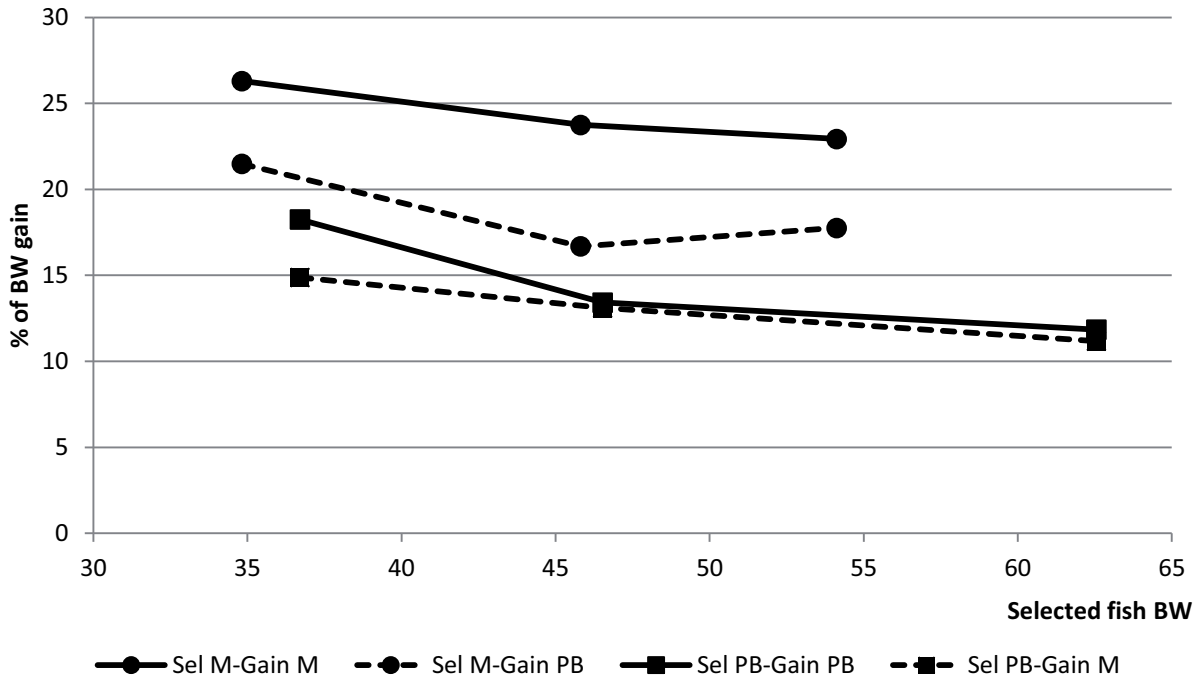


Figure 5. Direct and indirect gains (% of BW) in 4 selection strategies for 5% proportion of selected individuals: Offsprings of fish selected on the M diet are fed with the M diet (Sel M–Gain M). Offsprings of fish selected on the M diet are fed with the PB diet (Sel M–Gain PB). Offsprings of fish selected on the PB diet are fed with the PB diet (Sel PB–Gain PB). Offsprings of fish selected on the PB diet are fed with the M diet (Sel PB–Gain M). Abscissa axis indicates the body weight of fish at selection.

In a second scenario, if fish were fed the M diet and selected when they approximately reach 35 g, a 26.3% gain in *BW* per generation could be expected if progenies were fed the same M diet. If these progenies were fed the PB diet, the expected gain would be reduced to 21.5%. Similar differences between these 2 strategies were observed if fish were selected around 46 g (+ 23.7% *vs.* +16.7%) or 54 g (+22.9% *vs.* 17.8%). Comparing the 2 scenarios, select fish fed the PB diet would always give lower gains in BW than selecting fish fed the M diet (Figure 5), whatever the diet given to progenies.

Similar strategies were then tested for a selection on *TGC* calculated on the largest period (152 days between 266 and 418 days of age) (Figure 6). If fish were fed the M diet and selected at 418 days for their *TGC*, the expected gain of their progenies could be +9% if they were fed the same diet. However, if the progenies were fed the PB diet, the expected gain would be only +3%. In a second scenario, selection response was estimated for fish selected when they were fed the PB diet. The expected growth gain for their progenies would be very similar whatever the diet they would be fed (+3 to 4%).

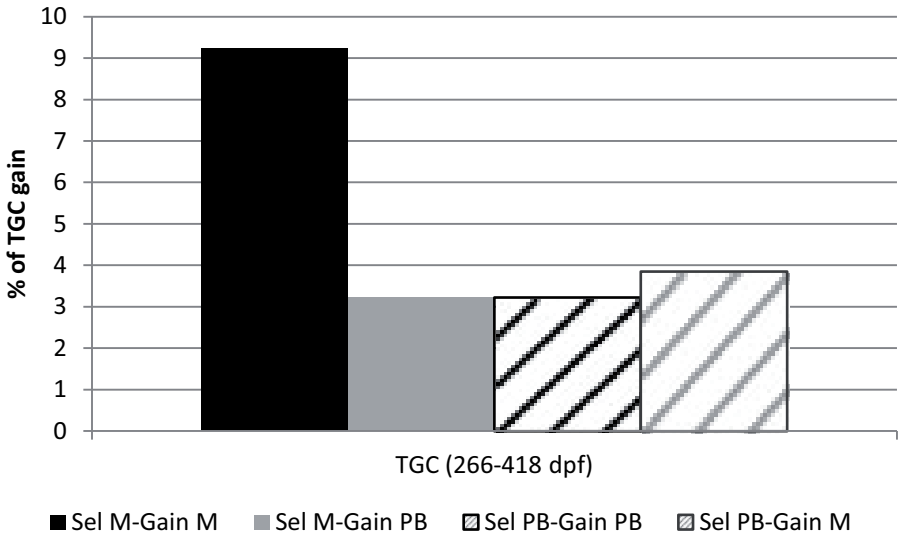


Figure 6. Direct and indirect gains (% of Thermal Growth Rate (TGC)) in 4 selection strategies for 5% proportion of selected individuals: Offsprings of fish selected on the M diet are fed with the M diet (Sel M–Gain M). Offsprings of fish selected on the M diet are fed with the PB diet (Sel M–Gain PB). Offsprings of fish selected on the PB diet are fed with the PB diet (Sel PB–Gain PB). Offsprings of fish selected on the PB diet are fed with the M diet (Sel PB–Gain M). Selection trait was TGC calculated on the largest period (152 days between 266 and 418 dpf).

4 Discussion

Diet effect on health

Total replacement of FM and FO by plant-based products led to an important diet effect on survival with a high final difference between diets (PB: 64.7%, M: 93.7%). Effects of fish oil replacement with plant-based oil on fish health have been reviewed by Montero and Izquidero (2010) and included stress response, immune status, disease resistance and physiological mechanisms. However, the same review concluded that evaluation of these effects is a complex subject as that it is "very much dependant on the type of both FO and vegetal oil, level of FO substitution, duration of feeding, fish species, fish size and stage in the life cycle, presence and availability of other nutrients and environmental conditions, mainly temperature". In European sea bass, only few studies focused on the health effect of substitution. Parpoura and Alexis (2001) observed a higher sensibility to pathological symptoms when sea bass are fed with plant-based oil. Piedecausa et al. (2007) concluded to lower survival due to sudden post-sampling mortality in sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) fed a diet containing linseed oil. Immune system disturbance associated with plant-

based products are partly due to n-3 highly unsaturated fatty acids deficiencies (Montero and Izquidero, 2010), but more work is needed on marine fish to understand the link with pathogen sensitivity.

Diet effect on growth

In previous studies, partial replacement of FO with plant-based oils (characterized by the Fish Oil replacement ratio FOr = plant-based oils/total oils) produced uneven consequences on growth. Some studies showed similar growth in European sea bass for FOr: 100% (Parpoura and Alexis, 2001), FOr: 60% (Izquidero et al., 2003), FOr: 60% (Mourente et al., 2005), FOr: 83% (Martins et al., 2006) whereas some other studies found lower growth for FOr: 60% to 80% (Montero et al., 2005), FOr: 80% (sea bream, *Sparus aurata* L., Izquidero et al., 2005,). A review by Turchini et al. (2009) concluded that FO can be totally replaced by plant-based oils when essential fatty acids (EFA) requirements are met. For what concerns fish meal replacement rate (FMr = plant-based meal/total meal), some studies evidenced lower growth in marine fish for FMr: 43% (Dias et al., 2005), FMr: 100% (sea bream, Gomez-Requeni et al., 2004), FMr: 100% (Montero et al., 2005) when other studies proved that replacement with plant-based meals could be done without any impact on growth for FMr: 40% (sea bream, Robaina et al., 1995,), FMr: 95% (Kaushik et al. 2004), FMr: 69% (Adamidou et al., 2009), FMr: 65% (Olivia-Teles et al., 2001) and FMr: 70% (Ballestrazzi et al., 1994). Our choice of extremely contrasted diets aimed at facilitating the observation of contrasted genetic abilities to cope with marine or plant-based diets, and replacement rates were respectively FOr: 100% and FMr: 100%. It led to significant impact on *BW* and *SL* since the first days following dietary transition.

TGC were lower in the PB diet only for the first 151 days after starting experimental diets. After this date, no more difference was visible confirming that the first stages of such a dietary transition induced a delay in growth which remains visible in the final body weight difference, as seen in older sea bass by Le Boucher et al. (2011). The initial lower growth after the dietary transition could be due to a lower feed intake or lower feed efficiency and it would be interesting to know more about these traits when fish are faced to a new diet. Deficiencies for some essential fatty acids (Navarro et al., 1997), especially for totally plant-based diet (Geay et al., 2010) have also been evidenced as a source of potential lower growth. Effects of PB diet in this study could be a combination of confounding factors and more

studies are needed to precise respective importance of feeding behavior, diet palatability, digestibility, nutritional value (Glencrosss et al., 2007) or genetic abilities to cope with these effects especially in the early stage.

Population size distribution was also impacted, as fish fed the plant-based diet showed a more heterogeneous repartition of *BW*. Coefficient of variation has been suggested as an indicator of welfare (Jobling, 1995. North et al., 2006) and high heterogeneity is known to facilitate cannibalism (Baras, 1999; Fessehaye et al., 2004). In our case, higher CV and skewness confirmed that the cohort of fish fed the PB diet faced challenging environmental conditions. When temperature, salinity, zootechnical conditions are the usual suspects for environment variability, composition of the feed should clearly be considered as one of the main parameter of this environment.

In the present trial, it is difficult to distinguish the diet effect from the diet-switch effect at the beginning of the trial. Both batches received a commercial diet containing marine products prior to the beginning of the trial and the diet-switch shock may explain an important part of the observed diet effect. More information is needed to understand the effect of plant-based diets on European sea bass juveniles.

Genetic parameters for body weight

Genetic variability estimates for the ability to grow on plant-based diet are needed to know whether genetic improvement on growth can be made using specifically plant-based diets. Most of the previous results have been obtained on salmonids. Palti et al. (2006) concluded that genetic variability for growth and body weight exists in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) in case of partial substitution (FOr: 11.4%, FMr: 87%). Pierce et al. (2008) and Quinton et al. (2007a) found moderate heritabilities both for growth (0.31±0.07) in rainbow trout (FOr: 37.2%, FMr: 93.7%) and for individual daily gain (0.32±0.14) in European whitefish (*Coregonus larvaretus* L., FOr: 0%, FMr: 73.3%). In the present study, heritabilities of *BW* when fish were fed M diet were very similar (Saillant et al., 2006; Dupont-Nivet et al., 2010) or slightly lower (Dupont-Nivet et al., 2008) to those previously found in European sea bass. The differences between M and PB were never significant but lower heritabilities for fish fed the PB diet was a tendency that has also been

suggested in a previous work (Le Boucher et al., 2011). It nevertheless proved that genetic gains for growth are still possible in fish fed the PB diet (h^2 between 0.18 and 0.36).

Genotype by diet interactions could impact the efficiency of breeding programs initially conducted on mainly marine diets but previous results are variable. Comparing diets with different proportions of plant-based products, Blanc (2002) and Palti et al. (2006) found non significant interactions for *BW* in rainbow trout (respectively FOr: 0%, FMr: 47.6% and FOr: 11.4%, FMr: 87%). In 2007, 2 studies with European whitefish recorded non significant re-ranking of family performances for whole body lipid, protein percentages (Quinton et al., 2007 a) and growth, feed intake, feed efficiency (Quinton et al., 2007b, FOr: 0%, FMr: 73.3%) and evidenced high genetic correlations between diets for these traits (0.89-1.00). At the opposite, significant re-ranking of the families for growth (Pierce et al, 2008, Dupont-Nivet et al, 2009, FOr: 0%, FMr: 100%) as well as feed intake and feed efficiency (Dupont-Nivet et al., 2009) were found in rainbow trout and in this case genetic correlation was moderate between diets (0.73 ± 0.13, Pierce et al., 2008). In European sea bass, total substitution rate was recently experienced on older fish, starting at 192 g mean weight (FOr: 100%, FMr: 100%) and low genotype by diet interactions were evidenced for lipid content of the filet and late body weight (Le Boucher et al., 2011) as the genetic correlation between diets were 0.51-0.86.

When fish were compared at the same weight, which could be the classical selection conditions, the genetic correlation between diets observed in the present study was around 0.7-0.8. Standard errors are still too high to observe significant evolution over time but highest genetic correlation was found at the first individual measurement (266 days). It would tend to indicate that family rankings were not modified in the early stages following dietary transition, but this would have to be ascertained using individual tagging of smaller fish.

In the absence of studies about optimal design for genotype by environment interactions, we chose to use a relatively low number of sires in order to increase the mean half-sib family size and avoid the risk of having very unbalanced offspring numbers for the same family in both diets (due to a-posteriori assignment and potential differential mortalities), which we anticipated would lower the quality of GxE estimates. In the course of the present study, the publication by Sae-Lim et al (2010) of an optimal design simulation study for GxE estimation, proposed that 200 families with 10 individuals per family would be

appropriate for a trait of moderate heritability. This is not far from our figures in terms of full-sib families, however the structure they uses was a nested design, which implies they used more sires and dams for the same number of families, and hence reasonably implies that the number of parents that we used was significantly below the optimum, and may lower the precision of our estimates.

In the present study, high genetic correlations (0.8 to 0.9) were observed between diets for synchronous measurements of *BW*. It confirmed that total substitution of fish meal and fish oil would not deeply impact family rankings for *BW*. As a comparison, genotype-by-environment interactions for *BW* have been studied in contrasted rearing conditions and production systems in European sea bass (Dupont-Nivet et al. 2008). They concluded that genetic correlation for *BW* was (mean ± SE) 0.84 ± 0.08 comparing a semi-closed recirculation system (30 kg/m^3, 20 to 22°C) and a semi-intensive estuarine system (2 kg/m^3, 9 to 25°C). In the same work, genetic correlation for *BW* was 0.70 ± 0.10 comparing a semi-intensive estuarine system (2 kg/m^3, 9 to 25°C) and a floating cage in tropical waters system (4 kg/m^3,22 to 27°C). This confirms that dietary environments could impact *BW* performances in the same range as culture conditions.

Genetic parameters for growth rate

Individual tagging was only possible at 224 days for fish fed M diet and 266 days for fish fed PB diet (respectively 135 and 177 days after dietary transition), when BW was already strongly influenced by the diet. The first *BW* measurement was also influenced by the commercial diet given until 87 days, which was not linked with the experimental diets. Then, consequences of the dietary challenge are indirectly estimated by *BW* and *TGC* gave a more realistic performance estimate than final *BW* as it is not dependant on the initial *BW*. Dupont-Nivet et al. (2010) evidenced higher genotype-by-environment interactions for daily growth rate than for *BW* comparing rearing conditions and production systems. In our experiment, the genetic correlation between diets for *TGC* calculated between 266 and 418 days was lower (0.64) than those found for *BW* at any date (0.74 to 0.93). It confirmed that the genotype by diet interaction was more important on this trait, thus that families showed different abilities to grow depending on the diet. Low genetic correlations for *TGC* calculated on short periods (30 days) informed on the short term evolution of family rankings within and between diets. In that case, genotype by diet interaction was generally more important but highly variable

(0.01 to 0.70). The main reason for that is the high variability of the trait between individuals and between periods. This variability of the genetic correlation for *TGC* estimated on short period was especially observed in fish fed the PB diet. It indicated that family structure for *TGC* was modified in the first half of the trial but became more stable in the second part. It indicates that genetic variability in diet transition sensitivity would exist in the first stages following diet switch and that some half-sib families are able to cope with PB diet faster than others. If this is really the case, the adaptation period should be more deeply studied. It would also validate observations made at the phenotypic level on this adaptation period which is the source of an important delay in the growth of PB fed fish. This result indicates that genetic variability probably exists for early ability to grow on PB diet and that progress could be made in early adaptation to a dietary environment.

Expected genetic gains

High gains for *BW* would be possible in European sea bass (18.3% for a 5% selection pressure) if selected breeders and their progenies were fed with PB diet. If progenies issued from this strategy were fed the M diet, the gain in BW would similar. It means that selecting fish for their ability to grow on PB diet would lead to high genetic gains whatever the diet (M or PB) given to the progenies (Figure 5). The reason is that the higher genetic variation we evidenced with the M diet would compensate for the lower accuracy of selection with the PB diet and the lower than unity genetic correlation between diets.

Higher gains for *BW* would be possible (26.3% for a 5% selection pressure) if selected breeders and their progenies were fed with M diet, due to a higher accuracy of selection. If progenies issued from this strategy were fed a PB diet, the gain in *BW* would be lower (21.5%). In order to anticipate a transition from M to PB diet and maximize the genetic gains on BW, it would be more interesting to go on with a selection using M diet. Expected genetic gains from selection for *TGC* would lead to similar genetic gains (3 %) in progenies fed PB diet whatever the diet used during selection (Figure 6). The cumulative effect of a medium genetic correlation (0.64) and a low genetic variance for *TGC* (h^2=0.11) in fish fed PB diet rendered the strategy to select on M diet less efficient for *TGC* than for *BW*.

Expected indirect gains were estimated comparing fish fed M or PB diet with similar *BW* rather than at the same age. The objective was to remain closed to the commercial conditions where fish are harvested at a (market-driven) fixed mean *BW*.

We also made the choice to compare non commercial but extremely contrasted diets, so conclusions can only be used as indicators to the current challenges of breeding programs. For instance, the strong effect of a totally plant-based diet on phenotypic traits may have hindered the expression of essential adaptation mechanisms and created metabolism bottlenecks. The low heritability estimates on the PB diet may partly reflect a lower health status of fish fed the PB diet and should be considered as a consequence of our extreme choice in diet composition.

In a similar way, the impact of totally plant-based diet on global survival may also have biased genetic parameters estimates and more studies are needed to orientate breeding strategies in their adaptation to dietary transition in European sea bass.

Fish farming faces rapid diversification of rearing environments and proofs of genotype sensitivity to environment exist as fish are extremely sensitive to temperature, salinity, stocking density (Jackson et al., 1998; Streelman and Kocher, 2002; Dupont-Nivet et al., 2010). However, dietary environment whether it concerns feed composition, access to rations or feeding rhythms has only recently been considered as a potential source of interaction with genotypes. This is the reason why it seemed very important to have a better knowledge of the effect of these parameters on breeding values to improve on-site efficiency of breeding programs. Our estimation of predicted gains tends to prove that a totally plant-based compared with a marine diet would have a negative impact on breeding program efficiency. We showed that selecting European sea bass on their ability to grow on a PB diet would not be more interesting than pursuing a breeding program on marine diet, even if commercial fish are grown on a PB diet. This is consistent with the beneficial selection in alternative environment described by Falconer (1952). As summarized in Kause et al. (2006), it could be beneficial to select in an environment which is not the production one when the heritability of the trait in this environment and genetic correlation between environments are high. Extreme choice in diet ingredients allowed estimating genotype by diet interactions in a worst case scenario but more studies are needed to understand how intermediary substitution rates and products quality would impact selective breeding of sea bass.

References

Adamidou, S., I. Nengas, M. Henry, K. Grigorakis, G. Rigos, D. Nikolopoulou, Y. Kotzamanis, G. J. Bell, and K. Jauncey. 2009. Growth, feed utilization, health and organoleptic characteristics of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets including low and high levels of three different legumes. Aquaculture 293:263-271.

Ballestrazzi, R., D. Lanari, E. D'Agaro, and A. Mion. 1994. The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 127:197-206.

Baras, E. 1999. Sibling cannibalism among juvenile vundu under controlled conditions. I. Cannibalistic behaviour, prey selection and prey size selectivity. J. Fish Biol. 54:82-105.

Bates, D. and D. Sarkar. 2006. Linear Mixed-effects Models using s4 Classes. Available at: http://cran.r-project.org/src/contrib

Blanc, J. M. 2002. Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac Research 33:563-568.

Chatain, B. 1994 Estimate and improvement of the zootechnical performance of the larval breeding of *Dicentrarchus labrax* and *Sparus auratus*. PhD Diss. Université d'Aix-Marseille 2, France.

Chistiakov, D., B. Hellemans, and F. Volckaert. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. Aquaculture 255:1-29.

Dias, J., M. J. Alvarez, J. Arzel, G. Corraze, A. Diez, J. M. Bautista, and S. J. Kaushik. 2005. Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol. 142:19-31.

Dumas, A., J. France, and D. P. Bureau. 2007. Evidence of three growth stanzas in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across life stages and adaptation of the thermal-unit growth coefficient. Aquaculture 267:139-146.

Dupont-Nivet, M., M. Vandeputte, A. Vergnet, O. Merdy, P. Haffray, H. Chavanne, and B. Chatain. 2008. Heritabilities and GxE interactions for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree. Aquaculture 275:81-87.

Dupont-Nivet, M., F. Médale, J. Leonard, S. Le Guillou, F. Tiquet, E. Quillet, and I. Geurden. 2009. Evidence of genotype-diet interactions in the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clones to a diet with or without fishmeal at early growth. Aquaculture 295:15-21.

Dupont-Nivet, M., B. Karahan-Nomm, A. Vergnet, O. Merdy, P. Haffray, H. Chavanne, B. Chatain, and M. Vandeputte. 2010. Genotype by environment interactions for growth in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) are large when growth rate rather than weight is considered. Aquaculture 306:365-368.

Fessehaye, Y., M. A. Rezk, H. Bovenhuis, and H. Komen. Size dependent cannibalism in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). 2004. Page 130 in New Dimensions in Farmed Tilapia. Proceedings of the 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. R. Bolivar, G. Mair, K. Fitzsimmons, ed. Manila, Philippines.

Falconer, D. S. 1952. The problem of environment and selection. Am. Nat. 86:293-298.

Food and Agriculture Organization (FAO). 2008. The State of the World Fisheries and Aquaculture 2008. Rome, Italy.

García de León, F. J., J. F. Dallas, B. Chatain, M. Canonne, J. J. Versini, and F. Bonhomme. 1995. Development and use of microsatellite markers in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: *Serrandidae*). Mol. Marine Biol. Biotechnol 4:62-68.

Geay, F., E. Santigosa I Culi, C. Corporeau, P. Boudry, Y. Dreano, L. Corcos, N. Bodin, M. Vandeputte, J. L. Zambonino-Infante, D. Mazurais, and C. L. Cahu. 2010. Regulation of FADS2 expression and activity in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed a vegetable diet. Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol 156:237-243.

Gilmour, A. R., B. J. Gogel, B. R. Cullis, and R. Thompson. 2008. Asreml User Guide Release 3.0.

Glencross, B. D., M. Booth, and G. L. Allan. 2007. A feed is only as good as its ingredients? a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquaculture Nutrition 13:17-34.

Gómez-Requeni, P., M. Mingarro, J. A. Calduch-Giner, F. Médale, S. A. M. Martin, D. F. Houlihan, S. Kaushik, and J. Pérez-Sánchez. 2004. Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture 232:493-510.

Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot, and R. Métailler. 2001. Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean. Springer-Praxis Publishing. Chichester, UK.

Ihaka, R. and R. Gentleman. 1996. R: a language for data analysis and graphics. J. Comput. Graph. Stat. 5:299-314.

Iwama, G. K., and A. F. Tautz. 1981. A Simple Growth Model for Salmonids in Hatcheries. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38:649-656.

Izquierdo, M. S., A. Obach, L. Arantzamendi, D. Montero, L. Robaina, and G. Rosenlund. 2003. Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. Aquac. Nutrition 9:397-407.

Izquierdo, M., D. Montero, L. Robaina, M. Caballero, G. Rosenlund, and R. Gines. 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. Aquaculture 250:431-444.

Jackson, T. R., M. M. Ferguson, R. G. Danzmann, A. G. Fishback, P. E. Ihssen, M. O'Connell, and T. J. Crease. 1998. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families. Heredity 80:143-151.

Jobling, M. 1995. Simple indices for the assessment of the influences of social environment on growth performance, exemplified by studies on Arctic charr. Aquacult. Int. 3:60-65.

Kause, A., D. Tobin, D. F. Houlihan, S. A. M. Martin, E. A. Mäntysaari, O. Ritola, and K. Ruohonen. 2006. Feed efficiency of rainbow trout can be improved through selection: Different genetic potential on alternative diets. J. Anim. Sci. 84:807 -817.

Kaushik, S. J., D. Covès, G. Dutto, and D. Blanc. 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture 230:391-404.

Le Boucher, R., M. Vandeputte, M. Dupont-Nivet, E. Quillet, D. Mazurais, J. Robin, A. Vergnet, F. Médale, S. Kaushik, and B. Chatain. 2011. A first insight into genotype × diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1756) in the context of plant-based diet use. Aquac. Res. 42:583-592.

Martins, D. A., E. Gomes, P. Rema, J. Dias, R. O. A. Ozório, and L. M. P. Valente. 2006. Growth, digestibility and nutrient utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles fed different dietary soybean oil levels. Aquacult. Int. 14:285-295.

Montero, D., L. Robaina, M. J. Caballero, R. Ginés, and M. S. Izquierdo. 2005. Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. Aquaculture 248:121-134.

Montero, D., and M. S. Izquierdo. 2010. Health and welfare of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil, Page 439 in Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. G.M. Turchini, W.K. Ng, D.R. Tocher, ed. CRC Press, USA.

Mourente, G., J. R. Dick, J. G. Bell, and D. R. Tocher. 2005. Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and [beta]-oxidation of [1-14C]18:3n-3 (LNA) and [1-14C]20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture 248:173-186.

Navarro, J. C., L. A. McEvoy, M. V. Bell, F. Amat, F. Hontoria, and J. R. Sargent. 1997. Effect of different dietary levels of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6w-3) on the DHA composition of lipid classes in sea bass larvae eyes. Aquac. Int. 5:509-516.

Naylor, R. L., R. W. Hardy, D. P. Bureau, A. Chiu, M. Elliott, A. P. Farrell, I. Forster, D. M. Gatlin, R. J. Goldburg, K. Hua, and P. D. Nichols. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. P. Natl. Acad. Sci. USA 106:15103 -15110.

North, B. P., J. F. Turnbull, T. Ellis, M. J. Porter, H. Migaud, J. Bron, and N. R. Bromage. 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 255:466-479.

NRC. 1993. Nutrition Requirements of Fish. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Oliva-Teles, A., and P. Gonçalves. 2001. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccaromyces cerevisae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture 202:269-278.

Palti, Y., J. T. Silverstein, H. Wieman, J. G. Phillips, F. T. Barrows, and J. E. Parsons. 2006. Evaluation of family growth response to fishmeal and gluten-based diets in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 255:548-556.

Parpoura, A. C. R., and M. N. Alexis. 2001. Effects of different dietary oils in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. Aquacult. Int. 9:463-476.

Piedecausa, M. A., M. J. Mazón, B. García García, and M. D. Hernández. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). Aquaculture 263:211-219.

Pierce, L. R., Y. Palti, J. T. Silverstein, F. T. Barrows, E. M. Hallerman, and J. E. Parsons. 2008. Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype × diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 278:37-42.

Powell, K. 2003. Fish farming: Eat your veg. Nature 426:378-379.

Quinton, C. D., A. Kause, J. Koskela, and O. Ritola. 2007a. Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. Genet. Sel. Evol. 39:431.

Quinton, C. D., A. Kause, K. Ruohonen, and J. Koskela. 2007b. Genetic relationships of body composition and feed utilization traits in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and implications for selective breeding in fishmeal- and soybean meal-based diet environments. J. Anim. Sci. 85:3198-3208.

Robaina, L., M. S. Izquierdo, F. J. Moyano, J. Socorro, J. M. Vergara, D. Montero, and H. Fernández-Palacios. 1995. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. Aquaculture 130:219-233.

Sae-Lim, P., H. Komen, and A. Kause. 2010. Bias and precision of estimates of genotype-by-environment interaction: A simulation study. Aquaculture 310:66-73.

Saillant, E., M. Dupont-Nivet, P. Haffray, and B. Chatain. 2006. Estimates of heritability and genotype-environment interactions for body weight in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions. Aquaculture 254:139-147.

Streelman, J. T., and T. D. Kocher. 2002. Microsatellite variation associated with prolactin expression and growth of salt-challenged tilapia. Physiological Genomics 9:1 -4.

Tacon, A. G. J., and M. Metian. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture 285:146-158.

Turchini, G. M., B. E. Torstensen, and W.-K. Ng. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. Reviews in Aquaculture 1:10-57.

Vandeputte, M., S. Mauger, and M. Dupont-Nivet. 2006. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. Molecular Ecology Notes 6:265-267.

Vandeputte, M., M. Dupont-Nivet, P. Haffray, H. Chavanne, S. Cenadelli, K. Parati, M.-O. Vidal, A. Vergnet, and B. Chatain. 2009. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. Aquaculture 286:20-27.

Elements de discussion

Principaux résultats

Le poids et le taux de croissance sont significativement plus faibles (P<0,05) dans le lot nourri avec l'aliment PB que dans le lot nourri avec l'aliment M dès les premiers jours qui suivent le passage sur aliments expérimentaux. Cependant, la différence entre les taux de croissance disparaît rapidement (P>0,1 à 224 dpf). Le taux de survie est également plus faible dans le lot PB que dans le lot M (PB: 64,7 %; M: 93,7 %, P<0,05 à 418 dpf). Les estimations de l'h^2 pour le poids sont modérées et l'IGA est faible entre les lots nourris avec des aliments contrastés. Les estimations d'h^2 du taux de croissance (TGC) sont plus faibles que pour le poids et l'IGA est plus importante, en particulier pour des taux de croissance calculés sur de courtes périodes. Le classement des familles pour la croissance est donc affecté par le type d'aliment distribué. Les simulations de réponse à la sélection faites à partir des h^2 et des Rg montrent que l'utilisation exclusive (sur les reproducteurs et les descendants) d'un aliment composé de produits entièrement d'origine végétale aurait un impact sur l'efficacité des programmes de sélection chez le bar européen. Elles montrent également que la sélection de candidats nourris avec un tel aliment plutôt qu'avec un aliment contenant des produits d'origine marine n'améliorerait pas les performances des descendants.

Effet de l'aliment PB : fort sur le taux de survie mais faible sur le taux de croissance

Par rapport à l'essai préliminaire (4-1), cette étude apporte un éclairage complémentaire sur l'effet phénotypique de l'aliment PB, en ciblant les stades précoces. On note une diminution rapide du taux de survie (116 dpf, 29 jours après le changement d'aliments) dans le lot PB (**Figure 15**) ainsi qu'une diminution du taux de croissance mais celui-ci retrouve très rapidement un niveau similaire au lot M (P>0,1 à 224 dpf, 137 jours après le changement d'aliments). Plusieurs explications peuvent être invoquées comme le comportement alimentaire, la plus faible appétence de l'aliment PB, sa digestibilité, sa valeur nutritionnelle ou les carences en EFA dues à l'absence d'huile de poisson. Ces hypothèses seront approfondies dans le chapitre 5-3 et discutées dans le chapitre 6-1.

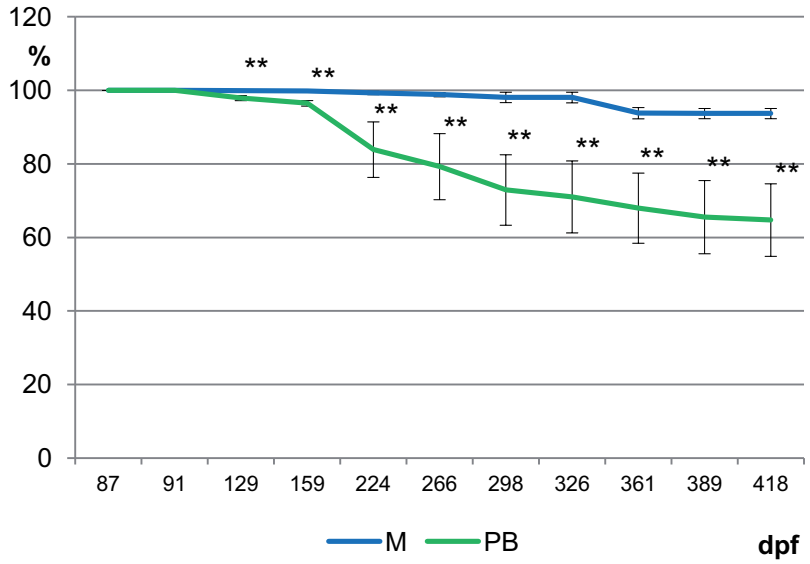


Figure 15. Taux de mortalité chez des bars européens nourris avec les aliments expérimentaux PB et M en fonction du nombre de jours après fécondation (dpf). PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

L'IGA affecte les vitesses de croissance plus que le poids

La corrélation génétique entre aliments est élevée pour le poids (Rg entre 0,8 et 1,0). Elle est plus faible et plus variable pour les taux de croissance (Rg entre 0,0 et 0,7). L'étude des TGC fournit probablement une meilleure estimation de la performance individuelle des poissons car la phase de nourrissage avec l'aliment commercial induit une variabilité initiale dont les poids suivants ne sont pas indépendants. Il existe bien des reclassements familiaux entre les lots M et PB pour les taux de croissance mais il existe également des reclassements au sein de chaque lot au cours du temps (**Figure 16**).

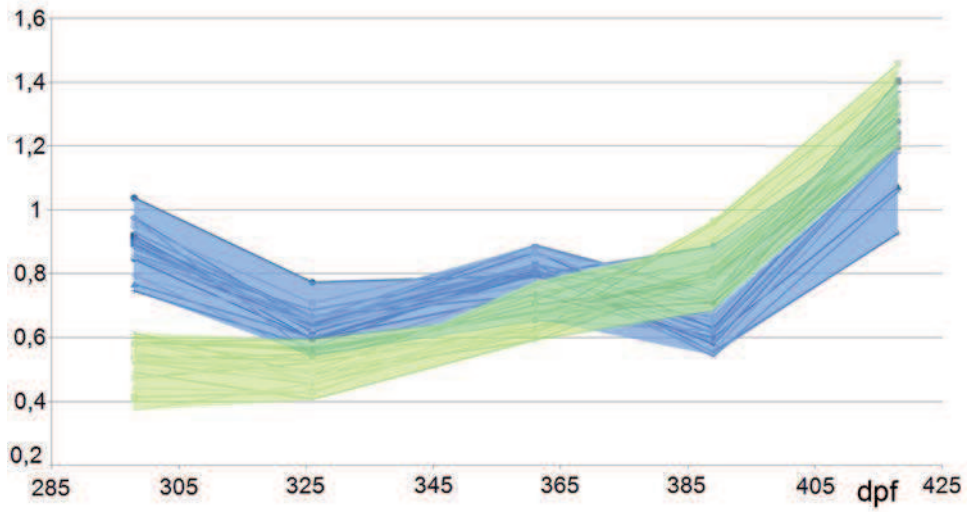


Figure 16. Evolution du taux de croissance (TGC, pour Thermal growth rate) de chaque famille de père en fonction du nombre de jours après la fecondation (dpf). En vert, les poissons nourris l'aliment PB et en bleu les poissons nourris avec l'aliment M. PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson.

Une stratégie de sélection conservative face à l'évolution de l'aliment

Les résultats de cette étude tendent à prouver que la stratégie conservant l'aliment M pour nourrir les candidats à la sélection serait la moins risquée. Dans l'hypothèse où le marché de l'alimentation proposerait des aliments de compositions extrêmement contrastées: marin (M) contre tout végétal (PB), cette stratégie conservative serait la plus efficace quelque soit l'aliment utilisé en production.

Ces résultats obtenus chez le bar européen sont fortement conditionnés par la faible héritabilité des caractères observée chez les individus nourris sans aucun produit d'origine marine. Examinons maintenant la situation chez la truite arc-en-ciel.

4-3) Chez la truite, dès la première alimentation

Chez la truite arc-en-ciel, de nombreux travaux antérieurs sur la substitution de FM et FO ont permis d'optimiser la formulation d'un aliment expérimental 100 % d'origine végétale (programme européen AQUAMAX notamment). Les premiers essais d'analyse de variabilité génétique dans ce contexte ont démarré chez la truite en 2008. Un croisement factoriel entre 25 pères et 10 femelles a permis de produire environ 9000 œufs. Les juvéniles issus de ce croisement ont alors été répartis dans deux lots et nourris soit avec un aliment contenant des FM et des FO (M), soit avec un aliment n'en contenant pas (PB) (**Figure 17**). Contrairement aux essais antérieurs, les aliments expérimentaux ont été distribués dès le premier repas.

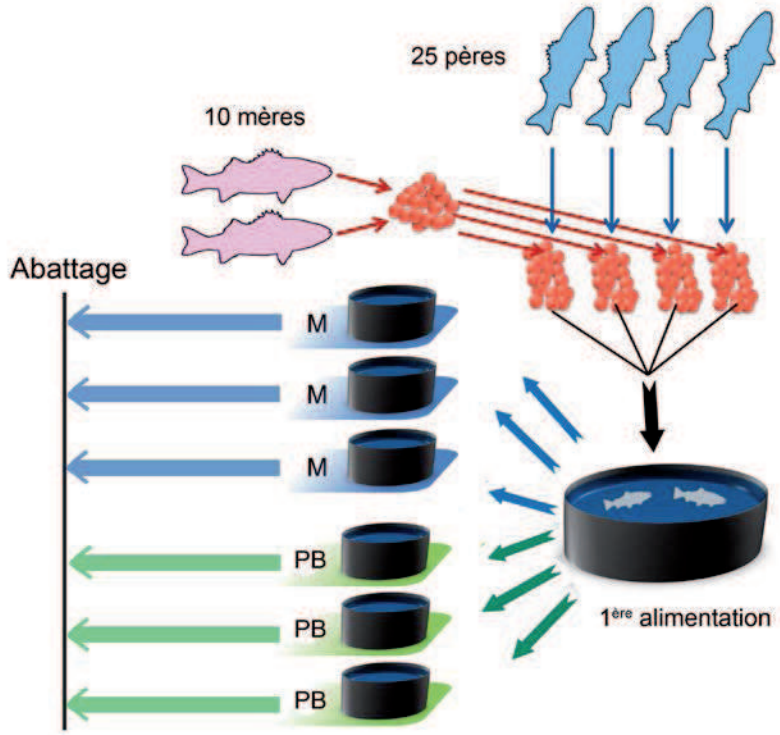


Figure 17. Schéma expérimental de l'essai portant sur les interactions génotype-aliment chez le bar européen dans un contexte d'alimentation entièrement d'origine végétale. PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson.

L'objectif est d'estimer l'h^2 et de tester l'existence d'une IGA. En prévision d'une plus faible croissance chez le lot nourri avec l'aliment PB, le dispositif expérimental a été aménagé de façon à pouvoir comparer les lots au même âge mais aussi au même poids (taille commerciale). Les paramètres étudiés sont le poids, la longueur, la conformation, le taux de

croissance, ainsi que les rendements de transformation technologiques importants en production (rendements carcasse, viscères, tête, filet).

Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.): are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine vs. plant-based diets from the first meal?

Le Boucher R.,[a, b, c, *] Quillet E.,[a] Vandeputte M.,[a,b, c] Lecalvez J.M.,[e] Goardon L.,[e] Chatain B.,[b] Médale F.,[d] Dupont-Nivet M.,[a]

[a] INRA, UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas, France

[b] Ifremer, F-34250 Palavas-les-Flots, France

[c] AgroParisTech, UMR1313 GABI, F-75231 Paris 05, France

[d] INRA, UMR1067 NuMeA Nutrition, Metabolism, Aquaculture, F-64310 St Pée-sur-Nivelle, France

[e] INRA, UE 937 PEIMA, F-29450 Sizun, France

* Corresponding author : 33 (0)1 34 65 29 76, fax : 33 (0)1 34 65 23 90,

email : richard.leboucher@jouy.inra.fr

Aquaculture 321, pp.41-48

ARTICLE IN PRESS
AQUA-629826; No of Pages 8
Aquaculture xxx (2011) xxx–xxx
Contents lists available at SciVerse ScienceDirect
Aquaculture
journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqua-online

Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine *vs.* plant-based diets from the first meal?

Richard Le Boucher [a,b,c,*], Edwige Quillet [a], Marc Vandeputte [a,b,c], Jean Michel Lecalvez [e], Lionel Goardon [e], Béatrice Chatain [b], Françoise Médale [d], Mathilde Dupont-Nivet [a]

[a] INRA, UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas, France
[b] Ifremer, F-34250 Palavas-les-Flots, France
[c] AgroParisTech, UMR1313 GABI, F-75231 Paris 05, France
[d] INRA, UMR1067 NuMeA Nutrition, Metabolism, Aquaculture, F-64310 St Pée-sur-Nivelle, France
[e] INRA, UE 937 PEIMA, F-29450 Sizun, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 17 December 2010
Received in revised form 5 July 2011
Accepted 3 August 2011
Available online xxxx

Keywords:
Genotype-diet interaction
Plant based diet
Salmonids
Heritability
Selection
Processing yields

ABSTRACT

In the last years, the increase of aquaculture production has led to the evolution of feed composition with an increasing substitution of fish meal and fish oil with terrestrial plant products. In the meantime, selective breeding of fish has been widely developed. The ability to grow on plant-based diets has recently been proven to be genetically variable, pointing out the interest to increase knowledge on the potential consequences of substitution of fish meal and fish oil on current breeding programs. Moreover, heritabilities of major production traits other than growth also need to be estimated in this new environment. Experimental rainbow trouts (about 3000) were derived from a factorial mating design (25 sires and 10 dams), separated in two batches and fed two experimental diets since the first meal. The marine diet (M) was based on fish meal (FM) and fish oil (FO), while the substitution rate by plant products was total in the plant-based (PB) diet (free of FM and FO). We estimated heritabilities under both diets and genotype by diet interactions for body weight, fork length, condition factor, *TGC* (thermal-unit growth coefficient) and processing yields: viscera yield, carcass yield, filet yield and head yield. Due to the reduced growth of fish fed the plant-based diet, the estimation of genetic parameters was done on fish from both dietary treatments measured at the same age and also on fish measured at the same weight assuming that family rankings could evolve with further growth. Survival rates were high and did not depend on the diet. At 343 days, the body weight of the M batch (440.2 g ± 11.3) was twice that of the PB batch (216.0 g ± 12.6). After 465 days, the PB batch reached 407.4 g ± 17.1. Whatever the comparison (at same age or same weight), there were significant diet-induced differences for processing traits except for head yield ($P = 0.80$, same age) and filet yield ($P = 0.82$, same weight). The main findings are the high heritabilities observed in fish fed the plant-based diet for body weight (0.69 ± 0.13), TGC (0.65 ± 0.12) and the generally low, though significant, genotype by diet interactions for final body weight, fork length, carcass yield, viscera yield, head yield and filet yield between fish fed source-contrasted diets. Estimates of genetic correlation between diets were the lowest for early weight (0.67 ± 0.12) and indicate differential abilities for initial growth between M and PB diets.
© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Facing the finite size of fisheries resources and an increasing demand, fish meal and fish oil use in animal production is more than ever limited. In aquaculture, salmonids remain the highest consumers of fish oil (51%) and the third highest for fish meal (19.5%) (FAO, 2008). In rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) farming, the main freshwater production in Europe with 185600 t in 2008 (FAO, 2007), important efforts have been done and more will have to be done to minimize the impact of aquaculture growth on marine resources (Naylor et al., 2000). The main answer until now has been the evolution of feed composition toward an increasing substitution of fish meal and fish oil with terrestrial plant products (Gatlin et al., 2007). The use of fish meal and fish oil in salmon aquafeeds has decreased from 45% to 30% between 1995 and 2006 (Tacon and Metian, 2008). In parallel, during the same period, selective breeding has been developed in fish resulting in 4 to 20% gain for growth per

* Corresponding author at: INRA, UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas, France. Tel.: +33 1 34 65 29 76; fax: +33 1 34 65 23 90.
E-mail address: richard.leboucher@jouy.inra.fr (R. Le Boucher).

0044-8486/$ – see front matter © 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

generation (Chevassus et al., 2004; Olesen et al., 2003). Moreover, these results are being taken up by industry (8 rainbow trout breeding programs in Europe — Anonymous, 2009), with the French production of selected rainbow trout eggs alone representing 30% of the world market (Vandeputte et al., 2009).

Recent and fast co-evolution of these two major features of fish production raises issues about the consequences of changes in feed composition on fish breeding, and on the possibility of selecting for growth when feeding plant-based (PB) diets. Several authors have already found significant genetic variability of growth traits with plant-based diets, indicating that genetic progress may be obtained even when feed contains high levels of plant products. However, only Pierce et al. (2008) and Quinton et al. (2007b) gave precise estimates of heritability. Substituted diets may be considered as a new globalized environment and the goals performance improvement should take the potential for re-ranking of selected families (genotype by diet interactions) into consideration. In the literature, there are few results about genotype × diet interactions in the case of plant based diets and these results are uneven. Blanc (2002) found non significant interactions for growth and body weight working with young rainbow trout (from first feeding to 5 g). Palti et al. (2006) concluded in the same way for growth of rainbow trout fed contrasted diets from the first meal to 380 g. In 2007, two studies with European whitefish (*Coregonus lavaretus L.*) recorded non significant re-ranking of family performances between 40 and 130 g for whole body lipid, whole body protein percentages (Quinton et al., 2007b) and growth, feed intake/feed efficiency (Quinton et al., 2007a). At the opposite, Pierce et al. (2008) found significant re-ranking for growth of the rainbow trout families and Dupont-Nivet et al. (2009) for growth, feed intake and feed efficiency of rainbow trout. All the latter studies based their experimental design on a comparison between one diet containing mainly marine products (M diet) and another one, where fish meal (FM) and fish oil (FO) were only partially replaced by plant-based products (PB diet). Respective replacement rates between M and PB diets were FO: 0%, FM: 47.6% (Blanc, 2002); FO: 11.4%, FM: 87% (Palti et al., 2006); FO: 0%, FM: 73.3% (Quinton et al., 2007a, 2007b); FO: 37.2%, FM: 93.7% (Pierce et al., 2008); and FO: 0%, FM: 100% (Dupont-Nivet et al., 2009).

In this paper, we aimed at estimating accurate heritabilities and genotype × diet interactions for the growth and quality traits of rainbow trout in the case of a total substitution of marine ingredients by plant products from the first meal to commercial pan-size. For the first time in rainbow trout, a totally substituted (FO: 100%, FM: 100%) plant based diet (PB) was used as early as the first feeding in contrast with a marine diet (M), with the objective to maximize potential genotype by diet interactions. Moreover, a large design was implemented in order to provide precise estimates of genetic parameters. To avoid possible effect of diet-induced difference in size, comparisons were performed both with fish slaughtered at the same age and with fish slaughtered at the same weight.

2. Material and methods

2.1. Animals

The experimental groups were produced at INRA facilities (PEIMA, Sizun, France), using the INRA synthetic strain of domesticated rainbow trout, which has never been artificially selected for any trait. Synchronous mature dams were stripped and their mean egg weight measured. Ten spawns with similar mean egg weight were selected to be mated with 25 sires. All eggs were pooled, carefully mixed and divided in 125 aliquots (5 × 25). Sperms collected from the 25 sires were then used to fertilize each aliquot to get 5 batches for each male. The 25 fertilized aliquots of each batch were then pooled together and reared together in one tank. With this method, it is expected to avoid sperm competition and to obtain homogeneous representation of each family in the 5 batches. After anesthesia (phenoxyethanol, 300 ppm), fin clips were collected on the parents and stored in ethanol pending DNA extraction.

The fish population, containing all 250 potential full-sib families were reared in five 0.25 m^3 tanks using natural spring water (11.4 °C) until 148 days post fertilization (dpf), then in five 5.4 m^3 tanks supplied with river water (13.4–18.3 °C). From the first feeding (42 dpf), approximately 3000 fish constituted the marine (M) batch (2 tanks) and 4500 the plant-based (PB) batch (3 tanks). At 213 dpf, 1400 M and 2598 PB fish were randomly selected, individually tagged with Passive Integrated Transponder (AEG-Id, ISO FDXB) and fin clipped for DNA analyses and parentage assignment. Mean body weight at tagging was M: 42.8 ± 0.4 g, PB: 23.7 ± 0.5 g, so that the initial rearing densities after tagging were 1.87 and 1.88 kg/m^3, respectively. Fish were grown in replicated tanks (1400 M in six tanks and 2598 PB in six tanks) until a first slaughtering (996 M fish and 993 PB fish) at 343 dpf and again in replicated tanks (6 PB) until a second slaughtering (990 PB fish) at 465 dpf. Fish were slaughtered with a lethal dose of phenoxyethanol and all fish handlings were performed after fish anesthesia (phenoxyethanol, 300 ppm).

2.2. Diets

Experimental extruded diets were produced in the INRA facilities (Donzacq, France). M and PB batches were respectively fed the M1 and PB1 diets (Table 1) from the first feeding (42 dpf) to 222 dpf. After 222 dpf, feed composition was changed to adapt protein and lipid content to the nutritional requirements of larger fish and diets M2 and PB2 respectively replaced M1 and PB1. Both M diets contained fish meal and fish oil as major ingredients. Both PB diets were totally devoid of marine ingredients and contained a blend of plant products (Table 1). M and PB diets were formulated to be isoproteic, isolipidic and isoenergetic. Both diets contained minerals and vitamins premix to meet rainbow trout requirements according to NRC (1993). Soy lecithin, lysine and calcium phosphate were added to the PB diet to adjust the content in phospholipids, essential amino acids and available phosphorus (NRC, 1993). Pellet size was

Table 1
Ingredients and proximal composition of the experimental diets.

Diets	M1	M2	PB1	PB2
Ingredients (g/kg)				
Fishmeal	692	623	0	0
Maize gluten	0	0	250	170
Soybean meal	0	0	208	200
Wheat gluten	0	0	239	250
Extruded wheat	187	240	0	49.8
White lupin	0	0	70	57.2
Extruded dehulled pea	0	0	0	30
Fish oil	81	97	0	0
Rapeseed oil	0	0	62	62
Linseed oil	0	0	37	37
Palm oil	0	0	24	24
Soya lecithin	0	0	20	20
L-lysine	0	0	15	15
L-arginine	0	0	0	10
CaHPO4.2H20 (18%P)	0	0	35	35
Binder	20	20	20	20
Min. premix	10	10	10	10
Vit. premix	10	10	10	10
Composition (% DM)				
Crude protein	54.6	47.1	50.5	44.8
Lipids	15.6	22.8	16.2	23.3
Energy kJ/g DM	22.5	23.5	23.2	23.6
Fatty acids (g/100 g)				
EPA (20:5 n-3)	12.9	16.4	0.1	–
DHA (22:6 n-3)	9.3	10.1	0.1	–

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

adjusted according to mean body weight of fish and rations were automatically distributed until slaughtering.

2.3. Data collection

From 213 dpf (individual tagging), weight and length were individually measured three times, at 213 dpf (BW_1, FL_1), 293 dpf (BW_2, FL_2), 315 dpf (BW_3, FL_3). Dead fish were recorded daily. To enable a comparison of fish of same age, a first slaughtering of the M batch (996 fish) and half of the PB batch (993 fish) was done at 343 dpf, when mean weight of M fish was 440 g. Body weight and fork length (BW_4, FL_4) were recorded and fish were dissected to identify the sex (visual observation of gonads) and to weigh carcass, viscera, filet and head. The corresponding yields were calculated (*Carc* Y_4, *Visc* Y_4, *Fil* Y_4, *Head* Y_4) as % of body weight. Thermal-unit growth coefficient (*TGC*) was calculated as advised by Dumas et al. (2007) for each period as:

$$TGC_{mn} = 100 \times \frac{BW_n^{(1/3)} - BW_m^{(1/3)}}{\sum_{i=m}^{n} T_i}$$

where n is the last day of the period, m the first day of the period, BW_m and BW_n are the fish body weights (g) on day m and n and T_i (°C) is the daily temperature.

Fulton's condition factor ($K = (BW/FL^3) \times 100$) where *BW* is the weight in g and *FL* the fork length in mm, was also calculated.

To be able to compare M and PB fish of similar mean weight, a second slaughtering of the remaining half of the PB batch (990 PB fish) was done when they reached approximately 400 g. During this second period, survival was still recorded daily. At 465 dpf, the same measures were done on these PB fish (BW_5, FL_5), K_5 was calculated, body compartments were weighed and the corresponding yields were calculated (*Carc* Y_5, *Visc* Y_5, *Fil* Y_5, *Head* Y_5) as percentage of body weight.

2.4. Parentage assignment

Rapid DNA extractions were made from the fin clips and parents and offspring were genotyped by LABOGENA (Jouy-en-Josas, France) for 13 microsatellites (*OMM1013, OMM1050, OMM1117, OMM1313, OMM1354, OMM1449, OMM5013, OMM5043, OMM5098, OMM5126, Omy7INRA, Omy77* and *Ots1BML*). Parentage assignment was performed by exclusion allowing up to two mismatches using VITASSIGN (Vandeputte et al., 2006). At the end of the process, 99.8% of the offspring had been successfully and unambiguously assigned to their parents. Similar sizes of half-sib families were obtained in M diet (39.8 ± 8.1 for sire half-sib families, 99.6 ± 14.2 for dam half-sib families) and PB diet (39.0 ± 9.2 for sire half-sib families, 97.6 ± 16.9 for dam half-sib families) batches.

2.5. Statistical analysis

Body weight distribution was analyzed as an indication of batch adaptation and health. Coefficient of variation (standard deviation/mean in %), skewness and kurtosis were calculated in each batch for BW_1, BW_2, BW_3, BW_4. They were considered significantly different from 0 when their absolute value was higher than twice the standard errors [$\sqrt{(6/N)}$ for skewness and $\sqrt{(24/N)}$ for kurtosis].

The significance of diet, sex, tank, sire and dam effects as well as sire-diet and dam-diet, interactions was tested with the following mixed model (SAS-MIXED, SAS Institute Inc., Cary, NC):

$$Y_{ijklmn} = \mu + Diet_i + Sex_j + tank(diet)_{k(i)} + sire_l + dam_m + sire\ Diet_{il} + dam\ Diet_{im} + e_{ijklmn} \quad (1)$$

where Y_{ijklmn} is the performance of individual n, μ is the general mean, $Diet_i$ is the fixed effect of the diet, Sex_j is the fixed effect of sex j, $tank(diet)_{k(i)}$ is the random effect of tank k nested within diet i, $sire_l$ is the random effect of sire l, dam_m is the random effect of dam m, $sire \times Diet_{il}$ is the random interaction between sire l and diet i, $dam \times Diet_{im}$ the random interaction between dam m and diet i and e_{ijklmn} is the random residual.

ASREML (Gilmour et al., 2008) was used with a bivariate animal model to estimate heritability of the traits in both diets and the genetic correlation between diets.

$$Y_{ijklm} = Sex_i + tank_j + a_{ik} + dam_l + e_{ijklm} \quad (2)$$

where Y_{ijklm} is the performance of individual m, Sex_i is the fixed effect of sex i, $tank_j$ is the fixed effect of tank j, a_{ik} is the random genetic effect on animal k, dam_l is the random effect of dam l and e_{ijklm} is the random residual error.

Genotype by diet interactions were quantified through genetic correlations between the trait of interest with diet M and the same trait with diet PB, considered as two different traits in the analysis. Environmental correlation was set to 0 as no individual was reared with the two diets. In this case, GxE (genetic by environment) interaction is the difference between 1 and the genetic correlation, and the closer to 1 the correlation, the smaller the GxE interaction.

Preliminary analyses proved that some traits were influenced by the weight of the fish which could lead to biased estimates when comparing fish fed different diets. Body weight was tested as a covariate, but as there was a significant interaction between *BW* as covariate and diet (heterogeneous slopes), log (*BW*) was preferred and added in models (1) and (2) as a covariate for *Carc Y*, *Visc Y*, *Fil Y*, *Head Y*, and *K*.

3. Results

3.1. Diet effect and other non genetic effects on survival and growth

From 98 dpf to tagging, mortality rates were similar in both dietary treatments (M = 8.7%; PB = 9.8%, chi-squared-test, $P = 0.99$, $d_f = 1$). Mortality rates were also not significantly different among diets between tagging and slaughtering (M = 3.6%; PB = 7.7%, chi-squared-test, $P = 0.98$, $d_f = 1$).

Mixed model results showed highly significant differences for weight ($P < 0.0001$) between dietary treatments from tagging (BW_1) to the end of the trial (Fig. 1). Nevertheless, there was no increase in the relative difference over time for weight and length: the mean of the PB fish remained close to 50% of the mean of M fish for weight

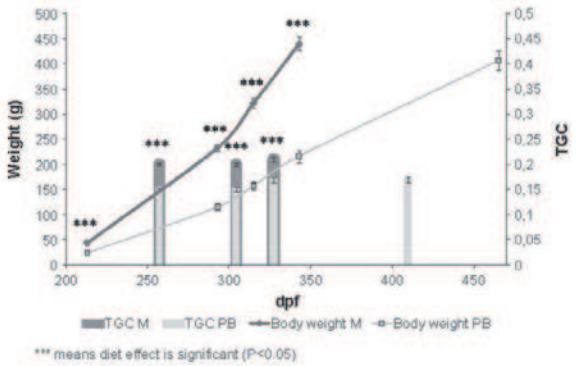


Fig. 1. Body weight and Thermal Growth Coefficient (*TGC*) for rainbow trout fed a marine (M) or a plant-based (PB) diet. TGC is calculated for each period between Body Weight measurements. X-axis indicates days post fertilization (dpf).

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

(70–80% for length) from the first measure at 213 dpf to the end of the comparison at 343 dpf. The thermal growth coefficient calculated for each period (Fig. 1) also remained stable but was always significantly lower with the PB diet ($P<0.0001$).

At first slaughtering, PB fish had a lower body weight (48.3% of M, $P<0.001$) and a smaller length (71.5% of M, $P<0.001$). K_4 was also significantly smaller ($P=0.005$) in M fish (1.49) than in PB fish (1.54). TGC_{14} calculated in PB fish on the whole period was also 75% of the TGC of M fish ($P<0.0001$).

For the second slaughtering (465 dpf — Table 2b), the objective was to obtain PB fish whose body weight (BW_5) would be close to that of M fish at the first slaughtering (BW_4) while avoiding the beginning of the gonad maturation period. They were finally different for BW (BW_4(M): 440.7 ± 16.4 g; BW_5(PB): 407.4 ± 17.1 g, $P=0.049$) and for K ($P=0.007$), while SL were similar (302.3 ± 3.4 mm; 299.2 ± 3.6 mm, $P=0.32$). In Table 2b, least square means (LS means) for M fish are not exactly the same as in Table 2a, although they were calculated with the same M fish (slaughtered at 343 dpf). The reason for this is that the PB fish used for the analysis at 343 dpf (same age as M) were not the same as the PB fish slaughtered at 456 dpf, so that sire and dam effects had different values, leading to marginal changes in LS means.

Coefficients of variation (CV) decreased with growth in both dietary groups (Fig. 2) and were always higher in the PB batch (30.7% to 27.6%) than in the M batch (25.4% to 21.6%). The changes of kurtosis showed that the distribution of body weight was more peaked in the M batch with a gradual flattening, while in the PB batch, the distribution remained closer to normality. Skewness estimates indicated a distribution imbalance between diets which remained stable with time. Small fish were more numerous in the batch fed the plant-based diet when compared to fish fed the marine diet.

3.2. Diet effect and other non genetic effects on processing traits

At the first slaughtering (343 dpf), calculated yields were all significantly different (Table 3a) between diets ($P\leq0.001$) except for $HeadY_4$ ($P=0.8$). Compared to M fish, PB fish, at the same age, had a higher viscera proportion (+ 15.2%). As a result, PB fish had smaller carcass and filet yields (88.6% and 94% of M yields respectively).

Results were very similar at the second slaughtering (Table 3b) for $ViscY_5$ and $CarcY_5$ and diet effect remained significant for these traits ($P<0.01$). The head yield of PB fish was significantly higher than that of same weight M fish while carcass yield was lower in PB fish. A different tendency was observed for filet yield which was not significantly different between diets ($P>0.8$) when fish of similar weight were compared.

3.3. Heritability estimates

Heritabilities of BW, FL and TGC were estimated for each date of measurement and are shown in Table 4. For BW, they respectively ranged from 0.43 ± 0.10 to 0.61 ± 0.12 in the M batch and from 0.54 ± 0.11 to 0.69 ± 0.12 in the PB batch but differences between dates were not significant (differences between estimates lower than 2 standard errors of the estimate). The heritability of FL was very close to that of BW and followed the same pattern. The heritability of TGC_{14} calculated on the whole period was high for fish fed the PB diet (0.65 ± 0.10) and moderate for fish fed the M diet (0.46 ± 0.10).

Heritabilities of body compartments yields at the first slaughtering (Table 5) were high (0.48–0.62) except for filet yield (0.21 ± 0.08 with the M diet and 0.23 ± 0.07 with the PB diet). The highest heritability was recorded for viscera yield. It was not possible to conclude to significant difference between diets (differences between estimates lower than 2 standard errors of the estimate) for processing trait heritabilities, although they appeared slightly higher for PB diet.

At the second slaughtering, 126 days later (Table 5), the heritabilities of BW_5 (0.69 ± 0.13) and FL_5 (0.60 ± 0.12) with the PB diet were very similar to those previously found. Estimates for processing traits were somewhat higher than for the first slaughtering but differences were not significant.

Table 2a
Least square means[a] ± standard errors per diet, and P-values of indicated effects for a comparison of rainbow trout at same age (343 dpf), when fed a marine (M) or a plant-based (PB) diet.

	M	PB	Diet	Tank (diet)	Sex	Dam-diet	Sire-diet
BW_4	440.2 ± 11.3	216.0 ± 12.6	<0.001	0.080	0.678	0.103	0.011
SL_4	302.2 ± 3.0	243.8 ± 3.2	<0.001	0.038	0.028	0.164	0.033
K_4	1.54 ± 0.02	1.49 ± 0.02	0.005	0.298	0.0005	0.194	0.065
TGC_{14}	0.20 ± 0.00	0.15 ± 0.00	<0.001	0.024	0.245	0.138	0.148

[a] BW (body weight) in g, SL (fork length) in mm, K_4 (Fulton's condition coefficient), TGC (thermal-unit growth coefficient).

Table 2b
Least square means[a] ± standard errors per diet, and P-values of indicated effects for a comparison of fish at a similar weight when fed a marine (M) or a plant-based (PB) diet.

	M	PB	Diet	Tank (diet)	Sex	Dam-diet	Sire-diet
BW_5	440.7 ± 16.4	407.4 ± 17.1	0.049	0.043	<0.001	0.033	0.020
SL_5	302.3 ± 3.4	299.2 ± 3.6	0.319	0.051	0.791	0.054	0.030
K_5	1.56 ± 0.03	1.49 ± 0.03	0.007	0.113	<0.001	0.034	0.009

[a] BW (body weight) in g, SL (fork length) in mm. BW_5, SL_5, K_5 corresponds to the second slaughtering of PB batch (dpf 465). Values are compared to those obtained in M batch for the first slaughtering (dpf 343).

3.4. Genotype diet interactions

In linear mixed models (Model 1, Tables 2a and 3a), sire-diet interactions were significant for all traits except for K_4 ($P=0.065$) and TGC_{14} ($P=0.148$), indicating that genotype by diet interactions exist. However, genetic correlations estimated with Model 2 (Table 4) were generally high (0.67–0.9) for all parameters meaning that genotype by diet interactions were limited, and thus that re-ranking of the families between diets was significant. For the last three measurements of body weight (BW_2 to BW_4) and fork length (FL_2 to FL_4) especially, genetic correlations were not significantly different from 1, contrary to the first ones (respectively 0.67 ± 0.12 for BW_1 and 0.69 ± 0.12 for FL_1). It would indicate that re-rankings of the families between diets are important at the beginning of the trial and tended to decrease with time. Genetic correlations of

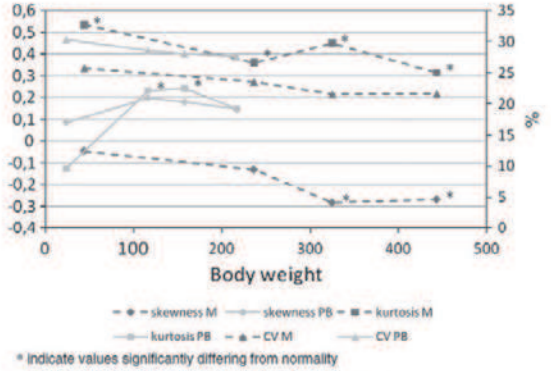


Fig. 2. Coefficient of variation, skewness and kurtosis of body weight in rainbow trout fed marine (M) and plant-based (PB) diets. X-axis indicates fish body weight.

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

Table 3a
Least square means[a] ± standard errors per diet, and P-values of indicated effects (processing traits) for a comparison of fish at same age (343 dpf), when fed a marine (M) or a plant-based (PB) diet.

	M	PB	Diet	Tank (diet)	Sex	Dam-diet	Sire-diet
Carc Y_4	89.6 ± 0.2	88.2 ± 0.2	<0.001	n.e.	0.006	0.090	0.032
Visc Y_4	8.4 ± 0.2	9.7 ± 0.2	<0.001	n.e.	0.017	0.070	0.031
Head Y_4	13.4 ± 0.1	13.4 ± 0.1	0.800	0.014	<0.001	0.053	n.e.
Fil Y_4	31.7 ± 0.1	31.2 ± 0.1	0.001	n.e.	<0.001	n.e.	0.036

[a] Processing traits yields corresponding respectively to carcass, viscera, head and filet weights divided by the body weight (%).n.e. means non estimated p-value due to lack of convergence.

thermal growth rates were always close to one except during the second period, probably due to its shortness.

For processing traits obtained at the first slaughtering, sire by diet interactions were always significant ($P<0.05$) while genetic correlations were high for $CarcY_4$, $ViscY_4$, $HeadY_4$ (respectively 0.90, 0.93 and 0.93) and moderate for $FilY_4$ (0.65).

Sire by diet interactions calculated between M fish at first slaughtering and PB fish at the second one (thus with similar mean weight) were also significant, indicating that genotype by diet interactions still exist when fish of the same weight are compared. Nevertheless, genetic correlations for body weight (BW_5: 0.82 ± 0.08), as well as for standard length (FL_5: 0.86 ± 0.07) were both relatively high. Genetic correlations of processing traits were highly comparable to those found for fish of same age.

4. Discussion

4.1. Diet effect

One of the main findings of this study at the phenotypic level (comparison of mean phenotypes of M and PB fish) is the high survival rate obtained with a diet totally devoid of marine products. Few negative effects of total substitution of fish meal by plant protein sources have been reported in studies with rainbow trout fed diets containing fish oil (Barrows et al., 2007; De Francesco et al., 2004; Dupont-Nivet et al., 2009). However, a lot of negative effects of fish oil substitution by vegetable oils on fish health have been reviewed in Montero and Izquierdo (2010). To our knowledge, the present study is the first one where fish were fed a diet free of fish meal and fish oil from the first feeding onwards. The high survival rate despite total substitution of marine resources is a proof that rainbow trout is able to survive without dietary supply of eicosapentaenoic acid (20:5 n-3, EPA) and docosahexaenoic acid (22:6 n-3, DHA) from the first feeding. This result represents a step toward improved sustainability in farming of carnivorous species.

Table 3b
Least square means[a] ± standard errors per diet, and P-values of indicated effects (processing traits) for a comparison of fish at same weight when fed a marine (M) or a plant-based (PB) diet.

	M	PB	Diet	Tank (diet)	Sex	Dam-diet	Sire-diet
Carc Y_5	89.5 ± 0.2	88.4 ± 0.2	<0.001	0.366	0.786	0.043	0.020
Visc Y_5	8.4 ± 0.2	9.4 ± 0.2	<0.001	n.e.	0.747	0.035	0.020
Head Y_5	12.6 ± 0.1	13.1 ± 0.2	0.012	0.012	<0.001	0.114	0.004
Fil Y_5	32.3 ± 0.1	32.3 ± 0.1	0.820	0.064	<0.001	n.e.	0.034

[a] Processing traits yields corresponding respectively to carcass, viscera, head and filet weights divided by the body weight (%). *Carc* Y_5, *Visc* Y_5, *Head* Y_5, *Fi l* Y_5 corresponds to the second slaughtering of PB batch (dpf 465). Values are compared to those obtained in M batch for the first slaughtering (dpf 343). n.e. means non estimated p-value due to lack of convergence.

Table 4
Heritabilities ± standard errors and genetic correlations between marine (M) and plant-based (PB) diets for body weight (*BW*), fork length (*FL*) and thermal-unit growth coefficient (*TGC*) in rainbow trout measured at different ages (1: 213 dpf, 2: 293 dpf, 3: 315 dpf, 4: 343 dpf, 5: 465).

	h^2 (M) (±SE)	h^2(PB) (±SE)	Genetic correlation
BW_1	0.43 ± 0.10	0.54 ± 0.11	0.67 ± 0.12
BW_2	0.56 ± 0.11	0.60 ± 0.12	0.88 ± 0.06
BW_3	0.57 ± 0.11	0.65 ± 0.12	0.90 ± 0.05
BW_4	0.61 ± 0.12	0.67 ± 0.12	0.90 ± 0.05
BW_5		0.69 ± 0.13	0.82 ± 0.08
FL_1	0.43 ± 0.10	0.53 ± 0.11	0.69 ± 0.12
FL_2	0.50 ± 0.11	0.53 ± 0.11	0.86 ± 0.07
FL_3	0.51 ± 0.11	0.57 ± 0.11	0.90 ± 0.06
FL_4	0.55 ± 0.11	0.59 ± 0.12	0.90 ± 0.05
FL_5		0.60 ± 0.12	0.86 ± 0.07
TGC_{12}	0.39 ± 0.09	0.42 ± 0.10	0.89 ± 0.08
TGC_{23}	0.19 ± 0.06	0.34 ± 0.09	0.55 ± 0.22
TGC_{34}	0.41 ± 0.10	0.32 ± 0.08	0.91 ± 0.08
TGC_{14}	0.46 ± 0.10	0.65 ± 0.12	0.92 ± 0.07

We were able to produce ca. 400 g fish fed exclusively plant products in the same farming conditions as fish fed marine resources, with similar survival rates. This weight was reached after 469 days in the PB batch instead of approximately 333 days for the M batch. The *TGC* of PB fish was 75% of that of M fish, indicating a strong effect of the diet. Experimental diets were isoproteic, isolipidic, isoenergetic and compounds have been chosen so that both diets satisfy the nutritional requirements of rainbow trout according to NRC (1993). The data suggested that the composition of PB diet meets the nutritional needs for survival of rainbow trout and not for optimal growth. Many studies with salmonids concluded that it is possible to replace fish oil by a single or a blend of vegetable oils without substantially impairing growth (Bell et al., 2003; Richard et al., 2006; Rosenlund et al., 2010; Tocher et al., 2006) provided that n-3 fatty acid needs are covered (brought by fish meal). However, using meta-analysis methodology on 20 studies dealing with substitution of marine oil by vegetable oils in fish diets, Sales and Glencross (2010) found a negative relationship between fish growth and substitution rate of fish oil. Earlier studies have shown that total replacement of fish meal by plant proteins depressed growth of salmonids and marine species (Alami-Durante et al., 2010; Dupont-Nivet et al., 2009; Panserat et al., 2009; Santigosa et al., 2008; Vilhelmsson et al., 2004). Depending on species, 40–60% of fish meal can be replaced by a mix of plant products without adverse effects on growth and feed efficiency provided that antinutritional factors are limited and amino acid supply is adequate (Kaushik et al., 2004 (European seabass, *Dicentrarchus labrax L.*); De Francesco et al., 2007 (gilthead sea bream, *Sparus aurata L.*); Hansen et al., 2007 (Atlantic cod, *Gadus morhua L.*); Alami-Durante et al., 2010 (rainbow trout); Pratoomyot et al., 2010 (Atlantic salmon,

Table 5
Heritabilities ± standard errors and genetic correlations between marine (M) and plant-based (PB) diets for processing traits[a] in rainbow trout at sampling dates 4 (343 dpf) and 5 (465 dpf).

	h^2 (M) (±SE)	h^2(PB) (±SE)	Genetic correlation
Carc Y_4	0.48 ± 0.11	0.49 ± 0.11	0.90 ± 0.06
Visc Y_4	0.56 ± 0.12	0.62 ± 0.12	0.93 ± 0.05
Head Y_4	0.56 ± 0.11	0.58 ± 0.12	0.93 ± 0.05
Fil Y_4	0.21 ± 0.08	0.23 ± 0.07	0.65 ± 0.20
Carc Y_5		0.57 ± 0.06	0.89 ± 0.06[b]
Visc Y_5		0.58 ± 0.06	0.96 ± 0.05[b]
Head Y_5		0.80 ± 0.10	0.81 ± 0.09[b]
Fil Y_5		0.34 ± 0.09	0.75 ± 0.16[b]

[a] Processing traits yields corresponding respectively to carcass, filet, viscera, head weights divided by the body weight.
[b] Genetic correlations between fish with similar mean weights, i.e. date 4 for the Marine batch and date 5 for the plant-based batch.

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

Salmo salar L.). There are few papers reporting feeding trials with concomitant replacement of both fish meal and fish oil by plant meal and vegetable oil blends in salmonids diets and only one (Panserat et al., 2009) where the plant-based diet was totally devoid of marine resources. Despite most of these studies were conducted with fish of large size, a reduction in growth rate was also observed with high rate of concomitant substitution of fish meal and fish oil by plant products (Panserat et al., 2009; Torstensen et al., 2008). The low growth rate obtained in the present study with the PB diet could be due to the high level of plant protein, the absence of marine protein sources, the absence of EPA and DHA in the diets distributed from the first feeding during the whole life cycle or a combination of these different factors. The present experimental design does not allow conclusion to be made about the main reason of such low growth rate because it was not the aim of the study. Data highlights the need for further research on plant-based diets for carnivorous fish with special emphasis on early feeding phase.

In the present study, weight distribution analysis confirmed that plant-based diet had an important impact on the population. A high CV is usually interpreted as a difficulty to adapt to the rearing conditions. Kurtosis also showed a higher variability in PB batch and the comparison of skewness calculated for fish of comparable weight showed an excess of small fish in the PB batch. Both features confirm a potential response to a stressful environment. This could have a significant impact on commercial production as sortings are frequent and balance of the batches is often targeted.

For processing traits, it was evidenced that total replacement of marine products in the diet did not impact filet yield when fish were compared at the same weight. Small but significant differences were found for the other processing traits, which mean that processing of fish was negatively impacted by total replacement of marine products.

4.2. Genetic parameters

Neglecting genotype by environment interaction can cause loss of genetic gain (Mulder and Bijma, 2005) and dramatic overestimation with index selection, especially for "dollar response" (Dominik and Kinghorn, 2008). Thus, the global changes in the carnivorous aquaculture feeds could represent a potential source of important loss. The use of extremely contrasted diets was chosen to maximize the probability to reveal any potential genotype × diet interaction in the context of substitution of conventional marine resources by plant products. The experimental design including population size, number of families and family size was chosen to precisely estimate heritabilities and GxE interaction, in accordance to Dupont-Nivet et al. (2002) and Sae-Lim et al. (2010).

The present work concludes that no significant reranking of the families occurs between the two diets for *TGC* calculated on 130 days. Results obtained in this study on *TGC* differ from those obtained by Pierce et al. (2008) who found both significant genotype by diet interaction for growth ($P = 0.015$) and moderate estimate of genotype by diet interaction (genetic correlation of 0.73 ± 0.13) with almost total substitution of the FM. However, other studies did not evidence differences in family rankings comparing ingredients-contrasted diets for growth in rainbow trout (Palti et al., 2006) and for daily gain in European whitefish (Quinton et al., 2007a).

Estimations of genetic parameters of growth coefficient are often very sensitive to trial duration, and it seems more robust to consider the estimation of the longest period, here TGC_{14} which encompasses 130 days of growth. The instability on shorter periods can be due to daily feed intake variability and to a lack of precision of growth calculated on a short period.

Taken together, the high genetic correlation and the significant sire × diet effect recorded for body weight and fork length between diets indicate that extreme replacement would have a limited but significant effect on family rankings. It also suggests that the performance of the best breeders should be close with either marine or plant-based diets for the studied ages. Conclusion was the same for the genetic correlation calculated between M fish at first slaughtering and PB fish at the second one. For this case, there was still a slight difference of mean body weight between PB and M batches which could modify the interpretation. However, it was difficult to wait for PB to become bigger as male maturation began with springtime and could bias genetic parameter estimates (Dupont-Nivet et al., 2010). Previous work on rainbow trout also showed that interaction does exist for body weight through significance of genotype × diet interaction (Dupont-Nivet et al., 2009, genetic correlation was not estimated). It is noteworthy that the small re-ranking observed must still be considered when the genetic correlation is lower in the range of 0.8 or less (BW_1, BW_S). Indeed, with such values, a breeding program conducted on a marine diet will incur a loss of 20% or more of the genetic gain when transferred to a plant-based diet.

Based on the moderate genotype by diet interaction recorded with extreme diets, a shortcut analysis would consider that re-ranking should be minimal with only partially replaced plant-based feed. However, composition of the current commercial diets cannot be summarized as the ratio of marine on plant-based raw materials sources. The ingredients used are numerous and any of them showing a significant impact on growth should be considered as a potential source of re-ranking. For example, a transition to a low-cost diet in a farming system can be anticipated according two strategies. On the one hand, effort must be done to formulate a suitable diet based on all previous knowledge. As advised by nutrition studies, protein and energy content, digestibility of each dietary components, amino-acids balance, vitamins, essential fatty acids, and other micro-nutrients as well as antinutritional factors should all be taken into consideration. On the other hand, if the ingredients available do not allow the formulation of a feed that perfectly matches the physiological needs, population adaptation may be an interesting solution. Such a transition can be an opportunity to start or to adapt a breeding program with a new diet. Nevertheless, prospects for a long term use of the new feed would be a necessary condition to justify such an effort, as further changes in composition would be a limit to its efficiency. Owing to the fact that it is obviously difficult to anticipate on the precise changes of feed composition in the coming years, and that only limited genotype × diet interactions have been evidenced up to now, the solution advised here is to pursue selection for growth performances on the same criteria keeping in mind that a brutal change in diet composition may still induce family re-ranking.

The timing of selection also seems to be a fundamental aspect. Genotype by diet interactions for *BW* and *FL* do exist at the first measurement as the genetic correlations of both traits are significantly different of 1 (respectively 0.72 ± 0.13 and 0.69 ± 0.12). As both correlations substantially increase in the following measurements, it is interesting to consider the potential consequences of different selection timing. An early selection of fish fed on M diet would have led to a population which contains families which are good growers on M diet but are not good performers on PB diet. A later selection seems to avoid this kind of problem as good families will be approximately the same with both diets. However, it would be necessary to define this by measuring genetic correlation earlier to record the pattern of evolution of the genetic correlation over the growth period.

Similar heritabilities for daily weight gain have been found in European whitefish when fish meal is partially replaced with soybean meal (Quinton et al., 2007a, 2007b) and for growth in rainbow trout when FO and FM are reduced (Pierce et al., 2008). In our study, the high genetic correlation calculated between diets shows that genetic transmission of the analyzed traits is not highly affected by the extreme changes in the feed. This indicates that the absence of n-3 HUFA(EPA and DHA) in the diet and the total replacement of marine products do not decrease heritabilities of the growth and processing traits of rainbow trout.

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

However, even if heritabilities do not significantly differ between diets, it should be noted that estimates are always higher in PB diet. This observation is also true when looking at fish of comparable weights. Such a difference, if confirmed, could still lead to a non negligible difference in genetic gain (+17.4 g in PB diet, +12.8 g in M diet for body weight at 343 days and 5% selection pressure, for one generation of individual selection). One hypothesis for such a difference could be that the population has an 11 generations record (and many more unrecorded) of domestication with high levels of marine products in the diet. It would not be surprising that genetic variability of body weight when fed a marine diet had slightly decreased. Ability to grow on plant-based diets could solicit different genes originally in a wider variability and could explain higher heritabilities.

5. Conclusion

This study pointed out for the first time that rainbow trout could be fed all plant-based diets from the first meal without negative effect on survival during the first year of life. Nevertheless, the growth of fish fed with plant-based diet was strongly reduced as M fish were twice as heavy as PB fish at 343 days highlighting that improvement of feed formulation is still needed. Plant-based diet did not have a negative effect on filet yield when fish were compared at similar weight, contrary to viscera yield, head yield and carcass yield.

The experimental design allowed precise estimation of genetic parameters; heritability estimates were high for all traits, slightly but non significantly higher in PB batch indicating that selection for growth and processing traits will be efficient under both diets. The low family re-ranking between extremely contrasted diets is key information in the current context of marine resources replacement in aquaculture feeds. It would indicate that previous genetic gain (obtained with diets containing FM and FO) should be globally preserved even with a dramatic substitution by plant products, and even when feeds are substituted early in the life cycle. However, the genotype diet interaction is higher at the first measurement showing that it is important to follow this parameter along the whole life cycle. More detailed experiments regarding interactions during early stages would be useful.

Acknowledgments

This work was supported by the French government in the frame of the *Vegeaqua* project and thanks are given here to all participants of this project. It is also part of the joint research program on Sustainable Fish Breeding of the INRA-Ifremer Research Group. This work was carried out at the Pisciculture expérimentale INRA des Monts d'Arrée, Sizun, France and authors are grateful to all the members of this facility. Authors also would like to thank members of INRA Donzacq facility who processed the experimental diets.

References

Alami-Durante, H., Médale, F., Cluzeaud, M., Kaushik, S.J., 2010. Skeletal muscle growth dynamics and expression of related genes in white and red muscle of rainbow trout fed diets with graded levels of a mixture of plant protein sources as substitutes for fish meal. Aquaculture 303, 50–58.

Anonymous, 2009. Survey on the breeding practices in the European aquaculture industry. http://www.aquabreeding.eu/LinkClick.aspx?fileticket=IIx9ZR26NYw%3d&tabid=98&mid=438.

Barrows, F.T., Gaylord, T.G., Stone, D.A.J., Smith, C.E., 2007. Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Aquaculture Research 38, 1747–1758.

Bell, J.G., McGhee, F., Campbell, P.J., Sargent, J.R., 2003. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil « wash out ». Aquaculture 218, 515–528.

Blanc, J., 2002. Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research 33, 563–568.

Chevassus, B., Quillet, E., Krieg, F., Hollebecq, M., Mambrini, M., Labbe, A., Hiseux, J., Vandeputte, M., 2004. Enhanced individual selection for selecting fast growing fish: the "PROSPER" method, with application on brown trout (*Salmo trutta fario*). Genetics, Selection, Evolution 36, 643–661.

De Francesco, M., Parisi, G., Médale, F., Lupi, P., Kaushik, S.J., Poli, B.M., 2004. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 236, 413–429.

De Francesco, M., Parisi, G., Pérez-Sánchez, J., Gómez-Réqueni, P., Médale, F., Kaushik, S., Mecatti, M., Poli, B.M., 2007. Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. Aquaculture Nutrition 13, 361–372.

Dominik, S., Kinghorn, B., 2008. Neglecting genotype×environment interaction results in biased predictions from selection index calculations. Livestock Science 114, 233–240.

Dumas, A., France, J., Bureau, D.P., 2007. Evidence of three growth stanzas in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across life stages and adaptation of the thermal-unit growth coefficient. Aquaculture 267, 139–146.

Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Chevassus, B., 2002. Optimization of factorial mating designs for inference on heritability in fish species. Aquaculture 204, 361–370.

Dupont-Nivet, M., Medale, F., Leonard, J., Le Guillou, S., Tiquet, F., Quillet, E., Geurden, I., 2009. Evidence of genotype–diet interactions in the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clones to a diet with or without fishmeal at early growth. Aquaculture 295, 15–21.

Dupont-Nivet, M., Chevassus, B., Mauger, S., Haffray, P., Vandeputte, M., 2010. Side effects of sexual maturation on heritability estimates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research 41, e878–e880.

FAO, 2007. Fishstat Plus v.2.32. Universal Software for Fisheries Statistical Time Series, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. http://www.fao.org/fi/statist/fisoft/fishplus.asp.

Food and Agriculture Organization (FAO), 2008. The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. FAO, Rome, Italy.

Gatlin, D., Barrows, F., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T., Hardy, R., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture Research 38, 551–579.

Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis, B.R., Thompson, R., 2008. User Guide Release 3.0.

Hansen, A., Rosenlund, G., Karlsen, Ø., Koppe, W., Hemre, G., 2007. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I - Effects on growth and protein retention. Aquaculture 272, 599–611.

Kaushik, S.J., Covès, D., Dutto, G., Blanc, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture 230, 391–404.

Montero, D., Izquierdo, M., 2010. Health and welfare of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil. In: Turchini, G.M., Ng, W.K., Tocher, D.R. (Eds.), Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds. CRC Press, USA, pp. 439–485.

Mulder, H., Bijma, P., 2005. Effects of genotype×environment interaction on genetic gain in breeding programs. Journal Of Animal Science 83, 49–61.

Naylor, R., Goldburg, R., Primavera, J., Kautsky, N., Beveridge, M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405, 1017–1024.

NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, D.C., USA.

Olesen, I., Gjedrem, T., Bentsen, H.B., Gjerde, B., Rye, M., 2003. Breeding programs for sustainable aquaculture. Journal of Applied Aquaculture 13, 179.

Palti, Y., Silverstein, J., Wieman, H., Phillips, J., Barrows, F., Parsons, J., 2006. Evaluation of family growth response to fishmeal and gluten-based diets in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 255, 548–556.

Panserat, S., Hortopan, G., Plagnes-Juan, E., Kolditz, C., Lansard, M., Skiba-Cassy, S., Esquerré, D., Geurden, I., Médale, F., Kaushik, S., Corraze, G., 2009. Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. Aquaculture 294, 123–131.

Pierce, L., Palti, Y., Silverstein, J., Barrows, F., Hallerman, E., Parsons, J., 2008. Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype×diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 278, 37–42.

Pratoomyot, J., Bendiksen, E., Bell, J., Tocher, D., 2010. Effects of increasing replacement of dietary fishmeal with plant protein sources on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture 305, 124–132.

Quinton, C.D., Kause, A., Koskela, J., Ritola, O., 2007a. Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. Genetics, Selection, Evolution 39, 431–446.

Quinton, C.D., Kause, A., Ruohonen, K., Koskela, J., 2007b. Genetic relationships of body composition and feed utilization traits in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and implications for selective breeding in fishmeal- and soybean meal-based diet environments. Journal of Animal Science 85, 3198–3208.

Richard, N., Kaushik, S., Larroquet, L., Panserat, S., Corraze, G., 2006. Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). British Journal of Nutrition 96, 299–309.

Rosenlund, G., Corraze, G., Izquidero, M., Torstensen, B.E., 2010. The effect of fish oil replacement on nutritional and organoleptic qualities of farmed fish. In: Turchini,

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

G.M., Ng, W.K., Tocher, D.R. (Eds.), Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds. CRC Press, USA, pp. 487–522.
Sae-Lim, P., Komen, H., Kause, A., 2010. Bias and precision of estimates of genotype-by-environment interaction: a simulation study. Aquaculture 310, 66–73.
Sales, J., Glencross, B., 2010. A meta-analysis of the effects of dietary marine oil replacement with vegetable oils on growth, feed conversion and muscle fatty acid composition of fish species. Aquaculture Nutrition 17, 271–287.
Santigosa, E., Sánchez, J., Médale, F., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J., Gallardo, M.A., 2008. Modifications of digestive enzymes in trout (*Onchorynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. Aquaculture 282, 68–74.
Tacon, A., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. Aquaculture 285, 146–158.
Tocher, D.R., Dick, J.R., MacGlaughlin, P., Bell, J.G., 2006. Effect of diets enriched in Delta6 desaturated fatty acids (18:3 n-6 and 18:4 n-3), on growth, fatty acid composition and highly unsaturated fatty acid synthesis in two populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Comparative Biochemistry and Physiology. Part B. Biochemistry & Molecular Biology 144, 245–253.
Torstensen, B.E., Espe, M., Sanden, M., Stubhaug, I., Waagbø, R., Hemre, G.-I., Fontanillas, R., Nordgarden, U., Hevrøy, E.M., Olsvik, P., Berntssen, M.H.G., 2008. Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. Aquaculture 285, 193–200.
Vandeputte, M., Mauger, S., Dupont-Nivet, M., 2006. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. Molecular Ecology Notes 6, 265–267.
Vandeputte, M., Baroiller, J., Haffray, P., Quillet, E., 2009. Genetic improvement of fish: achievements and challenges for tomorrow. Cahiers Agricultures 18, 262–269.
Vilhelmsson, O.T., Martin, S.A.M., Médale, F., Kaushik, S., Houlihan, D.F., 2004. Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). British Journal of Nutrition 92, 71–80.

Please cite this article as: Le Boucher, R., et al., Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Are there genotype-diet interactions for main production traits when..., Aquaculture (2011), doi:10.1016/j.aquaculture.2011.08.010

Eléments de discussion

Principaux résultats

Les taux de survie sont élevés quelque soit l'aliment et ne sont pas significativement différents (P>0,05). A 343 dpf, le poids moyen des truites arc-en-ciel nourries avec l'aliment M (440,2 g ± 11,3) est deux fois plus élevé que celui des poissons nourris avec l'aliment PB (216,0 g ± 12,6). Le lot PB atteint un poids moyen de 407,4 g ± 17,1 après 465 jours. Que les individus soient comparés à âge ou à poids égal, l'effet aliment est significatif sur les caractères de transformation (rendement carcasse, viscères, filet, P<0,05) à l'exception du rendement en tête au même âge (P=0,80) et du rendement filet au même poids (P=0,82). Les estimations de l'h^2 pour le poids (0,69 ± 0,13) et le taux de croissance (0,65 ± 0,12) sont élevées chez les poissons du lot PB. Il existe une IGA significative mais faible pour le poids, la longueur et les caractères de transformation (Rg entre 0,67 et 0,92). Elle est plus marquée pour le poids et la longueur dans les premiers stades, comme l'indique la corrélation génétique entre lots qui varie entre 0,67 et 0,90.

Un effet modéré de l'aliment

Chez la truite arc-en-ciel, l'effet aliment est moins fort que chez le bar européen, comme le laissait supposer les études précédentes (2-2-3 et 2-3-3). Le taux de survie n'est pas modifié (P>0,05), tout comme le rendement en filet (P>0,05). En revanche, le taux de croissance du lot PB est 25 % plus faible que celle du lot M et les rendements en carcasse, viscères et tête sont également modifiés par l'aliment lorsque les individus sont comparés à poids similaire. La distribution des performances de croissance est aussi perturbée (**Figure 18**). Alors qu'il apparaît une tête de lot avec l'aliment M, la fréquence des petits individus augmentent avec l'aliment PB. Cette augmentation de la fréquence relative des petits individus associée à un CV élevé appuie l'hypothèse d'une réponse à un environnement contraignant.

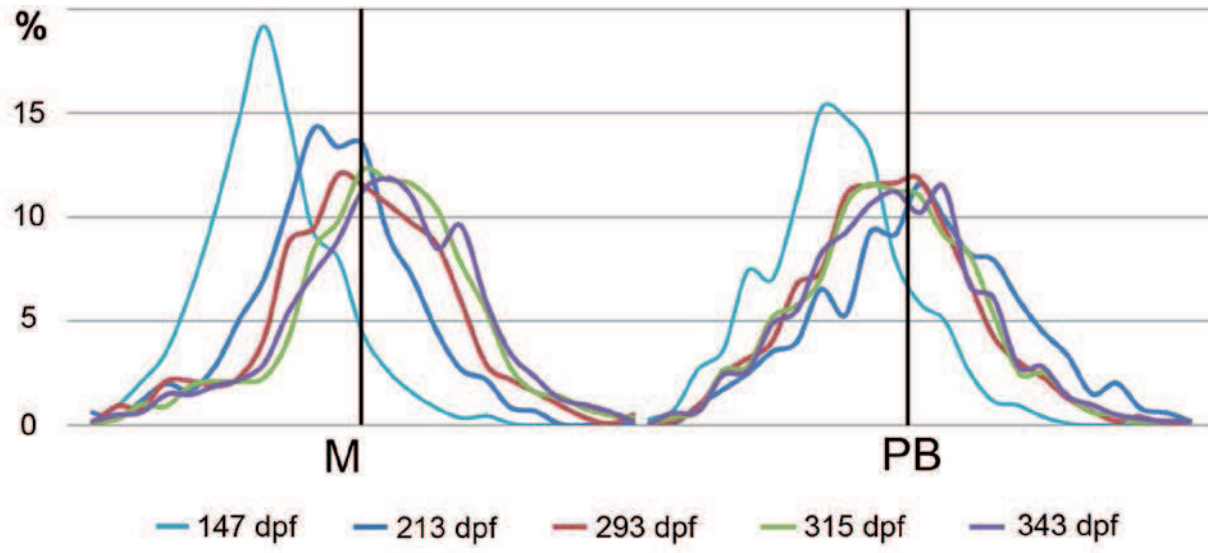


Figure 18. Répartition (% du nombre d'individus) des individus nourris avec l'aliment M et PB en fonction de leur poids. PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson.

Des héritabilités plus élevées dans le lot PB

Bien que la différence ne soit jamais significative, les h^2 du poids sont toujours plus élevées dans le lot PB (M: 0,43-0,61, PB: 0,54-0,69). Ce faible écart peut cependant mener à des différences de gains génétiques non négligeables (+ 42,5 % dans le lot PB et + 29,9 % dans le lot M, pour une pression de 3 % exercée à 343 dpf). De plus, l'héritabilité du TGC sur la période étudiée est significativement plus élevée (> 2 erreurs standards) dans le lot PB que dans le lot M (M: 0,46 ± 0,10; PB: 0,65± 0,12). La **Figure 19** permet de comparer l'h^2 du poids dans les deux lots pour des poids similaires. On constate que la différence existe dès la première estimation. Nous verrons dans la discussion générale que cette situation contraste avec celle observée chez le bar européen et peut mener à des stratégies différentes.

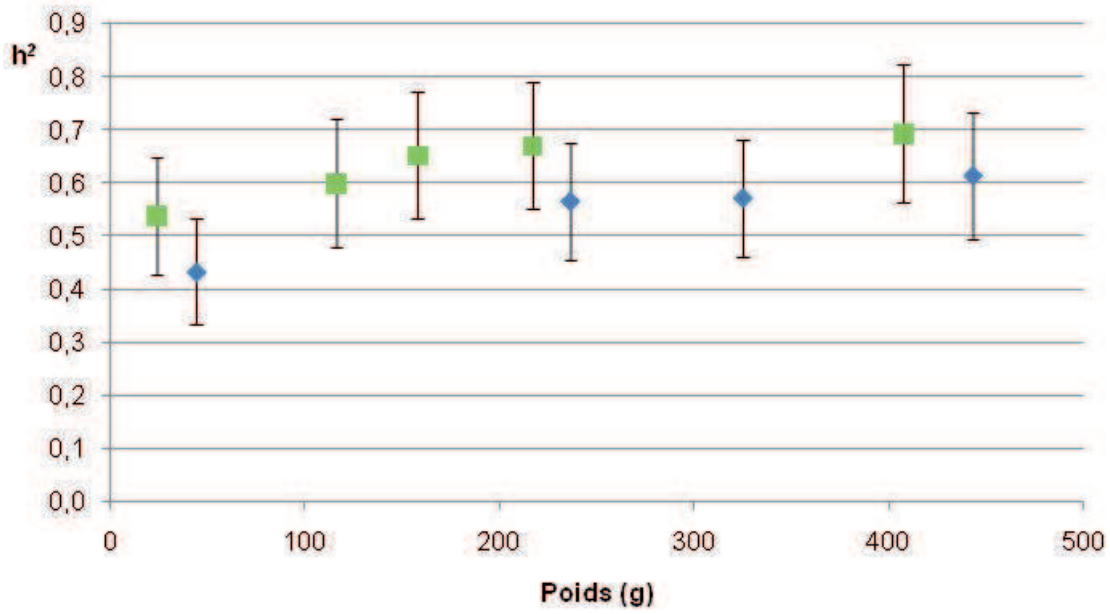


Figure 19. Héritabilités du poids pour les lots de truite arc-en-ciel nourris avec l'aliment PB (en vert) et l'aliment M (en bleu) en fonction du poids. PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson. Les barres verticales représentent les erreurs standards.

Les paramètres génétiques des caractères liés à la qualité du filet

Les estimations de la qualité du filet ont été réalisées par les membres de l'unité Inra-Scribe (F. Lefebre, J. Bugeon, M. Dupont-Nivet, communication personnelle) en comparant les lots M et PB à poids similaires. Le remplacement total des FM et FO par des produits d'origine végétale terrestre modifie significativement la couleur du filet (luminosité (L), composante rouge (a) et composante jaune (b), $P<0,05$). Il a également pour conséquence une diminution du pH intra-musculaire (PB : 7,01 ; M : 7,07, $P<0,05$) et une augmentation de la fermeté de la chair (force de rupture et travail total pour atteindre la rupture). Les h^2 et les Rg entre lots M et PB ont été estimées (**Figure 20**). On constate que les caractères liés à la couleur sont faiblement héritables mais que les h^2 sont plus élevées dans le lot PB que dans le lot M pour (L) et (b) (> 2 erreurs types). A l'exception de la composante (a), la corrélation génétique est moyenne. Les caractères de texture sont modérément héritables dans les deux lots et la Rg élevée (0,73-0,93) indique que les reclassements familiaux existent mais sont probablement peu importants.

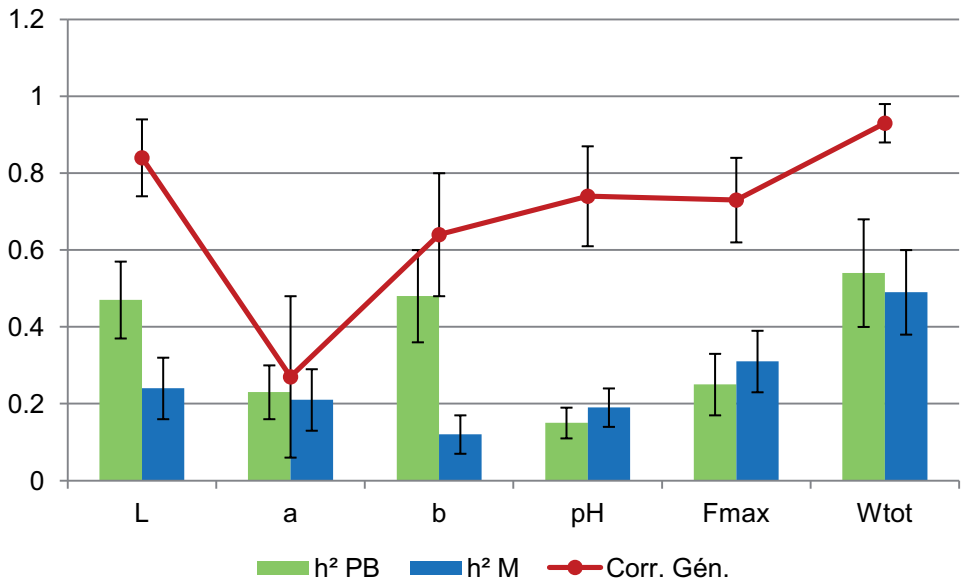


Figure 20. Estimation des héritabilités et de la corrélation génétique entre lots pour les caractères de qualité du filet chez des poissons nourris avec un aliment contenant des produits d'origine marine (M) ou avec un aliment n'en contenant aucun (PB). L, a, b sont les composantes de l'estimation de la couleur du filet, respectivement luminosité, composante bleue et composante jaune. Fmax et Wtot correspondent à la force de rupture et au travail total fourni par le dynamomètre. La ligne rouge représente la corrélation génétique pour le caractère estimée entre les lots M et PB. Les barres verticales représentent les erreurs types.

Une IGA modérée qui tend à diminuer dans le temps

Dans cet essai, l'interaction entre l'effet père et l'effet aliment est significative (P<0,05) pour tous les caractères, à l'exception du taux de croissance. La Rg entre aliments renseigne sur l'importance des reclassements familiaux introduits par l'interaction et l'on constate qu'elle est proche de 1 pour la plupart des caractères. Elle diffère de 1 pour le poids et la longueur à la première mesure indiquant que l'IGA serait plus forte au début de l'essai et diminuerait dans le temps. La plus ou moins grande importance de l'IGA dans les stades précoces est un élément à préciser pour la gestion future des programmes de sélection. Pour visualiser l'impact de cet écart, nous avons simulé une sélection de géniteurs sur leur performance de poids (pression de sélection : 5 %) à deux stades. A 343 dpf, la sélection cible des individus généralement issus des mêmes familles dans le lot M et dans le lot PB (**Figure 21**). A 213 dpf, les individus présentant les meilleures performances sont issus de familles différentes selon qu'on les choisit dans le lot M ou le lot PB (**Figure 21**, cercle rouge). Ainsi, une évolution, même modérée de la corrélation génétique dans le temps peut avoir des

conséquences sur l'efficacité de la sélection, et devrait être prise en compte dans la façon dont la pression de sélection peut être appliquée au cours de la croissance.

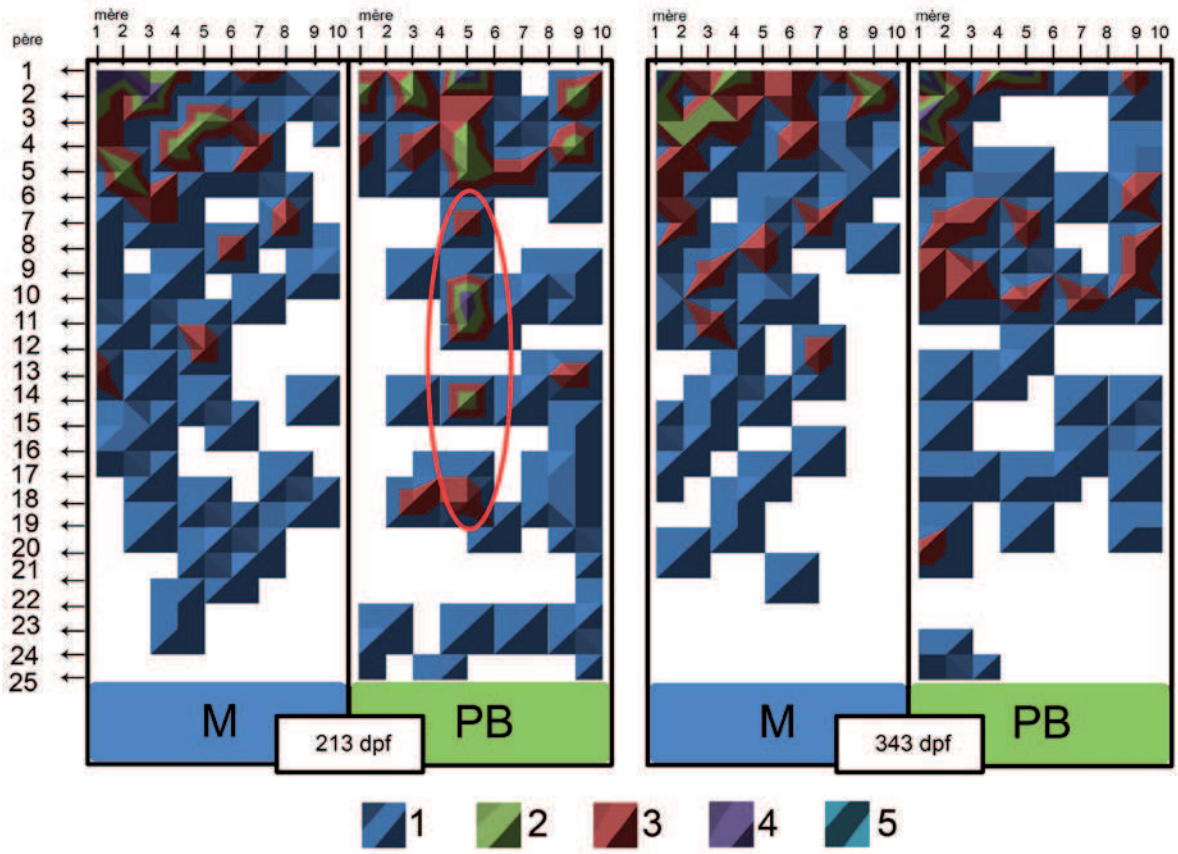


Figure 21. Nombre d'individus choisis lors d'une sélection d'individus présentant les poids les plus élevés (5 % du lot) en fonction de leur famille d'origine, de l'aliment qu'ils ont reçu et de la date de sélection. Les individus sont issus d'un croisement entre 25 pères et 10 mères. Les parents sont classés indépendamment pour chaque date dans l'ordre d'importance du nombre de descendants sélectionnés dans le lot M.

Chapitre 5.

La sélection pour l'aptitude survivre et grandir en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale

5-1) Mesure de la réponse à la sélection chez la truite arc-en-ciel

La variabilité génétique pour l'aptitude à grandir en utilisant un aliment d'origine végétale ainsi que les premières estimations d'héritabilités issues de la littérature (3-3-4 et **Tableau 7**) ont conforté la possibilité d'une sélection efficace sur ce caractère. Les essais préliminaires réalisés en 2007 dans la Pisciculture Expérimentale de Monts d'Arrée (PEIMA) ont prouvé que l'utilisation d'un aliment entièrement d'origine végétale permettait d'obtenir des performances zootechniques dégradées mais supportables chez la truite arc-en-ciel. Une sélection massale expérimentale a donc été mise en place, permettant l'obtention en 2009 d'un noyau de géniteurs sélectionnés pour l'aptitude à grandir et à survivre en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale. La pression de sélection totale est d'environ 3,25 %. Les descendants de ces animaux sélectionnés ont ensuite été comparés aux descendants de la lignée témoin d'origine pour estimer la réponse à la sélection en première génération (**Figure 22**).

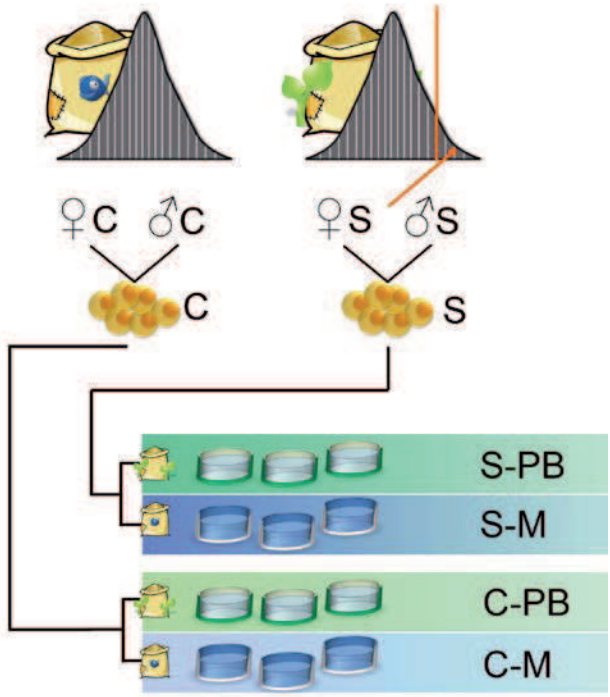


Figure 22. Schéma expérimental de la mesure de réponse à la sélection pour l'aptitude à grandir et à survivre en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale terrestre. Deux croisements sont réalisés, l'un entre mâles et femelles issus d'une lignée témoin (C), l'autre entre mâles et femelles issus d'une lignée sélectionée (S). Chacun de ses lots est nourri soit avec un aliment d'origine végétale (C-PB et S-PB) soit avec un aliment contenant des produits d'origine marine (C-M et S-M).

L'objectif est (i) de confirmer, après une génération de sélection, les valeurs d'h^2 du poids estimées a priori dans l'essai précédent et (ii) d'estimer la réponse corrélée pour la survie et l'homogénéité des performances de croissance, considérée comme un indicateur d'adaptation à l'environnement alimentaire.

Cet article est formaté pour une soumission dans la revue Science. Il comporte un article dans lequel le protocole est sommairement décrit et un document additionnel dans lequel le matériel & méthode est détaillé.

From individual foraging diversity to breeding to adapt to dietary shifts in carnivorous fish farming

Le Boucher R.,[1,2,3] Dupont-Nivet M.,[1] Vandeputte M.,[1,2,3] Kerneïs T.,[5] Goardon L.,[5] Labbé L.,[5] Chatain B.,[2] Médale F.,[4] Quillet F.[1]

[1] INRA, UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78350 Jouy-en-Josas, France

[2] Ifremer, 34250 Palavas-les-Flots, France

[3] AgroParisTech, UMR1313 GABI, 75231 Paris 05, France

[4] INRA, UMR1067 NuMeA Nutrition, Metabolism, Aquaculture, 64310 St Pée-sur-Nivelle, France

[5] INRA, UE 937 PEIMA, 29450 Sizun, France

To whom correspondence should be addressed: R. Le Boucher, INRA, GABI, Bât. 231, 78350 Jouy-en-Josas, France; phone: +33 (0)1 34 65 29 76; fax: +33 (0)1 34 65 23 90;

e-mail: richard.leboucher@jouy.inra.fr

Refusé par Science, under Review in PLOS One

Abstract

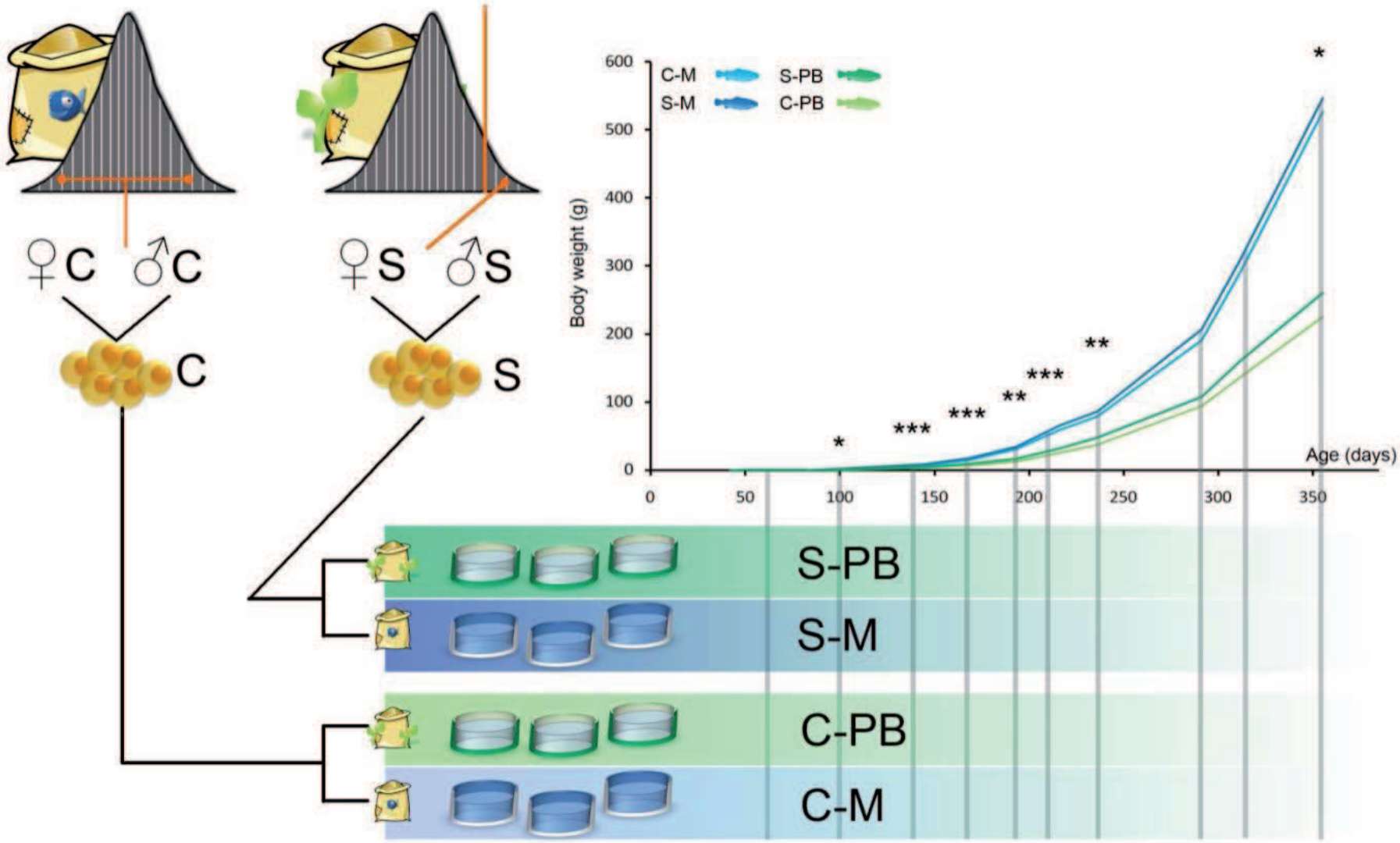
Genetic adaptation to dietary environments is a key process in the evolution of natural populations and is of great interest in animal breeding. In fish farming, the use of fish meal and fish oil has been widely challenged, leading to the rapidly increasing use of plant-based products in feed. However, high substitution rates impair fish health and growth in carnivorous species. We demonstrated that survival rate, mean body weight and biomass can be improved in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after a single generation of selection for the ability to adapt to a totally plant-based diet (15.1%, 35.3% and 54.4%, respectively). Individual variability in the ability to adapt to major diet changes can be effectively used to promote fish welfare and a more sustainable aquaculture.

In fish, as in other vertebrates, within-species or within-population diversity of individual foraging strategies is a common feature (1, 2, 3). Phenotypic plasticity (3) and genetic variability probably contribute to this diversity. Besides, there is growing evidence that changes in feeding can drive evolution, as recently demonstrated in stickleback (4). In a similar way, it is now well documented (5) that major dietary changes in human sub-populations within a relatively short time frame roughly coincide with selection for ability to digest carbohydrate-rich regimes (6), to digest milk at adulthood (7) and to regulate appetite (8). Evidence of rapid dietary-induced genetic changes can also be seen from within-population experimental selections in animal models (9, 10). Selective breeding of carnivorous fish for aquaculture may take advantage of the opportunity to address an especially challenging feeding context by promoting such genetic adaptation in farmed fish populations.

Providing high quality food to an ever-increasing human population in a sustainable way is clearly the challenge of this century, and aquaculture has been identified as a significant but incomplete solution (11, 12). Between 2002 and 2006, the earth became home to 300 million more human beings, while consumption of aquatic products rose from 100.7 to 110.4 million tons (13). Since global fish capture plateaued at around 80 million tons during the 1980s, this increase has been entirely covered by aquaculture, and fish production for human consumption is still expected to rise by 1.2 to 1.5 million tons per year (13). Despite heterogeneous development worldwide, farmed fish production is still rapidly growing for both marine (+7.2% per year) and freshwater (+11.9% per year) fish (13). However,

aquaculture heavily relies on the use of fishmeal and oil in feed, whereas fisheries that traditionally provide these feedstuffs have reached their limit and will not be able to meet increasing needs (14). The main response to the limitation of these essential feedstuffs has been the increased substitution of fishmeal and fish oil with terrestrial plant-based products (14), especially in Europe where most animal by-products are prohibited in animal feed. For example, the share of fish meal and fish oil in salmon diets decreased from 45% to 30% between 1995 and 2006 (14) and is now probably close to 20% in commercial diets. However, higher substitution rates strongly reduce fish growth (15, 16) and have an impact on health (15, 17), which is a major obstacle to the development of many aquaculture species that are in high demand (salmonids, marine species). Interestingly, genetic variability of the ability to grow on a plant-based diet has recently been demonstrated in farmed fish populations of two carnivorous species, the rainbow trout (18, 19, 20) and the European whitefish (21), but the effectiveness of selective breeding for this specific trait has not yet been established. The objectives of this study were to confirm that fish can actually be selected for their ability to adapt to a plant-based diet and to characterize the effects of such a selection scheme on major production traits.

Fig. 1 Mating design and experimental groups for the assessment of response to selection. The best performers on an experimental plant-based diet were selected as breeders (S) and their progeny was compared to that of control breeders randomly sampled in the unselected population (C). Offspring batches were divided into two dietary groups (three tanks each), one group fed with a marine diet (S-M and C-M) and the other a plant-based diet (S-PB and C-PB). Ten successive weight measurements were carried out during the first year of life. Growth curves are shown for the four line x diet combinations. Stars denote the significance of the diet*line interaction for body weight at every date of measurement (*: P<0.1; **: P<0.05; ***: P<0.01).


♀C ♂C
♀S ♂S
C
S
C-M
S-M
S-PB
C-PB
Body weight (g)
Age (days)
0
100
200
300
400
500
600
0
50
100
150
200
250
300
350
*
***
***
**
***
**
*
S-PB
S-M
C-PB
C-M

The experimental lines were issued from the INRA-SY strain of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, a domesticated population assumed to have a large genetic variability and maintained without any selection since the early 1980s. Fish were produced on the basis of a full factorial cross among SY parents (36 dams x 44 sires, i.e., 1584 full-sib families). They were fed an exclusively plant-based diet (PB) as of their very first meal (Table S1) during their first year of life (22). Sequential upward selection was applied by sorting for body size at 95, 203, 329, 360 days post-fertilization (dpf). The overall selection pressure was 3.25%. Selected fish (S) were the largest ones among those that survived up to the different culling times. Sixty fish (30 dams and 30 sires) were randomly sampled among the S fish as breeders for the next generation (Fig. 1). Non-selected control (C) breeders (30 sires and 30 dams) were also randomly sampled among a batch of the original SY strain fed with a commercial diet containing fish meal and fish oil.

To evaluate the response to selection, two full factorial crosses were carried out, mating the S and the C parents, respectively, in order to obtain one batch of 3600 S eggs and one batch of 3600 C eggs. After hatching, half of each batch was fed a plant-based (PB) diet (S-PB and C-PB groups, respectively) to assess selection gain for survival and growth on the PB diet. The other half of each batch was fed a marine (M) diet (S-M and C-M groups, respectively) to assess the non-specific selection gain (22). For each of the four line x diet combinations, three rearing units (three tanks seeded with 600 eggs) were used (Fig. 1). The major ingredients in the M diet were fish meal and fish oil, and the PB diet was totally devoid of marine products that were replaced by a blend of plant products (Table S1). Experimental diets were distributed as of the first meal (41 dpf). They were formulated to be isoproteic, isolipidic and isoenergetic, and the composition was changed at 236 dpf for M diet and at 280 dpf for PB diet (22) to adapt protein and lipid content to the nutritional requirements of larger fish (Table S1). Product sources in the PB diet were chosen to satisfy trout requirements in fatty acids, amino acids, vitamins and minerals (23). Soy lecithin, lysine and calcium phosphate were added to the PB diet to adjust the phospholipid, essential amino acid and available phosphorus contents.

Impact on fish health is usually considered to be a major disadvantage of high substitution in plant-based diets (17). A regular survey of survival in the experimental groups confirmed that the PB diet had a deleterious effect on survival as of the early stages of development (91.5% and 90.3% mean survival in M groups vs. 66.9% and 77.0% in PB

groups at 145 dpf) (Fig. 2B and Table S3). However, in the case of the PB diet, mean survival rate was substantially improved by selection (77.0% vs. 66.9%; $P<0.01$), whereas no difference was recorded in the case of the M diet. Both diet compositions were very similar, but the PB diet did not contain any n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acids), eicosapentaenoic acid (20:5n-3, EPA) or docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) (Table S2), which are essential for the growth of healthy fish (15, 17). The observed gain in survival may be the result of a better ability of the fish to cope with this deficiency in the early stages or of a lesser sensitivity to anti-nutritional factors contributed by plant protein sources. However, more studies are necessary before any conclusions on the physiological mechanisms of adaptation can be drawn.

The evolution of body weight with age in the different groups is presented in Fig. 1. There was a strong effect of the diet, with M fish being twice as large as PB fish as of 60 dpf (Table S3).The interaction between diet and selection effects was estimated in a SAS-MIXED model (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) and used as an indicator of the efficiency of the selection for specific adaptation to the PB diet (22). It was significant as of 145 dpf ($P<0.01$) and remained significant until 291dpf (Fig. 1 and Table S3). The selection gain for body weight on the PB diet, calculated as the ratio, 100 x (S-PB – C-PB)/C-PB, increased from 21.4% (60 dpf) to 35.3% (145 dpf) and then decreased to 15.7% (355 dpf). The selection gain observed in the M diet as the ratio, 100 x (S-M – C-M)/C-M, increased from 9.2% (60 dpf) to 20.3% (145 dpf) and then decreased to 3.8% (355 dpf) (Fig. 2A). This latter gain is due to the individual selection for overall growth performance but is not linked to the specific ability to grow under the PB diet. To take this non-specific gain into account, the PB-specific response to selection for body weight was calculated as the difference between the previous ratios (blue area in Fig. 2A).

Fig. 2 Effects of selection on survival and growth performances. (A) Selection gain for body weight (%) is calculated for fish fed with a plant-based (PB) diet (green line) and fish fed with a marine diet (blue line). The difference between the two gains is the PB diet-specific selection gain for the ability to grow when fed with a plant-based diet after one generation of selection. (B) Selection did not modify the offspring survival rate when fish were fed the M diet (same survival rate in C-M and S-M groups) but significantly improved the survival rate when fish were fed the PB diet. Different letters mean significant differences ($P<0.05$) between groups. (C) The coefficient of variation of body weight (%) was higher in groups of fish fed the PB diets throughout the trial, but was significantly reduced by selection in the case of the PB diet. Different letters mean significant differences ($P<0.05$) between groups. (D) Individual body weights were measured on more than 100 fish per tank and distributed into 12 classes. The distributions illustrate the structure of the offspring groups and show that selection resulted in more homogeneous cohorts (higher peaks) at all dates (145 dpf, 193 dpf, 291 dpf).

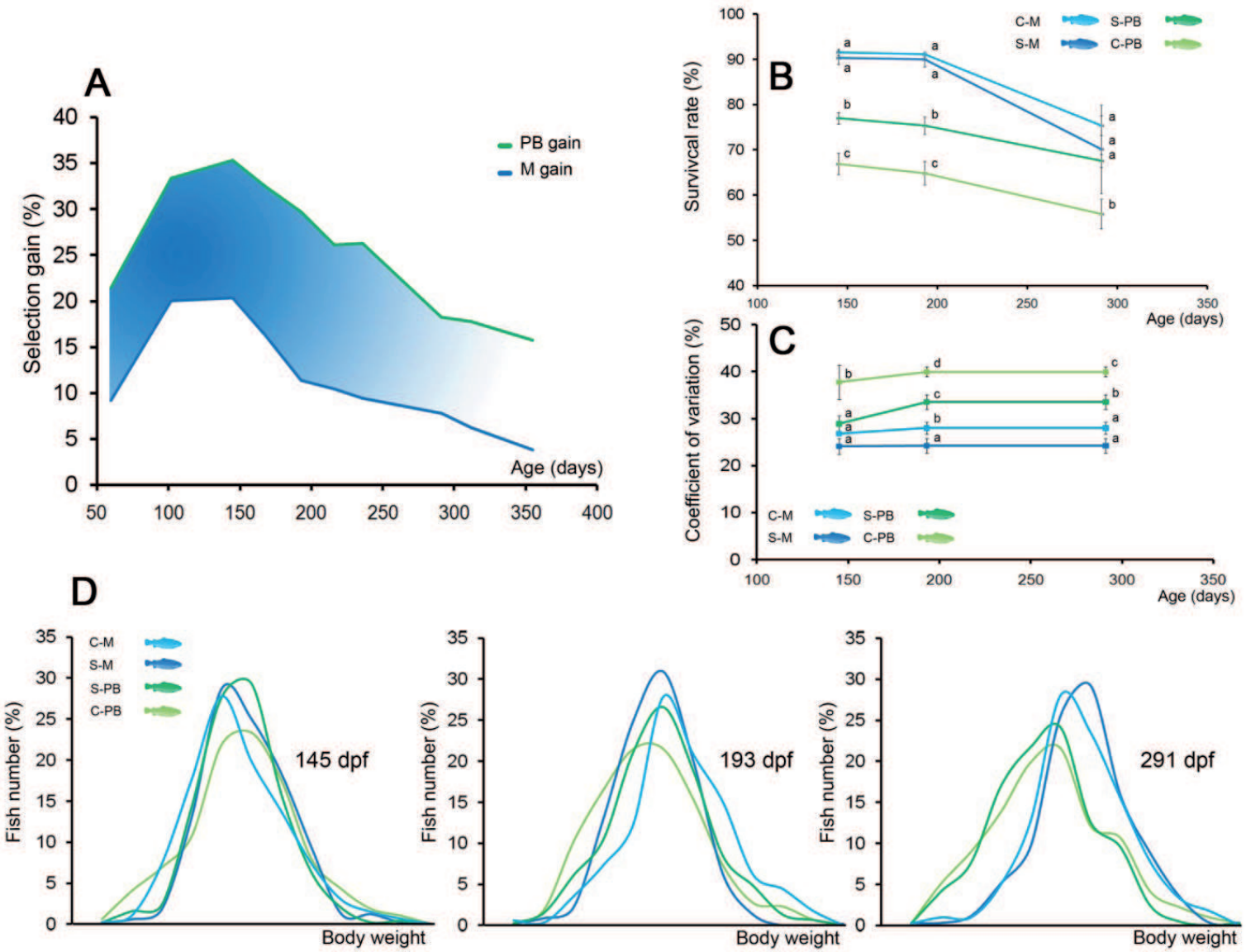

A
Selection gain (%)
PB gain
M gain
Age (days)
B
Survivcal rate (%)
C-M
S-PB
S-M
C-PB
Age (days)
C
Coefficient of variation (%)
C-M
S-PB
S-M
C-PB
Age (days)
D
Fish number (%)
C-M
S-M
S-PB
C-PB
145 dpf
193 dpf
291 dpf
Body weight

Figure 2A shows that it was around 12% and remained quite stable throughout the first year of life. These results demonstrate that at least two major production traits (survival and growth) associated with the ability to adapt to plant-based feedstuff were positively modified after a single generation of selection, indicating that domestic populations of rainbow trout have the genetic potential to adapt to major dietary changes.

Combining the response to selection for survival and for body weight with the PB diet tested here, the cumulative biomass gain reached a maximum of +54.4% (Table S4) after 145 dpf. If the genetic gain is maintained over the next generations of selection, the selected line fed with the PB diet would reach the same biomass production as the control line fed with the M diet after approximately two generations. It should be noted that fish are excellent candidates to initiate such breeding programs since the size of broodstocks and the fertility of breeders allow high selection pressures.

When using highly substituted plant-based diets, groups of small, moribund fish were usually observed in preliminary trials (24). This motivated a detailed analysis of the within-group distributions of weights since they provide an indication of fish health and welfare. The PB diet was associated with a significant and continuous increase of the within-group coefficients of variation ($P< 0.05$; Fig 1C). This increased heterogeneity not only reflects the underlying genetic variability, but is somewhat related to a higher phenotypic instability at the individual level because of difficulties to cope with the plant-based diet, as revealed in dietary trials using isogenic trout lines (20). Interestingly, the coefficient of variation was significantly lower (22) in the selected line than in the control one when fed the PB diet ($P<0.05$), suggesting that selection may have simultaneously improved the health and welfare of the selected fish. Body weight distributions (Fig. 2D) clearly showed higher peaks in the selected lines than in the control ones, and the most flattened distribution was always that of the C-PB. Performance homogeneity is an important trait for production, and the more homogeneous the distribution is, the more valuable the cohort will be. In-depth assessment of the impact of this type of breeding program on fish behavior and health would certainly add to our knowledge of the potential use of genetics to improve the welfare of farmed fish.

Understanding which biological traits are targeted by diet-related selective pressures is a key issue. The selected trout line is therefore a valuable resource for carrying out investigations intended to identify the key mechanisms associated with adaptation to plant-based diets. A set of processes that include sensory perception and appetite control, digestive

tract morphology and physiology and metabolism will probably be involved (5). The present trial emphasized that early development stages are determinant since much of the selection gain was recorded in the first months of life. The early ability to digest feedstuffs, to use fatty acids, feed attraction plasticity and the impact of diet changes on the nutritional quality of the product are therefore relevant features to be further investigated.

What the consumer eats is increasingly becoming a social responsibility and a political challenge. Within the context of resource limitation, the consumption of primarily carnivorous species produced by fisheries (25) or aquaculture is widely challenged. The current shift to a plant-based diet in carnivorous farmed fish may have a deleterious effect during the first stages of adaptation, and selection may be an effective tool to rapidly improve survival, growth and welfare at critical stages. The availability of products for animal feed will be a central issue in the coming years, and the challenge will be to adapt farmed fish to less standardized diets, with the increased use of plant-based materials. It should be noted that the components of the experimental PB diet were carefully chosen here for their high nutritional value and digestibility, but some of them cannot be considered as sustainable substitutes. Competition for land use and cultivation of some of the terrestrial plant-based products will raise economic, environmental and social challenges. Regardless of whether the ability of fish to adapt to plant-based diets through selection can be further improved, the ability to adapt to diets containing local and/or less sought-after products is the next important question that must be addressed. By combining new plant-based diets that are both environmentally friendly and adapted to fish nutritional requirements with breeding programs designed to enhance the ability of fish to use these alternative feed-stuffs, it would be possible to improve fish welfare and to ease the transition towards a more sustainable aquaculture production.

References and Notes

1. R. Svanbäck, L. Persson, Individual diet specialization, niche width and population dynamics: implications for trophic polymorphisms. J. Anim. Ecol. 73, 973-982 (2004).

2. R. Knudsen, R. Primicerio, P.-A. Amundsen, A. Klemetsen, Incipient speciation through niche expansion: an example from the Arctic charr in a subarctic lake. J. Anim. Ecol. 79, 161-168 (2010).

3. R. Svanbäck, D.I. Bolnick, Intraspecific competition drives increased resource use diversity within a natural population. Proc. R. Soc. London Ser. B 274, 839-844 (2007).

4. M.A. Purnell, M.A. Bell, D.C. Baines, P.J.B. Hart, M.P. Travis, Correlated evolution and dietary change in fossil stickleback. Science 317, 1887 (2007).

5. F. Luca, G. H. Perry, A. Di Rienzo, Evolutionary adaptations to dietary changes. Annu. Rev. Nutr. 30, 291-314 (2010).

6. G. H. Perry et al., Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. Nature Genet. 39, 1256-1260 (2007).

7. C. J. E. Ingram, C. A. Mulcare, Y. Itan, M. G. Thomas, D. M. Swallow, Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. Hum. Genet. 124, 579-591 (2009).

8. A. Helgason et al., Refining the impact of TCF7L2 gene variants on type 2 diabetes and adaptive evolution. Nature Genet. 39, 218-225 (2007).

9. T. N. Kristensen, J. Overgaard, V. Loeschcke, D. Mayntz, Dietary protein content

affects evolution for body size, body fat and viability in *Drosophila melanogaster*. Biology Letters 7, 269-272 (2010).

10. V. H. Nielsen, I. R. Korsgaard, Effects of selection for growth on normal and reduced protein diets on weight gain, feed intake, feed efficiency and body composition in mice. J. Anim. Breed. Genet. 123, 362-368 (2006).

11. D. Pauly et al., Towards sustainability in world fisheries. Nature 418, 689-695 (2002).

12. A. G. J. Tacon, M. Metian, Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture 285, 146-158 (2008).

13. Food and Agriculture Organization (FAO), The State of the World Fisheries and Aquaculture 2008 (Rome, Italy, 2008).

14. R. L. Naylor et al., Feeding aquaculture in an era of finite resources. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106, 15103 -15110 (2009).

15. G. M. Turchini, B. E. Torstensen, W.-K. Ng, Fish oil replacement in finfish nutrition. Rev. Aquaculture 1, 10-57 (2009).

16. S. Panserat et al., Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. Aquaculture 294, 123-131 (2009).

17. D. Montero, M. S. Izquierdo, in Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds, G. M. Turchini, W. K. Ng, D. R. Tocher, Eds. (CRC Press, USA, 2010), pp. 439-485.

18. J. M. Blanc, Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac. Res. 33, 563-568 (2002).

19. L. R. Pierce et al., Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype x diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 278, 37-42 (2008).

20. M. Dupont-Nivet et al., Evidence of genotype-diet interactions in the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clones to a diet with or without fishmeal at early growth. Aquaculture 295, 15-21 (2009).

21. C. D. Quinton, A. Kause, J. Koskela, O. Ritola, Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. Genet. Sel. Evol. 39, 431 (2007).

22. Materials and methods are available as supporting material on Science Online.

23. NRC (National Research Council), Ed., Nutrition requirements of fish (National Academy Press, Washington D.C., USA, 2011).

24. Le Boucher et al., Plant-based diet in trout (*O. mykiss*): are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine vs. plant-based diets from the first meal? Proc. 9th WCGALP (available at http://www.kongressband.de/wcgalp2010/assets/html/0650.htm).

25. D. Pauly, V. Christensen, J. Dalsgaard, R. Froese, F. Torres, Fishing down marine food webs. Science 279, 860 -863 (1998).

26. M. Vandeputte, E. Quillet, B. Chevassus, Early development and survival in brown trout (*Salmo trutta fario* L.): indirect effects of selection for growth rate and estimation of genetic parameters. Aquaculture 204, 435-445 (2002).

Acknowledgements: This work was part of the VEGE-AQUA project. The project received the label of Pôles AQUIMER, Mer Bretagne and Mer PACA and was funded by the French government (FUI) and the Régions Bretagne, Languedoc-Roussillon, Nord-Pas-de Calais and Poitou-Charentes.

Supporting Online Material

Materials and Methods

Tables S1, S2, S3, S4, S5

References (26)

From individual foraging diversity to breeding to adapt to dietary shifts in carnivorous fish farming

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Kerneïs T., Goardon L., Labbé L., Chatain B., Médale F., Quillet E.

Correspondence to: richard.leboucher@jouy.inra.fr

Materials and Methods

SOM Text

Tables S1 to S5

Materials and Methods

Base population

The experimental population was the INRA SY reference strain. It was established about 30 years ago as a panmictic mixture of domestic rainbow trout populations from different origins. It has been maintained from that time without any artificial selection and using large effective numbers of breeders at each generation, and it is expected to contain a large genetic variability. The strain has always been fed with standard commercial diets.

Selected and control breeders

In December 2007, 36 SY dams and 44 SY sires were mated according to a full factorial cross to obtain 15000 juveniles supposedly representing 1584 full-sib families. Young fish were reared for 1 year on river waterflow in INRA experimental facilities (PEIMA, Sizun, France) and fed a diet totally devoid of marine products (PB1, Table S1, Table S2) since the first meal after yolk resorption. Four successive length culling were conducted during the first year of life (67 dpf, days post-fertilization, 203 dpf, 329 dpf, 360 dpf) and approximately half of the fish were discarded each time. Remaining fish after 360 days (488 individuals) were the largest ones among those that survived with the totally plant-based diet. Total selection pressure implemented on the initial population was about 3.25%.

In December 2009, 30 sires and 30 dams were sampled beyond the selected population as selected breeders (S). At the same time, 30 sires and 30 dams were randomly sampled from the SY population as control breeders (C).

Breeders diets

S breeders received a diet totally devoid of marine products (PB1, Table S1 and Table S2) until the last culling (one year old). At that time, no data was available on the effects of any plant-based diet on the reproductive performance of trout. Thus, the diet was shifted to the same commercial diet than C breeders (Le Gouessant, France) in order to prevent any defect of gamete quality potentially associated with the PB diet. This aimed at reducing potential

sources of differences in gamete quality between S and C breeders, and minimizing non genetic parental effects known to affect growth traits in early stages (26).

Experimental crosses

In order to estimate the effects of selection, a selected (S) line and a control (C) line were produced, using two factorial mating design between 30 S sires and 30 S dams, and 30 C sires and 30 C dams respectively (i.e. 900 full-sib families expected in each batch). Eggs (3600) of each batch were randomly sampled. A half of the newborns was fed the plant-based diet (respectively S-PB and C-PB groups) and reared in triplicates (three tanks 600 newborns each) to assess the direct effect of selection on survival and growth performance (Fig. 1). The other half was fed the marine diet (respectively S-M and C-M groups) and reared in triplicates (three tanks 600 newborns each) to check a possible "overall" effect of selection on survival and growth that would be expressed when fish are fed another diet.

Two additional crosses were implemented in order to check possible non genetic maternal effects which may bias the estimates of the direct genetic gain from the comparison of pure lines, especially at early stages. Breeders were the same as previously mentioned. The same day, two fully factorial designs were produced, mating S sires with C dams to produce the SC cross and C sires with S dams to produce the CS cross. The two crosses were managed the same way as pure lines, i.e. 3600 eggs were randomly sampled in each cross and divided in two groups. Newborns of these groups were fed either the plant-based diet (respectively SC-PB and CS-PB groups) or the marine diet (respectively SC-M and CS-M groups) and reared in triplicates (three tanks 600 newborns each). Early growth and survival rate of the two crosses were recorded until 145 dpf.

Experimental diets

Two types of experimental diets were produced in the INRA facilities (Donzacq, France). From the first feeding (41 dpf), M and PB batches were respectively fed the M1 and PB1 diets (Table S1, Table S2). Feed composition was changed to adapt protein and lipid content to the nutritional requirements of larger fish. Diets M2 (236 dpf) and PB2 (280 dpf) were then respectively distributed to M and PB batches until the end of the trial (Table 1, Table S2). Both M diets (M1 and M2) contained fish meal and fish oil as major ingredients. Both PB

diets (PB1 and PB2) were totally devoid of marine ingredients and contained a blend of plant products (Table S1). These products as well as minerals and vitamins premix were chosen to meet rainbow trout requirements in fatty acids and amino acids according to NRC (23). To adjust the content in phospholipids, essential aminoacids and available phosphorus, soy lecithin, lysine and calcium phosphate were added to the PB diets. M and PB diets were formulated to be isoproteic, isolipidic and isoenergetic. Pellet size was adjusted according to mean body weight of fish and rations were automatically distributed.

Survival monitoring

Each tank was seeded with 600 eggs (18 dpf) and fish were individually counted at 60 dpf, 145 dpf, 193 dpf and 291 dpf. Dead fish were daily recorded allowing to estimate fish number in each tank at first feeding (41 dpf). Survival rate (Su) was calculated based on this number.

Growth and biomass

Multiple random samplings (at least 5 per sampling date) of 50 fish per tank were performed about once a month during the first year of life (60 dpf, 102 dpf, 145 dpf, 168 dpf, 193 dpf, 216 dpf, 236 dpf, 291 dpf, 312 dpf, 355 dpf) to estimate the mean body weight (BW in grams) in each of the 12 experimental tanks. At 145 dpf, 193 dpf and 291 dpf, within tank biomass was estimated (Biom = Number of fish x BW).

Weight distribution

At 145 dpf, 193 dpf and 291 dpf, individual body weights were also recorded on more than 100 fish per tank to estimate the within tank coefficient of variation (CV: standard deviation/mean, in %).

Response to selection

Three different gains were estimated for the three traits of interest (Su, BW and Biom).

The direct selection gain for trait X on the PB diet:

$$\text{PB gain (\%)} = 100 \times [X(S\text{-}PB) - X(C\text{-}PB)] / X(C\text{-}PB)$$

The direct selection gain for trait X observed in the M diet, i.e. the non-specific response to selection:

$$\text{M gain (\%)} = 100 \times [X(S\text{-}M) - X(C\text{-}M)] / X(C\text{-}M)$$

The PB-specific gain for trait X, i.e. the specific response to selection for ability to perform when fed the PB diet:

$$\text{PB-specific gain (\%)} = [(X(S\text{-}M) - X(C\text{-}M)) / X(C\text{-}M)] - [(X(S\text{-}PB) - X(C\text{-}PB)) / X(C\text{-}PB)]$$

Statistical analyzes

Estimated BW, CV and Su means were used to assess the significance of diet and line effects as well as interaction between diet and line. All effects were tested with the mixed model (1) (SAS-MIXED, SAS Institute Inc., Cary, NC).

$$Y_{ijk} = \mu + Diet_i + Line_j + Diet*Line_{(i*j)} + e_{ijk} \qquad (1)$$

Where Y_{ijk} is the performance of the tank k, μ is the general mean, $Diet_i$ is the fixed effect of the diet i (M vs. PB), $Line_j$ is the fixed effect of the Line j (S, C or S, C, SC, CS), $Diet*Line_{(i*j)}$ is the interaction between Diet i and Line j and e_{ijk} is the random residual which corresponds to the tank effect. Survival rates (%) were previously arcsine-root transformed. Residuals for BW and Biom departed from normality in this model, which was fixed by logarithmic transformation.

Supporting text

Additional crosses and non genetic maternal effects

Before the first feeding, no differences were observed for survival rate between pure and crossed lines but it was slightly higher in SC-M than in the other groups at 145 dpf. Within-diet comparisons at 145 dpf did not evidence significant differences (model (1), $P>0.05$)

between the CS and SC crosses for BW and Biom (Table S5), infirming the existence of non genetic maternal effect on these traits. Within-line analyzes confirmed a strong effect of the diet (model (1), $P<0.05$).

Water quality and potential impact on response to selection

Throughout the trial, water characteristics (temperature, pH, ions) were surveyed and a veterinary diagnostic was systematically performed in case of unexpected mortality. At the beginning of the summer (210 dpf), iron excess was detected in the river water leading to rapid deterioration of water quality in all tanks.

Consequently, the survival rate suddenly decreased in M groups. This situation was temporary, cleared after a month and should be considered as a crisis. Main hypothesis to explain this phenomenon came from higher density (kg/m^3) in these groups. During this period, survival rates respectively decreased from 11.5 % and 15.6 % in C-M and S-M (based on the fish number at first feeding). Both groups were affected in the same way and no significant difference was seen between groups (model (1), $P>0.05$). Then, PB-specific gain estimation for survival rate was not impacted.

Following this crisis, the growth rates decreased in all groups except C-PB. It led to the temporary diminution of the PB-specific gain for BW and the loss of significance of the diet*line interaction (Table S3, dpf 291). This significance moved back at the end of the crisis which did not lead to PB-specific gain over-estimation.

Diets	M1	M2	PB1	PB2
Ingredients (g/kg)				
Fishmeal	692	623	0	0
Maize gluten	0	0	250	170
Soybean meal	0	0	208	200
Wheat gluten	0	0	239	250
Extruded wheat	187	240	0	50
White lupin	0	0	70	57
Extruded dehulled pea	0	0	0	30
Fish oil	81	97	0	0
Rapeseed oil	0	0	62	62
Linseed oil	0	0	37	37
Palm oil	0	0	24	24
Soya lecithin	0	0	20	20
L-Lysine	0	0	15	15
L-Arginine	0	0	0	10
$CaHPO_4.2H_20$ (18%P)	0	0	35	35
Binder	20	20	20	20
Min. Premix	10	10	10	10
Vit. Premix	10	10	10	10
Composition				
Crude Protein (% dry matter)	54.6	47.1	50.5	44.8
Lipids (% dry matter)	15.6	22.8	16.2	23.3
Energy (kJ/g dry matter)	22.5	23.5	23.2	23.6

Table S1. Ingredients and proximal composition of the experimental diets

Diets	M1	M2	PB1	PB2
10 : 0	1.87	-	1.31	-
14 : 0	8.15	8.14	0.30	0.21
15 : 0	0.49	0.44	0.04	0.03
16 : 0	16.71	16.20	14.18	12.71
17 : 0	0.40	0.45	0.07	0.15
18 : 0	2.32	2.76	2.53	2.63
20 : 0	0.14	0.13	0.30	0.34
16 : 1	8.23	7.75	0.26	0.16
18 : 1	11.55	10.52	37.88	38.69
20 : 1	3.60	1.71	0.66	0.67
22 : 1	5.10	2.33	0.20	0.24
16 : 2n-4	1.37	1.50	0.02	-
16 : 3n-4	1.53	2.08	0.06	0.05
16 : 4n-1	2.07	3.43	-	-
18 : 2n-6	2.54	1.67	22.72	21.67
20 : 4n-6	0.74	0.82	-	-
22 : 2n-6	0.23	0.33	0.21	0.22
18 : 3n-3	0.96	0.79	17.87	20.13
18 : 4n-3	2.65	3.13	0.02	-
20 : 4n-3	0.61	0.64	-	-
20 : 5n-3	12.88	16.38	0.15	-
21 : 5n-3	0.53	0.20	-	-
22 : 5n-3	1.35	1.74	-	-
22 : 6n-3	9.34	10.11	0.07	-
Sum	28.42	32.99	18.11	20.13

Table S2. Fatty acid composition of the experimental diets (g/100g fatty acid)

Trait	Dpf	C-M	C-PB	S-M	S-PB	Diet	Line	Diet*Line
BW	60	0.3±0.0	0.2±0.0	0.4±0.0	0.2±0.0	0.0001	0.0001	0.2131
BW	102	2.0±0.0	0.9±0.0	2.4±0.0	1.2±0.0	0.0001	0.0001	0.0791
BW	145	6.9±0.1	3.4±0.1	8.3±0.1	4.6±0.1	0.0001	0.0001	0.0098
BW	168	14.8±0.2	7.1±0.2	17.2±0.2	9.4±0.2	0.0001	0.0001	0.0014
BW	193	30.9±0.5	12.8±0.5	34.4±0.5	16.6±0.5	0.0005	0.0001	0.0482
BW	216	59.3±0.9	25.3±0.9	65.5±0.9	31.9±0.9	0.0001	0.0001	0.0097
BW	236	78.8±2.3	37.7±2.3	86.2±2.3	47.6±2.3	0.0006	0.0001	0.0377
BW	291	188.8±5.4	91.0±5.4	203.5±5.4	107.6±5.4	0.0033	0.0001	0.1588
BW	312	292.2±7.8	137.2±7.8	310.4±7.9	161.6±7.8	0.0040	0.0001	0.1106
BW	355	526.2±10.9	225.1±10.9	546.3±10.9	260.5±10.9	0.0107	0.0001	0.0898
Su	145	91.5±0.9	66.9±0.9	90.3±0.9	77.0±0.9	0.0001	0.0027	0.0003
Su	193	91.1±1.1	64.9±1.1	90.0±1.1	75.3±1.1	0.0001	0.0098	0.0019
Su	291	75.4±3.1	55.8±3.1	70.1±3.1	67.6±3.1	0.0064	0.3397	0.0254
Biom	145	3.5±0.0	1.3±0.0	4.1±0.0	2.0±0.0	0.0001	0.0001	0.0008
Biom	193	15.6±0.2	4.6±0.2	17.1±0.2	6.9±0.2	0.0001	0.0001	0.0007
Biom	291	78.7±4.6	28.1±4.6	79.1±4.6	40.2±4.6	0.0001	0.0202	0.0190
CV	145	26.8±1.3	37.8±1.3	24.1±1.3	28.9±1.3	0.0022	0.0003	0.0460
CV	193	28.0±0.8	40.0±0.8	24.2±0.8	33.6±0.8	0.0002	0.0001	0.1374
CV	291	25.9±1.9	42.5±1.9	23.5±1.9	35.4±1.9	0.0338	0.0001	0.2497

Table S3. Ls-means of body weight (BW in grams), survival rate (Su in %), biomass (Biom in kg) and coefficient of variation (CV, in %) for ten dates, in days post-fertilization (dpf). Standard-errors are indicated after each value as well as significance of diet effect (Diet), line effect (Line) and the interaction between diet and line (Diet*Line).

Trait	dpf	Gain M	Gain PB	PB-specific gain
BW	60	9.2 %	21.4 %	12.2 %
BW	102	20.0 %	33.3 %	13.3 %
BW	145	20.3 %	35.3 %	15.0 %
BW	168	16.2 %	32.4 %	16.2 %
BW	193	11.3 %	29.7 %	18.4 %
BW	216	10.5 %	26.1 %	15.6 %
BW	236	9.4 %	26.3 %	16.9 %
BW	291	7.8 %	18.2 %	10.5 %
BW	312	6.2 %	17.8 %	11.6 %
BW	355	3.8 %	15.7 %	11.9 %
Su	145	0 %a	15.1 %	15.1 %
Su	193	0 % a	16.2 %	16.2 %
Su	291	0 % a	21.1 %	21.1 %
Biom	145	19.0 %	54.4 %	35.4 %
Biom	193	10.0 %	50.1 %	40.1 %
Biom	291	0.2 %	43.2 %	43.0 %

Table S4. Observed gain (%) for body weight (BW), survival rate (Su) and total biomass (Biom) between selected and control lines fed on M (Gain M) or PB (Gain PB) diet. PB-specific gain is the difference between the two gains.

Trait	Dpf	C-M	C-PB	S-M	S-PB	CS-M	SC-M	CS-PB	SC-PB
BW	145	6.9±0.1a	3.4±0.1b	8.3±0.1c	4.6±0.1d	7.5±0.1c	7.9±0.1c	4.0±0.1e	4.0±0.1e
Su	145	91.5±1.1a	66.9±1.1b	90.3±1.1a	77.0±1.1c	91.5±1.1a	93.7±1.1d	77.9±1.1c	74.8±1.1c
Biom	145	3.5±0.0a	1.3±0.0b	4.1±0.0c	2.0±0.0d	3.8±0.0c	4.1±0.0c	1.7±0.0e	1.6±0.0e

Table S5. Ls-means of body weight (BW in grams), survival rate (Su in %) and biomass (Biom in kg) after 145 days post-fertilization (dpf). Standard-errors are indicated after each value and different superscript letters mean values are significantly different (P<0.05, model (1)).

Eléments de discussion

Principaux résultats

Le taux de survie des poissons nourris avec un aliment entièrement d'origine végétale est amélioré dès la première mesure chez la lignée sélectionnée (77,0 %) par rapport à la lignée témoin (66,9 %). L'amélioration est également visible sur le poids (+ 35 %) ainsi que sur la biomasse produite (+ 54,4 %) tandis que des gains plus faibles sont observés entre la lignée sélectionnée et la lignée témoin nourries avec un aliment contenant des produits d'origine marine. Ceci permet de montrer qu'une partie des gains obtenus chez la lignée sélectionnée était spécifique à une meilleure survie/croissance sur aliment d'origine 100 % végétale. Enfin, l'évaluation de la variabilité du poids au sein de chaque bassin montre que la sélection a amélioré l'homogénéité des lots nourris avec PB (CV: 35,4 % chez la lignée sélectionnée contre 42,5 % chez la lignée témoin).

La sélection confirme les résultats obtenus sur l'IGA

L'existence d'une faible IGA démontrée dans l'essai précédent (4-3) est ici confirmée par la mise en évidence d'un gain de croissance spécifique à l'aliment PB. En effet, en l'absence d'IGA, la lignée sélectionnée aurait affiché un écart de performance avec la lignée témoin indépendant de l'aliment. Ici, le gain spécifique est visible (réponse réalisée, **Figure 23**) confirmant qu'il existe une IGA. La pression de sélection a été exercée sequentiellement sur les candidats dès les stades précoces en supprimant approximativement la moitié la plus petite du lot à chaque fois (67 dpf, 203 dpf, 329 dpf, 360 dpf). Or l'essai 4-3 tendait à montrer que l'IGA était plus forte durant ces stades précoces.

Nous avons utilisé les estimations d'h^2 du poids chez des individus nourris avec PB, avec M et la corrélation génétique entre les deux lots obtenus dans l'essai précédent (4-3), pour prédire la réponse à la sélection expérimentale du présent essai. Nous avons simulé les gains attendus lorsque les géniteurs sont nourris avec l'aliment PB et les descendants avec l'aliment PB ou avec l'aliment M (réponse estimée, **Figure 23**). Les données disponibles ne permettent que de simuler une pression exercée entièrement à 217 g. Si l'on compare ces estimations à la réponse à la sélection réalisée, on constate que les valeurs sont proches. La sélection réalisée ayant été pratiquée dès les stades précoces, il est normal que l'on retrouve une IGA réalisée très légèrement plus élevée que l'IGA estimée.

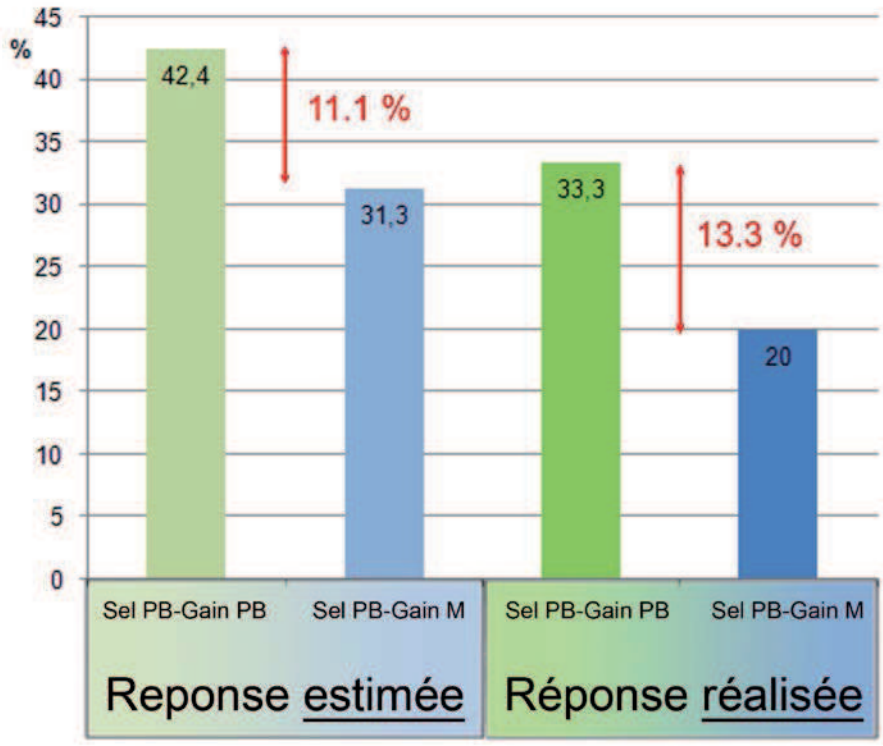


Figure 23. Réponses estimées et réalisée (%) pour une sélection sur le poids lorsque les individus sont nourris avec un aliment entièrement d'origine végétale. La réponse estimée est basée sur une sélection d'individus de 217g en utilisant les héritabilités estimées à des poids similaires et la corrélation génétique entre aliments à poids similaires. La réponse réalisée correspond à une sélection séquentielle entre 1g et 225 g (essai présenté dans ce chapitre).

Les phases précoces au cœur de l'effet phénotypique et du gain génétique

L'observation des taux de survie précoces dans chacune des lignées indique que l'aliment PB entraîne une augmentation des mortalités 30 jours après le début de l'alimentation (**Figure 24**). Associé au fort effet de l'aliment sur le poids dès la première mesure, ces résultats montrent l'importance critique des jours correspondant aux premières prises alimentaires. Ils expliquent probablement en grande partie les différences observées en fin d'essai et des travaux complémentaires sont indispensables pour identifier les processus en cause chez ces stades précoces.

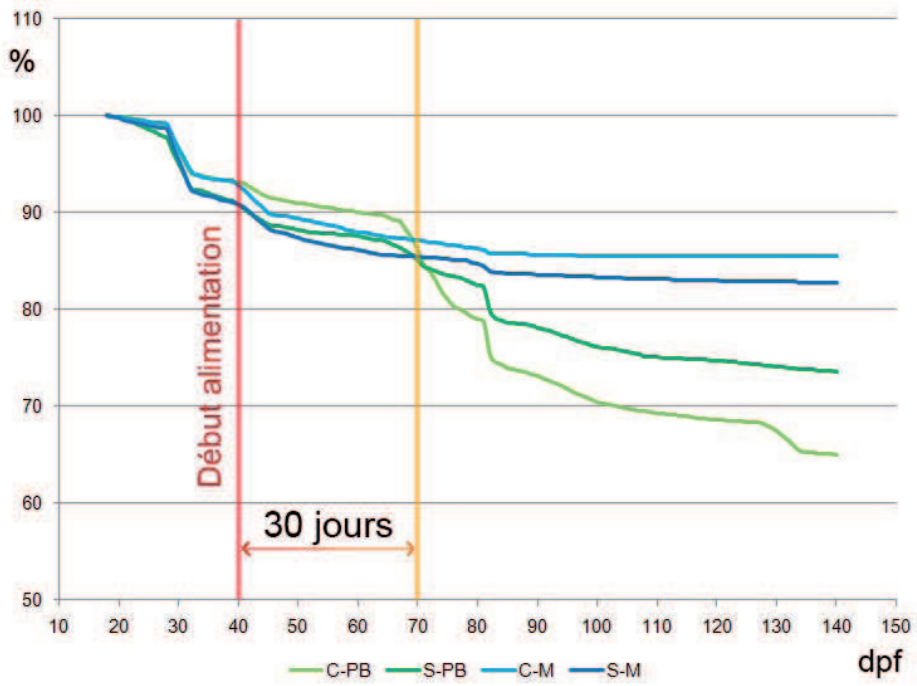


Figure 24. Taux de survie (%) durant les premiers stades pour les lignées sélectionnée (S) et témoin (C) nourries avec l'aliment PB (S-PB et C-PB) ou l'aliment M (S-M et C-M).

Si les gains obtenus sont importants, les questions sur l'origine de ces gains subsistent. C'est la raison pour laquelle un suivi de la consommation de chacun des lots a été réalisé afin de rechercher l'origine possible des différences de croissance entre les lots: meilleure efficacité alimentaire, meilleur ingéré, meilleure rétention en nutriments, en acides gras. L'étude a duré deux mois sur le site expérimental de la Peima et fait l'objet du chapitre suivant.

5-2) Etude des réponses corrélées à la sélection chez la truite arc-en-ciel : conséquences sur l'utilisation de l'aliment

L'enjeu est de caractériser plus finement la lignée sélectionnée pour les aspects liés à l'utilisation de l'aliment. Pour ce faire, les poissons sont maintenus dans les mêmes unités d'élevage que pour l'essai précédent, mais les quantités d'aliment distribué et non ingéré sont mesurées afin d'estimer l'efficacité alimentaire (EA) pour chaque bassin. L'EA est un critère essentiel en élevage et en sélection (3-1-1) mais la mesure de ce caractère nécessite un suivi régulier et précis de l'ingéré de chaque bassin. Au début et à la fin de la période de mesure, un échantillon de poissons (2 x 5 poissons par bassin) est prélevé pour mesurer la composition corporelle et estimer les taux de rétention (énergie, protéines, lipides, AG) en regard de la quantité d'aliment effectivement consommée.

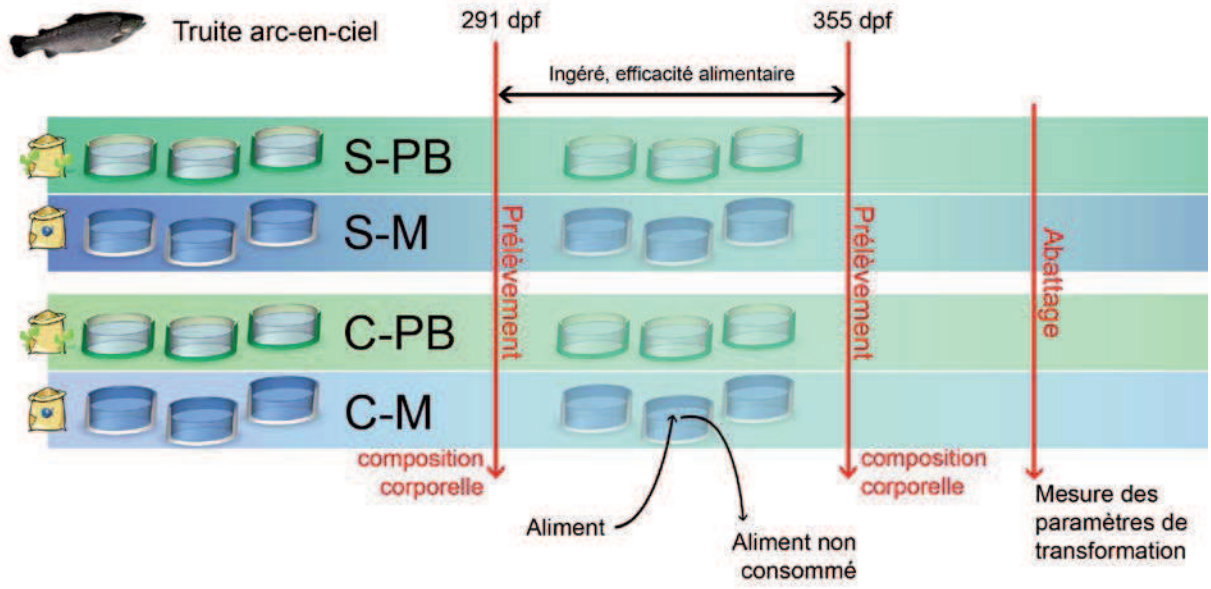


Figure 25. Schéma expérimental de l'essai déstiné à l'estimation de l'efficacité alimentaire, des rétentions nutritionnelles et des paramètres de transformation pour les lots issus de la lignée sélectionnée (S) pour l'aptitude à grandir et à survivre en utilisant un aliment entièrement d'origine végétale (PB) et de la lignée témoin (C) nourris avec l'aliment PB (S-PB et C-PB) ou avec un aliment contenant des produits d'origine marine (S-M et S-M).

Les compositions en AG, très dépendantes des apports alimentaires, ont été mesurées au début (291 dpf) et à la fin (355 dpf) de l'essai ainsi que les rétentions relatives de chacun de ces AG. Pour compléter ces mesures, une méthodologie développée récemment (Turchini et

al., 2007) et basée sur les équilibres de réaction connus du métabolime lipidique a été utilisée. Elle permet de comptabiliser les AG synthétisés, catabolysés et transformés ainsi que l'activité globale des mécanismes d'oxydation, de désaturation et d'élongation.

Afin de vérifier l'impact potentiel de la sélection sur les rétentions protéiques et énergétiques, les mesures correspondantes ont été réalisées en début et en fin d'essai. Enfin, les caractères de transformation ont été mesurés sur chacun des lots pour évaluer l'impact de la sélection sur les rendements en carcasse, viscères, tête et filet.

Rainbow trout selected for their ability to grow on a totally plant-based diet: consequences on feed efficiency and fatty acid metabolic pathways

Le Boucher R.,[1,2,3] Dupont-Nivet M.,[1] Vandeputte M.,[1,2,3] Kaushik S.,[4] Lecalvez J.M.,[5] Goardon L.,[5] Chatain B.,[2] Quillet E.,[1] Médale F.[4]

[1] INRA, UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas, France

[2] Ifremer, F-34250 Palavas-les-Flots, France

[3] AgroParisTech, UMR1313 GABI, F-75231 Paris 05, France

[4] INRA, UMR1067 NuAGe Nutrition, Aquaculture et Génomique, F-64310 St Pée-sur-Nivelle, France

[5] INRA, UE 937 PEIMA, F-29450 Sizun, France

To whom correspondence should be addressed : R. Le Boucher, INRA, GABI, bat 231, F-78350 Jouy-en-Josas, France, 33 (0)1 34 65 29 76, fax : 33 (0)1 34 65 23 90, email : richard.leboucher@jouy.inra.fr

Manuscrit

Abstract

Terrestrial plant products are now commonly used in salmonids feed in order to reduce reliance on fish oil and fish meal from wild stocks. This evolution raised new concerns about feed efficiency and nutritional quality of farmed fish. We recently selected a rainbow trout (O. mykiss) line for its ability to grow and survive on a totally plant-based diet and a control line was also available. In this study, we compared the two lines fed either a plant-based diet totally devoid of marine resources (PB) or a diet containing marine products (M). Objective was to analyze consequences of the selection on traits related to feed utilization, fatty acid retention and processing on the first generation. Feed efficiency was slightly improved ($P<0.05$) in selected line (1.04) fed PB diet compared to control line (1.00) as well as lipid deposition for docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) which are of great interest in human nutrition. When fed M diet, selected line showed a lower feed efficiency than control one. Use of whole-body fatty-acid-balance calculations showed that lipid oxidation was improved, which confirmed links between ability to cope with plant-based diet and lipid metabolism. Results obtained here need to be confirm in the next generation of selection.

Introduction

Fish meal and fish oil issued from wild fisheries had long been the main raw materials used in the formulation of fish feed. Simultaneous increase of aquaculture production and limitations in wild stocks forced feed manufacturers to incorporate alternative sources in aquaculture feed. Terrestrial plant-based products are some of the most used as available volumes are important. When proportion of fish meal (FM) and fish oil (FO) in Atlantic salmon (*Salmo salar*) diets respectively decreased from 24 % and 16 % in 1995 to 45 % and 25 % in 2007 (Naylor et al., 2009), the use of plant-based and vegetable oils became global. In rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), it has been evidenced that partial replacement of FM (FMr) does not lead to growth reduction (Kaushik et al., 1995, FMr: 100%; Gomes et al., 1995, FMr: 100%; Médale et al., 1998, FMr: 75%; Pierce et al., 2008, FMr: 94%). Similar conclusions were observed for FO replacement (FOr) (Figeiredo-Silva et al., 2005, FOr: 80%; Alves Martins et al., 2006, FOr: 83%; Richard et al., 2006a, FOr: 100%). Some works also showed that simultaneous replacement of FM and FO in the diet can be done with no impact on fish growth (Caballero et al., 2002, FMr: 53%, FOr: 80%; Fonseca-Madrigal et al., 2005,

FMr: 55%, FOr: 100% Oo et al., 2007, FMr: 81%, FOr: 79%; Stone et al., 2011, FMr: 56%, FOr: 100%; Trushenki et al., 2011, FMr: 76%, FOr: 50%).

However, use of plant-based products in the diets of salmonids still raised two stakes. The first one is the decrease of nutritional value due to the modification of fatty acid (FA) profile. Indeed, benefits of n-3 long-chain poly-unsaturated fatty acids (n-3 LC-PUFA), particularly eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) for human health are now well reported (Ruxton et al., 2005) and aquatic products are the main source of such essential fatty acids (EFA) in the human food (Ackman, 2000; Harris, 2007). But oils issued from plant-based products do not contain these FA (Corraze et Kaushik, 2009) and fillet FA composition is known to reflect FA composition of the dietary oil (Bell et al., 2003; Richard et al., 2006a, 2006b). This is also why FO replacement with plant-based products commonly lead to decrease of n-3 LC-PUFA in the fillet (Bell et al., 2003; Kaushik et Corraze, 2004; Richard et al., 2006a). This is the reason why lipid metabolism pathways have been deeply studied in the last years in salmonids as biosynthesis of 22:6n-3 from linolenic acid (18:3n-3) is possible in these species. Linoleic acid, available in plant-based feedstuffs, could be efficiently converted in DHA through desaturation and elongation. However, the abundance of dietary 22:6n-3 had apparently rendered dormant the effective utilization of the n-3 biosynthetic capability (Turchini and Francis, 2009). The second stake is that high substitution rates still lead to depressed performance (Panserat et al., 2009, FMr: 100 %, FOr: 100 %; Le Boucher et al., 2011, FMr: 100 %, FOr: 100 %) and could impair health (Montero and Izquidero, 2010).

In this context, breeding programs recently focused on the use of plant-based diets to know whether 1) genetic improvement could be made using plant-based diets 2) genotype by diet interaction could impact the efficiency of breeding programmes initially conducted on marine diets. Several studies evidenced genetic variability for some traits in this context. Blanc (2002) and Palti et al. (2006) concluded that genetic variability for growth and body weight exists in rainbow trout in case of partial substitution (FOr: 11.4%, FMr: 87%). Pierce et al. (2008) and Quinton et al. (2007a) respectively found moderate heritabilities for growth (0.31±0.07) on rainbow trout (FOr: 37.2%, FMr: 93.7%) and for individual daily gain (0.32±0.14) on European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) (FOr: 0%, FMr: 73.3%). Finally, lipid and protein compositions were also shown to be moderately and low heritable (0.12-0.22 and 0.05-0.07) in European whitefish fed soybean meal-based diet (Quinton et al., 2007b). To

verify if genetic gain can be attempted in rainbow trout, a sequential upward selection was initiated for the ability to grow and survive on a totally plant-based diet. Genetic variability for both traits was clearly evidenced and strong progress was obtained for survival rate (+15.1%), body weight (+35.3%) and total biomass (+54.4%). (Le Boucher et al., submitted). It is now important to understand the origins of this progress as well as the consequences on feeding and quality traits. In the present study, we propose to analyze correlated traits that have been modified after one generation of selection focusing on 1) feed efficiency, 2) whole body composition, 3) FA retention and lipid metabolism and 4) processing traits.

Materials and methods

Mating design

As described in Le Boucher et al. (not published), a selected (S) line of rainbow trout was issued from breeders selected for their ability to grow and to survive when fed a totally plant-based diet (PB1). Final pressure implemented on population was about 3.25%. Sires (30) and dams (30) were randomly sampled beyond remaining fish and were fully crossed to obtain 15000 juveniles supposedly representing 900 full-sib families. After hatching, 3600 newborns were randomly sampled. A half of them was fed the plant-based diet (S-PB) and the other half was fed the marine diet (S-M). All groups were triplicated (3 tanks of 600 fry each).

A control (C) line was issued from breeders randomly selected beyond an unselected and dimly inbred population, maintained by INRA since 11 generations and fed on a commercial diet (Le Gouessant, France). Dams (30) and sires (30) were randomly selected beyond this population and fully crossed to obtain 15000 juveniles supposedly representing 900 full-sib families. After hatching, 3600 newborns were randomly sampled. A half of them was fed the plant-based diet (C-PB) and the other half was fed the marine diet (C-M). All groups were reared in triplicates (3 tanks 600 fry each).

Experimental diets

Experimental diets were produced in the INRA facilities (Donzacq, France). From the first feeding (41 dpf), M and PB batches were respectively fed the M1 and PB1 diets (Table 1). At 236 dpf and 280 dpf, diets were switched to M2 and PB2 until the end of the trial

(Table 1, Table 2). In these latter diets, composition was changed to adapt protein and lipid content to the nutritional requirements of larger fish. Both M diets contained fish meal and fish oil as major ingredients. Both PB diets (PB1 and PB2) were totally devoid of marine ingredients and contained a blend of plant products (Table 1). The choice of these products was done to reach fish needs in fatty acids and amino acids. To adjust the content in phospholipids, essential aminoacids and available phosphorus, soy lecithin, lysine and calcium phosphate were added to the PB diets. M and PB diets were formulated to be isoproteic (44-55 %), isolipidic (12-24 %) and isoenergetic (22-24 $kJ.g^{-1}$) and contained minerals and vitamins premix to meet rainbow trout requirements according to NRC (1993). Pellet size was adjusted according to mean body weight of fish.

Feeding trial

We began the feeding trial at 291 days post fertilization (dpf). Mean body weight (BW) of batches were respectively 190.8 g (C-M), 93.9 g (C-PB), 206.7 g (S-M) and 107.6 g (S-PB). Fish were anaesthetized (phenoxyethanol, 300 ppm), counted and 182.6±18.6 fish were individually weighed in each tank. Fish density in each group were then respectively 5.8±0.3 kg/m3(C-M), 3.5±0.3 kg/m3 (C-PB), 6.3±0.5 kg/m3 (S-M) and 4.0±0.2 kg/m3 (S-PB). The experiment was conducted under natural light and temperature was daily monitored (13.9°C ± 2.2). Part of the ration was distributed and remaining part was delivered with self-feeder. During 64 days, fish were maintained in 12 tanks (5.4 m3) on river water and their consumptions (NI, net intake $kg.fish^{-1}$) were recorded. Rations were adjusted for biomass differences according to expected growth and ad libitum consumption. Remaining pellets were collected after each distribution, corresponding unfed and consumption were weekly estimated. At 312 and 335 dpf, fish were individually weighed and mature male were removed as their growth is known to be strongly impaired (Dupont-Nivet et al., 2010). At 354 days, fish were anaesthetized (phenoxyethanol, 300 ppm), counted and 100 fish were individually weighed in each tank.

Data collection

To estimate growth, daily body weight gain (BWG, in $g.fish^{-1}.day^{-1}$) and thermal-unit growth coefficient (TGC) were calculated (Dumas et al., 2007):

$$TGC_n = \frac{BW_n^{(1/3)} - BW_0^{(1/3)}}{\sum_{i=0}^{n} T_i}$$

Where n (=1, 2, …) is the day number recorded from BW=BW_0, BW_n is the fish body weight (g) on day n, T_i (°C) is daily temperature.

Daily dry feed intake (DFI, in $g.BW^{-1}.day^{-1}$) and feed efficiency (FE) were calculated. Residual feed intake (RFI) was calculated as the difference between the observed intake and the intake predicted from a bioenergetic model (Silverstein et al., 2005). This expected intake was estimated based on the multiple regression of FI on $BW^{0.8}$ and BWG.

Proximate and fatty acid analyses

On the first (291 dpf) and the last (354 dpf) day of the experiment, two samples of 5 fish were taken in each tank. They were weighed, frozen and stored at -20°C pending analysis. Chemical composition and lipid analysis were performed on whole fish samples and experimental diets. Dry matter content (DM%) was measured after drying at 105 °C for 24 h and protein content (PT%, in % of DM) by the Kjeldahl method. Total lipid was extracted accorded to Folch et al. (1957). Fatty acid compositions (FAcomp, in mg.g $lipid^{-1}$) were determined on the total lipid extract (Lip%, in % of DM) with prior preparation of methyl-esther. Extraction, purification and identification using gas chromatography were previously described in Richard et al. (2006). Gross energy (Ener%, in % of DM) of the samples was measured after combustion in an adiabatic bomb calorimeter. Retention rates for lipid (LipRet), protein (PtRet), energy (EnerRet) and each FA were calculated based on the ration between production during the period (Final quantity- initial quantity) and net intake of the compound. To estimate FA metabolism, Turchini et al. (2007) developed a method using FA-balance computations based on the individual concentrations of FA in the diet, faeces, initial and final whole body, expressed in mg per fish. Method was successfully used in Francis et al. (2007) and Turchini et al. (2009) and used in this study (Turchini, personal communication) without digestibility data. After 354 days, 50 fish were randomly sampled in each batch and slaughtered with a lethal dose of phenoxyethanol. Then, BW, standard length (SL), condition factor ($K=(BW/ SL^3)*100$), carcass, viscera, head, one fillet and liver were weighed and the corresponding yields were calculated (CarcY, ViscY, HeadY, FilY, HSI, for hepato-somatic

index) as % of body weight. Fat content of the fillet (FAT) was also estimated using Distell Fish Fat-Meter (Douirin et al., 1998; Quillet et al., 2005).

Statistical analysis

All traits were analyzed in the following mixed model (SAS-MIXED, SAS Institute Inc., Cary, NC):

$$Y_{ijk} = \mu + Diet_i + Strain_j + Diet * Strain_{i*j} + e_{ijk} \qquad (1)$$

Where Y_{ijk} is the performance in the tank k, μ is the general mean, $Diet_i$ is the fixed effect of the diet i (M vs PB), $Strain_j$ is the fixed effect of the strain j (selected vs control), $Diet*Strain_{i*j}$ is the interaction between diet i and strain j and e_{ijk} is the random residual which corresponds to the tank effect.

For chemical composition traits (MS%, Pt%, Lip%, Ener%, FAcomp), analyses were duplicated and replicate effect was added into the model. Preliminary analyses showed that FAcomp, K, CarcY, ViscY, HeadY and FAT were influenced by the weight of the fish and they were therefore analyzed with BW as a covariate. In both models, when the interaction between diets and lines was significant, tests were performed independently within each diet to focus on lines comparison.

Results

Table 1.Ingredients and proximal composition (% of dry matter, DM) of the experimental diets

Diets	**M1**	**M2**	**PB1**	**PB2**
Ingredients (g/kg)				
Fishmeal	692	623	0	0
Maize gluten	0	0	250	170
Soybean meal	0	0	208	200
Wheat gluten	0	0	239	250
Extruded wheat	187	240	0	50
White lupin	0	0	70	57
Extruded dehulled pea	0	0	0	30
Fish oil	81	97	0	0
Rapeseed oil	0	0	62	62
Linseed oil	0	0	37	37
Palm oil	0	0	24	24
Soya lecithin	0	0	20	20
L-Lysine	0	0	15	15
L-Arginine	0	0	0	10
$CaHPO_4.2H_20$ (18%P)	0	0	35	35
Binder	20	20	20	20
Min. Premix	10	10	10	10
Vit. Premix	10	10	10	10
Composition				
Crude Protein (% DM)	54.6	47.1	50.5	44.8
Lipids (% DM)	15.6	22.8	16.2	23.3
Energy (kJ/g DM)	22.5	23.5	23.2	23.6

Table 2. Fatty acid composition of the experimental diets (g.100g^{-1} fatty acid)

Diets	M1	M2	PB1	PB2
10:0	1.45	-	1.31	-
12:0	0.11	0.15	0.08	0.06
14:0	8.15	8.14	0.30	0.21
15:0	0.49	0.44	0.04	0.03
16:0	16.71	16.20	14.18	12.71
17:0	0.40	0.45	0.07	0.15
18:0	2.32	2.76	2.53	2.63
20:0	0.14	0.13	0.30	0.34
Sum	29.77	28.28	18.82	16.12
14:1	0.06	0.08	-	-
15:1	-	-	-	-
16:1	8.23	7.75	0.26	0.16
17:1	0.07	0.05	0.05	0.05
18:1	11.55	10.52	37.88	38.69
20:1	3.60	1.71	0.66	0.67
22:1	5.10	2.33	0.21	0.24
n-1 Sum	28.61	22.44	39.05	39.81
16:2 n-4	1.37	1.50	0.02	-
16:3 n-4	1.53	2.08	0.06	0.05
16:4 n-1	2.07	3.43	-	-
18:2 n-6	2.54	1.67	22.72	21.67
18:3 n-6	0.25	0.25		
20:2 n-6	0.13	0.10	0.05	0.05
20:3 n-6	0.11	0.09		
20:4 n-6	0.74	0.82	-	-
22:2 n-6	0.23	0.33	0.21	0.22
n-6 Sum	4.01	3.27	22.97	21.94
18:3 n-3	0.96	0.79	17.87	20.13
18:4 n-3	2.65	3.13	0.02	-
20:3 n-3	0.08			
20:4 n-3	0.61	0.64	-	-
20:5 n-3	12.88	16.38	0.15	-
21:5 n-3	0.53	0.20	-	-
22:5 n-3	1.35	1.74	-	-
22:6 n-3	9.34	10.11	0.07	-
n-3 Sum	28.42	32.99	18.11	20.13

Since the beginning of the trial (Table 3), fish fed M diet were significantly heavier than fish fed PB diet ($P<0.05$) and S-PB fish were heavier than C-PB fish ($P<0.05$). At the end of the trial (Table 3), differences remained similar and fish fed M and PB diet respectively reached about 536 g and 243 g. Growth rates calculated on the whole period (TGC) indicated that fish fed M diet grew better ($P<0.05$) than fish fed PB diet while no within-diet differences were shown between selected and control lines. The only within-diet difference was evidenced for BW gain as S-PB fish took 2.39 g per day against 2.05 g per day for C-PB fish ($P<0.05$).

Net intake (NI, in kg/fish) was highly dependent on the weight of fish and was always significantly higher in selected line (Table 3). Daily feed intake (DFI, in g/BW of fish/day) was not improved by selection but was significantly lower ($P<0.05$) in selected line (12.96) than control line (13.78) when fed PB diet. Feed efficiency was higher in fish fed M diet but selection effect was contrasted. When fed PB diet, FE was higher in selected line than in control one. On the contrary, when fed M diet, FE was lower in selected line than control one. This tendency was partly confirmed with RFI which was higher in S-M than in C-M but similar between S-PB and C-PB.

Neither diet nor line effects were significant on processing traits after 354 days. CarcY, ViscY, HeadY and FilY were respectively around 88%, 11%, 12% and 31% (Table 3). S-PB fish were thinner (K=1.39) than fish fed M diet but had a similar shape to C-PB ones (K=1.47). Hepato-somatic index was similar in all batches as well as fat content estimated with Fat meter.

Table 3. Least square means ± standard errors in all batches for growth, feed efficiency, and processing traits. Batches are fish fed M diet issued from control (C-M) or selected (S-M) lines and fish fed PB diet issued from control (C-PB) or selected (S-PB) lines. Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05).

	M diet		PB diet		Sel*Diet
	C-M	S-M	C-PB	S-PB	
Growth performance					
Initial weight (g)	191.23±5.37a	203.80±5.37a	91.53±5.37b	108.75±5.37c	n.s.
Final weight (g)	526.24±10.88a	546.28±10.88a	225.11±10.88b	260.51±10.88c	n.s.
TGC	2.57±0.06a	2.52±0.06a	1.71±0.06b	1.81±0.06b	n.s.
BWG (g/fish/day)	5.24±0.32a	5.31±0.24a	2.05±0.13b	2.39±0.16c	n.s.
Feed intake and efficiency					
NI(kg/fish)	40.16±1.00a	44.09±1.00b	24.67±1.00c	27.53±1.00d	n.s.
DFI ($g.BW^{-1}.day^{-1}$)	12.36±0.21a	12.86±0.21a	13.78±0.21b	12.96±0.21a	**
FE	1.25±0.03a	1.16±0.03b	1.00±0.03c	1.04±0.03d	*
RFI	-0.12±0.04a	0.13±0.04b	0.06±0.04c	-0.05±0.04c	***
Processing traits					
SL (mm)	312.14±3.49a	320.06±3.49a	237.7±3.49b	258.75±3.49c	*
K	1.77±0.08ab	1.71±0.08ac	1.47±0.09ac	1.39±0.07c	n.s.
CarcY (%)	87.99±1.00a	88.31±1.10a	87.11±1.20a	87.58±0.91a	n.s.
ViscY (%)	10.36±0.76a	10.02±0.83a	11.66±0.91a	10.97±0.69a	n.s.
HeadY (%)	11.83±0.72a	12.12±0.79a	12.24±0.86a	12.00±0.65a	n.s.
FilY (%)	32.94±0.61a	32.73±0.67a	30.52±0.73a	31.31±0.55a	**
HSY (%)	1.33±0.32a	1.31±0.35a	1.27±0.38a	1.22±0.29a	n.s.
FAT	6.74±1.06a	7.13±1.12a	6.43±1.51a	6.57±.20a	n.s.

TGC for thermal growth rate, BWG for body weight gain, NI for net intake, DFI for daily feed intake, FE for feed efficiency, RFI for residual feediIntake, SL, for standard length, K for condition factor, CarcY for cacrcass yield, ViscY for viscera yield, HeadY for head yield, FilY for filet yield, HSY for hepato-somatic index, FAT for lipid content in the fillet estimated with Fatmeter.

Table 4. Composition of whole fish at the beginning and at the end of 64 days feeding trial and retention during the period for each batch. Traits are dry matter (DM, in%), lipid (Lip%, in %), protein (Pt%, in %), energy (Ener%, in %). Batches are fish fed M diet issued from control (C-M) or selected (S-M) lines and fish fed PB diet issued from control (C-PB) or selected (S-PB) lines. Significance of interaction between diet and line is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when sel*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet				Sel*Diet
	C-M	SE	S-M	SE	C-PB	SE	S-PB	SE	
Initial									
DM%	31.1a	0.4	31.9a	1.3	31.8a	0.2	32.0a	0.6	n.s.
Lip%	12.6a	0.2	12.4a	0.6	15.1a	0.1	15.1a	0.4	n.s.
Pt%	16.6a	0.3	16.9a	0.4	15.2b	0.3	15.2b	0.4	n.s.
Ener%	27.2a	0.6	27.0a	0.3	29.3a	0.7	29.7a	0.1	n.s.
Final									
DM%	33.9a	0.0	34.1a	0.5	34.9a	0.6	35.2a	1.0	n.s.
Lip%	16.4a	0.2	16.0a	0.6	18.5a	0.8	19.0a	1.1	n.s.
Pt%	16.6a	0.4	16.9a	0.1	15.3a	0.5	15.4a	0.1	n.s.
Ener%	27.9a	0.5	28.2a	0.2	30.6a	0.8	30.2a	0.8	n.s.
Retention									
LipRet	100.6a	3.1	91.1a	5.3	89.0a	9.0	97.5a	8.1	n.s.
PtRet	50.5a	2.2	47.5a	2.1	35.6b	2.3	38.0b	1.6	n.s.
EnerRet	28.4a	1.2	28.3a	1.0	29.6a	2.0	29.3a	3.3	n.s.

The whole body lipid, protein and energy contents increased in all batches during the trial (Table 4). No significant difference was observed between batches except protein content in the initial measurement where diet effect was significant. Consequently, protein retention was also the only retention strongly affected by the diet (P<0.01).

Table 5. Initial mean and standard deviation of fatty acid composition (mg.g^{-1} lipid) of fish for control line fed marine diet (C-M), plant-based diet (C-PB) and selected line fed marine diet (S-M), plant-based diet (S-PB). Significance of interaction between diet and line is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when sel*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet				Sel	Diet	Sel*Diet
	C-M	SE	S-M	SE	S-PB	SE	C-PB	SE			
10:0	5.7a	2.2	6.0a	2.4	5.1a	0.5	5.3a	2.6	n.s.	n.s.	n.s.
12:0	0.9a	0.0	1.0a	0.1	0.4a	0.0	0.5a	0.1	n.s.	n.s.	n.s.
14:0	76.3a	2.9	75.7a	2.3	6.5b	0.4	6.6b	0.4	n.s.	***	n.s.
15:0	5.1a	0.2	4.9a	0.2	0.9b	0.0	0.9b	0.0	n.s.	***	n.s.
16:0	193.3a	7.2	187.9ab	2.9	151.5b	2.6	154.6ab	4.2	n.s.	n.s.	n.s.
17:0	3.8a	0.1	4.0a	0.2	1.4b	0.1	1.4b	0.2	n.s.	***	n.s.
18:0	32.6a	0.7	32.0a	0.8	35.7b	1.2	34.2b	0.7	n.s.	***	**
20:0	1.1a	0.1	0.5c	0.2	2.0b	0.1	1.8b	0.2	n.s.	n.s.	***
Saturates	318.7a	10.9	312.0a	4.9	203.5b	3.1	205.3b	3.9	n.s.	***	n.s.
14:1	0.6	0.1	0.6	0.0	-	-	-	-	-	-	-
15:1	-	-	0.6	0.2	-	-	-	-	-	-	-
16:1	89.6a	3.9	88.6a	2.6	23.5b	2.0	24.6b	1.1	n.s.	***	n.s.
17:1	0.5	0.1	-	-	0.4	0.0	0.5	0.1	-	-	-
18:1	160.0a	5.2	155.6a	6.5	391.7b	1.7	380.0b	14.8	n.s.	***	n.s.
20:1	27.4a	1.1	25.5ab	2.3	10.2b	0.8	9.9ab	0.8	n.s.	n.s.	n.s.
22:1	25.0a	2.2	22.6ab	3.4	1.7b	0.2	1.7ab	0.4	n.s.	n.s.	n.s.
MUFA	303.2a	7.4	293.5a	12.3	427.4b	2.3	416.6b	14.8	n.s.	**	n.s.
16:2 n-4	11.7	0.3	12.0	0.5	-	-	-	-	-	-	-
16:3 n-4	11.3a	0.5	11.9a	0.7	0.8b	0.0	0.8b	0.3	n.s.	***	n.s.
16:4 n-1	11.1a	0.6	12.3c	1.2	0.5b	0.1	0.7b	0.4	n.s.	***	n.s.
18:2 n-6	23.9a	0.4	24.1a	0.6	178.6b	3.1	178.0b	2.9	n.s.	***	n.s.
18:3 n-6	1.9a	0.2	1.8a	0.5	12.8b	0.8	13.5b	1.9	n.s.	**	n.s.
20:2 n-6	1.9a	0.1	1.8a	0.2	4.3a	2.0	4.2a	1.9	n.s.	n.s.	n.s.
20:3 n-6	1.7a	0.4	1.7a	0.5	8.4b	0.6	8.8b	1.0	n.s.	***	n.s.
20:4 n-6	7.2a	0.4	7.7a	0.7	5.6a	0.5	5.9a	1.7	n.s.	n.s.	n.s.
22:2 n-6	2.6a	0.3	3.4a	0.7	2.6a	0.3	3.2a	1.3	n.s.	n.s.	n.s.
n-6 PUFA	39.2a	0.9	40.5a	1.2	212.1b	3.3	213.6b	5.6	n.s.	***	n.s.
18:3 n-3	7.5a	0.1	7.7a	0.2	83.4b	1.5	87.2b	1.2	n.s.	***	**
18:4 n-3	17.3a	0.5	18.3a	1.0	25.9a	1.6	28.6a	4.5	n.s.	n.s.	n.s.
20:3 n-3	0.9a	0.1	0.8a	0.1	1.6a	0.2	1.7a	0.2	n.s.	n.s.	n.s.
20:4 n-3	9.1a	0.5	9.2a	0.3	3.6b	0.5	3.9b	0.4	n.s.	**	n.s.
20:5 n-3	84.4a	4.5	90.7a	7.4	5.8b	0.3	6.4b	1.6	n.s.	***	n.s.
21:5 n-3	5.1a	0.4	5.2a	0.2	0.3b	0.1	-	-	n.s.	***	n.s.
22:5 n-3	22.2a	1.3	22.6a	0.9	2.5b	0.2	2.3b	0.2	n.s.	***	n.s.
22:6 n-3	114.4a	7.5	122.2a	7.8	19.1b	0.9	20.0b	3.2	n.s.	***	n.s.
n-3 PUFA	260.8a	13.5	276.8a	15.6	142.3b	2.3	149.8b	8.5	n.s.	**	n.s.

Table 6. Final mean and standard deviation of fatty acid composition (mg.g^{-1} lipid) of fish for control line fed marine diet (C-M), plant-based diet (C-PB) and selected line fed marine diet (S-M), plant-based diet (S-PB). Significance of interaction between diet and line is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when sel*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet				Sel	Diet	Sel*Diet
	C-M	SE	S-M	SE	S-PB	SE	C-PB	SE			
10:0	3.5a	1.4	2.7a	0.6	2.1a	0.5	1.5a	0.3	n.s.	n.s.	n.s.
12:0	0.9a	0.1	0.9ac	0.0	0.4b	0.0	0.4bc	0.0	n.s.	**	n.s.
14:0	70.9a	1.6	70.3a	1.4	5.7b	0.3	5.9b	0.3	n.s.	***	n.s.
15:0	4.5a	0.1	4.4a	0.1	0.7b	0.1	0.7b	0.0	n.s.	***	n.s.
16:0	186.5a	2.8	182.1a	4.7	144.8b	2.2	145.8b	1.7	n.s.	***	n.s.
17:0	3.2a	0.1	3.5c	0.2	1.3b	0.1	1.3b	0.1	*	***	n.s.
18:0	33.3a	1.2	33.5a	0.4	35.8a	0.9	35.3a	1.1	n.s.	n.s.	n.s.
20:0	1.0a	0.1	1.0a	0.1	2.0b	0.1	1.0b	0.1	n.s.	***	n.s.
Saturates	303.9a	3.7	298.4a	5.4	192.8b	1.9	192.8b	2.2	n.s.	***	n.s.
14:1	0.6	0.1	0.6	0.0	-	-	-	-	-	-	-
15:1	0.5	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1	91.8a	1.7	88.4a	3.2	21.3b	1.7	23.2b	1.3	n.s.	***	n.s.
17:1	0.4a	0.1	0.5a	0.1	0.4a	0.1	0.4a	0.0	n.s.	n.s.	n.s.
18:1	164.5a	4.5	159.4a	6.7	407.3b	4.4	405.5b	3.8	n.s.	***	n.s.
20:1	24.3a	0.8	24.1a	0.9	9.4b	0.5	9.7b	0.8	n.s.	***	n.s.
22:1	21.6a	1.0	21.4a	1.4	1.0b	0.3	1.2b	0.1	n.s.	***	n.s.
MUFA	303.8a	5.0	294.3a	9.5	439.5b	6.1	439.9b	3.7	n.s.	**	n.s.
16:2 n-4	11.4	0.3	11.3	0.2	-	-	-	-	-	-	-
16:3 n-4	11.6a	0.5	11.4a	0.2	0.6b	0.2	0.7b	0.1	n.s.	**	n.s.
16:4 n-1	12.3a	0.8	11.9a	0.4	0.5c	0.1	0.4b	0.1	**	***	n.s.
18:2 n-6	20.3a	0.2	20.0a	0.4	170.9b	2.7	167.5b	1.4	n.s.	***	n.s.
18:3 n-6	1.8a	0.1	1.8a	0.2	10.5a	1.3	11.0a	1.4	n.s.	n.s.	n.s.
20:2 n-6	1.7b	0.1	1.7b	0.1	4.6a	0.3	4.6ab	0.5	n.s.	**	n.s.
20:3 n-6	1.5b	0.3	1.8b	0.3	8.5a	1.0	7.8ab	0.6	n.s.	**	n.s.
20:4 n-6	7.4a	0.3	7.6a	0.3	3.5b	0.6	4.6b	0.7	n.s.	n.s.	**
22:2 n-6	2.4a	0.4	2.9a	0.7	2.2a	0.2	2.4a	0.1	n.s.	n.s.	n.s.
n-6 PUFA	35.0a	0.6	35.8a	1.1	200.3b	3.7	197.9b	1.6	n.s.	***	n.s.
18:3 n-3	6.9a	0.1	6.8a	0.2	96.0b	1.1	94.9b	2.7	n.s.	***	n.s.
18:4 n-3	18.2a	0.6	17.8a	0.7	27.4a	3.0	28.5a	2.6	n.s.	n.s.	n.s.
20:3 n-3	0.7a	0.1	0.9a	0.1	2.1b	0.3	1.9b	0.3	n.s.	**	n.s.
20:4 n-3	10.7a	0.5	10.7a	0.4	6.6a	1.4	5.1a	0.9	n.s.	n.s.	n.s.
20:5 n-3	94.7a	1.9	96.2a	4.2	7.1b	0.8	7.5b	0.5	n.s.	***	n.s.
21:5 n-3	5.4a	0.2	5.5a	0.2	-	-	-	-	n.s.	***	n.s.
22:5 n-3	25.8a	1.2	25.8a	0.9	2.9b	0.3	3.1b	0.3	n.s.	***	n.s.
22:6 n-3	118.8a	4.6	123.2a	6.2	17.4b	0.6	18.2b	0.7	n.s.	***	n.s.
n-3 PUFA	281.4a	7.9	286.9a	11.3	159.4b	2.9	159.2b	1.8	n.s.	**	n.s.

Initial and final FA compositions of whole fish are respectively shown in Table 5 and Table 6. Total saturated, monounsaturated, n-6 and n-3 highly unsaturated FA sums were significantly different between fish fed M and PB diet but similar between selected and control lines. The replacement of FO and FM with plant-based products resulted in marked increase in 18:1 18:2n-6 and 18:3n-3 and decrease in 14:0, 16:1, 20:5 n-3, 22:5 n-3 and 22:6 n-3. FA composition of fish body was largely influenced by the FA composition of the diet

(Table 2) and low quantity in EPA and DHA and high quantity of 18:2n-6 and 18:3n-3 of the PB diet was reflected in whole body composition of C-PB and S-PB batches. Statistical tests showed that diet effect was significant (P<0.05) for all FA subclasses (Saturates, MUFA, n-6 PUFA,n-3 PUFA).

Table 7. Net FA deposition means (mg/100 mg of net fatty acid intake) of fish for control line fed marine diet (C-M), plant-based diet (C-PB) and selected line fed marine diet (S-M), plant-based diet (S-PB). Grey boxes indicate absence of FA in the diet. Significance of interaction between diet and line is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when sel*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet				Sel	Diet	Sel*Diet
	C-M	SE	S-M	SE	C-PB	SE	S-PB	SE			
10:0	30.0a	7.5	77.7c	10.8	-4.0b	14.2	8.1bc	3.3	n.s.	***	*
12:0	63.0a	2.1	53.9a	7.8	46.6b	7.3	58.4b	1.3	n.s.	*	**
14:0	85.0a	1.9	76.1a	6.9	234.2b	11.8	250.6b	35.2	n.s.	***	n.s.
15:0	97.3a	1.7	86.9a	6.3	234.2b	9.3	220.0b	40.4	n.s.	***	*
16:0	114.1a	6.1	101.2a	11.6	98.9b	6.6	108.6b	9.9	n.s.	n.s.	*
17:0	68.0a	3.9	67.0a	6.1	70.1a	9.1	77.2a	5.3	n.s.	n.s.	n.s.
18:0	122.6a	7.4	113.0a	11.3	121.3a	8.3	133.2a	14.8	n.s.	n.s.	n.s.
20:0	76.7a	2.7	87.3a	13.2	56.7b	5.7	56.1b	7.5	n.s.	***	n.s.
Saturates	106.1a	4.5	94.4a	10.2	102.9b	6.0	113.4b	10.7	n.s.	n.s.	**
14:1	83.7a	3.8	71.9a	9.8	0.0b	0.0	0.0b	0.0	*	***	*
15:1	8.2a	1.5	-14.8c	5.8	0.0b	0.0	0.0b	0.0	***	***	***
16:1	120.2a	5.4	104.0a	12.8	1210.9b	43.6	1206.0b	226.3	n.s.	***	n.s.
17:1	80.4a	14.6	123.0c	19.0	69.9b	21.2	75.4b	12.4	**	**	*
18:1	159.2a	11.1	139.8a	17.6	96.4b	8.3	104.6b	9.8	n.s.	***	*
20:1	135.6a	5.4	124.8a	4.8	126.5a	7.4	131.1a	20.9	n.s.	n.s.	n.s.
22:1	87.5a	3.0	81.6a	2.2	34.0b	5.8	30.8b	9.1	n.s.	***	n.s.
MUFA	136.4a	7.7	119.9a	13.1	101.1b	8.0	109.1b	10.8	n.s.	***	*
16:2 n-4	76.0a	0.4	67.1c	4.1	0.0b	0.0	0.0b	0.0	***	***	***
16:3 n-4	56.4a	1.8	48.8a	4.2	130.0b	23.2	119.2b	27.9	n.s.	***	n.s.
16:4 n-1	37.4a	2.9	31.1a	3.0	4.0b	3.0	5.3b	0.7	-	-	-
18:2 n-6	113.3a	2.5	99.4c	7.2	66.6b	4.6	75.2b	4.7	n.s.	***	***
18:3 n-6	70.2a	1.6	66.3a	7.3	110.6b	13.3	110.6c	10.7	-	-	-
20:2 n-6	166.5a	17.9	153.3a	9.6	885.4b	174.3	964.2b	276.6	n.s.	***	n.s.
20:3 n-6	164.7a	30.8	180.6a	15.6	83.7b	10.5	102.3c	22.9	-	-	-
20:4 n-6	91.3a	1.3	83.2a	10.8	43.6b	10.8	30.0b	3.5	-	-	-
22:2 n-6	68.8a	13.6	75.1a	33.3	81.1a	20.1	87.9a	14.7	n.s.	n.s.	n.s.
n-6 PUFA	103.0a	2.1	94.2ac	9.3	77.1b	4.5	86.4bc	5.5	n.s.	***	**
18:3 n-3	85.3a	2.9	73.7c	6.3	43.7b	1.9	49.5b	3.5	n.s.	***	***
18:4 n-3	59.8a	2.7	51.1d	4.1	322.5b	30.8	331.3c	19.6	-	-	-
20:3 n-3	6.8a	0.7	9.4ab	0.9	23.0b	4.7	27.4b	8.3	*	*	n.s.
20:4 n-3	179.4a	7.0	162.6a	17.1	66.0b	16.5	95.3b	26.2	-	-	-
20:5 n-3	60.6a	1.1	54.7a	6.7	91.6b	11.3	91.0b	3.6	-	-	-
21:5 n-3	278.3a	6.4	255.8a	22.5	0.0b	0.0	-5.3c	1.8	-	-	-
22:5 n-3	157.5a	4.8	141.8a	10.8	41.5b	3.7	36.5b	8.7	-	-	-
22:6 n-3	119.8a	2.5	111.2a	12.1	196.9b	5.1	197.0c	11.3	-	-	-
n-3 PFA	88.2a	0.7	80.3a	8.6	72.6b	1.7	81.2c	4.00	n.s.	**	**

Based on the fact that PB diet is deficient in some FA, their presence in fish fed PB diet indicated biosynthesis of the FA. They are noted in grey boxes in Table 7 and concerned all n-3 PUFA except 18:3n-3 and 16:4n-1, 18:3n-6, 20:3n-6 and 20:4n-6. FA biosynthesis was positively affected by selection in four cases: 18:3n-6, 20:3n-6, 18:4n-3 and 22:6n-3. For these FA, depositions in fish fed M diet were not affected except for 18:4n-3 which was lower in selected line. In some few cases, deficient dietary FA was recorded in initial fish samples but not in final fish samples and negative values were indicated (Table 7) as a net loss.

Other FA deposition estimates indicated either FA retention (<100 mg/100 mg of net fatty acid intake), or retention and biosynthesis (>100). In all cases, line effect was never significant (P>0.05) but diet effect was always significant (P<0.05) except for four FA: 17:0, 18:0, 20:1, 22:2n-6.

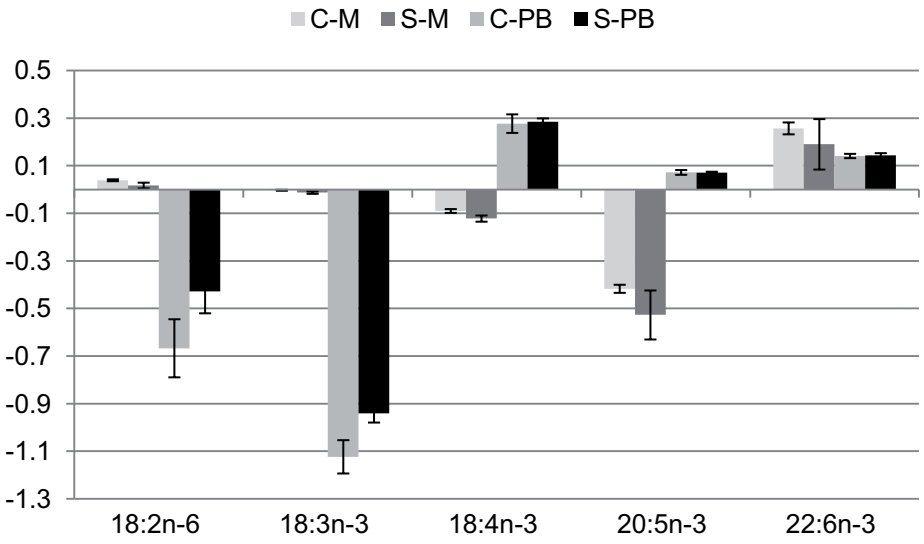


Figure 1. Net appearance (positive values) and disappearance (negative values) of selected FA in rainbow trout (in µmol per g of fish per day) of control line fed marine diet (C-M), plant-based diet (C-PB) and selected line fed marine diet (S-M), plant-based diet (S-PB).

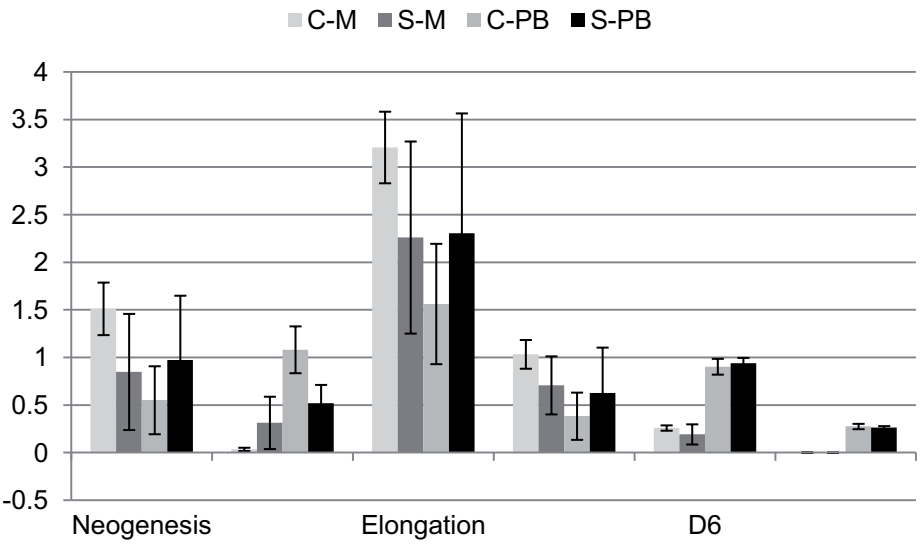


Figure 2. Summary data on different major fatty acid synthesis, degradation and bioconversion pathways (µmol per g of fish per day)

FA-balance computations indicated that diet effect had an impact on net appearance and disappearance of 18:2n-6, 18:3n-3, 18:4n-3, 20:5n-3 and 22:6n-3. Disapearances of 18:2n-6 and 18:3n-3 were also lower ($P<0.05$) in the selected line fed PB diet. This model did not show any difference for FA appearance or disappearance between lines when fish were fed M diet. Total replacement of FM and FO led to an increased activity of D6 and D5 desaturase. Selection had a significant effect on total lipid oxidation and as it was lower in the S-PB batch than in the C-PB batch ($P<0.05$).

Discussion

Diet effet

Total replacement of both FM and FO had an important effect on BW and fish fed PB diet were about the half of fish fed M diet. This effect was stronger than those previously observed with partial replacement but is consistent with results obtained with total replacement (Panserat et al., 2010; Le Boucher et al., 2011). During this period, BW increased 2.7 times in C-M batch and 1.2 times in C-PB batch. TGC were significantly higher in M batches than in PB batches ($P<0.05$), indicating that lower BW in PB batches were partly due to a lower growth. This reduction in growth rate was more severe than previous studies on FM replacement with rainbow trout (Kaushik et al., 1995; Refstie et al., 2000) but in the same

range than in Romarheim et al. (2006). It confirmed that lower BW in PB batches were not only due to an initial growth delay during the days following the first feeding but also to lower growth rates. Feed intake was not impaired by the PB diet ($P>0.05$). However, FE were significantly higher in M batches, as observed in Romerheim et al. (2006). It means that higher BW observed in M batch is partly due to a better FE. When focusing on nutrient utilization, energy and lipid retentions were similar in both diets ($P>0.05$) but protein retentions were significantly higher in M batch (M: 47.5-50.5, PB: 35.6-38.0) as previously observed in rainbow trout (Vilhelmson et al., 2004). The presence of antinutritional factors (Francis et al., 2001) and limited availability of essential amino acids are possible nutritional cause of reduced protein utilization. Moreover, lectins and glycinin found in soybeans are susceptible to cause pathological tissue reactions in distal intestine in salmonids (Burrells et al., 1999; Francis et al., 2001). Dietary proteins and lipids come from several sources and origin of growth difference should be considered as potentially multifactorial. Whole-body protein content was known to be affected by fish size (Reinitz, 1983) but it was only higher in M batch for the initial measurement ($P<0.05$). FA-balance computations confirmed net appearance of 18:4n-3 in fish fed PB diet.

Source of genetic gain

Choice of extremely contrasted diets was made to meet the most drastic environment of selection and look for genetic progress on a complex trait. However, it is also the first time that both replacement of FM and FO is studied in carnivorous fish since the first meal. Breeders of selected line were selected for their ability to grow and to survive on PB diet. After a single generation (3.25 % selection pressure), gain for BW was significant after 291 dpf and specifically linked to the use of PB diet. However, no genetic progress was observed for TGC in the present study, which evidenced that BW gain could be due to cumulative effects of higher growth during the earlier stages or to conservative gain coming from early stages of life. In Le Boucher et al. (not published), early stages were identified as the period of higher genetic gain.

Higher growth in early stages hypothesis could be partly due to the significant gain observed in feed efficiency. S-PB batch used PB diet more efficiently than C-PB batch and the opposite ranking of control and selected line when fish fed M diet evidenced a significant genotype by diet interaction for feed efficiency. This conclusion should be tempered by the

fact that differences were low and calculation of residual feed intake which allowed to compare batches with respect to their respective BW means and evidenced similarity between C-PB and S-PB. The second hypothesis for higher growth which evocate a conservative gain in early stages may also be confirmed as S-PB only grew significantly faster than C-PB batch (respectively TGC=1.24 and TGC=1.1) between 60 and 145 dpf (Le Boucher, not published data). In both cases, this is only the first generation of selection and more studies are needed on feed efficiency in the early stages when fish are fed with challenging diets to know more about mechanisms involved in selection. Whole fish fatty acid composition was not modified by selection. This study evidenced the link between the genetic ability to grow on a totally plant-based diet and the lipid metabolism of rainbow trout. Selection did not improve total lipid retention but modified individual FA retention. S-PB batch ate less than C-B batch for the same growth and differently used dietary FA. Interestingly, the selection for growth slightly improved net efficiency to synthesize DHA (22:6n-3) which is of prior interest in human nutrition. As shown in Turchini et al. (2011), salmonids could be an efficient producer of n-3 LC-PUFA especially when biosynthesis and genes involved are up-regulated after plant-oil feeding (Bell et al., 2003; Leaver et al., 2008; Leaver et al., 2011). Ability to select on FA deposition would raise an innovative way to improve this biosynthesis. Moreover, heritability of n-3 LC-PUFA content in salmon flesh have recently been proven to be higher than for terrestrial livestock (Leaver et al., 2011). Whole-body fatty-acid-balance calculations confirmed that lipid metabolism was globally modified by the selection for ability to cope with PB diet. However, results needed to be confirmed in the next generation. FA oxidation was significantly higher in S-M batch than in C-M batch and is an interesting indication to pursue study on lipid metabolism pathways.

Conclusion

In the present trial, rainbow trout selected for their ability to grow and survive on a totally plant-based diet were studied for their feed utilization and nutrients retention. Diet effect was strong on feed utilization and selection clearly impacted lipid metabolism and slightly improved DHA biosynthesis. In the first generation of selection these results confirmed that breeding program can improve quality traits and feed efficiency in a context of total substitution of FM and FO in the diet.

Acknowledgement

Authors would like to sincerely thank Dr. G. Turchini for advice in whole-body fatty-acid-balance calculations. This work was part of the VEGE-AQUA project. The project received the label of Pôles AQUIMER, Mer Bretagne and Mer PACA and was funded by the French government (FUI) and the Régions Bretagne, Languedoc-Roussillon, Nord-Pas-de Calais and Poitou-Charentes.

References

Ackman R.. (2000) Fatty acids in fish and shellfish. In Chow C.K. (Eds.), Fatty acids in foods and their health implications, 2nd ed., Marcel Dekker, Basel, Switzerland, 153-174.

Bell J.G., McGhee F., Campbell P.J., Sargent J.R. (2003) Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil « wash out ». *Aquaculture* 218, 515-528.

Blanc J.M. (2002) Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac Research* 33, 563-568.

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Kerneïs T., Goardon L., Labbé L., Chatain B., Médale F., Quillet E. From individual foraging diversity to breeding to adapt to dietary shifts in carnivorous fish farming. *not published.*

Burrells C., Williams P.D., Southgate P.J., Crampton V.O. (1999) Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72, 277-288.

Caballero M.J., Obach A., Rosenlund G., Montero D., Gisvold M., Izquierdo M.S. (2002) Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 214, 253-271.

Corraze G., Kaushik S. (2009) Lipid nutrition and fish oil replacement by vegetable oils in pisciculture. *Cah. Agric.* 18, 113-118.

Douirin C., Haffray P., Vallet J., Fauconneau B. (1998) Determination of the lipid content of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets with the Torry Fish Fat Meter (R). *Sciences Des Aliments* 18, 527-535.

Dumas A., France J., Bureau D.P. (2007) Evidence of three growth stanzas in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across life stages and adaptation of the thermal-unit growth coefficient. *Aquaculture* 267, 139-146.

Dupont-Nivet M., Chevassus B., Mauger S., Haffray P., Vandeputte M. (2010) Side effects of sexual maturation on heritability estimates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Res.* 41, e878-e880.

Figueiredo-Silva A., Rocha E., Dias J., Silva P., Rema P., Gomes E., Valente L. (2005) Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquacult. Nutr.* 11, 147-155.

Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological chemistry* 226, 497-509.

Fonseca-Madrigal J., Karazalos V., Campbell P.J., Bell J.G., Tocher D.R. (2005) Influence of dietary palm oil on growth, tissue fatty acid compositions, and fatty acid metabolism in liver and intestine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Nutr.* 11, 241-250.

Francis D.S., Turchini G.M., Jones P.L., De Silva S.S. (2007) Dietary lipid source modulates in vivo fatty acid metabolism in the freshwater fish, Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). *J. Agric. Food Chem* 55, 1582-1591.

Gomes E.F., Rema P., Kaushik S.J. (1995) Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture* 130, 177-186.

Harris W.S., Pottala J.V., Sands S.A., Jones P.G. (2007) Comparison of the effects of fish and fish-oil capsules on the n–3 fatty acid content of blood cells and plasma phospholipids. *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 1621-1625.

Kaushik S.J., Corraze G. (2004) Substitution des huiles de poisson dans les aliments pour poissons. *AquaFilia* 2, 5-9.

Kaushik S.J., Cravedi J.P., Lalles J.P., Sumpter J., Fauconneau B., Laroche M. (1995) Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 133, 257-274.

Leaver M.J., Taggart J.B., Villeneuve L., Bron J.E., Guy D.R., Bishop S.C., Houston R.D., Matika O., Tocher D.R. (2011) Heritability and mechanisms of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid deposition in the flesh of Atlantic salmon. Comp. Biochem. Physiol. *Part D Genomics Proteomics* 6, 62-69.

Leaver M.J., Villeneuve L.A., Obach A., Jensen L., Bron J.E., Tocher D.R., Taggart J.B. (2008) Functional genomics reveals increases in cholesterol biosynthetic genes and highly unsaturated fatty acid biosynthesis after dietary substitution of fish oil with vegetable oils in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genomics* 9, 299.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. (2011) A first insight into genotype × diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1756) in the context of plant-based diet use. *Aquac. Res.* 42, 583-592.

Martins D., Gomes E., Rema P., Dias J., Ozório R.O.A., Valente L.M.P. (2006) Growth, digestibility and nutrient utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles fed different dietary soybean oil levels. *Aquaculture International* 14, 285-295.

Montero D., Izquierdo M.S. (2010) Health and welfare of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil. In Turchini G.M., Ng W.K., Tocher D.R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds., CRC Press, USA, 439-485.

Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin D.M., Goldburg R.J., Hua K., Nichols P.D. (2009) Feeding aquaculture in an era of finite resources. *P. Natl. Acad. Sci.* USA 106, 15103 -15110.

NRC (National Research Council) (1993) Nutrition Requirements of Fish, , Washington D.C., USA. National Academy Press.

Oo A.N., Satoh S., Tsuchida N. (2007) Effect of replacements of fishmeal and fish oil on growth and dioxin contents of rainbow trout. *Fisheries Sci.* 73, 750-759.

Palti Y., Silverstein J., Wieman H., Phillips J., Barrows F., Parsons J. (2006) Evaluation of family growth response to fishmeal and gluten-based diets in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 255, 548-556.

Panserat S., Hortopan G.A., Plagnes-Juan E., Kolditz C., Lansard M., Skiba-Cassy S., Esquerré D., Geurden I., Médale F., Kaushik S. (2009) Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Aquaculture* 294, 123-131.

Pierce L.R., Palti Y., Silverstein J.T., Barrows F.T., Hallerman E.M., Parsons J.E. (2008) Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype × diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 278, 37-42.

Quillet E., Le Guillou S., Aubin J., Fauconneau B. (2005) Two-way selection for muscle lipid content in pan-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 245, 49-61.

Quinton C.D., Kause A., Koskela J., Ritola O. (2007) Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. *Genet. Sel. Evol.* 39, 431.

Quinton C.D., Kause A., Ruohonen K., Koskela J. (2007) Genetic relationships of body composition and feed utilization traits in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and implications for selective breeding in fishmeal- and soybean meal-based diet environments. *J. Anim. Sci.* 85, 3198-3208.

Refstie S., Korsøen Ø.J., Storebakken T., Baeverfjord G., Lein I., Roem A.J. (2000) Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 190, 49-63.

Reinitz G. (1983) Relative effect of age, diet, and feeding rate on the body composition of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 35, 19-27.

Richard N., Kaushik S., Larroquet L., Panserat S., Corraze G. (2006) Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Brit. J. Nutr.* 96, 299-309.

Romarheim O.H., Skrede A., Gao Y., Krogdahl Ã., Denstadli V., Lilleeng E., Storebakken T. (2006) Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 256, 354-364.

Ruxton C.H.S., Calder P.C., Reed S.C., Simpson M.J.A. (2005) The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. *Nutr. Res. Rev.* 18, 113-129.

Silverstein J.T., Hostuttler M., Blemings K.P. (2005) Strain differences in feed efficiency measured as residual feed intake in individually reared rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac. Res.* 36, 704-711.

Stone D.A.., Oliveira A.C.., Ross C.F., Plante S., Smiley S., Bechtel P., Hardy R.W. (2011) The effects of phase-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with canola oil and Alaskan pollock fish oil on fillet fatty acid composition and sensory attributes. *Aquacult. Nutr.* 17, e521-e529.

Trushenski J.T., Blaufuss P., Mulligan B., Laporte J. (2011) Growth performance and tissue fatty acid composition of rainbow trout reared on feeds containing fish oil or equal

blends of fish oil and traditional or novel alternative lipids. *North American Journal of Aquaculture* 73, 194-203.

Turchini G.M., Francis D.S. (2009) Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets. *Br. J. Nutr* 102, 69-81.

Turchini G.M., Francis D.S., De Silva S.S. (2007) A whole body, in vivo, fatty acid balance method to quantify PUFA metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation). *Lipids* 42, 1065-1071.

Turchini G.M., Francis D.S., Keast R.S.J., Sinclair A.J. (2011) Transforming salmonid aquaculture from a consumer to a producer of long chain omega-3 fatty acids. *Food Chemistry* 124, 609-614.

Turchini G.M., Torstensen B.E., Ng W.-K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.

Vilhelmsson O.T., Martin S.A.M., Médale F., Kaushik S.J., Houlihan D.F. (2004) Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Br. J. Nutr.* 92, 71-80.

Eléments de discussion

Principaux résultats

L'efficacité alimentaire des truites issues de la lignée sélectionnée est légèrement améliorée en comparaison à la lignée témoin (P<0,05) lorsqu'elles sont nourries avec l'aliment PB. Dans le même temps, la lignée sélectionnée nourrie avec l'aliment contenant des produits d'orignine marine (M) montre une moins bonne efficacité alimentaire que la lignée témoin (P<0,05). La rétention de certain AG a également été modifiée par la sélection et le dépôt d'acide docosahéxaénoïque (DHA, 22:6n-3) a été légèrement plus important chez les poissons issus de la lignée sélectionnée que chez la lignée témoin (P<0,05). L'utilisation du modèle utilisant les équilibres de conversion des AG indique également que la sélection a augmenté l'oxydation globale des lipides et diminué la disparition nette de 18:2n-6 et de 18:3n-3, confirmant ainsi le lien existant entre une capacité à grandir et survivre en utilisant un aliment 100 % végétal et le métabolisme lipidique.

Des résultats confus sur l'IGA pour l'efficacité alimentaire

L'efficacité alimentaire de la lignée sélectionnée est légèrement supérieure à celle de la lignée témoin lorsque ces lignées sont nourries avec l'aliment PB mais cette différence n'est plus visible lorsqu'on observe l'ingéré résiduel (**Figure 26**, P<0,05). Cependant, avec l'aliment M, c'est la lignée témoin qui a une meilleure efficacité alimentaire par rapport à la lignée sélectionnée. La tendance est confirmée par l'observation de l'ingéré résiduel, la lignée sélectionnée utilise moins bien (P<0,05) l'aliment M (RFI: - 0,12) que la lignée témoin (RFI: + 0,13). Ceci indique que la sélection pour l'aptitude à la survie et à la croissance sur aliment PB n'a pas modifié l'EA pour utiliser l'aliment PB mais a diminué l'EA pour utiliser l'aliment M. La mesure de la réponse à la sélection confirme ici l'hypothèse d'une IGA pour l'EA, dans le cas de la comparaison des aliments M et PB. Cependant le sens de changement de l'EA sur aliment marin est surprenant. Il faudra confirmer ces résultats car il peut s'agir de différences fortuites ou reliées à la dégradation de la qualité de l'eau avant le début de l'essai (voir paragraphe suivant). D'autre part, l'EA étant un caractère aux variations faibles et difficile à mesurer, les résultats des générations ultérieures seront probablement plus nets et plus faciles à interpréter.

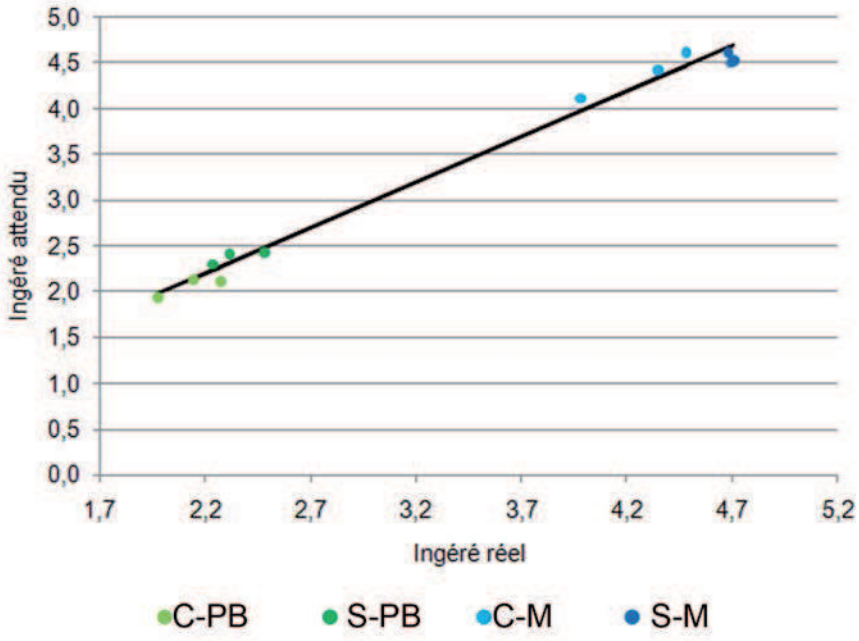


Figure 26. Ingéré attendu en fonction de l'ingéré résiduel chez les lignées sélectionnée (S) et témoin (C) nourries avec l'aliment PB (S-PB et C-PB) et l'aliment M (S-M et C-M). L'écart à la régression représente l'ingéré résiduel (écart entre la droite noire et les points). PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson.

Un incident sanitaire qui complique l'interprétation

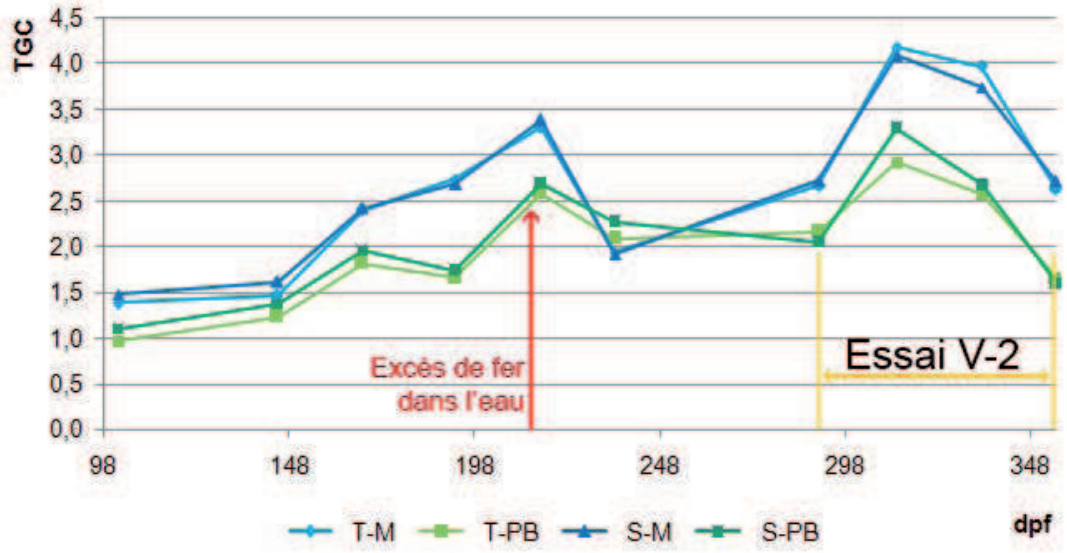


Figure 27. Taux de croissance des lignées sélectionnée (S) et témoin (C) nourries avec l'aliment PB (S-PB et C-PB) ou l'aliment M (S-M et C-M). PB ne contient que des produits d'origine végétale terrestre. M contient de la farine et de l'huile de poisson.

L'excès de fer apparu dans l'eau de la rivière au début de l'été a fortement perturbé les performances des lots quelques semaines avant le début de cet essai. Les lots nourris avec l'aliment M ont été plus fortement atteints : baisse des taux de croissance (**Figure 27**) et de survie. Les taux de croissance ont rapidement retrouvé un niveau similaire à celui observé avant cette crise sanitaire avant de diminuer à nouveau. L'ingéré est, en particulier, faible par rapport à d'autres essais réalisés sur le site expérimental de la Peima. Il est donc probablement risqué de tirer des conclusions sur les capacités de rétention et le comportement alimentaire de la lignée sélectionnée à partir de cet essai. Les compositions corporelles confirment que l'accumulation des différents AG est similaire dans les lots témoin et sélectionné. Cependant, les estimations d'EA et les rétentions calculées ont pu être biaisés par cet épisode de dégradation de la qualité d'eau. De plus, les densités plus élevées (kg/m3) dans les lots M sont une origine possible des perturbations et peuvent également être une source d'erreur. Pourtant, des différences de densités d'élevage lorsqu'elles restent inférieures à 30kg/m3 sont reconnues pour n'avoir que peu d'influence sur la croissance des lots. Aussi, il semble raisonnable de considérer ces résultats comme un essai préliminaire dans l'attente d'une confirmation sur la génération suivante de sélection. En raison des fortes différences de poids, il sera alors essentiel de considérer avec attention les densités d'élevage ainsi que la qualité de l'eau durant la période d'étude.

5-3) Etude préliminaire à la sélection chez le bar européen : Liens entre croissance et utilisation de l'aliment

Afin de compléter l'étude des IGA chez le bar, les individus ayant affiché des performances divergentes de croissance avec les aliments M et PB ont été sélectionnés pour constituer de futurs lots de géniteurs. Cependant, les raisons de ces faibles/fortes croissances chez le bar européen sont inconnues. La sélection pour la croissance a souvent pour effet la sélection d'individus présentant un ingéré élevé. L'objectif de cet essai est de mieux comprendre le comportement alimentaire mais aussi les capacités de conversion des poissons affichant de faible/forte croissance. Aussi, nous avons décidé de ségréger des lots de poissons présentant de faible/fort taux de croissance et de les caractériser afin d'anticiper les effets de la sélection génétique. Les hypothèses suivantes ont été testées : contraste d'efficacité alimentaire, de rétention/biosynthèse des acides gras, d'ingéré, de rétention des nutriments ou de l'énergie.

La mesure de l'efficacité alimentaire chez les poissons est complexe car l'ingéré ne peut être évalué pour un seul individu. Elle nécessite une installation adaptée permettant la mesure de la quantité d'aliments distribuée, de la quantité non consommée et l'isolement visuel et phonique des individus afin de limiter au maximum les perturbations du comportement alimentaire. De plus, la mesure est effectuée sur un lot d'individus que l'on suppose de performances homogènes. Une salle d'élevage de ce type a été développée au sein de la station expérimentale Ifremer de Palavas-les-Flots. Les poissons issus de groupes à faible/forte croissance, futurs géniteurs de la génération de sélection, y ont été transférés pour un essai de 2 mois durant l'été 2010.

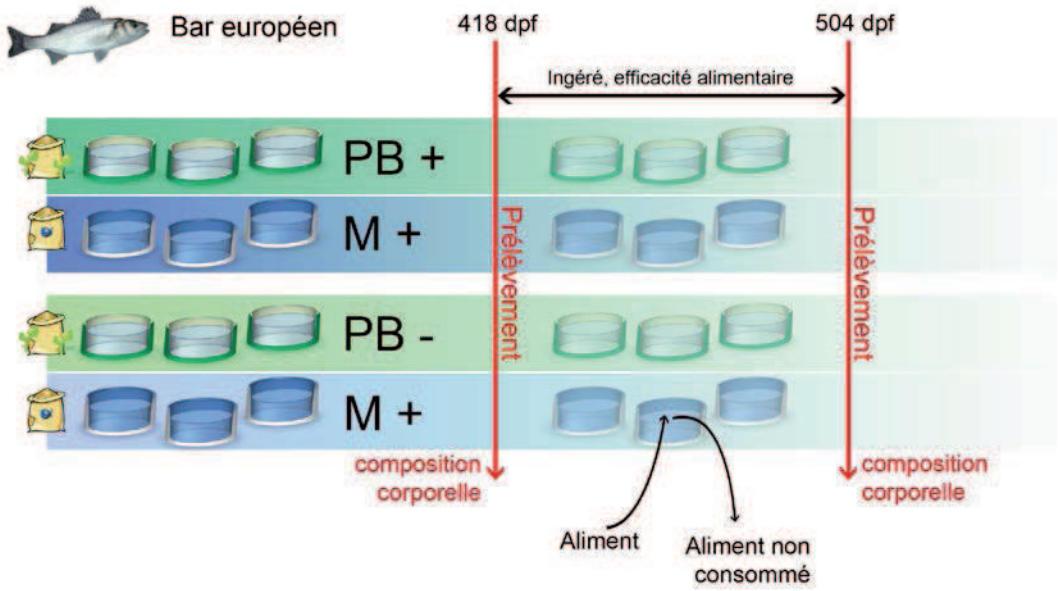


Figure 28. Schéma expérimental de l'essai destiné à l'estimation de l'efficacité alimentaire, des rétentions nutritionnelles pour les lots faible (-) et forte (+) croissance nourris avec un aliment entièrement d'origine végétale (PB- et PB+) ou avec un aliment contenant des produits d'origine marine (M- et M+).

Feed efficiency and metabolic retention of European sea bass with high/low growth on marine/plant-based diet

Le Boucher R.,[1,2,3] Vandeputte M.,[1,2] Dupont-Nivet M.,[1] Kaushik S.,[4] Quillet E.,[1] Vergnet A.,[2] Soriano S.,[2] Médale F.,[4] Chatain B.[2]

[1]INRA, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas

[2] Ifremer, Chemin de Maguelone, F-34250 Palavas-les-Flots, France

[3]AgroParisTech, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-75231 Paris 05

[4] INRA, UMR1067, Laboratoire de Nutrition, Aquaculture et Génomique, F-64310 St Pée-sur-Nivelle, France

Correspondence: R. Le Boucher, Ifremer, Chemin de Maguelone, F-34250 Palavas-les-Flots, France, 33 (0)4 6713 04 25, fax : 33 (0)4 67 13 04 58, E-mail : richard.le.boucher@ifremer.fr

Manuscrit

Abstract

Plant-based products now represent a large part of the raw materials used in aquaculture feed. High substitution rates still lead to depressed performance in marine species. Genetic variability for the ability to grow on totally plant-based diet has been recently evidenced in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). To understand which feeding traits are associated with this specific ability, four groups of European sea bass were selected for their low/high growth when fed a diet containing marine products (M) or a diet totally devoid of marine products (PB). During 86 days, they were reared in triplicates and their feed consumption was recorded. Lipid, protein and energy retention were estimated in each batch and fatty acid (FA) compositions were used to estimate FA retentions. Total replacement of fish meal and fish oil led to lower growth ($P<0.05$), lower feed efficiency ($P<0.05$), lipid retention ($P<0.05$) but did not change protein retention ($P>0.05$). Retentions in n-6 and n-3 poly-unsaturated fatty acids (PUFA) were especially higher in fish fed M diet. During the trial period, growth rates were not significantly different between low and high growth batches and the selected groups did not differ in feed intake nor in residual feed intake ($P<0.05$). These results indicated that growth variability observed in fish fed M and PB diet was not consistent in this trial and could not be associated with better feed or nutrients utilization.

Introduction

Plant based products should now be considered as a major component in aquaculture feeds (Tacon et al., 2008). Increasing replacement of fish meal (FM) and fish oil (FO) by plant-based products has been a clear tendency in the past years (Powell, 2003). Several nutritional studies have identified potential deficiencies that plant-based products can carry. Lower digestibility of carbohydrate (Enes, 2011), presence of anti-nutritional factors in the plant-based meal, intestine pathology associated with soja meal (Burrells et al., 1999 ; Baeverfjord et Krogdahl, 1996) are all sources of potential lower performances. In marine fish, high essential fatty acid (EFA) requirements and especially n-3 long chain highly unsaturated fatty acids (HUFA) requirements (Montero and Izquidero, 2010) are targeted as a privileged hypothesis. Indeed marine fish have a low capacity to bioconvert the vegetable C18 precursors linoleic (LN, 18:2n-6) and linolenic (LNA, 18:3n-3) acids into long chain n-3

HUFA, eicosapentaenoic (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic (DHA, 22:6n-3) (Sargent et al., 1999). At least 0.7% of n-3 long chain HUFA in the feed (% dry matter (DM)) are needed to cover European sea bass juvenile needs (Geay et al., 2011). But oils issued from plant-based products do not contain these FA (Corraze et Kaushik, 2009).

In the same time, genetic variability for the ability to grow on plant based diets has been evidenced in salmonids (Blanc, 2002; Quinton et al., 2007) and recently in European sea bass of a large size (Le Boucher et al., 2011). Heritability for growth traits has also been estimated on younger sea bass (Le Boucher et al, submitted) and evidences that genetic selection on the ability to grow on a totally plant-based diet was possible. To confirm these results, breeders will be selected to produce a line with high ability to grow on such a diet. However, the higher growth of certain individuals may have different origins. Genetic ability to grow fast on plant-based diet could be linked to a better feed intake (FI) or to a higher feed efficiency (FE). The main objective of the present study was to verify if some feeding traits, nutrients and FA retentions could be associated with low/high growth rates when fish were fed a diet containing marine products (M) or a diet totally devoid of marine products (PB).

Material and methods

Experimental diets

Two experimental diets were composed by INRA and processed by Biomar (Norway). M diet contained a blend of fishmeal, corn gluten meal, maize gluten, wheat gluten and extruded wheat as protein sources whereas PB diet contained a blend of corn gluten meal, maize gluten, soybean meal, wheat gluten, extruded wheat and white lupin. M diet contained fish oil (FO 8.5 %) when PB diet only contained linseed oil (LO 9.4 %). Linseed oil is rich in 18:3 n-3 whose incorporation was thus intended to supply high levels of 18:3 n-3 but no long-chain n-3 PUFA such as the EPA or DHA in PB diet. Both diets also contained an attractant mix to increase the palatability (Table 1) which contained only non essential amino acids (alanine, glycine), a physiological amino acid (taurine) and betaine. Diets were isoproteic (44.8-47.1 %), isolipidic (22.8-23.3 %) and isoenergetic (23.5-23.6 %).

Fish husbandry

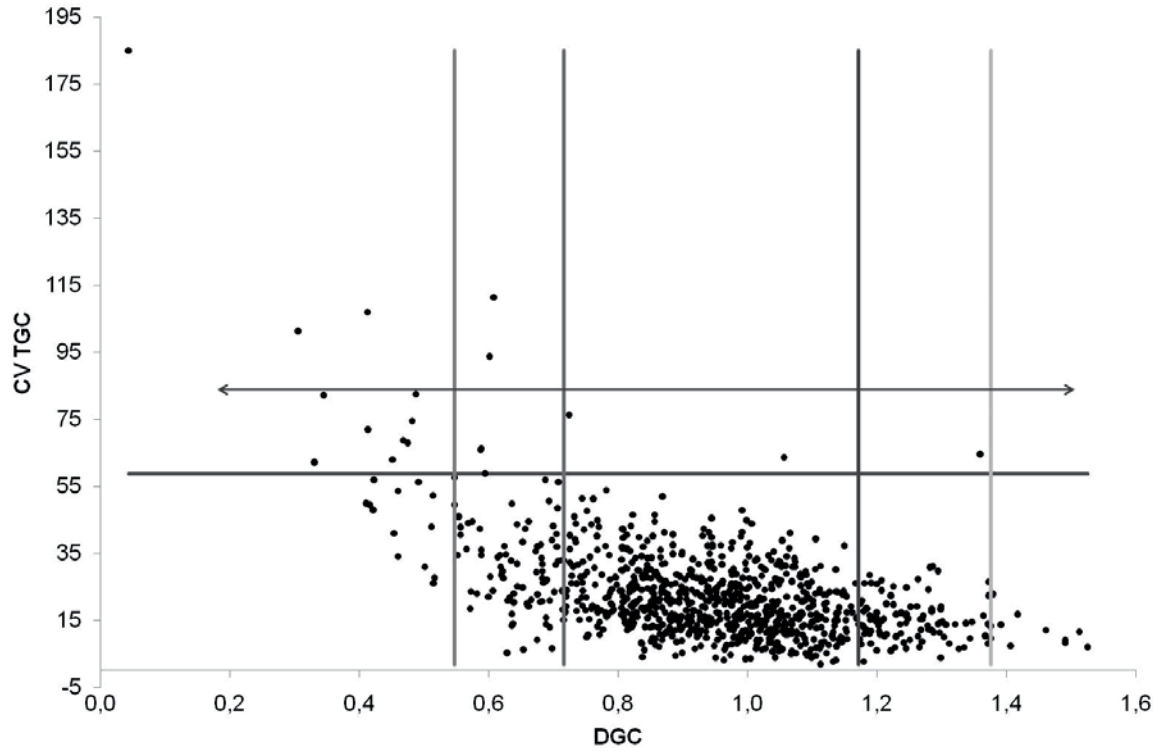
5018 European seabass were reared in Ifremer facilities and were fed on living preys (*Artemia nauplii*) for 40 days then weaned on a commercial diet (Marin Start, Le Gouessant, Lamballe, France). They were then split up into six tanks (1 m^3) and experimental diets were loaded in self-feeders at 87 dpf, M diet in three tanks and PB diet in the three others. Rearing conditions were detailed in Le Boucher et al. (submitted). When they reached approximately 20 g (M (224 dpf): 23.3 ± 8.1 g; PB (266 dpf): 17.9 ± 7.6 g), fish were individually tagged with passive integrative transponder (AEG-Id, Germany). From this date, body weight and standard length were individually measured monthly (dpf 298, 326, 361, 389, 418) and survival was daily monitored.

Selection of batches

At 418 dpf, a double selection criterion was used to create divergent batches. Daily growth rates ((Final body weight - initial body weight)/days) were individually calculated between 298 and 389 dpf (DGC_T). Fish were ranked according to their performance and those presenting highest (1%) and lowest growth (2%) were discarded to respectively avoid selection of weakest or potential cannibal fish. These criteria were applied into each tank (Figure 1) to finally select 8% of lower growers (-) and 10 % of better growers (+). When fed PB diet, fish showing a good growth were called PB+ and fish showing a low growth were called PB-. In the same way, when fed M diet, fish showing a good growth were called M+ and fish showing a low growth were called M-.

In order to discard fish having highly variable growth rates in time, and thus potentially unreliable mean values, a second criterion was applied on the population based on the coefficient of variation for DGC (Figure 1). Individual DGCs have been estimated for short period (DGC_S) (between 298 and 326 dpf, 326 and 361 dpf, 361 and 389) and coefficient of variation was calculated as CV_{DGC} = standard deviation of DGC_S / DGC_S mean. An upper threshold was determined for each tank to discard 2% of fish (Figure 1)

Figure 1. Schema of the selection criteria applied to segregate M-, M+, PB- and PB+ groups. Fish showing highest growth (1%) and lowest growth (2%) were discarded (disc.) as well as fish showing high CV TGC_T (CV+). Example of a tank of fish fed M diet is showed, M- and M+ fish respectively corresponds to (-) and (+) areas.



Feeding trial

At 418 dpf, fish from PB+, PB-, M+ and M- batches were distributed in 12 conical-bottom tanks (1 m^3, 3 replicated tanks per batch) included in a recirculated system. Mean body weights (BW) of batches were respectively 50.4 g ± 3.3 (PB-), 91.7 g ± 0.9 (PB+), 80.6 g ± 5.8 (M-) and 151.2 g ± 7.0 (M+). Temperature was controlled during the trial (20.8 °C ± 0.5) with heat and cold exchangers. Fish density was set to 50 individuals per tank to allow establishment of cohort behavior and reduce competition. Tanks were individually confined and manual activation of mechanic distribution of feed was used during the whole trial. After two weeks of habituation, rations were distributed daily and satiation was considered reached when remaining pellets were observable on the bottom of each tank: to analyze feed intake response, we chose to give the fish the opportunity to refuse feed (Glencross et al., 2007). Remaining pellets were collected after each distribution and corresponding weight was calculated based on previous weighing of dried ones, in such a way that precise estimates of consumption were available weekly on each tank.

Data collection

Prior to stocking in the experimental tanks, fish were individually weighed (BW), measured (standard length, SL). The same procedure was performed at the end of the trial (544 dpf). As it will be described in the discussion, the trial had been stopped sooner than expected due to an increasing mortality rate in PB batch.

To estimate growth, daily body weight gain (BWG, in $g.fish^{-1}.day^{-1}$) and thermal-unit growth coefficient (TGC) were calculated (Dumas et al., 2007):

$$\boldsymbol{TGC_n} = 1000 \text{ x } \frac{\boldsymbol{BW_n^{(1/3)}} - \boldsymbol{BW_0^{(1/3)}}}{\sum_{i=0}^{n} \boldsymbol{T_i}}$$

where n (=1, 2, …) is the day number recorded from $BW=BW_0$, BW_n is the fish body weight (g) on day n, T_i (°C) is daily temperature minus ten.

Daily feed intake (FI, in $g.BW^{-1}.day^{-1}$) and feed efficiency (FE) were calculated. Residual feed intake (RFI) was calculated as the difference between actual and expected intake of a group of individual over a given weight gain interval. This expected intake was estimated based on the multiple regression of FI on $BW^{0.8}$ and BWG (12 data points, one per tank).

Proximate and fatty acid analyses

On the first (459 dpf) and the last (544 dpf) day of the experiment, two samples of five fish were taken in each tank. They were weighed, frozen and stored at -20°C until analyzed. Chemical composition and lipid analysis were performed on whole fish samples and experimental diets. Dry matter content (DM%) was measured after drying at 105 °C for 24 h and protein content (PT%, in % of DM) by the Kjeldahl method. Total lipid was extracted accorded to Folch et al.(1957). Fatty acid compositions (FAcomp, in $mg.g\ lipid^{-1}$) were determined on the total lipid extract (Lip%, in % of DM) with prior preparation of methyl-esther. Extraction, purification and identification using gas chromatography were previously described in Richard et al. (2006). Gross energy (Ener%, in % of DM) of the samples was measured after combustion in an adiabatic bomb calorimeter. Retention rates for lipid (LipRet), protein (PtRet), energy (EnerRet) and each FA were calculated based on the ration

between production during the period (Final quantity- initial quantity) and net intake of the compound.

Statistical analysis

All traits were analyzed in the following mixed model (SAS-MIXED, SAS Institute Inc., Cary, NC):

$$Y_{ijk} = \mu + Diet_i + Group_j + Diet * \text{Group}_{i*j} + e_{ijk} \qquad (1)$$

Where Y_{ijk} is the performance in tank k, μ is the general mean, $Diet_j$ is the fixed effect of the diet i (M *vs.* PB), $Group_j$ is the fixed effect of the group j (high growth *vs.* low growth), $Diet*Group_{i*j}$ is the interaction between Diet i and Group j and e_{ijk} is the random residual which corresponds to the tank effect.

For chemical composition traits (MS%, Pt%, Lip%, Ener%, FAcomp), analyses were duplicated and replicate effect was added into the model. Preliminary analyses showed that FAcomp was influenced by the weight of the fish and they were therefore analyzed with BW as a covariate. In both models, when the interaction between diets and lines was significant, tests were performed independently within each diet to focus on lines comparison.

Results

Table 1.Ingredients and proximal composition (% of dry matter, DM) of the experimental diets

Diets	M	PB
Ingredients (g/kg)		
Fishmeal	380	0
Maize gluten	180	200
Soybean meal	0	182
Wheat gluten	72	180
Extruded wheat	243	72
White lupin	0	140
Fish oil	105	0
Linseed oil	0	124
Soya lecithin	0	10
L-Lysine	0	27
CaHPO4.2$H_2$0 (18%P)	0	30
Binder	0	0
Attractant mix	0	15
Min. Premix	10	10
Vit. Premix	10	10
Composition		
Crude Protein (% DM)	47.1	44.8
Lipids (% DM)	22.8	23.3
Energy (kJ/g DM)	23.5	23.6

***Attractant mix contained (g/kg feed) taurine (3), betaine (3), glycine (2), alanine (2) and glucosamine (5)**

Table 2. Fatty acid composition of the experimental diets (g.100g^{-1} fatty acid)

Diets	M	PB
10:0	5.61	-
12:0	0.89	-
14:0	58.86	2.80
15:0	4.14	0.48
16:0	161.28	89.45
17:0	4.25	1.54
18:0	27.75	31.47
20:0	1.56	2.04
Sum	264.34	127.77
14:1	0.36	-
15:1	-	-
16:1	71.40	3.26
17:1	0.82	-
18:1	114.21	220.38
20:1	22.14	5.55
22:1	29.89	1.94
n-1 Sum	238.82	231.14
16:2 n-4	12.68	-
16:3 n-4	14.33	-
16:4 n-1	21.25	-
18:2 n-6	76.35	221.49
18:3 n-6	2.33	-
20:2 n-6	1.41	-
20:3 n-6	0.86	-
20:4 n-6	7.95	-
22:2 n-6	2.23	-
n-6 Sum	233.34	221.49
18:3 n-3	1.48	399.15
18:4 n-3	26.85	0.54
20:3 n-3	0.96	-
20:4 n-3	6.53	-
20:5 n-3	151.1	3.79
21:5 n-3	6.58	-
22:5 n-3	18.24	-
22:6 n-3	95.92	-
n-3 Sum	320.98	403.48

Table 3. Least square means ± standard errors in all batches for growth, feed efficiency, and processing traits. Batches are fish fed M diet issued from low growth (M-) or high growth (M+) groups and fish fed PB diet issued from low growth (PB-) or high growth (PB+) groups. Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05).

	M diet		PB diet				
	M-	M+	PB-	PB+	Group	Diet	Group*Diet
Growth performance							
Initial weight (g)	80.62±2.82a	151.23±2.82b	50.37±2.82c	91.67±2.82d	**	***	***
Final weight (g)	127.00±5.25a	240.02±5.25b	80.44±5.25c	141.37±5.25d	**	***	***
TGC	0.76±0.08ab	0.85±0.12a	0.67±0.09b	0.75±0.24b	**	**	n.s.
Feed intake and efficiency							
NI(kg/fish)	72.30±6.25a	114.57±16.97b	58.35±1.69c	84.40±5.64d	***	***	**
FI ($g.BW^{-1}.day^{-1}$)	8.26±0.52a	7.91±0.59a	10.15±0.82b	8.11±0.56c	**	*	*
FE	0.64±0.04a	0.64±0.04a	0.43±0.04b	0.50±0.04b	n.s.	***	n.s.
RFI	0.05±0.03a	-0.01±0.03a	-0.03±0.03b	-0.01±0.03b	n.s.	n.s.	***

Growth and feeding traits were summarized in Table 3. Since the first measurement, PB- fish were smaller than M- fish, M- fish were smaller than PB+ fish and PB+ fish were smaller than M+ fish (P<0.05). Differences remained similar at 544 dpf. TGC were not different in groups of low/high growth but it was higher in M+ batch than batches fed PB diet (P<0.05). Within-diet comparisons indicated that FI was significantly higher in PB- batch than in PB+ batch (P<0.05) when there was no difference for this trait between M- and M+ batches (P>0.05).

Table 4. Initial, final composition of whole fish and retention during the period for each batch. Traits are dry matter (DM, in%), lipid (Lip%, in %), protein (Pt%, in %), energy (Ener%, in %). Batches are fish fed M diet issued from low growth (M-) or high growth (M+) groups and fish fed PB diet issued from low growth (PB-) or high growth (PB+) groups. Significance of interaction between diet and group is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when group*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet						
	M-	SE	M+	SE	PB-	SE	PB+	SE	Group	Diet	Group*Diet
Initial											
DM%	35.4ac	1.2	36.7a	0.8	33.4b	0.9	34.9bc	0.6	**	***	n.s.
Lip%	13.2a	1.1	14.9b	0.5	13.1a	1.4	14.4b	0.9	**	n.s.	n.s.
Pt%	17.5a	0.4	17.5a	0.2	16.8b	0.4	16.8b	0.2	n.s.	***	n.s.
Ener%	25.6a	0.5	26.3ab	0.6	25.3ac	1.0	26.3a	0.3	**	n.s.	n.s.
Final											
DM%	35.4ac	0.4	35.5a	2.0	31.2b	3.1	33.4bc	0.7	n.s.	***	n.s.
Lip%	15.2a	1.1	14.7ab	2.1	13.6ac	1.5	13.8a	0.4	n.s.	**	n.s.
Pt%	16.4a	0.6	16.8a	0.2	16.3a	0.2	16.5a	0.5	n.s.	n.s.	n.s.
Ener%	25.5a	0.6	25.6a	0.7	25.0a	2.1	25.2a	0.7	n.s.	n.s.	n.s.
Retention											
LipRet	94.4a	26.7	73.8a	36.9	34.5b	39.9	52.1ab	4.7	n.s.	**	n.s.
PtRet	19.8a	3.3	21.2a	2.3	17.6a	3.0	20.9a	2.2	n.s.	n.s.	n.s.
EnerRet	27.2a	3.6	24.5a	9.2	16.6b	11.3	18.7ab	2.9	n.s.	**	n.s.

In fish fed M diet, only initial lipid content was affected by segregation of low/high growth (P<0.05) when other chemical traits were similar in M- and M+ batches (Table 4). Same conclusion can be made for fish fed PB diet as lipid content was higher in PB+ than in PB- at the beginning of the trial. Diet effect was always significant for DM (P<0.05) but not for energy content. For protein content, diet effect was significant (P<0.05) on the first measurement but not significant in the second one when it was the opposite for lipid content.

Retention rates were not impacted by segregation as lipid, protein and energy retention rates were respectively similar in M- and M+ batches and PB- and PB+ batches (Table 4). Diet effect was significant on lipid and energy retention especially because of low rates in PB- batch.

Table 5. Initial mean fatty acid composition (mg.g^{-1} lipid) of fish for low growth group fed marine diet (M-), plant-based diet (PB-) and high growth group fed marine diet (M+), plant-based diet (PB+). Significance of interaction between diet and group is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when group*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet						
	M-	SE	M+	SE	PB-	SE	PB+	SE	Group	Diet	Group*Diet
10:0	4.6	1.2	3.9	1.2	5.0	1.4	4.0	0.9	n.s.	n.s.	n.s.
12:0	0.6	0.1	0.6	0.1	-	-	-	-	-	-	-
14:0	51.4	3.9	48.9	2.8	7.5	0.4	8.1	0.3	n.s.	**	n.s.
15:0	3.7	0.2	3.4	0.2	1.1	0.1	1.0	0.1	n.s.	**	n.s.
16:0	194.8	4.1	194.3	1.3	112.0	2.3	117.9	2.4	n.s.	***	n.s.
17:0	3.1	0.1	3.1	0.1	1.7	0.2	1.8	0.1	n.s.	*	n.s.
18:0	31.2	1.9	30.6	0.6	39.7	1.5	40.1	3.1	n.s.	n.s.	n.s.
20:0	1.2	0.2	1.3	0.1	1.5	0.1	1.3	0.1	n.s.	n.s.	n.s.
Saturates	290.4	5.7	286.0	4.3	168.4	2.2	174.3	5.7	n.s.	***	n.s.
14:1	0.9	0.0	1.1	0.2	-	-	-	-	-	-	-
16:1	78.6	2.9	78.8	2.3	16.9	1.1	19.5	1.1	n.s.	***	n.s.
17:1	-	-	0.6	0.0	1.8	0.3	1.5	0.2	n.s.	**	n.s.
18:1	237.7	16.5	240.3	9.0	257.1	8.5	272.5	9.0	n.s.	n.s.	n.s.
20:1	29.8	0.5	28.2	1.0	10.6	1.4	10.7	0.5	n.s.	**	n.s.
22:1	19.1	0.7	18.5	1.7	1.2	0.2	1.0	0.1	n.s.	***	n.s.
MUFA	366.2	13.6	367.4	8.7	287.7	9.5	305.2	10.1	n.s.	n.s.	n.s.
16:2 n-4	4.8	3.5	9.2	0.5	-	-	-	-	-	-	-
16:3 n-4	9.4	0.6	9.5	0.4	0.6	0.1	-	-	n.s.	***	n.s.
16:4 n-1	7.3	0.9	7.8	0.4	0.7	0.1	-	-	n.s.	***	n.s.
18:2 n-6	76.8	3.6	72.7	1.2	221.4	4.1	209.4	5.8	n.s.	***	n.s.
18:3 n-6	2.3	0.1	2.3	0.2	5.4	1.3	5.8	0.5	n.s.	***	*
20:2 n-6	3.8	0.2	4.1	0.4	8.3	0.8	8.4	0.6	n.s.	n.s.	n.s.
20:3 n-6	-	-	0.7	0.0	-	-	0.8	0.1	n.s.	n.s.	n.s.
20:4 n-6	5.7	0.4	5.4	0.2	-	-	-	-	-	-	-
22:2 n-6	2.3	0.4	3.0	0.3	1.5	0.5	2.1	0.5	***	n.s.	*
n-6 PUFA	90.9	4.1	89.3	0.9	236.7	3.9	226.3	5.6	n.s.	***	n.s.
18:3 n-3	9.7	0.7	9.5	0.3	281.7	14.2	268.7	7.0	n.s.	***	n.s.
18:4 n-3	14.2	1.3	15.2	0.9	8.6	1.1	9.4	1.1	n.s.	***	n.s.
20:3 n-3	-	-	-	-	2.1	0.5	2.5	0.3	-	-	-
20:4 n-3	4.5	0.3	4.2	0.2	-	-	-	-	-	-	-
20:5 n-3	87.8	5.7	89.5	3.1	3.5	0.7	2.8	0.2	***	n.s.	n.s.
21:5 n-3	3.5	0.5	3.8	0.1	-	-	-	-	-	-	-
22:5 n-3	10.8	1.0	11.4	0.4	-	-	-	-	-	-	-
22:6 n-3	71.6	2.3	72.3	1.5	-	-	-	-	-	-	-
n-3 PUFA	202.3	8.6	105.9	5.7	296.0	12.2	283.4	7.6	n.s.	n.s.	n.s.

Table 6. Final mean fatty acid composition (mg.g^{-1} lipid) of fish for low growth group fed marine diet (M-), plant-based diet (PB-) and high growth group fed marine diet (M+), plant-based diet (PB+). Significance of interaction between diet and group is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when group*diet interaction was significant.**

	M diet				PB diet						
	M-	SE	M+	SE	PB-	SE	PB+	SE	Group	Diet	Group*Diet
10:0	2.5	0.2	4.6	1.7	-	-	-	-	-	-	-
12:0	0.6	0.1	0.6	0.1	-	-	-	-	-	-	-
14:0	45.4	7.9	45.2	3.1	7.3	0.5	7.6	0.9	***	***	***
15:0	3.4	0.4	3.4	0.3	1.1	0.1	0.9	0.1	**	***	*
16:0	179.1	8.5	186.2	6.7	112.9	3.2	115.8	4.0	n.s.	***	n.s.
17:0	3.0	0.1	3.0	0.1	1.9	0.2	2.0	0.2	**	***	n.s.
18:0	30.9	1.7	30.7	0.4	40.0	4.3	38.1	2.0	n.s.	**	n.s.
20:0	1.0	0.6	1.2	0.2	1.3	0.2	1.4	0.2	n.s.	n.s.	***
Saturates	265.8	15.2	274.8	9.2	164.5	7.4	165.8	4.1	n.s.	***	n.s.
14:1	0.9	0.2	1.0	0.1	-	-	-	-	-	-	-
16:1	73.4	5.1	75.7	3.5	10.5	1.6	14.7	3.8	***	***	**
17:1	0.5	0.2	0.5	0.2	1.7	0.1	1.7	0.3	n.s.	**	n.s.
18:1	216.8	13.7	234.5	17.7	258.6	6.6	271.6	7.5	n.s.	**	*
20:1	27.8	1.6	25.1	2.5	9.9	0.2	10.3	0.9	*	***	*
22:1	20.7	1.9	17.3	1.9	1.2	0.4	0.9	0.3	n.s.	n.s.	n.s.
MUFA	340.3	11.9	353.9	17.8	281.8	7.8	299.3	7.4	n.s.	n.s.	*
16:2 n-4	9.4	0.5	4.7	4.1	-	-	-	-	-	-	-
16:3 n-4	9.8	0.4	9.3	0.4	0.5	0.0	-	-	**	***	***
16:4 n-1	9.1	0.5	8.5	0.5	0.9	0.3	0.8	0.2	**	***	***
18:2 n-6	79.1	1.4	74.2	2.9	221.9	6.2	216.0	2.6	n.s.	***	n.s.
18:3 n-6	2.4	0.2	2.2	0.2	6.0	0.4	6.5	0.6	n.s.	n.s.	n.s.
20:2 n-6	4.5	0.3	3.9	0.3	7.5	0.2	7.7	0.8	n.s.	**	n.s.
20:3 n-6	0.9	0.3	-	-	0.8	0.0	0.7	0.1	n.s.	n.s.	n.s.
20:4 n-6	6.2	0.4	5.9	0.5	-	-	-	-	-	-	-
22:2 n-6	3.4	0.1	3.2	0.5	2.8	0.4	-	-	n.s.	n.s.	n.s.
n-6 PUFA	98.5	1.7	90.9	3.3	238.9	5.5	230.9	2.4	n.s.	***	**
18:3 n-3	11.1	0.6	10.2	0.7	272.8	8.7	270.2	6.6	n.s.	***	n.s.
18:4 n-3	17.6	0.8	16.7	0.8	8.4	1.3	9.1	0.4	n.s.	n.s.	n.s.
20:3 n-3	0.7	0.1	-	-	2.1	0.1	1.6	0.5	n.s.	n.s.	n.s.
20:4 n-3	5.1	0.4	4.7	0.5	-	-	-	-	-	-	-
20:5 n-3	102.4	4.4	99.2	7.8	3.1	1.1	2.8	0.6	n.s.	n.s.	n.s.
21:5 n-3	4.7	0.5	4.2	0.4	-	-	-	-	-	-	-
22:5 n-3	14.1	2.1	13.1	1.1	-	-	-	-	-	-	-
22:6 n-3	85.9	9.9	82.2	5.3	3.6	1.2	-	-	n.s.	n.s.	n.s.
n-3 PUFA	241.7	16.7	230.2	16.3	290.1	8.4	283.6	7.4	n.s.	n.s.	n.s.

Initial and final FA composition (Table 5) evidenced a diet effect for saturated FA (P<0.05) but not for monounsaturated FA. Strong diet effect was also recorded for n-6 PUFA which were 230.9 mg.g^{-1} lipid in PB+ batch and only 90.9 mg.g^{-1} lipid in M+ batch. For the initial measurement, except for 20:5n-3, groups of low/high growth did not have any effect on FA composition. For the final measurement (Table 6), the only FA composition affected by

groups of low/high growth was 17:0. Due to multiple tests, this can probably be seen as a statistical artefact.

Table 7. Net FA deposition means (mg/100 mg of net fatty acid intake) of fish for low growth group fed marine diet (M-), plant-based diet (PB-) and high growth group fed marine diet (M+), plant-based diet (PB+). Grey boxes indicate absence of FA in the diet. Significance of interaction between diet and group is indicated (* P<0.01,** P<0.05, * P<0.1, n.s. P>0.1). Different superscript letters indicate significance difference between values (P<0.05) and are based on within-diet comparison when group*diet interaction was significant. Grey parts indicate biosyntheses when FA was absent in the diet.**

	M diet				PB diet						
	M-	SE	M+	SE	PB-	SE	PB+	SE	Sel	Diet	Sel*Diet
10:0	0.7	6.4	77.9	67.6	-41.4a	14.7	-35.5a	10.2	n.s.	**	n.s.
12:0	46.5a	31.4	60.0b	23.2	-	-	-	-	-	-	-
14:0	50.7	26.0	56.9	17.2	168.6	133.7	127.9	49.3	n.s.	***	n.s.
15:0	59.5	22.9	66.2	22.1	122.2	78.4	100.5	34.1	n.s.	**	n.s.
16:0	77.3	24.3	91.0	40.9	74.6	50.9	67.5	7.7	n.s.	n.s.	n.s.
17:0	54.4	15.2	57.2	21.3	89.8	61.3	83.5	24.1	n.s.	*	n.s.
18:0	86.3	35.8	92.2	38.5	68.8	45.1	58.6	5.8	n.s.	n.s.	n.s.
20:0	35.8	75.9	59.7	24.3	24.6	19.3	43.7	30.7	n.s.	n.s.	n.s.
Saturates	69.7	21.1	82.0	32.0	71.0	50.3	62.8	6.6	n.s.	n.s.	n.s.
14:1	166.2	96.4	193.6	66.4	-	-	-	-	-	-	-
16:1	73.6	24.4	83.8	32.6	77.1	194.6	90.6	224.1	n.s.	n.s.	n.s.
17:1	107.9	32.5	3.9	81.6	6.4a	4.3	9.0a	3.6	n.s.	n.s.	n.s.
18:1	129.6	75.8	166.5	104.4	76.0	55.0	67.1	6.5	n.s.	n.s.	n.s.
20:1	88.6	39.2	77.2	45.6	102.2	84.5	93.0	32.8	n.s.	n.s.	n.s.
22:1	58.9	13.1	42.5	20.4	12.5	5.0	24.5	31.6	n.s.	**	n.s.
MUFA	100.4	46.2	117.5	65.4	76.4	57.3	68.2	9.5	n.s.	n.s.	n.s.
16:2 n-4	95.0	17.8	-10.2	54.2	-	-	-	-	-	-	-
16:3 n-4	56.3	15.8	52.1	17.1	1.9a	1.9	0.0a	0.0	n.s.	***	n.s.
16:4 n-1	41.9	10.8	36.2	6.9	4.4a	2.7	10.7a	1.6	n.s.	***	n.s.
18:2 n-6	84.2	24.1	82.3	20.3	57.4	37.9	56.7	6.5	n.s.	**	n.s.
18:3 n-6	86.3	27.7	71.9	33.4	40.9a	31.0	32.4a	6.4	n.s.	**	n.s.
20:2 n-6	293.3	96.5	213.7	133.8	33.3a	29.8	26.3a	12.4	n.s.	***	n.s.
20:3 n-6	173.9	52.8	-93.9	19.1	9.3a	2.3	4.6a	3.3	***	n.s.	***
20:4 n-6	68.0	14.7	68.1	12.7	-	-	-	-	-	-	-
22:2 n-6	168.7	46.3	126.6	75.5	25.9a	11.1	-18.5b	3.9	n.s.	***	n.s.
n-6 PUFA	90.3	23.0	81.5	21.8	63.2	41.5	59.4	6.6	n.s.	*	n.s.
18:3 n-3	67.4	17.8	62.1	9.7	40.0	28.9	37.5	4.1	n.s.	***	n.s.
18:4 n-3	64.0	15.7	57.5	8.7	1159.5	974.0	863.9	200.1	n.s.	***	n.s.
20:3 n-3	137.0a	24.5	0.0b	0.0	13.2c	12.2	-0.5c	6.5	n.s.	***	***
20:4 n-3	69.2	9.0	66.0	15.3	-	-	-	-	-	-	-
20:5 n-3	62.7	9.3	60.7	8.2	16.0	20.5	40.4	22.3	n.s.	**	n.s.
21:5 n-3	73.8	12.0	57.2	16.2	-	-	-	-	-	-	-
22:5 n-3	77.7	15.5	69.2	10.6	-	-	-	-	-	-	-
22:6 n-3	84.8	11.5	81.7	13.5	37.1a	5.1	0.0a	0.0	**	***	**
n-3 PUFA	71.1	9.0	67.1	10.0	42.7	30.3	38.6	4.6	n.s.	***	n.s.

Diet effect was unsignificant (P<0.05) on saturated and monounsaturated FA retentions but significant (P<0.05) on n-6 and n-3 PUFA (Table 7). Main difference came from 18:4n-3 retention which was higher in fish fed PB diet than in fish fed M diet.

Retention rates for FA were not impacted by the groups segregation of low/high growth ($P<0.05$). Within M batches, the main difference came from 20:3n-6, 22:5n-6 and 20:3n-3 retentions which were significantly higher in the M- batch than in the M+ bacth. Within PB batches, 22:2n-6, 16:3n-4 syntheses were higher in PB- batch than in PB+ batch. There was no difference ($P<0.05$) due to groups segregation of low/high growth in eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) retention rates.

Discussion

Total substitution of fish oil (FO) and fish meal (FM) with terrestrial plant-based products has only recently been experienced in European sea bass and led to lower growth and survival rate (Le Boucher et al., submitted). The same work also evidenced that body weight (BW) was more heterogeneous in batches fed PB diet than in batches fed M diet. The origin of such a variability in growth performance when fed PB diet is then a challenging question. In the present study, we aimed at assessing the role of feed intake, feed efficiency, nutrient and FA retention in inter-individual growth differences.

Fish selected for their high growth when fed PB diet grew more slowly than fish fed M diet. TGC were not significantly ($P>0.05$) different between fish selected for their high or low growth rate. However, the small difference observed between these batches was always in advantage to high growth batches. This small but unsignificant difference was only estimated on 86 days of growth and could be the source of gain on a longer period. Trial was planned to continue for 30 more days but the health status of fish fed PB diet was degrading and led to an anticipated termination of the trial.

Prior to the beginning of this trial, growth rate (TGC) of fish fed M and PB diet were similar (M: 1.28 and PB: 1.24, $P>0.05$, Le Boucher et al., submitted). It means that growth rates decreased when fish were transferred in tanks (M: 0.85 and PB: 0.70, $P<0.05$) used in the present feeding trial. Moreover, growth rates of fish fed PB diet were more impacted by the transfer and may bias comparison.

In fish fed M diet, it is difficult to comment the results as feed intake and TGC were similar between groups. Feed efficiency did not seem to be the origin of higher body weight as they were similar in M- and M+ batch. RFI confirmed these results and proved that fish previously selected for their high growth used the feed as efficiently as those selected for low

growth when fed M diet. In fish fed PB diet, FE and RFI were not different between PB- and PB + batches. The higher FI in PB- batch could be due to the slightly lower FE observed in this batch but could not be discussed as TGC were similar in PB- and PB+ bacthes. However, the absence of growth rate difference between batch (PB- and PB+; M- and M+) made interpretation difficult.

The segregation of European sea bass showing the highest growth did not lead to the selection of fish showing the highest FI and/or FE. It would indicate that their high growth is partly due to small effect of these traits but probably mainly to their initial advantage acquired in the earlier stages. One of the results of this study was that the origin of growth rate differences could be sought in the early stages of life.

RFI estimate was a complementary trait which is assumed to be stable through life stages (Crews, 2005). However, it required to estimate expected FI based on body weight gain and FI. In our case, diet effect was strong and led to strong differences in body weight gain and FI. It could have been difficult to estimates model parameters in this context but results obtained with RFI were strongly consistent with those obtained with FE.

In the present study, we did evidence a lower lipid retention in fish fed PB diet contrary to Kaushik et al. (2004) but there was no difference in lipid content at the beginning of the trial. FA whole body composition partly reflects dietary FA and after 331 days fed M diet, fish contained high quantity of eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) when fish fed PB diet contained only a small quantity of these FA. Selection of fish showing low/high growth rates did not have any effect on FA retention but biosyntheses of some FA were affected. 22:2n-6 was produced in fish issued from PB- batch when it was absent in final sampling of fish issued from PB+ batch.

After 497 dpf, FI started to decrease in fish fed PB diet and mortality rate increased fast. Decision was made to stop the trial and fish were observed for 10 days more. Fish were inactive, refuse to eat and did not react to stimulation. After this period, it was decided to give them M diet. Their appetite started to increase and mortality rate stabilized. Previous studies evidenced that changing the concentrations of dietary n-3 PUFA can have both beneficial and detrimental effects on disease resistances (Erdal et al., 1991; Sheldon and Blazer, 1991; Montero et al., 1999, 2003; Mourente et al., 2005). In our case, it seems that patent deficiencies led fish fed PB diet to health deterioration. More studies are necessary to understand the impact of high rates of plant-based products in the diet on health.

Conclusion

Total replacement of fish meal and fish oil led to lower growth, lower feed efficiency, lipid retention but did not change protein retention. Retentions in n-6 and n-3 poly-unsaturated fatty acids (PUFA) were especially higher in fish fed M diet. When fed a totally plant-based diet, European sea bass showed high variability of growth rates. When they reached 459 dpf, no difference for feed intake, feed efficiency on nutrient utilization was evidenced in this study between the fish showing the 10 % highest growth and the fish showing the 8 % lowest growth. Retention rates for FA were not impacted by the segregation of low/high growth, when syntheses of 22:2n-6 and 16:3n-4 were higher in fish chosen for their low growth fed PB diet. It could mean that differences were too small to be detected or that differences observed in the late stages are mainly due to ahead advantages get in the early stages. However, it could also be due to the fact that growth differences evidenced between the groups before the trial were not expressed during the trial.

References

Baeverfjord G., Krogdahl A. (1996) Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *J. Fish Diseases* 19, 375-387.

Blanc J.M. (2002) Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac Research* 33, 563-568.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Ruelle F., Vergnet A., Kaushik S., Chatain B. Strategies for breeding programs in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed totally plant-based diets. *Submitted in Journal of Animal Science*.

Burrells C., Williams P.D., Southgate P.J., Crampton V.O. (1999) Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72, 277-288.

Corraze G., Kaushik S. (2009) Lipid nutrition and fish oil replacement by vegetable oils in pisciculture. *Cah. Agric.* 18, 113-118.

Crews D.H.D. Jr (2005) Genetics of efficient feed utilization and national cattle evaluation: a review. *Genet. Mol. Res.* 4, 152-165.

Dumas A., France J., Bureau D.P. (2007) Evidence of three growth stanzas in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across life stages and adaptation of the thermal-unit growth coefficient. *Aquaculture* 267, 139-146.

Enes P., Panserat S., Kaushik S., Oliva-Teles A. (2011) Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Reviews in Fisheries Science* 19, 201-215.

Erdal J.I., Evensen Ã., Kaurstad O.K., Lillehaug A., Solbakken R., Thorud K. (1991) Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture* 98, 363-379.

Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological chemistry* 226, 497-509.

Geay F. (2011) Effets d'une alimentation végétale sur la biosynthèse des acides gras et le métabolisme du bar européen (*Dicentrarchus labrax*). Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest.

Glencross B.D., Booth M., Allan G.L. (2007) A feed is only as good as its ingredients? a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition* 13, 17-34.

Kaushik S.J., Covès D., Dutto G., Blanc D. (2004) Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 230, 391-404.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. (2011) A first insight into genotype × diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1756) in the context of plant-based diet use. *Aquac. Res.* 42, 583-592.

Montero D., Izquierdo M.S. (2010) Health and welfare of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil. In Turchini G.M., Ng W.K., Tocher D.R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds., CRC Press, USA, 439-485.

Montero D., Blazer V.., Socorro J., Izquierdo M.., Tort L. (1999) Dietary and culture influences on macrophage aggregate parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 179, 523-534.

Montero D., Kalinowski T., Obach A., Robaina L., Tort L., Caballero M.., Izquierdo M.. (2003) Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture* 225, 353-370.

Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Ginés R., Izquierdo M.S. (2005) Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* 248, 121-134.

Mourente G., Good J.E., Bell J.G. (2005) Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E2 and F2alpha, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquacult. Nutr.* 11, 25-40.

Powell K. (2003) Fish farming: Eat your veg. *Nature* 426, 378-379.

Quinton C.D., Kause A., Koskela J., Ritola O. (2007) Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. *Genet Sel Evol* 39, 431.

Richard N., Kaushik S., Larroquet L., Panserat S., Corraze G. (2006) Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Brit. J. Nutr.* 96, 299-309.

Sargent J., Bell G., McEvoy L., Tocher D., Estevez A. (1999) Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191-199.

Sheldon W., Blazer V. (1991) Influence of dietary dipid and demperature on dactericidal activity of channel catfish macrophages. *Journal of Aquatic Animal Health* 3, 87-93.

Tacon A., Metian M. (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146-158.

Eléments de discussion

Principaux résultats

Pour cet essai, les poissons ont été placés dans une salle mise au point pour l'estimation de l'ingéré chez les poissons marins. Elle permet en particulier de masquer l'intervention de l'expérimentateur auquel ces espèces sont sensibles. Cependant, la croissance et l'ingéré enregistrés ont été inférieurs aux estimations connues chez le bar européen. La croissance était aussi nettement inférieure à celle enregistrée dans les phases d'élevage précédentes. Aussi, ces données doivent être considérées avec précaution et la source de cette diminution des paramètres de croissance doit être identifiée.

Pendant les 86 jours de cet essai, le remplacement total des FM et FO a entraîné une plus faible croissance ($P<0,05$), efficacité alimentaire ($P<0,05$), rétention lipidique ($P<0,05$) des lots nourris avec l'aliment PB mais n'a pas modifié la rétention protéique ($P>0,05$). Les taux de rétention en AGPI n-3 et n-6 sont plus élevés chez les poissons nourris avec l'aliment M. Durant cet essai, les taux de croissance (TGC) n'ont pas été différents entre les lots sélectionnés pour leur forte croissance et les lots sélectionnés pour leur faible croissance, et ce, indépendamment de l'aliment distribué. De même, l'efficacité alimentaire (EA) et l'ingéré n'ont pas été modifiés par les taux de croissance contrastés. Si ces résultats sont donc à considérer avec précaution, ils tendent à prouver que les différences de croissance observées dans l'essai précédent (4-2) ne sont pas uniquement dues à des EA ou à des ingérés différents mais aussi à des différences acquises durant les stades plus précoces du cycle de vie.

Une croissance et un ingéré altérés

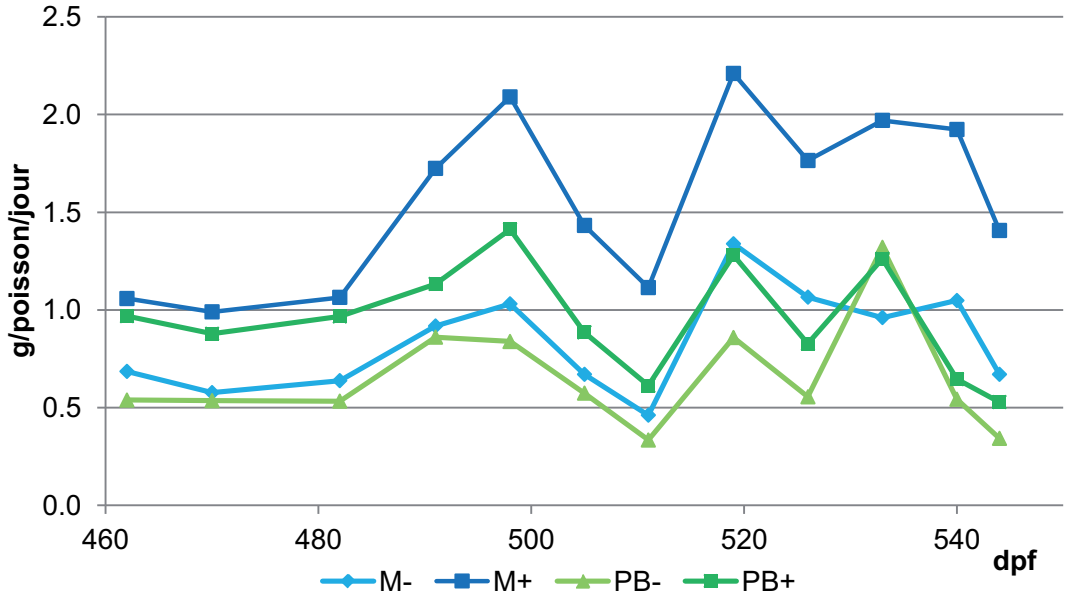


Figure 29. Ingéré des lots (g/poisson/jour) faible et forte croissance respectivement nourris avec un aliment entièrement d'origine végétale (PB-, PB+) et avec un aliment contenant des produits d'origine marine (M-, M+)

La consommation des poissons a fortement varié durant cet essai (**Figure 29**). A partir de 490 dpf, elle a particulièrement baissé dans tous les lots avant de remonter. S'il est courant que les consommations individuelles soient variables dans le temps et alternent entre phases d'ingéré élevé et d'ingéré réduit, la diminution dans tous les lots indiquent une altération globale des conditions d'élevage dans tout le circuit. Le pH, la température ainsi que la saturation en azote ont été contrôlés sans constater d'évolution significative. Une fuite sur une pompe a été décelée lors d'un essai ultérieur dans la même salle. Celle-ci provoquait des sursaturations temporaires en azote qui n'ont pu être détectés, probablement en raison de leur caractère intermittent. Ce phénomène est susceptible d'avoir altéré la croissance et la santé des individus et a rendu difficile l'interprétation des résultats de cet essai.

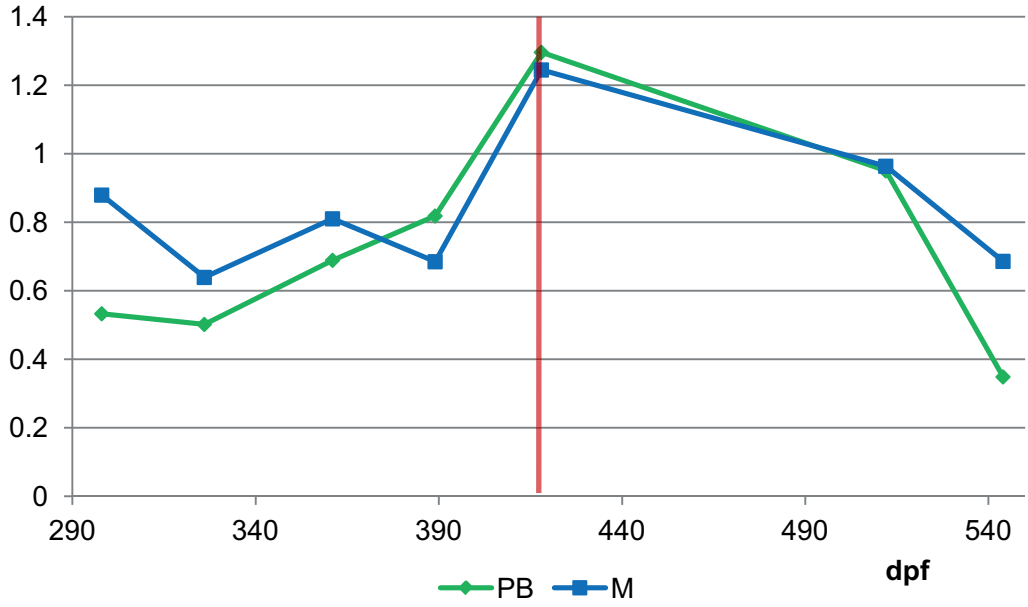


Figure 30. Taux de croissance (TGC) estimés durant le premier (4-2) et le second (5-3) essai réalisés sur le bar européen. La ligne rouge indique la date du transfert dans les bassins destinés à l'estimation de la consommation. Les TGC relatifs au second essai (M et PB) sont obtenus en réalisant respectivement la moyenne entre M- et M+, PB- et PB+.

De même, le suivi des taux de croissance durant la première (4-2) et la seconde (5-3) partie du cycle de vie des individus indiquent clairement que le transfert dans les bassins destinés à mesurer la consommation des lots a entraîné une baisse de la croissance (**Figure 30**).

Des taux de FA dans le filet indépendants des taux de croissance

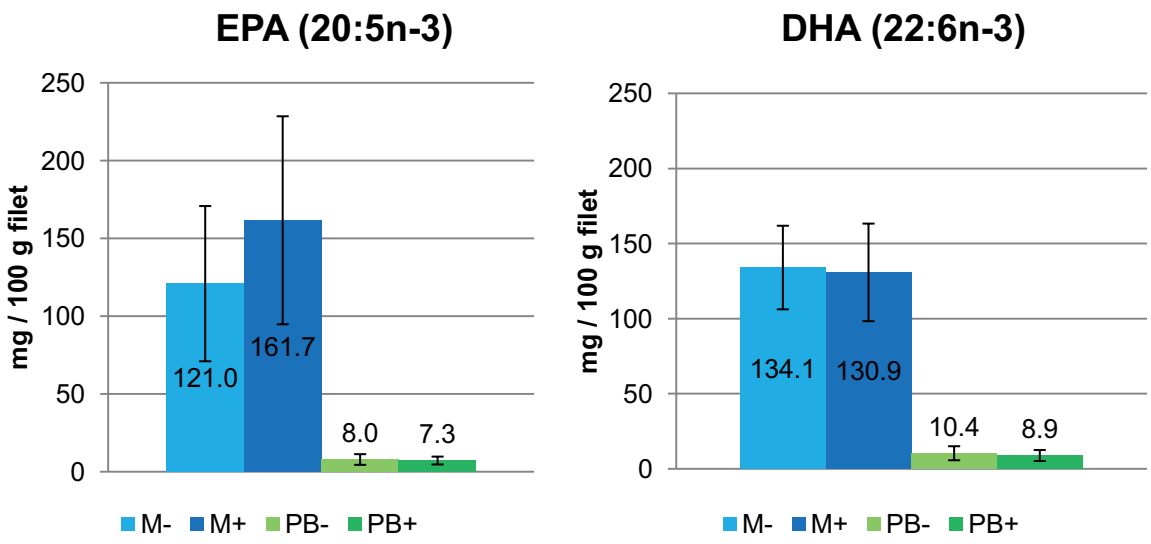


Figure 31. Moyennes des concentrations dans le filet (mg.g^{-1} filet) de l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3) et de l'acide docosahéxaénoïque (DHA, 22:6n-3) après 544 jours nourris avec l'aliment M contenant des produits d'origine marine ou avec l'aliment PB contenant des produits d'origine végétale terrestre. Les lots (-) sont des lots à faible croissance, les lots (+) sont les lots à forte croissance. Les barres verticales indiquent les écarts types.

Comme l'ont montré de précédents essais, la composition en AG de la chair des poissons marins reflètent en grande partie la composition en AG de l'aliment qu'ils ingèrent (Glencross et al., 2003; Regost et al., 2003; Izquierdo et al., 2003). Aussi, on retrouve une proportion importante d'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3) et d'acide docosahéxaénoïque (DHA, 22:6n-3) dans le filet des bars européens (**Figure 31**) nourris avec l'aliment M. Cependant, aucun effet de la sélection des lots à faible/forte croissance n'est observable sur la rétention de ces AG.

Chapitre 6.

Discussion générale

6-1) Principaux résultats

Un effet aliment contrasté selon l'espèce

Les 6 essais réalisés ont conjointement apporté des informations sur les effets d'un aliment entièrement d'origine végétale aussi bien au niveau phénotypique qu'au niveau génétique.

Le premier essai réalisé sur la truite arc-en-ciel (4-3) a montré que l'utilisation d'un aliment entièrement d'origine végétale (PB) dès la première alimentation n'avait pas d'effet sur les taux de survie en comparaison avec un lot ayant reçu un aliment contenant des produits d'origine marine (M). Toutefois, en utilisant le même aliment (PB) dans un second essai (5-1), nous avons observé une diminution du taux de survie par rapport au lot M dès le 30ème jour après les premières prises alimentaires. Après 343 jours d'élevage, le poids moyen des animaux nourris avec l'aliment M est deux fois plus élevé que celui des poissons nourris avec l'aliment PB. Le taux de croissance est réduit de 25 % et le lot PB atteint un poids comparable au lot M à 465 dpf. La comparaison des lignées témoins utilisées dans l'essai 5-1 confirme cet effet aliment sur le poids dès le 60ème dpf et cette différence se maintient jusqu'à la fin de l'essai.

Lorsque le passage sur aliment expérimental est tardif (192 g), aucun effet sur la survie n'est observé chez le bar. Lorsque le passage sur aliment expérimental est plus précoce (2,5 g) le taux de survie diminue après 30 jours et reste inférieur à celui du lot nourri avec l'aliment M. Les mortalités augmentent rapidement après 500 jours chez des animaux nourris avec PB depuis 2,5 g. En quelques jours, un passage de ces individus sur aliment M remédie rapidement à la situation de stress physiologique apparent et les poissons retrouvent un comportement et une croissance normaux, indiquant que les carences liées à l'aliment PB sont comblées rapidement par l'aliment M. Lorsqu'il est distribué dès le stade juvénile (2,5 g), l'aliment PB entraîne une diminution du poids et du taux de croissance dès les premiers jours, mais la différence entre les taux de croissance disparait après 137 jours. Le passage sur aliment PB chez des adultes (192 g) n'a pas d'effet sur le poids et la longueur, mais diminue le taux de croissance dans les premiers jours qui suivent le passage sur aliments expérimentaux Toutefois, la différence de croissance disparaît rapidement (59 jours).

Chez les deux espèces, l'aliment PB a également un effet sur la distribution des poids au sein des lots et mène à une plus grande proportion d'individus de petite taille. La majorité des effets de l'aliment PB sur la survie et la croissance se manifeste durant les stades précoces qui suivent la première alimentation. D'autres travaux sont nécessaires pour étudier les effets de la substitution totale sur la santé et les paramètres physiologiques (*e.g.* inflammation du TD, réponse immunitaire, réactions à des infections virales ou bactériennes, composition des membranes), en particulier sur les stades précoces.

Chez la truite, l'efficacité alimentaire et la rétention protéique estimées durant les phases tardives (91-191 g) sont plus faibles avec l'aliment PB qu'avec l'aliment M tandis que les rétentions lipidiques et énergétiques sont similaires. Cependant, ces résultats doivent être confirmés car l'ingéré estimé du lot M était plus faible que celui du lot PB durant la période étudiée et les différences, même si elles sont significatives, restent très faibles. Que les truites soient comparées à âge ou à poids égal, l'effet aliment est significatif sur les caractères de transformation (rendement carcasse, viscères, filet), à l'exception du rendement en tête au même âge et du rendement filet au même poids. Le rendement viscères est, en particulier, plus élevé chez des truites nourries avec l'aliment PB que chez des truites nourries avec l'aliment M.

Chez des bars adultes (192 g), la demande d'aliment durant les premiers jours qui suivent le passage sur aliments expérimentaux se stabilise plus rapidement dans le lot M (2 jours) que dans le lot PB (15 jours). L'estimation de l'utilisation des aliments M et PB chez les bars adultes (50-151 g) nourris avec les aliments expérimentaux dès 2.5 g a été perturbé par un problème de sursaturation d'azote dans le circuit d'élevage. La croissance et l'ingéré sont inférieurs aux valeurs connues, mais les lots PB ont affiché une plus faible croissance, efficacité alimentaire et rétention lipidique, mais une rétention protéique similaire aux lots M. Ainsi, la séparation des lots à faible ou à forte croissance n'a pas permis d'associer l'efficacité alimentaire (EA) et/ou l'ingéré, à la croissance sur aliment M et PB. Pour les stades précoces, l'impact de l'aliment PB sur la prise alimentaire et l'efficacité alimentaire n'est connu ni chez le bar, ni chez la truite et devrait constituer un terrain privilégié d'investigation future.

Les truites nourries avec PB ont montré une forte capacité à produire de l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3) et de l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22:6n-3) (respectivement 89,8 et 279,3 $mg.100g^{-1}$ de poisson) à partir d'un aliment d'origine végétale terrestre n'en contenant pas. L'estimation des équilibres de conversion des acides gras (AG) a

confirmé cette capacité de bioconversion à partir de C18 ainsi que l'activation des voies de désaturation Δ5 et Δ6 dans le lot PB. Les bars nourris avec l'aliment PB contiennent peu d'EPA et de DHA, mais une quantité importante de 18:3n-3 et de 18 :2n-6. La séparation des lots affichant une faible ou une forte croissance sur chacun des aliments, n'a pas permis de lier ces performances aux taux de rétention en AG.

L'héritabilité des caractères

Les estimations de h^2 dépendent fortement du caractère, de l'espèce, de la population étudiée, et de l'environnement. Dans notre cas, elles sont notamment liées à la période de mesure et de l'aliment utilisé.

Chez les truites arc-en-ciel nourries avec l'aliment PB (4-3), les h^2 sont hautes pour le poids (0,69) et le taux de croissance (0,65). Elles sont faibles à modérées pour le rendement carcasse (0,48-0,49), le rendement viscères (0,56-0,62), le rendement tête (0,56-0,58) et pour le rendement filet (0,21-0,23). Elles sont toujours supérieures à celles estimées chez les poissons nourries avec l'aliment M mais, la différence n'est pas significative. Ce faible écart entre aliment peut mener à un gain génétique plus élevé dans le lot PB (pour le poids, + 42,5 % dans le lot PB et + 29,9 % dans le lot M) pour une pression de sélection de 3 % réalisé chez des poissons d'environ 220 g.

La sélection d'une lignée de truite présentant une forte aptitude à grandir et à survivre en utilisant l'aliment PB a montré un gain spécifique pour ces caractères (5-1). Pour une pression de sélection de 3 % exercée entre 0,2 g et 30 g, les gains absolus de cette lignée nourries sur PB sont élevés pour le poids (+ 35,3 %), la survie (+ 15,1 %) et la biomasse produite (+ 54,4 %) en comparaison de la lignée témoin nourrie sur PB. L'évaluation de la variabilité du poids au sein de chaque bassin montre que la sélection a amélioré l'homogénéité des lots nourris avec PB (CV= 35,4 % contre 42,5 % chez la lignée témoin).

Chez le bar (4-1), les h^2 des poissons nourris avec l'aliment PB (à partir de 192 g) sont modérées, elles valent 0,36 pour le poids et 0,56 pour le taux de lipides du filet. Des gains sont donc réalisables pour ces caractères lorsque les poissons sont nourris tardivement avec l'aliment PB mais, les h^2 sont toujours plus faible dans le lot PB. Si la différence n'est pas significative, elle peut mener à d'importants écarts de gains génétiques. Dans le second essai

(4-2), les h^2 sont modérées pour le poids (PB: 0,18; M: 0,38) et plus faibles pour le taux de croissance (PB: 0,11; M: 0,33). La différence des h^2 entre aliments se confirme lorsque l'âge des poissons augmente et devient significative pour les deux dernières mesures.

L'interaction génotype-aliment

Chez la truite, il existe une interaction génotype-aliment (IGA) significative, mais faible pour le poids (Rg = 0,90), la longueur (Rg = 0,90) et les caractères de transformation (carcasse, viscères, tête, filet, Rg entre 0,65 et 0,96) entre des lots M et PB (4-3). Ceci indique que les familles de pères ne se classent pas dans le même ordre selon qu'elles soient nourries avec M ou PB. On retrouve des Rg similaires en comparant les poissons issus des lots M et PB à poids ou à âge similaire. L'estimation de Rg entre lots est plus faible pour le poids en début d'essai (Rg = 0,67), un suivi des stades plus précoces permettraient de confirmer que l'IGA est plus importante à ce moment. L'IGA pour le poids est confirmée par le gain spécifique de la lignée sélectionnée nourrie avec l'aliment PB en comparaison du gain plus faible pour la lignée sélectionnée nourrie avec l'aliment M (5-1).

Chez le bar, l'interaction père x aliment est significative pour le poids et le taux de lipides. La corrélation génétique entre environnements décroit avec le temps, entre 0,99 et 0,51 pour le poids dans le premier essai (4-1). Ces résultats montrent qu'une IGA apparait progressivement dans le cas d'une comparaison de bars européens nourris avec l'aliment M et l'aliment PB. Dans le second essai (4-2), l'IGA est faible pour le poids (Rg = 0,74-0,93), plus importante pour le taux de croissance (Rg = 0,64), en particulier lorsqu'il est calculé sur de courtes périodes (0,01 - 0.70).

Le classement des familles pour la croissance est donc affecté par le type d'aliment distribué. Les estimations de réponse à la sélection utilisant les h^2 et les Rg montrent que l'utilisation exclusive (sur les reproducteurs et les descendants) d'un aliment composé de produits entièrement d'origine végétale aurait un impact sur l'efficacité des programmes de sélection chez le bar. Elles montrent également que la sélection de candidats nourris avec l'aliment PB plutôt qu'avec l'aliment M n'améliorerait pas les performances des descendants nourris avec l'aliment PB.

6-2) Les contraintes du dispositif

Le choix de la substitution totale

Le choix de la substitution totale des FM et FO a été fait pour faciliter la mise en évidence de génotypes extrêmes quant à leur capacité à utiliser les produits d'origine végétale et également de compléter les essais existant dans la littérature. En effet, la plupart des résultats issus de la littérature concernent des substitutions partielles. Ce choix comportait également le risque d'approcher d'une gamme de substitution conduisant à un stress physiologique trop élevé. A l'inverse, une substitution trop faible aurait placé les individus dans une situation peu contraignante déconnectée des impacts potentiels de la substitution. Le remplacement total de FM et FO a globalement affecté la croissance des poissons. Chez le bar, le taux de mortalité élevé indique que la santé des poissons a également été altérée.

L'étude des paramètres génétiques dans un environnement est liée à la survie des individus dans cet environnement. Dans un environnement contraignant, il est possible d'étudier la génétique de la résistance à un pathogène. Dans un environnement non contraignant, on s'intéresse généralement à la génétique des caractères non létaux (poids, longueur, croissance, mesures de qualité). On peut considérer que l'étude de l'amélioration d'un caractère en situation d'adaptation à l'environnement (*e.g.* salinité forte/faible, température, taux d'oxygène, aliment végétal) se situe quelque part entre ces deux situations.

Dans le cas de la résistance à un pathogène, la sélection s'opère sur les individus survivants ou sur les familles survivant le plus longtemps (quand une sélection sur apparenté est possible). Lorsque le taux de mortalité augmente trop rapidement, il ne permet pas d'observer une quelconque variabilité et la maîtrise de la virulence des pathogènes est indispensable. Dans le contexte de l'étude de la génétique de l'utilisation des produits d'origine végétale chez les poissons, le niveau de contrainte semble être assez lié au niveau de substitution. Chez le bar, il est possible que le niveau de substitution de l'aliment PB ait été trop élevé et ait constitué un environnement alimentaire trop contraignant. Il faut, de plus, rappeler que le niveau de substitution est un paramètre complexe agrégeant plusieurs effets potentiels (carences en AGPI-LC, facteurs antinutritionnels, plus faible digestibilité). Chez le bar, il est possible qu'un de ces effets ait rendu difficile l'estimation des paramètres génétiques. Il serait donc intéressant de diminuer la contrainte environnementale en identifiant

un effet majeur, probablement le taux d'AGPI-LC dans l'aliment et d'estimer à nouveau les paramètres génétiques dans ce contexte.

Le choix de l'aliment expérimental marin (M) plutôt qu'un aliment commercial a été fait afin d'assurer un contrôle des proportions d'ingrédients et la stabilité de la composition. L'utilisation de cet aliment en tant que témoin ne permet pas d'extrapoler strictement les résultats obtenus à la réalité du secteur de production puisqu'il s'agit d'un aliment coûteux contenant une part élevée de FM et de FO. Cependant, l'aliment PB constitue une représentation de ce que pourrait être un aliment 100 % végétal futur même s'il n'est pas non plus utilisable en production à l'heure actuelle. Là encore, l'objectif était de comparer des situations extrêmement contrastés du point de vue de la source des matières premières.

Interactions sociales et cannibalisme

Cet aspect est relativement spécifique au bar dont le comportement agressif durant les stades précoces peut mener à un cannibalisme de type I (consommation partielle d'un autre juvénile) menant souvent à la mort de la proie ou à un cannibalisme de type II où la proie est entièrement consommée (Kestemont et al., 2003). Le lien entre hétérogénéité initiale des tailles et cannibalisme n'est pas clairement défini chez le bar. Chez les larves, Kestemont et al. (2003) concluent à l'absence de lien tandis que Katavic et al. (1989) prouvent que l'hétérogénéité initiale des tailles favorise le cannibalisme. A l'inverse, chez le saumon, Adams et al. (2000) montrent que l'hétérogénéité au sein d'une population et l'existence d'individus dominant de grande taille (« despote bienveillant ») conduiraient à moins d'agression entre individus. De plus, le cannibalisme influe sur cette hétérogénéité puisque les plus petits sont consommés par les plus grands. Il s'agit donc à la fois d'une conséquence et d'une cause de l'hétérogénéité de taille (De Angelis et al. 1980, Hecht and Appelbaum, 1989, Baras, 1998; Kestemont et al., 2003). La disponibilité et la qualité de l'aliment sont les facteurs les plus importants qui régissent l'établissement des hiérarchies de dominance, de l'hétérogénéité de croissance et du cannibalisme (Paller and Lewis, 1987; Kestemeont et al., 2003).

Nous avons observé une plus forte hétérogénéité de taille chez les bars nourris avec PB que chez ceux nourris avec M, mais il est difficile de savoir si le cannibalisme a été plus

important dans le lot PB que dans le lot M. La plus faible appétence de l'aliment (au moins en début d'alimentation) a pu mener à une augmentation de ce phénomène. Dans le même temps, la mortalité observée dans les lots nourris avec PB est significativement plus élevée dès le début de l'alimentation ($P<0,05$). Cependant, l'analyse de la structure des populations indique que la plus grande variabilité observée dans ces lots provient de la présence d'une proportion importante d'individus de petite taille (skewness (PB) > skewness (M)), visualisable par une queue de lots prononcée du coté des faibles valeurs de poids. Cette observation irait donc à l'encontre d'un cannibalisme accru.

Ainsi, il est difficile de savoir 1) si la mortalité accrue dans les lots PB provient d'un refus de s'alimenter ou d'un fort cannibalisme, 2) si le refus de s'alimenter de certains poissons a favorisé l'accroissement du cannibalisme, 3) si la plus grande hétérogénéité de taille est la conséquence d'un refus de s'alimenter, d'un accroissement du cannibalisme ou la résultante des deux.

Il est également difficile d'évaluer ce cannibalisme. En distinguant la survie calculée à partir des comptages lors des biométries successives et la survie basée sur le relevé journalier des morts, la différence entre les deux peut fournir une indication sur le nombre d'individus entièrement consommés par d'autres. Chez la truite arc-en-ciel, le cannibalisme était respectivement estimé à 4 et 19 individus par bacs (sur 1470) dans les lots M et PB entre le stade oeillé et 100 dpf, mais cette faible différence peut aussi être attribuée à des erreurs de comptage. Chez le bar, cette estimation est difficile car les poissons morts sont rapidement mangés par les autres. Cependant, la cause première de la mortalité n'est jamais sûre, les poissons moribonds étant souvent mangés en premier.

Un problème essentiel de l'estimation des paramètres génétiques dans ce contexte, provient de la variabilité initiale de taille et du cannibalisme. En effet, à partir du moment où certains individus atteignent une taille suffisante pour en consommer d'autres, leur valeur phénotypique est fortement modifiée par une composante environnementale pour laquelle on ne peut pas introduire de correction dans nos modèles. L'existence d'individus de grande taille au début de l'essai, peut s'expliquer par la variabilité de l'acceptation de l'aliment PB, mais aussi par la variabilité existante à la fin de la période de nourrissage sur aliment commercial. De plus, l'utilisation de l'aliment PB implique une absence de FM et de FO dans la ration, ce qui n'est plus le cas chez un poisson cannibale. Cet avantage peut s'avérer majeur si l'on considère les carences potentielles de certains AGPI qui pourraient être partiellement

comblés chez ces individus. Aussi, les individus de grande taille peuvent biaiser l'estimation des paramètres génétiques par la surestimation de la valeur phénotypique d'un individu et donc de la surestimation de la valeur génétique de la famille à laquelle il appartient. Précisons que pour limiter ce type de biais, les individus présentant des poids finaux très élevés (> 4 écarts-types) ont été écartés du jeu de données. De plus, les animaux de grande taille ont tendance à maintenir leur position dans la distribution de la population, ce qui peut masquer l'expression potentielle de croissance d'autres individus (Chevassus et al., 2004). Du fait des interactions sociales, il est possible que les différences s'amplifient et que les gros poissons restent les plus gros pour des raisons environnementales déconnectées de leur potentiel génétique.

Les limites statistiques

Le choix d'utiliser des aliments extrêmement contrastés a conduit à un fort effet de l'aliment sur le poids des individus. La comparaison de certains caractères influencés par le poids exige donc une correction. Dans un premier temps, nous avons préférentiellement utilisé les caractères rapportés au poids (*e.g.* rendement carcasse: Poids de carcasse / Poids total) plutôt que les caractères absolus (Poids de carcasse). Dans le cas d'une stricte isométrie de ce caractère avec le poids, cette estimation fournit une estimation indépendante du poids. Dans un second temps, nous avons vérifié que les caractères concernés ne suivent pas une évolution allométrique positive (taux de lipide corporel) ou négative (rendement tête) avec le poids. Quand c'est le cas, il faut ajouter un caractère lié au poids en covariable dans le modèle afin de comparer les individus en prenant en compte cette différence. Cependant, dans le cas d'une comparaison de plusieurs lots, il est indispensable que cette évolution allométrique soit similaire au sein des deux lots. Dans le cas contraire, il existe une hétérogénéité de pentes des régressions entre les deux lots et une autre covariable indépendante sans hétérogénéité de pente doit être identifiée. Dans notre étude, de fortes hétérogénéités de pentes ont été mises en évidence pour certains caractères et l'identification de covariables adaptées et indépendantes de l'aliment a été primordiale. Il n'existe pas de solution universelle et la meilleure consiste à tester indépendamment chaque variable avec le poids ou le logarithme du poids en covariable ou encore de transformer la variable par la fonction logarithme. Une méthode alternative consiste à poursuivre l'élevage du lot présentant la plus faible croissance afin de comparer les

lots à poids similaires. Cette méthode permet d'éviter les erreurs potentielles liées à des poids très différents, mais ajoute une composante environnementale au lot à plus faible croissance. En effet, les lots sont abattus à des âges différents et le lot à plus faible croissance connaît une fin d 'élevage dans des conditions qui peuvent être très différentes de celles rencontrées pendant la première phase d'élevage en particulier pour les expériences réalisées sur la truite où l'élevage en extérieur est tributaire du climat. Chez le bar, l'élevage en circuit fermé limite en partie ce problème. L'autre inconvénient de cette méthode, dans l'optique de comparer des candidats à la sélection, est que les tris de sélection sont classiquement appliqués lorsque les individus atteignent un certain poids plutôt qu'un certain âge.

Il existe une autre source de biais dans la comparaison de deux lots qui n'a pas été prise en compte dans cette étude. L'estimation des corrélations génétiques se base sur l'hypothèse forte que la variance environnementale est similaire pour les deux aliments. Or, dans notre cas, les variances environnementales sont très différentes, ne serait ce qu'à cause de l'écart de poids entre les lots. Certains travaux ont montré que dans le cas d'estimation des IGE, l'écart à cette hypothèse pouvait biaiser les estimations. Il existe des corrections basées sur le prétraitement des données (Dutilleul et Carrière, 1998) ou sur la prédétermination de la structure de la matrice de covariance (Meyer, 2009; Mulder, 2007), mais ces approches n'ont pu être abordées faute de temps.

L'importance des phases précoces

Dans ce mémoire, la compréhension des mécanismes mis en place lors des phases précoces apparaît comme un enjeu de recherche essentiel. On constate, que les mortalités liées à l'utilisation de l'aliment PB apparaissent 30 jours après le début du nourrissage chez les deux espèces et que l'impact sur le poids est fortement lié au décalage initial de croissance. Chez la truite, la plus forte IGA observée lors de la première mesure montre que les classements familiaux sont perturbés pendant les stades qui suivent la première alimentation. Enfin, on sait, grâce à la sélection pour l'aptitude à grandir et survivre sur aliment d'origine végétale, que le gain se manifeste dès les premiers stades (100 jours). Sachant que l'écart de croissance tend à diminuer avec le temps, cela confirme qu'un des mécanismes biologiques ciblés par la sélection est activé précocement.

Le comportement alimentaire lors de ces phases est une piste privilégiée car il conditionne le délai d'acceptation de l'aliment et la quantité d'ingéré, mais aussi la propension au cannibalisme. Les essais portant sur la conversion alimentaire de l'aliment PB n'ont pu être réalisés que sur des stades tardifs, mais ils tendent à montrer que l'ingéré et l'efficacité alimentaire sont similaires pour chacun des aliments. Il reste, dès lors, deux hypothèses permettant d'expliquer le décalage de croissance initiale. Soit l'efficacité alimentaire est différente entre les lots M et PB durant les stades précoces et dans ce cas, l'origine génétique des reclassements familiaux est à rechercher dans les capacités à utiliser cet aliment. Soit, l'ingéré est différent dans les stades précoces et plusieurs hypothèses sont envisageables.

La première s'appuie sur les découvertes faites dans le domaine de l'apprentissage alimentaire des poissons et de la régulation de l'appétit grâce à des mécanismes de rétro-contrôle post-prandiaux (Geurden et al., 2005). Il pourrait exister une variabilité de la sensibilité à ce type de régulation chez les jeunes individus. Dans ce cas, on peut penser que les reclassements familiaux sont liés à une variabilité génétique du système de régulation physiologique en lien avec la digestion. La seconde hypothèse suppose que l'ingéré précoce d'un aliment est lié au comportement alimentaire de l'individu, indépendamment de ce type de rétro-contrôles. Dans ce cas, l'origine des reclassements familiaux est à chercher du côté des interactions comportement x aliment.

Les résultats obtenus ne permettent pas de vérifier ces hypothèses. Une comparaison entre la structure familiale des lots avant l'apparition des premières mortalités et la structure familiale finale permettrait, dans un premier temps, de confirmer ou d'infirmer l'existence d'une composante génétique de la mortalité précoce quand les poissons sont nourris avec PB. Des essais sont en cours afin de valider cette méthode chez le bar.

Certaines avancées technologiques dans l'étude des phases précoces permettraient d'étayer les voies d'amélioration génétique face aux transitions alimentaires. En premier lieu, le marquage individuel par PIT-tag permet de suivre les performances individuelles des poissons, mais ne permet pas d'étudier les individus de petite taille. L'utilisation de marques de plus petite taille (Nano tag, Nonatech, USA) autorise un marquage plus précoce (< 200mg chez le bar, Vandeputte, comm. pers.) et pourrait faciliter ces travaux. Il faut toutefois s'assurer du bien-être des individus lors de cette étape et privilégier des techniques moins invasives lors des stades fragiles. L'analyse vidéo 3D en temps réel pourrait fournir, pour un

effort de calcul raisonnable, des perspectives intéressantes en matière d'étude du comportement précoce, notamment alimentaire, et devraient être considérée.

Des estimations en conditions de production

Les expériences présentées dans cette étude ont été réalisées sur des sites expérimentaux permettant un suivi régulier des individus et le contrôle des conditions d'élevage. Dans le cadre du projet Vegeaqua, des essais similaires ont été mis en place chez les professionnels français afin d'estimer les paramètres génétiques dans des conditions de production en utilisant un aliment d'origine végétale. Les résultats présentés dans ce mémoire sur l'impact de la substitution totale sur la croissance et la survie des poissons ont conduit à utiliser des taux de substitutions moins drastiques, l'aliment « végétal » contenant 2 % d'huile de poisson et 2 % de farine de poisson.

Un des enjeux majeurs de ces essais, sera de comparer les résultats obtenus sur des individus issus de programmes de sélection (professionnels) et sur des individus issus des lignées expérimentales (INRA/Ifremer). En effet, les lots sélectionnés au sein de la PEIMA proviennent d'une lignée domestiquée, mais non sélectionnée, entretenue depuis 30 ans pour sa grande variabilité génétique. Les géniteurs de bar utilisés dans la station expérimentale de l'Ifremer sont, quant à eux, issus de stocks naturels captifs et sont génétiquement très proches de l'état sauvage. En comparaison, les lots de poissons utilisés chez les professionnels sont issus des programmes de sélection (3-1-2).

L'utilisation d'une part très faible de FO dans l'aliment utilisé par les professionnels, constitue une première et les résultats de croissance sont grandement attendus pour poser un jalon dans l'évolution potentielle des substitutions. La comparaison des résultats entre truite et bar, seront également d'un grand enseignement pour confirmer/infirmer les conclusions obtenus dans ces travaux. A l'évidence, il ne s'agit pas de comparer strictement les estimations de paramètres génétiques puisque les populations, les conditions d'élevage et les taux de substitution sont différents, mais ces résultats fourniront des compléments essentiels qui permettront de mieux comprendre et d'anticiper le rôle que peut jouer la sélection génétique face aux transitions alimentaires.

6-3) Adapter les schémas de sélection aux transitions alimentaires

Au commencement de ces travaux de thèse en 2008, les scénarios prospectifs sur l'évolution de la composition de l'aliment aquacole laissaient entrevoir deux éventualités. La première arguait pour une utilisation croissante des produits d'origine végétale afin de protéger les stocks de poissons sauvages (Tacon et Metian, 2008) et la seconde pour le maintien d'une part modérée de farine et d'huile de poisson dans l'aliment en raison de leur impact sur les performances de croissance. En 2011, force est de constater que la tendance globale d'une *végétalisation* des aliments aquacoles s'est confirmée. Après un fort soubresaut à la fin de l'année 2008, le prix de l'huile de poisson a repris sa hausse et les huiles de soja, de lin et palme ont été fortement utilisées par les provendiers. Dans le même temps, le prix de certaines huiles végétales, comme le soja ont également augmenté au point de dépasser le prix des FO en 2009. Malgré cette forte volatilité, la volonté de minimiser l'impact de la production d'aliment sur les stocks sauvages a conduit à une forte augmentation de la substitution. De plus, l'intérêt de l'opinion publique pour la garantie d'un élevage durable, a consolidé les objectifs identifiés par la profession et la médiatisation de certains indicateurs de durabilité autoproclamés ont rendu indispensables la mise au point de stratégies de communication représentative des actions menées depuis plusieurs années. Le FI/FO (fish-in-fish-out ratio) est ainsi devenu un argument de vente et favorise un élan global pour une meilleure compréhension des mécanismes en jeu lors du remplacement des FM et FO. A l'heure actuelle, certains salmoniculteurs chiliens communiquent sur cet indice et déclarent avoir atteint un FI/FO de 1 en utilisant des farines et des huiles végétales (Seafoodsource, 2011). A ce rythme, il est probable que les prévisions faites (Tacon et Metian, 2008) au début de années 2000 sur la diminution de FM et FO (FI/FO aux alentour de 1 pour les truites et les poissons marins) dans l'aliment soient respectées.

Dans le même temps, la communauté scientifique a clairement confirmé cet enjeu dans ses objectifs de recherche en anticipant les évolutions potentielles. Ainsi, depuis le début de l'année 2011, environ un tiers des articles portant sur la nutrition dans le journal Aquaculture, traite de l'utilisation de produits d'origine végétale dans l'aliment (Aquaculture journal, consulté le 10/09/11). De même, la prise en compte des évolutions communes en nutrition et en génétique pour concevoir l'aquaculture de demain, a favorisé le rapprochement de ces

disciplines au sein de groupes de recherche. Aux Etats-Unis où 95 % de la truite arc-en-ciel consommée provient de l'aquaculture (Pierce, 2008), le projet USDA-ARS-Trout-Grains travaille depuis 2009 à l'amélioration de l'efficacité de l'élevage. L'équipe est composée de deux nutritionnistes poisson, d'un généticien poisson, d'un chimiste des plantes et d'un généticien des plantes (Gaylord et al., 2010).

Pourtant, la multiplication des sources de produits composant l'aliment soulève de nouveaux problèmes. De nouveaux concurrents pour l'approvisionnement en matières premières apparaissent (élevage d'espèces terrestres, consommation humaine) et les cours de farines et d'huiles végétales connaissent d'importantes variations. Au-delà de la variation des prix, le passage des FM et FO aux produits d'origine terrestre, a déplacé le questionnement de la durabilité des approvisionnements. Si la pression exercée sur les stocks de pêche minotière a pu être freinée, l'incorporation de VM et de VO a vraisemblablement densifié l'empreinte carbone de la production piscicole. Aujourd'hui, les provendiers formulent des aliments en suivant l'évolution des cours des matières premières et seul le label Bio précise l'origine (non OGM) des produits utilisables. Si l'exploitation des stocks de pêche avait bel et bien atteint une limite de durabilité, la limitation mondiale en ressources alimentaires a replacé la production de produits aquatiques au centre des considérations de durabilité communes à tous les systèmes d'élevage terrestres. Les opportunités de diversification des sources d'aliments pourraient pourtant venir à nouveau du milieu marin puisque la production d'algues est aujourd'hui un enjeu de recherche majeur. En effet, la recherche de sources alternatives innovantes pour la production d'aliment a été identifiée comme un enjeu de développement de l'aquaculture. Les apports en AGPI-LC n-3 étant considérés comme un point de blocage dans le cheminement vers le tout végétal, les travaux sur les algues, les insectes et les cultures de cellules se sont multipliés. A l'heure actuelle, les dispositifs de production d'AGPI-LC à partir d'algues ne permettent pas de fournir une quantité suffisante. Les projets destinés à de grands volumes de production sont confrontés aux difficultés de maintien des milieux de culture (en quantité et en qualité), de mise au point de techniques de collecte et d'extraction des ingrédients souhaités.

Quel point de départ ?

Face à l'évolution de la composition de l'aliment, la problématique des sélectionneurs est de connaître la stratégie à adopter pour maximiser les gains génétiques. Afin de proposer des scenarii potentiels d'évolution, il est important de visualiser la situation actuelle chez les sélectionneurs. L'aliment utilisé dans les programmes de sélection a connu la même évolution que l'aliment utilisé en élevage. Aussi, la volonté d'adapter les programmes de sélection à une révolution à venir provient probablement d'une vision erronée. En effet, si l'on observe l'évolution des taux de FO et de FM (Tacon et Metian, 2008) dans l'aliment pour poissons entre 1995 et 2010, on peut admettre que 1) le taux de remplacement conjoint (FO+FM)r est passé de 35 % en 1995 à 70 % en 2010 chez les poissons marins, et 2) le (FO+FM)r est passé de 40 % en 1995 à 74 % en 2010 chez la truite arc-en-ciel. Les aliments utilisés en production sont aujourd'hui substitués à hauteur de FMr: 85 %, FOr: 60 % chez la truite et FMr: 85 %, FOr: 60 % chez le bar. Sur cette même période de 15 ans, les programmes de sélection ont vraisemblablement produit environ 5 générations successives chez le bar et 7 chez la truite arc-en-ciel.

Durant ce processus de sélection, la part de produits d'origine végétale dans l'aliment a donc augmenté continuellement, représentant une contrainte évolutive sur laquelle se sont construites les lignées actuelles. En d'autres mots, les grands parents d'un bar issu, aujourd'hui d'un programme de sélection ont probablement été nourris avec un aliment affichant un (FO+FM)r de 55 % et ses parents avec un aliment affichant un (FO+FM)r de 65 %.

Ainsi, lorsque les sélectionneurs ont effectué leur choix successifs de poissons sur la croissance, ils ont sélectionné involontairement pour une adaptation progressive à des aliments comportant de plus en plus de matières premières d'origine végétale et de moins en moins de produits d'origine marine.

En résumé, il n'est pas aberrant d'admettre que les lignées sélectionnées en 2011 l'ont été dans un environnement alimentaire évolutif où, sans que ce soit réellement volontaire, la sélection sur la croissance a entrainé une sélection indirecte sur l'adaptation aux aliments d'origine végétale. Nous admettrons également, comme le laissent supposer les résultats de ce mémoire, qu'il existe une interaction génotype-aliment entre des aliments faiblement et fortement substitués

Scénario 1. Une sélection s'appuyant sur l'environnement alimentaire de production

Le premier scenario consiste à sélectionner des lignées adaptées à chaque environnement de production. Dans ce cas, on sélectionne dans un environnement identique à l'environnement d'élevage et le progrès génétique est maximum. Si cette stratégie semble intéressante, elle est rarement choisie en pisciculture en raison du prix élevé d'entretien d'une lignée sélectionnée. Si on peut le concevoir pour un nombre limité d'environnements d'élevage, la complexité de la composition de l'aliment nécessiterait de différencier un trop grand nombre de conditions environnementales. Il est difficile d'envisager chez une même espèce, la sélection d'une lignée tolérante aux facteurs antinutritionnels, une lignée résistante aux entérites provoquées par le soja, une lignée synthétisant efficacement des EFA à partir des C18, etc... La complexité de l'environnement alimentaire associée au coût élevée de la sélection et de l'entretien d'une lignée en pisciculture rend ce scénario peu réaliste.

Scénario 2. Une sélection utilisant l'aliment commercial

Dans ce scénario, on compte sur la sélection involontaire d'individus adaptés à des aliments commerciaux contenant un taux croissant de produits d'origine végétale depuis plusieurs années. Il s'agit de la stratégie la moins coûteuse pour s'adapter à cette modification profonde de l'aliment d'élevage. Elle consiste à miser sur le fait que les taux de substitution vont évoluer de la même manière dans tous les environnements d'élevage.

Cette stratégie présente cependant des contraintes par rapport à une sélection active sur le critère d'adaptation à l'aliment d'origine végétale. Elle ne permet pas le contrôle de la vitesse d'adaptation du cheptel. De plus, le critère d'adaptation à l'aliment n'entre pas directement dans les objectifs de sélection et la variabilité génétique pour ce caractère n'est pas totalement exploitée. Enfin, elle peut conduire à l'amélioration d'un caractère non ciblé. Une prérogative pourrait alors être d'imposer un contrôle régulier de l'évolution de ce caractère. Cette perspective d'amélioration génétique peut accélérer si les aliments évoluent rapidement, ralentir si différents aliments sont utilisés en même temps. Chez le bar, la faible h^2 mise en évidence sur aliment PB pourrait être en faveur de l'utilisation de cette stratégie même s'il demeure indispensable de vérifier si l'aliment d'origine végétale moins contraignant ne permettrait pas l'obtention d'une meilleure expression du potentiel génétique.

Scénario 3. Une sélection utilisant un aliment tout végétal

Ce scénario consiste à privilégier la sélection des individus dans l'environnement permettant la meilleure réponse à la sélection. Falconer (1952) proposait de choisir l'environnement dans lequel l'héritabilité est la plus forte et pour lequel la corrélation génétique avec l'environnement de production est la plus forte. Cela revient à maximiser le produit rG (A, B) x hA avec A l'environnement de sélection et B l'environnement de production. De même, Togashi et al. (2001) ont montré que le meilleur moyen d'augmenter le gain génétique dans le cas d'une IGE est de pratiquer la sélection dans l'environnement présentant la plus grande variance génétique. Au regard des résultats obtenus, ce scénario s'applique probablement bien à la sélection chez la truite arc-en-ciel. La plupart des caractères (dont la croissance) sont, en effet, plus héritables lorsque les poissons sont nourris avec l'aliment PB. Ainsi, il peut être intéressant de sélectionner les poissons en absence de produits d'origine marine et d'envisager leur transfert vers des environnements alimentaires moins substitués. Chez le bar, on peut penser qu'un passage rapide à des aliments extrêmement substitués peut constituer un challenge brutal ne valorisant que peu la variabilité génétique disponible.

Scénario 4. On identifie les points de blocage des aliments PB et on en fait un critère de sélection.

Ce scénario passe par l'identification des points de blocage majeurs pour lesquels les avancées faites en formulation des aliments n'ont pu permettre d'amélioration significative des performances zootechniques. Il pourrait s'agir de la biosynthèse d'AGPI, de la croissance en présence de facteurs antinutritionnels, de la digestibilité des protéines végétales, de la résistance aux entérites provoquées par le soja ou du comportement alimentaire précoce. En estimant l'héritabilité et en identifiant des critères opérationnels de sélection liés à ces points de blocage, il serait possible de les utiliser en tant que critères indirects de sélection. La biosynthèse d'AGE apparait de plus en plus comme un point de blocage essentiel pour la santé du poisson, mais représente également un enjeu de qualité pour le consommateur. S'il a été démontré récemment que ce caractère présentait une héritabilité élevée (Leaver et al., 2011), des progrès techniques sont encore nécessaires pour identifier un critère de sélection

peu coûteux. L'identification de marqueurs génétiques moléculaires liés à l'activité du métabolisme lipidique représente une voie intéressante de l'utilisation de la sélection assistée par marqueurs pour l'adaptation aux transitions alimentaires en cours en aquaculture.

Des enseignements pour la sélection génétique en aquaculture

La production aquacole européenne ne représente que 4,5 % de la production mondiale (FAO, 2008). Pour autant, l'évolution des systèmes de production, en accord avec la disponibilité des matières premières, est une thématique commune à de nombreux pays. Un grand nombre de productions aquacoles extensives repose sur des aliments peu élaborés (matières fraiches) et les producteurs des pays en voie de développement investissent dans des dispositifs de fabrication locale d'aliments à partir de coproduits de l'agronomie, de la pêche et de l'élevage (Seafdec, 2002). Ainsi, 80 % des carpes et 65 % des tilapias sont élevés sans utiliser d'aliments artificiels composés (Naylor et al., 2000). Dans ce contexte, on peut penser que la majorité des aliments utilisés en aquaculture ne comblent que partiellement les besoins nutritionnels des poissons et que l'environnement alimentaire est contraignant. Un des résultats essentiels de ce mémoire est que des progrès génétiques peuvent être réalisés chez les poissons dans des conditions alimentaires contraignantes. On peut ainsi penser que l'amélioration génétique des cheptels pourrait permettre de faciliter d'autres types de transitions alimentaires et d'améliorer l'adaptation à divers environnements alimentaires contraignants.

La mise en place de tels projets reste complexe, il existe peu de programmes de sélection dans les pays en développement (18 pour le tilapia, 4 pour la carpe, Neiras, 2010). Deux perspectives semblent cependant intéressantes. La première consisterait à privilégier la sélection centralisée de lignée sur des caractères favorisant la robustesse des individus. C'est le choix qu'ont fait plusieurs programmes de sélection asiatique de tilapia en tentant d'améliorer la tolérance au froid et à la salinité (Neiras, 2011). Cependant, face à la diversité des conditions de production et des environnements alimentaires, l'existence d'une perte de progrès génétique liée aux interactions génotype-environnement peut être envisagée.

La seconde repose sur la faisabilité de la conduite de programmes de sélection dans l'environnement de production. Nous avons vu précédemment que cette solution est coûteuse

et peu réaliste. Toutefois, elle maximiserait probablement les gains génétiques et une meilleure valorisation des ressources locales. A titre d'exemple chez les espèces terrestres, Mirkena et al. (2010, revue) rappelle quelques situations d'améliorations génétiques réalisées chez les ovins et les bovins. En Ethiopie (Ayalew et al., 2003) et au Kenya (Karugia et al., 2000) l'introduction de lignées exotiques à forte productivité, entrainait une amélioration globale de l'économie du secteur, mais une faible amélioration à l'échelle de la ferme. La pratique d'une sélection sur les lignées indigènes entrainait, quant à elle, une amélioration des performances financières de la ferme tout en préservant la biodiversité.

Les travaux présentés dans ce mémoire indiquent que les changements de composition de l'aliment (produits marins versus végétaux) ont probablement eu des conséquences sur les structures familiales des cheptels de truite et de bar. Ils montrent aussi que des stratégies de sélection génétique sont envisageables pour mieux anticiper les futures transitions alimentaires. Afin de préparer les futures productions aquatiques en optimisant leurs rentabilités, la gestion des ressources alimentaires, la biodiversité et le bien-être des cheptels, il semble important de concevoir des programmes de sélection réactifs face aux changements rapides de l'environnement.

Références

Ackman R.G. (2000) Fatty acids in fish and shellfish. In Chow C.K. (Eds.), Fatty acids in foods and their health implications, 2nd ed., Marcel Dekker, Basel, Switzerland, 153-174.

Adamidou S., Nengas I., Henry M., Grigorakis K., Rigos G., Nikolopoulou D., Kotzamanis Y., Bell G.J., Jauncey K. (2009) Growth, feed utilization, health and organoleptic characteristics of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets including low and high levels of three different legumes. *Aquaculture* 293, 263-271.

Adams C., Huntingford F., Turnbull J., Arnott S., Bell A.L.Y. (2000) Size heterogeneity can reduce aggression and promote growth in Atlantic salmon parr. *Aquaculture International* 8, 543-549.

Alami-Durante H., Médale F., Cluzeaud M., Kaushik S.J. (2010) Skeletal muscle growth dynamics and expression of related genes in white and red muscles of rainbow trout fed diets with graded levels of a mixture of plant protein sources as substitutes for fishmeal. *Aquaculture* 303, 50-58.

Alcock R.E., Behnisch P.A., Jones K.C., Hagenmaier H. (1998) Dioxin-like PCBs in the environment - human exposure and the significance of sources. *Chemosphere* 37, 1457-1472.

Alvarez M.J., Lopez-Bote C.J., Diez A., Corraze G., Arzel J., Dias J., Kaushik S.J., Bautista J.M. (1998) Dietary fish oil and digestible protein modify susceptibility to lipid peroxidation in the muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Br. J. Nutr.* 80, 281-289.

Alvarez M.J., Lopez-Bote C.J., Diez A., Corraze G., Arzel J., Dias J., Kaushik S.J., Bautista J.M. (1999) The partial substitution of digestible protein with gelatinized starch as an energy source reduces susceptibility to lipid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle. *J. Anim. Sci.* 77, 3322-3329.

Aquabreeding (2009) Survey on the breeding practices in the European aquaculture industry, disponible sur: http://www.aquabreeding.eu/Portals/2/AquaBreeding Survey - Updated version 2009.pdf.

Arzel J., Martinez Lopez F.X., Métailler R., Stéphan G., Viau M., Gandemer G., Guillaume J. (1994) Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. *Aquaculture* 123, 361-375.

Astorg P., Arnault N., Czernichow S., Noisette N., Galan P., Hercberg S. (2004) Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids* 39, 527-535.

Aubin J., Papatryphon E., van der Werf H.M.G., Chatzifotis S. (2009) Assessment of the environmental impact of carnivorous finfish production systems using life cycle assessment. *Journal of Cleaner Production* 17, 354-361.

Ayalew W., Rischkowsky B., King J.., Bruns E. (2003) Crossbreds did not generate more net benefits than indigenous goats in Ethiopian smallholdings. *Agricultural Systems* 76, 1137-1156.

Ayles G.B., Baker R.F. (1983) Genetic differences in growth and survival between strains and hybrids of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) stocked in aquaculture lakes in the Canadian prairies. *Aquaculture* 33, 269-280.

Baeverfjord G., Krogdahl A. (1996) Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon,*Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *J. Fish Diseases* 19, 375-387.

Balk E.M., Lichtenstein A.H., Chung M., Kupelnick B., Chew P., Lau J. (2006) Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: A systematic review. *Atherosclerosis* 189, 19-30.

Ballestrazzi R., Lanari D., D'Agaro E., Mion A. (1994) The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 127, 197-206.

Bang H., Dyerberg J., Sinclair H. (1980) The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 2657-2661.

Baras E. (1998) Bases biologiques du cannibalisme chez les poissons. *Cah. Ethol.* 18, 53-98.

Barrows F.T., Gaylord T.G., Stone D.A.J., Smith C.E. (2007a) Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquac. Res.* 38, 1747-1758.

Barrows F.T., Stone D.A.J., Hardy R.W. (2007b) The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 265, 244-252.

Bélanger-Lamonde A. (2008) Remplacement de l'huile de poisson par différentes huiles végétales et modification des ratios protéine: lipide dans la moulée, disponible sur: http://www.sodim.org/pdf/AutresEspeces/710,80_Moulée_huile_végétale.pdf.

Bell J.G., Tocher D.R., MacDonald F.M., Sargent J.R. (1994) Effects of diets rich in linoleic (18:2n - 6) and α-linolenic (18:3n - 3) acids on the growth, lipid class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 13, 105-118.

Bell J.G., McGhee F., Campbell P.J., Sargent J.R. (2003) Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil « wash out ». *Aquaculture* 218, 515-528.

Bell M.V., Dick J.R. (2004) Changes in capacity to synthesise 22:6n-3 during early development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 235, 393-409.

Bell J.G., Waagbø R. (2008) Safe and nutritious aquaculture produce: benefits and risks of alternative sustainable aquafeeds. In Holmer M., Black K., Duarte C.M., Marbà N., Karkassis I. (Eds.), Aquaculture in the Ecosystem, Springer, Dordrecht, Netherlands, 185-225.

Berntssen M.H.G., Julshamn K., Lundebye A.-K. (2010) Chemical contaminants in aquafeeds and Atlantic salmon (*Salmo salar*) following the use of traditional- versus alternative feed ingredients. *Chemosphere* 78, 637-646.

Blanc J. (2002) Interaction between diet and genetic aptitude for weight and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 33, 563-568.

Blanchet C., Lucas M., Dewailly E. (2005) Analyses des acides gras oméga-3 et des contaminants environnementaux dans les salmonidés.

Bobe J., Breton B., Fostier A., Guigen Y., Jalabert B., Kah O., Labbé C., Laleyre J.J., Le Bail P.Y., Le Gac F., Leveroni-Calvi S., Mahé S., Quillet E., Vandeputte M. (2010)

Séxualité et reproduction. In Jalabert B., Fostier A. (Eds.), La truite arc-en-ciel. De la biologie à l'élevage, Quae, Versailles, France, 39-81.

Bolivar R.B., Newkirk G.F. (2002) Response to within family selection for body weight in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a single-trait animal model. *Aquaculture* 204, 371-381.

Bostock J., McAndrew B., Richards R., Jauncey K., Telfer T., Lorenzen K., Little D., Ross L., Handisyde N., Gatward I., Corner R. (2010) Aquaculture: global status and trends. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 365, 2897 -2912.

Bourre J.M. (2005) Effect of increasing the ω-3 fatty acid in the diets of animals on the animal products consumed by humans. *Médecine sciences* 21, 773-779.

Brotons Martinez J., Chatzifotis S., Div P., Takeuchi T. (2004) Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and feed selection of sea bass *Dicentrarchus labrax* fry fed with demand-feeders. *Fisheries Sci.* 70, 74-79.

Burrells C., Williams P.D., Southgate P.J., Crampton V.O. (1999) Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72, 277-288.

Caballero M.J., Obach A., Rosenlund G., Montero D., Gisvold M., Izquierdo M.S. (2002) Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 214, 253-271.

Chatain B., Saillant E., Peruzzi S. (1999) Production of monosex male populations of European seabass, *Dicentrarchus labrax* L. by use of the synthetic androgen 17[alpha]-methyldehydrotestosterone. *Aquaculture* 178, 225-234.

Chatain B., Chavanne H. (2009) Genetics of European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Agricultures* 18, 249-255.

Chavanne H., Chatain B., Haffray P. (2008) European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) review on breeding and reproduction of European aquaculture species.

Cheatham C.L., Colombo J., Carlson S.E. (2006) n-3 fatty acids and cognitive and visual acuity development: methodologic and conceptual considerations. *Am. J. Clin. Nutr.* 83, S1458 -1466S.

Cheruku S.R., Montgomery-Downs H.E., Farkas S.L., Thoman E.B., Lammi-Keefe C.J. (2002) Higher maternal plasma docosahexaenoic acid during pregnancy is associated with more mature neonatal sleep-state patterning. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 608-613.

Chevassus B., Escaffre A., Herioux F. (1976) Variabilité et héritabilité des performances de croissance chez la truite arc-en-ciel (*salmo gairdnerii* richardson). *Genet. Sel. Evol.* 8, 273-283.

Chevassus B., Devaux A., Chourrout D., Jalabert B. (1988) Production of YY rainbow trout males by self-fertilization of induced hermaphrodites. *J. Hered.* 79, 89-92.

Chevassus B., Quillet E., Krieg F., Hollebecq M., Mambrini M., Labbe A., Hiseux J., Vandeputte M. (2004) Enhanced individual selection for selecting fast growing fish: the « PROSPER » method, with application on brown trout (*Salmo trutta fario*). *Genet. Sel. Evol* 36, 643-661.

Choubert G., Blanc J., Vallée F. (1997) Colour measurement, using the CIELCH colour space, of muscle of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed astaxanthin: effects of family, ploidy, sex, and location of reading. *Aquac. Res.* 28, 15-22.

Chourrout D., Chevassus B., Krieg F., Happe A., Burger G., Renard P. (1986) Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females? Potential of tetraploid fish. *Theoretical and Applied Genetics* 72, 193-206.

Chourrout D. (1988) Revue sur le déterminisme génétique du sexe des poissons téléostéens. *Bull. Soc. Zool. Fr.* 113.

CNC (2011) La production française de coquillages, disponible sur: http://www.cnc-france.com/index.php?rub=2&page=11&type=theme&id=22.

Commission filière poisson (2007) 5 scénarios pour la pisciculture française en 2021, disponible sur: http://www.inra.fr/content/download/11645/147830/version/1/file/prospectivePISC2021.pdf. INRA.

Corraze G. (1999) Nutrition lipidique. In Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métailler R. (Eds.), Nutrition des poissons et des crustacés, INRA, Paris, France, 147-169.

Corraze G., Radunz-Neto J., Richard N., Cardinal M., Kaushik S. (2004) Remplacement de l'huile de poisson par des huiles végétales chez la truite arc-en-ciel: incidence sur les qualités nutritionnelles et organoleptiques. *Viandes et Produits Carnés* (HS), 115-116.

Corraze G., Kaushik S. (2009) Lipid nutrition and fish oil replacement by vegetable oils in pisciculture. *Cah. Agric.* 18, 113-118.

Corraze G. (2010) Régulation nutritionnelle du métabolisme lipidique. In Jalabert B., Fostier A. (Eds.), La truite arc-en-ciel. De la biologie à l'élevage, Quae, Versailles, France, 113-119.

Cowey C.B., Adron J.W., Owen J.M., Roberts R.J. (1976) The effect of different dietary oils on tissue fatty acid and tissue pathology in the turbot *Scophthalmus maximus*. *Comp. Biochem. Physiol*, 399-403.

Crandell P.A., Gall G.A.E. (1993a) The genetics of body weight and its effect on early maturity based on individually tagged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 117, 77-93.

Crandell P.A., Gall G.A.E. (1993b) The genetics of age and weight at sexual maturity based on individually tagged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 117, 95-105.

Cuenca E.M., Diaz L.G., de la Higuera M. (1993) Self-selection of a diet covering zinc needs in the trout. In Kaushik S., Luquet P. (Eds.), Fish nutrition in practice, INRA, Paris, 413-418.

Davis D.A., Jirsa D., Arnold C.R. (1995) Evaluation of soybean proteins as replacements for menhaden fish meal in practical diets for the red drum *Sciaenops ocellatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 26, 48-58.

Deangelis D.L., Cox D.K., Coutant C.C. (1980) Cannibalism and size dispersal in young-of-the-year largemouth bass: Experiment and model. *Ecological Modelling* 8, 133-148.

Dias J., Gomes E.F., Kaushik S.J. (1997) Improvement of feed intake through supplementation with an attractant mix in European seabass fed plant-protein rich diets. *Aquat. Living Resour.* 10, 385-389.

Dias J., Alvarez M.J., Arzel J., Corraze G., Diez A., Bautista J.M., Kaushik S.J. (2005) Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.* 142, 19-31.

Dickerson G.E. (1955) Genetic slippage in response to selection for multiple objectives. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 20, 213-224.

Dietschy J.M. (1998) Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J. Nutr.* 128, 444S-448S.

Donaldson L., Olson P. (1957) Development of rainbow trout brood stock by selective breeding. *Trans. of the Am. Fisheries Soc.* 85, 93-101.

Dorson M., Quillet E., Hollebecq M.G., Torhy C., Chevassus B. (1995) Selection of rainbow trout resistant to viral haemorrhagic septicaemia virus and transmission of resistance by gynogenesis. *Vet. Res* 26, 361-368.

Douirin C., Haffray P., Vallet J., Fauconneau B. (1998) Determination of the lipid content of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets with the Torry Fish Fat Meter (R). *Sciences Des Aliments* 18, 527-535.

Drakeford B., Pascoe S. (2008) Substitutability of fishmeal and fish oil in diets for salmon and trout: a meta-analysis. *Aquaculture Economics & Management* 12, 155-175.

Drew M.D., Ogunkoya A.E., Janz D.M., Van Kessel A.G. (2007) Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 267, 260-268.

Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Chevassus B. (2002) Optimization of factorial mating designs for inference on heritability in fish species. *Aquaculture* 204, 361-370.

Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Vergnet A., Merdy O., Haffray P., Chavanne H., Chatain B. (2008) Heritabilities and GxE interactions for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree. *Aquaculture* 275, 81-87.

Dupont-Nivet M., Médale F., Leonard J., Le Guillou S., Tiquet F., Quillet E., Geurden I. (2009) Evidence of genotype-diet interactions in the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clones to a diet with or without fishmeal at early growth. *Aquaculture* 295, 15-21.

Dupont-Nivet M., Karahan-Nomm B., Vergnet A., Merdy O., Haffray P., Chavanne H., Chatain B., Vandeputte M. (2010b) Genotype by environment interactions for growth in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) are large when growth rate rather than weight is considered. *Aquaculture* 306, 365-368.

Dutilleul P., Carriere Y. (1998) Among-environment heteroscedasticity and the estimation and testing of genetic correlation. *Heredity* 80, 403-413.

Eknath A.E., Bentsen H.B., Gjerde B., Tayamen M.M., Abella T.A., Gjedrem T., Pullin T. (1991) Approaches to national fish breeding programs: pointers from a tilapia pilot study. *ICLARM Q, NAGA* 14, 10-12.

Eknath A.E., Tayamen M.M., Palada-de Vera M.S., Danting J.C., Reyes R.A., Dionisio E.E., Capili J.B., Bolivar H.L., Abella T.A., Circa A.V., Bentsen H.B., Gjerde B., Gjedrem T., Pullin R.S.V. (1993) Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. *Aquaculture* 111, 171-188.

El-Ibiary H.M., Joyce J.A. (1978) Heritability of body size traits, dressing weight and lipid content in channel catfish. *J. Anim. Sci.* 47, 82 -88.

Elvingson P., Johansson K. (1993) Genetic and environmental components of variation in body traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to age. *Aquaculture* 118, 191-204.

Enes P., Panserat S., Kaushik S., Oliva-Teles A. (2011) Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Reviews in Fisheries Science* 19, 201-215.

Ernst and Young (2009) Study on the supply and marketing of fishery and aquaculture products in the European Union.

Estoup A., Rousset F., Michalakis Y., Cornuet J.M., Adriamanga M., Guyomard R. (1998) Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). *Mol. Ecol* 7, 339-353.

European ombudsman office (2006) Decision of the European Ombudsman on complaint 1419/2003/JMA against the European Commission.

Falconer D.S. (1952) The problem of environment and selection. *Am. Nat.* 86, 293-298.

Falconer P.D.S., Mackay P.T.F.C. (1995) *Introduction to Quantitative Genetics, 4th Edition*, 4e éd. Longman.

Figueiredo-Silva A., Rocha E., Dias J., Silva P., Rema P., Gomes E., Valente L. (2005) Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquacult. Nutr.* 11, 147-155.

Fisheries F.A.O. Use of fishmeal and fish oil in aquafeeds - Further thoughts on the fishmeal trap. Fisheries, 61 pp.

Fjalestad K.T. (2005) Breeding strategies. In Gjedrem, T. (Eds.), Selection and breeding programs in aquaculture, Springer, The Netherlands, 145-158.

Fonseca-Madrigal J., Karazalos V., Campbell P.J., Bell J.G., Tocher D.R. (2005) Influence of dietary palm oil on growth, tissue fatty acid compositions, and fatty acid metabolism in liver and intestine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Nutr.* 11, 241-250.

Food and Agriculture Organization (FAO) (2005) Review of the state of world marine fishery resources, disponible sur: http://www.fao.org/docrep/009/y5852e/y5852e00.htm. Technical paper.

Food and Agriculture Organization (FAO) (2008) The State of the World Fisheries and Aquaculture 2008, , Rome, Italy.

Food and Agriculture Organization (FAO) (2010) Synthesis of Mediterranean marine finfish aquaculture - A marketing and promotion strategy, disponible sur: http://www.fao.org/docrep/013/i1696e/i1696e00.htm.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2011) FishStat, Aquaculture production 1950-2004.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) FAOStat.

Fowler L.G. (1980) Substitution of soybean and cottonseed products for fish meal in diets fed to chinook and coho salmon. *The Progressive Fish-Culturist* 42, 87-91.

FranceAgriMer (2010) Consommation de produits de la pêche et de l'aquaculture., disponible sur: http://www.franceagrimer.fr/informations/conso/2009-bilan-conso-aqua.pdf.

de Francesco M., Parisi G., Médale F., Lupi P., Kaushik S.J., Poli B.M. (2004) Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 236, 413-429.

Francis G., Makkar H.P.S., Becker K. (2001) Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227.

Gall G.A.E., Gross S.J. (1978) A genetics analysis of the performance of three rainbow trout broodstocks. *Aquaculture* 15, 113-127.

Garcia S.M. (2005) Fishery science and decision-making: dire straights to sustainability. *Bull. Mar. Sci.* 76, 171-196.

Gatel F., Grosjean F. (1992) Performance of pigs from two genotypes in relation to the amino acid content of the diet. *Livestock Production Science* 30, 129-140.

Gatlin D., Barrows F., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T., Hardy R., Herman E., Hu G., Krogdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E., Stone D., Wilson R., Wurtele E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.* 38, 551-579.

Gaylord G.T., Barrows F.T., Overturf K., Liu K., Hu G. (2010) An Overview of Progress toward Developing an all Plant-based Diet for Rainbow Trout. *Bull. Fish. Res. Agen.*, 9-14.

Geay F. (2011) Effets d'une alimentation végétale sur la biosynthèse des acides gras et le métabolisme du bar européen (*Dicentrarchus labrax*). Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest.

Geurden I., Cuvier A., Gondouin E., Olsen R.E., Ruohonen K., Kaushik S., Boujard T. (2005) Rainbow trout can discriminate between feeds with different oil sources. *Physiol. Behav.* 85, 107-114.

Geurden I., Corraze G., Boujard T. (2007) Self-feeding behaviour of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, offered diets with distinct feed oils. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 108, 313-326.

Ghittino P. (1972) Diet and fish husbandry. In Halver J.E. (Eds.), Fish Nutrition, Academic Press, New York, USA, 539-650.

Gjedrem T., Salte R., Gjøen H.M. (1991) Genetic variation in susceptibility of Atlantic salmon to furunculosis. *Aquaculture* 97, 1-6.

Gjedrem T., Gjøen H.M. (1995) Genetic variation in susceptibility of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., to furunculosis, BKD and cold water vibriosis. *Aquac. Res.* 26, 129-134.

Gjedrem T., Olesen I. (2005) Basic statistical parameters. In Gjedrem, T. (Eds.), Selection and breeding programs in aquaculture, Springer, The Netherlands, 45-65.

Gjerde B. (1986) Growth and reproduction in fish and shellfish. *Aquaculture* 57, 37-55.

Gjerde B., Schaeffer L.R. (1989) Body traits in rainbow trout: II. Estimates of heritabilities and of phenotypic and genetic correlations. *Aquaculture* 80, 25-44.

Gjerde B., Røer J.E., Lein I., Stoss J., Refstie T. (1997) Heritability for body weight in farmed turbot. 5, 175-178.

Gjerde B. (2005) Design of breeding programs. In Gjedrem, T. (Eds.), Selection and breeding programs in aquaculture, Springer, The Netherlands, 173-195.

Glencross B.D., Carter C.G., Duijster N., Evans D.R., Dods K., McCafferty P., Hawkins W.E., Maas R., Sipsas S. (2004) A comparison of the digestibility of a range of lupin and soybean protein products when fed to either Atlantic salmon (*Salmo salar*) or rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 237, 333-346.

Glencross B., Hawkins W., Curnow J. (2003) Evaluation of canola oils as alternative lipid resources in diets for juvenile red seabream, *Pagrus auratus*. *Aquacult. Nutr.* 9, 305-315.

Gomes E.F., Rema P., Kaushik S.J. (1995) Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture* 130, 177-186.

Gómez-Requeni P., Mingarro M., Calduch-Giner J.A., Médale F., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J. (2004) Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 232, 493-510.

Gouveia A., Davies S.J. (2000) Inclusion of an extruded dehulled pea seed meal in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 182, 183-193.

Greene D.H.S., Selivonchick D.P. (1987) Lipid metabolism in fish. *Progress in Lipid Research* 26, 53-85.

Grima L., Quillet E., Boujard T., Robert-Granié C., Chatain B., Mambrini M. (2008) Genetic variability in residual feed intake in rainbow trout clones and testing of indirect selection criteria. *Genet. Sel. Evol.* 40, 607.

Grima L., Chatain B., Ruelle F., Vergnet A., Launay A., Mambrini M., Vandeputte M. (2010) In search for indirect criteria to improve feed utilization efficiency in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Part II: Heritability of weight loss during feed deprivation and weight gain during re-feeding periods. *Aquaculture* 302, 169-174.

Guillaume J. (1999) Terminologie et rappels méthodologiques. In Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métailler R. (Eds.), Nutrition et alimentation des poissons et crustacés, INRA, 31-39.

Guillou A., Soucy P., Khalil M., Adambounou L. (1995) Effects of dietary vegetable and marine lipid on growth, muscle fatty acid composition and organoleptic quality of flesh of brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 136, 351-362.

Guillou X., Fischer M. (2011) Etat des lieux et perspectives d'évolution. Rencontres de l'aquaculture, 11 mai 2011, Le Touquet, France.

Gunnes K., Gjedrem T. (1978) Selection experiments with salmon: IV. Growth of Atlantic salmon during two years in the sea. *Aquaculture* 15, 19-33.

Gunnes K., Gjedrem T. (1980) A genetic analysis of body weight and length in rainbow trout reared in seawater for 18 months. *Aquaculture* 24, 161-174.

Gunnes K., Gjedrem T. (1981) A genetic analysis of body weight and length in rainbow trout reared in seawater for 18 months. *Aquaculture* 24, 161-174.

Haffray P., Pincent C., Rault B., Coudurier B. (2004) Domestication et amélioration génétique des cheptels piscicoles français dans le cadre du SYSAAF. *Prod. Anim.* 17, 243-252.

Haffray P., Pincent C., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Merdy O., Chavanne H., Chatain B. (2007) Heritabilities and G × E interactions for quality traits in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 272, S265.

Haldane J.B.S. (1946) The interaction of nature and nature. *Ann. Eugen.* 13, 197-205.

Hammond J. (1947) Animal breeding in relation to nutrition and environmental conditions. *Biol Rev Camb Philos Soc* 22, 195-213.

Hardy R.W., Scott T.M., Harrell L.W. (1987) Replacement of herring oil with menhaden oil, soybean oil, or tallow in the diets of Atlantic salmon raised in marine net-pens. *Aquaculture* 65, 267-277.

Harris W.S., Pottala J.V., Sands S.A., Jones P.G. (2007) Comparison of the effects of fish and fish-oil capsules on the n–3 fatty acid content of blood cells and plasma phospholipids. *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 1621-1625.

Hastings W.H., Dickie L.M. (1972) Feed formulation and evaluation. In Halver J.E. (Eds.), Fish Nutrition, Academic Press, New York, USA, 327-402.

Hecht T., Appelbaum S. (1988) Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larval and juvenile *Claias gariepinus* (Clariidae: Pisces) under controlled conditions. *Journal of Zoology* 214, 21-44.

Hemre G.-I., Sandnes K. (1999) Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon. *Aquacult. Nutr.* 5, 9-16.

Henryon M., Jokumsen A., Berg P., Lund I., Pedersen P.B., Olesen N.J., Slierendrecht W.J. (2002) Genetic variation for growth rate, feed conversion efficiency, and disease resistance exists within a farmed population of rainbow trout. *Aquaculture* 209, 59-76.

Henryon M., Berg P., Olesen N.J., Kjær T.E., Slierendrecht W.J., Jokumsen A., Lund I. (2005) Selective breeding provides an approach to increase resistance of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to the diseases, enteric redmouth disease, rainbow trout fry syndrome, and viral haemorrhagic septicaemia. *Aquaculture* 250, 621-636.

Herbinger C.M., Doyle R.W., Pitman E.R., Paquet D., Mesa K.A., Morris D.B., Wright J.M., Cook D. (1995) DNA fingerprint based analysis of paternal and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout. *Aquaculture* 137, 245-256.

Herbinger C.M., O'Reilly P.T., Doyle R.W., Wright J.M., O'Flynn F. (1999) Early growth performance of Atlantic salmon full-sib families reared in single family tanks versus in mixed family tanks. *Aquaculture* 173, 105-116.

Hershberger W.K., Myers J.M., Iwamoto R.N., Mcauley W.C., Saxton A.M. (1990) Genetic changes in the growth of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in marine net-pens, produced by ten years of selection. *Aquaculture* 85, 187-197.

Hidalgo F., Kentouri M., Divanach P. (1988) The utilisation of a self-feeder as a tool for the nutritional study of sea bass, *Dicentrarchus labrax*, preliminary results with methionine. *Aquaculture* 68, 177-190.

Higuerra de la M. (2001) Effects of nutritional factor and feed characteristics on feed intake. In Houlihan D., Boujard T., Jobling M. (Eds.), Food intake in fish, Blackwell Publishing, Oxford, 250-268.

Hillgartner F.B., Salati L.M., Goodridge A.G. (1995) Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. *Physiol. Rev.* 75, 47 -76.

Hites R.A., Foran J.A., Carpenter D.O., Hamilton M.C., Knuth B.A., Schwager S.J. (2004) Global assessment of organic contaminants in farmed salmon. *Science* 303, 226 -229.

Horan B., Mee J., Oaconnor P., Rath M., Dillon P. (2005a) The effect of strain of Holstein-Friesian cow and feeding system on postpartum ovarian function, animal production and conception rate to first service. *Theriogenology* 63, 950-971.

Horan B., Dillon P., Faverdin P., Delaby L., Buckley F., Rath M. (2005b) The interaction of strain of Holstein-Friesian cows and pasture-based feed systems on milk yield, body weight, and body condition score. *J. Dairy Sci.* 88, 1231-1243.

Horan B., Faverdin P., Delaby L., Rath M., Dillon P. (2006) The effect of strain of Holstein-Friesian dairy cow and pasture-based system on grass intake and milk production. *Anim. Sci.* 82, 435-444.

Hulata G., Wohlfarth G.W., Halevy A. (1986) Mass selection for growth rate in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 57, 177-184.

Ifremer (2008a) La farine de poisson et autres produits d'origine aquatique, disponible sur:

http://aquaculture.ifremer.fr/layout/set/print/content/download/60245/431590/file/La_farine_de_poisson_et_autres_produits_d_origine_aquatique.pdf.

Ifremer (2008b) Applications des résultats de la recherche halieutique pour une pêche durable, disponible sur: http://wwz.ifremer.fr/institut/Les-ressources-documentaires/Medias/Communiques-de-presse/Archives/2008/Recherche-halieutique.

Izquierdo M.S., Obach A., Arantzamendi L., Montero D., Robaina L., Rosenlund G. (2003) Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquacult. Nutr.* 9, 397-407.

Izquierdo M., Montero D., Robaina L., Caballero M., Rosenlund G., Gines R. (2005) Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 250, 431-444.

Jackson A. (2009) Fish in-fish out ratios explained. *Aquaculture Europe* 34, 5-10.

Johnsen M., Hillestad E., Austreng E. (1993) High energy diets for Atlantic salmon. Effects on pollution. In Kaushik S., Luquet P. (Eds.), Fish nutrition in practice, INRA, Paris, France, 391-401.

Karugia J.T., Mwai O.A., Kaitho R., Drucker A.G., Wollny C.B.A., Rege J.E.O. (2001) Economic analysis of crossbreeding programs in sub-saharan africa: a conceptual framework and kenyan case study.

Kasumyan A.O., Døving K.B. (2003) Taste preferences in fishes. *Fish and Fisheries* 4, 289-347.

Katavić I., Jug-dujaković J., Glamuzina B. (1989) Cannibalism as a factor affecting the survival of intensively cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. *Aquaculture* 77, 135-143.

Kause A., Ritola O., Paananen T., Mäntysaari E., Eskelinen U. (2002) Coupling body weight and its composition: a quantitative genetic analysis in rainbow trout. *Aquaculture* 211, 65-79.

Kause A., Ritola O., Paananen T., Eskelinen U., Mäntysaari E. (2003a) Big and beautiful? Quantitative genetic parameters for appearance of large rainbow trout. *J. Fish Biol.* 62, 610-622.

Kause A., Ritola O., Paananen T., Mäntysaari E., Eskelinen U. (2003b) Selection against early maturity in large rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: the quantitative genetics of sexual dimorphism and genotype-by-environment interactions. *Aquaculture* 228, 53-68.

Kause A., Ritola O., Paananen T., Wahlroos H., Mäntysaari E.A. (2005) Genetic trends in growth, sexual maturity and skeletal deformations, and rate of inbreeding in a breeding programme for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 247, 177-187.

Kause A., Tobin D., Houlihan D.F., Martin S.A.M., Mäntysaari E.A., Ritola O., Ruohonen K. (2006a) Feed efficiency of rainbow trout can be improved through selection: Different genetic potential on alternative diets. *J. Anim. Sci.* 84, 807 -817.

Kause A., Tobin D., Dobly A., Houlihan D., Martin S., Mäntysaari E.A., Ritola O., Ruohonen K. (2006b) Recording strategies and selection potential of feed intake measured using the X-ray method in rainbow trout. *Genet. Sel. Evol* 38, 389-409.

Kause A., Ritola O., Paananen T. (2007a) Changes in the expression of genetic characteristics across cohorts in skeletal deformations of farmed salmonids. *Genet. Sel. Evol.* 39, 529.

Kause A., Paananen T., Ritola O., Koskinen H. (2007b) Direct and indirect selection of visceral lipid weight, fillet weight, and fillet percentage in a rainbow trout breeding program. *J. Anim. Sci.* 85, 3218 -3227.

Kause A., Stien L., Rungruangsaktorrissen K., Ritola O., Ruohonen K., Kiessling A. (2008) Image analysis as a tool to facilitate selective breeding of quality traits in rainbow trout. *Livestock Science* 114, 315-324.

Kaushik S.J. (1990) Use of alternative protein sources for intensive rearing of carnivorous fishes. In Flos R.R., Tort L., Torres P. (Eds.), Mediterranean aquaculture, Ellis Horwood, UK, pp. 125-138.

Kaushik S.J., Cravedi J.P., Lalles J.P., Sumpter J., Fauconneau B., Laroche M. (1995) Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 133, 257-274.

Kaushik S.J. (1999) Nutrition glucidique: intérêt et limites des apports de glucides. In Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métailler R. (Eds.), Nutrition des poissons et des crustacés, INRA, Paris, France, 171-186.

Kaushik S.J., Covès D., Dutto G., Blanc D. (2004) Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 230, 391-404.

Kaushik S.J., Corraze G. (2004) Substitution des huiles de poisson dans les aliments pour poissons. *AquaFilia* 2, 5-9.

Kaushik S. (2006) Is aquaculture sustainable if it costs 4 kg of fish to make 1kg of salmon?, disponible sur http://www.euraquaculture.info/index.php?option=com_content&task=view&id=55&Itemid=55

Kaushik S.J. (2009) Nutrition et alimentation des poissons: éléments pour un nouveau développement. *Cah. Agric.* 18, 100-102.

Kaushik S.J. (2010) Couverture des besoins nutritionnels. In Jalabert B., Fostier A. (Eds.), La truite arc-en-ciel. De la biologie à l'élevage, Quae, Versailles, France, 245-251.

Kaushik S.J., Troell M. (2010) Taking the fish-in fish-out ratio a step further. *Aquaculture Europe* 35, 15-17.

Kestemont P., Jourdan S., Houbart M., MÃ©lard C., Paspatis M., Fontaine P., Cuvier A., Kentouri M., Baras E. (2003) Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture* 227, 333-356.

Khoo s, Ozaki a, Nakamura F., Arakawa T., Ackman R.., Sakamoto T., Akutsu T., Mochizuki M., Denda I. (2004) Identification of a novel chromosomal region associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish pathol.* 39, 95-101.

Kincaid H.L., Bridges W.R., von Limbach B. (1977) Three generations of selection for growth rate in fall-spawning rainbow trout. *T. Am. Fish Soc.* 106, 621.

Klupp R., Heil G., Pirchner F. (1978) Effects of interaction between strains and environment on growth traits in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 14, 271-275.

Kolstad K., Grisdale-Helland B., Gjerde B. (2004) Family differences in feed efficiency in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 241, 169-177.

Kolver E.S., Rocher J.R., de Veth M.J., Thorne P.L., Napper A.R. (2002) Total mixed rations versus pasture diets: Evidence for a genotype x diet on the concentration of amino acid-derived volatiles in milk. *Proc. NZSAP* 62, 246-251.

Larkin P.A. (1996) Concepts and issues in marine ecosystem management. *Rev. Fish Biol. Fisheries* 6, 139-164.

Leaver M.J., Taggart J.B., Villeneuve L., Bron J.E., Guy D.R., Bishop S.C., Houston R.D., Matika O., Tocher D.R. (2011) Heritability and mechanisms of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid deposition in the flesh of Atlantic salmon. *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics* 6, 62-69.

Lecerf J.-M. (2004) Poisson, acides gras oméga 3 et risque cardiovasculaire: données épidémiologiques. *Cah. Nutr. Diet.* 39, 143-150.

Lecerf J.M. (2008) Acides gras et maladies cardiovasculaires De l'épidémiologie à la pratique clinique. *Cholé-doc* 110.

Lecomte C. (2005) L'évaluation expérimentale des innovations variétales Proposition d'outils d'analyse de l'interaction génotype - milieu adaptés à la diversité des besoins et des contraintes des acteurs de la filière semences. Thèse de doctorat, Institut national agronomique Paris-Grignon.

Lee D.J., Putnam G.B. (1973) The response of rainbow trout of varying protein-energy ratios in a test diet. *J. Nutr.* 103, 916-922.

Legifrance (2000) Arrêté du 14 novembre 2000, disponible sur: http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000219777&dateTexte=.

Lerner I.M. (1950) *Population genetics and animal improvement*, Cambridge University press, Cambridge.

Lim C., Lee C.-S., Webster C.D. (2008) *Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets*. CRC Press Inc.

Mambrini M., Guillaume J. (1999) Nutrition protéique. In Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métailler R. (Eds.), Nutrition des poissons et des crustacés, INRA, Paris, France, 113-146.

Martin A. (2000) Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Tec et Doc Lavoisier.

Martins D., Gomes E., Rema P., Dias J., Ozório R.O.A., Valente L.M.P. (2006) Growth, digestibility and nutrient utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles fed different dietary soybean oil levels. *Aquaculture International* 14, 285-295.

McCarthy S., Berry D.P., Dillon P., Rath M., Horan B. (2007) Influence of Holstein-Friesian strain and feed system on body weight and body condition score lactation profiles. *J. Dairy Sci.* 90, 1859-1869.

Médale F., Boujard T., Vallee F., Blanc D., Mambrini M., Roem A., Kaushik S. (1998) Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. *Aquat. Living Resour.* 11, 239-246.

Médale F. (2007) Nutrition des poissons. Cours Pôle halieutique, Rennes.

Médale F., Kaushik S. (2009) Protein sources in farmed fish. *Cah. Agric.* 18, 103-111.

Médale F. (2010) Métabolisme énergétique. In Jalabert B., Fostier A. (Eds.), La truite arc-en-ciel. De la biologie à l'élevage, Quae, Versailles, France, 102-109.

Messina M., Tulli F., Messina C., Tibaldi E. (2007) Varying plant protein sources in the diet of sea bass *Dicentrarchus labrax* differently affects lipid metabolism and deposition. *Italian Journal of Animal Science* 6, 806-808.

Métayer R., Guillaume J. (1999) Matières premières et additifs utilisés dans l'alimentation de poissons. In Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métailler R. (Eds.), Nutrition des poissons et des crustacés, INRA, Paris, France, 345-363.

Meyer K. (2009) Factor-analytic models for genotype x environment type problems and structured covariance matrices. *Genet. Sel. Evol.* 41, 21.

Minvielle F. (1990) Principes d'amélioration génétique des animaux domestiques, , Paris.

Mirkena T., Duguma G., Haile A., Tibbo M., Okeyo A.M., Wurzinger M., SÃ¶lkner J. (2010) Genetics of adaptation in domestic farm animals: A review. *Livestock Science* 132, 1-12.

Mittaine J.F. (1913) Disponibilités en farines et huiles de poissons, avenir de la ressource, durabilités des pêcheries minotières et perspectives de certification. Rencontres de l'aquaculture 2011, Le Touquet, France, disponible sur: http://www.rencontresaquaculture2011.com/include/conferences/pdf/13-mai-2011/apres-midi/alimentation/1-MITTAINE-SFAM.pdf.

Montero D., Kalinowski T., Obach A., Robaina L., Tort L., Caballero M.J., Izquierdo M.S. (2003) Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture* 225, 353-370.

Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Ginés R., Izquierdo M.S. (2005) Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* 248, 121-134.

Montero D., Izquierdo M.S. (2010) Health and welfare of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil. In Turchini G.M., Ng W.K., Tocher D.R. (Eds.), Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds., CRC Press, USA, 439-485.

Mori T.A., Beilin L.J. (2001) Long-chain omega 3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction. *Curr. Opin. Lipidol* 12, 11-17.

Morin R. (2006) Les salmonidés d'élevage sont une excellente source d'acides gras oméga-3 et contiennent très peu de résidus de contaminants environnementaux, disponible sur http://www.dfo-mpo.gc.ca/aquaculture/ref/morin_aaq-fra.htm

Mourente G., Dick J., Bell J., Tocher D. (2005a) Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and β-oxidation of [1-C]18:3−3 (LNA) and [1-C]20:5−3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (L.). *Aquaculture* 248, 173-186.

Mourente G., Good J.E., Bell J.G. (2005b) Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on

flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E2 and F2alpha, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquacult. Nutr.* 11, 25-40.

Mulder H.A. (2007) Methods to optimize livestock breeding programs with genotype by environment interaction and genetic heterogeneity of environmental variance. Thèse de doctorat, University of Wageningen.

Mutter R. (2010) Alive...But not yet kicking. *Fish Farming International*, 22-24.

N'Dri A.L. (2006) Etude des interactions entre génotype et environnement chez le poulet de chair et la poule pondeuse. Thèse de doctorat, AgrParisTech.

Navarro A., Zamorano M.J., Hildebrandt S., Ginés R., Aguilera C., Afonso J.M. (2009) Estimates of heritabilities and genetic correlations for body composition traits and G × E interactions, in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.). *Aquaculture* 295, 183-187.

Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin D.M., Goldburg R.J., Hua K., Nichols P.D. (2009) Feeding aquaculture in an era of finite resources. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 15103 -15110.

Neiras R. (1-6 August) Genetic improvement in developing coutries. 9th WCGALP, Leipzig, Germany, disponible sur: http://www.kongressband.de/wcgalp2010/assets/html/0062.htm.

New M.B., Wijkström U.N. (2002) Use of fishmeal and fish oil in aquafeeds: further thoughts on the fishmeal trap, disponible sur: http://www.fao.org/docrep/005/y3781e/y3781e00.htm. FAO.

Nguyen N.H., Ponzoni R.W., Yee H.Y., Abu-Bakar K.R., Hamzah A., Khaw H.L. (2010) Quantitative genetic basis of fatty acid composition in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) selected for high growth. *Aquaculture* 309, 66-74.

Norris A.T., Cunningham E.P. (2004) Estimates of phenotypic and genetic parameters for flesh colour traits in farmed Atlantic salmon based on multiple trait animal model. *Livest. Prod. Sci.* 89, 209-222.

NRC (National Research Council) (2011) *Nutrition Requirements of Fish*, , Washington D.C., USA. National Academy Press.

Oliva-Teles A., Gonçalves P. (2001) Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccaromyces cerevisae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 202, 269-278.

Oo A.N., Satoh S., Tsuchida N. (2007) Effect of replacements of fishmeal and fish oil on growth and dioxin contents of rainbow trout. *Fisheries Sci.* 73, 750-759.

Orr H.A. (1999) The evolutionary genetics of adaptation: a simulation study. *Genet. Res.* 74, 207-214.

Owen J.M., Adron J.W., Middleton C., Cowey C.B. (1975) Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Lipids*, 528-531.

Ozaki A., Khoo S.-K., Yoshiura Y., Ototake M., Sakamoto T., Dijkstra J.M., Okamoto N. (2007) Identification of additional quantitative trait loci (QTL) responsible for susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus in rainbow trout. *Fish Pathology* 42, 131-140.

Paller M.H., Lewis W.M. (1987) Effects of diet on growth depensation and cannibalism among intensively cultured larval striped bass. *The Progressive Fish-Culturist* 49, 270-275.

Palti Y., Silverstein J., Wieman H., Phillips J., Barrows F., Parsons J. (2006) Evaluation of family growth response to fishmeal and gluten-based diets in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 255, 548-556.

Panserat S., Hortopan G.A., Plagnes-Juan E., Kolditz C., Lansard M., Skiba-Cassy S., Esquerré D., Geurden I., Médale F., Kaushik S. (2009) Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Aquaculture* 294, 123-131.

Papatryphon E., Petit J., Kaushik S.J., van der Werf H.M.G. (2004) Environmental impact assessment of salmonid feeds using life cycle assessment (LCA). *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 33, 316-323.

Parmentier B. (2007) *Nourrir l'humanité*. La Découverte.

Parpoura A.C.R., Alexis M.N. (2001) Effects of different dietary oils in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. *Aquacult. Int.* 9, 463-476.

Paspatis K., Kentouri M., Krystalakis N. (1997) Vitamin C: a factor on feed preference of sea bream (*Sparus aurata*). *Proceedings of the 5th Hellenic Symposium on Oceanography and Fisheries* 2, 169-172.

Peruzzi S., Chatain B. (2000) Pressure and cold shock induction of meiotic gynogenesis and triploidy in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: relative efficiency of methods and parental variability. *Aquaculture* 189, 23-37.

Peruzzi S., Chatain B., Saillant E., Haffray P., Menu B., Falguiere J.-C. (2004) Production of meiotic gynogenetic and triploidsea bass, *Dicentrarchus labrax* L. 1. Performances, maturation and carcass quality. *Aquaculture* 230, 41-64.

Phillips K.M., Ruggio D.M., Toivo J.I., Swank M.A., Simpkins A.H. (2002) Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Food Composition and Analysis* 15, 123-142.

Pierce L.R. (2008) Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype x diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Thèse de doctorat. University of Virginia Tech, U.S.A.

Pierce L.R., Palti Y., Silverstein J.T., Barrows F.T., Hallerman E.M., Parsons J.E. (2008) Family growth response to fishmeal and plant-based diets shows genotype × diet interaction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 278, 37-42.

Piferrer F., Blázquez M., Navarro L., González A. (2005) Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *General and Comparative Endocrinology* 142, 102-110.

Ponzoni R.W., Nguyen N.H., Khaw H.L., Ninh N.H. (2008) Accounting for genotype by environment interaction in economic appraisal of genetic improvement programs in common carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 285, 47-55.

Pryce J.E., Nielsen B.L., Veerkamp R.F., Simm G. (1999) Genotype and feeding system effects and interactions for health and fertility traits in dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 57, 193-201.

Quillet E., Chevassus B., Devaux A. (1988) Timing and duration of hatching in gynogenetic, triploid, tetraploid, and hybrid progenies in rainbow trout. *Genet Sel Evol* 20, 199-210.

Quillet E., Dorson M., Aubard G., Torhy C. (2001) In vitro viral haemorrhagic septicaemia virus replication in excised fins of rainbow trout: correlation with resistance to waterborne challenge and genetic variation. *Dis. Aquat. Org.* 45, 171-182.

Quillet E., Aubard G., Quéau I. (2002) Mutation in a sex-determining gene in rainbow trout: detection and genetic analysis. *J. Hered.* 93, 91-99.

Quillet E., Le Guillou S., Aubin J., Fauconneau B. (2005) Two-way selection for muscle lipid content in pan-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 245, 49-61.

Quillet E., Boudry P., Lapegue S. (2007) Variabilité génétique de la réponse aux organismes pathogènes: un outil pour améliorer la santé des mollusques et poissons d'élevage. *INRA Prod. Anim.* 20, 239-252.

Quillet E., Dorson M., Aubard G., Torhy C. (2007) In vitro assay to select rainbow trout with variable resistance/susceptibility to viral haemorrhagic septicaemia virus. *Dis. Aquat. Org* 76, 7-16.

Quinton C.D., Kause A., Koskela J., Ritola O. (2007a) Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments. *Genet Sel Evol* 39, 431.

Quinton C., Kause A., Ruohonen K., Koskela J. (2007b) Genetic relationships of body composition and feed utilization traits in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and implications for selective breeding in fishmeal- and soybean meal-based diet environments. *Journal Of Animal Science* 85, 3198-3208.

Refstie T., Steine T.A. (1978) Selection experiments with salmon: III. Genetic and environmental sources of variation in length and weight of Atlantic salmon in the freshwater phase. *Aquaculture* 14, 221-234.

Refstie S., Korsøen Ø.J., Storebakken T., Baeverfjord G., Lein I., Roem A.J. (2000) Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 190, 49-63.

Regost C., Arzel J., Robin J., Rosenlund G., Kaushik S.J. (2003) Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*): 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture* 217, 465-482.

Richard N., Kaushik S., Larroquet L., Panserat S., Corraze G. (2006a) Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Brit. J. Nutr.* 96, 299-309.

Richard N., Mourente G., Kaushik S., Corraze G. (2006b) Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 261, 1077-1087.

Richard N. (2006c) Effet du taux et de la nature des lipides alimentaires sur les mécanismes intervenant dans la constitution des dépôts lipidiques (transport, captage, synthèse) chez la truite arc-en-ciel et le bar. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux.

Rieu M. (2008) Hausse des prix de l'aliment pour les porcs en 2007 Conséquences pour les couts, la rentabilité, la compétitivité des produits. 12ème journée des « Sciences du muscle et technologie de la viande », Tours, France, disponible sur: http://www.office-elevage.fr/vpc/12jsmtv/articles/3-com-03.pdf.

Robin J.H., Skalli A. (2007) Incorporation of dietary fatty acid in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). A methodological approach evidencing losses of highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 227-237.

Rodriguez M.F., LaPatra S., Williams S., Famula T., May B. (2004) Genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis in rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) backcrosses. *Aquaculture* 241, 93-115.

Romana-Eguia M.R.R., Doyle R.W. (1992) Genotype-environment interaction in the response of three strains of Nile tilapia to poor nutrition. *Aquaculture* 108, 1-12.

Roque d'Orbcastel E., Person-Le Ruyet J., Le Bayon N., Blancheton J.-P. (2009) Comparative growth and welfare in rainbow trout reared in recirculating and flow through rearing systems. *Aquacultural Eng.* 40, 79-86.

Ruxton C.H.S., Calder P.C., Reed S.C., Simpson M.J.A. (2005) The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. *Nutr. Res. Rev.* 18, 113-129.

Rye M., Refstie T. (1995) Phenotypic and genetic parameters of body size traits in Atlantic salmon *Salmo Salar* L. *Aquac. Res.* 26, 875-885.

Sae-Lim P., Komen H., Kause A. (2010) Bias and precision of estimates of genotype-by-environment interaction: A simulation study. *Aquaculture* 310, 66-73.

Saillant E., Chatain B., Fostier A., Przybyla C., Fauvel C. (2001) Parental influence on early development in the European sea bass. *J. Fish Biol.* 58, 1585-1600.

Saillant E., Fostier A., Haffray P., Menu B., Thimonier J., Chatain B. (2002) Temperature effects and genotype-temperature interactions on sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *J. Exp. Zool.* 292, 494-505.

Saillant E., Dupont-Nivet M., Haffray P., Chatain B. (2006) Estimates of heritability and genotype-environment interactions for body weight in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions. *Aquaculture* 254, 139-147.

Saillant E., Dupont-Nivet M., Sabourault M., Haffray P., Laureau S., Vidal M.-O., Chatain B. (2009) Genetic variation for carcass quality traits in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.* 22, 105-112.

Salem N. Jr, Moriguchi T., Greiner R.S., McBride K., Ahmad A., Catalan J.N., Slotnick B. (2001) Alterations in brain function after loss of docosahexaenoate due to dietary restriction of n-3 fatty acids. *J. Mol. Neurosci.* 16, 299-307; discussion 317-321.

Sales J., Glencross B. (2010) A meta-analysis of the effects of dietary marine oil replacement with vegetable oils on growth, feed conversion and muscle fatty acid composition of fish species. *Aquacult. Nutr.* DOI : 10.1111/j.1365-2095.2010.00761.x

Sánchez Durand N., Gallo Seminario M. (2009) Status of and trends in the use of small pelagic fish species for reduction fisheries and for human consumption in Peru. In Hasan M.R., Halwart M. (Eds.), Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications Fisheries and aquaculture technical paper., FAO, Rome, 325-369.

Sanden M. (2004) Genetically modified plant products in feed to farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. -Effects on growth, feed utilization, fish health and assessment of potential risks. Thèse de doctorat, NIFES (National Institute of Nutrition and Seafood Research) and University of Bergen.

Santigosa E., Sanchez J., Medale F., Kaushik S., Perez-Sanchez J., Gallardo M. (2008) Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. *Aquaculture* 282, 68-74.

Santigosa E., García-Meilán I., Valentin J.M., Pérez-Sánchez J., Médale F., Kaushik S., Gallardo M.A. (2011) Modifications of intestinal nutrient absorption in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources in sea bream (*Sparus aurata*) and rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Aquaculture* 317, 146-154.

Santinha, Medale, Corraze, Gomes (1999) Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquacult. Nutr.* 5, 147-156.

Sargent J.R., Tacon A.G. (1999) Development of farmed fish: a nutritionally necessary alternative to meat. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 377-383.

Sargent J.R., Tocher D.R., Bell J.G. (2002) The lipids. In Halver J.E. et Hardy R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed., Academic Press/Elsevier, San Diego, CA, pp. 181-257.

Seafdec (2002) *Nutrition in tropical aquaculture*, Seafdec. O.M. Millamena, R.M Coloso, F.P. Pascual.

Seafoodsource. (2011) A new category of farmed salmon, consulté le 2 septembre 2011, disponible sur http://www.seafoodsource.com/newsarticledetail.aspx?id=12004

Shepherd C.J., Pike I.H., Barlow S.M. (2005) Sustainable feed resources of marine origin. *European Aquaculture Society Special Publication*, 59-66.

Sheridan M.A. (1988) Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol* 90, 679-690.

Siitonen L., Gall G.A.E. (1989) Response to selection for early spawn date in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 78, 153-161.

Sissener N.H. (2009) Genetically modified plants as fish feed ingredients. University of Bergen, Begen, disponible sur: https://bora.uib.no/bitstream/1956/3627/1/Dr.thesis_Nini%20Hedberg%20Sissener.pdf.

Sitjá -Bobadilla A., Pérez-Sánchez J. (1999) Diet related changes in non-specific immune response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 9, 637-640.

Sitjá -Bobadilla A., Peña-Llopis S., Gómez-Requeni P., MéDale F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J. (2005) Effect of fish meal replacement by plant protein sources on non-specific

defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 249, 387-400.

Smith R.R., Kincaid H.L., Regenstein J.M., Rumsey G.L. (1988) Growth, carcasss composition, and taste of rainbow trout of different strains fed diets containing primarily plant or animal protein. *Aquaculture* 70, 309-321.

Sorensen D., Waagepetersen R. (2003) Normal linear models with genetically structured residual variance heterogeneity: a case study. *Genet. Res.* 82, 207-222.

Stickney R.R., Hardy R.W., Koch K., Harrold R., Seawright D., Massee K.C. (1996) The effects of substituting selected oilseed protein concentrates for fish meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets. *Journal of the World Aquaculture Society* 27, 57-63.

Stone D.A.., Oliveira A.C.., Ross C.F., Plante S., Smiley S., Bechtel P., Hardy R.W. (2011) The effects of phase-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with canola oil and Alaskan pollock fish oil on fillet fatty acid composition and sensory attributes. *Aquacult. Nutr.* 17, e521-e529.

Stubhaug I., Tocher D.R., Bell J.G., Dick J.R., Torstensen B.E. (2005) Fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes and influence of dietary vegetable oil. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids* 1734, 277-288.

Sylvén S., Rye M., Simianer H. (1991) Interaction of genotype with production system for slaughter weight in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Livestock Production Science* 28, 253-263.

Tacon A.G.J., Metian M. (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146-158.

Tacon A.G.J., Metian M. (2009) Fishing for aquaculture: non-food use of small pelagic forage fish: a global perspective. *Reviews in Fisheries Science* 17, 305-317.

Tanguy H. (2008) Rapport final de la mission sur le développement de l'aquaculture.

Teichert-Coddington D.R., Smitherman R.O. (1988) Lack of response by Tilapia nilotica to mass selection for rapid early growth. *Trans. Am. Fish. Soc.* 117, 297-300.

Tejeda J.F., Gandemer G., Antequera T., Viau M., García C. (2002) Lipid traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and triacylglycerols. *Meat Science* 60, 357-363.

The Research Council of Norway (2007) Selective Breeding, , Oslo, Norway, disponible sur: http://www.forskningsradet.no/servlet/Satellite?c=Nyhet&pagename=havbruk%2FHovedsidemal&cid=1226994286959. The Research Council of Norway.

Tocher D.R., Bell J.G., MacGlaughlin P., McGhee F., Dick J.R. (2001) Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol* 130, 257-270.

Tocher D.R., Fonseca-Madrigal J., Dick J.R., Ng W.-K., Bell J.G., Campbell P.J. (2004) Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol* 137, 49-63.

Togashi K., Lin C.Y., Moribe K. (2001) Construction of optimum index to maximize overall response across countries in the presence of genotype- environment interaction. *Journal of Dairy Science* 84, 1872-1883.

Torstensen B., Lie O., Froyland L. (2000) Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) - Effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids* 35, 653-664.

Trushenski J.T., Blaufuss P., Mulligan B., Laporte J. (2011) Growth performance and tissue fatty acid composition of rainbow trout reared on feeds containing fish oil or equal blends of fish oil and traditional or novel alternative lipids. *North American Journal of Aquaculture* 73, 194-203.

Turchini G.M., Francis D.S., De Silva S.S. (2007) A whole body, in vivo, fatty acid balance method to quantify PUFA metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation). *Lipids* 42, 1065-1071.

Turchini G.M., Torstensen B.E., Ng W.-K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.

Ustaoglu S., Rennert B. (2002) The apparent nutrient digestibility of diets containing fish meal or isolated soy protein in sterlet (*Acipenser ruthenus*). *International Review of Hydrobiology* 87, 577-584.

Valenti B., Pagano R.I., Pennisi P., Lanza M., Avondo M. (2010) Polymorphism at alpha α s1-casein locus. Effect of genotype × diet interaction on milk fatty acid composition in Girgentana goat. *Small Ruminant Research* 94, 210-213.

Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Chatain B., Chevassus B. (2001) Setting up a strain-testing design for the seabass, Dicentrarchus labrax: a simulation study. *Aquaculture* 202, 329-342.

Vandeputte M., Kocour M., Mauger S., Dupont-Nivet M., De Guerry D., Rodina M., Gela D., Vallod D., Chevassus B., Linhart O. (2004) Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 235, 223-236.

Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Chavanne H., Chatain B. (2007) A polygenic hypothesis for sex determination in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Genetics* 176, 1049-1057.

Vandeputte M., Storset A., Kause A., Henryon M. (2008) Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Review on Breeding and Reproduction of European aquaculture species.

Vandeputte M. (2010) Méthodes de gestion et amélioration génétique des populations d'élevage. In Jalabert B., Fostier A. (Eds.), La truite arc-en-ciel. De la biologie à l'élevage, Quae, Versailles, France, 257-276.

Verrier E., Brabant P., Gallais A. (2001) Faits et concepts de base de la génétique quantitative, disponible sur: http://www.agroparistech.fr/svs/genere/uvf/GQ/GQ0.pdf.

Vilhelmsson O.T., Martin S.A.M., Médale F., Kaushik S.J., Houlihan D.F. (2004) Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Br. J. Nutr.* 92, 71-80.

Watanabe T. (1982) Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B, 3-15.

Weber F., Le Roy H.L. (1956) Interactions between heredity and environment on the domestic fowl and their bearings on environmental conditions in performance tests. *Eur. Poult. Sci.* 20, 1-14.

Weill P., Schmitt B., Chesneau G., Daniel N., Safraou F., Legrand P. (2002) Effects of introducing linseed in livestock diet on blood fatty acid composition of consumers of animal products. *Ann. Nutr. Metab.* 46, 182-191.

Wilson T.R. (1992) Full-fat soybean meal-an acceptable, economical ingredient in chinook salmon grower feeds. PhD Dissertation, University of Washington, Seattle, WA.

Yamamoto S., Sanjyo I., Sato R., Kohara M., Tahara H. (1991) Estimation of the heritability for resistance to infectious haematopoietic necrosis in rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Scient. Fish.* 57, 1519-1522.

Zheng X., Tocher D.R., Dickson C.A., Bell J.G., Teale A.J. (2004) Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 236, 467-483.

Formations suivies

2011 Doctoral Program in Management.

ENPC School of International Management, Formation intensive en management pour les doctorants ParisTech **160 h**

2009 Communiquer sur sa thèse : l'exposé oral efficace

AgroParisTech, ABIES, Paris. **16 h**

2009 Initiation à la gestion de projet, conduire sa thèse comme un projet

AgroParisTech, ABIES, Paris. **16 h**

2009 Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques, Session 2 : L'évaluation génétique et les index de valeur génétique

AgroParisTech, Centre de Grignon. **35 h**

2009 Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques, Session 3: L'analyse du génome et son utilisation en élevage et en sélection

AgroParisTech, Centre de Grignon. **35 h**

2009 Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques, Session 4 : La sélection et le croisement, la gestion et la valorisation des ressources génétiques

AgroParisTech, Centre de Grignon. **35 h**

2009 Formation à l'expérimentation animale niveau I, poissons

Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. **70 h**

2010 Le Web of Science, généralités

Thomson Reuters online training center. **1h**

2010 Le Web of Science, les fonctionnalités avancées

Thomson Reuters online training center. **1h**

Valorisations

Communications

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Chatain B., Quillet E. 2009. Génétique de l'utilisation de l'alimentation d'origine végétale chez les poissons. 11ème Séminaire des doctorants du département de Génétique Animale de l'INRA. 23-24 March 2009, Jouy-en-Josas, France. **Poster**. (**Best poster award**)

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2009. A first insight into genotype-diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the context of plant based diet use. 10th International Symposium on Genetics in Aquaculture (ISGA 2009), 22-26 June 2009, Bangkok, Thailand. **Poster**.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2010. Aliment végétal, estimation des interactions génotype-aliment dans le cas de la croissance tardive chez le bar européen (*Dicentrarchus labrax*). Journée du Syndicat Français d'Aquaculture Marine et Nouvelle. 18-19 March 2010, Montpellier, France. **Oral**.

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Chatain B., Quillet E. 2010. Génétique de l'utilisation de l'aliment d'origine végétale chez la truite et le bar. 12ème Séminaire des doctorants du département de Génétique Animale de l'INRA. 6-7 April 2010, Nantes, France. **Oral**.

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Chatain B., Quillet E. Aliment végétal, étude préliminaire des interactions génotype-aliment. 2010. Colloque de l'association

des doctorants de l'INRA de Jouy-en-Josas, 10-11 May 2010, Jouy-en-Josas, France. **Oral**. (**Best communication award**)

Le Boucher R., Quillet E., Vandeputte M., Lecalvez J.M., Goardon L., Chatain B., Médale F., Dupont-Nivet M. 2010. Plant-Based Diet In Trout (*O. mykiss*): Are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine *vs.* plant-based diets from the first meal ? 9th World Congress of Genetics applied to Livestock Production, 1-6 August 2010, Leipzig, Germany. **Oral**.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2010. Can genetic improvement in aquaculture reduce the impact on fisheries ? The case of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed on a totally plant-ingredient based diet. French-Japanese Symposium : Interactions entre activités halieutiques et écosystèmes : réduction des impacts négatifs. 1-3 September 2010, Sète, France. **Oral**. (**Nominated for trophées Ifremer**)

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2010. Can genetic improvement in aquaculture reduce impact on fisheries? Case of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with total substitution of marine products in the diet. International Council for the Exploitation of the Sea (ICES), 20-24 septembre 2010, Nantes, France. **Oral**.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2010. Genotype-diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with total substitution of marine products in the diet. Aquaculture Europe 2010, 5-8 octobre, Porto, Portugal. **Oral**.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2010. Impact of plant-based diet on genetic

improvement of rainbow trout (*O. mykiss*): family responses to marine vs plant-based diet from the first meal. Aquaculture Europe 2010, 5-8 octobre, Porto, Portugal. **Poster**.

Medale F., Geurden I., Rimoldi S., Corraze G., Geay F., Mazurais D., Dupont-Nivet M., Quillet E., **Le Boucher R.**, Vandeputte M. 2010. Caractérisation phénotypique de familles de truites et de bars présentant des aptitudes différentes à utiliser les aliments à base de végétaux. Journées d'Animation Crédits Incitatifs, 11-12 octobre 2010, Tours, France. **Poster**.

Medale F., Geurden I., Kaushik S., Zambonino J. L., Mazurais D., Dupont Nivet M., Quillet E., **Le Boucher R.**, Vandeputte M., Chatain B. 2010. Variabilité génétique de l'efficacité d'utilisation d'aliments végétaux chez la truite arc-en-ciel et le bar. Journées d'Animation Crédits Incitatifs, 11-12 octobre 2010, Tours, France. **Poster**.

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Médale F., Kaushik S., Mazurais D., Robin J., Lecalvez J.M., Goardon L., Vergnet A., Ruelle F., Kerneïs T., Chatain B., Quillet E. 2011. Premiers résultats concernant les interactions génotype*aliment végétal chez la truite arc-en-ciel/bar européen. Journée Technique Aquacole du SYSAAF, 13 janvier 2011, Paris, France. **Oral**.

Publications

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Mazurais D., Robin J., Vergnet A., Médale F., Kaushik S., Chatain B. 2011. A first insight into genotype-diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L. 1756) in the context of plant-based diet use. Aquaculture Research, 42, pp 583–592.

Le Boucher R., Quillet E., Vandeputte M., Lecalvez J.M., Goardon L., Chatain B., Médale F., Dupont-Nivet F. Plant-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.): are there genotype-diet interactions for main production traits when fish are fed marine vs plant-based diets from the first meal? Aquaculture, 321, pp.41-48.

Le Boucher R., Vandeputte M., Dupont-Nivet M., Quillet E., Ruelle F., Vergnet A., Kaushik S., Médale F., Chatain B. Genotype by diet interactions in European sea bass (Dicentrarchus labrax, L.) in case of a nutritional challenge on totally plant-based diets. *Under Review in Journal of Animal Science.*

Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Kerneïs T., Goardon L., Labbé L., Chatain B., Borthaire M.-J., Larroquet L., Médale F., Quillet E. From Individual Foraging Diversity to Breeding to Adapt to Dietary Shifts in Carnivorous Fish Farming. *Under Review in PLOS One.*

Encadrement

2010 Etudiant M1, Agrocampus Ouest (6 mois). Evolution de la structuration de populations juvéniles de loup (*Dicentrarchus Labrax*) selon deux types d'aliments d'origine marine ou végétale

2010 Etudiant M1, Formation de Manager des entreprises d'aquaculture Cnam/INTECHMER (6 mois). Efficacité alimentaire de lots sélectionnés de bar européens (*Dicentrarchus Labrax*)

Résumé

Les apports de l'aquaculture représentent aujourd'hui la moitié des produits aquatiques destinés à la consommation humaine. La composition de l'aliment artificiel utilisé en élevage piscicole a fortement évolué ces 30 dernières années. Les produits d'origine végétale terrestre y ont progressivement remplacé les farines et les huiles de poisson lorsque les stocks de pêche minotière utilisés pour leurs production se sont rapprochés de leur limite d'exploitation. Toutefois, l'usage exclusif de ces farines et huiles végétales conduit encore à la dégradation de la croissance et de la santé des salmonidés et des poissons marins. Dans le même temps, l'amélioration génétique en pisciculture a permis, depuis 1980, des gains importants sur les caractères de croissance, de santé et de qualité et dispose aujourd'hui de méthodes pour étudier les conséquences de cette profonde transition alimentaire sur les populations actuelles et futures issues des programmes de sélection.

En privilégiant la comparaison entre un aliment composé de produits d'origine marine (M) et un aliment entièrement constitué de produits d'origine végétale terrestre (PB), nous avons étudié les voies d'amélioration génétique chez deux espèces majeures du secteur français: le bar européen (Dicentrarchus labrax) et la truite arc-en-ciel (Oncorhynchus mykiss). Dans ce contexte, l'objectif était en particulier d'estimer les héritabilités des caractères d'intérêt et l'importance des interactions génotype-aliment, qui sont à l'origine de reclassements des génotypes en fonction l'aliment utilisé.

Les essais réalisés ont confirmés l'effet de la substitution totale sur la croissance et la composition lipidique chez les deux espèces et sur la survie chez le bar. Les héritabilités estimées des poissons nourris avec l'aliment PB pour le poids, la croissance et les paramètres de transformation technologique (rendement carcasse, viscères, tête, filet) sont hautes chez la truite (respectivement 0,69; 0,65; 0,21-0,58) et modérées chez le bar (respectivement 0,18 et 0,11). Pour ces caractères, les interactions génotype-aliment sont modérées et les corrélations génétiques estimées entre les aliments M et PB sont élevées chez la truite (respectivement 0,90; 0,92; 0,65-0,96) et chez le bar (respectivement 0,96; 0,64). Les gains génétique attendus sont plus élevés avec l'aliment PB qu'avec l'aliment M chez la truite tandis qu'ils sont plus faible chez le bar. La mesure de la réponse à la sélection pour une aptitude à grandir et à survivre en utilisant l'aliment PB a confirmé des gains élevés pour le poids (+ 35 %), la survie (+15,1 %) et la biomasse produite (+ 54,4 %) sans impact sur les paramètres de transformation technologique (carcasse, viscères, tête, filet). Les essais réalisés ont confirmé que cette meilleure aptitude était liée à des modifications de l'activité du métabolisme lipidique mais n'ont pas permis de conclure à des liens avec l'ingéré et efficacité alimentaire. Les plus forte mortalités et le plus faible poids des lots PB durant les jours qui suivent les premières prises alimentaires ainsi que les reclassements familiaux plus importants en début de cycle de vie indiquent que les stades précoces ont une place prépondérante dans l'utilisation de l'aliment d'origine végétale aux niveaux phénotypique et génétique et devront être approfondis.

A la vue des résultats obtenus, il semble donc possible d'exploiter la grande plasticité de certaines espèces de poisson pour concevoir des programmes de sélection prenant en compte l'évolution des environnements de production. La limitation mondiale des ressources alimentaire confronte les élevages à des modifications rapides de l'aliment et l'amélioration génétique des cheptels peut aider à faciliter ces transitions alimentaires.

Nowadays, aquaculture contributes to half of the aquatic products intended for human consumption. The composition of aquafeeds strongly evolved in the past 30 years. Terrestrial plant-based products gradually replace fish meal and fish oil, as fish stocks used for their production reach their exploitation limit. However, the use of diets containing vegetable oils and meals only still lead to growth and health degradation in salmonids and marine fish. Besides, breeding programmes in fish farming allowed strong genetic progress, since 1980, on growth, health and quality traits. An important issue for fish breeders is now to understand the consequences of this deep dietary change on the current and future selected populations and to adapt breeding programs accordingly.

Focusing on the comparison between two experimental diets, a diet containing marine products (M) and a diet containing only plant-based products, (PB), we investigated the possible impact of the dietary changes on the organization and the objectives of breeding programs in two major species of the French sector: the European sea bass (Dicentrarchus labrax) and the rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). A key objective was to estimate the heritabilities of the main traits of economic interest and the importance of genotype by diet interactions, which may cause genotypes rerankings according to diet used. We also sought the potential origin of the variability for ability to use the PB diet and proposed scenarii for evolution of breeding programs.

The trials confirmed that substitution of marine ingredients by vegetal ones decreased growth and lipid composition in both species, as well as survival in sea bass and, to a lesser extent in rainbow trout. The estimates of heritabilities for weight, growth and processing traits (carcass viscera, head and filet yields only measured on trout) when fish were fed with the PB diet were high in rainbow trout (respectively 0.69; 0.65; 0.21-0.58) and weak in sea bass (respectively 0.18 and 0.11). In trout and sea bass, these estimates were respectively higher and lower than those obtained when fish were fed the M diet. For these traits, genotype by diet interactions were moderate and the genetic correlations between the M and PB diets were variable in trout (respectively 0.67-0.90; 0.92; 0.65-0.96) and sea bass (respectively 0.51-0.96; 0.64), but could involve important family rerankings according to the period of survey.

According to heritability estimates, expected genetic gains would be higher in trout for fish fed the PB diet than for fish fed the M diet when they would be weaker in sea bass. In trout, the measurement of the response to one generation of selection for the ability to grow and survive when fed the PB diet confirmed the results, and provided high genetic gains for body weight (+ 35%), survival rate (+ 15,1%) and produced biomass (+ 54,4%) without any impact on the processing traits (carcass, viscera, head, filet). We showed that this ability was associated to modifications in the lipid metabolism activities but could not establish links with feed intake or feed efficiency from our trials. Higher mortality rate and lower body weight in the PB batches during the first days following distribution of PB diet as well as stronger family rerankings in early steps of the survey indicate than the early stages play a key role in the use of plant-based diet at both phenotypic and genetic levels. Further insights dedicated to these particular stages are strongly needed.

Based on present results, it seems possible to exploit the great plasticity of some fish species to conceive breeding programs taking into account a changing dietary environment. Facing the world limitation in food resources, genetic improvement of fish livestock can be a useful lever to facilitate dietary transitions.