REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE D'ANNABA – *BADJI MOKHTAR*

LABORATOIRE BIORESSOURCES MARINES

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE

MAGISTER

EN SCIENCES DE LA MER
OPTION: BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DES ANIMAUX MARINS

Rôles des antioxydants dans l'alimentation des poissons d'élevage : étude expérimentale sur la perche commune (*Perca fluviatilis* L.).

Par

Souhila Djabelkhir

Le: / /2005

Devant le Jury composé de:

Pr. BENSOUILAH, M.	Président	Université de Annaba
Pr. KARA, M. H.	Rapporteur	Université de Annaba
Dr. ABI AYAD, S. M. E.-A.	Examinateur	Université d'Oran
Dr. KHEBAB, M. H.	Examinateur	Université de Annaba

Résumé

L'objectif du présent travail est de tester l'effet de l'incorporation dans l'aliment de trois types d'antioxydants, à savoir la vitamine E, la vitamine C et l'astaxanthine, sur les performances de croissance, l'état de peroxydation et le contenu lipidique chez la perche commune (*Perca fluviatilis*).

Des juvéniles de perche d'un poids initial de 24,5 ± 0,6 g ont été soumis à six régimes en duplicat, contenant 45% de protéines et 19% de lipides. Les antioxydants additionnés sont : la vitamine E (E), la vitamine C (C) , les vitamines E et C (EC), l'astaxanthine (A), les vitamines E, C et l'astaxanthine (ECA), à raison de 500 mg de vit.C.kg^{-1} d'aliment, 500 mg de vit.E.kg^{-1} et 100 mg d'astaxanthine.kg^{-1}, le traitement référentiel étant exempt d'antioxydants. Les perches ont été nourries *ad libitum* durant 90 jours.

Le taux de survie était élevé chez tous les groupes, indépendamment des traitements. Le taux de croissance et l'efficacité de conversion alimentaire étaient significativement plus élevés chez les groupes ECA et A. Les TBARS (substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique) au niveau des muscles ont été significativement plus faibles chez les groupes ECA et A en comparaison avec ceux des groupes R, E, C et EC. Au niveau du foie, les TBARS étaient significativement plus faibles pour le groupe ECA par rapport aux autres groupes.

Au niveau des aliments, les TBARS étaient significativement plus faibles dans ECA et A que dans les autres régimes. Le contenu lipidique du foie était le plus élevé pour le groupe ECA.

Cette étude a montré que l'incorporation de l'astaxanthine (seule ou combinée aux vitamines C et E) en tant qu'antioxydant dans l'aliment assure une bonne protection de celui-ci contre la peroxydation de son contenu lipidique. Elle assure également chez la perche commune une meilleure prise alimentaire par rapport aux autres traitements, et par conséquent, une meilleure croissance ainsi qu'une meilleure protection du foie et des muscles contre l'oxydation lipidique. L'action antioxydative de l'astaxanthine est améliorée au niveau du foie par l'addition des vitamines E et C. L'effet antioxydatif de la vitamine E s'est probablement opéré au niveau du foie.

Mots clés : *Perca fluviatilis*, Antioxydants, Vitamine E, Vitamine C, Astaxanthine, Croissance, Peroxydation.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو اختبار تأثير دمج ثلاثة أنواع من مضادات التأكسد في الغذاء التجريبي و يتعلق الأمر بالفيتامينات هـ و ج و الأستكزنتين (نوع من الجزرين)، على قدرات النمو، حالة التأكسد الفوقي و المحتوى الليبيدي، عند صغار سمك الفرخ *Perca fluviatilis*.

أخضعت أسماك الفرخ ذات الوزن الابتدائي 24.5 ± 0.6 غ لستة أغذية تجريبية بصفة مزدوجة. تحتوي الأغذية التجريبية على 45% من البروتينات و 19 % من الليبيدات. مضادات التأكسد المضافة لهذه الأغذية هي : فيتامين هـ (E)، فيتامين ج (C)، فيتامين (هـ ج=CE)، الأستكزنتين (A)، فيتامين (هـ، ج و الأستكزنتين=ACE). الكميات المستعملة هي : 500 مغ.كغ$^{-1}$ من الفيتامين ج، 500 مغ.كغ$^{-1}$ من الفيتامين هـ و 100 مغ.كغ$^{-1}$ من الأستكزنتين. الغذاء المرجعي (أو القاعدي) لا يحتوي على أي مضاد للتأكسد.

صغار أسماك الفرخ أطعمت كل يوم حتى الشبع و ذلك طوال مدة التجربة (90 يوم).

نسبة الأسماك الباقية على قيد الحياة في نهاية التجربة كانت مرتفعة عند جميع الأفواج، وهذا بصفة مستقلة عن الأغذية التجريبية. نسبة النمو و فعالية هضم و تحويل الغذاء كانتا أكبر بكثير (أو مرتفعتين) عند الأفواج (ACE) و (A). المواد المتفاعلة مع حمض ثيوبربتريك (SRABT) كانت على مستوى العضلات أقل بكثير عند الأفواج (ACE) و (A) بالمقارنة مع الأفواج C،E،R و CE. على مستوى الكبد، المواد المتفاعلة مع حمض ثيوبربتريك كانت أقل بكثير عند الفوج (ACE) مقارنة مع الأفواج الأخرى.

على مستوى الأغذية المحضرة، كمية المواد المتفاعلة مع حمض ثيوبربتريك كانت أقل بكثير عند الأفواج (ACE) و (A) مقارنة مع الأفواج الأخرى. المحتوى الليبيدي الأكبر على مستوى الكبد كان عند الفوج (ACE).

هذه الدراسة بينت (أو أضهرت) أن دمج الأستكزنتين (بصفة منفردة أو مضاف إلى الفيتامينات هـ و ج) كمضاد للتأكسد، يوفر حماية جيدة للأغذية ضد الأكسدة الفوقية لمحتواها من الليبيد.

إن دمج الأستكزنتين في الأغذية يوفر أيضا لسمك الفرخ شهية جيدة بالمقارنة مع الأغذية التي لا تحتوي عليه. و بالنتيجة فهو يوفر نمو جيد و حماية جيدة للكبد و العضلات ضد الأكسدة الليبيدية. مفعول الأستكزنتين ظهر أحسن على مستوى الكبد وذلك بإضافة الفيتامينات ه و ج. مفعول الفيتامين ه المضاد للتأكسد قد لوحظ على مستوى الكبد.

الكلمات المفتاحية :

Perca fluviatilis، مضادات التأكسد، فيتامين ه ، فيتامين ج، أستكزنتين، نمو، أكسدة فوقية.

Remerciements

A l'issue de l'actualisation de cette étude, je tiens à remercier le Professeur Mohamed Hichem KARA pour avoir bien voulu prendre en charge ce travail. En tant que promoteur, ses conseils et son aide, à la fois sur le contenu et sur la rédaction, ont été très précieux. Je lui adresse également toute ma gratitude pour son soutien moral.

De même, je remercie les membres du laboratoire Bioressources Marines ainsi que les responsables du Département des Sciences de la Mer de l'Université de Annaba pour m'avoir acceptée parmi leurs étudiants de post-graduation.

Merci enfin aux personnes qui m'ont facilité l'accès aux informations scientifiques et à tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin.

Table des matières

INTRODUCTION..... 1
I. GÉNÉRALITÉS..... 6
I.1. Radicaux libres et mécanismes de défense antioxydants..... 6
I.1.1. Radicaux libres et phénomène d'oxydation..... 6
I.1.2. Mécanismes de défense antioxydatifs..... 8
• Les antioxydants alimentaires et leur mode d'action..... 10
a) La vitamine C..... 10
b) La vitamine E..... 12
c) L'astaxanthine..... 14
d) Effet synergique des antioxydants..... 16
I.2. La perche commune..... 18
I.2.1. Systématique..... 18
I.2.2. Morphologie..... 18
I.2.3. Biologie..... 20
I.2.3.1. Croissance et mortalité..... 20
I.2.3.2. Régime alimentaire..... 20
I.2.3.3. Reproduction..... 21
I.2.4. Ecologie..... 22
I.2.4.1. Distribution et habitat..... 22
I.2.4.2. Exigences écologiques..... 23
I.2.5. Elevage de la perche commune..... 24
II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE..... 26
II.1. Position du problème..... 26
II.2. Les orientations actuelles..... 28
II.3. Etat actuel des connaissances sur la problématique..... 30
II.4. Le risque de la peroxydation lipidique..... 31
III. MATÉRIEL ET MÉTHODES..... 35
III.1. Matériel biologique..... 35
III.2. Conditions expérimentales..... 35
III.3. Régimes expérimentaux..... 36
III.4. Mesures des paramètres biologiques..... 37
III.4.1. Croissance pondérale..... 37
III.4.2. L'efficacité de conversion alimentaire..... 38
III.4.3. Les indices hépato-somatique (IHS), gonado-somatique (IGS) et lipo-somatique (ILS)..... 38
III.4.4. Le coefficient de condition K..... 39
III.4.5. La survie..... 39

III.5. Détermination de la peroxydation des lipides……..... 39
III.6. Dosage du contenu lipidique du foie……..…..... 40
III.7. Analyse des résultats……..……..... 41
IV. RÉSULTATS……..……..... 43
IV.1. Croissance, efficacité alimentaire et survie……..... 43
IV.2. Indices morpho-physiologiques……..……..... 46
IV.3. Détermination de la peroxydation des lipides……..…..... 47
IV.3.1. Dosage des TBARS au niveau des muscles……..... 47
IV.3.2. Dosage des TBARS au niveau du foie……..... 48
IV.3.3. Dosage des TBARS au niveau des aliments……..... 49
IV.4. Dosage des lipides totaux……..……..... 51
V. DISCUSSION……..……..... 54
V.1. Effet des antioxydants sur la prise alimentaire et la croissance..... 54
V.2. Qualité de l'aliment, antioxydants et oxydation des lipides alimentaires.... 55
V.3. Stabilité des antioxydants dans l'aliment…….....……..…..... 57
V.4. Effet des antioxydants sur la peroxydation lipidique *in vivo*..... 59
V.5. Accumulation des lipides hépatiques.....……..... 61
CONCLUSION…….....…….....……..... 63
Références bibliographiques……..... 65
Annexes.……..... 76

Tableau 3: Résumé des résultats expérimentaux obtenus entre traitements en fonction des différents antioxydants après 90 jours d'expérience.

Régime	R		A		E		C		ECA		EC	
	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S
Poids moyen Initial (g)	25,00[a]	7,10	24,43[a]	7,85	24,37[a]	7,02	23,31[a]	8,14	24,42[a]	7,34	25,23[a]	7,73
Poids moyen Final (g)	24,92[b]	10,35	40,45[a]	22,13	24,45[b]	8,33	22,04[b]	8,76	44,72[a]	21,35	23,97[b]	9,56
CV (poids moyens initiaux)	3,51	0,24	3,18	0,62	3,55	0,70	2,90	0,20	3,41	0,21	3,37	0,03
CV (poids moyens finaux)	2,41	0,28	1,86	0,32	2,99	0,07	1,63	0,91	2,09	0,23	2,70	0,34
Ration totale distribuée (g)	539,81[a]	16,43	1047,72[b]	131,21	526,2[a]	27,69	435,14[a]	30,10	1024,81[b]	7,65	548,29[a]	52,28
Croissance (G%)	-0,27[a]	4,92	65,01[b]	18,43	0,33[a]	1,86	-5,44[a]	2,98	83,56[b]	8,45	-5,58[a]	10,64
Taux de survie (%)	96,67[a]	4,71	94,44[a]	4,71	91,11[a]	0,00	84,44[a]	9,43	88,89[a]	6,29	94,44[a]	4,71
Efficacité alimentaire	0,02[a]	0,09	0,63[c]	0,03	-0,07[ab]	0,05	-0,23[b]	0,02	0,72[c]	0,00	-0,15[ab]	0,01
SGR (%j-1)	0,00[a]	0,05	0,55[b]	0,12	0,00[a]	0,02	-0,06[a]	0,04	0,67[b]	0,05	-0,07[a]	0,13
Coefficient de condition K	0,86[a]	0,07	1,05[a]	0,09	0,89[a]	0,03	0,79[a]	0,00	1,05[a]	0,06	0,83[a]	0,05
IGS (%)	1,06[a]	0,13	1,52[a]	0,20	1,57[a]	0,38	1,19[a]	0,09	1,80[a]	0,06	1,34[a]	0,51
IHS (%)	0,63[a]	0,03	0,97[b]	0,07	0,72[a]	0,03	0,54[a]	0,07	0,95[b]	0,02	0,57[a]	0,01
ILS (%)	0,28[a]	0,26	2,40[a]	1,24	0,48[a]	0,03	0,23[a]	0,00	2,14[a]	1,08	0,31[a]	0,21

Les valeurs sur la même ligne portant des lettres différentes sont significativement différentes.

Tableau 4 : Résumé des résultats des tests de peroxydation effectués sur le foie et les muscles des juvéniles de perche au début et à la fin de l'expérience ainsi que sur les régimes expérimentaux.

Tests	**Initiaux**		**Finaux**											
Régime			**R**		**A**		**E**		**C**		**EC**		**ECA**	
	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S	Moyenne	± S
TBARS Muscles (nmoleMD.g^{-1} de MF)	6,34^{a}	1,37	11,31^{c}	2,44	4,81^{a}	0,11	11,53^{c}	0,22	9,26^{b}	0,52	9,75^{b}	0,08	4,84^{a}	0,84
TBARS Foies (nmoleMD.g^{-1} de MF)	27,43^{a}	12,09	82,75^{b}	8,29	36,17^{ab}	13,99	67,42^{abc}	13,50	85,40^{c}	19,79	78,46^{b}	20,96	31,73^{a}	11,11
TBARS Aliments (nmoleMD.g^{-1} de MF)			1414,91^{b}	694,49	80,86^{a}	14,74	1268,06^{ab}	570,63	1769,02^{b}	1141,86	1892,57^{b}	1150,14	97,80^{a}	27,08

MF= matière fraîche. Les valeurs sur la même ligne portants des lettres différentes sont significativement différentes.

INTRODUCTION

L'élevage des poissons de bonne valeur en maximisant les performances de croissance, de survie et d'efficacité alimentaire devient de plus en plus important. Cependant, l'obtention de bons résultats dans ce domaine, nécessite une meilleure connaissance des besoins nutritionnels de l'espèce considérée.

D'après Ando *et al*. (1993), la qualité de la chair des poissons est influencée par le contenu en lipides musculaires et leur présence en excès est une des raisons pour lesquelles les poissons d'élevage ne sont pas nécessairement de bonne qualité. L'utilisation des lipides comme source d'énergie dans les aliments d'élevage peut donner de meilleurs résultats (Alvarez *et al*., 1999 ; Dias *et al*., 1999 ; Corraze *et al*., 2002 ; Xu *et al*., 2002). Cet intérêt porté à ces composés a pour objectif de réduire l'utilisation des protéines, tout en assurant une croissance rapide, c'est ce qu'on appelle l'effet d'épargne protéique.

Malheureusement, pour certaines espèces l'utilisation des lipides s'avère difficile. Ces derniers sont par conséquent accumulés dans certains endroits du corps. D'après Xu *et al*. (2002), bien qu'elle soit un des candidats pour la diversification de l'aquaculture européenne, la perche commune *Perca fluviatilis* est une de ces espèces ayant tendance à accumuler les graisses, principalement au niveau des viscères et en second lieu au niveau du foie.

L'utilisation d'huiles de poisson dans le régime des volailles a fait l'objet de récentes recherches (Ayerza, 2002). Cette formulation n'est pas toujours bonne pour les animaux d'élevage, notamment ceux qui ont tendance à accumuler ces lipides dans leurs organes. Il semblerait que les régimes à base d'huile de poisson menhaden (clupéidé du genre *Brevoortia*) stimule l'activité lipidogène hépatique chez les poules pondeuses qui devient apparente après six mois d'élevage.

Spisni *et al* . (1998) définissent la stéatose hépatique comme étant l'infiltration de gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes. Kestemont *et al.* (2001) et Xu *et al*. (2002)

rapportent l'existence de ce phénomène chez la perche commune. Pour exemple Xu *et al*. (2002) ont observé une augmentation de la teneur lipidique au niveau du foie suite à l'utilisation dans les aliments fabriqués de concentrations croissantes en lipides (11,7-19,3%).

D'après Mélard et Kestemont (1997), des concentrations très élevées en lipides hépatiques ont été dosées (de l'ordre de 72,9 % chez les poissons nourris à 16% de lipides et 62,1 % chez les poissons nourris à 20% de lipides). Chez la perche, les mécanismes impliqués dans la lipogenèse hépatique sont mal connus et peu étudiés (Xu *et al*., 2002).

Une explication fréquente a été donnée concernant ce problème, c'est la peroxydation de ces lipides. Une expérience réalisée sur les juvéniles de la perche commune testant l'huile de menhaden comme source lipidique, a montré que la croissance et la survie étaient très faibles (Kestemont *et al.*, 1997 *in* Kestemont *et al*., 2001). Ce résultat obtenu avec des régimes contenant de hautes teneurs en lipides (20 à 24 %), laisse suggérer que l'huile de menhaden n'est pas attractive d'un point de vue organoleptique pour la perche commune (Kestemont *et al*., 2001). Ceci peut s'expliquer par le fait que cette huile montre une tendance au rancissement.

Des études récentes suggèrent que la perche est particulièrement sensible à la peroxydation des lipides. Ce phénomène peut être responsable de la faible appétence (qualité d'un aliment à déclencher l'envie d'être consommé) et de la croissance réduite observée chez l'espèce (Mélard et Kestemont, 1997). Une étude ultérieure, visant à comparer diverses sources de lipides a mis en évidence le problème de l'oxydation des lipides chez la perchaude nourrie à l'aliment fabriqué à base d'huile de menhaden (Kestemont *et al*., 2001).

Les poissons sont caractérisés par des teneurs élevées en acides gras essentiels, dont la nature est très importante pour l'aspect nutritionnel et organoleptique (Mathis, 2001). D'après Kestemont (2002), ces acides gras essentiels sont les acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGLPI), spécialement ceux de la série (n-3). En effet, la structure des

AGLPI (n-3) permet un degré d'insaturation plus haut que les AGLPI (n-6) et (n-9) (Halver, 1980 ; Kestemont, 2002). Ce degré d'insaturation est indispensable pour le maintien de la flexibilité et de la perméabilité des phospholipides membranaires, chez les poissons d'eau froide (Abi-ayad, 1998).

Cependant plus la quantité de ces acides gras est importante, plus ils sont facilement peroxydés, d'autant plus que les doses d'antioxydants sont faibles (Mathis, 2001). En effet, les AGPI peuvent se déplacer facilement à l'intérieure d'une même couche ou entre les couches phospholipidiques. Les atomes d'hydrogène appartenant aux carbones bisallyliques sont très mobiles et génèrent des radicaux libres favorisant la propagation de la peroxydation par un processus d'auto-oxydation (Lefèvre *et al.*, 1998).

De ce fait, la formulation d'un régime assurant un taux de croissance élevé et réduisant l'accumulation et la peroxydation des lipides hépatiques, est d'une importance capitale (Nanton *et al.*, 2001). Pour les espèces telles que la perche, on comprend ainsi l'importance de compléter les aliments fabriqués en ajoutant des antioxydants alimentaires.

L'effet des antioxydants sur la peroxydation des lipides a été testé chez différentes espèces. Chez la perche, l'étude de l'effet de l'utilisation de différents antioxydants, en tant qu'hépato-protecteurs, sur la croissance et l'efficacité alimentaire, a montré que les antioxydants testés (vitamine E, ethoxyquine et butylated hydroxyanisole (BHA)) avaient le même degré de protection pour les aliments contre l'oxydation (Kestemont *et al.*, 1999). Les contenus en lipides totaux au niveau du foie et des viscères sont similaires entre les poissons nourris à l'aliment contenant l'ethoxyquine et celui contenant la vitamine E. Cependant, la teneur lipidique la plus élevée au niveau des muscles a été observée chez les poissons nourris à l'aliment contenant le BHA. Quelques exemples de travaux réalisés concernant la problématique, sont présentés dans le tableau 1.

Afin d'améliorer la croissance, la survie et la qualité en élevage de la perche, il s'avère important de comprendre et d'éviter les problèmes d'oxydation des lipides. Ces derniers pouvant engendrer plusieurs pathologies et une forte mortalité chez certains poissons d'élevage. Bien que la perche n'existe pas en Algérie, l'intérêt d'un travail portant sur une problématique de cette importance en aquaculture est de répondre à des questions d'ordre fondamental dont les conclusions peuvent être généralisées à d'autres espèces piscicoles. C'est pourquoi, l'objectif de notre étude est de tester l'efficacité de différents types d'antioxydants (avec différentes actions de protection) sur les performances de croissance et, en tant qu'hépatoprotecteur, contre la peroxydation des lipides et leur accumulation chez la perche commune (*Perca fluviatilis* L.).

Notre expérience consiste à tester, en duplicat, trois antioxydants (vitamine E, vitamine C et astaxanthine) individuellement et combinés, additionnés à un régime standard de départ, le régime référentiel exempt d'antioxydants.

Ce travail est organisé en cinq parties :

- La première partie est consacrée aux généralités sur les radicaux libres et aux mécanismes de défense antioxydatifs, ainsi qu'aux généralités sur la perche commune.
- La deuxième partie comprend une synthèse bibliographique expliquant la problématique et précisant l'état actuel des connaissances sur le sujet.
- Dans la troisième partie, matériel et méthodes, le détail du protocole expérimental est explicité ainsi que les différentes méthodes d'analyse et de calcul utilisées.
- La quatrième partie est consacrée à l'expression des résultats obtenus.
- La cinquième partie interprète les résultats tout en les discutant.

Tableau 1. Exemples de travaux réalisés sur l'effet des antioxydants sur les poissons.

Espèce	Régime alimentaire	Résultats	Références
Terapon jarbua (Poisson épineux, perche tigre)	Additionnés de 4 niveaux de vit. C, 0, 80, 400, 2000 ppm.	Effet significatif sur la croissance et sur la composition en AGPI du foie obtenu avec 80 ppm à 32°C et 400 ppm à 36°C	Chien et Hwang (2001).
Scophthalmus maximus (Turbot)	Additionnés de 3 niveaux de vit. E 0,100, 1000 mg/kg	- pas d'effet significatif sur la croissance et mortalité. - pas d'effet significatif sur le contenu lipidique du foie. - différence significative de la composition en AG des lipides totaux du foie.	Tocher *et al*. (2002).
Sparus aurata (Daurade)		- Effet significatif de la vitamine E sur la croissance et la survie. - Le contenu lipidique du foie augmente avec l'augmentation de la teneur en vit. E	
Hippoglossus hippoglossus (Flétan)		- Pas d'effet significatif sur la croissance et la mortalité - pas d'effet significatif sur le contenu lipidique du foie	
		Chez les trois espèces le taux des TBARS est significativement élevé chez les poissons nourris avec E0 comparés avec ceux nourris aux régimes E100 et E1000.	
Sparus aurata (Daurade)	Huiles oxydées additionnées ou non de vit. E	Régimes oxydés augmentent l'activité des enzymes hépatiques et la vit. E réduit cette activité.	Mourente *et al*. (2002).
Oncorhynchus mykiss (Truite arc en ciel)	Additionnés de 7 niveaux différents de combinaisons des 2 vitamines (C/E), 0/0, 0/800, 30/30, 30/800, 2000/0, 2000/30, 2000/800	L'activité la plus élevée des macrophages oxydatifs était observée chez les poissons nourris à des taux élevés de vit. C et E (la combinaison entre les deux antioxydants a amélioré la réponse immunitaire). La meilleure résistance aux maladies a été observée chez les lots nourris avec des taux élevés de l'une des vitamines ou des deux combinées.	Wahli *et al*. (1998).

I. GÉNÉRALITÉS

I.1. Radicaux libres et mécanismes de défense antioxydants

I.1.1. Radicaux libres et phénomène d'oxydation

Les radicaux libres sont une forme particulière des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) (Favier, 2001 ; Fontaine, 2001). Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé, soit par l'acceptation d'un autre électron, soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Fontaine, 2001). Les radicaux libres sont ainsi caractérisés par une grande réactivité chimique et une courte durée de vie (Allain, 2000). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Fontaine, 2001). Ce sont de petites molécules comportant au moins un atome d'oxygène dont la structure électronique est déséquilibrée (un électron célibataire) et instable, ce qui leur confère une grande réactivité sur les constituants organiques (Aurousseau, 2002).

Les dérivés réactifs de l'oxygène incluent les radicaux libres de l'oxygène proprement dit (radical superoxyde ($^{\bullet}O_2^-$), radical hydroxyl ($^{\bullet}OH$), monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$),...) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires qui sont très toxiques (peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxynitrite ($ONOO^-$)) (Fontaine, 2001). La formation des radicaux libres dans l'organisme s'effectue au niveau de divers organites cellulaires : mitochondries, microsomes et cytosol. Des radicaux superoxydes et de l'eau oxygénée peuvent être produits par le biais des réactions enzymatiques (Allain, 2000). La propagation des réactions radicalaires commence par l'apparition d'un radical $O_2^{\bullet}$ ou $^{\bullet}OH$ ou encore $R^{\bullet}$ dont la formation est favorisée par la présence d'un métal, fer ou cuivre à l'état libre. Le radical libre peut ensuite réagir avec une seule molécule ou créer une réaction en chaîne (Allain, 2000).

L'oxydation est l'une des causes majeures de la détérioration des aliments contenant les protéines, les graisses et d'autres éléments (Siriwardhana *et al.*, 2003). De plus, la production excessive de radicaux libres est responsable au niveau de l'organisme de lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, protéines, lipides et glucides), mais aussi de lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des produits libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2001) (fig. 1).

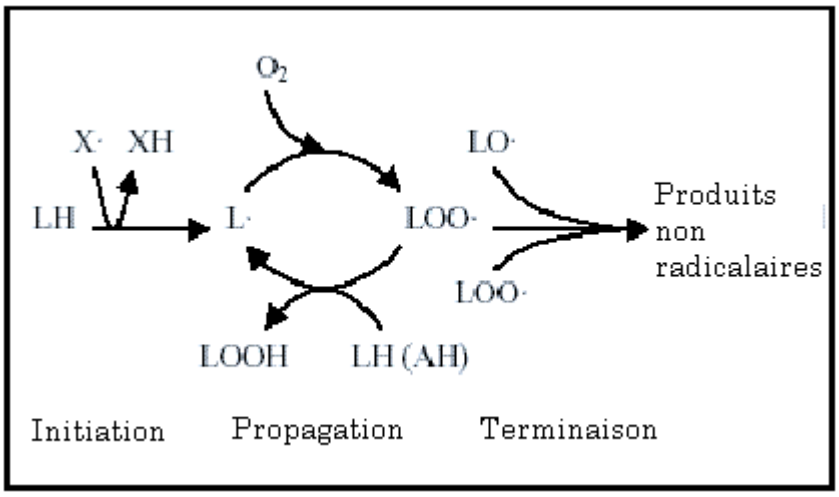

Figure 1 : Illustration schématique du processus d'oxydation des lipides.
LH = lipide non saturé, X˙ = initiateur, L˙ = radical alkyl, LO˙ = radical alkoxyl, LOO˙ = radical peroxyl, LOOH = hydroperoxyde, AH = antioxydant
(tiré de Bragadóttir, 2001).

Les lipides des organismes vivants sont particulièrement sensibles à l'oxydation, surtout ceux formés d'acides gras polyinsaturés dans les membranes cellulaires (Favier, 2001 ; Eymard, 2003). Les formes les plus réactives de l'oxygène peuvent initier directement la peroxydation lipidique. De nombreux produits sont générés lors de la peroxydation des lipides : dienes conjugués, peroxydes, alcanes, aldéhydes (Favier, 2001). Parmi les aldéhydes formés, le plus connu est le malondialdéhyde (β-dialdéhyde tricarboné), produit lors de la coupure des AGLPI possédant au moins trois doubles liaisons (Lefèvre *et al.*, 1998) (fig. 2).

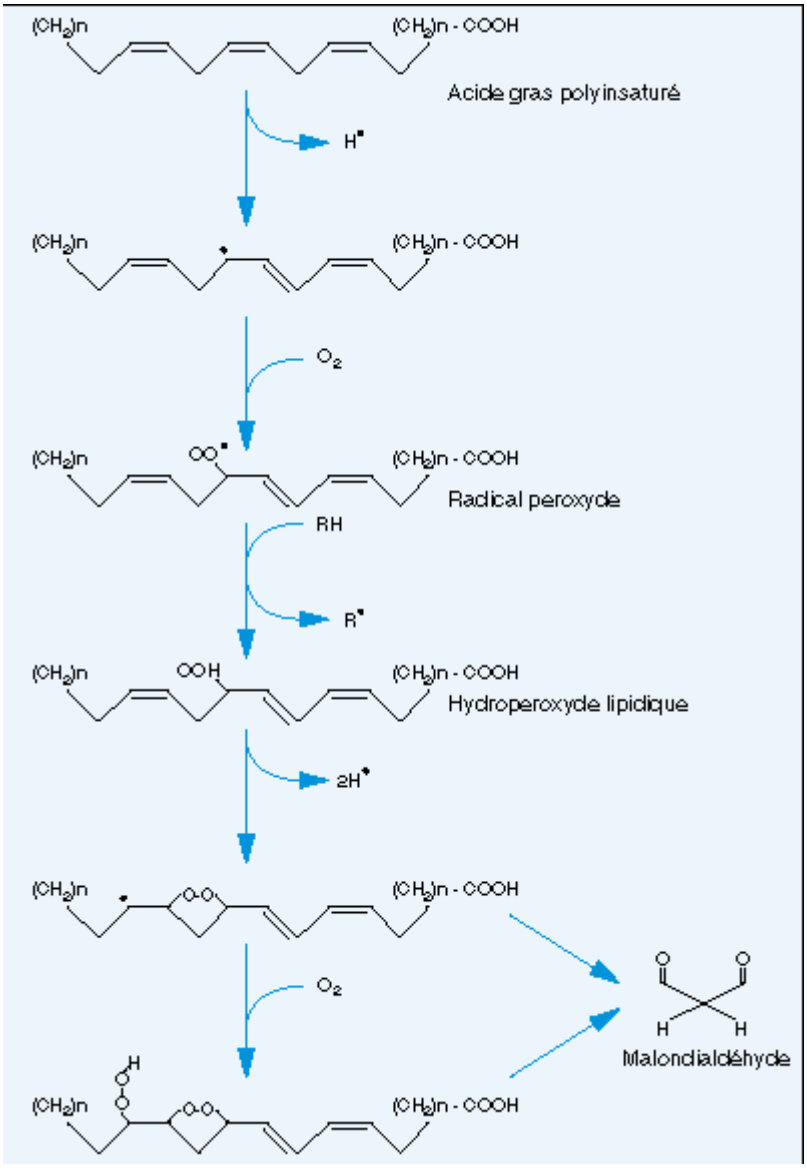

Figure 2 : Peroxydation lipidique : voie de synthèse du Malondialdéhyde à partir des acides gras polyinsaturés (d'après Lefèvre *et al.* 1998).

I.1.2. Mécanismes de défense antioxydatifs

Tous les animaux possèdent des systèmes de lutte contre l'oxydation *in vivo*, ceci afin de préserver leur santé (Mourente *et al.*, 2002). Le bon fonctionnement de l'organisme dépend de l'équilibre de la balance entre la quantité de radicaux libres produits et la capacité des systèmes antioxydants à les détruire (Favier, 2001). Cette protection physiologique implique à la fois des éléments endogènes (produits par les cellules) et exogènes (apportés par l'alimentation) (Favier, 2001 ; Tocher *et al.*, 2002, 2003).

Les mécanismes endogènes incluent des composantes telles que l'ubiquinone (Allain, 2000 ; Aurousseau, 2002), le NADH/NADPH, le glutathion (GSH), les groupes de protéines sulphidryl (-SH), l'acide urique (Tocher *et al*., 2002), les enzymes de piégeage des radicaux libres (telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPX)) (Mourente *et al*., 1999 ; Bragadóttir, 2001 ; Aurousseau, 2002 ; Tocher *et al*., 2002, 2003). Les composés d'origine exogène, appartenant au système antioxydatif, sont représentés par les micronutriments d'origine alimentaire tels que les vitamines C et E et les caroténoïdes (Mourente *et al*., 1999 ; Tocher *et al*., 2002). On trouve tous ces constituants dans le plasma cellulaire, dans les mitochondries (Bragadóttir, 2001) et aussi d'une manière générale dans les systèmes membranaires cellulaires et intracellulaires (fig. 3).

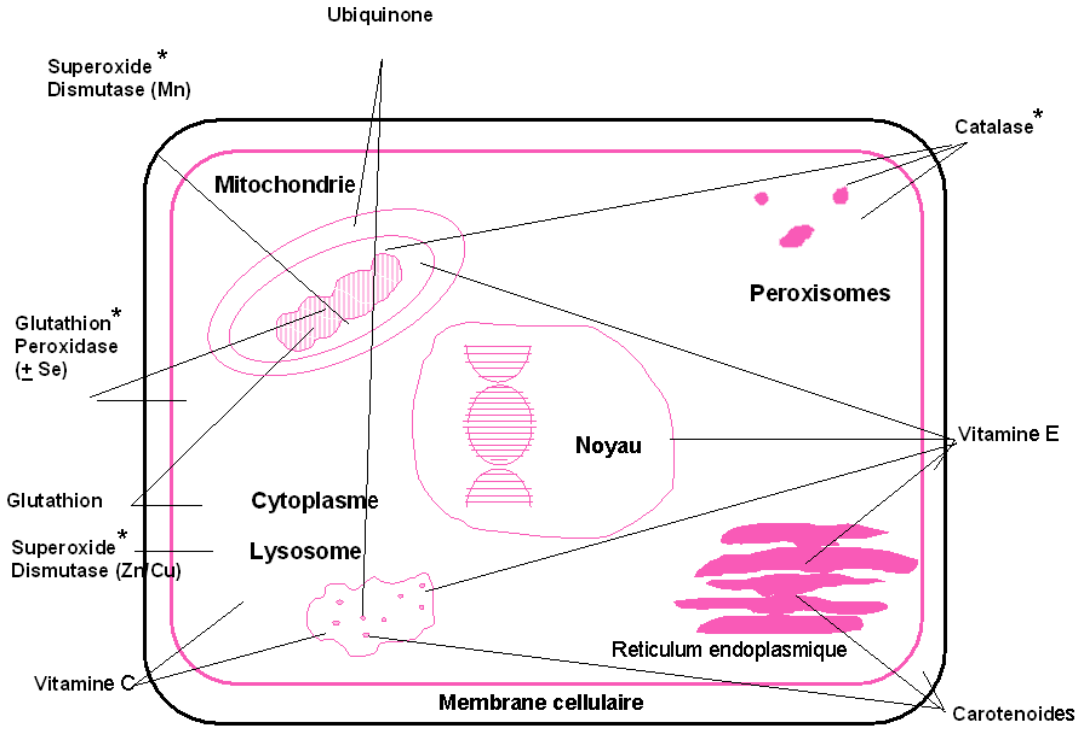

Figure 3 : Localisations et sites d'action des antioxydants intracellulaires (d'après Bankson *et al*., 1993).
* = systèmes enzymatiques

- **Les antioxydants alimentaires et leur mode d'action**

Les antioxydants sont des substances qui peuvent s'opposer à la propagation des réactions radicalaires (Woodall *et al*., 1997 ; Allain, 2000), très souvent en formant à partir d'un radical très réactif un autre radical beaucoup moins réactif (Allain, 2000). Ils forment un large groupe, et on les trouve naturellement dans une grande variété d'aliments et de plantes, y compris certains fruits et végétaux (Wells, 1995). Les antioxydants sont lipo- ou hydrosolubles (Allain, 2000).

Pour qu'un antioxydant soit utilisable dans l'aliment pour poisson, il doit remplir les critères suivants :

- Efficace dans la protection des différents composantes telles que les graisses et les protéines sujets à la peroxydation ;
- non toxique pour l'homme et les animaux d'élevage ;
- efficace à faible concentration ;
- à faible coût (Rumsey, 1980).

a) La vitamine C

La vitamine C n'est pas synthétisée par l'organisme. Selon Ford-Martin (1995), elle est naturellement retrouvée dans les fruits et les végétaux. Elle est hydrosoluble et est absorbée au niveau de l'intestin. Sa concentration plasmatique dépend fortement de l'alimentation et des modifications du flux hépatique (*e.g*. après exercice physique) (Pincemail, 2003). La vitamine C ou acide ascorbique peut être considérée comme dérivé cyclique des hexoses. Sa formule chimique est une des plus simples ($C_6H_8O_6$). Sa principale caractéristique est d'exister sous trois degrés d'oxydo-réduction, comme le montre la figure 4 (Allain, 2000).

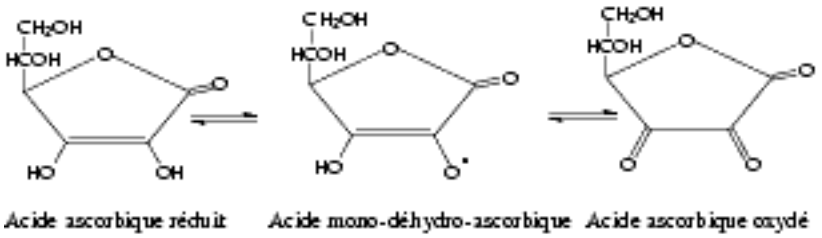

Figure 4 : Différentes structures de la vitamine C, selon ses trois degrés d'oxydoréduction (d'après Allain, 2000).

En plus de ses rôles thérapeutiques et préventifs contre de nombreuses maladies, ainsi que dans le maintien des fonctions immunitaires (Amar *et al.*, 2004), son rôle antioxydatif a été démontré (Vojdani *et al*., 2001). En effet, l'acide ascorbique est un antioxydant hydrosoluble puissant (Hamre, 1997 ; Allain, 2000 ; Li et Dabrowski, 2004). La vitamine C interagit avec les radicaux libres. Son action antioxydante réside dans le fait que c'est un donneur d'atome d'hydrogène qui réagit avec les radicaux libres $^{\bullet}OH$ et $O_2^{\bullet -}$ et les transforme en molécules non toxiques. C'est un excellent piégeur d'espèces oxygénées activées qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation (Pincemail, 2003).

En présence de cuivre et de fer, la vitamine C favorise la formation de radicaux superoxydes et a un effet pro-oxydant (Allain, 2000). Il semble d'après Chien et Hwang (2001), que la vitamine C affecte le métabolisme lipidique et celui de la carnitine (molécule essentielle pour la β-oxydation des acides gras à longues chaînes). Par analogie, les régimes contenant la vitamine C affectent la composition en acides gras des poissons. D'après Hamre *et al*. (1997), le besoin en vitamine C dépend probablement du taux de vitamine E dans l'aliment. Il semble selon Shiau et Hsu (2002) que la vitamine C, lorsqu'elle est présente dans l'aliment à une dose qui est trois fois celle nécessaire pour l'espèce, joue un rôle d'épargne de vitamine E.

b) La vitamine E

Les tocophérols (vitamine E) existent naturellement sous forme de quatre isomères : α, β, δ, γ (Eymard, 2003) (fig. 5). On trouve la vitamine E dans de nombreux aliments. Elle est liposoluble et est absorbée par le système gastro-intestinal pour être ensuite transférée vers les tissus et les organes (Ford-Martin, 1995). Elle est responsable du fonctionnement du système immunitaire (Ford-Martin, 1995 ; Amar *et al.*, 2004) et du maintien de la santé des yeux et de la peau. Elle assure également une bonne protection du foie contre les maladies (Ford-Martin, 1995). Parmi ses rôles majeurs, les propriétés antioxydatives de la vitamine E sont très bien connues (Woodall *et al.*, 1997). En effet c'est l'un des antioxydants les plus importants (Mourente *et al*., 1999) dont la forme α-tocophérol est la plus puissante et la plus utilisée (Di Mascio *et al.*, 1990 ; Yamamoto *et al.*, 2001 ; Eymard, 2003 ; Huang *et al.*, 2003 ; Huang et Huang, 2004). Dans le groupe des tocophérols, la capacité à désactiver l'oxygène dépend du groupe hydroxyl libre dans la position 6 du noyau chromane (Di Mascio *et al.*, 1990). Ils agissent en tant qu'antioxydants extra et intracellulaires pour maintenir l'homéostasie des métabolites fragiles dans les cellules et le plasma tissulaire (Halver, 1980).

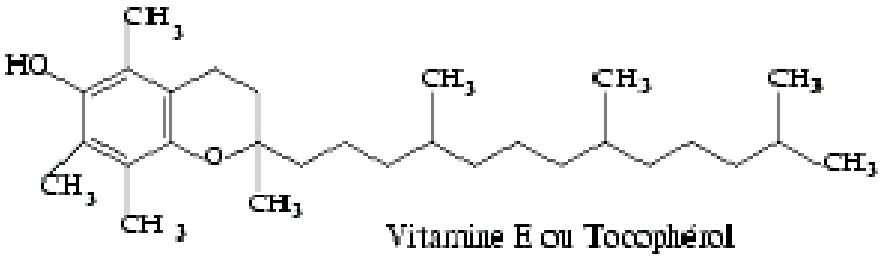

Figure 5 : Structure moléculaire de la vitamine E (Tocopherol) (d'après Allain, 2000).

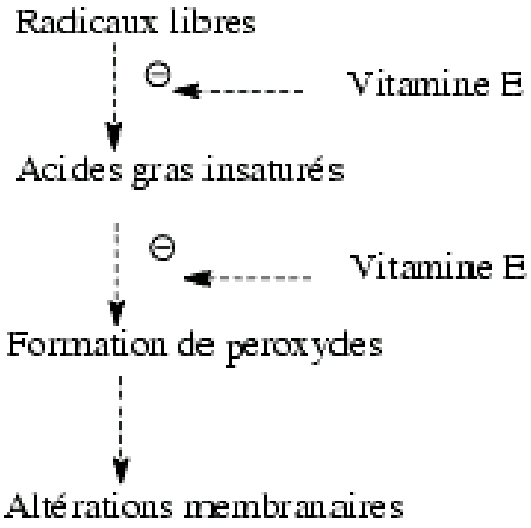

Figure 6 : Action antiradicalaire de la vitamine E (d'après Allain, 2000).

D'après Allain (2000), la vitamine E s'oppose à la peroxydation des acides gras en peroxydes, souvent désignés sous le terme de stress oxydatif, par réactions radicalaires (fig. 6).

$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$

$ROO + R'H \longrightarrow R'OO^{\bullet} + R$

En effet, le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydatif (Pincemail, 2003).

Il a été démontré que la vitamine E est une composante essentielle dans les régimes pour plusieurs espèces de poissons (Murai et Adrews, 1974). Le besoin minimum en vitamine E est défini comme la dose minimale nécessaire pour le maintien du taux de l'α-tocophérol dans le corps, assurant la croissance et/ou la survie sans être réduite (Mourente *et al.*, 1999). Selon plusieurs études (Cowey *et al.*, 1983 ; Stéphan *et al.*, 1995 ; Bell *et al.*, 2000 ; Kiron *et al.*, 2004), le besoin en vitamine E est en relation

avec le taux des AGPI chez le poisson. La valeur définie par les nutritionnistes est de 30 à 40 mg de vitamine E/kg d'aliment (Stéphan *et al.*, 1995), valeur beaucoup plus faible que celle définie par Stéphan *et al.* (1995) (320 mg/kg d'aliment) et Chaiyapechara *et al.* (2003) (300 à 500 mg/kg d'aliment) pour pouvoir tirer les avantages de ses propriétés antioxydatives. Dans les régimes contenant 30% de lipides, une teneur de 300 à 1500 mg de vitamine E/kg d'aliment peut réduire le taux d'oxydation lipidique dans les filets de poisson (Sau *et al.*, 2004).

c) L'astaxanthine

Les caroténoïdes sont des molécules dont la structure chimique est constituée de 40 carbones (Collins, 2001). Ils peuvent être divisés en deux groupes : les carotènes contenant seulement des atomes de carbone et d'hydrogène tels que le β-carotène, et les xanthophyles, tels que la cantaxanthine et l'astaxanthine, qui contiennent des atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène (Waldenstedt *et al.*, 2003). Les caroténoïdes sont liposolubles (Allain, 2000). Ils sont associés à de nombreux effets sanitaires bénéfiques. Des études épidémiologiques ont montré une relation inversement proportionnelle entre la présence des caroténoïdes en taux élevé dans l'aliment et le développement de cancers et de maladies vasculaires (Li *et al.*, 2004) et cardiovasculaires (Mercke Odeberg *et al.*, 2003). Ils diminuent également le risque de maladies dégénératives et de cataracte (Krinsky, 1994). Ils sont impliqués dans le système immunitaire chez le poisson (Amar *et al.*, 2004), et surtout ont une activité antioxydative importante *in vitro* et *in vivo*.

Deux aspects semblent être particulièrement importants *in vivo* : l'efficacité en terme de diminution de la peroxydation lipidique et la capacité de ces molécules à moduler les taux endogènes des autres antioxydants (Krinsky, 1993). Selon Collins (2001), ils agissent en tant qu'antioxydants en bloquant les radicaux libres. Cependant, l'action antioxydante la mieux connue des caroténoïdes est leur capacité à désactiver l'oxygène singulet (Di Mascio *et al.*, 1990 ; Paiva et Russel, 1999). En effet, il semble d'après Di Mascio *et al.* (1991) que la capacité des caroténoïdes à désactiver la molécule de dioxygène dépend du nombre de doubles liaisons que contient ce caroténoïde. D'autre

part, les caroténoïdes qui ont quatre substituants carbonyles (oxo), tels que l'astaxanthine et la cantaxanthine, ont une grande capacité de désactivation par rapport aux caroténoïdes alkyles tels que le β- carotène.

L'astaxanthine, dont la structure est montrée par la figure 7, est liposoluble et est retrouvée dans les algues. On la trouve aussi accumulée dans les muscles de saumon, de truite et d'autres animaux aquatiques. En plus de son rôle dans le fonctionnement du système immunitaire par l'augmentation du nombre des cellules T et des macrophages, son rôle antioxydatif a été démontré (Tolliver, 2001). En effet c'est un antioxydant efficace *in vitro* et *in vivo* (Kurashige *et al.*, 1990 ; Bell *et al.*, 2000), et il s'agit à ce niveau du caroténoïde le plus puissant (Woodall *et al.*, 1997 ; Jacobsson *et al.*, 2004). Des études réalisées sur le rat (Nishigaki *et al.*, 1994), le saumon (Bell *et al.*, 2000) et le lapin (Jacobsson *et al.*, 2004), ont montré que l'astaxanthine est plus puissante encore que l'α-tocophérol. Elle est en effet 10 fois plus puissante que les autres caroténoïdes et 100 fois plus puissante que l'α-tocophérol. Elle est appelée de ce fait « Super vitamine E » (Lorenz, 2000 ; Chien *et al.*, 2003). Il semble que son efficacité particulière réside dans sa capacité à protéger la double couche lipidique, en surface et à l'intérieur des membranes cellulaires (Goto *et al.*, 2001).

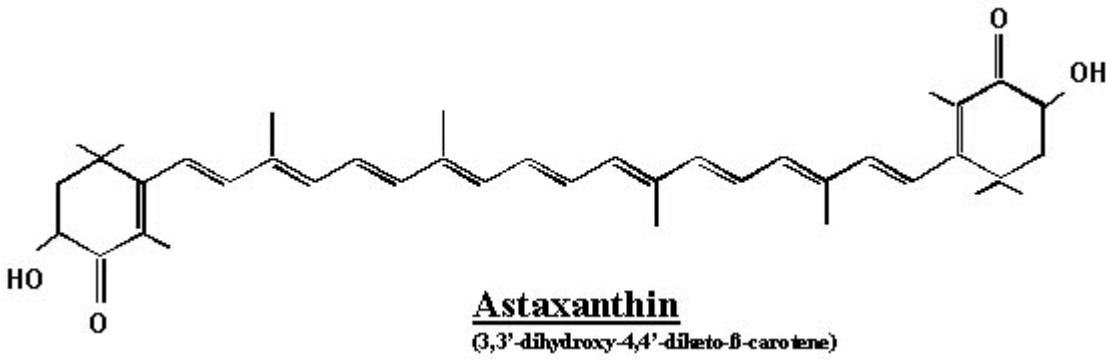

Figure 7 : Structure moléculaire de l'astaxanthine
(d'après Palozza et Krinsky, 1992).

d) Effet synergique des antioxydants

L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants, entre ceux qui ont la capacité à inactiver les radicaux libres et inhiber la propagation des réactions radicalaires, et ceux qui préviennent la formation de ces radicaux libres.

L'acide ascorbique joue un rôle synergique avec la vitamine E en tant qu'antioxydant intracellulaire et dans le piégeage des radicaux libres (Halver, 1980). L'interaction entre les deux vitamines a été examinée chez certaines espèces de poissons, telles que la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), le saumon atlantique (*Salmo salar*) et l'esturgeon des lacs (*Acipenser fulvescens*) (Lee et Dabrowski, 2003). L'effet synergique des vitamines C et E s'explique par le fait que la première est hydrosoluble et la deuxième liposoluble. La vitamine C élimine les radicaux d'oxygène en phase aqueuse, tandis que la vitamine E agit au niveau de la membrane cellulaire, le noyau chromane du tocophérol étant à la surface de la cellule et la chaîne phytyl incrustée dans la double couche lipidique (Allain, 2000). Au niveau cellulaire, les fortes concentrations de vitamine E se trouvent donc dans les membranes et les mitochondries. Cette interaction entre les deux vitamines peut exister non seulement dans les solutions homogènes, mais aussi dans les systèmes membranaires liposomiaux, au niveau desquels les vitamines C et E résident séparément à l'extérieur et à l'intérieur des membranes (Wahli *et al*., 1998).

Selon Lee et Dabrowski (2003), il a été suggéré l'existence de deux différents mécanismes d'interaction entre les vitamines C et E : effet synergique de protection simultanée en phase aqueuse et dans la double couche phospholipidique contre l'oxydation, et effet régénérateur de la vitamine C sur les radicaux tocophéroxyls. En effet, lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, la vitamine C passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Pincemail, 2003). Selon Wahli *et al.* (1998), le noyau chromane oxydé sur le groupe OH lors des réactions radicalaires, est transformé en α-tocophérol, radical peu réactif, relativement stable et qui est régénéré en

tocophérol par l'acide ascorbique ou le glutathion, selon le schéma montré sur la figure 8. Selon les mêmes auteurs, l'effet synergique entre la vitamine C et E réduit la peroxydation des phospholipides membranaires au niveau du foie.

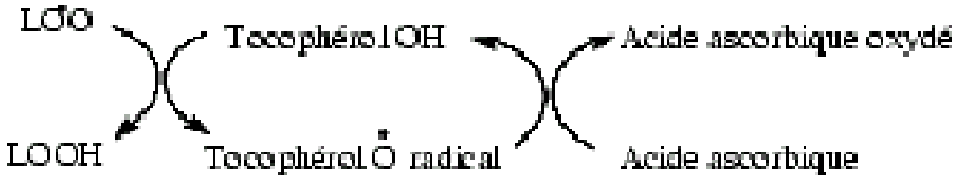

Figure 8 : Regénération de la vitamine E à partir de la vitamine C (d'après Allain, 2000).

Des études récentes ont suggéré que les caroténoïdes, y compris le -carotène, l'astaxanthine et la cantaxanthine agissent synergiquement avec la vitamine E (Bell *et al.*, 2000). En effet, il a été prouvé que l'effet antioxydatif combiné des carotènes et tocophérols est supérieur à celui de ces antioxydants agissant individuellement (Bragadóttir, 2001).

I.2. La perche commune

I.2.1. Systématique

La perche appartient au genre *Perca*, famille des percidés (*Percidae*), sous-famille des percinés (*Percinae*), ordre des perciformes (*Percomorphi*), sous-ordre des percoidés (*Percoidei*), classe des actinoptérigiens (*Actinopterygii*). L'espèce *Perca fluviatilis* décrite par Linné en 1758, est appelée communément la perche commune, ou également la perche eurasienne.

L'ordre des perciformes est le plus grand groupe des vertébrés. Au sein de ce groupe, on constate une grande diversité morphologique et morphométrique. Pourtant, les espèces appartenant à cet ordre possèdent de nombreux caractères en commun. Leur corps est généralement comprimé latéralement et recouvert d'écailles (cténoïdes ou cycloïdes, voire parfois mixte dans certains *taxa*). Les perciformes sont physoclistes, c'est à dire que le canal pneumatique reliant la vessie natatoire et l'intestin est obturé. Ils ont ordinairement deux nageoires dorsales, la première est surmontée par des rayons épineux durs, tandis que la deuxième est généralement mole, mais jamais adipeuse. Leur bouche est protractile et garnie de dents uni- ou pluricuspides (Nelson, 1994).

I.2.2. Morphologie

La perche est vivement colorée. Elle présente une robe rayée caractéristique, olive doré interrompue par 6 à 9 bandes sombres verticales. Les nageoires pelviennes et anale sont colorées en orange vif ou rouge, tandis que les pectorales qui surplombent derrière chaque opercule sont moins colorées. La partie ventrale est blanc clair. La perche possède un corps recouvert d'écailles et les adultes développent avec l'âge une bosse dorsale en arrière de la tête. La bouche est très caractéristique : large et proéminente avec des lèvres membraneuses (Dabrowski, 1982). La perche a une nageoire dorsale double : la première est fortement épineuse avec des taches sombres

visibles sur la base des deux dernières épines, par contre la deuxième a des rayons mous (Craig, 2000) (voir figure 9).

Figure 9 : La perche commune *Perca fluviatilis* (Linné, 1758).

I.2.3. Biologie

I.2.3.1. Croissance et mortalité

La longévité de la perche varie de 6 à 22 ans. En terme de croissance, cette espèce montre une certaine plasticité. Elle est souvent causée par la conjugaison de facteurs abiotiques (température, photopériode, oxygène...) et biotiques (alimentation, compétition...). On peut observer cette variabilité de croissance en comparant la croissance moyenne de différentes populations, la croissance moyenne des classes d'âge au sein d'une même population et la croissance individuelle dans une classe d'âge (Craig, 2000). La perche atteint habituellement 30 à 40 cm et pèse 500 g à 2 kg (Pecl, 1991). Cependant, elle peut atteindre une taille maximale de 51 cm et un poids de 4,75 kg (Froese et Pauly, 2003).

La mortalité des individus sauvages est généralement causée par la prédation, le parasitisme et sûrement par la sénescence. Le taux de mortalité au sein de la population varie, notamment en fonction de la classe d'âge. Chez les juvéniles, la mortalité est essentiellement due à la prédation intra-fratrie ou inter-groupes. Elle pourrait se produire également par suite d'indisponibilité en nourriture à l'issue d'une forte compétition intra ou interspécifiques. Chez les adultes, la mortalité est plutôt due à la sénescence. La mortalité causée par le parasitisme n'épargne aucun stade de développement (Craig, 2000).

I.2.3.2. Régime alimentaire

La perche est un poisson chasseur visuel opportuniste. Elle se nourrie essentiellement au crépuscule et à l'aube, lorsque les proies commencent à être plus facilement disponibles (Tamazouzt *et al*., 2000). Les jeunes alevins se nourrissent surtout de zooplancton (Craig, 1978 ; Guma'a, 1978 ; Coles, 1981), plus tard de petits invertébrés. Lorsqu'ils atteignent 20 cm de long, les adultes deviennent prédateurs (piscivores) et consomment de petits poissons, y compris leurs propres alevins (Pecl, 1991). Persson

et al. (2000) et Craig (2000) suggèrent que les jeunes perches deviennent piscivores déjà à la taille de 13 à 18 cm.

Le cannibalisme est très fréquent chez cette espèce. Ce sont surtout les jeunes dans leur première année et ceux d'un an qui souffrent de cette prédation intraspécifique. En effet, les individus de 16 à 20 cm portent leur comportement piscivore sur les jeunes de 6-8 cm (Persson *et al*., 2000).

I.2.3.3. Reproduction

Communément, le mâle perche devient sexuellement mature dès l'âge de 2 ans, c'est à dire 1 ou 2 années avant la femelle. Toutefois, lorsque les conditions de croissance sont très bonnes, la maturité sexuelle peut être avancée (Thorpe, 1977).

Chez la femelle, les deux gonades sont soudées en un ovaire unique. En période de reproduction, les sujets matures présentent des caractéristiques morphologiques particulières permettant leur sexage. En effet la femelle présente un abdomen large et gonflé et le mâle peut émettre de la laitance par simple pression sur son flanc (Craig, 2000).

La maturation des gonades commence dès l'automne. Elle consomme une grande partie de l'énergie accumulée par les tissus somatiques durant l'année (10% pour les mâles et plus de 80% pour les femelles) (Treasurer, 1983).

Chez la perche, une période de plusieurs mois à des températures inférieures à 10-12°C (vernalisation) est un facteur indispensable pour déclencher la gamétogenèse (Mélard *et al*., 1996). L'augmentation combinée de la température et de la photopériode en fin d'hiver amorce la maturation finale des gamètes (Gillet *et al*., 1995) .

La ponte a lieu une fois par an (Thorpe, 1977) (poisson itéropare à ovogenèse synchrone). Elle se déroule en zone littorale, dans la période d'Avril à Juin (Pecl, 1991). En période de reproduction, des bancs de perches vont migrer vers les frayères

(zones de faible profondeur et abritées de végétations). Les femelles matures vont émettre 100 000 à 200 000 ovules par kg de poisson, groupés par du tissu conjonctif dans un long ruban gélatineux (Treasurer, 1983). Plusieurs mâles le fécondent aussitôt (Craig, 2000).

L'incubation des oeufs nécessite de 120 à 200 degrés-jours, pour une température de 10°C à 18°C. Les taux d'incubation et de développement des oeufs sont en général très bons. Les rubans accrochés aux plantes sont bien oxygénés avec l'agitation de l'eau. Ils ne sont pas consommés par les prédateurs durant une grande partie du développement embryonnaire (Thorpe, 1977 ; Treasurer, 1983).

I.2.4. Ecologie

I.2.4.1. Distribution et habitat

La famille des *Percidae* est essentiellement dulçaquicole et se répartie dans les régions subarctiques ou tempérées, telles que dans le nord de l'Amérique et l'Eurasie (Nelson, 1994). La perche commune est largement répandue à travers l'Europe et l'Asie, mais elle est absente de la péninsule Ibérique (Weatherley, 1963). En plus de la distribution originelle, l'espèce a été introduite avec succès dans d'autres parties du monde, notamment en Afrique du Sud, en Australie et en Nouvelle-Zélande (Thorpe, 1977) (voir figure 10).

La perche est capable de vivre autant dans les eaux courantes que stagnantes, pourtant elle préfère habiter les endroits de refuges tels que sous les pilotis en bois, dans des trous profonds et surtout dans les zones de végétation comme les roseaux où ses rayures se confondent parfaitement. Cela lui offre une protection contre les autres prédateurs, ainsi qu'un camouflage pour la chasse aux bancs de petits poissons (Dabrowski, 1982).

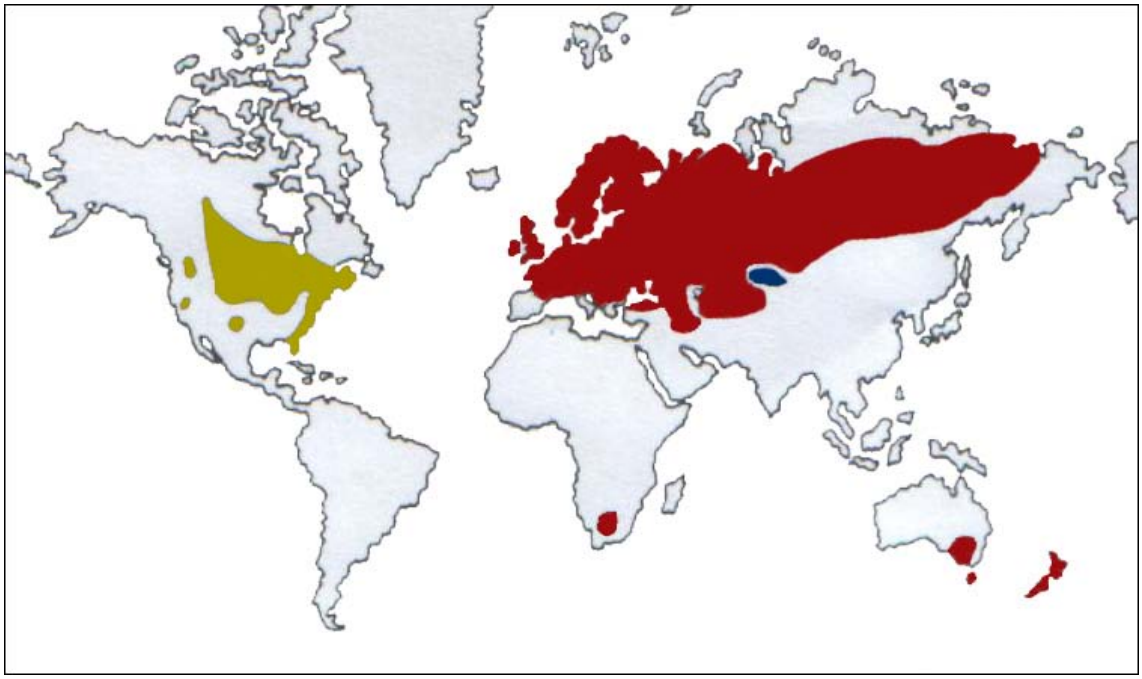

Figure 10 : Distribution mondiale des espèces du genre *Perca* (d'après Craig, 2000).
■ : *Perca fluviatilis* ; ■ : *P. flavescens* ; ■ : *P. schrenkii*

I.2.4.2. Exigences écologiques

La perche est une espèce mésotherme. Néanmoins, la température constitue une limitation à sa distribution, car elle provoque des effets non négligeables sur son métabolisme. En fait, la limite supérieure de sa tolérance avoisine la température isotherme de l'air en été (31°C), tandis que la limite inférieure est moins évidente, affectant plutôt le succès de la reproduction que la survie des adultes. La température préférentielle de croissance se situe dans la gamme de 19°C à 23°C (Mélard *et al.*, 1996), cependant elle s'arrête en dessous de 10°C (Karas, 1990).

La perche est une espèce relativement sensible à la concentration en oxygène dissous. La teneur ne doit pas descendre en dessous de 5 $mg.l^{-1}$. Elle vit dans des eaux de pH neutre ou légèrement basique (7,0 à 8,0). Cependant, les oeufs et les larves de cette espèce sont résistants au pH bas (Craig, 2000).

I.2.5. Elevage de la perche commune

Actuellement, les captures globales de poissons au niveau des pêcheries sont en diminution, du fait notamment de la surexploitation des ressources halieutiques et des changements environnementaux. Par conséquent, toute augmentation dans la demande en matière de produits aquatiques devra pouvoir progressivement être assurée par la production aquacole (Bell *et al*., 2002). En effet, le secteur de l'aquaculture, et plus précisément la pisciculture continentale, est en évolution permanente. Un des axes de la recherche scientifique dans ce domaine est orienté vers la recherche de nouvelles espèces d'intérêt piscicole et leur domestication.

A titre d'exemple, l'élevage de la perche commune *Perca fluviatilis* est actuellement une voie de diversification pour l'aquaculture continentale en Europe (Fontaine, 2004). En effet, cette espèce, qui occupe dans ces régions une place favorable dans la demande des marchés, est consommée sous différentes formes (filet, entier) et dans une large gamme de taille, de 4 à 25 cm (Fontaine, 2004).

Les premiers essais de grossissement chez cette espèce ont permis de caractériser ses performances zootechniques et de déterminer les systèmes de production adéquats pour son élevage (cages flottantes, bassins). L'optimisation des différentes étapes de son cycle de production réside dans la détermination des besoins nutritionnels, la définition des conditions environnementales optimales pour la croissance, le contrôle du cycle de reproduction, ainsi que la sélection et l'amélioration génétique.

Jusqu'à présent, il n'existe pas un aliment spécifique formulé pour la perche. A l'échelle expérimentale, les aliments couramment utilisés en élevage intensif pour cette espèce sont normalement destinés aux salmonidés (saumon, truite...). Ces aliments sont en particulier riches en lipides (jusqu'à une teneur de 30%) (Xu *et al*., 2002). Toutefois, des études ont été menées afin de définir les caractéristiques d'un aliment spécifique, dont la teneur en protéines varie entre 40 et 45% (Fiogbé *et al*., 1996) et la teneur en lipides de 12 à 18%, en présence d'un antioxydant (Xu et Kestemont, 2002).

La perche commune est sensible aux eaux turbides et trop chaudes (>25°C). Sa croissance est faible en eau froide (< 18°C). En conditions d'élevage, la zone thermique optimale est estimée à 20-24°C pour les stades juvénile et adulte, Mélard *et al*. (1994) suggérant un optimum de 23°C nécessaire pour la croissance des larves et des juvéniles. Les variations annuelles de température de l'eau et de photopériode jouent un rôle essentiel dans le déroulement normal du cycle de reproduction. Une diminution simultanée de ces deux facteurs étant nécessaire pour cela. Les larves montrent une préférence pour un environnement très lumineux (intensité lumineuse de 400 lux). Les autres stades préfèrent un environnement plus sombre (10 lux) (Fontaine, 2004). En dehors des facteurs physiques, seuls quelques facteurs chimiques ont été étudiés pour l'élevage de la perche.

La perche est également sensible à certains parasites, tels que *Heteropolaria* sp. ou *Trichodina* sp. Par conséquent, l'élevage en circuit fermé, permettant de contrôler la qualité physico-chimique et sanitaire de l'eau, est le système d'élevage le mieux adapté pour cette espèce (Fontaine, 2004). La densité d'élevage peut être élevée jusqu'à 100 ind./litre pour les premiers stades de développement, sans que cela n'affecte la croissance. En phase de grossissement, des densités élevées (plus de 100 kg/m3) sont tolérées, sans que les performances de croissance ne soient réduites (Fontaine, 2004).

Sur le plan génétique, la perche commune présente un dimorphisme sexuel de croissance en faveur des femelles, et de ce fait, une démarche d'amélioration génétique et de sélection des populations mises en élevage a été engagée. Le but étant soit de produire des populations monosexe femelle, soit de produire des populations triploïdes stériles, dont l'intérêt est d'inhiber la reproduction au profit de la croissance somatique (Fontaine, 2004).

II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans les systèmes de production animale, l'utilisation d'une bonne alimentation est essentielle pour la santé et la qualité du produit d'élevage (Huss, 1999 ; Craig et Helfrich, 2002). En pisciculture, l'objectif est d'obtenir une croissance rapide avec un minimum de nourriture, car celle-ci est la composante principale du coût en aquaculture (Huss, 1999), soit environ 40 à 50% (Craig et Helfrich, 2002). Ainsi, les recherches actuelles dans le domaine de la nutrition des poissons, sont centrées sur la formulation de nouveaux aliments moins coûteux et assurant une croissance optimale et une bonne santé au poisson (Craig et Helfrich, 2002).

II.1. Position du problème

Les espèces piscicoles ont des besoins élevés en protéines par rapport aux espèces terrestres, en particulier celles élevées pour leur production de chair (*i.e*. volailles) (Cahu, 2004). Le rôle de ces protéines dans l'alimentation des poissons vise essentiellement à permettre la croissance musculaire et corporelle, mais aussi elles sont utilisées, au même titre que les lipides, comme source majeure d'énergie métabolique (Tocher, 2003). Cependant les protéines sont les composantes les plus chères dans les aliments pour poissons (Corraze *et al.*, 1999 ; Huss, 1999 ; Nanton *et al.*, 2001), alors que la stratégie aquacole vise à obtenir une meilleure croissance et une bonne qualité du produit, à faible coût. De plus, l'utilisation des protéines est rendue difficile du fait qu'elles apparaissent comme une source de pollution pour l'environnement, en induisant la production par les poissons de déchets azotés polluants (Corraze *et al.*, 1999). Toutefois, en étudiant les besoins nutritionnels chez certaines espèces, il a été démontré que la rétention protéique chez le poisson peut être améliorée par l'augmentation du taux de lipides ou de glucides digestibles dans les aliments (Alvarez *et al.*, 1999 ; Gélineau *et al.*, 2001 ; Cahu, 2004).

L'intérêt porté aux lipides tient à leurs effets bénéfiques et aux avantages qu'ils présentent dans la nutrition animale et en particulier chez le poisson. Outre leur rôle de

vecteurs de composés liposolubles indispensables à l'organisme (Dias *et al.*, 1999 ; Yildiz et Sener, 2004), les lipides constituent un substrat énergétique important pour les poissons, ceux-ci utilisant mal les glucides de ce point de vue (Watanabe, 1982 ; Ando et Mori, 1993 ; Dias *et al.*, 1999). En effet, en termes d'énergie digestible (énergie brute d'un aliment ingéré diminuée de l'énergie brute des fèces), la valeur énergétique d'un gramme de lipides alimentaires est de l'ordre de 37 à 38 kJ, environ 2,5 fois supérieure à celle des glucides et 1,8 fois supérieure à celle des protéines (Kestemont, 2002). L'intérêt de l'utilisation des lipides comme source d'énergie consiste alors à réduire au maximum l'utilisation des protéines, tout en optimisant leur conversion efficace pour une croissance rapide. C'est l'effet d'épargne protéique selon lequel l'augmentation de la teneur en lipides des aliments permet d'améliorer les performances de croissance et d'efficacité alimentaire, et ce même si la teneur en protéines est faible.

Le rôle nutritionnel des lipides alimentaires est également de fournir aux poissons les acides gras essentiels, non synthétisés par l'organisme (Watanabe, 1982 ; Dias *et al.*, 1999 ; Kestemont, 2002 ; Yildiz et Sener, 2004). Il s'agit des acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGLPI) comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA = 20:5(n-3)), l'acide docosahexaénoïque (DHA = 22:6(n-3)) et l'acide arachidonique (AA = 20:4(n-6)) (Halver, 1980 ; Sargent *et al.*, 1999 ; Xu et Kestemont, 2002 ; Yildiz et Sener, 2004). Par ailleurs, il semble que les besoins des poissons d'eau douce en acides gras essentiels peuvent être couverts par l'apport d'acides gras 18:3(n-3) et 18:2(n-6), étant donnée leur capacité d'élongation et de désaturation. Par contre, chez les espèces marines l'apport direct d'acides gras hautement insaturés EPA et DHA est nécessaire (Bell, 1998 ; Twibell *et al.*, 2001). L'importance des AGLPI dans les processus physiologiques est grande. Ils occupent une fonction primordiale dans le maintien de la structure et de l'intégrité fonctionnelle des membranes cellulaires (fluidité, perméabilité et plasticité) chez ces animaux poïkilothermes (Halver, 1980 ; Abi-ayad, 1998 ; Sargent *et al.*, 1999 ; Lall, 2000 ; Xu et Kestemont, 2002 ; Yildiz et Sener, 2004). Les acides gras essentiels jouent un rôle important dans la diminution de la cholestérolémie chez les animaux et la prévention des maladies cardiovasculaires,

cancéreuses et inflammatoires (Halver, 1980 ; Mathis, 2001 ; Eymard, 2003). Ils sont également impliqués dans certains systèmes enzymatiques (Halver, 1980). Ce sont en fait, des précurseurs d'un groupe d'hormones paracrines très actives biologiquement : les eicosanoïdes (Sargent *et al.*, 1999), médiateurs intercellulaires impliqués dans la réaction inflammatoire.

II.2. Les orientations actuelles

En aquaculture, la tendance actuelle porte sur l'apport quantitatif de lipides dans l'aliment commercial (aliments hautement énergétiques) (Dias *et al.*, 1999 ; Corraze *et al.*, 2002 ; Régost *et al.*, 2002). Chez certaines espèces, telles que le saumon, le taux de lipides incorporés dans l'aliment destiné à son élevage atteint actuellement 30% (Bell *et al.*, 2002 ; Xu *et al.*, 2002 ; Cahu, 2004). Il s'agit d'optimiser les performances zootechniques tout en préservant l'environnement, mais aussi améliorer les performances de croissance tout en maintenant la qualité de la chair des poissons (Dias *et al.*, 1999 ; Gélineau *et al.*, 2001 ; Kestemont, 2002).

Toutefois, la réponse vis-à-vis de ces aliments à forte teneur lipidique varie selon les espèces (Dias *et al.*, 1999). Toutes n'ont pas la même capacité d'utilisation de ces lipides comme source d'énergie à la place des protéines (Cahu, 2004). Ainsi chez les espèces sensibles, les aliments riches en lipides peuvent engendrer des conséquences néfastes, telles que la réduction de la croissance et de l'efficacité de conversion alimentaire, des mortalités élevées, de la dystrophie musculaire, de l'anémie et des excès de dépôts lipidiques corporels, un foie gras et pâle (faible contenu en hémoglobine et déficit en acides gras essentiels) (Murai et Andrews, 1974 ; Halver, 1980 ; Watanabe, 1982 ; Cowey *et al.*, 1983 ; Messager *et al.*, 1992 ; Tacon, 1992).

Plusieurs études ont montré qu'un taux élevé de lipides dans les régimes favorisent les dépôts lipidiques au niveau de l'organisme (Watanabe, 1982 ; Dias *et al.*, 1998, 1999 ; Corraze *et al.*, 1999). Les poissons peuvent ainsi être classés (poissons maigres/poissons gras) selon l'organe d'accumulation de ces lipides (Ando *et al.*, 1993). Les principaux sites de stockage lipidique sont : le tissu adipeux périviscéral et

parfois sous-cutané, le foie et les muscles (Dias *et al.*, 1999 ; Gélineau *et al.*, 2001). En effet, selon Henderson et Sargent (1981), la lipogenèse chez le poisson est inhibée quand le taux de lipides dans l'aliment dépasse 10%. Il semble alors que des perturbations au niveau du métabolisme lipidique apparaissent à partir du moment où la capacité naturelle de stockage lipidique chez les espèces est dépassée (Dias, 1999). Les régimes riches en lipides réduisent l'activité des enzymes lipogéniques chez le saumon *Salmo salar* (Dias *et al.*, 1998), le poisson chat américain *Ictalurus punctatus* et les juvéniles de la daurade *Sparus aurata* (Gélineau *et al.*, 2001). Dans ces conditions de mauvaise assimilation, les lipides alimentaires seraient alors orientés principalement vers les sites de stockage (Corraze *et al.*, 1999 ; Huss, 1999). Ainsi, sur la base de l'antagonisme lipophile/hydrophile, les dépôts lipidiques se font au détriment du contenu en eau et en protéines. Le poisson devient ainsi trop riche en calories et cholestérol, et pauvre en protéines ainsi qu'en acides gras essentiels (Hermier *et al.*, 1999). Par conséquent, ce phénomène se fait au détriment aussi de la qualité de la chair du poisson.

L'accumulation des graisses hépatiques a été observée chez de nombreux poissons d'élevage, nourris avec des aliments hautement énergétiques, surtout si ceux-ci sont distribués à satiété. Parmi ces espèces : le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus*, le tilapia hybride *O. niloticus* x *O. aureus*, le morone hybride *M. chrysops* x *M. saxatilis*, la perche commune *Perca fluviatilis*, la perchaude *Perca flavescens*, la daurade *Sparus aurata* (Kestemont *et al.*, 2001), la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Daskalov *et al.*, 2000 ; Kestemont *et al.*, 2001), l'aiglefin *Melanogrammus aeglefinus*, la morue *Gadus morhua* (Nanton *et al.*, 2001, 2003) et le poisson chat américain *Ictalurus punctatus* (Murai et Andrews, 1974 ; Kestemont *et al.*, 2001). En outre, chez certaines de ces espèces, l'analyse de l'ultrastructure hépatique a révélé des signes de pathologie. Chez la perche commune (Mélard et Kestemont, 1997 ; Kestemont *et al.*, 2001) comme chez la truite arc-en-ciel (Daskalov *et al.*, 2000), les observations microscopiques effectuées sur le foie ont révélé des modifications notables dans l'organisation cellulaire des hépatocytes, des infiltrations et des accumulations importantes de larges gouttelettes lipidiques et de glycogène dans le cytoplasme des

hépatocytes, induisant une réduction marquée à la fois en taille et en abondance des mitochondries et du réticulum endoplasmique rugueux. Chez le saumon atlantique, des lésions histopathologiques notables ont été observées, indiquant une dégénérescence hépatique (Bell *et al.*, 2000). Il semble que chez le morone hybride, une dégénérescence macro- et microvésiculaire hépatique a été observée, suite à une accumulation de gouttelettes de lipides et de glycogène dans les hépatocytes (Twibell *et al.*, 2000 ; Kestemont *et al.*, 2001).

II.3. État actuel des connaissances sur la problématique

Dans une tentative d'explication de l'origine des perturbations observées chez les espèces d'élevage nourries avec des aliments à haute teneur lipidique, plusieurs hypothèses ont été émises. Parmi les problèmes rencontrés, nous avons déjà évoqué la réduction de la croissance causée par la réduction de la prise alimentaire. En effet, il semble que celle-ci soit attribuée à la diminution de la capacité de l'animal à digérer et assimiler des taux lipidiques élevés ou encore au déséquilibre des acides gras dans le régime (Kestemont *et al.*, 2001). Twibell *et al.* (2001) supposent qu'il existe des différences entre les espèces pour ce qui est du métabolisme des acides gras au niveau du foie et la capacité de l'animal à les utiliser et les transporter aux tissus extrahépatiques, comme source d'énergie ou source d'acides gras essentiels. Cette hypothèse peut être associée à celle suggérant que la faible concentration de lipoprotéines (very low density lipoprotein = VLDL), transporteurs majeurs des lipides hépatiques vers les autres tissus, observée dans le sérum de l'aiglefin *Melanogrammus aeglefinus* (Nanton *et al.*, 2001, 2003) et le tetraodon *Takifugu rubripes* (Ando et Mori, 1993), indique un faible taux de transport de lipides à l'extérieur du foie.

Nous avons cité également le problème des dépôts lipidiques, expliqué par quelques auteurs comme conséquence néfaste de l'utilisation d'aliment hautement énergétique chez certaines espèces d'élevage. Effectivement, Bell *et al*. (2000) ont associé les dépôts lipidiques à une altération au niveau du potentiel d'oxydation qui est peut-être responsable de l'augmentation de la synthèse cellulaire des AGLPI. Au niveau

hépatique, cette accumulation graisseuse est à l'origine de nombreuses pathologies chez le poissons (Tacon, 1992 ; Hermier *et al.*, 1999). En effet, selon Ando *et al.* (1993), les animaux ayant un foie gras sont généralement considérés comme étant dans un état pathologique. Certains auteurs suggèrent que l'état de cet organe est une conséquence de taux élevés de lipides dans les aliments qui excèdent les besoins du poisson (Kestemont *et al.*, 2001). Toutefois, d'autres auteurs indiquent que l'accumulation des lipides hépatiques est un signe de déficience en acides gras essentiels (Watanabe, 1982 ; Tacon, 1992 ; Kestemont *et al.*, 2001). Cependant, l'hypothèse fréquemment émise pour expliquer les causes de toutes les perturbations observées chez les poissons suite à l'utilisation, en élevage, d'aliment hautement énergétique; est celle de l'oxydation des lipides alimentaires (Murai et Andrews, 1974 ; Halver, 1980 ; Watanabe, 1982 ; Cowey *et al.*, 1983 ; Messager *et al.*, 1992 ; Tacon, 1992 ; Daskalov *et al.*, 2000 ; Kestemont *et al.*, 2001 ; Chaiyapechara *et al.*, 2003 ; Ng *et al.*, 2004).

II.4. Le risque de la peroxydation lipidique

D'une manière générale, on désigne par la peroxydation lipidique le processus d'altération et de détérioration des lipides, ou plus particulièrement des acides gras polyinsaturés de la série (n-3) (AGPI (n-3)). Elle peut avoir lieu aussi bien *in vitro* (lipides alimentaires) qu'*in vivo* (organismes vivants) (Favier, 2001). On parle généralement du rancissement oxydatif qui affecte la qualité organoleptique (Tacon, 1992 ; Alvarez *et al.*, 1998). Reflétant le rôle important des AGPI (n-3) dans les processus physiologiques chez les poissons (Tocher, 2003), ces derniers représentent eux-mêmes une source très riche en acides gras essentiels, contrairement aux animaux terrestres (Corraze, 1997 ; Ibrahim *et al.*, 1997 ; Bell, 1998 ; Corraze *et al.*, 1999 ; Huss, 1999 ; Sargent *et al.*, 1999 ; Bell *et al.*, 2000 ; Lall, 2000 ; Huang *et al.*, 2003). Or, leur valeur nutritionnelle positive pour le poisson, peut devenir un facteur négatif du fait que les AGPI sont très sensibles aux attaques peroxydatives, surtout les plus insaturés d'entre eux (AGPI (n-3)) (Halver, 1980 ; Stéphan *et al.*, 1995 ; Corraze, 1997 ; Dias *et al.*, 1999 ; Tocher *et al.*, 2002, 2003 ; Eymard, 2003). Les AGPI oxydés

sont néfastes pour la santé du poisson et à l'origine de nombreuses pathologies (Murai et Andrews 1974 ; Messager *et al.*, 1992 ; Tacon, 1992 ; Bell *et al.*, 2000 ; Daskalov *et al.*, 2000 ; Hamre *et al.*, 2001). Il semble que ceux-ci influencent l'activité des lysozymes et de leurs compléments et diminuent l'état immunitaire des poissons (Daskalov *et al.*, 2000). D'où l'intérêt de l'apport, en quantités suffisantes, d'antioxydants alimentaires aux aliments destinés aux animaux d'élevage, en particulier les poissons, dont la composante lipidique est riche en AGPI, et d'autant plus quand les aliments le sont également (Halver, 1980 ; Messager *et al.*, 1992 ; Tacon, 1992 ; Bell, 1998). En l'absence d'une bonne protection antioxydante, les AGPI sont très portés vers l'oxydation (Tacon, 1992 ; Corraze, 1997 ; Siriwardhana *et al.*, 2003).

Par ailleurs, outre leur rôle antioxydatif vérifié par de nombreux auteurs (Halver, 1980 ; Di Mascio *et al.*, 1990, 1991 ; Krinsky, 1993, 1994 ; Stéphan *et al.*, 1995 ; Woodall *et al.*, 1997 ; Paiva et Russell, 1999 ; Bell *et al.*, 2000 ; Lee et Dabrowski, 2003 ; Tocher *et al.*, 2003), l'effet positif de ces antioxydants alimentaires a également été démontré sur certains paramètres biologiques comme le métabolisme lipidique, la croissance, la survie et les maladies. En effet, il semble que les vitamines E et C (Lee et Dabrowski, 2003) et les caroténoïdes (Krinsky 1994 ; Mercke Odeberg *et al*., 2003 ; Li *et al.*, 2004), jouent un rôle important dans la prévention de nombreuses maladies telles que la cataracte, l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires et les cancers. Ils s'avèrent avoir également un rôle dans le maintien des fonctions immunitaires chez la truite arc-en-ciel (Amar *et al.*, 2004 ; Kiron *et al.*, 2004). Ce rôle a été également signalé par Waldenstedt *et al.* (2003).

La croissance est un paramètre biologique très important en aquaculture qui apparaît être affecté par la présence de lipides oxydés. De ce fait, les chercheurs ont voulu tester l'effet de l'incorporation d'antioxydants dans les aliments sur ce paramètre. Tocher *et al.* (2003) ont ainsi montré que l' -tocophérol améliore la croissance et la survie chez la daurade (*Sparus aurata*), et uniquement la survie chez le turbot (*Scophthalmus maximus*) et le flétan (*Hippoglossus hippoglossus*). Il semble également que l'éthoxyquine (Murai et Andrews, 1974) et les caroténoïdes (Amar *et*

al., 2004) influencent positivement la croissance. De plus, un rôle important dans le métabolisme lipidique semble avoir été attribué aux antioxydants. Murai et Andrews (1974) ont montré dans une étude portant sur les interactions entre l'α-tocophérol, l'huile de menhaden oxydée et l'éthoxyquine chez le poisson chat américain (*Ictalurus punctatus*), que l'éthoxyquine et l'α -tocophérol combinés, ont un effet réducteur sur l'accumulation des lipides hépatiques chez les poissons nourris à 100 g d'huile de menhaden oxydée/kg d'aliment. Le rôle de la vitamine E dans le métabolisme lipidique a été également signalé par Watanabe (1982) et Bell *et al.* (2000), celui de l'astaxanthine par Bell *et al.* (2000). Il s'agit en effet de la régulation du processus de désaturation des AGPI (n-3) et (n-6) par la modulation de la chaîne microsomale de transport d'électrons, qui est une composante du complexe de désaturation (Bell *et al.*, 2000).

De tout ce qui a été dit, il s'avère donc impératif de comprendre et ainsi éviter les problèmes d'oxydation lipidique qui peuvent être à l'origine de nombreuses pathologies dégénératives et de mortalités observées en élevage. Il semble également important de mettre en place une stratégie adéquate d'alimentation des espèces d'élevage. Cette stratégie doit regrouper les éléments positifs appréciés par l'éleveur, tels que la baisse du coût de production, la bonne qualité du produit, la croissance rapide, tout en minimisant le risque d'induire un problème de dépôt lipidique au niveau hépatique chez certaines espèces, nourries avec un aliment riche en lipides. Cependant, la formulation d'aliments destinés à plusieurs espèces d'élevage est basée sur des informations limitées sur leurs besoins nutritionnels (Lall, 2000). Le statut nutritionnel ainsi que les caractéristiques physiologiques des espèces en voie de domestication sont pourtant des facteurs importants qui ont des conséquences sur le métabolisme alimentaire et la composition du poisson, ainsi que sur sa capacité à résister aux maladies (Lall, 2000 ; Cahu, 2004). Ils apparaît donc que la stratégie de nutrition qui doit être appliquée chez les espèces ayant une faible capacité d'utilisation des lipides alimentaires doit être différente de celle utilisée pour les espèces tolérant une alimentation très riche en lipides (Cahu, 2004). Cela signifie qu'il faudra d'abord bien connaître les caractéristiques physiologiques et nutritionnelles de l'espèce

considérée, pour ensuite adapter la stratégie de nutrition aux capacités naturelles de cette espèce. Il semble ainsi que les recherches actuelles sur le métabolisme nutritionnel vont être de plus en plus basées sur la biologie moléculaire et l'application des techniques génétiques sur le métabolisme lipidique chez le poisson (Tocher, 2003).

Dans ce contexte, l'étude que nous nous proposons d'effectuer consiste à déterminer chez la perche commune *Perca fluviatilis*, un exemple d'espèce sensible aux phénomènes d'accumulation et de peroxydation des lipides, quel antioxydant ou combinaison d'antioxydants incorporé dans l'aliment, a le meilleur effet quant à ce problème particulier. Il s'agit également d'évaluer, en fonction des différents types d'antioxydants utilisés, les performances de croissance de ce poisson récent dans l'élevage piscicole et dont les besoins nutritionnels sont l'objet de recherches actuelles.

III. MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1. Matériel biologique

Les juvéniles de perche *Perca fluviatilis* utilisés dans notre expérience, ont été produits au niveau de l'Unité de Recherche en Biologie des Organismes (URBO) des Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix (F.U.N.D.P.), Namur (Belgique).

Un total de 540 poissons a été utilisé pour la réalisation de cette expérience. Les poissons étaient répartis initialement en lots de 45 individus par bassin. La biomasse moyenne initiale était de 1098,8 ± 56 g par bassin et le poids moyen individuel était de 24,5 ± 0,6 g.

III.2. Conditions expérimentales

L'expérience s'est déroulée pendant la période allant du 29 Avril 2003 (jour 15 post acclimatation) au 29 Juillet (jour des prélèvements finaux).

Les poissons ont été soumis à une période d'acclimatation de deux semaines, où ils ont été nourris avec le régime référentiel (de base) exempt d'antioxydants, afin de les adapter progressivement aux régimes expérimentaux.

L'expérience a été réalisée en circuit fermé, situé dans les infrastructures de l'URBO. Il est constitué de 12 bassins en polyester d'une contenance utile de 100 litres chacun. Les bassins sont alimentés individuellement en eau recyclée à l'aide d'un système de filtration, constitué d'un filtre mécanique et biologique. Une bonne aération a été également assurée au niveau du filtre et des bassins. Dans la même salle, était installé un réfrigérateur pour le stockage des aliments expérimentaux.

Le suivi des paramètres physico-chimiques a été effectué durant toute la période expérimentale, de manière à assurer les conditions optimales d'élevage pour la perche.

Un contrôle quotidien de la température (T°C) et de l'oxygène (O_2) a été effectué. La température moyenne au cours de l'expérience est de 22,73 ± 0,72°C, le taux moyen d'oxygène est de 8,12 ± 0,38 mg.l^{-1}.

Les nitrites (NO_2^-) et les ions ammonium (NH_4^+) ont été contrôlés régulièrement. La moyenne obtenue au cours de l'expérience est de 0,073 ± 0,06 mg.l^{-1} pour les nitrites et 0,19 ± 0,03 mg.l^{-1} pour l'ammonium. Le débit dans les bassins est de 0,044 l.s^{-1}.
Les poissons morts ont été prélevés, pesés et mesurés quotidiennement. Les bassins ont été régulièrement siphonnés ; le nettoyage complet étant effectué les jours des contrôles (prise des poids individuels et des biomasses).
Les six régimes expérimentaux ont été testés en duplicat, les poissons nourris manuellement *ad libitum* en deux passages, trois fois par jour (09h00, 13h00 et 17h00) les jours de la semaine et une fois par jour pendant le *week-end*. La ration distribuée quotidiennement a été pesée (g).

III.3. Régimes expérimentaux

Les régimes expérimentaux ont été fabriqués au sein de l'URBO. Six régimes iso-énergétiques contenant 45% de protéines (Fiogbé *et al.*, 1996) et 19% de lipides (Xu *et al.*, 2002) ont été fabriqués.
Au régime de base exempt d'antioxydant ont été additionnés trois antioxydants différents à savoir : la vitamine C, la vitamine E et l'astaxanthine, séparés ou combinés. Les pâtes obtenues en mélangeant les ingrédients dans un mixeur (KENWOOD Major electronic), ont trouvé leur forme définitive (boudins fins) à l'aide d'une machine hacheuse (BERKEL) munie d'une grille perforée de trous de 1,5mm de diamètre. Les régimes fabriqués ont été stockés à –20°C en permanence. La composition des différents régimes est détaillée dans le tableau 2.

Avec : R : aliment référentiel sans antioxydants.
E : aliment additionné à la vitamine E.
C : aliment additionné à la vitamine C.
A : aliment additionné à l'astaxanthine.
EC : aliment additionné à la vitamine E et la vitamine C.
ECA : aliment additionné à la vitamine E, la vitamine C et à l'astaxanthine.

Tableau 2. Composition des 6 régimes expérimentaux, additionnés ou non d'antioxydants (Quantités pour 1 kg d'aliment).

Régimes	R	E	C	EC	A	ECA
Caséine	286	286	286	286	286	286
Farine de morue dégraissée[(a)]	200	200	200	200	200	200
Arginine	20	20	20	20	20	20
Huile de Menhaden	190	190	190	190	190	190
Amidon	135	135	135	135	135	135
Attractants[(b)]	10	10	10	10	10	10
CMC	15	15	15	15	15	15
Prémix vitaminé[(c)]	20	20	20	20	20	20
Prémix minéral[(d)]	20	20	20	20	20	20
α-cellulose	104	103,5	103,5	103	103	102
Antioxydants	/	0,5	0,5	1 (e)	1	2 (f)

(a) le protocole de délipidation de la farine est décrit en annexe 1. (b) attractants = 2,5g betaine + 2,5g glycine + 2,5g proline + 2,5g alanine. (c) la composition du prémix vitaminé est montrée en annexe 2.
(d) la composition du prémix minéral est montrée en annexe 2. (e) = 500mg de vit E + 500mg de vit C.
(f) = 500mg de vit E + 500mg de vit C + 100mg d'astaxanthine (à 10% d'activité).
CMC= Carboxymethylcellulose

III.4. Mesures des paramètres biologiques

Les contrôles et prélèvements effectués en début, milieu et fin d'expérience ainsi que le suivi quotidien ont permis de mesurer certains paramètres biologiques à savoir : le taux de croissance, l'efficacité alimentaire, l'indice hépato-somatique, l'indice gonado-somatique, l'indice lipo-somatique, le coefficient de condition K et la survie.

III.4.1. Croissance pondérale

Les poids individuels et les biomasses prises en début et en fin d'expérience ont permis d'estimer le gain de poids en pourcentage (growth = G %) ainsi que le taux de croissance spécifique (specific growth rate = SGR) en pourcentage par jour. Les formules utilisées sont les suivantes:

$$\mathbf{G(\%) = 100*(P_f - P_i) / P_i}$$

Où: G (%) : Croissance
P_f (g) : Poids moyen final
P_i (g) : Poids moyen initial

$$SGR\ (\%.J^{-1}) = ((Ln\ P_f - Ln\ P_i)*\Delta t^{-1})*100$$

Avec: P_f : Poids moyen final.
P_i : Poids moyen initial.
Δt : Durée en jours.

III.4.2. L'efficacité alimentaire

L'efficacité alimentaire, en fonction de la ration totale distribuée et les biomasses initiales et finales ainsi que la biomasse des morts a été calculée selon la formule suivante :

$$EA = (B_f + B_m - B_i)\ Rd^{-1}$$

Avec : Rd : Quantité totale d'aliment distribué (g)
B_f : Biomasse finale
B_m: Biomasse des morts
B_i : Biomasse initiale

III.4.3. Les indices hépato-somatique (IHS), gonado-somatique (IGS) et lipo-somatique (ILS)

Le poids individuel, le poids du foie, des gonades et des graisses périviscérales des poissons pesés lors des prélèvements intermédiaires et finaux, ont permis de calculer les indices hépato-somatiques, gonado-somatiques et lipo-somatiques en pourcentage, selon les formules suivantes :

$$IHS\ (\%) = (P_f / P_t) * 100$$

$$IGS\ (\%) = (P_g / P_t) * 100$$

$$ILS\ (\%) = (P_v / P_t) * 100$$

Avec : P_f (g) : Poids du foie
P_g (g) : Poids des gonades
P_v (g) : Poids des graisses périviscérales
P_t (g) : Poids total

III.4.4. Le coefficient de condition K

Le facteur de condition K correspond au rapport entre le poids total du poisson (g) et sa longueur à la fourche (cm) à la puissance 3.

$$K\ (\%) = 100*P*(L^3)^{-1}$$

Avec: P (g) : Poids total du Poisson
L (cm) : Longueur à la fourche

III.4.5. La survie

La survie des juvéniles en fonction des traitements est exprimée selon la formule suivante :

$$S\ (\%) = (N_f / N_i) * 100$$

Avec : N_f : Nombre final
N_i : Nombre initial

III.5. Détermination de la peroxydation des lipides

Un des objectifs de cette expérience est d'évaluer l'effet de différents antioxydants, notamment sur le métabolisme lipidique du foie de la perche. A cette fin, une des voies possibles est d'évaluer les concentrations en substances peroxydées au niveau du foie et des muscles. Dans ce but, des échantillonnages de foies et de muscles ont été réalisés en début, milieu et fin d'expérience. Ces échantillons correspondant à 5 individus chacun (3 échantillons par bassin) afin d'obtenir suffisamment de tissus en vue des analyses, ont été plongés dans l'azote liquide et ensuite stockés à –80°C.
De même, dans le but d'apprécier l'évolution de l'état d'oxydation des différents régimes expérimentaux, les mêmes analyses que pour les échantillons de tissus ont été effectuées pour les six aliments trois semaines après leur fabrication, et ensuite toutes les deux semaines jusqu'à la fin de l'expérience.

Les substances réactives aux thiobarbituriques (TBARS), produits secondaires de peroxydation de lipides, ont été dosées suivant la méthode de Salih *et al.* (1987) (Annexe 3).

Le dosage du malondialdéhyde est réalisé par condensation en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. Cette réaction est très sensible, même en améliorant les conditions de sa réalisation (conditions de prélèvement, adjonction de conservateur) (Lefèvre *et al.*, 1998). Comme le malonaldéhyde n'est pas le seul produit secondaire d'oxydation des acides gras polyinsaturés à réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA), on préfère parler de substances réactives au TBA (TBARS).

Le broyage des morceaux de foie et des muscles, ainsi que des échantillons d'aliment, a été fait à 11000 rpm, à l'aide d'un Ultra-Turax X 1030 D (planche 1). Après réaction, l'absorption a été mesurée à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre DU 640 BECKMAN.

Les TBARS ont également été dosées pour les six aliments trois semaines après leur fabrication, et ensuite toutes les deux semaines jusqu'à la fin de l'expérience.

La formule utilisée pour le calcul de la quantité de malonaldéhyde est la suivante :

$$\mathbf{C\ (nmoles\ de\ MA/g) = DO*10^{4} * (Pesée)^{-1} * volume\ TCA* 0{,}641*dilution\ (1/2)}$$

Où :

DO : Densité optique

Pesée : Poids de la chair

III.6. Dosage du contenu lipidique du foie

Une partie du foie des cinq individus constituant les échantillons, a été consacrée au dosage du contenu lipidique. Les échantillons étaient conservés à –20°C. Les morceaux de foie ont été broyés à l'aide d'un Ultra-Turax X 1030 D, à 11000 rpm. L'extraction des lipides totaux au niveau du foie a été réalisée suivant la méthode de Folch *et al.* (1957) (Annexe 4). Elle consiste à utiliser le rapport de volume (2:1:1/4, vol/vol/vol) ou 2 volumes de chloroforme, 1 volume de méthanol et ¼ du volume total

(chloroforme + méthanol) d'eau distillée. Le chloroforme est récupéré à l'aide d'un évaporateur rotatif ROTAVAPOR-R (Büchi) (planche 1).

Le pourcentage des lipides totaux a été calculé selon la formule :

Lipides totaux (%) = (Poids des lipides (g) / Poids du tissu (g)) * 100

III.7. Analyse des résultats

L'analyse statistique a été effectuée selon la méthode standard adaptée à notre protocole expérimental (Dagnelie, 1975), consistant à exploiter les résultats obtenus sur des groupes soumis à différents traitements, à savoir une analyse de variance suivie d'une comparaison des moyennes. Les données encodées dans le logiciel Excel (Microsoft, Redmond-WA, USA), ont permis de calculer les moyennes et les variances pour les différents paramètres. L'homogénéité de ces dernières a été vérifiée par le test de Hartley. Une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA I), ainsi qu'un test de comparaison des moyennes de Scheffé et celui de Fisher ont été réalisés sur le logiciel StatView (version pour Windows ; Abacus Concepts, Berkeley-CA, USA) pour mettre en évidence des différences significatives ($P < 0,05$) entre les duplicats et entre les traitements. Tous les résultats sont exprimés en moyenne ± l'écart type (S).

IV. RÉSULTATS

Durant toute la période expérimentale, les conditions optimales pour l'élevage de la perche ont été maintenues stables. Les rations totales distribuées, ainsi que les résultats de croissance, d'efficacité alimentaire, de survie et d'indices morpho-physiologiques obtenus entre traitements, après 90 jours d'expérience, sont montrés dans le tableau 3.

IV.1. Croissance, efficacité de conversion alimentaire et survie

Les poids moyens initiaux des juvéniles de perche étaient homogènes au départ de l'expérience. Il existe une différence significative ($p < 0,05$), au niveau des poids moyens finaux. Une différence significative a été montrée entre les poids moyens des individus soumis aux régimes A, ECA et ceux soumis aux régimes R, E, C et EC. Les moyennes obtenues sont comprises entre 22,04 ± 8,76 g pour le traitement C et 44,72 ± 21,35 g pour le traitement ECA.

Les rations totales distribuées par traitement durant la période expérimentale sont montrées dans la figure 11. Il est à noter que la prise alimentaire chez tous les groupes a augmenté lors de la distribution des régimes nouvellement fabriqués (un mois après le début de l'expérience).

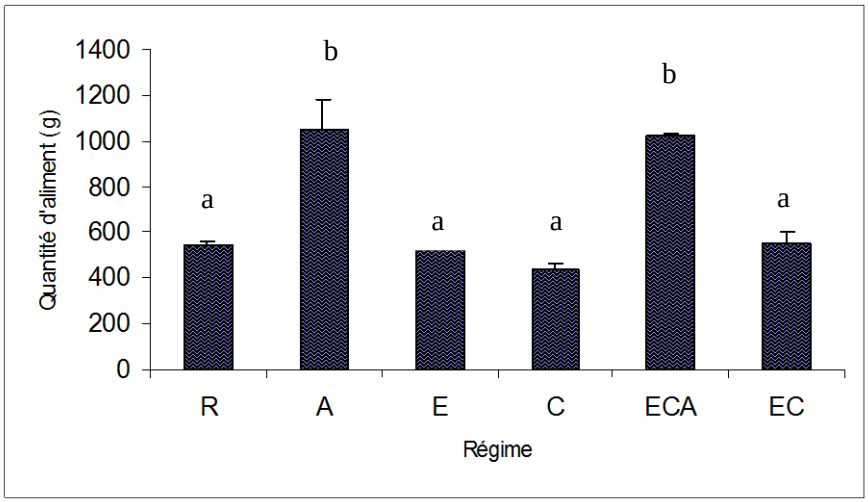

Figure 11 : Quantités d'aliment distribuées aux juvéniles de perche pendant les 90 jours d'expérience (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Une différence significative ($p < 0,05$) a pu être mise en évidence entre les rations totales moyennes distribuées durant les 90 jours d'expérience. En effet, celles des traitements A et ECA sont significativement élevées par rapport à celles des traitements R, E, C et EC. Les valeurs moyennes sont comprises entre 435 ± 30,1 g pour le régime C et 1047 ± 131,2 g pour le régime A.

Une différence significative ($p < 0,05$) a été mise en évidence entre les taux de croissance des différents groupes. En effet, la croissance des perches soumises aux régimes A et ECA était significativement plus élevée par rapport à celle des perches soumises aux régimes R, E, C et EC. Les valeurs moyennes des taux de croissance sont comprises entre –5,58 ± 10,64% pour le régime EC et 83,56 ± 8,45% pour le régime ECA (voir tableau 3).

Les taux de croissance spécifiques (SGR) (fig. 12), sont significativement différents ($p < 0,05$). Les SGR des traitements A et ECA sont significativement élevés par rapport à ceux des traitements R, E, C et EC. Les valeurs moyennes sont comprises entre $–0,07 ± 0,13\%.j^{-1}$ pour le régime EC et $0,67 ± 0,05\%.j^{-1}$ pour le régime ECA.

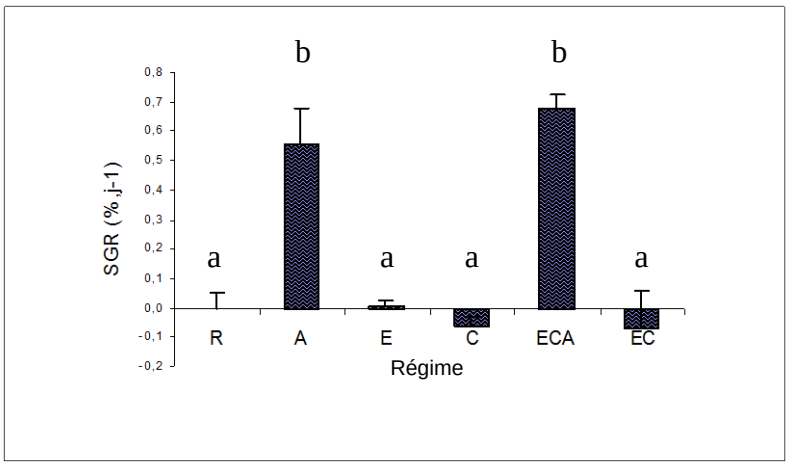

Figure 12 : Influence des différents traitements aux antioxydants sur le SGR des juvéniles de perche élevés durant 90 jours en circuit fermé à 23°C (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

L’efficacité alimentaire moyenne (EA) (fig. 13) est significativement différente ($p < 0,05$) entre les différents groupes. L’EA est significativement plus élevée pour les traitements A et ECA par rapport aux autres régimes. La différence est également significative entre les traitements R et C. La valeur minimale (–0,23 ± 0,02) est obtenue pour le régime C, tandis que la valeur maximale (0,72 ± 0,00) est obtenue pour le régime ECA.

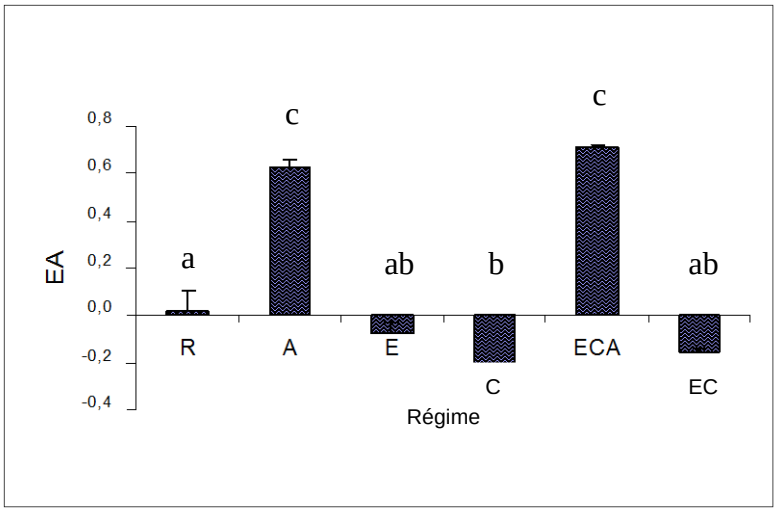

Figure 13 : Influence des différents traitements aux antioxydants sur l’EA des juvéniles de perche élevés durant 90 jours en circuit fermé à 23°C (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Le taux de survie après 90 jours d’expérience est élevé dans tous les groupes. Aucune différence significative n’a pu être mise en évidence ($p > 0,05$) entre les taux de survie pour les différents traitements. Les valeurs sont comprises entre 84,4 ± 9,4% pour les individus soumis au régime C et 96,7 ± 4,7% pour les individus soumis au régime R.

IV.2. Indices morpho-physiologiques

Une différence significative ($p < 0,05$) a été mise en évidence entre les facteurs de conditions (K) des différents groupes. Comparés deux à deux, les différents groupes ne présentaient toutefois pas de différences significatives. Les valeurs moyennes sont comprises entre 0,79 pour le groupe C et 1,05 pour les groupes A et ECA.

La figure 14 montre les valeurs des indices gonado-somatiques, hépato-somatiques et lipo-somatiques pour les différents traitements. Bien que l'allure du graphique montre une différence entre les indices gonado-somatiques (IGS) des groupes ECA et A par rapport aux autres groupes, ces derniers ont été semblables ($p > 0,05$) pour tous les groupes. Les valeurs moyennes sont montrées dans le tableau 3. Elles sont comprises entre 1,06 ± 0,13% pour le traitement R et 1,80 ± 0,06% pour le traitement ECA.

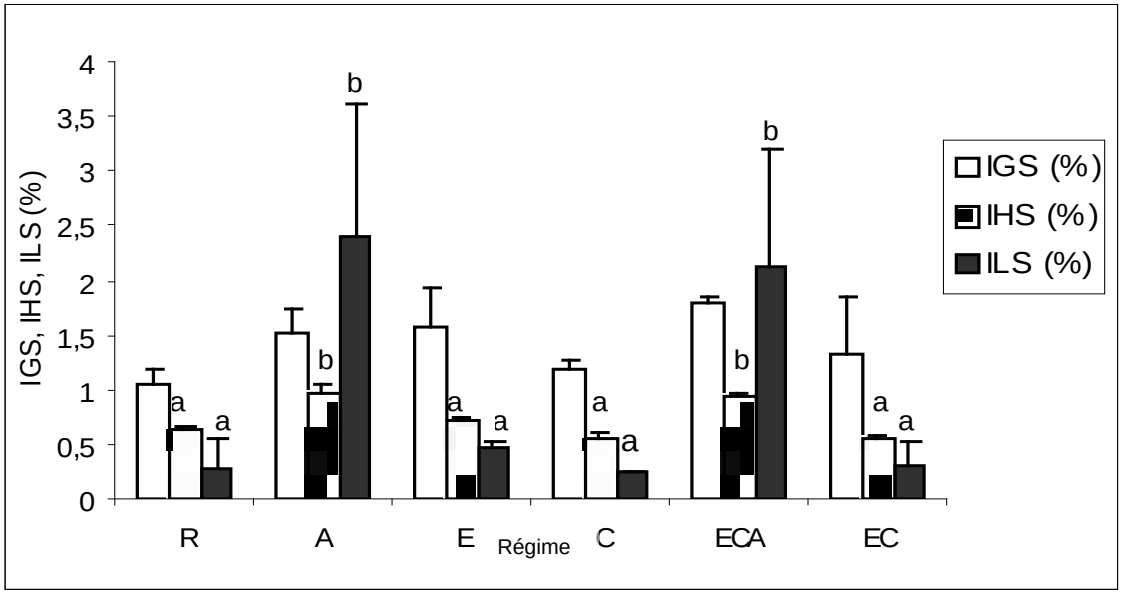

Figure 14 : Influence des différents traitements aux antioxydants sur l'IGS, l'IHS, et l'ILS des juvéniles de perche élevés durant 90 jours en circuit fermé à 23°C (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

L'indice hépato-somatique diffère significativement ($p < 0,05$) entre les différents groupes. Le test de comparaison des moyennes montre que l'IHS des traitements A et ECA est significativement élevé par rapport à celui des traitements R, E, C et EC. Les valeurs moyennes sont comprises entre 0,54 ± 0,07% pour le groupe du régime C et 0,97 ± 0,07% pour ceux du régime A.

En ce qui concerne l'indice lipo-somatique, l'allure du graphique montre une différence entre les groupes ECA et A par rapport aux autres groupes. Cette différence a été mise en évidence ($p < 0,05$). Les valeurs moyennes sont comprises entre 0,23 ± 0,00% pour le traitement C et 2,40 ± 1,24% pour le traitement A.

IV.3. Détermination de la peroxydation des lipides

Le tableau 4 montre les résultats des tests de peroxydation effectués sur le foie et les muscles des juvéniles de perche ainsi que sur les aliments expérimentaux durant la période d'expérience.

IV.3.1. Dosage des TBARS au niveau des muscles

Une différence hautement significative ($p < 0,0001$) a été mise en évidence entre les différents groupes (voir fig. 15). Les valeurs des TBARS sont significativement faibles chez les groupes A et ECA par rapport aux groupes R, E, C et EC. Les concentrations initiales des TBARS sont significativement faibles par rapport aux concentrations finales chez les groupes R et E. Les valeurs moyennes sont comprises entre 4,81 ± 0,11 nmole Malondialdéhyde.g^{-1} chez les groupes soumis au régime A et 11,53 ± 0,22 nmole MD.g^{-1} chez ceux soumis au régime E.

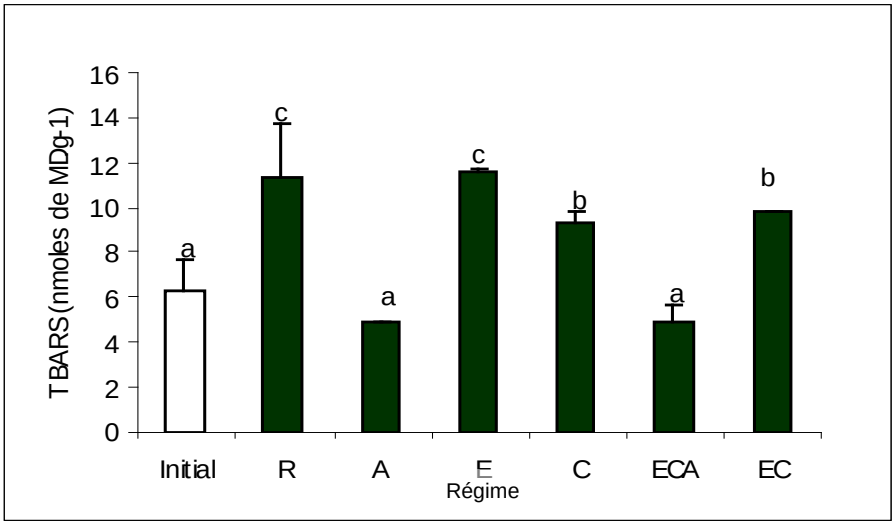

Figure 15 : Evolution du taux des TBARS dans les muscles des juvéniles de perche élevés durant 90 jours en circuit fermé à 23°C (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

IV.3.2. Dosage des TBARS au niveau du foie

Une différence hautement significative ($p < 0,0001$) a été mise en évidence entre les groupes (voir fig. 16). Le test de comparaison des moyennes a montré que les TBARS initiales sont significativement faibles par rapports aux TBARS finales des groupes R, C, et EC. Les TBARS du groupe A sont significativement faibles par rapport à celles du groupe C. Les concentrations chez le groupe ECA sont également significativement faibles par rapport à celles des groupes R, C et EC. Le test de comparaison des moyennes de Fisher ($\alpha = 5\%$) a montré que les concentrations des TBARS sont significativement faibles chez les groupes A et ECA par rapport aux autres régimes. Les valeurs moyennes sont comprises entre 27,43 ± 12,09 nmole MD.g^{-1} pour les TBARS initiales et 85,40 ± 19,79 nmole MD.g^{-1} pour le groupe C.

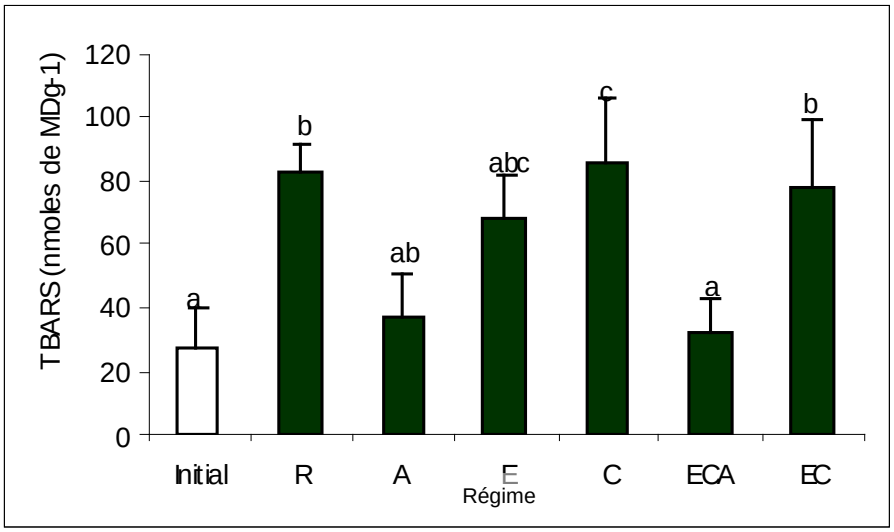

Figure 16 : Evolution du taux des TBARS dans le foie des juvéniles de perche élevés durant 90 jours en circuit fermé à 23°C (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

IV.3.3. Dosage des TBARS au niveau des aliments

L'allure du graphique (fig. 17) laisse supposer une différence significative dans les valeurs des TBARS entre les régimes. Cette différence a été mise en évidence ($p < 0,05$). Les concentrations des TBARS dans les régimes A et ECA sont significativement plus faibles par rapport à celles des régimes R, C et EC. Les valeurs moyennes sont comprises entre 80,9 ± 14,7 nmole MD.g^{-1} pour le régime A et 1892 ± 1150 nmole MD.g^{-1} pour le régime EC.

L'évolution des TBARS au niveau des aliments en fonction du temps, semble montrer pour certains une différence visible. Cette différence a été mise en évidence pour tous les régimes.

Pour le régime R, il n'y a pas de différence significative entre la première et la deuxième fabrication, par contre les valeurs des TBARS augmentent significativement à la fin de l'expérience. Les valeurs moyennes sont comprises entre 986 ± 26 nmole MD.g^{-1} et 2218 ± 803 nmole MD.g^{-1}.

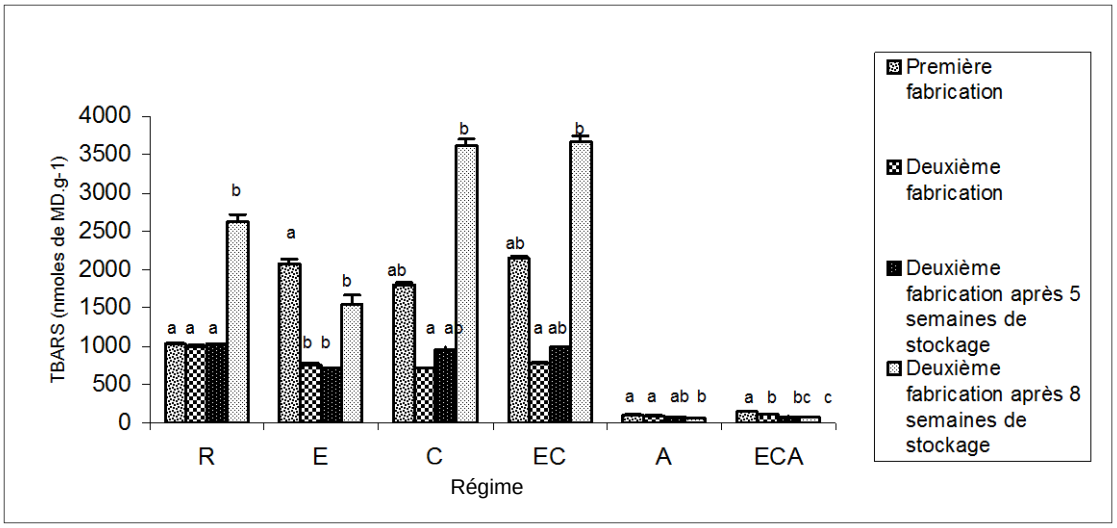

Figure 17 : Evolution du taux des TBARS dans les régimes testés (les catégories portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Pour le régime E, les valeurs des TBARS diminuent significativement entre la première et la deuxième fabrication. L'aliment fabriqué après un mois a gardé son aspect stable jusqu'à la fin de l'expérience, alors que selon les résultats du test de Fisher il a continué à s'oxyder. Les moyennes sont comprises entre 704 ± 4 nmole $MD.g^{-1}$ et 2072 ± 59 nmole $MD.g^{-1}$.

Pour l'aliment C, il n'y a pas de différence significative entre la première et la deuxième fabrication par contre la concentration des TBARS est significativement plus élevée à la fin de l'expérience pour le deuxième aliment fabriqué.

Le profil des TBARS pour l'aliment EC est le même que celui de l'aliment C. La différence significative a été mise en évidence entre la fin de l'expérience et le début pour la deuxième fabrication. Les moyennes sont comprises entre 772 ± 12 nmole $MD.g^{-1}$ et 2998 ± 1343 nmole $MD.g^{-1}$.

En ce qui concerne l'aliment A, bien que l'allure du graphique ne montre pas une diminution notable du taux des TBARS dans l'aliment au cours du temps, une diminution significative de cette concentration dans l'aliment a été mise en évidence

entre la deuxième fabrication et la fin de l'expérience. Cependant, il n'existe pas de différence significative entre les deux fabrications. Les moyennes sont comprises entre 63,1 ± 10,3 nmole MD.g^{-1} et 97,5 ± 4,8 nmole MD.g^{-1}.

L'allure du graphique pour l'aliment ECA ne montre pas une diminution visible de la concentration des TBARS au cours du temps. Cependant une différence hautement significative ($p < 0,0001$) a été mise en évidence. Le taux des TBARS diminue significativement entre la première et la deuxième fabrication et également en fonction du temps. Les valeurs moyennes sont comprises entre 69,5 ± 3,3 nmole MD.g^{-1} et 140 ± 9,3 nmole MD.g^{-1}.

IV.4. Dosage des lipides totaux

La figure 18 montre la concentration des lipides totaux au niveau du foie pour les différents groupes. Les proportions diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les traitements. En effet, les concentrations en lipides totaux sont significativement élevées chez le groupe ECA par rapport au groupe EC. Les moyennes sont comprises entre 1,91 ± 0,85% pour le groupe EC et 6,69 ± 1,94% pour le groupe ECA.

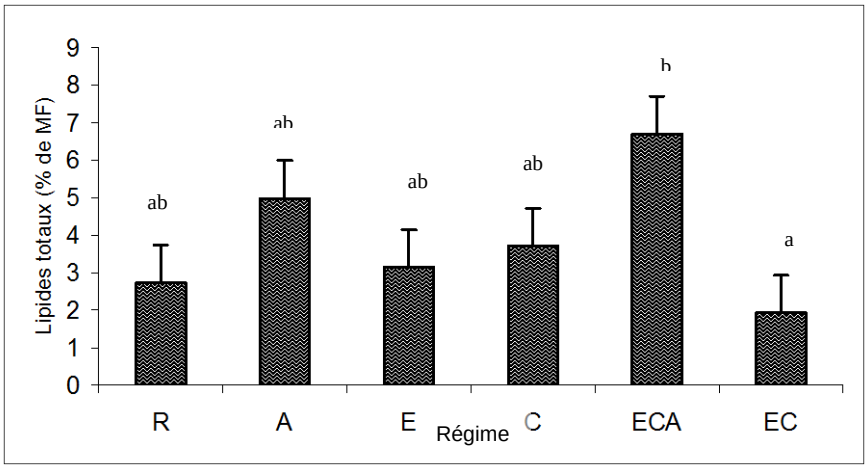

Figure 18 : Influence des différents traitements aux antioxydants sur la proportion des lipides totaux au niveau du foie des juvéniles de perche (les catégories portant de lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

V. DISCUSSION

La perche est un poisson d'élevage qui n'a pas encore d'aliment spécifique. En effet, les pisciculteurs utilisent actuellement des aliments destinés aux salmonidés (Mélard *et al.*, 1996 *in* Mathis *et al.*, 2003 ; Xu *et al.*, 2002). Les résultats obtenus par Kestemont *et al.* (1997) montrent que *Perca fluviatilis* est une espèce particulièrement sensible à l'oxydation des lipides. A cet effet, il apparaît nécessaire d'additionner des antioxydants dans les aliments formulés pour cette espèce (Kestemont *et al.*, 2001). Dans cette optique, notre étude avait comme objectif de tester l'efficacité des différents antioxydants utilisés en tant qu'hépatoprotecteurs via leur utilisation dans les aliments pour perche et leur efficacité sur la croissance de cette espèce.

V.1. Effet des antioxydants sur la prise alimentaire et la croissance

Les résultats obtenus montrent que la prise alimentaire était particulièrement faible chez les groupes R (régime exempt d'antioxydants), E (régime additionné de vitamine E), C (régime additionné de vitamine C) et EC (régime additionné des vitamines E et C) et par conséquent faible pour les taux de croissance spécifiques (SGR) et d'efficacité alimentaire (EA). En revanche, chez les groupes ayant une forte prise alimentaire (régimes A et ECA), nous avons obtenu des valeurs de SGR et de EA comparables à celles obtenues par Mathis *et al.* (2003) en testant un régime à 12% de lipides (SGR = 0,7%.j^{-1} ; EA = 0,7). Cependant Kestemont *et al*. (2001), en testant des régimes expérimentaux avec ou sans ajout d'ethoxyquine comme antioxydant, ont obtenu pour une même efficacité alimentaire que la nôtre (0,7), une croissance meilleure (SGR = 1,4%.j^{-1}). Une expérience sur la perchaude nourrie à l'aliment commercial, contenant différents rapports protéines/énergie, montre que des taux de 10% de lipides et > 40% de protéines semblent bénéfiques pour la croissance (Mathis *et al.*, 2003). Dans notre cas, il est donc envisageable de penser que la valeur énergétique de nos aliments n'était pas adéquate pour assurer une croissance comme celle obtenue par Kestemont *et al*. (2001).

L'effet des antioxydants d'origine alimentaire sur la croissance a été vérifié dans plusieurs études sur les poissons. Selon Amar *et al.* (2004), les caroténoïdes ont un effet positif sur la croissance. Notre expérience semble ici démontrer la même relation avec l'astaxanthine. Le rôle positif de d' -tocophérol a été montré par Tocher *et al.* (2003) chez la daurade (*Sparus aurata*). Cependant, les mêmes auteurs ont signalé que cet antioxydant n'a pas d'effet sur la croissance du turbot (*Scophthalmus maximus*) et du flétan (*Hippoglossus hippoglossus*). Kiron *et al.* (2004) suggèrent également que l'α-tocophérol n'a pas d'effet sur la croissance chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Pour notre part, nous n'avons pas pu mettre en évidence un effet positif de la vitamine E sur la croissance des poissons.

L'analyse des critères morpho-physiologiques nous renseigne également sur l'état des poissons en fin d'expérience. Les résultats obtenus en moyenne (K = 0,8 ; IHS = 0,6% ; ILS = 0,3%) reflètent la faible prise alimentaire et par conséquent la croissance réduite observée dans les groupes R, E, C et EC, contrairement aux groupes A et ECA (K = 1,0 ; IHS = 1% ; ILS = 2,27%). Bien qu'aucune différence significative entre les IGS des différents groupes n'ait pu être mise en évidence, il apparaît tout de même que ceux des groupes A et ECA sont plus élevés que pour les autres groupes. Dans des expériences précédentes sur la perche commune, en testant des concentrations croissantes en lipides, les valeurs d'ILS et d'IHS étaient en moyenne respectivement de 9,9% et 1,45% (Xu *et al*., 2002) et de 8,3% et 1,27% (Kestemont *et al.*, 2001). Ceci suggère que la perche commune accumule le surplus lipidique d'abord au niveau des viscères puis dans le foie (Xu *et al.*, 2002).

V.2. Qualité de l'aliment, antioxydants et oxydation des lipides alimentaires

Le problème d'appétence de l'aliment expérimental a été évoqué par Mélard et Kestemont (1997) dans une expérience sur la perche commune ainsi que par Lygren *et al*. (2000), dans une étude sur le saumon *Salmo salar*. Nous avons rencontré le même problème durant notre expérience. En effet, malgré une longue période d'acclimatation

à la nouvelle formulation des aliments expérimentaux, les perches ont montré une faible prise alimentaire pour certains régimes. L'effet particulier de l'incorporation des vitamines C et E sur l'acceptabilité de l'aliment a été testé par Lee et Dabrowski (2003). Ces derniers suggèrent que la perchaude *Perca flavescens* est davantage attirée par la vitamine C que par la vitamine E, ce qui signifie qu'un régime contenant suffisamment de vitamine C peut stimuler l'appétit et augmenter la prise alimentaire chez cette espèce. Cependant, ce résultat n'a pas été démontré au cours de notre expérience sur la perche commune, puisque même avec l'addition de la vitamine C et/ou la vitamine E, la prise alimentaire est restée faible.

Considérant la couleur de l'aliment commercial distribué pour ces perches avant le début de l'expérience (granulés bruns), nous pouvons supposer que la faible appétence de certains de nos aliments expérimentaux (R, E, C et EC) est liée à leur couleur pâle qui n'est pas attractive pour le poisson. En comparaison, la couleur orange caractéristique des caroténoïdes présentée par les aliments contenant de l'astaxanthine pourrait jouer un rôle attractif pour les perches.

L'explication la plus logique concernant l'appétence de nos aliments expérimentaux est celle fournie par Kestemont *et al.* (1997), Mélard et Kestemont (1997), Cartwright *et al*. (1998) *in* Kestemont *et al*. (2001). En effet ces auteurs montrent la sensibilité de la perche pour les lipides peroxydés. En accord avec ces résultats, nous pouvons suggérer que l'oxydation de la source lipidique (huile de menhaden) utilisée dans la confection de nos aliments expérimentaux puisse être l'origine de la faible appétence de ces aliments pour les perches chez certains groupes. En effet, nous avons remarqué que la prise alimentaire durant le premier mois d'expérience, surtout pour les régimes R, E, C et EC, a augmenté simultanément à la distribution des différents régimes nouvellement fabriqués. Ensuite, elle a de nouveau diminué parallèlement à la peroxydation des aliments s'opérant au cours du temps et de manière plus prononcée pour les régimes R, E, C et EC. D'après Kestemont (2002), l'olfaction joue un rôle important dans la prise alimentaire des poissons et l'odeur des lipides peroxydés peut être dans ce contexte un facteur répulsif.

Dans une étude sur le poisson chat africain *Clarias gariepinus*, Bell *et al*. (2000) ont souligné la notion de stress nutritionnel concernant la présence des lipides oxydés dans l'alimentation des poissons. Ainsi nourris avec un régime contenant de l'huile de poisson oxydée, seule ou avec de faibles concentrations en vitamine E, les *Clarias* ont présenté une augmentation en acides gras 20:4(n-6) et 22:6(n-3) au niveau du foie. Les auteurs ont suggéré que cette augmentation du taux des AGLPI correspondait à un excès de production compensatoire, en réponse à leur peroxydation. Parallèlement à ces résultats, Tocher *et al*. (2003) ont observé chez la daurade *Sparus aurata* et chez le turbot *Scophthalmus maximus* que l'activité des enzymes hépatiques de défense antioxydative était généralement augmentée par la présence dans leur aliment d'huile peroxydée et réduite par l'apport de vitamine E. Par conséquent, la présence de lipides peroxydés dans l'alimentation peut affecter dans un premier temps la prise alimentaire, mais apparaît surtout comme un stress physiologique pour certaines espèces telles que celles précédemment citées.

Les résultats relatifs au dosage des TBARS dans les aliments ont montré que les régimes R, E, C et EC continuent à s'oxyder en fonction du temps, même à –20°C, tandis que A et ECA se sont montrés relativement stables vis à vis du processus de peroxydation. Stéphan *et al.* (1995) montrent que le stockage d'échantillons de muscles pendant six mois à –20°C engendre une augmentation de concentration en TBARS. Parmi les explications avancées concernant la relation entre la congélation et l'augmentation du taux des TBARS, c'est le laps de temps entre la décongélation et l'analyse des échantillons qui semble le mieux expliquer ce phénomène. On peut se demander si, dans notre expérience, le fait de sortir les aliments hors du congélateur (–20°C) pour effectuer brièvement la pesée quotidienne des rations, a stimulé le processus d'oxydation des lipides et donc augmenté le problème de répulsion.

V.3. Stabilité des antioxydants dans l'aliment

Pour ce qui est des vitamines hydrosolubles telles que la vitamine C, l'augmentation de la prise alimentaire résulte souvent dans une brusque augmentation de leur

excrétion par les poissons, ce qui fait dire à Lall (2002) que, en raison de cette perte constatée, il n'y a aucun intérêt à utiliser des taux excessifs de ces vitamines hydrosolubles dans l'aliment. Leeson *et al.* (1998) avancent que malgré le rôle antioxydatif de la vitamine E, cette dernière peut également stimuler les processus oxydatifs lorsqu'elle est surdosée. Les doses minimales et maximales étant très proches, l'estimation d'une dose correcte en vitamine lors de l'intégration dans les aliments pour animaux est délicate à effectuer ; surtout que les besoins peuvent être fonction des espèces et que les études nécessaires à la détermination des doses optimales à incorporer dans les aliments sont peu nombreuses. D'une expérience à l'autre, et selon les espèces, les doses testées sont très différentes, posant ainsi un problème quant à la détermination d'une dose optimale d'efficacité.

Anderson et Sunderland (2002) avancent que les micro-ingrédients, tels que les vitamines, sont facilement endommagés par les processus de fabrication des aliments. La valeur nutritionnelle des vitamines est affectée par leur stabilité, elle-même affectée par la température et l'humidité ainsi que par l'efficacité de leur utilisation. Les résultats obtenus dans ces expériences montrent que la vitamine E n'est pas stable dans le produit final. Sa rétention moyenne dans l'aliment fabriqué est de 67% après extrusion (vaporisation de l'eau contenue dans l'aliment par effets conjugués de la pression et de la température pendant un temps court). Ces mêmes auteurs montrent que l'astaxanthine est assez stable dans le produit final avec un taux de rétention de 86%. Pour ce qui est de la vitamine C, la forme utilisée (ascorbyl-2-monophosphate) est assez stable avec une rétention moyenne dans le produit final de 93%. Cependant, Shiau et Hsu (1993) ont montré qu'environ 75% de la quantité initiale de vitamine C (L-acide ascorbique) dans l'aliment pour poissons peut être perdue durant les processus de fabrication qui se déroulent à température ambiante, du fait de sa nature instable. A cet effet, l'utilisation de dérivés stables de la vitamine C, tel que l'ascorbyl-2-monophosphate, dans l'aliment pour poissons s'avère nécessaire (Tacon, 1992). Selon le même auteur, l'oxydation de la vitamine C peut être également réduite en utilisant des formes protégées du L-acide ascorbique (*i.e.* ethyl cellulose, silicone, gélatine). Cependant, bien que nous ayons utilisé le dérivé stable ascorbyl-2-

monophosphate dans notre expérience, nous avons constaté que l'aliment s'oxydait au cours du temps. Ceci laisse suggérer que la stabilité de cette vitamine et de ses dérivés dépend fortement du processus de fabrication qui à certaines étapes, n'est pas forcément contrôlable (séchage par exemple). Les résultats obtenus dans les expériences que nous venons de citer peuvent fournir une explication par rapport à la prise alimentaire qui s'est montrée faible chez certains groupes au cours de notre expérience. Notons que Xu et Kestemont (2002), dans une étude utilisant des aliments contenant déjà des antioxydants, n'ont pas connu ce type de problème d'oxydation.

V.4. Effet des antioxydants sur la peroxydation lipidique *in vivo*

L'action antioxydative des vitamines E et C et de l'astaxanthine a été mise en évidence par plusieurs auteurs, que ce soit chez les poissons ou chez d'autres animaux d'une manière générale. Ainsi le rôle protecteur de la vitamine E pour le foie a été montré pour plusieurs espèces d'eau douce (Wahli *et al.*, 1998 ; Kestemont *et al.*, 1999 ; Shiau et Hsu, 2003 ; Huang *et al.*, 2003) et d'eau de mer (Stéphan *et al.*, 1995 ; Mourente *et al.*, 2002 ; Tocher *et al*, 2002, 2003). La vitamine C possède également cet effet protecteur (Hamre *et al.*, 1997 ; Wahli *et al.*, 1998 ; Allain, 2000 ; Chien et Hwang, 2001 ; Lee et Dabrowski, 2004). Selon Wahli *et al.* (1998), l'effet synergique entre la vitamine C et la vitamine E induit la réduction de la peroxydation des acides gras au niveau du foie. Cet effet synergique a été également signalé par Halver (1980), Lee et Dabrowski (2003) et Pincemail (2003). Dans notre expérience, les valeurs des TBARS peuvent soutenir l'hypothèse selon laquelle la vitamine C a eu un effet antioxydatif au niveau des muscles plutôt qu'au niveau du foie, alors que l'action de la vitamine E s'est opérée au niveau hépatique. De même, l'effet combiné des deux vitamines semble avoir été efficace au niveau des muscles et du foie. Une explication pouvant être avancée quant à l'action individuelle et combinée des vitamines C et E réside dans leurs niveaux d'action respectifs. En effet, la vitamine C étant hydrosoluble agit en phase aqueuse alors que la vitamine E liposoluble agit au niveau des membranes phospholipidiques. Pour citer Halver (1980), la vitamine C joue un rôle synergique avec la vitamine E en tant qu'antioxydant intracellulaire. Cet effet synergique des deux

vitamines aboutit alors à une bonne protection des systèmes membranaires. De plus selon Allain (2000) et Sealey et Gatlin (2002), la vitamine C peut régénérer la vitamine E en transformant l'α-tocophérol en tocophérol.

L'efficacité de l'astaxanthine, comme nous l'avons déjà expliqué, réside dans sa capacité à protéger les membranes cellulaires en surface et à l'intérieur (Goto *et al.*, 2001). L'effet antioxydatif de ce caroténoïde a été démontré par plusieurs auteurs, tels que Nishigaki *et al.* (1994) chez le rat, Bell *et al.* (2000) chez le saumon, Jacobsson *et al.* (2004) chez le lapin. Dans la présente étude, le rôle antioxydatif de l'astaxanthine est montré à la fois au niveau du foie et du muscle. Cependant, en comparant les deux traitements A et ECA, nous avons constaté qu'au niveau du foie, l'action combinée des trois antioxydants semble avoir un effet meilleur que celui de l'astaxanthine qui agit individuellement. Ceci permet de constater le meilleur effet antioxydatif des vitamines E et C, additionnées à un antioxydant fort comme l'astaxanthine, par rapport à l'action individuelle ou combinée de ces deux vitamines. En effet, Bell *et al*. (2000) et Palozza et Krinsky (1992) suggèrent également l'existence d'un effet synergique entre l'astaxanthine et la vitamine E. De même, selon Bragadóttir (2001), d'une manière plus générale, l'effet antioxydatif combiné des carotènes et tocophérols est supérieur à celui de l'un des deux agissant individuellement. Il apparaît donc y avoir une action combinée positive des trois antioxydants agissant ensemble, liée à leurs modes d'action différents et complémentaires.

En outre, l'incorporation des vitamines C et E dans les aliments pour poissons s'avère essentielle, étant donné leur rôle préventif contre les malformations (lordose, scoliose et déformation de la mâchoire inférieure) (Kestemont, 2002). Il est à noter qu'en fin d'expérience nous avons remarqué l'apparition de déformations au niveau du corps de certaines perches soumises aux traitements R, E, C, EC et A comme signe probable de carence en vitamine C et/ou E. Les mêmes observations ont pu être faites par Aguirre et Gatlin (1999) et Lee et Dabrowski (2003, 2004). En ce qui concerne les aliments R et A, on comprend bien que l'absence des vitamines C et/ou E indispensables pour le poisson soit à l'origine de l'apparition de ces déformations. En revanche pour ce qui est des régimes E, C et EC, on peut se demander alors si la quantité de vitamines

incorporée initialement dans l'aliment ne s'est pas trouvée majoritairement utilisée dans le processus oxydatif.

V.5. Accumulation des lipides hépatiques

Xu et Kestemont (2002) ont observé des concentrations élevées en lipides hépatiques chez la perche d'élevage (> 7%). Nous avons obtenu des concentrations en lipides hépatiques plus élevées chez les groupes présentant un bon appétit (ECA et A, jusqu'à 7%) par rapport aux groupes présentant des taux d'ingestion faibles (R, E, C et EC) et dont les concentrations atteignaient 3%. Cette valeur de concentration lipidique obtenue chez ces derniers est comparable à celles dosées chez les perches sauvages ; des valeurs de 3,4% et de 3,9% étant signalées par Ågren *et al*. (1987), Blanchard *et al*. (2003). En faisant référence aux résultats obtenus par ces auteurs, nous pouvons suggérer une accumulation lipidique au niveau du foie chez les groupes ECA et A. Le problème ne se pose pas pour les autres groupes étant donné leur faible prise alimentaire. Ces résultats obtenus pour les groupes ECA et A semblent confirmer l'hypothèse qu'un taux de 19% de lipides incorporés dans l'aliment de la perche est une valeur élevée.

On peut s'interroger sur l'origine de ce problème d'accumulation des lipides hépatiques et sur son apparition, spécialement chez les groupes qui ont eu une prise alimentaire élevée. A cet effet, Kestemont *et al.* (1997) suggèrent que l'huile de menhaden joue un rôle dans l'apparition de la stéatose hépatique chez la perche d'élevage. Pour notre expérience, nous avons utilisé l'huile de menhaden dans la formulation des régimes. Nanton *et al.* (2001), en testant des concentrations croissantes en lipides (14 à 22%) dans des régimes isoénergétiques, avec de l'huile de hareng comme source lipidique, pour l'aiglefin *Melanogrammus aeglefinus*, montrent que la concentration des lipides hépatiques est proportionnelle à l'augmentation du contenu lipidique dans l'aliment. De ce fait, on peut penser que l'utilisation de l'huile de menhaden dans notre expérience comme source lipidique dans la formulation des aliments pour poissons, peut être partiellement responsable de l'apparition de dépôts

lipidiques au niveau du foie. Ce phénomène est à l'origine de nombreuses pathologies chez certains poissons d'élevage ; ceux-ci n'étant pas capables d'utiliser dans les processus métaboliques ces lipides accumulés, surtout s'ils sont peroxydés.

L'effet des antioxydants sur le métabolisme hépatique a été abordé par plusieurs auteurs. Selon Murai et Andrews (1974), l'effet combiné de l' -tocophérol et de l'ethoxyquine réduit l'accumulation des lipides hépatiques chez le poisson chat américain (*Ictalurus punctatus*) nourris avec un régime contenant l'huile de menhaden oxydée. Watanabe (1982) et Bell *et al.* (2000) ont signalé également le rôle de l' -tocophérol dans le métabolisme des lipides hépatiques. Cependant, Tocher *et al.* (2002), dans une étude comparative des mécanismes de défense antioxydative chez le turbot, la daurade et le flétan, ont montré que le taux de vitamine E dans l'aliment n'avait pas un effet significatif sur le contenu en lipides corporels et même hépatiques chez le turbot et le flétan, alors que chez la daurade le contenu en lipides hépatiques augmente avec la teneur en vitamine E dans le régime. Selon les auteurs, bien que le mécanisme précis à l'origine de ce phénomène ou sa signification physiologique ne soit pas clair, il semble que le dépôt lipidique hépatique constaté chez *Sparus aurata* soit dû à une meilleure prise alimentaire de cette espèce pour l'aliment expérimental. Pour ce qui est de l'astaxanthine, Bell *et al.* (2000) ont suggéré également le rôle de ce caroténoïde dans le processus métabolique lipidique du foie chez le saumon (*Salmo salar*).

Compte tenu des concentrations en lipides hépatiques dosées chez le groupe ECA et A, on peut s'interroger sur le rôle protecteur qu'a joué l'astaxanthine, seule ou combinée aux deux vitamines, contre l'accumulation des lipides hépatiques. A ce stade, il ne nous est malheureusement pas permis de conclure sur le degré d'efficacité de cet antioxydant quant à ce rôle précis. De ce fait, le dosage enzymatique au niveau du foie, l'analyse du profil hépatique en acides gras et l'analyse de l'ultrastructure hépatique fourniront des données supplémentaires qui permettront de conclure sur le problème. La courte durée de ce travail de fin d'étude, ne nous a pas permis d'effectuer ces différentes analyses.

CONCLUSION

Le but de notre étude était de montrer l'effet de l'utilisation des vitamines C et E et de l'astaxanthine en tant qu'antioxydants, sur les performances de croissance, l'état de peroxydation et le contenu lipidique du foie de la perche commune *Perca fluviatilis*. Les résultats permettent de conclure les points suivants :

En ce qui concerne l'aliment :

- L'incorporation de l'astaxanthine en tant qu'antioxydant, seule ou combinée aux vitamines E et C, dans l'aliment formulé pour la perche, assure une très bonne protection de celui-ci contre l'oxydation des lipides.

En ce qui concerne la perche :

- L'incorporation de l'astaxanthine (seule ou combinée aux vitamines C et E) dans l'aliment assure, par rapport aux autres antioxydants testés, une meilleure prise alimentaire et par conséquent une meilleure croissance ainsi qu'une meilleure protection du foie et des muscles contre la peroxydation lipidique chez la perche commune.
- L'action antioxydative de l'astaxanthine est améliorée au niveau du foie par l'addition des vitamines E et C du fait des modes d'action différents et complémentaires de ces trois antioxydants. L'effet antioxydatif de la vitamine E s'est probablement opéré au niveau du foie.

La perche commune est un poisson d'élevage en voie de domestication, sensible au stress et n'ayant pas encore un aliment qui lui soit spécifique. A cet effet, pour l'intérêt de la formulation d'un aliment adéquat pour l'élevage de cette espèce et afin de mieux comprendre l'origine du problème de peroxydation des lipides dans les aliments, il serait intéressant de pouvoir y doser les vitamines C et E en vue de savoir si elles y sont toujours présentes et dans quel état (dénaturées ou non). A ce titre, au cours de

notre expérience, le mode de fabrication des aliments a peut-être eu une influence sur leur qualité organoleptique (peroxydation lipidique) et l'état des vitamines C et/ou E qui y étaient ajoutées. Ces vitamines devraient être dosées également dans les tissus de la perche pour savoir si elles ont joué ou non un rôle physiologique antioxydatif et vérifier ainsi leur effet sur le contenu en lipides hépatiques.

L'amélioration de la composition de l'aliment apparaît nécessaire pour favoriser la prise alimentaire et permettre une comparaison au niveau des performances de croissance. A cet effet, afin de compléter notre étude, l'utilisation d'une source lipidique autre que l'huile de menhaden pourrait présenter une matière à comparaison intéressante. L'attractivité de l'aliment pourrait également être testée en ajoutant des colorants inertes qui n'influencent pas sa composition (considérant que la couleur de l'aliment joue un rôle dans la prise alimentaire chez le poisson).

Références bibliographiques

Abi-ayad, S.-M. E.-A., (1998). Etude expérimentale de la biologie de la reproduction de la perche fluviatile *(Perca fluviatilis)*. Effet de la composition en acides gras de la série (n-3) de l'alimentation des géniteurs sur la qualité des œufs et des larves. Thèse de doctorat, faculté des sciences, Université de Liège, Belgique, 147 p.

Ågren, J., Muje, P., Hänninen, O., Herranen, J., Penttilä, I., (1987). Seasonal variations of lipid fatty acids of boreal freshwater fish species. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 88 : 905-909.

Aguirre, P., Gatlin, D.M., (1999). Dietary vitamin C requirement of red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture Nutrition, 5 : 247.

Allain, P., (2000). Les médicaments. CdM Editions, 500 p.

Alvarez, M.J., López-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*). British Journal of Nutrition, 80 : 281-289.

Alvarez, M.J., López-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. Journal of Animal Science, 77 : 3322-3329.

Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T., (2004). Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish & Shellfish Immunology, 16 : 527-537.

Anderson, J.S., Sunderland, R., (2002). Effect of extruder moisture and dryer processing temprature on vitamin C and E and astaxanthin stability. Aquaculture, 207 : 137-149.

Ando, S., Mori, Y., (1993). Characteristics of serum lipoprotein features associated with lipid levels of muscle and liver from five species of fish. Nippon Suisan Gakkaishi, 59(9) : 1565-1571.

Ando, S., Mori, Y., Nakamura, K., Sugawara, A., (1993). Characteristics of lipid accumulation types in five species of fish. Nippon Suisan Gakkaishi, 59(9) : 1559-1564.

Aurousseau, B., (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur le reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Productions Animales, 15(1) : 67-82.

Ayerza, R., (2002). Chia as an omega-3 fatty acid source for animal and human consumption. Office of Arid Lands Studies, The University of Arizona, Tucson, Arizona, USA. 23 p, http://eatchia.crosswinds.net/Omega3sourcefre.htm

Bankson, D.D., Kestin, M., Rifai, N., (1993). Role of free radicals in cancer and atherosclerosis. Clinics in Laboratory Medicine, 13(2) : 463-480.

Bell, J.G., (1998). Current aspects of lipid nutrition in fish farming. *In*: Black, K.D., Pickering, A.D., (Eds.). Biology of Farmed Fish. Sheffield Academic Press, England, pp. 114-145.

Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., Sargent, J.R., (2000). Depletion of α-tocopherol and astaxanthin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism. Journal of Nutrition, 130 : 1800-1808.

Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., McGhee, F., Campbell, P.J., Sargent, J.R., (2001). Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. Journal of Nutrition, 131 : 1535-1543.

Bell, J.G, Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P., Sargent, J.R., (2002). Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. Journal of Nutrition, 132 : 222-230.

Blanchard, G., Druart, X., Kestemont, P., (2003). Seasonal variations in fatty acid composition and hepatic status of wild Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) during a maturation cycle. PERCIS III. The Third International Percid Fish Symposium. Madison-Wisconsin, USA.

Bragadóttir, M., (2001). Endogenous antioxidants in fish. A literature review. MS thesis, Department of Food Science, University of Iceland. 60 p.

Cahu, C., (2004). Domestication et fonction nutrition chez les poissons. INRA Productions Animales, 17(3) : 205-210.

Cartwright, D.D., Watkins, B., Burgess, J., Warner, K., White, R., Jonker, Y.M., Brown, P.B., (1998). Dietary lipid requirements of juvenile yellow perch. Aquaculture'98, Book of abstracts, WAS, Baton Rouge Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA.

Chaiyapechara, S., Casten, M.T., Hardy, R.W., Dong, F.M., (2003). Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. Aquaculture, 219 : 715-738.

Chien, L-T., Hwang, D-F., (2001). Effects of thermal stress and vitamin C on lipid peroxidation and fatty acid composition in the liver of thornfish *Terapon jarbua*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 128 : 91-97.

Chien, Y.-H., Pan, C.-H., Hunter, B., (2003). The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. Aquaculture, 216 : 177-191.

Coles, T.F., (1981). The distribution of perch, *Perca fluviatilis* L., throughout their first year in Llyn Tegid, North Wales. Journal of Fish Biology, 18 : 15-30.

Collins, A., (2001). Carotenoids and genomic stability. Mutation Research, 475 : 21-28.

Corraze, G., (1997). Modulation de la composition lipidique et de la qualité de la chair de poisson par l'alimentation. *In* : Matières premières en nutrition animale. Communication au colloque CRITT VALICENTRE, Tours, France, 8 p.

Corraze, G., Larroquet, L., Médale, F., (1999). Alimentation et dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel, effet de la température d'élevage. INRA Productions Animales, 12(4) : 249-256.

Corraze, G., Arantzamendi, L., Larroquet, L., Kaushik, S., (2002). Effet des lipides alimentaires sur la constitution des dépôts lipidiques et incidence sur la qualité de la chair de la truite arc-en-ciel. Communication, 4ème Journée Nutrition des Poissons INRA-IFREMER, Bordeaux Aquaculture 2002.

Cowey, C.B., Adron, J.W., Youngson, A., (1983). The vitamin E requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil. Aquaculture, 30 : 85-93.

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

Craig, J.F., (2000). Percid fishes : Systematics, Ecology and Exploitation. Blackwell Science, Oxford, 368 p.

Craig, S., Helfrich, L.A., (2002). Understanding fish nutrition, feeds and feeding. Virginia Cooperative Extension, Publication 420-256.

Dabrowski, K., (1982). The influence of light intensity on feeding of fish larvae and fry. II. *Rutilus rutilus* and *Perca fluviatilis*. Zool. Jb. Physiol., 86 : 353-360.

Dagnelie, R., (1975). Théorie et méthodes statistiques. Vol. 2, Presses Agronomiques de Gembloux, Gembloux, 463 p.

Daskalov, H., Robertson, P.A.W., Austin, B., (2000). Influence of oxidized lipids in diets on the development of rainbow trout fry syndrome. Journal of Fish Diseases, 23 : 7-14.

Dias, J., (1999). Lipid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) : Nutritional regulation of hepatic lipogenesis. Thèse de doctorat, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal. 197 p.

Dias, J., Alvarez, M.J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J.M., Kaushik, S.J., (1998). Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture, 161 : 169-186.

Dias, J., Corraze, G., Arzel, J., Alvarez, M.J., Bautista, J.M., Lopez-Bote, C., Kaushik, S.J., (1999). Contrôle nutritionnel des dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel et le bar : Effet du rapport protéine / énergie des régimes. Cybium, 23(1) suppl. : 127-137.

Di Mascio, P., Devasagayam, T.P.A., Kaiser, S., Seis, H., (1990). Carotenoids, tocopherols and thiols as biological singlet molecular oxygen quenchers. Biochemical Society Transactions, 18 : 1054-1056.

Di Mascio, P., Murphy, M. E., Sies, H., (1991). Antioxidant defense systems : the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. American Journal of Clinical Nutrition, 53 : 194S-200S.

Eymard, S., (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat, Ecole polytechnique de l'Université de Nantes, France. 147 p.

Favier, A., (2001). Le Stress Oxydant, 30 p, http://www2.ujf-grenoble.fr/pharmacie/laboratoires/lbso/Pub/stress/Sommaire.html.

Fiogbé, E.D., Kestemont, P., Mélard, C., Micha, J.C., (1996). The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Aquaculture, 144 : 239-249.

Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H.S., (1957). A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226 : 497-509.

Fontaine, E., (2001). Production et éliminations des radicaux libres oxygénés. Document de cours Chapitre 6, Université Joseph Fourier, Grenoble, France, 4 p.

Fontaine, P., (2004). L'élevage de la perche commune, une voie de diversification pour l'aquaculture continentale. INRA Productions Animales, 17(3) : 189-193.

Ford-Martin, P., (1995). Vitamin C. Gale Encyclopedia of Alternative Medicine, 4 p, http://www.findarticles.com/g2603/0007/2603000728/p1/article.jhtml

Ford-Martin, P., (1995). Vitamin E. Gale Encyclopedia of Alternative Medicine, 5 p, http://www.findarticles.com/g2603/0007/2603000729/p1/article.jhtml

Froese, R., Pauly, D., (2003). Editors. FishBase. http://www.fishbase.org. World Wide Web electronic publication.

Gélineau, A., Corraze, G., Boujard, T., Larroquet, L., Kaushik, S., (2001). Relation between dietary lipid level and voluntary feed intake, growth, nutrient gain, lipid deposition and hepatic lipogenesis in rainbow trout. Reproduction Nutrition Development, 41 : 487-503.

Gillet, C., Dubois, J.-P., Bonnet, S., (1995). Influence of temperature and size of females on the timing of spawning of perch, *Perca fluviatilis*, in Lake Geneva from 1984 to 1993. Environmental Biology of Fishes, 42 : 355-363.

Goto, S., Kogure, K., Abe, K., Kimata, Y., Kitahama, K., Yamashita, E., Terada, H., (2001). Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. Biochimica et Biophysica Acta, 1512 : 251-258.

Griffin, M.E., Wilson, K.A., Brown, P., (1994). Dietary arginine requirement of juvenile hybrid striped bass. Journal of Nutrition, 124 : 888-893.

Guma'a, S.A., (1978). The food and feeding habits of young perch, *Perca fluviatilis*, in Windermere. Freshwater Biology, 8 :177-187.

Halver, J.E., (1980). Lipids and fatty acids. *In* : Fish feed technology. FAO, Rome.

Halver, J.E., (1980). The vitamins. *In* : Fish feed technology. FAO, Rome.

Hamre, K., Kolås, K., Sandnes, K., Julshamn, K., Kiessling, A., (2001). Feed intake and absorption of lipid oxidation products in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets coated with oxidised fish oil. Fish Physiology and Biochemistry, 25 : 209-219.

Hamre, K., Waagbø, R., Berge, R.K., Lie, Ø., (1997). Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Free Radical Biology and Medicine, 22(1-2) : 137-149.

Henderson, R.J., Sargent J.R., (1981). Lipid biosynthesis in rainbow trout, *Salmo gairdnerii*, fed diets differing in lipid content. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 69 : 31-37.

Hermier, D., Salichon, M.R., Guy, G., Peresson, R., Mourot, J., Lagarrigue, S., (1999). La stéatose hépatique des palmipèdes gavés : bases métaboliques et sensibilité génétique. INRA Productions Animales, 12(4) : 265-271.

Huang, C.-H., Chang, R.-J., Huang, S.-L., Chen, W., (2003). Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 134 : 265-270.

Huang, C.-H., Huang, S.-L., (2004). Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed oxidized oil. Aquaculture, 237 : 381-389.

Huss, H.H., (1999). La qualité et son évolution dans le poisson frais. Document technique sur les pêches. FAO, Rome.

Ibrahim, W., Lee, U.-S., Yeh, C.-C., Szabo, J., Bruckner, G., Chow, C.K., (1997). Oxidative stress and antioxidant status in mouse liver : Effects of dietary lipid, vitamin E and iron. Journal of Nutrition, 127 : 1401-1406.

Jacobsson, L.S., Yuan, X.M., Ziedén, B., Olsson, A.G., (2004). Effects of α-tocopherol and astaxanthin on LDL oxidation and atherosclerosis in WHHL rabbits. Atherosclerosis, 173 : 231-237.

Karas, P., (1990). Seasonal changes in growth and standard metabolic rate of juvenile perch, *Perca fluviatilis* L. Journal of Fish Biology, 37 : 913-920.

Kestemont, P., Vandeloise, E., Brown, P.B., Mélard, C., Fontaine, P., (1997). Effects of casein-based diets containing different levels of lipids on survival, growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis. In* : Creswell, L., Harache, Y., (Eds.). Island Aquaculture and Tropical Aquaculture-2nd

International Workshop on Aquaculture of Percid Fish. EAS Special Publication, Oostende, Belgium, pp. 333-334.

Kestemont, P., Xu, X., Blanchard, G., Flahaux, P., (1999). Individual Progress Report. 7 p.

Kestemont, P., Vandeloise, E., Mélard, C., Fontaine, P., Brown, P.B., (2001). Growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis* fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin. Aquaculture, 203 : 85-99.

Kestemont, P., (2002). Alimentation et Nutrition des Poissons. Support de cours, D.E.S. Aquaculture, CUD-Ulg-FUNDP, Belgique, 163 p.

Kiron, V., Puangkaew, J., Ishizaka, K., Satoh, S., Watanabe, T., (2004). Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. Aquaculture, 234 : 361-379.

Krinsky, N.I., (1993). Actions of carotenoids in biological systems. Annual Review of Nutrition, 13 : 561-587.

Krinsky, N.I., (1994). The biological properties of carotenoids. Pure & Applied Chemistry, 66(5) : 1003-1010.

Kurashige, M., Okimasu, E., Inoue, M., Utsumi, K., (1990). Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin. Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR, 22 : 27-38.

Lall, S.P., (2000). Nutrition and health of fish. *In*: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A., Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán, Mexico, pp 19-22.

Lee, K.-J., Dabrowski, K., (2003). Interaction between vitamins C and E affects their tissue concentrations, growth, lipid oxydation, and deficiency symptoms in yellow perch (*Perca flavescens*). British Journal of Nutrition, 89 : 589-596.

Lee, K.-J., Dabrowski, K., (2004). Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. Aquaculture, 230 : 377-389.

Leeson, S., Caston, L., MacLaurin, T., (1998). Organoleptic evaluation of eggs produced by laying hens fed diets containing graded levels of flaxseed and vitamin E. Poultry Science, 77 : 1436-1440.

Lefèvre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F., Bonnefont-Rousselot, D., Cristol, J.P., Thérond, P., Torreilles, J., (1998). Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. Annales de Biologie Clinique, Vol. 56, Numéro 3 : 305-319.

Li, W., Hellsten, A., Jacobsson, L.S., Blomqvist, H.M., Olsson, A.G., Yuan, X.-M., (2004). Alpha-tocopherol and astaxanthin decrease macrophage infiltration, apoptosis and vulnerability in atheroma of hyperlipidaemic rabbits. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 37 : 969-978.

Lorenz, R.T., (2000). NatuRose™ Natural astaxanthin (*Haematococcus* algae meal) as a carotenoid and vitamin source for Salmonids. NatuRose™ Technical Bulletin n°055, Cyanotech Corporation.

Lygren, B., Hamre, K., Waagbø, R., (2000). Effect of induced hyperoxia on the antioxidant status of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed three different levels of dietary vitamin E. Aquaculture Research, 31 : 401-407.

Mathis, N., (2001). Approche des systèmes aquacoles. Laboratoire des Sciences Animales de l'ENSALA-INPL de l'Université Henri Poincaré de Nancy 1. pp 20-35, http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/svt/resourc/regional/MAN/aquaculture/SystAqua.htm

Mathis, N., Feidt, C., Brun-Bellut, J., (2003). Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Aquaculture, 217 : 453-464.

Mélard, C., Baras, E., Desprez, D., Philippar,t J.C., Kestemont, P., (1994). Intensive culture of perch (*Perca fluviatilis*). First results on the effects of stocking density on growth and survival of larvae and juveniles. *In* : Muir, J., Sevilla, F., (Eds.). Measures for success - Metrology and instrumentation in aquaculture management. EAS Special Publication, 21 : 206-207.

Mélard, C., Kestemont P., Grignard, J.C., (1996). Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*P. fluviatilis*) : effect of major biotic and abiotic factors on growth. Journal of Applied Ichthyology, 12 : 175-180.

Mélard, C., Kestemont, P., (1997). Mise au point et développement d'une technologie d'élevage intensif des percidés en région wallonne. Rapport annuel n° 2, 85 p.

Mercke Odeberg, J., Lignell, Å., Pettersson, A., Höglund, P., (2003). Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid based formulations. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 19 : 299-304.

Messager, J.-L., Stéphan, G., Quentel, C., Baudin Laurencin, F., (1992). Effects of dietary oxidized fish oil and antioxidant deficiency on histopathology, haematology, tissue and plasma biochemistry of sea bass *Dicentrarchus labrax*. Aquatic Living Resources, 5 : 205-214.

Mourente, G., Tocher, D.R., Diaz, E., Grau, A., Pastor, E., (1999). Relationships between antioxidants, antioxidant enzyme activities and lipid peroxydation products during early development in *Dentex dentex* eggs and larvae. Aquaculture, 179 : 309-324.

Mourente, G., Diaz-Salvago, E., Bell, JG., Tocher, DR., (2002). Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil : attenuation by dietary vitamin E. Aquaculture, 214(1) : 343-361.

Murai, T., Andrews, J.W., (1974). Interactions of dietary α-tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Journal of Nutrition, 104 : 1416-1431.

Nanton, D.A., Lall, S.P., McNiven, M.A., (2001). Effects of dietary lipid level on liver and muscle lipid deposition in juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. Aquaculture Research, 32 (suppl. 1) : 225-234.

Nanton, D.A., Lall, S.P., Ross, N.W., McNiven, M.A., (2003). Effect of dietary lipid level on fatty acid β-oxidation and lipid composition in various tissues of haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 135 : 95-108.

Nelson, J.S., (1994). Fishes of the world. John Wiley et Sons, Inc., New York, 600 pp.

Ng, W.-K., Wang, Y., Ketchimenin, P., Yuen, K.-H., (2004). Replacement of dietary fish oil with palm fatty acid distillate elevates tocopherol and tocotrienol concentrations and increases oxidative stability in the muscle of African catfish, *Clarias gariepinus*. Aquaculture, 233 : 423-437.

Nishigaki, I., Dmitrovskii, A.A., Miki, W., Yagi, K., (1994). Suppressive effect of astaxanthin on lipid peroxidation induced in rats. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 16 : 161-166.

Page, G.I., Davies, S.J., (2002). Astaxanthin and canthaxanthin do not induce liver or kidney xenobiotic-metabolizing enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 133 : 443-451.

Paiva, S.A.R., Russell, R.M., (1999). β-carotene and other carotenoids as antioxidants. Journal of the American College of Nutrition, 18(5) : 426-433.

Palozza, P., Krinsky, N. I., (1992). Astaxanthin and canthaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. Archives of Biochemistry and Biophysics, 297 : 291-295.

Pecl, K., (1991). Poissons d'eau douce. Adaptation française de B. Faure. Editions Gründ, Paris, 224 p.

Persson, L., Byström, P., Wahlström, E., (2000). Cannibalism and competition in Eurasian perch : Population dynamics of an ontogenetic omnivore. Ecology, 81 : 1058-1071.

Pincemail, J., (2003). Le Stress Oxydant. Comment évaluer votre état de stress oxydant?, 30 p, http://www.probiox.com/html/body_stressoxydant.htm.

Régost, C., Arzel, J., Kaushik, S., (2002). Effet de la nature des lipides alimentaires sur la qualité organoleptique de la chair de la truite fario et du turbot. Communication, 4ème Journée Nutrition des Poissons INRA-IFREMER, Bordeaux Aquaculture 2002.

Rumsey, G.L., (1980). Antioxidants in compounded feeds. *In* : Fish feed technology. FAO, Rome.

Salih, A.M., Smith, D.M., Price, J.F., Dawson, L.E., (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. Poultry Science, 66 : 1483-1488.

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.

Sau, S.K., Paul, B.N., Mohanta, K.N., Mohanty, S.N., (2004). Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. Aquaculture, 240 : 359-368.

Sealey, W.M., Gatlin, D.M., (2002). Dietary vitamin C and vitamin E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀ x *M. saxatilis* ♂) but have limited effects on immune responses. Journal of Nutrition, 132 : 748-755.

Shiau, S.-Y., Hsu, C.-Y., (1993). Stability of ascorbic acid in shrimp feed during analysis. Nippon Suisan Gakkaishi, 59 : 119-124.

Shiau, S.-Y., Hsu, C.-Y., (2002). Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Aquaculture, 210 : 335-342.

Siriwardhana, N., Lee, K.-W., Kim, S.-H., Ha, J.-W., Jeon, Y.-J., (2003). Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. Food Science and Technology International, 9(5) : 339-346.

Spisni, E., Tugnoli, M., Ponticelli, A., Mordenti, T., Tomasi, V., (1998). Hepatic steatosis in articially fed marine teleosts. Journal of Fish Diseases, 21 : 177-184.

Stéphan, G., Guillaume, J., Lamour, F., (1995). Lipid peroxydation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue : effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. Aquaculture, 130 : 251-268.

Tacon, A.G.J., (1992). Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. FAO Fish Technical Paper, n° 330. Rome, FAO, 75 p.

Tamazouzt, L., Chatain, B., Fontaine, P., (2000). Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae (*Perca fluviatilis* L.). Aquaculture, 182 : 85-90.

Thorpe, J.E., (1977). Synopsis of biological data on the perch, *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 and *Perca flavescens* Mitchill, 1804. FAO Fisheries Synopsis, 113 : 138 p.

Tocher, D.R., (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Reviews in Fisheries Science, 11(2) : 107-184.

Tocher, D.R., Mourente, G., Van Der eecken, A., Evjemo, J., Diaz, E., Bell, J.G., Geurden, I., Lavens, P., Olsen, Y., (2002). Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition, 8(3) : 195-207.

Tocher, D.R., Mourente, G., Van Der eecken, A., Evjemo, J., Diaz, E., Wille, M., Bell, J.G., Olsen, Y., (2003). Comparative study of antioxydant defence mechanisms in marine fish fed variable levels of oxydised oil and vitamin E. Aquaculture International, 11 : 195- 216.

Tolliver Maranan, J., (2001). Astaxanthin : this antioxydant shows promise in fighting macular degeneration and boosting immune function. Natural Health, issue : Octobre, 2 p.

Treasurer, J.W., (1983). Estimates of egg and viable embryo production in lacustrine perch, *Perca fluviatilis*. Environmental Biology of Fishes, 8 : 3-16.

Twibell, R.G., Watkins, B.A., Rogers, L., Brown, P.B., (2000). Effects of dietary conjugated linoleic acids on hepatic and muscle lipids in hybrid striped bass. Lipids, 35 : 155-161.

Twibell, R.G., Watkins, B.A., Brown, P.B., (2001). Dietary conjugated linoleic acids and lipid source alter fatty acid composition of juvenile yellow perch, *Perca flavescens*. Journal of Nutrition, 131 : 2322-2328.

Vojdani, A., Bazargan, M., Vojdani, E., Wright J., (2001). New evidence for antioxidant properties of vitamin C. Cancer Detect Prev 2000. Alternative Medicine Review, 24 : 508-523, 1 p.

Waldenstedt, L., Inborr, J., Hansson, I., Elwinger, K., (2003). Effects of astaxanthin-rich algal meal (*Haematococcus pluvalis*) on growth performance, caecal campylobacter and clostridial counts and tissue astaxanthin concentration of broiler chickens. Animal Feed Science and Technology, 108 : 119-132.

Watanabe, T., (1982). Lipid nutrition in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 73(1) : 3-15.

Wells, K.R., (1995). Antioxidants. Gale Encyclopedia of Alternative Medicine, 4 pp, http://www.findarticles.com/cf_dls/g2603/0000/2603000009/p1/article.jhtml

Weatherley, A.H., (1963). Zoogeography of *Perca fluviatilis* (Linnaeus) and *Perca flavescens* (Mitchill) with special reference to the effects of high temperature. Proceedings of the Zoological Society London, 141 : 557-576.

Woodall, A.A., Britton, G., Jackson, M.J., (1997). Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxyl radicals : relationship between carotenoid structure and protective ability. Biochimica et Biophysica Acta, 1336 : 575-586.

Woodall, A.A., Lee, S.W.-M., Weesie, R.J., Jackson, M.J., Britton, G., (1997). Oxidation of carotenoids by free radicals : relationship between structure and reactivity. Biochimica et Biophysica Acta, 1336 : 33-42.

Xu, X., Fontaine, P., Mélard, C., Kestemont, P., (2002). Effects of dietary fat levels on growth, feed efficiency and biochemical compositions of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture International, 9 : 437-449.

Xu, X., Kestemont P., (2002). Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. Lipids, 37 : 297-304.

Yamamoto, Y., Fujisawa, A., Hara, A., Dunlap, W.C., (2001). An unusual vitamin E constituent (α-tocomonoenol) provides enhanced antioxidant protection in marine organisms adapted to cold-water environments. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 98(23) : 13144-13148.

Yildiz, M., Sener, E., (2004). The effect of dietary oils of vegetable origin on the performance, body composition and fatty acid profiles of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) juveniles. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28 : 553-562.

Annexe I

- **Protocole d'extraction des lipides de la farine de Morue**

1- Dans un récipient en verre, mettre 0,5 l d'alcool absolu 99,8°.
2- Poser le récipient sur une plaque chauffante.
3- Ajouter la farine de morue tout en mélangeant (l'alcool doit toujours recouvrir la farine).
4- Placer un thermomètre à l'intérieur du récipient en verre, laisser réagir pendant 30 min à 55°C tout en assurant le mélange.
5- Laisser refroidir.
6- Filtrer la solution sous vide.
7- Récupérer la farine.
8- Recommencer l'opération deux à trois fois, jusqu'à l'obtention d'une bonne extraction.
9- Etaler la farine sur un plateau et la laisser sécher dans l'étuve à 50°C.

Annexe II

Composition du prémix vitaminé et du prémix minéral.

- Composition du prémix vitaminé selon Griffin *et al.*, (1994).

Composition	**%**
Vitamine A 500 000UI/g	0,0500
Vitamine B1 100 %	0,0100
Vitamine B2 80 %	0,0500
Vitamine B3 100 %	0,1000
Vitamine B5 98 %	0,0300
Vitamine B6 100 %	0,1000
Vitamine B7 100 %	3,0000
Vitamine B8 2 %	0,1000
Vitamine B9 80 %	0,0125
Vitamine B12 1g/kg	0,1000
Vitamine D3 500 000 UI/g	0,0500
Vitamine K3 50 %	0,2000
Chlorure de choline 60 %	16,6700
Cellulose	qsp 100 %

- Composition du prémix minéral (en g/kg de prémix).

Minéraux	**Quantité (g/kg)**
Calcium hydrogéno-phosphate	499,91
Carbonate de calcium	215,00
Chlorure de sodium	40,00
Oxyde de magnésium	124,00
Chlorure de potassium	90,00
Sulfate de fer	20,00
Sulfate de zinc	4,00
Sulfate de manganèse	3,00
Sulfate de cuivre	3,00
Sulfate de cobalt	0,02
Iodure de potassium	0,04
Sélénite de sodium	0,03
Fluorure de sodium	1,00

Annexe III

- **Mode opératoire pour la détermination de la peroxydation des lipides (mesure des TBARS), d'après Salih *et al.*, (1987).**

1. Préparation des réactifs

- Acide trichloroacétique (TCA) à 10%

- Dans un cylindre gradué mettre 10% du volume de TCA que vous voulez obtenir.
- Compléter à 100% avec l'eau distillée.

- Buthylhydroxytoluène (BHT), (1mg/ml)

- Peser 50 mg de BHT.
- Les introduire dans une fiole jaugée de 50 ml.
- Ajuster à 50 ml avec de l'éthanol 95°.

- Acide thiobarbiturique (TBA), (0,02 M)

- Peser 0,2882 g de TBA (PM = 144,1).
- Les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml.
- Ajuster à 100 ml avec l'eau distillée.
- Chauffer légèrement pour favoriser la dissolution.

2. Réaction

- Broyer l'échantillon de façon homogène (muscle, foie, aliment).
- Peser maximum 2 g d'échantillon broyé dans un pot en verre.
- Ajouter 30 ml de TCA à 10%.
- Ajouter 200µl de BHT.
- Homogénéiser avec l'Ultra Turax pendant 3mn.
- Placer un papier filtre Whatman GF/A 55 mm sur le côté fritté et filtrer sous vide.
- Prélever 5 ml du filtrat et les introduire dans un tube à essai en verre
- Ajouter 5ml de TBA (0,02M) et agiter au Vortex.
- Placer les tubes dans un bain d'huile et chauffer 30mn à 100°C.
- Refroidir dans un bain de glace pendant 45mn.
- Transférer dans des cuves plastiques et lire la DO au spectrophotomètre à 532 nm.

Annexe IV

- **Mode opératoire pour l'extraction des lipides totaux, d'après Folch *et al.*, (1957).**

Remarque: Etant donné que nos échantillons étaient petits, il n'était pas nécessaire de répéter l'opération de l'extraction une deuxième fois.

L'après midi

- Peser l'échantillon puis découper en petits morceaux à l'aide d'une paire de ciseaux.
- Placer dans un récipient en verre.
- Ajouter 10 ml de méthanol.
- Homogénéiser avec l'Ultra Turax pendant 1mn.
- Ajouter 20 ml de chloroforme pour HPLC.
- Homogénéiser avec l'Ultra Turax pendant 2mn.
- Placer un papier filtre Whatman N°1 et filtrer sous vide.
- Rincer avec 10 ml de méthanol et 20 ml de chloroforme.
- Placer le filtrat dans une ampoule à décanter.
- Ajouter 15 ml d'eau distillée.
- Insuffler de l'azote et agiter fortement.
- Laisser décanter pendant la nuit.

Le lendemain à 09h00

- Recouvrir le fond d'un erlen meyer avec le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4).
- Récupérer la phase inférieure de l'ampoule à décanter dans cet erlen.
- Insuffler de l'azote et réfrigérer pendant 15mn.
- Peser un ballon de 100 ml (bien sec).
- Filtrer dans le ballon, le contenu de l'erlen meyer, sur un filtre accordéon contenant du Na_2SO_4.
- Rincer deux à trois fois l'erlen avec le chloroforme pour HPLC.
- Insuffler de l'azote dans le ballon.
- Placer le ballon sur l'évaporateur rotatif ROTAVAPOR-R (Büchi) (Bain à 30°C et vitesse de rotation sur la position 1).
- Dès que le chloroforme est complètement récupéré dans le ballon de réception, arrêter le système et récupérer le ballon.
- Le ballon bien séché, est pesé.
- Mettre le résidu d'huile obtenu dans une bouteille en verre brun.
- Insuffler de l'azote, et la stocker à –20°C.

Annexe V

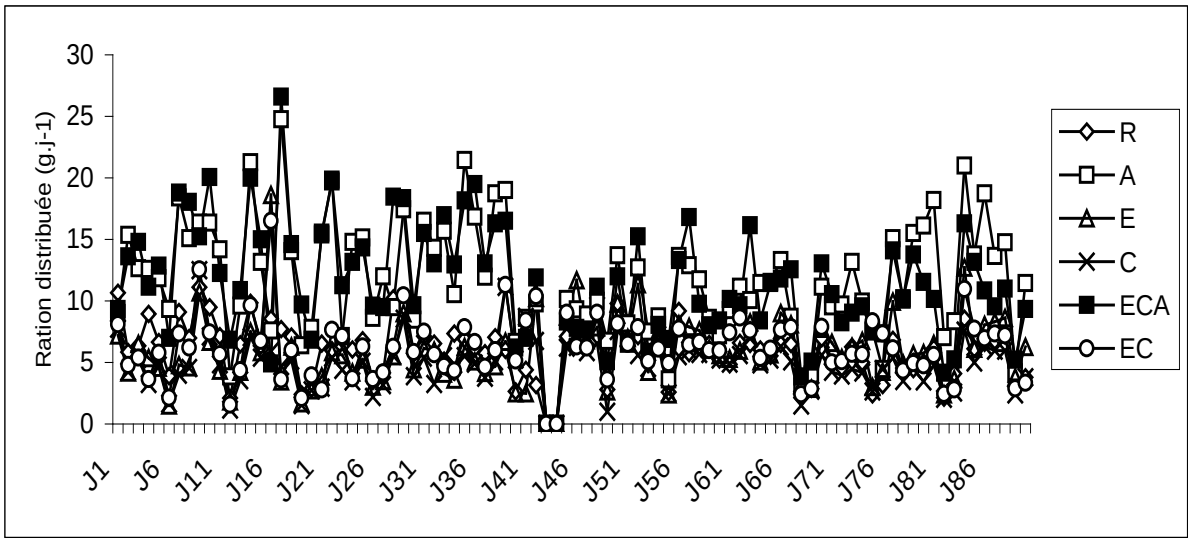

Figure 15 : Rations journalières (exprimées en gramme d'aliment et par jour) distribuées par traitement au cours de l'expérience aux juvéniles de perche.

Tableau 5: Rations journalières ($g.j^{-1}$) distribuées pendant 90j d'expérience.

	R	A	E	C	ECA	EC
J1	10,65	9	7,2	7,75	9,35	8,1
J2	5,85	15,35	4,2	4,25	13,6	4,8
J3	6,35	12,65	6,5	5,3	14,8	5,4
J4	8,95	12,6	5,35	3,25	11,15	3,65
J5	6,645	11,85	4,575	4,745	12,86	5,785
J6	3,9	9,35	1,5	1,65	7	2,15
J7	9,1	18,4	4,8	4	18,8	7,35
J8	7	15,1	4,6	4,55	18,05	6,2
J9	11,1	16,35	10,7	12,5	15,25	12,55
J10	9,5	16,35	6,7	7,1	20,05	7,45
J11	7,15	14,2	4,35	4,85	12,25	5,65
J12	2,115	3,86	1,84	1,185	6,835	1,58
J13	6,475	9,61	4,235	3,565	10,865	4,375
J14	9,85	21,25	7,5	7,05	20	9,65
J15	6,35	13,15	5,85	5,4	15	6,75
J16	8,55	7,6	18,6	5,9	4,9	16,5
J17	7,7	24,75	3,45	4,7	26,6	3,6
J18	7,1	14,05	6,3	5,15	14,6	6
J19	2,4	6,4	1,7	1,55	9,7	2,1
J20	2,85	7,8	2,75	2,75	6,85	3,95
J21	6,55	15,4	3,85	2,95	15,55	2,8
J22	6	19,85	5,85	5,4	19,7	7,65

	R	A	E	C	ECA	EC
J23	6,9	7,15	5,6	4,4	11,25	7,15
J24	6,05	14,8	4,2	3,45	13,15	3,7
J25	6,8	15,15	5,25	5,05	14,35	6,3
J26	3,5	8,6	3,05	2,2	9,6	3,65
J27	4,15	12	3,5	3,15	9,5	4,2
J28	10,2	9,5	5,5	5,55	18,45	6,25
J29	9,55	17,45	9	8,55	18,35	10,45
J30	5,75	8,45	4,45	3,9	9,65	5,85
J31	7,15	16,5	6,15	5,4	15,5	7,5
J32	6,55	14,3	5,95	3,25	13,05	5,65
J33	5,15	15,7	4,1	5,5	16,95	4,7
J34	7,35	10,55	3,6	4,85	12,95	4,35
J35	6,9	21,45	6,25	5,5	18,15	7,85
J36	6,15	16,85	5,1	4,9	19,5	6,65
J37	5,75	11,95	4,15	3,75	13,05	4,65
J38	7,05	18,75	4,7	5,1	16,3	6
J39	6,025	19	6,7	11,15	16,5	11,3
J40	2,65	6,65	2,5	5,25	6,2	5,15
J41	4,4	8,6	2,5	8,7	7	8,4
J42	3,15	9,8	10,25	6,75	11,9	10,4
J43	0	0	0	0	0	0
J44	0	0	0	0	0	0
J45	7,1	10,15	8,75	6,2	8,3	9,05
J46	6,55	9,3	11,7	6,25	7,8	6,3
J47	7,9	8,9	6,8	5,85	7,65	6,2
J48	10,25	10	7,85	6,55	11,15	9,05
J49	2,8	6,75	2,65	1	5,1	3,6
J50	9,8	13,7	9,8	7,55	12	8,15
J51	8,15	8,15	7	7	6,5	6,5
J52	7,15	12,7	11,35	5,6	15,25	7,85
J53	5,8	7,5	4,25	4,55	5,85	5,1
J54	7,85	8,75	7,55	6,25	8,05	6,1
J55	2,6	3,6	2,4	2,5	6,9	4,95
J56	9,2	13,65	8,1	5,5	13,3	7,75
J57	5,75	12,9	7,9	6	16,8	6,45
J58	6,3	11,75	7,6	5,7	9,75	6,65
J59	6,5	8,6	6,1	5,7	8	6
J60	5,25	7,2	5,6	5,25	8,4	5,95
J61	4,85	9,25	5,3	4,9	10,15	7,45
J62	6,6	11,15	5,95	5,6	9,65	8,65
J63	6,5	10,05	8,25	6,95	16,15	7,6
J64	6,05	11,45	5,1	4,85	8,4	5,35
J65	5,55	11,55	5,65	5,25	11,45	6,1
J66	6,5	13,3	9	6,3	11,8	7,65
J67	6,5	8,7	8,1	5,1	12,55	7,85
J68	2,65	3,05	3,15	1,5	3,85	2,4

	R	A	E	C	ECA	EC
J69	2,85	4	2,85	2,7	5,05	2,85
J70	6,95	11,15	7,75	5,6	13,05	7,9
J71	4,85	9,55	6,6	4,25	10,55	5
J72	5,25	9,7	5,35	3,95	8,25	5,1
J73	6,25	13,15	6,25	4,45	9,05	5,7
J74	5	9,95	6,75	4,2	9,55	5,65
J75	2,4	7,6	3	2,65	7,5	8,35
J76	3,15	4,45	4,25	4,45	7,35	7,35
J77	6,85	15,1	9,95	5,35	14,1	6,15
J78	4,55	10,1	4,9	3,5	10,2	4,35
J79	4,45	15,5	5,65	4,45	13,75	4,95
J80	5	16,1	5,75	3,45	11,55	4,75
J81	6,15	18,2	6,5	4,75	10,15	5,6
J82	2,15	7,05	2,4	2,05	4,15	2,45
J83	4,1	8,35	3,65	2,55	5,25	2,8
J84	8,55	21	12,7	7,6	16,3	10,95
J85	6,1	13,75	6,1	5	13,15	7,75
J86	6,6	18,75	8,05	6,3	10,85	6,95
J87	6,75	13,65	8,3	5,95	9,55	7,35
J88	7,2	14,75	8,6	5,95	11	7,2
J89	3,4	4,2	3,8	2,4	5,2	2,9
J90	3,8	11,45	6,25	3,8	9,35	3,35

Annexe VI

- **Tests statistiques.**