



HAL
open science

Traits biologiques d'une espèce invasive, la perche soleil (*Lepomis gibbosus*), dans un réservoir artificiel aux eaux échauffées : reproduction, croissance, longévité

Emmanuel Valente

► To cite this version:

Emmanuel Valente. Traits biologiques d'une espèce invasive, la perche soleil (*Lepomis gibbosus*), dans un réservoir artificiel aux eaux échauffées : reproduction, croissance, longévité. Biologie animale. Université Paul Verlaine - Metz, 2008. Français. NNT : 2008METZ044S . tel-01752608

HAL Id: tel-01752608

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752608>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

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

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



Université de Metz
U.F.R. Sciences Fondamentales & Appliquées
Ecole doctorale RP2E
(Ressources, Procédés, Produits, Environnement)

THESE

présentée par

Emmanuel VALENTE

Pour obtenir le grade de

Docteur

Mention : Sciences de la Vie

Spécialité : Hydrobiologie

TRAITS BIOLOGIQUES D'UNE ESPECE INVASIVE, LA PERCHE SOLEIL (*LEPOMIS GIBBOSUS*), DANS UN RESERVOIR ARTIFICIEL AUX EAUX ECHAUFFEES : REPRODUCTION, CROISSANCE, LONGEVITE.

Soutenue le 14 Novembre 2008 devant la commission d'examen formée de :

J.C. PIHAN, Professeur honoraire, Université Paul Verlaine de Metz
A. MAUL, Professeur, Université Paul Verlaine de Metz
Dr. G. MASSON, Maître de conférences, Université Paul Verlaine de Metz
I. PERES, Professeur, Université Nouvelle de Lisbonne (Portugal)
G.H. COPP, Professeur, CEFAS-Lowestoft (Grande-Bretagne)
Dr. P. FONTAINE, Maître de conférences, Université de Nancy (INRA)
Dr. A.F. FRITSCH, Ingénieur chercheur, E.D.F., R&D./L.N.H.E.
Dr. P. ROCKLIN, Ingénieur, Université de Nancy

Directeur
Directeur
Encadrant
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur



Université de Metz
U.F.R. Sciences Fondamentales & Appliquées
Ecole doctorale RP2E
(Ressources, Procédés, Produits, Environnement)

THESE

présentée par

Emmanuel VALENTE

Pour obtenir le grade de

Docteur

Mention : Sciences de la Vie

Spécialité : Hydrobiologie

TRAITS BIOLOGIQUES D'UNE ESPECE INVASIVE, LA PERCHE SOLEIL (*LEPOMIS GIBBOSUS*), DANS UN RESERVOIR ARTIFICIEL AUX EAUX ECHAUFFEES : REPRODUCTION, CROISSANCE, LONGEVITE.

Soutenue le 14 Novembre 2008 devant la commission d'examen formée de :

J.C. PIHAN, Professeur honoraire, Université Paul Verlaine de Metz
A. MAUL, Professeur, Université Paul Verlaine de Metz
Dr. G. MASSON, Maître de conférences, Université Paul Verlaine de Metz
I. PERES, Professeur, Université Nouvelle de Lisbonne (Portugal)
G.H. COPP, Professeur, CEFAS-Lowestoft (Grande-Bretagne)
Dr. P. FONTAINE, Maître de conférences, Université de Nancy (INRA)
Dr. A.F. FRITSCH, Ingénieur chercheur, E.D.F., R&D./L.N.H.E.
Dr. P. ROCKLIN, Ingénieur, Université de Nancy

Directeur
Directeur
Encadrant
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur



Perche soleil (*Lepomis gibbosus*)

REMERCIEMENTS

Mes premiers sentiments, sincères et profonds, sont adressés au Professeur Jean-Claude PIHAN, mon Directeur de thèse, qui a largement contribué au développement de l'enseignement de la biologie au sein de l'Université Paul Verlaine et de la recherche dans les domaines de l'environnement dans cet établissement.

Ce personnage, difficile à suivre, car débordant d'énergie, m'a invité dans son TGV de sciences et m'a fait découvrir le monde de la recherche. A ses côtés, et durant près de 10 ans, j'ai appris à partager sa passion, ses connaissances, et parfois son activisme.

Jean-Claude PIHAN a dédié une majeure partie de sa vie à allier contraintes socio-économiques et nécessités environnementales. En ce sens, son investissement pour la préservation de notre environnement, bien immuable, ne peut se résumer à ces quelques lignes.

L'enseignement que m'a apporté Jean-Claude Pihan, et que j'espère transmettre à mon tour, est le suivant : « Défendre le bon état de santé de la planète pour les générations futures... ».

Mes remerciements sont également adressés au Professeur Armand MAUL, Co-Directeur de thèse, qui m'a notamment accompagné dans des moments difficiles, à savoir la finalisation du manuscrit de thèse durant cet été 2008. J'exprime une reconnaissance très respectueuse à son égard, d'une part pour sa connaissance de la langue française et son détail de la

ponctuation. D'autre part, et dans un délai très court, Armand MAUL a contribué, plus précisément, à élaborer et valider l'exploitation statistique. Pour cela, je lui en suis extrêmement reconnaissant.

Merci à vous, en tant que statisticien, de porter un tel intérêt à l'écologie et aux préoccupations environnementales, aux travers de mes travaux de recherche, mais également au travers des multiples collaborations que vous avez développées avec le laboratoire d'écologie de Metz, de l'enseignement à la recherche.

Merci à Gérard MASSON, Maître de Conférences et encadrant des mes travaux, qui a toujours été disponible pour me former à la limnologie et, qui a fait de moi un ichtyologue en devenir. Je retiendrai les longues discussions que nous avons eues, dans son bureau ou dans n'importe quel endroit qui pouvait accueillir nos idées. J'exprime un énorme respect envers Gérard MASSON, qui effectue, à lui seul (et avec la participation de divers stagiaires et étudiants passionnés), un énorme travail, depuis près de 20 ans, sur le suivi de l'évolution du peuplement piscicole dans la retenue du Mirgenbach et autres sites régionaux.

Je lui suis très reconnaissant de m'avoir fait confiance, moi qui avais plutôt une formation de « rat de laboratoire » en écotoxicologie.

Plusieurs lignes pourraient être écrites à son égard, mais je retiendrai un aspect de notre collaboration : le côté humain, qui fait parfois (souvent ?) défaut dans les études doctorales. Travailler avec Gérard MASSON, pendant près de 5 ans, a été un réel plaisir.

Je remercie également mes rapporteurs, qui ont jugé mon travail et fait un long déplacement pour assister à ma soutenance. Merci à Isabelle PERES (Portugal) & Gordon. H. COPP (Angleterre). Vos remarques, très constructives, ont permis d'améliorer la version définitive du manuscrit. Dans le futur, j'espère que nous pourrions collaborer à nouveau.

Merci aux autres membres du jury et examinateurs, Pascal FONTAINE, Annie-France FRITSCH & Pascal ROCKLIN, qui ont jugé ce travail. Une pensée particulière pour Pascal ROCKLIN, qui a été mon Directeur au sein du Département Recherche de NANCIE, et avec qui nous, organismes publiques, privés & industriels, avons combattu pour élaborer des programmes de recherche afin de préserver notre environnement, notamment au travers de la Zone Atelier Moselle (ZAM).

Je remercie tous les membres du laboratoire (LIEBE) qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ces travaux.

Merci à Antoinette MEYER pour la réalisation des lames histologiques;

Merci à Philippe WAGNER et Jean-François POINSAINT pour l'aide logistique;

Merci à Catherine DRUI, Nathalie KLEINEN & Maryline GEORGEN pour leur soutien dans le domaine administratif;

Merci à Mireille OLLIVIER pour la gestion du centre de documentation;

Merci à Etienne MORHAIN pour son aide au quotidien (Chimie, Logistique);

Merci à **Philippe ROUSSELLE** pour les analyses physico-chimiques.

Et merci à tous les autres membres du laboratoire et de l'UFR Scí.F.A., qui permettent le bon fonctionnement de la structure.

Je remercie tous les étudiants & stagiaires qui ont participé activement, et dans la bonne humeur, aux travaux réalisés sous la tutelle de Gérard MASSON et Jean Claude PIHAN. Vous êtes trop nombreux pour être cités, alors merci à tous ceux qui m'ont accompagné, que ce soit sur le terrain ou au laboratoire.

Merci également à tous les étudiants du laboratoire, anciens et nouveaux, pour avoir partagé de bons moments, lors de parties de foot, ou encore, lors de soirées chaleureuses. Je retiendrai les réelles amitiés que j'ai pu tisser au cours de ces années. Merci à vous, qui m'avez soutenu, de près ou de loin, à votre façon. Prose Combat ...

Enfin, je remercie ma famille, mes proches et amis très chers, mon groupe de rock, pour avoir supporté mes absences, mes indisponibilités durant ces 5 dernières années. Sans vous, je n'aurais pu aller au terme de ce travail tout en conservant une certaine intégrité mentale.

Et une pensée toute particulière, singulière et pleine d'amour pour mon cœur, celle qui m'accompagne au quotidien ...

Merci à tous.

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un financement de l'ANRT - Association Nationale de la Recherche Technique (Bourse CIFRE) associant l'Université Paul Verlaine de Metz et NANCIE - Centre International de l'Eau. Je remercie le CNPE de Cattenom-EDF pour l'accès au site et sa collaboration ainsi que l'ONEMA de la Délégation Régionale 3 (Champagne-Ardennes- Lorraine- Alsace) pour leur collaboration et leur participation aux captures par pêche électrique.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
---------------------------	----------

1^{ERE} PARTIE : ETAT DE L'ART

CHAPITRE I : EFFETS DE LA TEMPERATURE SUR LA REPRODUCTION DES POISSONS	4
---	----------

I.1. Effets des variations de température en conditions contrôlées sur la reproduction	4
---	----------

I.2. Effets des variations latitudinales de la température sur la reproduction	5
---	----------

I.3. Impacts des rejets thermiques sur la reproduction	6
---	----------

I.4. Changement climatique global et effets sur la reproduction	8
--	----------

CHAPITRE II : BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS	9
--	----------

II.1. Appareil génital femelle : l'ovaire	9
--	----------

II.1.1. Anatomie générale de l'ovaire	9
---	---

II.1.2. Cellules germinales, ovogenèse et développement folliculaire	11
--	----

II.2. Développement folliculaire et stades de maturité ovarienne	15
---	-----------

II.2.1. Développement folliculaire	15
--	----

II.2.2. Stades de maturité ovarienne	20
--	----

II.2.2.1 Stades de maturité ovarienne identifiés de 1 à 4	21
---	----

II.2.2.2. Stades de maturité ovarienne identifiés de 1 à 5	22
--	----

II.2.2.3. Stades de maturité ovarienne identifiés de 1 à 6	23
--	----

II.3. Appareil génital mâle : le testicule	29
---	-----------

II.3.1. Anatomie générale du testicule.....	29
---	----

II.3.2. Organisation testiculaire	30
---	----

II.3.3. Cellules germinales et spermatogenèse	34
---	----

II.3.4. Cellules de Sertoli et de Leydig	36
--	----

II.4. Stades de maturité testiculaire	38
--	-----------

2^{EME} PARTIE : MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE I : SITE D'ETUDE ET REGIME THERMIQUE	42
I.1. Historique et généralités	42
I.2. Caractéristiques thermiques.....	44
I.3. Peuplement piscicole et traits de vie.....	47
CHAPITRE II : LE MODELE BIOLOGIQUE : LA PERCHE SOLEIL (<i>LEPOMIS GIBBOSUS</i>)	48
II.1. Répartition géographique en Europe	48
II.2. Traits de vie de la perche soleil	49
CHAPITRE III : TECHNIQUES DE PECHE, BIOMETRIE, SCALIMETRIE ET FIXATION.....	55
III.1. Techniques de pêche.....	55
III.1.1. Méthodes actives	55
III.1.1.1. La pêche électrique.....	55
III.1.1.2. La senne.....	56
III.1.2. Méthodes passives.....	57
III.1.2.1. Le verveux ou tortue.....	57
III.1.2.2. Les filets maillants verticaux	57
III.2. Biométrie, dissection et fixation des gonades	58
III.3. Estimation de l'âge par scalimétrie.....	59
CHAPITRE IV : ETUDE HISTOLOGIQUE	63
IV.1. Matériel histologique	63
IV.1.1. Protocole de préparation des lames histologiques.....	63
IV.1.2. Méthode d'observation et définition des profils de maturité gonadique	63

3^{EME} PARTIE : RESULTATS

CHAPITRE I : ETUDE DE L'OVOGENESE CHEZ <i>LEPOMIS GIBBOSUS</i> EN MILIEU ECHAUFFE	66
I.1. Organisation ovarienne et follicule ovarien chez <i>Lepomis gibbosus</i>	66
I.2. Description des types cellulaires de l'ovogenèse chez <i>Lepomis gibbosus</i>	66

I.3. Description des stades de maturité ovarienne chez <i>Lepomis gibbosus</i>	89
I.4. Impact de la température sur l'ovogenèse chez la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach.....	96

**CHAPITRE II : ETUDE, EN MILIEU ECHAUFFE, DE LA SPERMATOGENESE
CHEZ *LEPOMIS GIBBOSUS* ET DEFINITION DES PROFILS DE MATURITE
GONADIQUE** 123

II.1. Organisation testiculaire, compartiment germinale et interstitiel.....	123
II.2. Cas d'intersexualité	130
II.3. Définition des profils de maturité gonadique	133
II.4. Distribution des surfaces des cellules sexuelles par profil de maturité gonadique.....	140
II.5. Variation temporelle de l'indice gonado-somatique (IGS).....	146
II.6. Impact de la température sur la spermatogenèse chez la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach.....	147

DISCUSSION & CONCLUSION..... 173

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....180

LISTE DES FIGURES

(HORS PUBLICATIONS INTERCALLEES)

- Figure 1 : Vue générale d'un ovaire de Téléostéens (Syngnathidé) (Begovac et Wallace, 1987)..... 9
- Figure 2 : Coupes transversales représentant, dans le type cystovarien, l'organisation ovarienne en lamelles ovariennes disposées dans la cavité ovarienne et contenant des ovocytes. A : section d'une coupe transversale avec la présence d'ovocytes prévitellogéniques et vitellogéniques (Bruslé et Quignard, 2004) ; B : Coupe transversale de gonade chez *Alcichthys alcicornis* (Koya *et al.*, 1997) ; C : Coupe transversale de gonade chez *Cymatogaster* (Hoar, 1969)..... 10
- Figure 3 : Follicule ovarien composé d'un ovocyte I et de l'enveloppe folliculaire (Zona radiata, cellules folliculaires, membrane basale et thèque) (Bruslé et Quignard, 2004)..... 11
- Figure 4 : Schéma de l'ovogenèse chez les vertébrés. Une ovogonie diploïde génère un ovule haploïde. La multiplication goniale se fait par divisions mitotiques ; la première division méiotique réductionnelle génère l'ovocyte II et le premier globule polaire ; la deuxième division méiotique équationnelle génère l'ovule et le deuxième globule polaire. 12
- Figure 5 : Epithélium germinale chez le crossie blanc ou brochet de mer (*Centropomus undecimalis* ; Téléostei), processus de l'ovogenèse et folliculogénèse (modifié d'après Grier, 2000)..... 14
- Figure 6 : Structure de l'enveloppe folliculaire d'ovule chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) (Hurley et Fischer, 1966). 14
- Figure 7 : Coupes transversales d'ovaires chez des syngnathidés. A : chez *Syngnathus scovelli* (Begovac et Wallace, 1988) ; B : chez *Syngnathus scovelli* (Begovac et Wallace, 1987) ; C : chez *Hippocampus erectus* (Selman *et al.*, 1991). 16
- Figure 8 : Croissance ovocytaire chez *Oryzias latipes* à différents stades de l'ovogenèse (Iwamatsu *et al.*, 1988)..... 16
- Figure 9 : Développement folliculaire chez *Blennius pholis* au cours de l'ovogenèse décomposée en onze phases (Figure 9A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K) (Shackley et King, 1977)..... 20
- Figure 10 : Appareil génital mâle (*Zosterisessor ophiocephalus*) en vue ventrale du testicule (modifié d'après Patzner *et al.*, 1991). 29
- Figure 11 : Section transversale d'un lobule testiculaire (Billard *et al.*, 1982)..... 30
- Figure 12 : Tubule testiculaire chez le Poecilidé *Xiphophorus maculatus*. Les cystes progressent de la droite vers la gauche, depuis les cystes à spermatogonie aux cystes à spermatozoïdes (Kinnberg *et al.*, 2000). 31

Figure 13 : Schéma d'un lobule de type 'non structuré' (A) et d'un lobule 'structuré' (B) ou 'tubule' (Takashima et Hibiya, 1995).	31
Figure 14 : Structure d'un testicule de type 'tubulaire' (A) chez <i>Poecilia</i> et 'lobulaire' (B) chez <i>Salmo trutta</i> (Billard, 1986).	32
Figure 15 : Représentation schématique des deux types d'organisation testiculaire rencontrés chez les téléostéens (modifié d'après Grier, 1993). A : type 'lobulaire' ; B : type 'tubulaire anastomosé' ; C.	33
Figure 16 : Structure d'un lobule de type 'non structuré' représentée selon la progression de la spermatogenèse (modifié d'après Grier, 1993).	33
Figure 17 : Etapes de la spermatogenèse. (Spg : spermatogonie ; Scy : spermatocyte ; Spd : spermatide; Spz : spermatozoïde).	35
Figure 18 : Cycle de la spermatogenèse chez la truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) dans un testicule de type 'lobulaire' (Billard, 1986).	35
Figure 19 : Structure schématique des lobules testiculaires chez les poissons téléostéens à cycle reproducteur annuel (c.g. : cellules germinales ; S. : cellules de Sertoli ; d. : desmosome ; N.(S) : noyau des cellules de Sertoli ; m.b. : membrane basale ; spt. : spermatides ; spz. Spermatozoïdes ; l.l. : lumière centrale du lobule) (Billard <i>et al.</i> , 1972). ..	36
Figure 20 : Le réservoir du Mirgenbach, annexe hydraulique de la centrale électronucléaire de Cattenom.	42
Figure 21 : Relations du réservoir du Mirgenbach avec la rivière Moselle et la centrale électronucléaire de Cattenom.	43
Figure 22 : Evolution des températures journalières dans le réservoir du Mirgenbach, de janvier 2001 à décembre 2004.	45
Figure 23 : Evolution des températures mensuelles dans la rivière Moselle à Uckange, de janvier 2001 à décembre 2004.	45
Figure 24 : Différence moyenne de température entre le Mirgenbach et le milieu naturel (rivière Moselle à Uckange) sur la chronique 2001-2004.	46
Figure 25 : Conséquence de l'échauffement des eaux du réservoir du Mirgenbach et comparaison avec un plan d'eau non échauffé (vue en coupe transversale).	46
Figure 26 : Répartition géographique de la perche soleil en Europe et en Asie mineure (Copp et Fox, 2007).	48
Figure 27 : Calendrier de l'abondance des jeunes de l'année en domaine littoral (<1,2m) dans le réservoir du Mirgenbach (D'après Dembski <i>et al.</i> , 2008). P : Présence.	51
Figure 28 : Régime alimentaire chez la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach en fonction de la longueur totale des poissons (Médoc, 2004).	52

Figure 29 : Composition phytoplanctonique du réservoir du Mirgenbach en 2005 (F.P. Environnement, 2005).....	54
Figure 30 : Présentation du Héron et illustration d'une campagne de pêche.....	56
Figure 31 : Présentation de la Senne et illustration d'une campagne de pêche.....	56
Figure 32 : Présentation du verveux et illustration d'une campagne de pêche.....	57
Figure 33 : Présentation du filet maillant vertical, illustrations d'une pose et d'un prélèvement de filets.....	58
Figure 34 : Dissection des gonades immatures et matures chez le mâle et la femelle.....	58
Figure 35 : Ecaille cténoïde de perche soleil présentant deux arrêts hivernaux ou annulus, chaque annulus étant séparé par des circuli. Les radius sont présents dans la partie médiane de l'écailles, du nucléus jusqu'au bord de l'écaille. Le nucléus, ainsi que les rayons total et distal sont représentés (Rt : rayon total ; Rd : rayon distal). Les épines sont présentes dans la partie postérieure.....	61
Figure 36 : Taux de croissance marginale selon l'âge (en jours) des individus. Les lots 1 et 2 regroupent des individus d'âge 1 alors que le lot 3 des individus d'âge 2. Ces individus, après correction, sont donc âgés de 600 jours.....	62
Figure 37 : Coupe transversale d'une section de testicule avec matérialisation des trois champs d'observation, de la tunique du testicule vers le canal efférent (Ce : canal efférent). 65	65
Figure 38 : Caractéristiques biologiques des quatre individus utilisés pour illustrer les stades de maturité ovarienne A à D. Nombre d'hiver en années ; Indice gonado-somatique (IGS) en % ; mois : mois de capture ; LT : Longueur totale en cm.....	89
Figure 39 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 9 femelles au stade de maturité A.....	90
Figure 40 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 14 au stade de maturité B. 90	90
Figure 41 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 5 femelles au stade de maturité C.....	93
Figure 42 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 16 femelles au stade de maturité D.....	94
Figure 43 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 4 femelles aux stades de maturité E et F.....	94
Figure 44 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 8 individus capturés les 25 et 26 mai 2004.....	140
Figure 45 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés les 08 et 29 juin 2004.....	141

Figure 46 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 6 individus capturés le 06 juillet 2004.....	142
Figure 47 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 3 individus capturés le 31 janvier 2005.....	143
Figure 48 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 11 individus capturés le 08 mars 2005	143
Figure 49 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés les 05, 06 et 08 avril 2005.....	144
Figure 50 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés les 03, 04, 13 et 19 mai 2005	144
Figure 51 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez l'unique individu capturé le 17 juin 2005.....	145
Figure 52 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés le 12 juillet 2005.....	145
Figure 53 : Indice gonado-somatique chez la perche soleil dans la retenue du Mirgenbach, de mai à août 2004.	146
Figure 54 : Indice gonado-somatique chez la perche soleil dans la retenue du Mirgenbach, de janvier à juillet 2005.....	146
Figure 55 : Age moyen à maturité selon le taux de croissance juvénile (longueur totale moyenne à deux ans) pour 19 populations du sud de l'Angleterre (●), des populations du centre et du sud de l'Europe (x) ainsi que du Mirgenbach (■)(complété d'après Villeneuve <i>et al.</i> , 2005). Pour le Mirgenbach, l'âge de maturité a été défini par Dembski <i>et al.</i> (2006) et la taille moyenne à 2 ans a été calculé à partir de l'échantillon de la présente étude (mai 2004 à juillet 2005).	176
Figure 56 : Age moyen à maturité (en années) selon le taux de croissance juvénile (longueur totale moyenne à deux ans). Chaque nombre représente une population d'Europe et les nombres encadrés correspondent aux régions où cette espèce est considérée comme invasive. La phase de transition, entre le caractère non-invasif et invasif, est définie théoriquement par l'âge minimum de maturité (i) et la fin de la croissance juvénile qui est généralement de deux ans (ii) en traçant des droites à 45° (complété d'après Copp et Fox, 2007). La situation de la retenue du Mirgenbach est indiquée sur l'axe des abscisses.	177

LISTE DES TABLEAUX

(HORS PUBLICATIONS INTERCALLEES)

Tableau I : Etude de l'ovogenèse du poisson dans les sites européens recevant des eaux échauffées par une centrale nucléaire de production d'électricité. (- : données non renseignées).....	7
Tableau II : Synthèse des effets des rejets thermiques sur la reproduction de la perche et du gardon dans le bassin test recevant les eaux échauffées de la centrale nucléaire de Forsmark (Suède) (d'après Luksiene & Sandstrom (1994) et Sandstrom <i>et al.</i> (1997).	8
Tableau III : Principaux traits de vie des espèces piscicoles recensées dans le réservoir du Mirgenbach.....	47
Tableau IV : Comparaison des traits de vie chez des populations de perche soleil originaires de leur région native (Lacs de l'Ontario (Fox, 1994)) et de diverses masses d'eau en Europe où cette espèce a été introduite (Delta du Rhône (Fox et Crivelli, 2001) ; étang de Cottesmore (Copp <i>et al.</i> , 2002 ; réservoir du Mirgenbach (Dembski <i>et al.</i> , 2006)) (modifié d'après Dembski <i>et al.</i> , 2006).	49
Tableau V : Maturité sexuelle de la perche soleil estimée à partir de l'indice gonadosomatique (IGS), à plusieurs latitudes. Seul le site du Mirgenbach reçoit des eaux échauffées. (- : données non renseignées).	50
Tableau VI : Richesse taxonomique de la retenue du Mirgenbach dans les pièges relevés 01/06/05 (F.P. Environnement, 2005). Encadrées en rouge les espèces de la zone littorale consommées par la perche soleil et en bleu les espèces exotiques introduites.	53
Tableau VII : Composition zooplanctonique du réservoir du Mirgenbach (F.P. Environnement, 2005). En jaune sont figurées les espèces dominantes.	54
Tableau VIII : Protocole de préparation des lames histologiques (d'après Martoja et Martoja-Pierson, 1967 ; Gabe, 1968).	64
Tableau IX : Distribution empirique des stades cellulaires correspondant aux différents stades de maturité.	95
Tableau X : Description des types cellulaires de la spermatogenèse chez <i>Lepomis gibbosus</i> et mode de division cellulaire impliqué.	123
Tableau XI : Caractéristiques des stades de maturité sexuelle (A à G) selon la distribution des surfaces (%) occupées par les différents types cellulaires de la spermatogenèse dans une coupe transversale de testicule. La surface occupée par la lumière des lobules n'est pas prise en compte dans la définition des stades de maturité (spg : spermatogonie ; scy : spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).	133

LISTE DES PLANCHES

Planche I : Stades A et B de maturité ovarienne (Coupes transversales d'ovaire)	69
Planche II : Détails des cellules germinales primordiales, ovogonies et ovocytes immatures (Coupe transversale).....	71
Planche III : Détails d'ovocytes immatures (Coupe transversale d'ovaire).....	73
Planches IV et IV suite : Détails d'ovocytes pré-vitellogéniques (Coupe transversale d'ovaire)	75
Planche V : Ovocytes en début de vitellogénèse (Coupe transversale d'ovaire).....	79
Planches VI et VI suite : Ovocytes en fin de vitellogénèse (Coupe transversale d'ovaire).....	81
Planches VII et VII suite : Follicules post-ovulatoires (Stade F) et ovocytes en atresie pré-ovulatoire.....	85
Planche VIII : Stades de maturité ovarienne A à D (Coupe transversale)	91
Planche IX : Organisation testiculaire chez la perche soleil	124
Planches X et X suite : Vue détaillée des cellules sexuelles de la spermatogenèse et du compartiment interstitiel (coupes transversales)	126
Planche XI : Coupe transversale d'un testicule présentant un tissu ovarien.....	131
Planche XII et XII suite : Stade de maturité testiculaire A à G	134
Planche XIII : Illustration d'un profil de maturité testiculaire (EFG).....	138

INTRODUCTION

Au cours de la dernière décennie, plusieurs scénarios ont été élaborés pour évaluer les conséquences du réchauffement climatique global sur les écosystèmes terrestres et aquatiques. Les prévisions sur l'augmentation de la température, à l'échelle planétaire, sont très variables selon les modèles : une augmentation de température entre 1,1 et 6,4 °C est attendue au cours du 21^{ème} siècle (IPCC, 2007). Les effets majeurs attendus sont une augmentation du niveau des océans, une augmentation de la fréquence des événements climatiques extrêmes, un changement significatif du régime des précipitations, dont les conséquences théoriques seront l'expansion des zones tropicales et l'intensification de la désertification.

A l'échelle écologique, l'aire de répartition géographique de certaines espèces sera modifiée, selon leur valence écologique, avec une prolifération de certaines espèces (souvent exotiques et eurythermes) et une disparition d'autres espèces accompagnée d'une baisse de la biodiversité, pouvant entraîner certains déséquilibres et fragiliser les écosystèmes. Plusieurs travaux ont démontré que les espèces piscicoles s'adaptent en fonction de la latitude, et donc de la température, et que les traits de vie sont variables, exprimant une certaine plasticité (Lappalainen *et al.*, 2003 ; Tarkan, 2006). L'aire de répartition de certaines espèces piscicoles pourrait être ainsi modifiée ; d'autre part, les variations de température attendues auront des conséquences sur leurs stratégies démographiques. Les prédictions théoriques tendent à démontrer que les espèces présentant une forte plasticité seront avantagées (Wootton, 1998). Un accroissement de température tend à accroître l'allocation d'énergie à la reproduction et le taux de croissance chez les jeunes, avec une réduction de l'âge de maturité. Une plus faible mortalité chez les jeunes peut être attendue, accompagnée d'une réduction de la survie des individus les plus âgés. Par rapport à la problématique du changement climatique, cette plasticité est donc bien à prendre en compte pour tenter de prédire les conséquences d'un réchauffement climatique sur les populations piscicoles.

Le réchauffement climatique global est sujet à débat, et il est délicat de faire la part entre un réchauffement « naturel », tel que les variations passées de température (alternance d'épisodes de glaciations et de périodes chaudes), et un réchauffement « anthropique », lié aux activités humaines, et notamment à l'émission de gaz à effet de serre (Wood et McDonald, 1997).

Les conséquences sur l'agriculture, la santé humaine et les enjeux socio-économiques d'un réchauffement climatique ont été largement étudiées, en faisant abstraction des effets sur la ressource piscicole, particulièrement en milieu continental. Pourtant, la température est un des principaux facteurs qui régule la biologie des poissons, comme la reproduction, la

croissance, la prise alimentaire et l'activité métabolique (Charnov et Gillooly, 2004 ; Yoneda et Wright, 2005).

La reproduction est particulièrement sensible aux conditions et variations thermiques. Billard *et al.* (1981) ont d'ailleurs défini selon les modalités de la reproduction trois groupes de téléostéens en se basant sur les conditions thermiques (et de photopériode). Dans le groupe 1 la gamétogenèse est induite en été et à l'automne lorsque la température (et la photopériode) diminue (cas des salmonidés), avec, sans interruption, une reproduction intervenant en fin d'automne et en début d'hiver (espèces sténothermes d'eau froide). Dans le groupe 2 la gamétogenèse débute également en été et à l'automne mais s'interrompt en hiver et reprend au printemps ; c'est le cas des cyprinidés et des percidés ; chez les cyprinidés les premiers stades de la gamétogenèse nécessitent des températures basses, mais une augmentation de celle-ci a un effet stimulant pour les stades les plus avancés (Bye, 1984). Dans le troisième groupe la gamétogenèse ne débute qu'avec une augmentation progressive de la température (cas de la Tanche et de la Perche soleil) et il n'y a pas de maturation automnale (Gutiérrez-Estrada *et al.*, 2000 ; Copp *et al.*, 2002 Dembski *et al.*, 2006).

Les phases de la reproduction particulièrement concernées par des variations de température sont : l'initiation de la maturité sexuelle, le rythme du cycle de reproduction, le développement des ovaires et les périodes pré et post-ovulatoires (Van Der Kraak et Pankhurst, 1996). Les effets de la température sur la reproduction ont surtout été étudiés chez les femelles. D'une part, il existe une précocité dans la maturation sexuelle, qui semble présenter un avantage par rapport aux autres espèces, mais d'autre part, une élévation de la température peut induire des anomalies ovocytaires et donc, une diminution de la fécondité et de ce fait, une diminution du succès de reproduction (Sandström *et al.*, 1997 ; Luksiene *et al.*, 2000).

Le réservoir du Mirgenbach, qui fait l'objet de la présente étude, représente un milieu exceptionnel pour l'étude des conséquences d'un réchauffement global sur le peuplement piscicole, avec le caractère proliférant de la perche soleil (*Lepomis gibbosus*) qui est une espèce invasive. Ce réservoir artificiel présente en hiver et printemps des caractéristiques thermiques similaires à celles des prédictions du réchauffement climatique global : les écarts maximaux par rapport au milieu naturel sont observés en hiver (environ +6°C) alors que les écarts minimaux sont observés en été (environ +0,5°C). Malgré une salinité (chlorures) et une dureté élevées, ce modèle permet d'appréhender les effets d'une augmentation de température, assimilables à ceux du réchauffement climatique, sur la gamétogenèse de la perche soleil pendant sa phase de maturation sexuelle et de reproduction. L'augmentation de

température à l'échelle globale de 1,1 à 6,4 °C est comprise dans la gamme de celle du Mirgenbach, qui est de 0,5 à 6°C

L'objectif de la présente recherche est l'étude, selon les saisons, de certains traits de vie de la perche soleil, dans un contexte de milieu échauffé. Une attention particulière est portée sur sa reproduction, sa croissance et sa longévité.

Après une présentation en première partie de l'état de l'art puis en deuxième partie des matériels et méthodes, l'exposé des résultats fait l'objet de la troisième partie et concerne l'étude de la reproduction des différentes classes d'âge sous l'influence d'une élévation de température exprimée en degrés jour (°Cxjours), en confrontant les données histologiques avec celles des IGS et de la biométrie.

Cette étude histologique a été particulièrement poussée avec pour objectif, pour les deux sexes, tout d'abord la description des stades cellulaires de la gamétogenèse puis la définition des stades de maturité gonadique propres à la perche soleil afin de fournir une « image » de la gonade à partir d'un codage d'une lettre pour les femelles et de trois lettres pour les mâles en fonction des trois territoires testiculaires de fonctionnalité différente.

En fin de mémoire une synthèse reprend les conclusions essentielles en les confrontant aux données de la littérature. Les différentes recherches entreprises n'ayant pas toutes donné lieu à une rédaction dans le cadre de ce mémoire, des perspectives de développements ultérieurs sont énoncées.

1^{ERE} PARTIE
ETAT DE L'ART

Chapitre I : Effets de la température sur la reproduction des poissons

En zone tempérée, chez les poissons qui se reproduisent au printemps ou pendant la période estivale, la température et la photopériode sont les principaux facteurs qui influencent la reproduction (Davies et Hanyu, 1986a,b ; Koger *et al.*, 1999, Migaud *et al.*, 2003). La ressource alimentaire joue également un rôle, et sa disponibilité ou sa consommation dépend principalement de ces deux paramètres (Bieniarz *et al.*, 1977 ; Jobling, 1993 ; Sherwood *et al.*, 2002 ; Yoneda et Wright, 2005). Dans ce qui suit, nous nous intéresserons principalement aux conséquences sur la reproduction des poissons d'une variation de température, notamment une augmentation, en faisant abstraction de la photopériode et de la ressource alimentaire.

La reproduction des poissons est particulièrement sensible à des variations de température qui peuvent avoir des effets négatifs sur la gamétogenèse, le développement des larves ou la survie des jeunes stades. La différenciation sexuelle, l'initiation de la maturité sexuelle, le rythme du cycle de reproduction, le développement des ovaires et les périodes pré et post-ovulatoires sont les phases de la reproduction particulièrement concernées par une élévation de la température (Lam, 1983 ; Shapiro, 1984 ; Baggerman, 1985, 1990 ; Munro, 1990 ; Van Der Kraak et Pankhurst, 1996).

1.1. Effets des variations de température en conditions contrôlées sur la reproduction

Les effets de variations de température, en conditions contrôlées, ont été étudiés chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*). Davies et Hanyu (1986a,b) ont étudié les effets d'une variation de température sur la maturation sexuelle en condition de basses températures et de températures élevées. Les carpes, maintenues à 24°C, présentent une phase de reproduction continue avec des périodes de ponte répétées pendant 10 à 11 mois après la première reproduction. Ces conditions de maintenance sont similaires à celles observées en milieu naturel dans les régions tropicales, ce qui montre que la carpe possède un potentiel reproducteur qui, selon les conditions thermiques, peut être continu sur un cycle annuel. D'autre part, des carpes ayant connu un premier épisode de reproduction et qui sont soumises à des températures faibles (16°C), redémarrent leur cycle de reproduction. Cependant, au

cours de ces expériences, des atrésies ovocytaires ont été observées lors d'augmentations élevées de température.

D'autres expériences, en aquarium, ont montré que des carpes maintenues à 23°C sont matures à l'âge de 6 mois pour les mâles et de 14 mois pour les femelles. Au-delà de 15 mois, 25% des individus femelles se reproduisent alors qu'en milieu naturel, en zone tempérée, elles ne se reproduisent pas avant l'âge de 4 ans (Gupta, 1975).

Chez *Pollachius pollachius*, le nombre d'œufs viables est diminué à partir de 12°C et au-delà pendant la phase de reproduction ; les températures optimales se situent entre 8 et 10 °C (Suquet *et al.*, 2005).

Les effets d'une brusque diminution de température (chute de 15 à 11 °C) pendant la période maturation a été étudiée chez des femelles de gardon (*Rutilus rutilus*), à ponte unique, et de goujon (*Gobio gobio*), à ponte multiple (Beelen *et al.*, 1998). Chez le gardon les ovocytes sont fortement atteints d'atrésie pré-ovulatoire, alors que le goujon présente une activité vitellogénique prolongée.

Chez *Carassius auratus*, une augmentation de température pendant l'hiver peut bloquer la gamétogenèse alors que chez d'autres espèces, telle que *Lepomis cyanellus*, une augmentation de température peut stimuler le développement des gonades en hiver (Gillet *et al.*, 1978). Dans ces expériences, la photopériode joue également un rôle, notamment dans la stimulation de la gamétogenèse lors de longues durées de luminosité.

Chez une population femelle d'esturgeon (*Acipenser transmontanus*) à des stades avancés de l'ovogenèse, l'exposition à des températures supérieures de 4 à 6°C par rapport au milieu naturel entraîne un arrêt du développement ovocyttaire accompagné de phénomènes atrétiques (Linares-Casenave *et al.*, 2002).

1.2. Effets des variations latitudinales de la température sur la reproduction

L'effet de la température sur la gamétogenèse a été appréhendé pour certaines espèces en fonction de leur répartition latitudinale. Chez le gardon (Lappalainen et Tarkan, 2006), l'entrée en maturation et la durée de la période de reproduction sont corrélées avec la latitude ; la maturité est précoce vers les faibles latitudes et la durée de la période de reproduction plus longue. Chez le sandre (*Sander lucioperca*) (Lappalainen *et al.*, 2003), l'âge de maturité est atteint plus tôt à de faibles latitudes qu'aux plus hautes latitudes. Dans les

limites sud de son aire de répartition, la période de reproduction débute en janvier, alors que dans les limites nord, elle débute en juin. Une étude de la reproduction du rotengle (*Scardinius erythrophthalmus*) et du gardon (Tarkan, 2006), effectuée dans la limite sud de leur aire de répartition (Lac Sapanca, Turquie), a mis en évidence une précocité de l'entrée en maturation par rapport aux régions du nord, avec cependant une durée de reproduction équivalente.

La période de maturité (présence d'ovocytes vitellins matures) est généralement précoce et plus longue dans les zones géographiques situées à de faibles latitudes sous climat tropical (Lowe-McConnell, 1987) ; par exemple, une précocité dans la maturation et la ponte chez la carpe (*Cyprinus carpio*) a été observée en Inde (Alikunhi, 1960). Par ailleurs, dans les lacs équatoriaux, le tilapia du nil (*Oreochromis niloticus*) se reproduit toute l'année, tandis que dans les zones géographiques situées à des latitudes plus élevées la période de reproduction se limite aux mois les plus chauds (Lowe-McConnell, 1987).

1.3. Impacts des rejets thermiques sur la reproduction

En Europe certains auteurs ont étudié les conséquences d'effluents thermiques sur la gamétogenèse. Les principaux sites européens, ainsi que leur caractéristiques, recevant des eaux échauffées de centrale nucléaire et dont certaines espèces piscicoles ont fait l'objet d'études histologiques sont répertoriés dans le tableau I. Deux sites se situent en Suède ; il s'agit d'un bassin test qui reçoit les eaux échauffées d'une centrale nucléaire (Forsmark nuclear power plant) et de la baie de Hamnefjärden (mer Baltique) qui reçoit les eaux échauffées de la centrale nucléaire d'Oskarshamn. Le troisième site est le lac Druksiai, en Lituanie, qui reçoit les eaux échauffées de la centrale nucléaire d'Ignalina (Tableau I). Dans le bassin test, la période d'entrée en gamétogenèse est anticipée ; chez la perche (*Perca fluviatilis*) et le gardon (*Rutilus rutilus*), elle débute un mois plus tôt (Luksiene et Sandström, 1994). La période de reproduction de la perche est précoce mais également plus longue qu'en milieu naturel, cependant le taux de mortalité des œufs est très élevé (Sandström *et al.*, 1997). Toutefois, des anomalies au niveau des gonades ont été observées chez le gardon et la perche (Luksiene et Sandström, 1994). Il s'agit de dégénérescences ovocytaires, d'atrésies pré-ovulatoires importantes, d'ovocytes à noyaux multiples et de cas d'hermaphrodisme ; elles ont pour conséquence de réduire la quantité d'ovocytes mûrs émis et, de ce fait, la fécondité. De plus, le développement synchrone chez le gardon est devenu asynchrone. En Lituanie, les

eaux échauffées de la centrale nucléaire d'Ignalina ont les mêmes conséquences chez la perche, le gardon et le brochet (*Esox lucius*) (Luksiene *et al.*, 1999). Gillet *et al.* (1978) ont démontré qu'une augmentation de la température à l'automne, en hiver et au printemps inhibe l'ovogenèse chez le poisson rouge (*Carassius auratus*), et ce, malgré une augmentation du taux de gonadotropine.

En Lituanie, Gajdusek *et al.* (1987) ont étudié une population de brèmes dans un réservoir recevant les eaux échauffées d'une centrale thermique. Ce réservoir présente des températures moyennes supérieures de 1 à 1,5°C par comparaison au milieu naturel. Cette élévation de température induit des modifications dans le processus de reproduction ainsi que la croissance somatique. Selon les conditions du milieu, les brèmes peuvent adopter une stratégie de développement ovocytaire synchrone, avec une ponte unique, ou asynchrone, avec une ponte fractionnée. Dans ce contexte de milieu échauffé, la ponte est asynchrone, avec une période de fraie précoce par comparaison au milieu naturel, de 10 à 15 jours, pour des températures supérieures de 3 à 4°C pendant la période de reproduction. L'âge de maturité sexuelle est précoce, et est observé chez des individus de plus petite taille. Cependant, des anomalies ovocytaires ont été détectées, ayant pour conséquence une baisse du taux de fertilité. Les effets sur la reproduction chez la perche et le gardon dans le bassin test de la centrale nucléaire de Forsmark sont résumés dans le tableau II.

Aux Etats-Unis, chez la gambusie (*Gambusia holbrooki*), la reproduction s'arrête pendant l'hiver dans le milieu naturel (Meffe, 1992). Dans le site expérimental de la Savannah River Site (United States Department of Energy), qui reçoit les eaux échauffées d'un réacteur nucléaire, elle se poursuit mais à un taux faible ; l'investissement dans la reproduction est plus important mais les juvéniles sont plus petits.

Tableau I : Etude de l'ovogenèse du poisson dans les sites européens recevant des eaux échauffées par une centrale nucléaire de production d'électricité. (- : données non renseignées).

Sites	Milieu récepteur	Surface (km ²)	Ecart thermique moyen annuel entre le site de rejet et le site témoin (°C)	Espèces étudiées	Références
Forsmark (Suède)	Bassin test	1	+10	<i>Perca fluviatilis</i>	Sandström <i>et al.</i> , 1997
Oskarshamn (Suède)	Baie de Hamnefjärden (mer Baltique)	0,1	+10	<i>Perca fluviatilis</i>	Sandström <i>et al.</i> , 1997
Ignalina (Lituanie)	Lac Druksiai	49	+10-12	<i>Perca fluviatilis</i> <i>Rutilus rutilus</i> <i>Esox lucius</i>	Luksiene <i>et al.</i> , 2000
Cattenom (France)	Réservoir du Mirgenbach	0,95	Moyenne : +2,5 Minimum : +0,6 Maximum : +6	<i>Lepomis gibbosus</i>	Dembski <i>et al.</i> , 2006

Tableau II : Synthèse des effets des rejets thermiques sur la reproduction de la perche et du gardon dans le bassin test recevant les eaux échauffées de la centrale nucléaire de Forsmark (Suède) (d'après Luksiene & Sandstrom (1994) et Sandstrom *et al.* (1997).

Gardon (<i>Rutilus rutilus</i>)
Déclin de l'abondance
Diminution de l'indice gonado-somatique
Gamétogenèse accélérée
Développement asynchrone des ovocytes et augmentation des phénomènes d'atrésie
Perche (<i>Perca fluviatilis</i>)
Déclin de l'abondance
Augmentation du recrutement mais augmentation de la mortalité des adultes
Diminution de l'âge et de la taille à maturité
Diminution du taux de reproduction

1.4. Changement climatique global et effets sur la reproduction

Si de nombreux travaux traitant du changement climatique global font état des conséquences d'une augmentation moyenne des températures annuelles, rares sont ceux qui s'intéressent aux conséquences d'un échauffement hivernal, bien que cette situation risque d'affecter de nombreuses régions tempérées (Coutant, 1990). La température est un des paramètres fondamentaux du cycle biologique des poissons, puisqu'elle conditionne la phase de maturation ainsi que le déclenchement de la ponte (Gillet, 2001). Le réchauffement global pourrait modifier l'aire de distribution géographique des espèces selon leurs exigences et/ou leur adaptation à d'autres régimes thermiques, et donc modifier la structure du peuplement ichtyologique au sein de divers hydrosystèmes. Par exemple, une précocité de la période de reproduction a été observée dans le lac de Genève chez le gardon sur une période d'étude de 19 ans, au cours de laquelle les eaux de surface ont subi une augmentation de température de 1°C (Gillet et Quétin, 2006). D'autre part, une simulation effectuée dans la rivière Ourthe chez le barbeau (*Barbus barbus*) indique que la capacité de reproduction serait favorisée par un échauffement des eaux de 1,5 à 3,5°C (Baras et Philippart, 1999).

Chapitre II : Biologie de la reproduction chez les poissons

II.1. Appareil génital femelle : l'ovaire

II.1.1. Anatomie générale de l'ovaire

L'organe génital chez les femelles est composé de l'ovaire et de canaux permettant l'évacuation des ovules chez les espèces ovovivipares (ou des larves chez les espèces vivipares). L'ovaire produit les gamètes mais est également le siège d'activités endocrines avec production d'hormones stéroïdes. Selon les espèces et le stade ontogénique (juvénile, adulte), la gonade peut être paire ou simple. Au stade juvénile la gonade est paire mais une partie peut dégénérer ou bien les deux parties peuvent fusionner (Dodd, 1983 ; Dodd et Stumper, 1984 ; Callard *et al.*, 1989 ; Hamlett et Koob, 1999). Chez les téléostéens, selon les auteurs, il existe un type d'ovaires cystovarien (Hoar, 1969) ou deux types : cystovarien et gymnovarien (Dodd et Stumper, 1984). Dans le type gymnovarien l'ovaire est dépourvu de lumière et l'ovulation a lieu directement dans la cavité coelomique, alors que dans le type cystovarien l'ovaire présente une lumière où a lieu l'ovulation. Cette lumière communique directement avec l'oviducte, qui est souvent unique, et non pair, chez beaucoup de téléostéens (Hoar, 1969 ; Harder, 1975) (Figure 1). Chez certaines espèces, l'oviducte dégénère en partie et les œufs sont libérés dans la cavité générale puis évacués par des pores (Hoar, 1969).

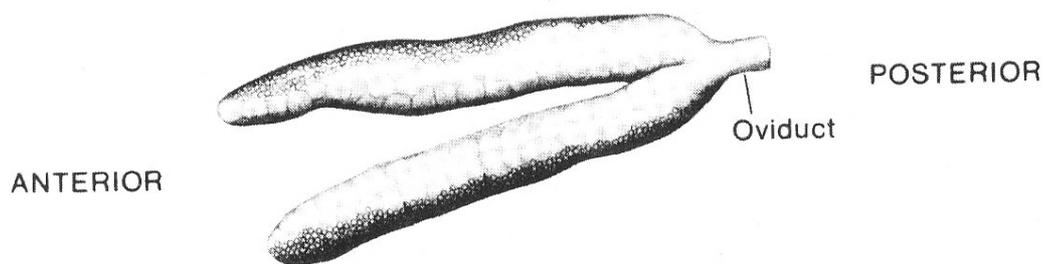


Figure 1 : Vue générale d'un ovaire de Téléostéens (Syngnathidé) (Begovac et Wallace, 1987).

Les ovaires de type cystovarien sont organisés en lamelles ovariques, disposées radialement vers la lumière de l'ovaire, dans laquelle seront évacués les ovocytes mûrs pendant l'ovulation (Hoar, 1969, Bruslé et Quignard, 2004) (Figure 2). L'ovaire est entouré d'un épithélium ovarien. Tous les types cellulaires de l'ovogenèse sont présents au cours du développement de la gonade. Les ovocytes sont entourés d'une enveloppe folliculaire, constituée de l'intérieur vers l'extérieur de la *zona radiata*, de cellules folliculaires et d'une thèque, qui se développe au cours de la maturation (Figure 3). Cet ensemble, appelé follicule ovarien, est l'unité morphologique et fonctionnelle de l'ovaire (Takashima et Hibiya, 1995). La fonction endocrine de l'ovaire est assurée par les cellules thécales qui produisent des hormones oestrogènes (Hoar et Nagahama, 1978).

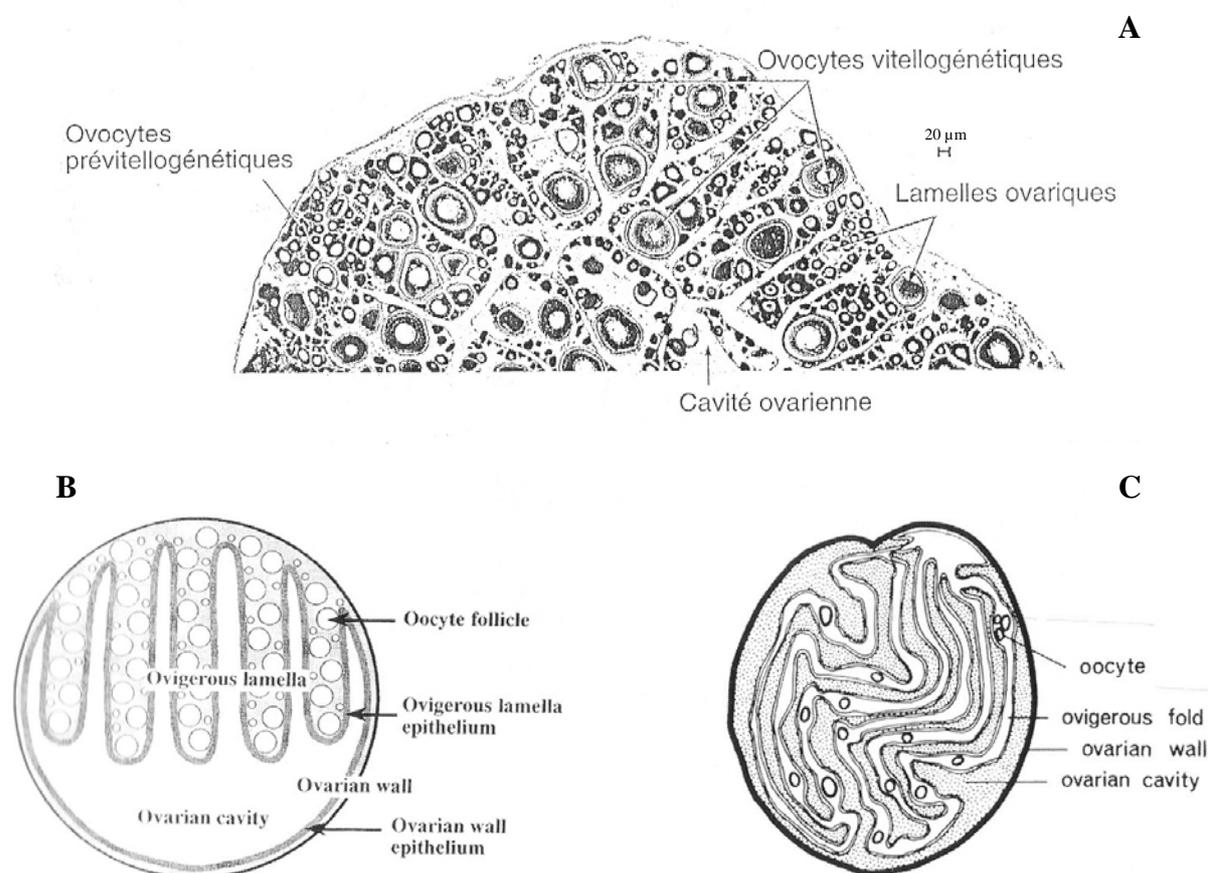


Figure 2 : Coupes transversales représentant, dans le type cystovarien, l'organisation ovarienne en lamelles ovariques disposées dans la cavité ovarienne et contenant des ovocytes. **A :** section d'une coupe transversale avec la présence d'ovocytes prévitellogénétiques et vitellogénétiques (Bruslé et Quignard, 2004) ; **B :** Coupe transversale de gonade chez *Alcichthys alcicornis* (Koya *et al.*, 1997) ; **C :** Coupe transversale de gonade chez *Cymatogaster* (Hoar, 1969).

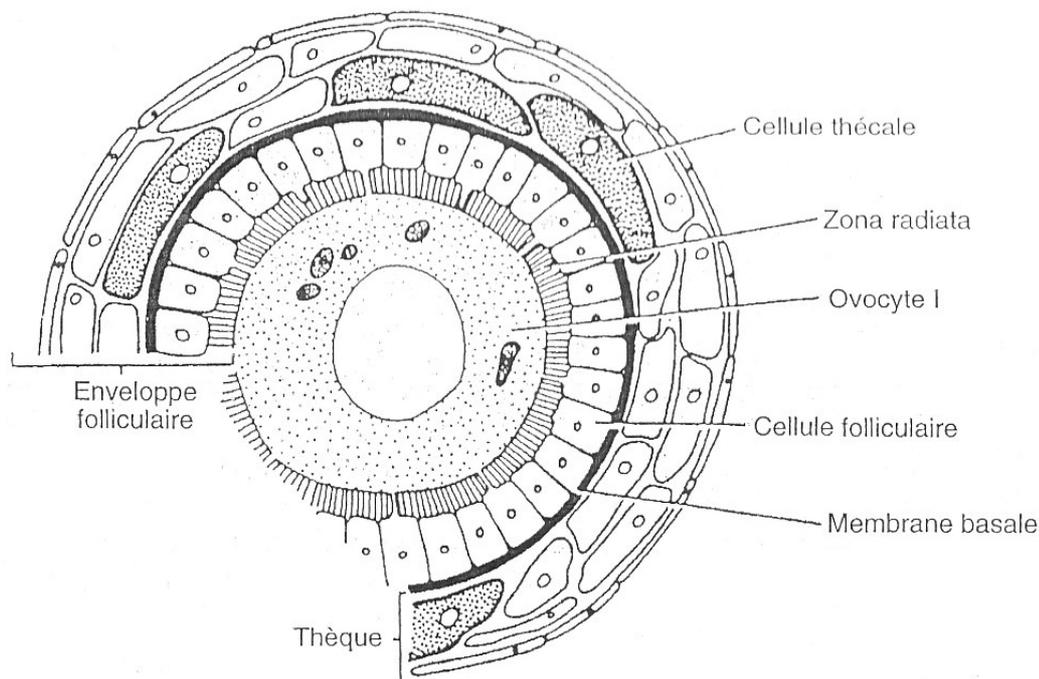


Figure 3 : Follicule ovarien composé d'un ovocyte I et de l'enveloppe folliculaire (Zona radiata, cellules folliculaires, membrane basale et thèque) (Bruslé et Quignard, 2004).

II.1.2. Cellules germinales, ovogenèse et développement folliculaire

La discrimination des différents types de cellules sexuelles de l'ovogenèse est principalement basée sur des critères morphologiques, sur la progression de la vitellogénèse et sur le développement de l'enveloppe folliculaire. Les différents types cellulaires sont les cellules germinales primordiales, les ovogonies, les ovocytes immatures, les ovocytes en début de vitellogénèse, et enfin, les ovocytes en fin de vitellogénèse ou ovocyte hyalin. A la fin de la période de reproduction sont également présents des ovocytes non émis, en dégénérescence, désignés ovocytes atrétiques (Dodd, 1977). Le déroulement de l'ovogenèse, résumé dans la figure 4, est commun à tous les vertébrés.

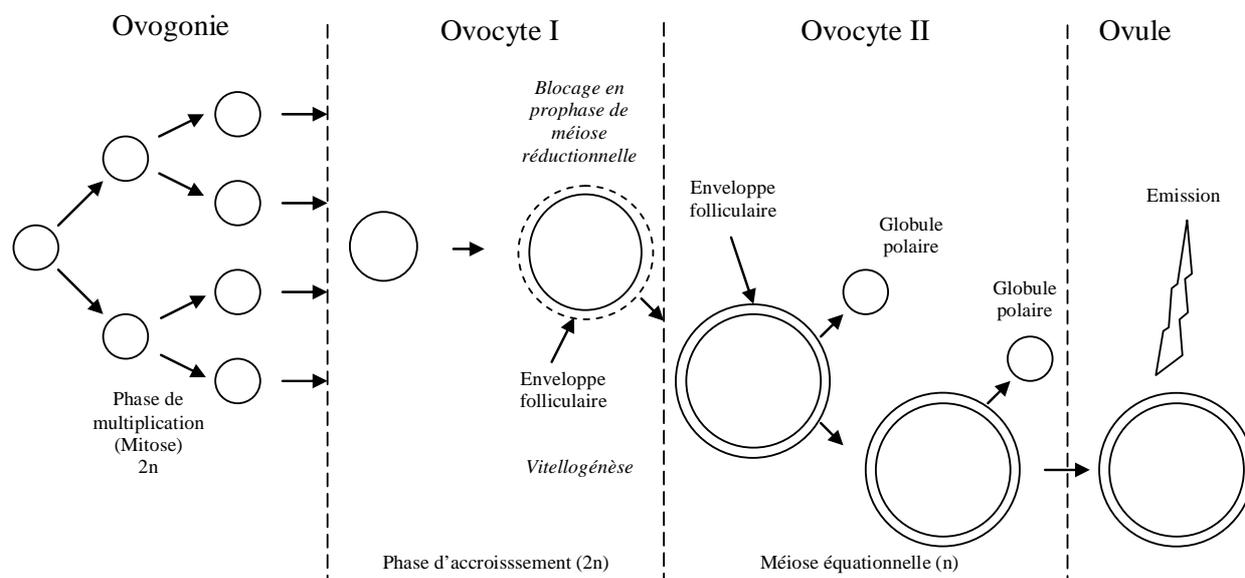


Figure 4 : Schéma de l'ovogenèse chez les vertébrés. Une ovogonie diploïde génère un ovule haploïde. La multiplication goniale se fait par divisions mitotiques ; la première division méiotique réductionnelle génère l'ovocyte II et le premier globule polaire ; la deuxième division méiotique équationnelle génère l'ovule et le deuxième globule polaire.

McMillan (2007) a décrit l'évolution des follicules ovariens au cours de l'ovogenèse. Les premiers follicules sont constitués de cellules germinales primordiales. Ces cellules vont se diviser par mitose et générer des ovogonies diploïdes. Des ovocytes primaires diploïdes vont être générés par division mitotique des ovogonies. La division méiotique réductionnelle de ces ovocytes primaires va former des ovocytes secondaires avec émission du premier globule polaire (Grandi et Colombo, 1997). Avant la formation de l'ovocyte secondaire, les cellules vont rester bloquées en prophase méiotique (Wallace et Selman, 1981). L'enveloppe folliculaire est constituée au cours de cette phase d'arrêt, qui dure jusqu'à la fin de la vitellogénèse. L'ovocyte, entouré de l'enveloppe folliculaire, augmente en volume, d'abord par croissance cytoplasmique, puis par l'accumulation des grains de vitellus lors du processus de la vitellogénèse. Enfin, la méiose reprend jusqu'à la division méiotique équationnelle, ce qui génère un ovule et un second globule polaire, les deux étant haploïdes. L'ovogenèse produit donc à partir d'ovogonies diploïdes des ovules haploïdes. Les globules polaires sont

de petites cellules, qui ne jouent pas un rôle important, et qui résultent d'une division inégale durant l'ovogenèse ; ils dégénèrent à la fin du processus.

Le développement du follicule ovarien au cours de l'ovogenèse, et notamment l'évolution de l'enveloppe folliculaire, ont été décrits chez plusieurs espèces par différents auteurs (Hurley et Fisher, 1966 ; Anderson, 1967 ; Busson-Mabillot, 1973, 1977 ; Azevedo, 1974 ; Caporiccio et Connes, 1977 ; Dumont et Brummett, 1980 ; Stehr et Hawkes, 1983 ; Bruslé, 1985 ; 1985 ; Iwamatsu *et al.*, 1988 ; Matsuyama *et al.*, 1991). L'enveloppe folliculaire est constituée de l'intérieur vers l'extérieur du follicule d'une première couche, acellulaire, appelée *zona radiata*, *zona pellucida*, enveloppe vitelline ou encore chorion selon les auteurs. Au dessus de cette couche se situent les cellules folliculaires surmontées de la thèque (thèque interne et thèque externe).

Grier (2000) a décrit l'ovogenèse en s'intéressant particulièrement à la formation de l'enveloppe folliculaire (folliculogenèse, formation de la thèque et de la *zona radiata*) au cours de l'ovogenèse chez le crossie blanc ou brochet de mer (*Centropomus undecimalis* ; Téléostei) (Figure 5). L'épithélium germinale se situe entre la membrane basale et la lumière de l'ovaire. Il est composé de cellules somatiques (cellules épithéliales qui se transforment en cellules pré-folliculaires pendant la folliculogenèse) et de cellules germinales (ovogonies, ovocytes diploïdes). Les ovogonies se multiplient (mitose) pour maintenir leur stock dans l'épithélium germinale. Certaines entrent en méiose pour former les ovocytes secondaires haploïdes et s'éloignent de la lumière ovarienne. Le processus de folliculogenèse démarre au début de la méiose et se termine lorsque la membrane basale entoure entièrement l'ovocyte et les cellules pré-folliculaires ; d'autre part le follicule ainsi formé est éjecté de l'épithélium germinale. Les cellules pré-folliculaires se transforment alors en cellules folliculaires. Les cellules pré-thécales associées au follicule forment la thèque interne. Durant la croissance folliculaire, des cellules indifférenciées, contenues dans l'espace extravasculaire, s'associent au follicule et forment la thèque externe. Enfin, des microvillosités se forment à la surface de l'ovocyte : c'est la *zona radiata*. Elle permet des échanges de métabolites entre l'ovocyte et les cellules folliculaires. L'enveloppe folliculaire est détaillée dans la figure 6 (Hurley et Fisher, 1966).

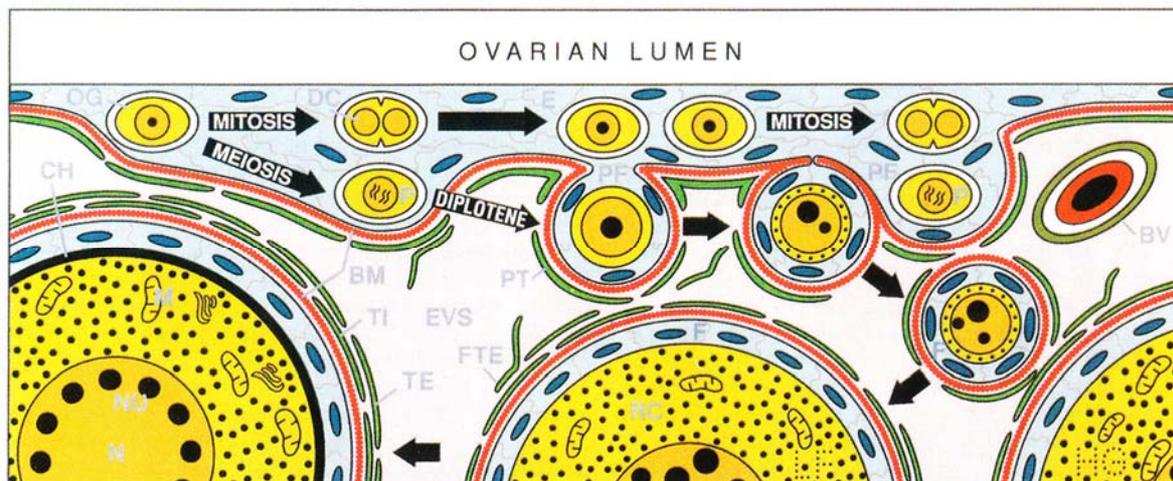


Figure 5 : Epithélium germinale chez le crossie blanc ou brochet de mer (*Centropomus undecimalis* ; Téléostei), processus de l'ovogénèse et folliculogénèse (modifié d'après Grier, 2000).

OG : ovogonie ; PF : cellules pré-folliculaires ; F : cellules folliculaires ; TI : thèque interne ; TE : thèque externe ; EVS : espace extravasculaire ; CH : Chorion ou *zona radiata* ; BM : membrane basale ; PT : cellules pré-thécales

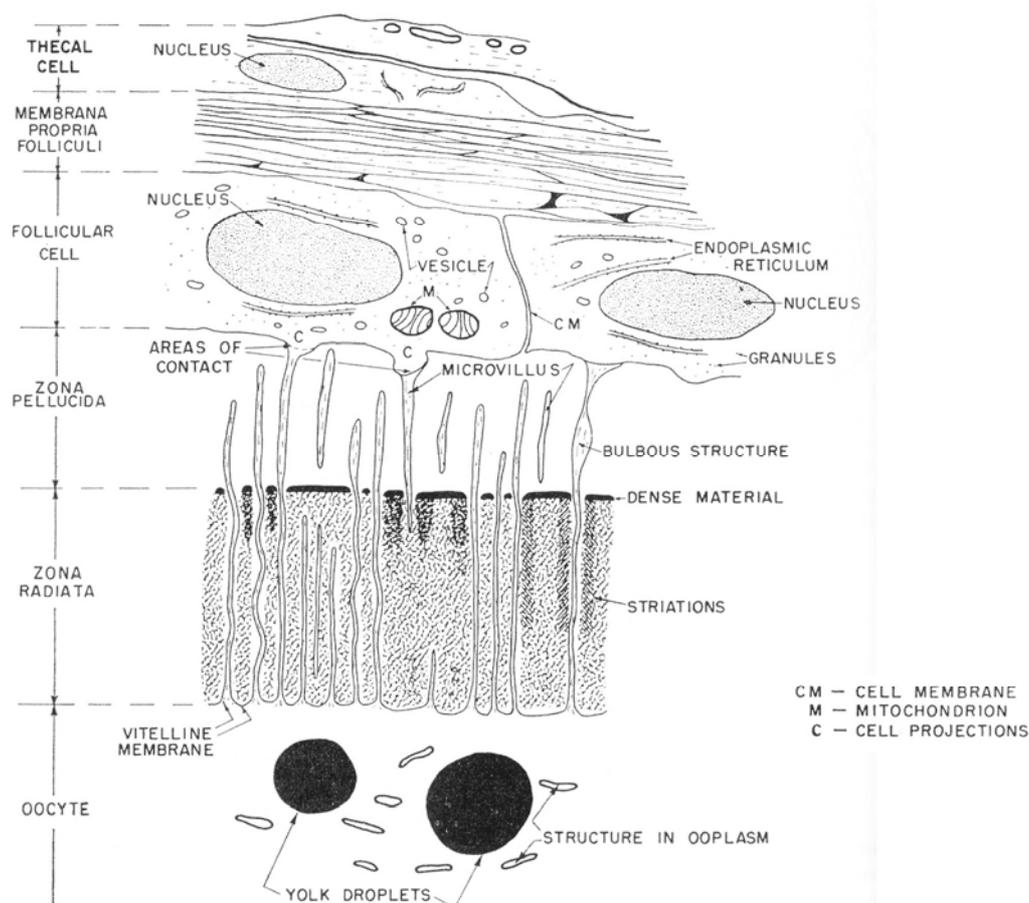


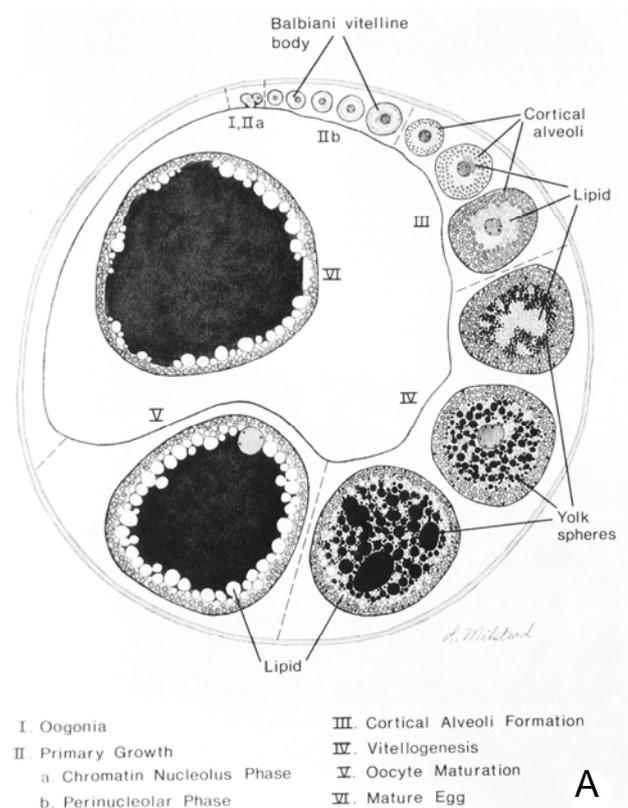
Figure 6 : Structure de l'enveloppe folliculaire d'ovule chez l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) (Hurley et Fischer, 1966).

II.2. Développement folliculaire et stades de maturité ovarienne

II.2.1. Développement folliculaire

Plusieurs auteurs ont décrit en détail l'évolution du follicule ovarien au cours de l'ovogenèse (Shackley et King, 1977 ; Selman et Wallace, 1986 ; Begovac et Wallace, 1987, 1988 ; Iwamatsu *et al.*, 1988, Selman *et al.*, 1991).

Begovac et Wallace (1988) ont décrit le développement des follicules ovariens chez deux espèces de syngnathidé (*Syngnathus scovelli* et *Hippocampus erectus*). Chez ces espèces, l'ovaire n'est pas organisé en lamelles ovariennes, les follicules sont arrangés selon leur développement dans une coupe transversale (Begovac et Wallace, 1987, 1988 ; 1988, Selman *et al.*, 1991). Cette organisation est particulièrement adaptée à l'étude du développement folliculaire (Figure 7A, B, C). De plus, le développement est asynchrone au sein de l'ovaire et ces espèces sont sexuellement actives tout le long de l'année, ce qui permet d'obtenir une population hétérogène de follicules avec tous les stades de développement représentés.



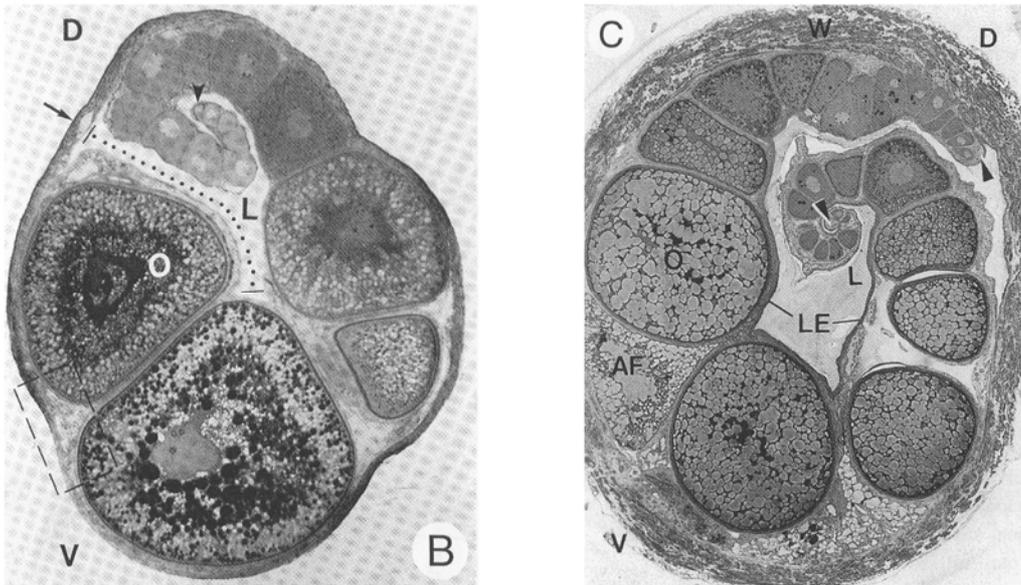


Figure 7 : Coupes transversales d'ovaires chez des syngnathidés. A : chez *Syngnathus scovelli* (Begovac et Wallace, 1988) ; B : chez *Syngnathus scovelli* (Begovac et Wallace, 1987) ; C : chez *Hippocampus erectus* (Selman *et al.*, 1991).

D : dorsal, V : ventral, L : lumière ovarienne, O : ovocyte ; W : fibroblaste, LE : Epithélium de la lumière ; AF : follicule atrétique.

Iwamatsu *et al.* (1988) ont décrit la croissance du follicule ovarien chez *Oryzias latipes* à différents stades de l'ovogenèse (Figure 8). Après prolifération, les ovogonies se transforment en ovocytes primaires qui restent bloqués en prophase méiotique. Une couche, formée lors du processus de folliculogénèse enveloppe l'ovocyte primaire, l'ensemble étant le follicule.

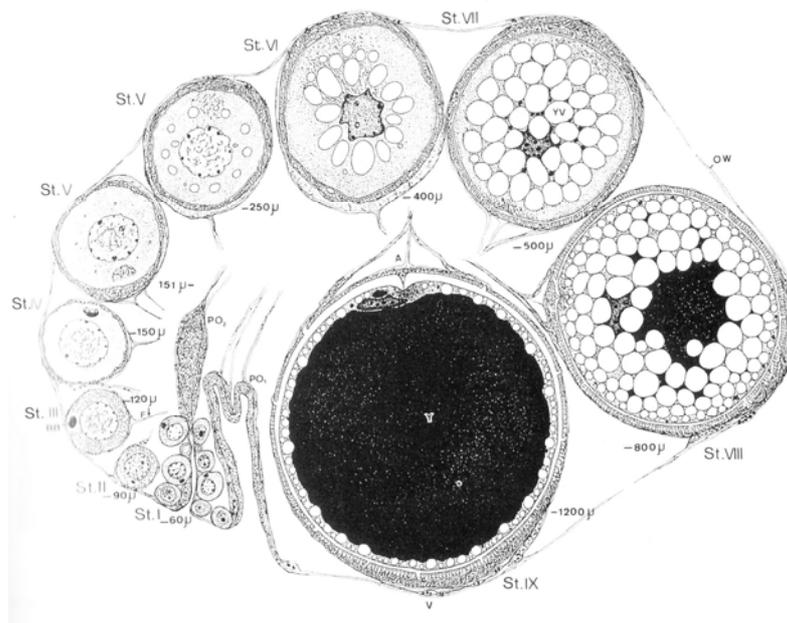
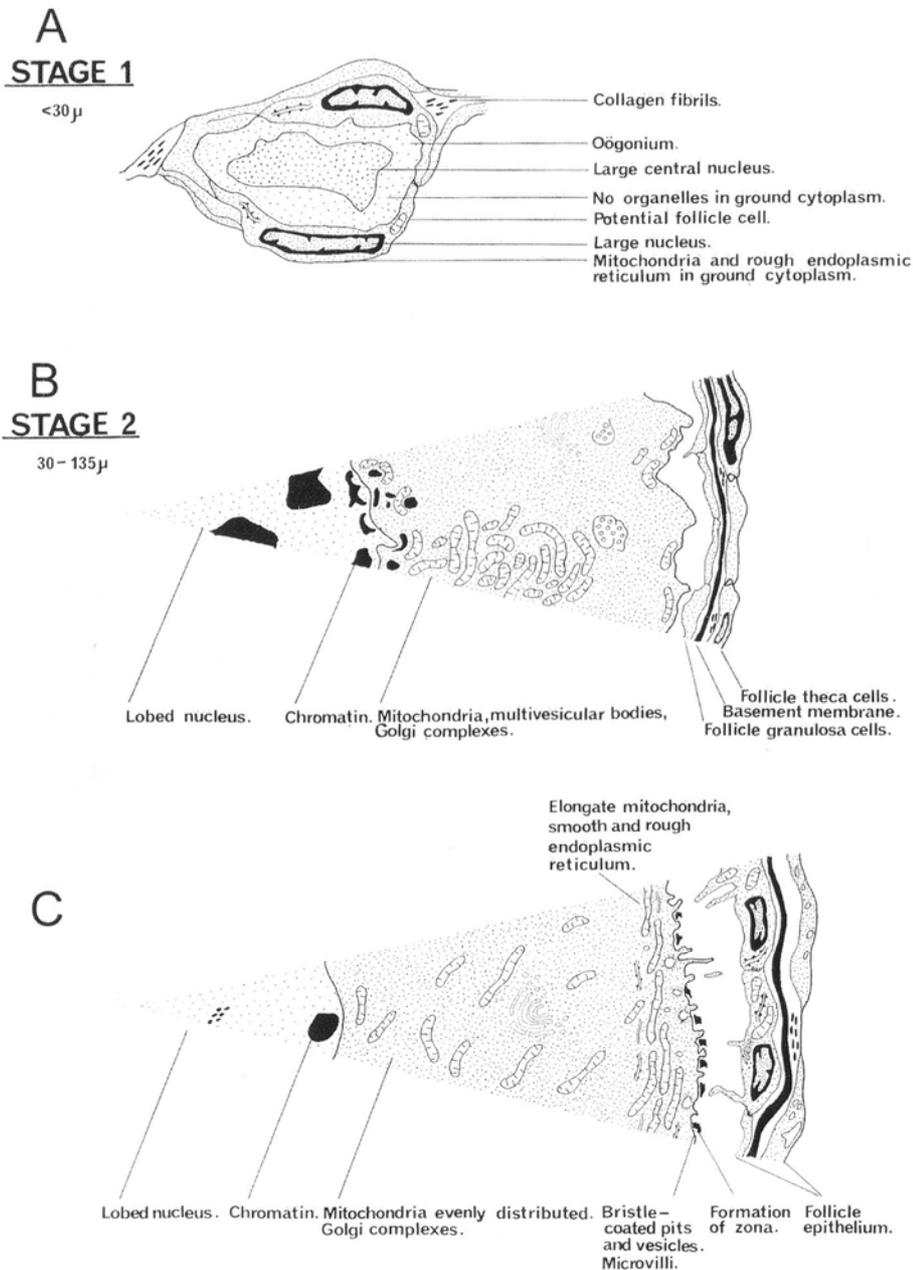
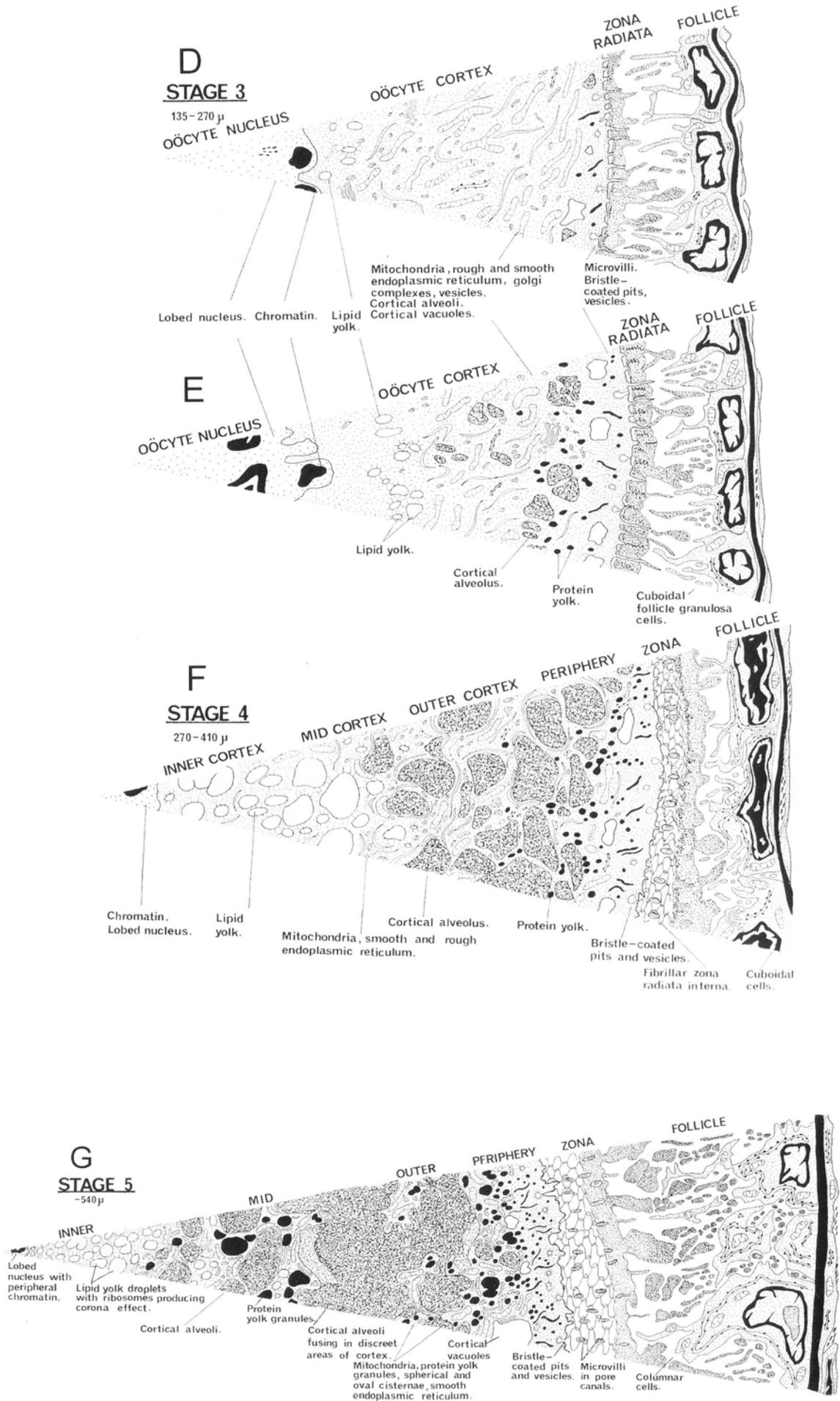
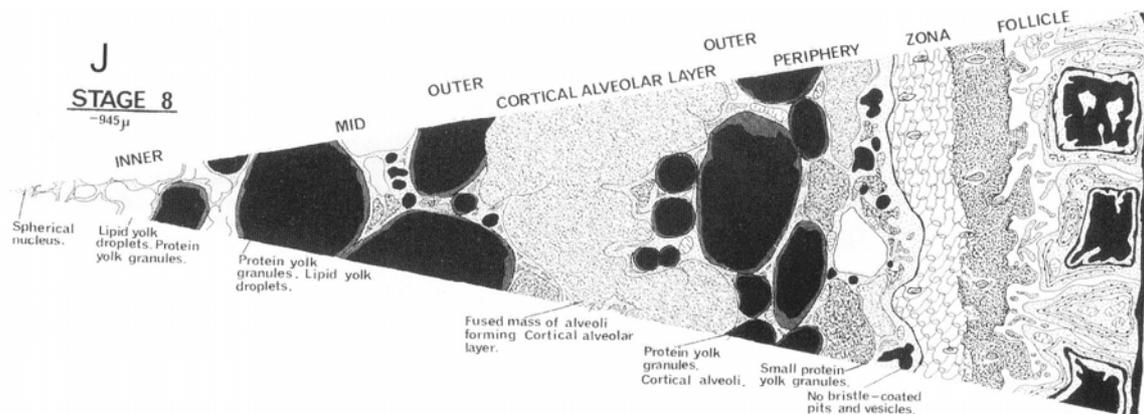
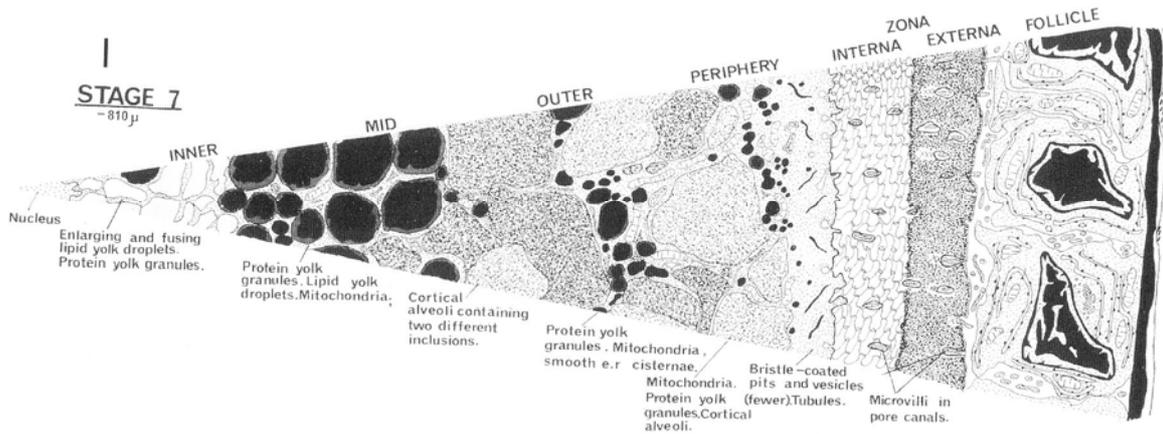
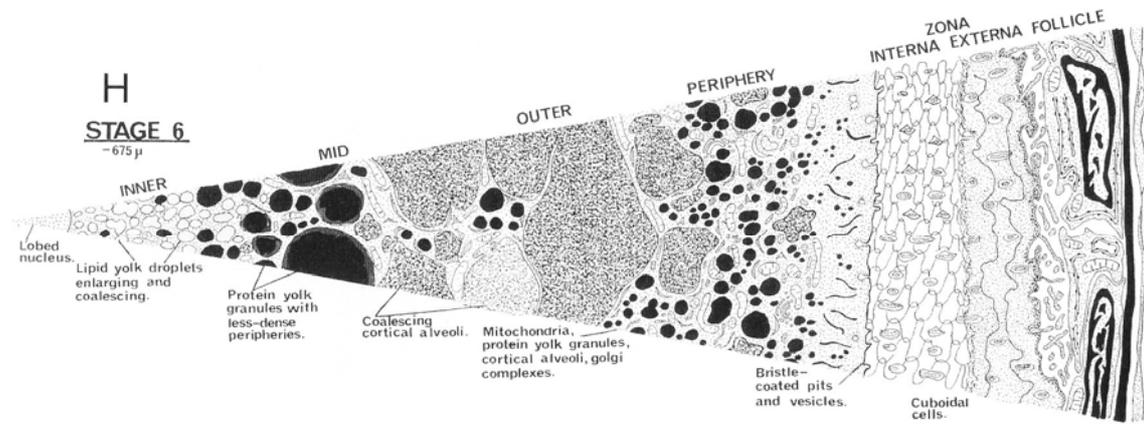


Figure 8 : Croissance ovocytaire chez *Oryzias latipes* à différents stades de l'ovogenèse (Iwamatsu *et al.*, 1988).

Shackley et King (1977) ont décrit le développement folliculaire chez *Blennius pholis* au cours de l'ovogenèse qu'ils ont découpée en onze phases (Figure 9A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K). Au cours de ces phases, le follicule est d'abord constitué d'une ovogonie entourée d'une fine couche, en lamelle, de cellules folliculaires (phase 1). L'ovocyte formé augmente en volume et l'enveloppe folliculaire se développe (phase 2 et 3). Les cellules folliculaires deviennent cubiques et les premiers grains de vitellus apparaissent au cours de la phase 4. Le volume des grains de vitellus augmentent, ils deviennent plus nombreux et l'enveloppe folliculaire continue à évoluer (phase 5, 6, 7, 8). Au cours des phases 9, 10 et 11 les grains de vitellus deviennent très volumineux et occupent tout le cytoplasme ; l'enveloppe folliculaire a changé d'organisation. La figure 9 illustre les différents stades du développement folliculaire chez *Blennius pholis* ; les stades 10 et 11 sont représentés sur le même schéma.







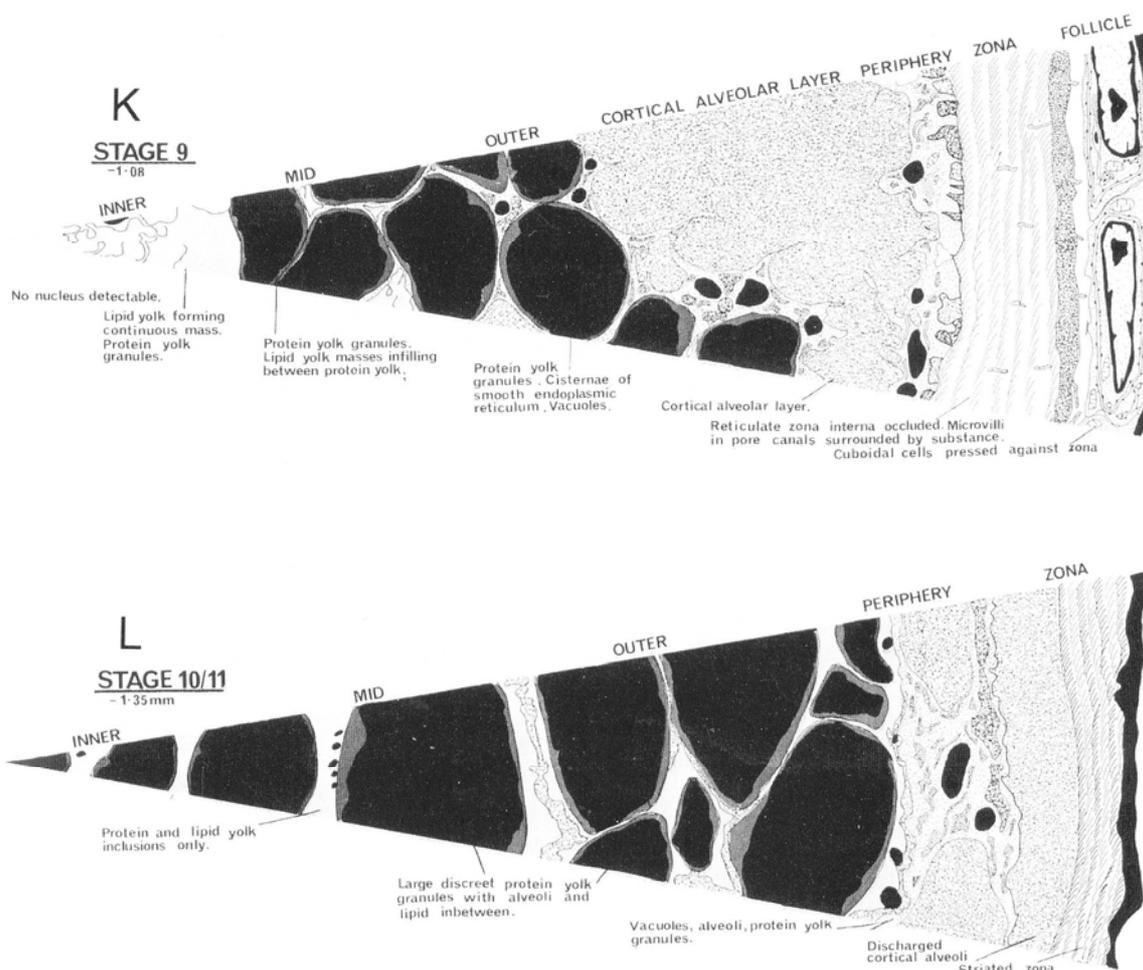


Figure 9 : Développement folliculaire chez *Blennius pholis* au cours de l'ovogenèse décomposée en onze phases (Figure 9A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K) (Shackley et King, 1977).

A : phase 1 ; B et C : phase 2 ; D, E : phase 3 ; F : stage 4 ; G : stade 5 ; H : stade 6 ; I : stade 7 ; J : stade 8 ; K : stade 9 ; L : stade 10/11.

II.2.2. Stades de maturité ovarienne

Plusieurs niveaux de maturation gonadique, selon les espèces et les auteurs, ont été définis au cours de l'ovogenèse. Généralement, le niveau de maturité correspond à la cellule sexuelle présente la plus avancée dans l'ovogenèse ou stade ovocytaire. La discrimination des différents stades cellulaires est principalement basée sur des critères morphologiques, sur la progression de la vitellogénèse et sur le développement de l'enveloppe folliculaire. Selon les

études, le nombre de stades décrits, généralement de 4 à 6, ainsi que la description histologique correspondante sont très variables (Stahl et Leray, 1961 ; Fontana, 1969 ; Gupta, 1975 ; Wallace et Selman, 1981 ; De Moussac, 1986 ; Deniel, 1989 ; Le Duff *et al.*, 1996 ; Beelen *et al.*, 1998 ; Gaamour, 1999 ; Carrasson et Bau, 2003).

II.2.2.1 Stades de maturité ovarienne identifiés de 1 à 4

Bengen *et al.* (1991), chez l'Alose (*Alosa alosa*), utilisent la terminologie de Stahl et Leray (1961) d'après les quatre catégories, ou stades, d'ovocytes distingués par Arndt (1956).

Le stade 1 correspond aux ovocytes jeunes, sans vacuoles cytoplasmiques. Le stade 2 est caractérisé par l'apparition à la périphérie du cytoplasme de vacuoles. Les ovocytes de stade 3 présentent un cytoplasme contenant des vacuoles présentant des grains de vitellus à la périphérie de la cellule où elles n'occupent qu'une zone très étroite. Au stade 4, les ovocytes sont parvenus à maturité, le noyau migre vers la périphérie, les grains de vitellus tendent à fusionner et les vacuoles disparaissent.

Murua *et al.* (2003), d'après les travaux de Wallace et Selman (1981), De Vlaming (1983), Guraya (1986), Wallace et Selman (1990) et Tyler et Stumper (1996), ont décrit plusieurs stades de maturité ovarienne chez des espèces marines.

Le stade 1, ou ovocyte prévitellogénique, représente la phase de croissance cellulaire initiale, depuis la formation des ovocytes à partir des ovogonies. Ce stade peut être divisé en deux types d'ovocytes, d'une part des cellules à gros noyau, contenant un grand nucléole et des petits nucléoles périphériques, enveloppés d'une fine couche cytoplasmique, et d'autre part des cellules présentant un noyau plus grand, contenant de gros nucléoles périphériques, et un cytoplasme où des vacuoles sont visibles.

Le stade 2, ou ovocyte en vitellogénèse, comprend 3 catégories cellulaires. La première catégorie regroupe des cellules qui présentent des vacuoles dans le cytoplasme qui accueilleront les grains de vitellus et des alvéoles corticales qui indiquent que la synthèse de vitellogénine endogène a débuté. L'enveloppe folliculaire est visible. La seconde catégorie est marquée par le développement des vésicules de vitellogénine exogène. Le diamètre des grains de vitellus augmente et la position du noyau est centrale. La troisième catégorie est mise en évidence par la migration du noyau au pôle animal. Elle correspond à la phase finale de maturation et les ovocytes subissent une hydratation qui précède l'ovulation.

Le stade 3 correspond aux follicules post-ovulatoires. Après l'ovulation, la structure folliculaire qui entoure chaque ovocyte s'ouvre, permettant ainsi l'émission de l'ovocyte hydraté tout en restant dans l'ovaire. Les auteurs distinguent une post-ovulation précoce, où la structure folliculaire est bien maintenue, la *granulosa* et la thèque sont visibles, et une post-ovulation tardive où la structure folliculaire est détériorée et résorbée, mais reste reconnaissable.

Le stade 4 est celui de l'atrésie, certains ovocytes sont en dégénérescence et d'autres sont complètement résorbés.

II.2.2.2. Stades de maturité ovarienne identifiés de 1 à 5

De Moussac (1986), en se basant sur les travaux de Moe (1969), différencie l'ovogenèse en cinq stades cellulaires chez *Epinephelus chlorostigma* (Valenciennes, 1828).

Le stade 1, ou ovocyte primaire, correspond à des cellules de 30 à 70 µm de diamètre avec un cytoplasme de coloration noire. Le volume du noyau diminue, la chromatine est peu discernable, le bord du noyau est peu net et le nucléole migre à la périphérie.

Le stade 2, ou ovocyte en attente, présente des cellules de forme variable dont le diamètre varie de 40 à 260 µm. Plusieurs nucléoles, dont un plus gros que les autres se différencient. Les bords du noyau sont nets.

Le stade 3, ou ovocyte en début de vitellogénèse, se caractérise par des cellules rondes d'un diamètre de 120 à 400 µm. Le noyau représente la moitié du diamètre de l'ovocyte, les chromosomes sont discernables et les nucléoles sont situés à la périphérie du noyau. Des vésicules vitellines apparaissent dans le cytoplasme et la différenciation de la *zona radiata* débute.

Le stade 4, ou ovocyte en maturation, se définit par des cellules ayant un diamètre de 230 à 500 µm. Les chromosomes et les nucléoles sont nettement visibles et perdent leur intégrité à la fin du stade. Une fusion des vésicules vitellines commence dans la partie centrale du cytoplasme puis s'étend vers la périphérie. La *zona radiata* se développe.

Le stade 5, ou ovocyte mûr, se caractérise par une augmentation considérable de la taille des cellules (diamètre 400 à 600 µm). La *zona radiata* forme la membrane du futur œuf.

Beelen *et al.* (1998), chez le gardon (*Rutilus rutilus*) et le goujon (*Gobio gobio*) caractérisent le stade 1, ou protoplasmique, par la présence d'ovocytes de petite taille et possédant un gros

noyau central. De nombreux nucléoles sont accolés à la membrane nucléaire. Le cytoplasme est très basophile et les membranes ovocytaires sont indifférenciées.

Les ovocytes de stade 2, ou en vitellogénèse endogène, accumulent des vésicules de vitellus qui vont progressivement remplir le cytoplasme. Le volume cellulaire augmente et les membranes cellulaires et folliculaires sont bien différenciées.

Le stade 3, ou de vitellogénèse exogène, se définit par la présence d'inclusions fusionnant progressivement en globules et repoussant les vésicules de vitellus en périphérie de l'ovocyte. Lors du stade 4, ou maturation finale, a lieu la migration du noyau ou son accolement au pôle animal.

Le stade 5, ou de post-ovulation, est marqué par la présence de follicules post-ovulatoires et d'ovocytes au stade 2, 3 ou 4. Ces auteurs ont également défini un stade d'atrésie pré-ovulatoire et des stades atrétiques en fonction du type d'ovocyte atteint d'atrésie.

Bouaziz (1992), chez le merlu (*Merluccius merluccius*), décrit le stade 1, ou ovaire immature, par la présence d'ovogonies (diamètre 10,5 µm), un rapport nucléoplasmique élevé, la présence d'ovocytes pré-vitellogéniques (diamètre 46,6 µm), un cytoplasme homogène, l'absence de vitellus et un noyau riche en nucléoles.

Le stade 2, ou ovaire en vitellogénèse, présente des cellules d'un diamètre de 340 à 388 µm. Le rapport nucléoplasmique diminue et le cytoplasme est hétérogène.

Le stade 3, ou ovaire en ponte, se compose d'ovocytes mûrs (ovocytes hyalins) d'un diamètre de $421,29 \pm 15,71$ µm, il y a liquéfaction du vitellus.

Le stade 4 présente des follicules vides entourés par des ovocytes à tous les stades de développement.

Le stade 5 ressemble au stade 1 et marque le début de l'accumulation des réserves dans les ovocytes pré-vitellogéniques. Le diamètre des ovocytes est de $36 \pm 3,2$ µm.

II.2.2.3. Stades de maturité ovarienne identifiés de 1 à 6

Gaamour (1999), chez la sardinelle ronde (*Sardinella aurita* Valenciennes, 1847), caractérise le stade 1, ou ovocyte primaire, par la présence de cellules de petite taille, à gros noyau et aux nucléoles de grande taille sans position particulière.

Le stade 2, ou ovocyte prévitellogénique, en accroissement est composé de cellules à gros noyau, aux nucléoles de petite taille et périphériques.

Le stade 3, ou ovocyte en vitellogénèse, primaire contient des cellules à enveloppe nucléaire lobée où se logent les nucléoles. Quelques vacuoles sont présentes dans le cytoplasme, et la *zona radiata* est discernable.

Le stade 4, ou ovocyte en début de vitellogénèse secondaire, correspond à des cellules de taille moyenne dont le cytoplasme est riche en vacuoles avec apparition des inclusions vitellines exogènes. La *zona radiata* est plus ou moins épaisse.

Le stade 5, ou ovocyte en fin de vitellogénèse secondaire, comprend des cellules de grande taille aux enveloppes bien développées. Les inclusions vitellines envahissent tout le volume cellulaire.

Le stade 6, ou ovocyte hyalin, est constitué de cellules de grande taille avec la formation d'un vitellus hyalin par coalescence des inclusions vitellines. Le noyau migre vers la périphérie. Cet auteur décrit également un stade post-ovulatoire : à la fin de l'ovogenèse, l'ovocyte s'hydrate, son augmentation de volume rapide entraîne la rupture de la *granulosa*, et sa libération de la l'enveloppe folliculaire. La thèque et les cellules de la *granulosa* qui restent dans l'ovaire forment le follicule post-ovulatoire. L'ovocyte atrétique est également décrit, il correspond à une dégénérescence de l'ovocyte vitellogénique qui peut survenir à différents stades de développement.

Mutambue *et al.* (1991), chez *Opsaridium chrystyi*, définissent le stade 1 par la présence d'ovocytes d'un diamètre de 200 µm, dont le cytoplasme est composé de granules. Les ovocytes sont dépourvus d'enveloppe folliculaire.

Les ovocytes de stade 2 ont un diamètre de 300 à 600 µm. Les granulations donnent un aspect réticulé au cytoplasme. Quelques inclusions lipidiques (vitellus) apparaissent au sein du cytoplasme, surtout dans la partie moyenne. Les nucléoles sont situés en périphérie du noyau. Quelques cellules folliculaires apparaissent.

Au stade 3, les ovocytes présentent un diamètre de 600 à 900 µm. Les inclusions lipidiques (vitellus) sont très nombreuses. Des granulations, situées entre les inclusions, apparaissent en périphérie puis envahissent tout le cytoplasme. L'ovocyte comporte un système complexe de couches cellulaires et acellulaires constituant l'enveloppe folliculaire.

Au stade 4, les ovocytes atteignent leur taille maximale (diamètre 1200 µm). Les gouttelettes lipidiques très volumineuses envahissent le cytoplasme. A la périphérie, entre les gouttelettes, les granulations laissent progressivement place à des globules, futures plaquettes vitellines. Les inclusions lipidiques diminuent de volume et sont repoussées à la périphérie, formant une rangée d'alvéoles corticales. Les cellules folliculaires deviennent cubiques.

Au stade 5, les plaquettes vitellines ont complètement envahi le cytoplasme. L'ovocyte est en fin de vitellogénèse et a atteint sa maturité.

Au stade 6, les follicules sont vides, l'ovocyte hydraté a été émis. Ces structures se résorbent progressivement et disparaissent.

Fontana (1969), chez deux espèces de sardinelles (*Sardinella eba* et *Sardinella aurita*), propose 6 stades de maturation cellulaire à partir de la distribution de fréquence des diamètres des ovocytes et ovules intra-ovariens.

Au stade 1 (immature ou repos), les ovocytes sont disposés régulièrement le long des lamelles ovariennes. Le cytoplasme est homogène et ne présente pas de vésicule vitelline. Le noyau est bien délimité mais contient peu de chromatine. Les nucléoles sont nombreux et disposés en périphérie. Le rapport nucléocytoplasmique est en moyenne de 0,50. Les ovocytes du stade 1 représentent le stock général de réserve.

Le stade 2 (maturation), est caractérisé principalement par le début de la vitellogénèse. Les granules vitellins se développent de la périphérie vers le noyau et envahissent tout le cytoplasme. Le noyau devient de plus en plus chromatique et le rapport nucléocytoplasmique est de 0,30.

Au stade 3 (pré-ponte), les ovocytes ont une forme arrondie. Les granules de vitellus fusionnent et augmentent de volume. A ce stade peut se produire un début d'hydratation des ovocytes. Le rapport nucléocytoplasmique est de 0,15.

Le stade 4 (ponte), est marqué par l'apparition d'ovocytes mûrs. Les follicules éclatent par l'action de l'hydratation des ovocytes. Le reste de la gonade est occupé par les ovocytes du stock général de réserve (stade 1), les ovocytes du stade 2 et ceux en début de stade 3, qui vont être le point de départ de nouvelles pontes.

Au stade 5 (fin de ponte et récupération avant ponte ultérieure), des ovocytes mûrs résiduels sont présents. Les ovocytes du stock le plus avancé sont ceux en début de stade 3. Des zones de nécrose sont observées au sein desquelles de petites cellules à noyau très chromatique prolifèrent. Certains auteurs ont cru voir des leucocytes jouant un rôle de phagocytose.

Au stade 6 (fin de dernière ponte et involution de l'ovaire), l'ovaire apparaît nettement désorganisée et tous les ovocytes sont en voie de maturation et présentent des signes de nécrose. Seuls subsisteront les ovocytes du stock de réserve général.

Carrasson et Bau (2003) décrivent 6 stades de maturation ovocytaire chez *Aidablennius sphinx*. Le stade ovogonie n'a pas pu être observé pour des raisons méthodologiques.

Le stade 1 correspond à la présence d'ovocytes de petite taille à noyau volumineux et cytoplasme réduit. Dans le noyau de ces ovocytes est observé un gros nucléole.

Au stade 2, les ovocytes augmentent en taille et le nucléole se divise en plusieurs nucléoles moins volumineux, qui migrent vers la périphérie du noyau. Le cytoplasme est uniforme et présente une coloration noire. A la fin de ce stade les ovocytes ont doublé de taille et de nombreux nucléoles sont visibles à la périphérie du noyau.

Le stade 3 est caractérisé par l'apparition de vacuoles corticales en périphérie du cytoplasme.

Le stade 4 présente des ovocytes qui ont augmenté en taille et qui atteindront leur maximum à la fin de ce stade. Des vésicules, granules ou globules vitellins apparaissent dans le cytoplasme et restent indifférenciés les uns des autres.

Le stade 5 est marqué par la migration du noyau vers la périphérie et la dissolution de sa membrane. Les ovocytes sont mûrs.

Le stade 6 est le stade de l'atrésie. Ce phénomène concerne les ovocytes qui n'ont pas pu mûrir. Ce stade est un bon indicateur de ponte et montre que l'individu a atteint la maturité.

Le Duff *et al.* (1996), chez la limande (*Limanda limanda*) caractérisent le stade 1 par la présence d'ovocytes (diamètre 10 à 35 μm) à noyau très volumineux contenant 1 à 6 nucléoles centraux. Lorsqu'il y en a plusieurs, un des nucléoles est plus gros que les autres.

Au stade 2, les nucléoles sont plus nombreux et périphériques. Le noyau a une allure ronde et un contour irrégulier. Les ovocytes ont un diamètre de 35 à 120 μm . Jusqu'à 90-100 μm , le cytoplasme est homogène, au-delà une zone hétérogène est visible en périphérie.

Au stade 3, l'enveloppe nucléaire devient irrégulière et présente des évaginations à l'intérieur desquelles viennent se placer les nucléoles. Dans le cytoplasme débute la vitellogénèse et les alvéoles corticales apparaissent dans la zone hétérogène du cytoplasme. La *zona radiata* est visible à la fin de ce stade.

Au stade 4, le nombre de granules vitellins augmente, occupant 20 à 50 % du cytoplasme. La *zona radiata* augmente en épaisseur (4 μm).

Au stade 5, les globules vitellins occupent la majeure partie du cytoplasme. A la fin du stade, la *zona radiata* atteint son épaisseur maximale (18 μm).

Le stade 6 est marqué par la migration du noyau vers le pôle animal de la cellule. A la fin du stade le noyau disparaît. L'hydratation rapide de l'ovocyte provoque la fusion des globules vitellins qui forment alors des plaquettes ; l'ovocyte devient hyalin.

Casadevall *et al.* (2001), chez *Ophichthus rufus*, caractérisent le stade 1 par la présence d'un gros nucléole accompagné d'autres de plus petite taille qui commencent à migrer vers la périphérie du noyau. Le diamètre du noyau est constant pendant ce stade.

Au stade 2, le nombre de nucléoles augmente et ces derniers localisent à la périphérie du noyau.

Au stade 3, le nombre de nucléoles est stabilisé autour de 22 ; ils présentent tous le même diamètre et sont localisés à la périphérie du noyau. Les stades 1, 2 et 3 correspondent à des ovocytes prévitellogéniques.

Le stade 4 est marqué par l'apparition de vésicules de vitellus (ou alvéoles corticales) en périphérie de l'ovocyte. Des gouttelettes lipidiques, plus grandes mais moins nombreuses que les alvéoles corticales, apparaissent en position centrale. Dans le même temps, des granules apparaissent à proximité des alvéoles corticales. Les nucléoles demeurent en périphérie du noyau.

Au stade 5, le volume des ovocytes augmente subitement. Les alvéoles corticales demeurent en même position alors que les gouttelettes lipidiques envahissent le cytoplasme. Le contour du noyau est irrégulier. Les granules vitellins sont dispersés dans le cytoplasme est leur volume augmente.

Au stade 6, les gouttelettes lipidiques, initialement à proximité de l'enveloppe nucléaire, fusionnent, puis s'étendent au reste du cytoplasme. Les alvéoles corticales demeurent indifférenciées dans la zone périphérique. La *zona radiata* atteint son épaisseur maximale (10 μm) et les cellules folliculaires sont clairement différenciées. Ces auteurs citent également des stades pré-ovulatoires (*corpora atretica*) et post-ovulatoires (*corpora lutea*) qui n'ont cependant pas été observés lors de leur étude.

Belaid *et al.* (1992), à partir des travaux de Deniel (1989), décrivent six stades cellulaires chez *Barbus callensis*, les stades 1 (ovocyte primaire) et 2 (ovocyte immature) en prévitellogénèse et les stades 3 (ovocyte à vitellogénèse primaire), 4 (ovocyte à vitellogénèse secondaire) et 5 (ovocyte à vitellogénèse tertiaire) en vitellogénèse. Le stade 6 (ovocyte mûr) correspond au grossissement de la cellule et à la régression de la *zona radiata*, de la couche folliculaire et de la thèque. Il a également défini un stade d'atrésie (ovocyte atrétique) qui correspond à un ovocyte mûr non émis.

Gupta (1975), chez la carpe (*Cyprinus carpio*), caractérise le stade 1, ou ovocyte immature, par la présence d'ovogonies et d'ovocytes de petite taille. Les ovogonies présentent un

cytoplasme réduit et un nucléole proéminent. Le volume du noyau augmente et des nucléoles plus petits apparaissent à la périphérie. Les ovocytes sont entourés d'une fine couche de cellules folliculaires et leur diamètre est de 50 à 150 μm . Le noyau occupe deux tiers du volume cellulaire et présente une membrane nucléaire distincte. Avec l'augmentation du volume cellulaire, le cytoplasme s'accroît plus que le noyau. Les cellules de stade 1 sont présentes au cours des différents stades de l'ovogenèse.

Le stade 2, ou stade de vacuolisation du cytoplasme, marque le début de la maturation de l'ovaire. Les ovocytes contiennent de petites vacuoles dans le cytoplasme. La structure du noyau n'a pas subi de modifications majeures depuis le stade immature (stade 1). A ce stade, les plus petits ovocytes ont un diamètre de 150 μm alors que celui des plus grands est de 300 μm .

Le stade 3, ou maturation avancée, présente des ovocytes volumineux, d'un diamètre de 700 μm . Des granules vitellins sont visibles dans le cytoplasme. Les globules vitellins, qui apparaissent d'abord dans le cytoplasme puis envahissent les vésicules à vitellus, continuent à croître en taille et en nombre. A la fin de la vitellogénèse, les globules fusionnent pour former des plaques vitellines. La membrane nucléaire devient indistincte et les nucléoles ne sont plus organisés à la périphérie du noyau et sont dispersés. La couche folliculaire et la *granulosa* augmentent en épaisseur.

Le stade 4, ou ovocyte mature, est marqué par une tunique très fine et par des ovocytes d'un diamètre de 800 μm . La membrane nucléaire disparaît et le noyau perd sa forme.

Le stade 5, ou ovaire mûr, présente des ovocytes volumineux, d'un diamètre de 900 μm . Certains ovules, dont le noyau n'est plus visible, sortent de l'enveloppe folliculaire pour rejoindre la lumière ovarienne.

Au stade 6, ou ponte partielle, le diamètre des ovocytes peut être supérieur à 800 μm et les cellules folliculaires restantes, après émission de l'ovocyte, commencent à s'hypertrophier et occupent l'ensemble de l'espace cellulaire. Cet auteur a également défini un stade d'atrésie qui survient à partir du stade 3. L'ovocyte, même proche de la maturité, se résorbe. La *granulosa* se désorganise et les cellules s'individualisent. Les cellules de la *granulosa* vont phagocyter le vitellus et, simultanément, des cellules sanguines vont dégrader le vitellus. A ce stade, le follicule perd sa forme ; ces corps sont décrits comme *corpora lutea*, follicules atrétiques ou atrésie.

II.3. Appareil génital mâle : le testicule

II.3.1. Anatomie générale du testicule

Chez la plupart des Téléostéens, le testicule est un organe paire constitué de deux lobes (Figure 10), partiellement fusionnés comme chez la perche (*Perca fluviatilis*) ou totalement fusionnés comme chez le guppy (*Poecilia reticulata*), généralement allongés, situé dorsalement dans la cavité générale et se prolongeant postérieurement par le canal déférent (Billard, 1986 ; Pudney, 1995 ; Takashima et Hibiya, 1995). L'aspect macroscopique du testicule, tels que la couleur, la morphologie et surtout la taille varient au cours du cycle de reproduction (Vizziano *et al.*, 2008). L'organisation du testicule est commune à tous les poissons et aux autres vertébrés. Il se compose de cellules germinales, qui produiront les gamètes, et de cellules somatiques (cellules de Sertoli et cellules de Leydig) qui ont un rôle nutritif et de régulation dans le développement des cellules germinales (Grier, 1993 ; Takashima et Hibiya, 1995). Cette organisation peut se résumer en un compartiment germinal qui regroupe les cellules germinales et les cellules de Sertoli, et en un compartiment interstitiel, séparant chaque 'lobule' ou 'tubule', à l'intérieur duquel se situent les cellules de Leydig, mais aussi des capillaires sanguins, des fibroblastes, des macrophages et des fibres nerveuses (Billard *et al.*, 1982, Billard, 1986 ; Grier, 1993).

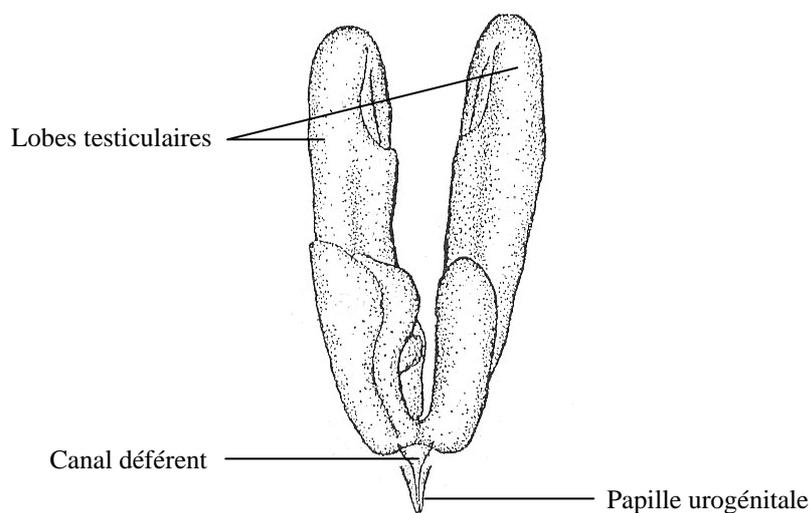


Figure 10 : Appareil génital mâle (*Zosterisessor ophiocephalus*) en vue ventrale du testicule (modifié d'après Patzner *et al.*, 1991).

II.3.2. Organisation testiculaire

L'unité fonctionnelle constituant le compartiment germinal du testicule est le cyste. Il est composé de cellules germinales et de cellules de Sertoli en périphérie. A l'intérieur de chaque cyste, le développement des cellules germinales est synchrone, chaque cellule étant au même stade de différenciation (Grier, 1993 ; Pudney, 1993, 1995 ; Takashima et Hibiya, 1995 ; Loir *et al.*, 1995). Cet épithélium germinal, organisé en cystes, est surmonté par une membrane basale acellulaire (Billard *et al.*, 1982, Figure 11).

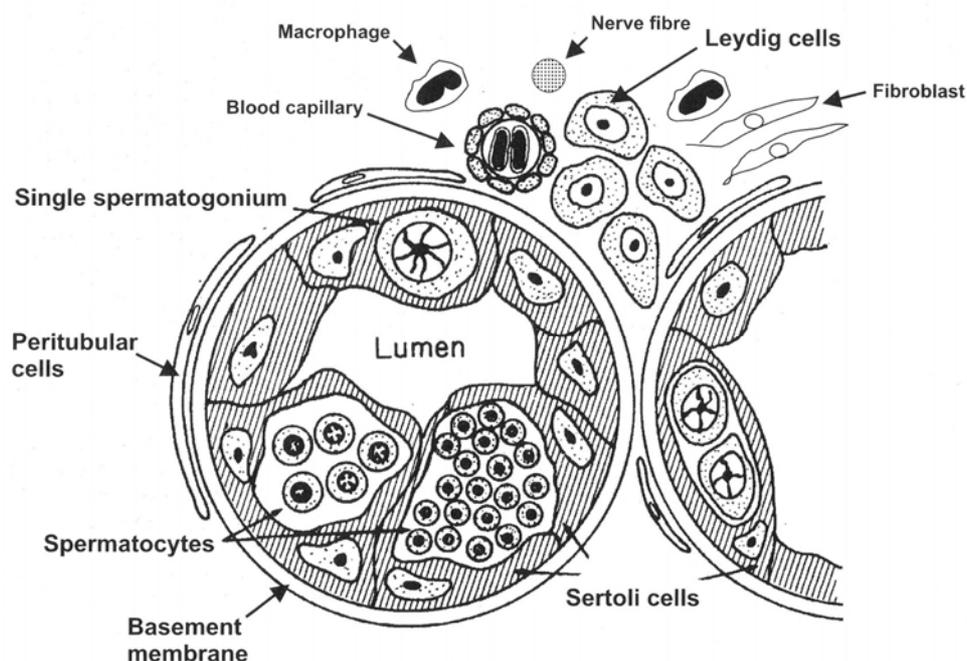


Figure 11 : Section transversale d'un lobule testiculaire (Billard *et al.* , 1982).

L'organisation testiculaire a été décrite par plusieurs auteurs et différentes classifications ont été établies. Grier (1981) a en premier lieu décrit des testicules avec une organisation des cystes 'structurée' et 'non structurée' au sein de chaque 'lobule'. Cette classification est basée sur la localisation des cystes à différents stades de différenciation : dans le type 'structuré', il existe un gradient de l'extrémité apicale vers la partie basale du lobule des cystes selon le stade de développement des cellules sexuelles (Figure 12) ; dans le type 'non structuré' ce gradient est absent. Par ailleurs, Billard (1986) a décrit deux types de structures basés sur la présence ou l'absence de lumière : le type 'lobulaire' possédant une lumière centrale et le type 'tubulaire' en étant dépourvu. Dans cette classification les types 'lobulaires' et 'tubulaires'

correspondent respectivement aux types 'non structuré' et 'structuré' (Figure 13) (Takashima et Hibiya, 1995).

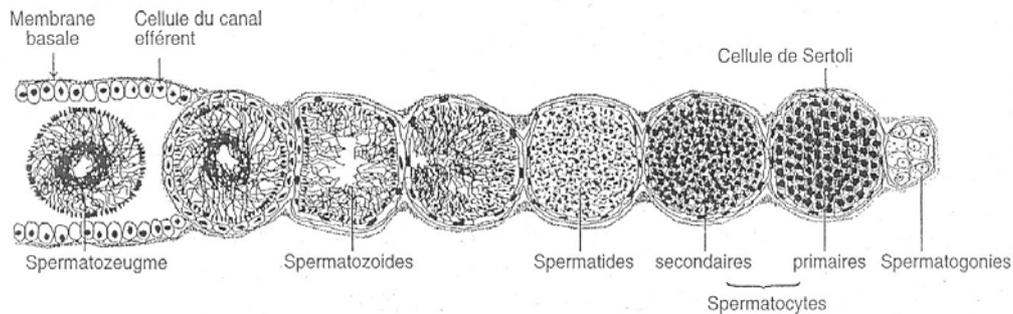


Figure 12 : Tubule testiculaire chez le Poecilié *Xiphophorus maculatus*. Les cystes progressent de la droite vers la gauche, depuis les cystes à spermatogonie aux cystes à spermatozoïdes (Kinnberg *et al.*, 2000).

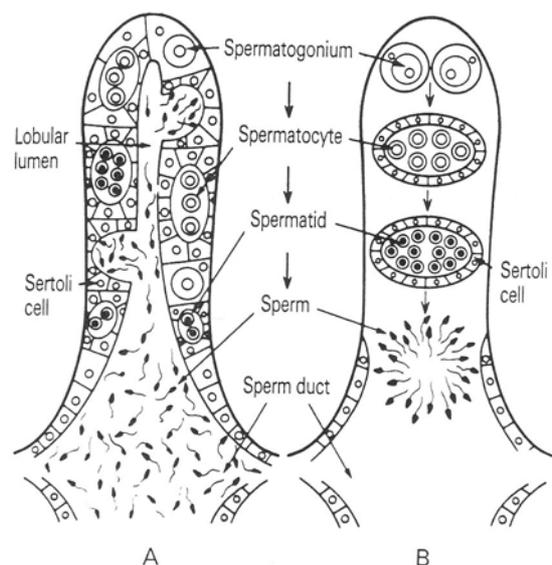


Figure 13 : Schéma d'un lobule de type 'non structuré' (A) et d'un lobule 'structuré' (B) ou 'tubule' (Takashima et Hibiya, 1995).

Billard (1969, 1986) a décrit les types tubulaire et lobulaire respectivement chez le guppy (*Poecilia reticulata*) et la truite (*Salmo trutta*) (Figure 14). Dans le type tubulaire il existe au centre du testicule une large cavité où les spermatozoïdes sont stockés et forment des spermatozeugmes. Les tubules sont orientés de cette cavité, partie basale du tubule, vers la périphérie (la tunique) du testicule, partie apicale du tubule. Dans le type lobulaire, les lobules sont séparés de la tunique du testicule par un tissu conjonctif. Ils forment des tubes irréguliers composés d'un épithélium de cellules de Sertoli qui enveloppe les cellules germinales. La

partie apicale est apposée sur la tunique du testicule et les lobules convergent vers le canal efférent.

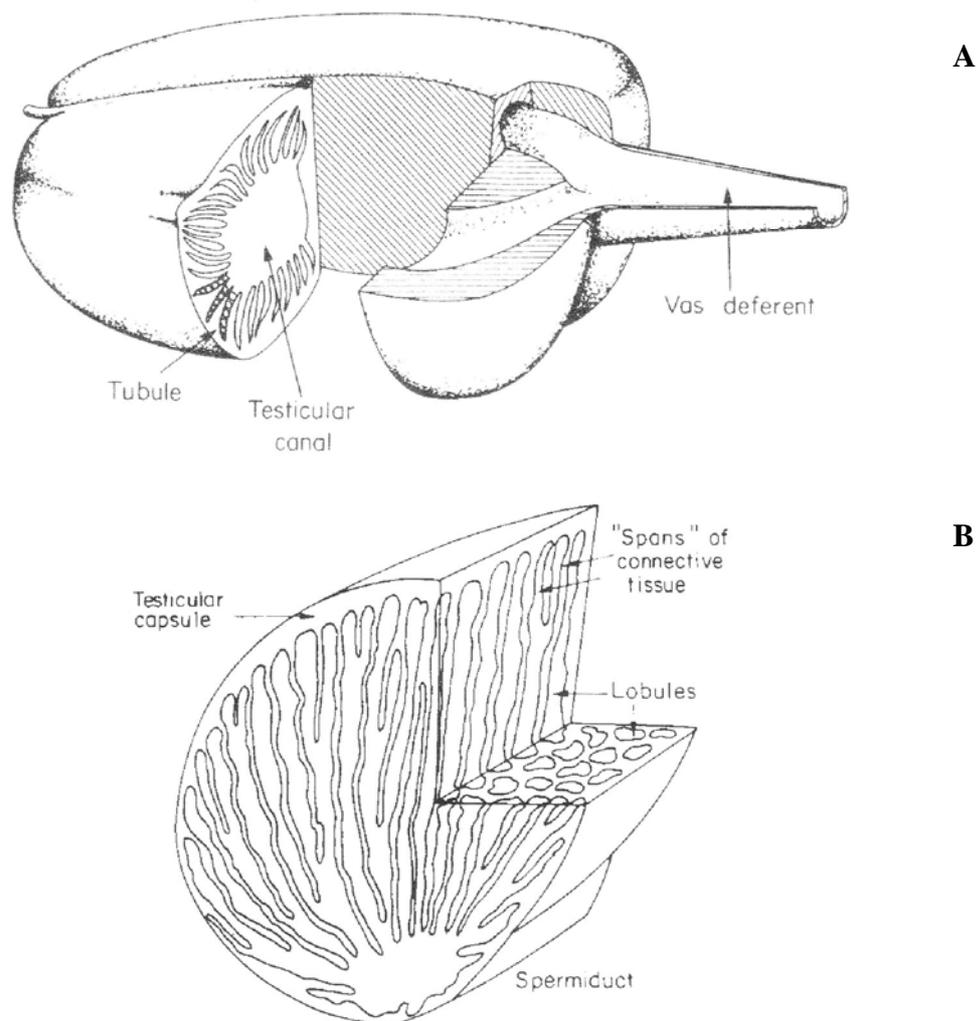


Figure 14 : Structure d'un testicule de type 'tubulaire' (A) chez *Poecilia* et 'lobulaire' (B) chez *Salmo trutta* (Billard, 1986).

Callard (1991) a redéfini les deux types de testicules. Le compartiment germinale du type 'tubule' ne se termine pas à la périphérie du testicule et forme des boucles alors que pour le type 'lobule' il se termine à la périphérie du testicule. Prenant en compte les observations de Callard (1991), Grier (1993) a établi une nouvelle classification : le type 'lobulaire', à

l'intérieur il distingue les types 'structuré' ou 'non structuré', et le type 'tubulaire anastomosé' (Figure 15 et Figure 16).

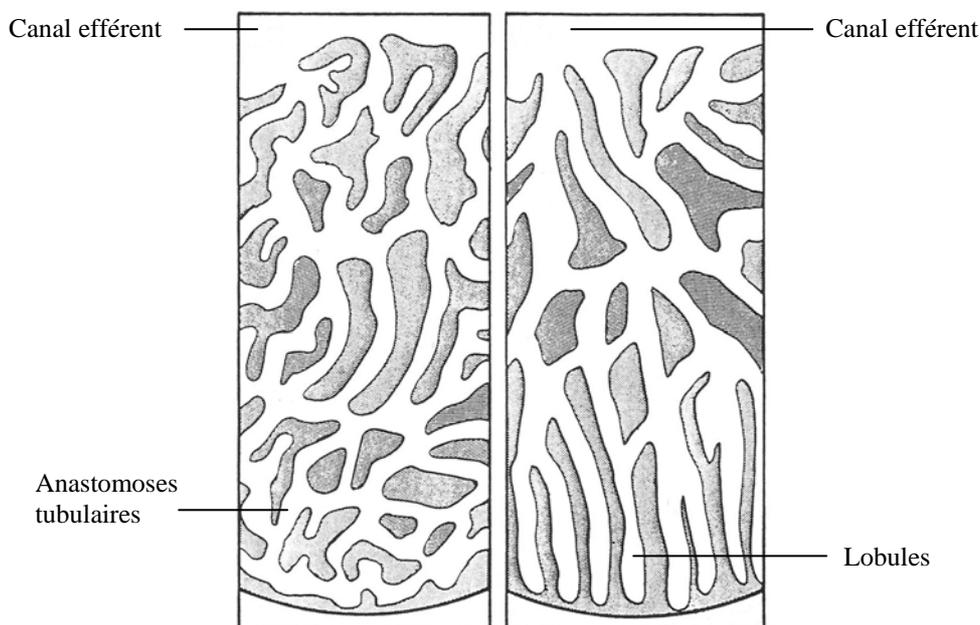


Figure 15 : Représentation schématique des deux types d'organisation testiculaire rencontrés chez les téléostéens (modifié d'après Grier, 1993). A : type 'lobulaire' ; B : type 'tubulaire anastomosé' ; C.

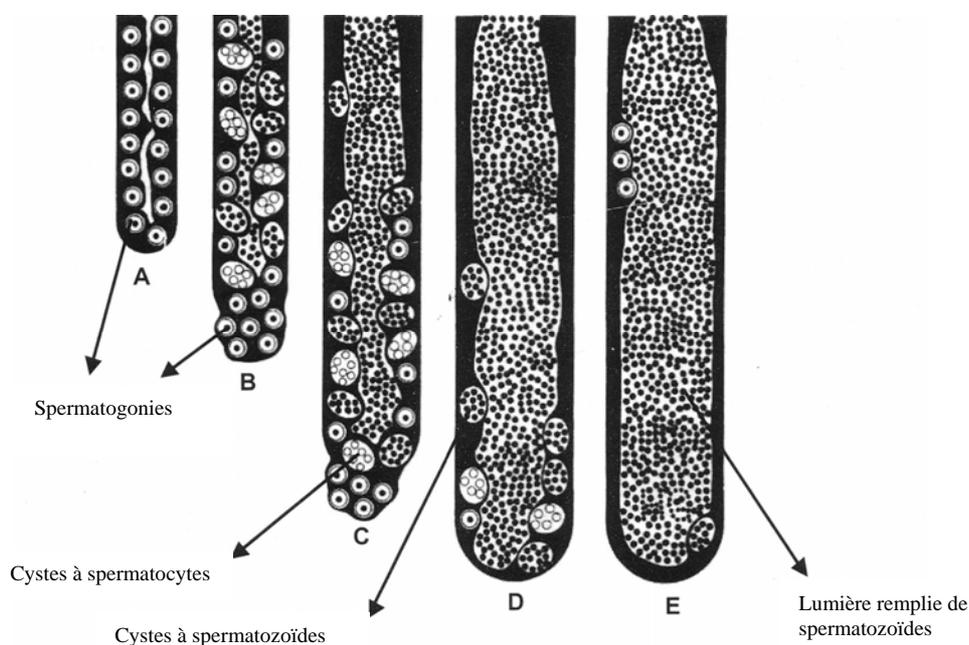


Figure 16 : Structure d'un lobule de type 'non structuré' représentée selon la progression de la spermatogenèse (modifié d'après Grier, 1993). A : gonade au repos sexuel (présence de spermatogonie uniquement) ; B : début de la maturation sexuelle (présence de spermatoocytes à différents stades de différenciation) ; C : maturation intermédiaire (les cellules germinales occupent la quasi-totalité du lobule) ; D : fin de la maturation (pré-spermiation) ; E : Maturité (spermiation).

Organisation du type 'lobulaire structuré' : il existe une progression de la maturation des cellules germinales de l'apex du lobule (périphérie du testicule) vers la partie basale (canal efférent) ; les cystes à spermatogonies sont situés dans la partie apicale et les cystes à spermatozoïdes dans la partie basale. Les cystes en maturation vont migrer vers le canal efférent où les spermatozoïdes seront libérés par rupture de la membrane des cystes. Cette migration est passive et résulte de la formation continue des cystes au niveau de l'apex du lobule.

Organisation du type 'lobulaire non structuré' : c'est le type d'organisation le plus fréquemment rencontré chez les téléostéens. Les cystes ne sont pas organisés de l'apex du lobule vers la partie basale et sont stationnaires. Les cystes à spermatogonies, entourés des cellules de Sertoli, sont présents tout le long du lobule et sont présents au cours du cycle sexuel, de la phase de repos à la phase de reproduction. La spermatogenèse se déroule dans chaque cyste avec un développement synchrone des cellules sexuelles, des spermatogonies aux spermatozoïdes. Les cystes se situent en bordure du lobule créant ainsi une lumière lobulaire d'où seront évacués les spermatozoïdes, par rupture de l'enveloppe constituée de cellules de Sertoli, vers le canal efférent. Il existe également chez certaines espèces de téléostéens une spermatogenèse semi-cystique (Mattei *et al.*, 1993), certains cystes s'ouvrent précocement et différents stades cellulaires sont présents dans la lumière du lobule.

L'organisation du type 'tubulaire' est similaire à celle du type 'lobulaire non structuré'.

II.3.3. Cellules germinales et spermatogenèse

Le développement des cellules sexuelles, ou spermatogenèse, est commun à tous les vertébrés (Callard et Callard, 1998). Il consiste en une succession de divisions mitotiques des cellules germinales isolées (cellules germinales primordiales ; CGP) qui vont s'organiser en cystes à l'origine des cystes à spermatogonies. A l'intérieur de chaque cyste le développement des cellules sexuelles est synchrone, et par divisions méiotiques (divisions réductionnelle et équationnelle), les spermatocytes I vont donner des spermatocytes II, et ces derniers des spermatides, accompagné à chaque étape de maturation d'un doublement des cellules sexuelles à l'intérieur d'un même cyste. Enfin, par le processus de spermiogenèse (élimination du cytoplasme, acquisition du flagelle et condensation de la chromatine ; Billard,

1979), les spermatides aboutissent à la formation de spermatozoïdes. Le processus de spermatogenèse chez les téléostéens a été décrit par de nombreux auteurs, et particulièrement par Billard (1973, 1979, 1986) chez des espèces continentales (Figure 17 et Figure 18).

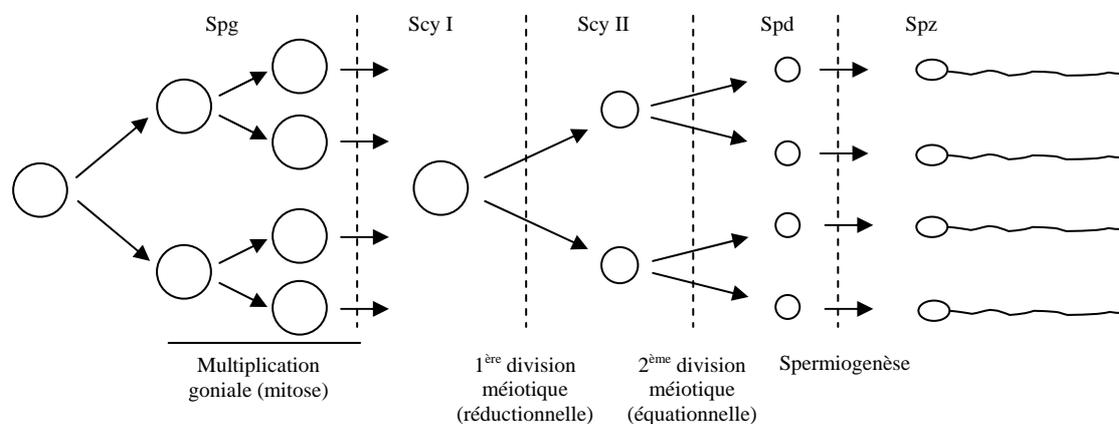


Figure 17 : Etapes de la spermatogenèse. (Spg : spermatogonie ; Scy : spermatocyte ; Spd : spermatide; Spz : spermatozoïde).

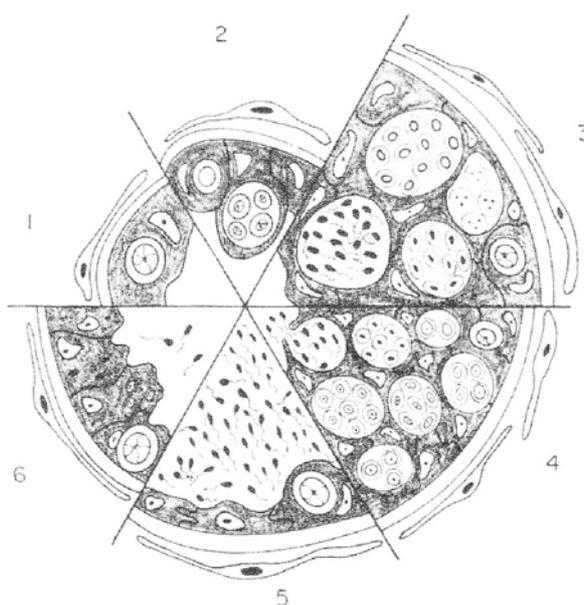


Figure 18 : Cycle de la spermatogenèse chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) dans un testicule de type 'lobulaire' (Billard, 1986).

1 : Repos sexuel ; 2 : multiplication spermatogonale ; 3 : spermatogenèse active, la taille du lobule augmente ; 4 : spermatogenèse active, relargage des premiers spermatozoïdes ; 5 : spermiation ; 6 : élimination de tous les spermatozoïdes par évacuation ou résorption.

Les cellules germinales n'évoluent pas seules, elles sont toujours associées à des cellules somatiques, ou cellules de Sertoli, qui ont un rôle de soutien structural et nutritif, et la

régulation endocrine de la spermatogenèse est assurée par les cellules interstitielles ou cellules de Leydig (Billard, 1979 ; Vizziano *et al.*, 2008).

II.3.4. Cellules de Sertoli et de Leydig

Les cellules somatiques participant à la spermatogenèse sont principalement les cellules de Sertoli, contenues dans les lobules ou tubules, et les cellules à fonction endocrine de Leydig situées dans le compartiment interstitiel séparant chaque lobule ou tubule.

Les cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli ont fait l'objet de plusieurs études ultra-structurelles (Collenot et Damas, 1980 ; Bruslé et Bruslé, 1983, Tavciovska-Vasileva, 2005). Billard *et al.* (1972) y ont consacré une étude très détaillée chez des espèces d'eau douce en zone tempérée telles que la truite arc-en-ciel et fario (*Salmo gairdneri* et *Salmo trutta fario*), le brochet (*Esox lucius*), la carpe (*Cyprinus carpio*), le carassin (*Carassius auratus*) et la gardon (*Rutilus rutilus*). L'ensemble des études effectuées chez ces espèces est résumé dans la figure 19. Pendant la période de repos sexuel, les cellules de Sertoli entourent complètement les cellules germinales. Lors de la reprise de la spermatogenèse, les spermatogonies isolées sont séparées les une des autres par les cellules de Sertoli et constituent le point de départ des cystes dans lesquels vont se dérouler la spermatogenèse. Chaque cyste ainsi créé est entouré de cellules de Sertoli.

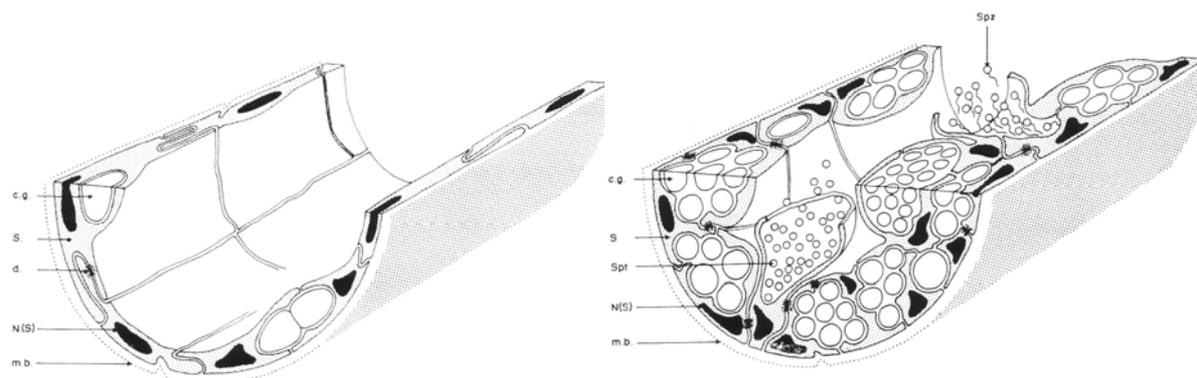


Figure 19 : Structure schématique des lobules testiculaires chez les poissons téléostéens à cycle reproducteur annuel (c.g. : cellules germinales ; S. : cellules de Sertoli ; d. : desmosome ; N.(S) : noyau des cellules de Sertoli ; m.b. : membrane basale ; spt. : spermatides ; spz. Spermatozoïdes ; l.l. : lumière centrale du lobule) (Billard *et al.*, 1972).

Les cellules de Sertoli qui ont un rôle de soutien, de nutrition, de phagocytose des cellules germinales, interviennent dans la spermiation et ont peut être un rôle endocrine (Billard *et al.*, 1972) :

Rôle de soutien : Les spermatogonies sont incluses dans le cytoplasme des cellules de Sertoli. Après une ou plusieurs divisions goniales, certaines spermatogonies s'isolent et subsistent à l'état de cellule souche alors que les autres vont continuer à se diviser, formant des cystes à spermatogonies. La spermatogenèse se déroule dans ces cystes dont l'enveloppe est constituée de cellules de Sertoli. Au cours des multiplications des cellules sexuelles (méiose) les cystes vont grossir et les cellules de Sertoli s'allonger. A la fin de la spermiogenèse, l'enveloppe devient de plus en plus fragile et finit par se rompre, permettant ainsi la libération des spermatozoïdes dans le canal efférent du testicule. Dans les testicules de type 'lobulaire', les cellules de Sertoli sont reliées entre elles par des jonctions spécialisées et sont pratiquement immobiles. Dans le cas du type 'tubulaire', les cystes se déplacent et les cellules de Sertoli de deux cystes voisins sont indépendantes (Billard, 1970a, 1970b). Cependant, dans les deux types de structure testiculaire, les cellules de Sertoli jouent le même rôle de soutien.

Rôle de nutrition : les cellules de Sertoli, située entre la membrane basale des lobules et les cellules germinales, sont impliquées dans le transit des métabolites aux cours de la spermatogenèse et leurs relations varient selon que les cellules sexuelles soient organisées en cystes (spermatogonies, spermatocytes, spermatide) ou non (spermatozoïdes). Les cellules de Sertoli ne sont pas en contact permanent avec toutes les cellules d'un cyste.

Rôle de phagocytose : les cellules de Sertoli jouent un rôle dans la phagocytose des cellules germinales en dégénérescence et des spermatozoïdes résiduels. Cependant, il existe une interaction entre les cellules de Sertoli et les macrophages du compartiment interstitiel dans ce phénomène (Besseau et Faliex, 1994).

Les rôles dans la spermiation et la sécrétion hormonale ne sont pas clairement établis par Billard *et al.* (1972). Des études plus récentes (Fostier *et al.*, 1983 ; Loir, 1990a, 1990b ; Kobayashi *et al.*, 1998) ont montré que chez les téléostéens l'activité endocrine des cellules de Sertoli est faible, voir nulle, et variable selon les espèces, mais donc susceptibles d'opérer un contrôle hormonal de la spermatogenèse.

Les cellules de Leydig et le compartiment interstitiel

Les cellules de Leydig sont une des composantes majeures de l'épithélium interstitiel des téléostéens (Pudney, 1996). Ce compartiment est cependant constitué de diverses autres cellules qui forment une enveloppe discontinue à la périphérie des lobules ou des tubules. Des

cellules myotiques sont présentes, assurant l'expulsion des spermatozoïdes du lobule ou du tubule vers le canal efférent (Dulka & Demski, 1986 ; Grier *et al.*, 1989 ; Timmermans *et al.*, 1993 ; Cauty et Loir, 1995). Dans ce compartiment interstitiel sont également présents des capillaires sanguins, des fibroblastes et des macrophages, ces derniers étant particulièrement abondant lors de la régression gonadique (Loir *et al.*, 1995 ; Cauty et Loir, 1995). Les cellules de Leydig sont organisées en îlots, particulièrement lors des stades de maturité peu évolués (repos sexuel, début de la spermatogenèse), alors que dans des stades plus avancés, marqués par l'apparition des spermatides, elles tendent à se disperser (Weltzien, *et al.*, 2002). Ces cellules endocrines ont une activité hormonale à l'origine de la sécrétion de stéroïdes tels que les androgènes, notamment la testostérone, et la progestérone (van den Hurk, 1973 ; van den Hurk, 1978 ; Pudney, 1996) qui ont un rôle important dans la régulation la spermatogenèse, ainsi que dans l'acquisition des caractères sexuels secondaires, très important chez les mâles pour le succès de transmission des gènes (Gross, 1996).

II.4. Stades de maturité testiculaire

L'évaluation du niveau de maturité sexuelle chez les poissons mâles est généralement appréhendée par l'aspect macroscopique du testicule et par son observation histologique, basée sur la spermatogenèse et la présence des différents types cellulaires (cellules germinales) au sein de la gonade, sur des critères morphologiques (taille de la gonade, lumière lobulaire), la spermiation ou encore la résorption des spermatozoïdes non émis. Selon les auteurs, les stades de développement testiculaire sont très variables, en termes de description et de stades définis.

Sakun et Buckaja (1963) ont décrit six stades de maturation sexuelle chez les poissons. Au stade I, sont uniquement présentes des spermatogonies, c'est le stade immature ou repos sexuel. Le stade II est caractérisé par une intense multiplication goniale. Au stade III, le volume du testicule augmente, les cellules sexuelles sont à tous les stades de la spermatogenèse. Les spermatides et les spermatozoïdes sont formés à la fin de ce stade. Le stade IV est la fin du processus de la spermatogenèse. Au stade V les spermatozoïdes sont évacués (spermiation) et le stade VI se caractérise par la résorption des spermatozoïdes non émis.

A partir de l'abondance, dans des sections de coupes transversales de testicules, des différents types de cellules sexuelles, Suwanjarat *et al.* (2005) ont décrit cinq stades de développement testiculaire chez *Oxyeleotris marmoratus* Bleeker, 1852 (Teleostei, Gobiidae). Pendant le stade de repos, les testicules sont petits et il n'y a pas d'activité spermatogénique. L'épithélium germinale est constitué en grande majorité par les spermatogonies, quelques rares spermatocytes I sont présents. Des spermatozoïdes résiduels issus de la précédente période de ponte persistent également. La lumière est étroite et dépourvue de cellules. Le stade de développement est caractérisé par la croissance du testicule et la présence de cystes contenant tous les types cellulaires de la spermatogenèse (spermatogonies, spermatocytes I et II, spermatides et spermatozoïdes). Les cystes à spermatogonies régressent tandis que les cystes à spermatocytes I et II se développent avant de régresser à leur tour consécutivement à l'apparition des cystes à spermatides. Le nombre de spermatides et de spermatozoïdes augmente considérablement à la fin de ce stade. Au stade de maturité, le testicule est complètement mature, c'est-à-dire principalement constitué de spermatozoïdes situés au niveau de la lumière des lobules, et prêts à être émis. Quelques spermatogonies et spermatocytes subsistent à la périphérie des lobules. Le quatrième stade est le stade de fraie. Les spermatozoïdes, jusque là contenu dans la lumière du lobule, ont été évacués par le canal efférent, libérant ainsi des espaces dans la lumière lobulaire. Les spermatogonies augmentent en nombre, alors que les spermatocytes I sont présents sporadiquement et que les spermatocytes II ne sont plus présents. Le dernier stade est le stade d'épuisement, c'est-à-dire consécutif à l'émission des gamètes. Les spermatogonies se développent pour préparer la prochaine période de maturation et de reproduction.

Chez *Hippoglossus hippoglossus* L., Weltzein *et al.* (2002) ont défini cinq stades de développement testiculaire. Le stade I contient des spermatogonies isolées associées à des cellules de Sertoli, et des cystes à spermatogonies. Au stade II apparaissent les cystes à spermatocytes I et II, indiquant que la méiose a débuté. Le diamètre des lobules augmente au cours du stade III, la gonade s'accroît, et les spermatides apparaissent. Le stade IV est caractérisé par l'apparition des cystes à spermatozoïdes. A ce stade, certains spermatozoïdes sont libérés dans la lumière du lobule suite à la rupture de la membrane des cystes. La proportion de mâles spermiantes au cours de ce stade représente environ 50%. Le stade V est le stade de la régression du testicule. Tous les types de cellules sexuelles sont susceptibles d'être

présents à ce stade mais la présence de cellules de Sertoli qui phagocytent les cellules germinales résiduelles est caractéristique de ce stade.

Dziewulska et Domagala (2005, 2006) ont déterminé neuf classes de maturité gonadique, chez *Salmo trutta morpha trutta*, en se basant sur le pourcentage de surface occupée par les cellules sexuelles en développement à l'intérieur d'une section de coupe transversale de testicule. Ces auteurs considèrent que les cellules sexuelles en développement concernent les spermatogonies organisées en cyste, par opposition aux spermatogonies isolées qui n'ont pas subies de multiplication goniale, les spermatocytes, les spermatides et les spermatozoïdes. Lorsque le pourcentage de surface occupée par ces cellules en développement est inférieur à 30%, la gonade est considérée en pré-maturation, lorsque la surface occupée par ces cellules est comprise entre 30 et 90%, la gonade est en maturation partielle, et lorsque ce pourcentage est supérieur à 90% la gonade est en complète maturation. Ces trois phases ont été découpées en neuf classes distinctes en fonction de la fréquence des cellules sexuelles.

Gupta (1975) a défini quatre stades de maturation chez la carpe (*Cyprinus carpio*). Le stade 1 est le stade immature. Les lobules contiennent des spermatogonies qui vont évoluer en cystes après multiplication mitotique. Les stades 2 et 3 correspondent à la maturation des testicules et se caractérisent par l'apparition des cystes à spermatocytes I et II et à spermatides. Au cours de la maturation de la gonade, ces cystes deviennent plus nombreux avec parfois l'apparition de nombreux spermatozoïdes. Le stade 4 correspond à des testicules matures. Quelques spermatogonies subsistent à la périphérie des lobules alors que les spermatozoïdes, très nombreux, se concentrent au niveau de la lumière du lobule.

Garcia-Diaz *et al.* (1997) ont décrit cinq stades de spermatogenèse chez *Serranus cabrilla* (Osteichthyes : Serranidae) d'après les travaux de Grier (1981). Le stade 1 correspond à la multiplication goniale par division mitotique. Au stade 2, 'Mid-recrudescence', tous les stades cellulaires de la spermatogenèse sont présents. Au stade 3, 'Late-recrudescence', le testicule est rempli de spermatozoïdes, avec toutefois la présence des autres stades cellulaires ; les spermatozoïdes sont émis au stade 4. Le stade 5, 'Spent', correspond au testicule qui a émis ses gamètes. Aucun type cellulaire n'est discernable, les cellules sexuelles non matures ou non émises ayant été phagocytées.

Arockiaraj *et al.* (2004), après avoir défini une classification en cinq stades du développement testiculaire à partir de l'observation macroscopique chez *Mystus montanus* (Jerdon, 1849), ont affiné leurs observations par l'étude histologique des gonades. Un des critères est la mesure des diamètres nucléaires des différentes cellules sexuelles de la spermatogenèse qui ne seront pas détaillés ici. En outre, cette classification est notamment basée sur la présence des différents types cellulaires. Au stade 1, sont présentes les spermatogonies, au stade 2 les spermatogonies et les spermatocytes. Au stade 3, les spermatocytes I et II sont majoritaires et au stade 4, les spermatides apparaissent. Le stade 5 est caractérisé par la présence de spermatozoïdes.

El-Halfawy *et al.* (2007) ont décrit six stades de développement testiculaire chez *Liza ramada* (Risso, 1826) dans la lac Timsah (Egypte, canal de Suez). Cette classification suit la maturation des cellules sexuelles de la spermatogenèse, c'est-à-dire : spermatogonie, spermatocyte I et II, spermatides et spermatozoïdes. Au stade I seules sont présentes les spermatogonies. Au stade II l'activité spermatogénique s'intensifie et des spermatocytes I sont présents. Au stade III, tous les types cellulaires de la spermatogenèse sont présents. Au stade IV les spermatocytes sont prépondérants et le stade V se caractérise par la rupture de la membrane des cystes libérant ainsi les spermatozoïdes dans la lumière. Au stade VI, seuls subsistent des spermatozoïdes résiduels et des spermatogonies.

Fontana (1969) a proposé, à partir de la distribution des diamètres ovocytaires de populations de sardinelles (*Sardinella eba* et *Sardinella aurita*), une classification pour les mâles en 7 stades. Le stade I est immature, le stade II au repos sexuel, le stade III en voie de maturation, le stade IV en pré-émission de spermatozoïdes, le stade V en émission de spermatozoïdes, le stade VI en fin d'émission, le stade VII correspondant à la dernière émission. Cet auteur précise qu'il est moins aisé de définir des stades de développement sexuel chez les mâles car la distribution des diamètres des spermatogonies et des spermatocytes est délicate à réaliser du fait de leur très petite taille et d'autre part, les caractères histologiques ne sont pas très différenciés selon les stades de maturation.

2^{EME} PARTIE
MATERIELS &
METHODES

Chapitre I : Site d'étude et régime thermique

1.1. Historique et généralités

Le réservoir du Mirgenbach (Figure 20), situé dans le département de la Moselle au Nord-Est de la France à 49°25' Nord et 6°13' Est, a été créé en 1985 par barrage du ruisseau du Mirgenbach (affluent senestre de la rivière Moselle). Il a été mis en eau par pompage des eaux de la rivière Moselle d'avril à octobre 1985. Sa superficie est de 0,95 km² et son volume représente 7,3 Mm³, avec une profondeur moyenne de 7,68 m et un maximum de 20 m. Ce réservoir, à vocation industrielle, est associé au fonctionnement de la centrale électronucléaire de Cattenom. Il est en premier lieu utilisé comme réservoir de sécurité permettant un fonctionnement de la centrale, en cas de nécessité, en circuit fermé, et en deuxième lieu il constitue un tampon thermique en recevant les eaux échauffées (5 m³/s) des purges des 4 aéroréfrigérants de la centrale avant rejet dans la rivière Moselle ; le temps de séjour est estimé à 12 jours (Figure 21).



Figure 20 : Le réservoir du Mirgenbach, annexe hydraulique de la centrale électronucléaire de Cattenom.

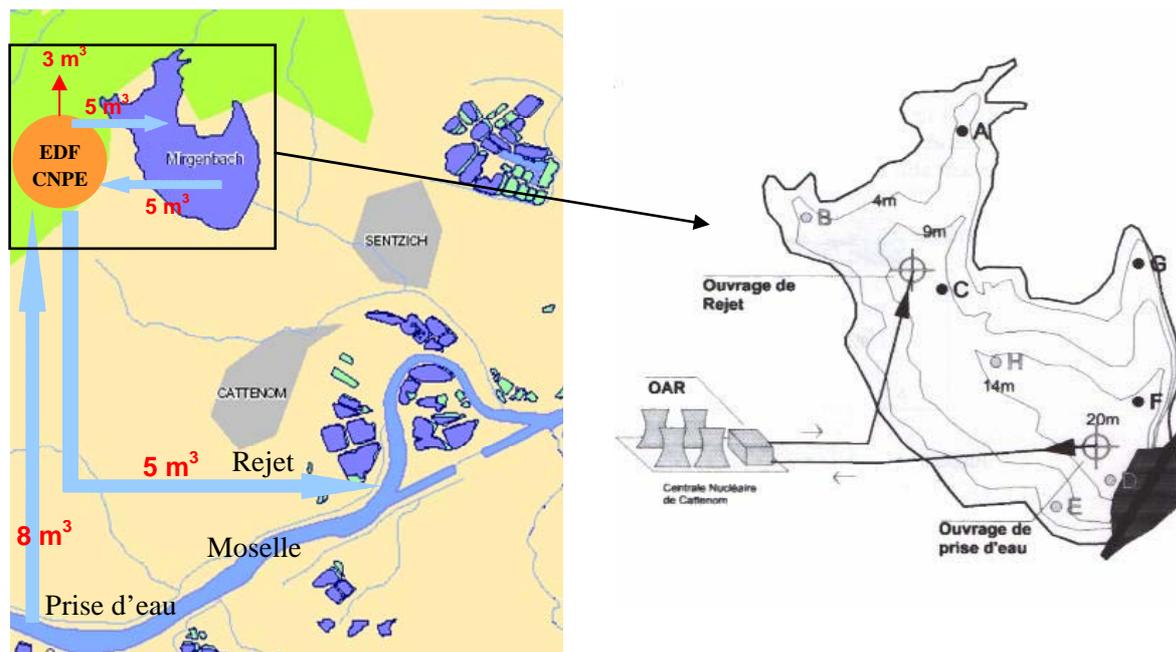


Figure 21 : Relations du réservoir du Mirgenbach avec la rivière Moselle et la centrale électronucléaire de Cattenom.

L'étude d'impact, avant installation de la centrale, avait principalement attiré l'attention sur les risques prévisibles de déséquilibre dans le réservoir, à savoir : eutrophisation critique pouvant atteindre l'hypereutrophisation avec stratification. Toutefois, depuis 1991, le rapport N/P moyen annuel n'est globalement qu'en légère augmentation, traduisant une relative stabilité trophique du système (Dembski, 2007).

Ce réservoir est non stratifié (Vein *et al.*, 1990) ; il présente des eaux échauffées, une conductivité élevée ($2000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), ainsi que des concentrations élevées en cuivre (Cu tot de $49 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) du fait de la corrosion des tubes en laiton des condenseurs (Vinot et Pihan, 2005). Par contre, le taux de saturation en oxygène dissous est toujours élevé sur toute la colonne d'eau (85 à 116%). Il n'existe pas de gradient thermique spatial au sein du réservoir. Les poissons sont exposés aux mêmes conditions thermiques quelle que soit l'occupation spatiale individuelle. Cependant, une stratification pourrait s'installer en cas d'arrêt des débits de purge vers le réservoir (Dubost, 1996).

Les caractéristiques physico-chimiques du réservoir du Mirgenbach sont tributaires de celles de la rivière Moselle à la prise d'eau. La conductivité et la dureté élevées au niveau de la prise d'eau proviennent, d'une part, de la rivière Seille (affluent de la Moselle) présentant naturellement une conductivité élevée, et d'autre part, de l'activité des salines (rejet de NaCl) et des soudières (rejets de CaCl_2) dans le bassin de la Meurthe (affluent de la Moselle).

Ce réservoir constitue un site expérimental privilégié pour étudier les effets d'une augmentation de température sur la reproduction des espèces piscicoles à l'échelle multi-générationnelle, afin d'appréhender les effets thermiques à long terme. Depuis la création de ce plan d'eau, les problématiques suivantes ont été développées (Dembski, 2005) :

- Évolution de la biodiversité avec le vieillissement de l'écosystème « retenue artificielle » (Vein *et al.*, 1990) ;
- Autoécologie de la perche (*Perca fluviatilis*) (Flesch, 1994) et potentiel aquacole de la retenue : élevage de la carpe (*Cyprinus carpio*) en cage flottante (Dubost, 1996) ;
- Écologie des crustacés planctoniques et régime alimentaire de poissons *Cyprinidae* (Marzou, 1996) ;
- Évolution temporelle et répartition spatiale de l'ichtyofaune (Flesch, 1994 ; Flesch *et al.*, 1994 ; Marzou, 1996) ;
- Mise en évidence des capacités bioindicatrices des mousses aquatiques (indice bryophytique) et mise au point de biomarqueurs cellulaires chez *Dresseina polymorpha* (Mersch, 1993 ; Mersch *et al.*, 1993 ; Ledy, 2002) ;
- Expression écotoxicologique de l'accroissement des concentrations en cuivre et zinc dans l'eau et les sédiments, avec étude de la spéciation ; transfert des métaux dans la chaîne trophique, bioaccumulation et bioamplification (Vinot, 2004) ;
- Stratégies d'occupation spatiale en milieu lacustre : réponses de l'ichtyofaune dans un réservoir échauffé, non stratifié (Dembski, 2005).
- Utilisation des acides gras comme traceurs des transferts dans la chaîne trophique (Maazouzi, 2006).

1.2. Caractéristiques thermiques

Pour la période de janvier 2001 à décembre 2004 (Figure 22), la température moyenne calculée à partir de mesures journalières (données du CNPE de Cattenom) est de 17,6°C, avec un minimum de 7,8°C (janvier 2002) et un maximum de 29,2°C (août 2003), alors que la température moyenne annuelle dans le milieu naturel (rivière Moselle à Uckange, données Agence de l'Eau Rhin-Meuse) est de 15,1°C, avec un minimum de 3,6°C (janvier 2004) et un maximum de 29,8°C (août 2003) (Figures 23).

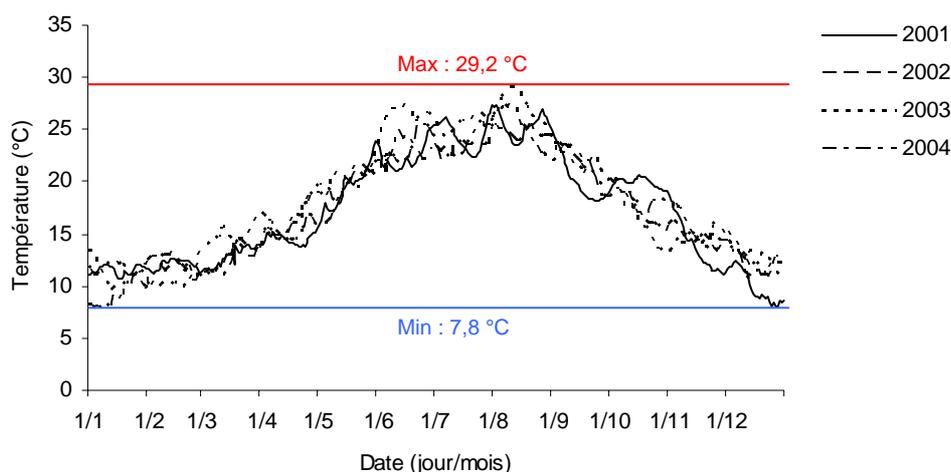


Figure 22 : Evolution des températures journalières dans le réservoir du Mirgenbach, de janvier 2001 à décembre 2004.

L'écart de température entre le Mirgenbach et le milieu naturel est de $+2,5^{\circ}\text{C}$ en moyenne inter-annuelle, avec des écarts maximum de $+5,9^{\circ}\text{C}$ (février) et minimum de $+0,6^{\circ}\text{C}$ (juin et août) (Figure 24). L'écart de température entre le Mirgenbach et le milieu naturel est plus marqué de l'automne au printemps. Dans la retenue, la différence de température entre la saison froide et la saison chaude est moins marquée par rapport au milieu naturel, ce qui constitue un cas exceptionnel pour une latitude moyenne.

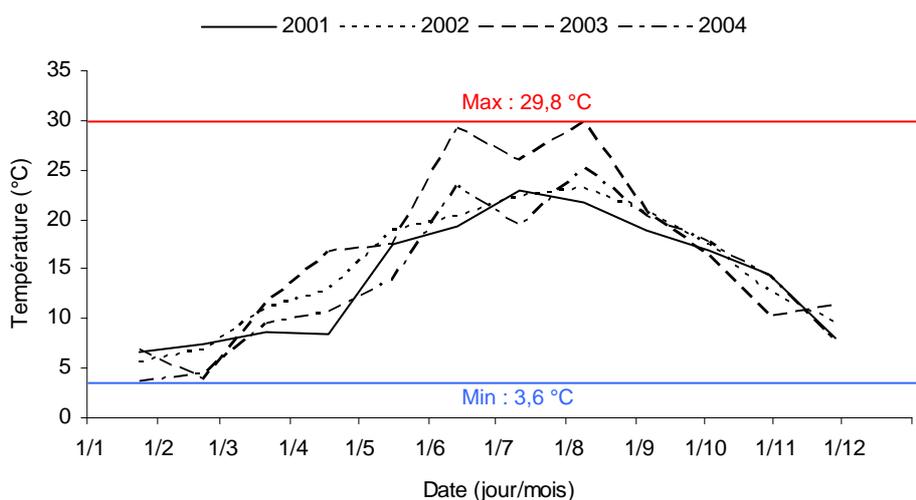


Figure 23 : Evolution des températures mensuelles dans la rivière Moselle à Uckange, de janvier 2001 à décembre 2004.

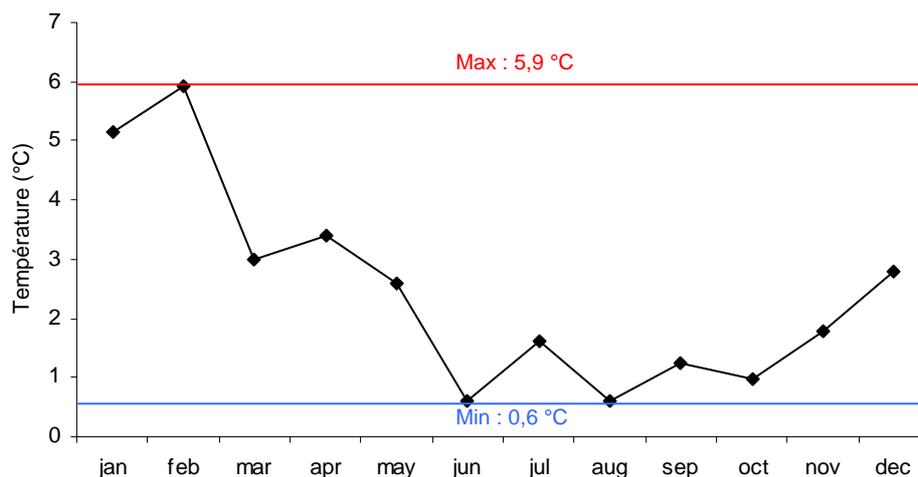


Figure 24 : Différence moyenne de température entre le Mirgenbach et le milieu naturel (rivière Moselle à Uckange) sur la chronique 2001-2004.

Les conséquences de cet échauffement des eaux dans le réservoir du Mirgenbach sont illustrées par la figure 25. De par son usage industriel, le réservoir du Mirgenbach est non stratifié, et le temps de séjour de l'eau est inférieur à 15 jours. Cette circulation de l'eau (brassage) a pour conséquence une homogénéité de la colonne d'eau, notamment, en ce qui concerne la température et la concentration en oxygène dissous. Ce modèle permet donc de limiter les écarts thermiques instantanés aux échelles spatiales, sans modifier les autres conditions abiotiques (absence de thermocline, oxycline, chimiocline).

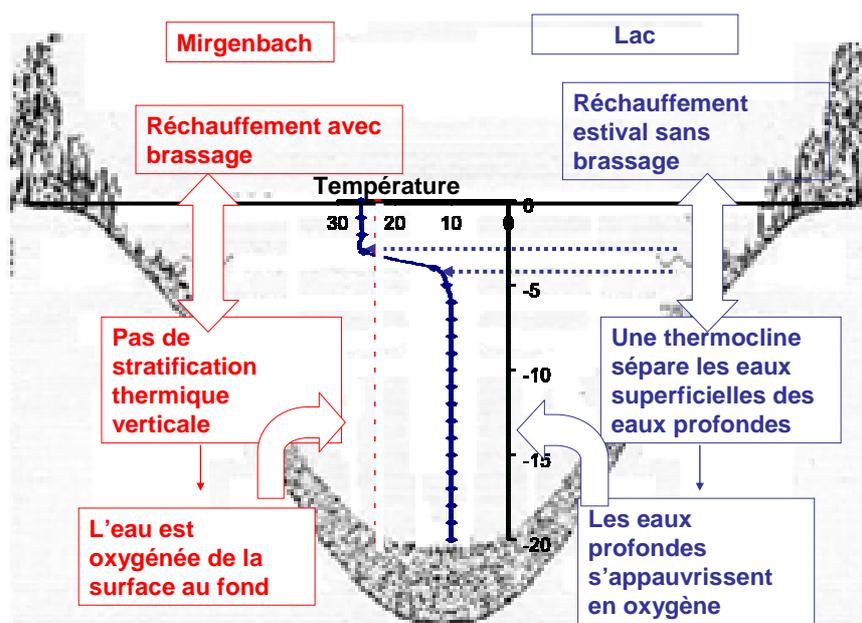


Figure 25 : Conséquence de l'échauffement des eaux du réservoir du Mirgenbach et comparaison avec un plan d'eau non échauffé (vue en coupe transversale).

1.3. Peuplement piscicole et traits de vie

Le tableau III recense les espèces piscicoles présentes dans le réservoir du Mirgenbach en précisant leurs traits de vie. Initialement, les perches et les gardons dominaient le plan d'eau ; actuellement les brèmes communes et bordelières sont dominantes en milieu pélagique et la perche soleil en domaine littoral (Flesch, 1994 ; Marzou, 1996 ; Dembski, 2005). Les espèces qui se sont le mieux maintenues sont les espèces thermophiles alors que plusieurs espèces mésothermes régressent ou ont disparu. Rappelons que ces espèces thermophiles bénéficient d'une bonne oxygénation du milieu, sur toute la colonne d'eau, de par son usage industriel (pas de stratification, temps de séjour < 15 jours).

Tableau III : Principaux traits de vie des espèces piscicoles recensées dans le réservoir du Mirgenbach.

Espèce	Préferendum thermique	Observation de reproduction	Abondance	Origine	
Truite fario Chabot	Sténotherme d'eau froide	Espèces absentes lors de la mise en eau	Conditions estivales létales	Endémique	
Barbeau fluviatile Vandoise Brochet Chevaine	Mésotherme	Non	Disparues		
Perche fluviatile Ablette Gardon	Mésotherme		En régression		
Grémille Sandre Tanche Rotangle		Oui	Tolérantes		Europe centrale
Brème bordelière Brème commune Carpe commune Perche soleil	Thermophile		Dominantes		Endémique Asie Amérique du Nord

Les travaux antérieurs dans le réservoir du Mirgenbach se sont principalement focalisés sur les espèces pélagiques (Flesch, 1994 ; Dubost, 1996 ; Marzou, 1996 ; Dembski, 2005). Dans la présente étude, nous nous intéresserons à la biologie de la perche soleil, espèce introduite et dominante dans la zone littorale.

Chapitre II : Le modèle biologique : la perche soleil (*Lepomis gibbosus*)

II.1. Répartition géographique en Europe

De la famille des centrarchidés, la perche soleil (*Lepomis gibbosus*) est originaire du continent nord américain (Scott et Crossman, 1973), et a été introduite en Europe en 1880 (Vooren, 1972). Dès son introduction en Europe, elle a colonisé l'intégralité du réseau hydrographique français (Carrel *et al.*, 2001). Actuellement présente dans 28 pays d'Europe et d'Asie mineure (Copp et Fox, 2007, Figure 26), elle n'est considérée invasive que dans les régions centre et sud de l'Europe (Villeneuve *et al.*, 2005).



Figure 26 : Répartition géographique de la perche soleil en Europe et en Asie mineure (Copp et Fox, 2007).

II.2. Traits de vie de la perche soleil

La longévité de l'espèce dans sa région native est de 9 ans (Fox, 1994), alors qu'elle est de 5 ans en Angleterre (Copp *et al.*, 2002), de 3 à 7 ans dans le sud de la France (Fox et Crivelli, 2001) et de 3 ans dans la retenue du Mirgenbach (Dembski *et al.*, 2006) (Tableau IV).

L'âge de maturité varie également selon les sites. Chez les femelles, il est de 3,4 ans dans la région native, de 3,9 ans en Angleterre, de 1,8 ans dans le sud de la France et de 1 an dans la retenue du Mirgenbach. Les individus sont également plus petits en Europe par comparaison à la région native.

Tableau IV : Comparaison des traits de vie chez des populations de perche soleil originaires de leur région native (Lacs de l'Ontario (Fox, 1994)) et de diverses masses d'eau en Europe où cette espèce a été introduite (Delta du Rhône (Fox et Crivelli, 2001) ; étang de Cottesmore (Copp *et al.*, 2002 ; réservoir du Mirgenbach (Dembski *et al.*, 2006)) (modifié d'après Dembski *et al.*, 2006).

	Lacs Ontario Canada (44°N)	Etang de Cottesmore Angleterre (51°N)	Canaux du delta du Rhône France (43°N)	Réservoir du Mirgenbach France (49°N)
Température moyenne (°C) été 1994	22,9	20,7	28,1	27,3
Longévité (années)	9	5	3-7	3
Age de maturité des femelles (années)	3,4	3,9	1,8	1,0
IGS moyen des femelles (%)	5,6	6,1	6,3	7,8
Longueur totale moyenne des femelles à maturité (mm)	100	78,5	70,7	76,6
Longueur totale moyenne à 1 an (mm)	46	33,8	39,4	58,6
Longueur totale maximale	210	124	150	168

La maturation sexuelle de la perche soleil débute lors de l'augmentation progressive de la température printanière, la reproduction est estivale. Le repos sexuel concerne l'automne et l'hiver (Gutiérrez-Estrada *et al.*, 2000a, 2000b ; Copp *et al.*, 2002 ; Dembski *et al.*, 2006). Chez la femelle, le développement des ovocytes est asynchrone et la ponte est fractionnée. Chez le mâle, il existe deux stratégies de reproduction, les grands mâles parentaux et les petits mâles cocufiants (Dembski *et al.*, 2006). Les petits mâles privilégient le développement précoce des gonades pour devenir adulte rapidement mais leur petite taille au moment de la reproduction ne leur permet pas d'être nidifiant. Les grands mâles parentaux investissent dans la croissance somatique ; ils sont adultes au moment de la période de reproduction et peuvent être nidifiants. Ces deux stratégies de reproduction ont été mises en évidence chez les mâles d'autres espèces et ont fait l'objet d'études comportementales chez *Lepomis macrochirus* (Gross & Charnov, 1980 ; Gross, 1991 ; Neff & Gross, 2001) et chez *Porichthys notatus* (Lee et Bass, 2004, 2006). Les grands mâles (i.e. mâles parentaux) sont favorisés pour construire un nid, s'accoupler avec les femelles et assurer la protection de la progéniture, contrairement aux petits individus (i.e. mâles cocufiants) qui doivent féconder les femelles à l'insu des mâles parentaux (Gross, 1996). La période de reproduction est variable selon les sites étudiés en Europe (Tableau V).

Tableau V : Maturité sexuelle de la perche soleil estimée à partir de l'indice gonadosomatique (IGS), à plusieurs latitudes. Seul le site du Mirgenbach reçoit des eaux échauffées. (- : données non renseignées).

Sites	Pays	Latitude	Période de maturité estimée à partir de l'IGS	Age de maturité (années)	Longévité (années)	Sexe	Température eau en °C (moy.annuelle / moy.mai-août)	Références
Guadiato River	Espagne	37° N	Avril-Août	1,4	5	Mâle et femelle	-	Gutierrez <i>et al.</i> , 2000a
Guadiato River	Espagne	37° N	Fin mars-Début septembre	-	-	Femelle	-	Gutierrez <i>et al.</i> , 2000b
Lac Kerkini	Grèce	41° N	Juin-Juillet	2	6	Mâle et femelle	17,6 / 25,0	Neophytou et Giapis, 1994
Delta du Rhône	France	43° N	Mai- ?	1,8	7	Femelle	- / 23,9	Fox et Crivelli, 2001
Danube aval	Roumanie	44° N	Juin-Juillet	2	-	Mâle et femelle	-	Papapodol et Ignat, 1967
Réservoir du Mirgenbach	France	49° N	Mai-Août	1	3	Femelle	17,6 / 23,3	Dembski <i>et al.</i> , 2006
Cottesmore Pond	Angleterre	51° N	Juin-Juillet	3,9	5	Femelle	15,2 / 20,7	Copp <i>et al.</i> , 2002

Dans la retenue du Mirgenbach, la perche soleil évolue en zone littorale, jusqu'à 1,5 mètres de fond (Dembski *et al.*, 2006). Elle présente un caractère proliférant lié à sa période de reproduction tardive par rapport aux autres espèces et au départ des jeunes de l'année des autres espèces vers le domaine pélagique : la perche soleil profite ainsi d'un espace laissé vacant (Dembski *et al.*, 2008) (Figure 27). Dans la zone littorale, les perches soleil représentent environ 80% des jeunes de l'année, toutes espèces confondues, pendant sa période de reproduction (Dembski, 2005).

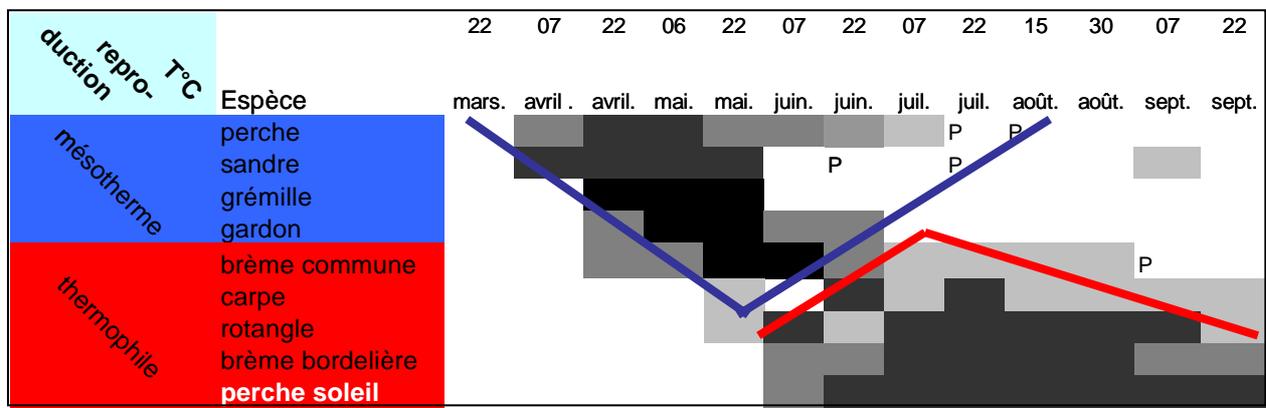


Figure 27 : Calendrier de l'abondance des jeunes de l'année (teinte soutenue abondance forte, gris clair faible abondance ; P : Présence) en domaine littoral (<1,2m) dans le réservoir du Mirgenbach (D'après Dembski *et al.*, 2008). Les traits délimitent les périodes de présence des alevins des espèces mésothermes (bleu) et thermophiles (rouge).

Le régime alimentaire de la perche soleil a été étudié dans le réservoir du Mirgenbach à partir de l'analyse de contenus digestifs, exprimé en pourcentage d'effectif (Médoc, 2004, Figure 28). Les proies consommées varient au cours de l'ontogénèse, en fonction de la taille des poissons, et notamment de l'ouverture buccale. Chez les jeunes stades ($L_T < 30$ mm), plus de 90% des proies sont composées de zooplancton (copépodes, cladocères et autres microcrustacés). A ce stade, des larves de *chironomidae* représentent moins de 10% des proies. Chez les individus plus grands ($30 < L_T < 80$ mm), la proportion de *chironomidae* augmente et celle du zooplancton diminue. Les premiers *gammaridae* apparaissent dans l'alimentation à partir de 60 mm. Au-delà de 80 mm, le régime alimentaire est principalement constitué de larves de *chironomidae*, de *gammaridae* et de *caenidae*.

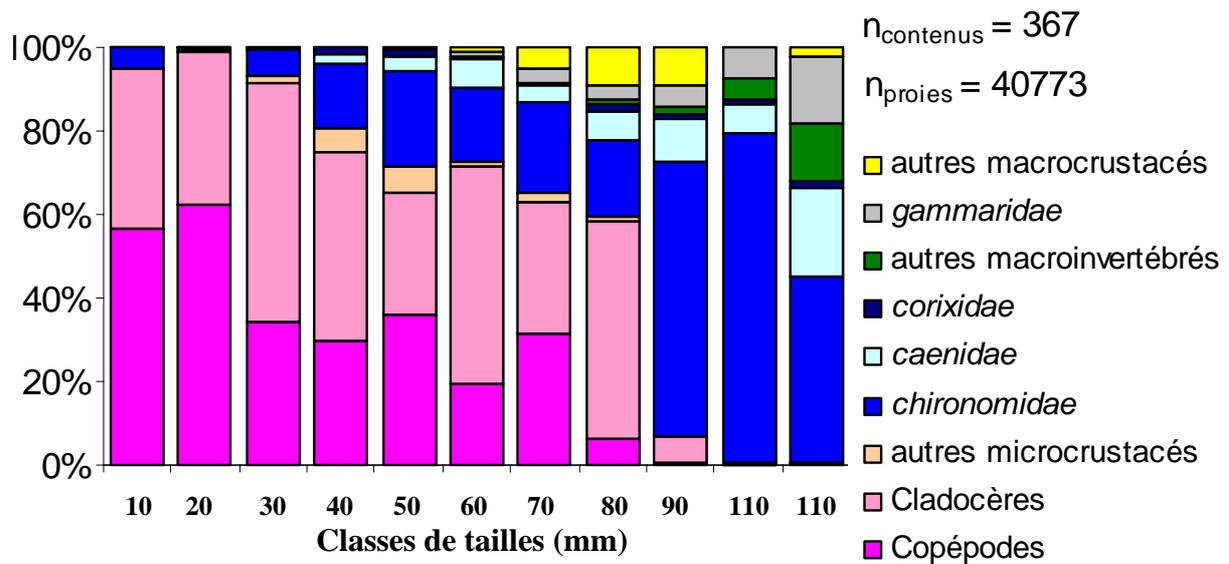


Figure 28 : Régime alimentaire chez la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach en fonction de la longueur totale des poissons (Médoc, 2004).

Des prélèvements de la macrofaune benthique en zone littorale, par la technique des pièges immergés, ont été effectués en juin 2005. Ces prélèvements montrent que les *gammaridae* et les *chironomidae* représentent 85% de l'effectif total récolté (F.P. Environnement, 2005 ; Tableau VI). De plus, il apparaît que des espèces exotiques, présentant des caractéristiques thermophiles, halophiles et résistantes au cuivre, profitent des espaces laissés vacants par d'autres espèces autochtones, dans un contexte de milieu eutrophe. Depuis 2005, d'autres espèces exotiques, à potentiel proliférant, ont colonisées le milieu.

Ces résultats nous ont servi de base pour modéliser le réseau trophique du Mirgenbach en zone littorale, par rapport au régime alimentaire de la perche soleil (voir 3^{ème} Partie Chapitre I : Expérience de biomanipulation en conditions contrôlées).

Le peuplement zooplanctonique du réservoir du Mirgenbach (F.P. Environnement, 2005 ; Tableau VII) est caractérisé par la dominance des calanoïdes sur les cyclopidés qui décroissent pendant la période chaude. Les cladocères sont représentés par une seule espèce : *Diaphanosoma brachyurum*.

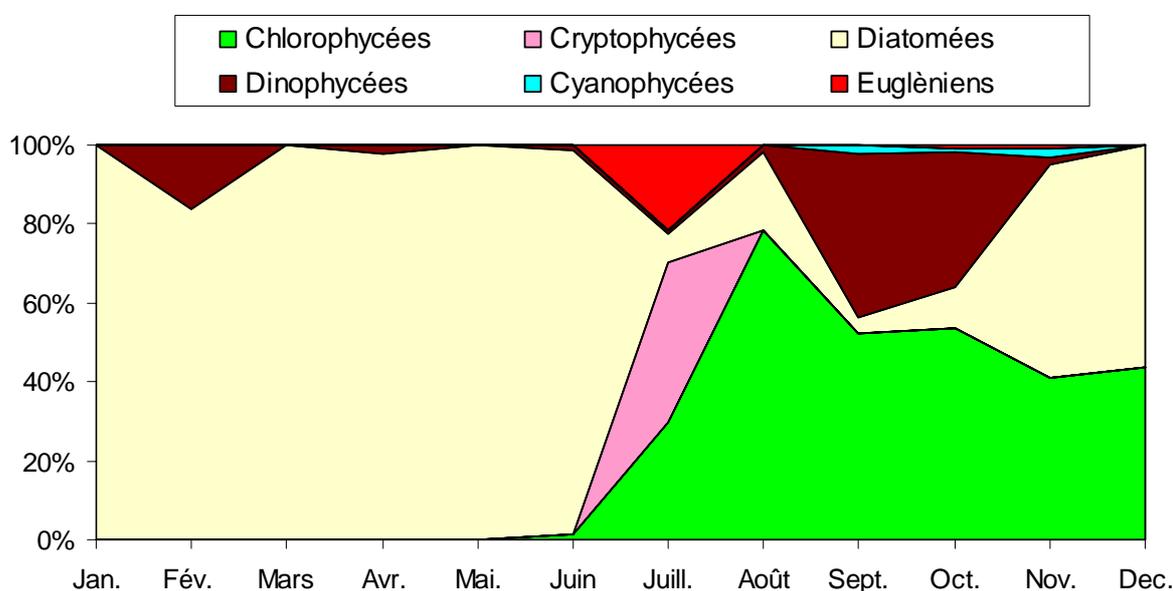
Tableau VI : Richesse taxonomique de la retenue du Mirgenbach dans les pièges relevés 01/06/05 (F.P. Environnement, 2005). Encadrées en rouge les espèces de la zone littorale consommées par la perche soleil et en bleu les espèces exotiques introduites.

Macrofaune Benthique			Station 1 : Observatoire aux oiseaux	Station 2 : Pêcheurs	Station 3 : Base nautique	Total	
Cnidaires	Clavidae	<i>Cordylophora sp</i>				0	
	Hydridae	<i>Hydra</i>	8			8	
Turbellariés	Planariidae	<i>Polycelis nigra</i>				0	
	Dugesidae	<i>Dugesia lugubris</i>				0	
Annélides	Lumbricidae	<i>Eisenella tetraedra</i>				0	
		<i>Sans yeux : Chaetogaster</i>				0	
		<i>Amphichaeta</i>	48		86	134	
		<i>Pristina</i>				0	
		<i>Paranais</i>			3	3	
		<i>Avec yeux : Nais</i>				0	
	Lumbriculidae					0	
Tubificidae sp.					0		
Enchytraeidae					0		
Achétes	Pisicoidae	<i>Pisicola geometra</i>				0	
Mollusques	Valvatidae	<i>Valvata</i>				0	
		<i>Lymannaeidae</i>	<i>Radix</i>	49	1	50	
	Bithyniidae	<i>Bithynia tentaculata</i>				0	
		<i>Physidae</i>	<i>Physa acuta</i>	5	9	14	
	Prosobranches	<i>Hydrobiidae</i>	<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	2		2	
		<i>Vivariidae</i>	<i>Viviparus viviparus</i>	1		1	
	Lamellibranches	<i>Dreissenidae</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>			0	
		<i>Sphaeriidae</i>	<i>Pisidium</i>			0	
	Insectes	Ephéméroptères	<i>Caenidae</i>	<i>Caenis luctuosa</i>	41	7	48
			<i>Baetidae</i>	<i>Centropilum luteoleum</i>			0
Nématocères		<i>Ceratopogonidae</i>			1	1	
		Odonates	<i>Zygoptères</i>	<i>Ischnura</i>			0
<i>Coenagrion</i>			4		1	5	
		<i>Anisoptères</i>	<i>Orthetrum cancellatum</i>			0	
Diptères		<i>Chironomidae</i>	<i>Tanytarsini</i>	16			16
			<i>Chironominae : Chironomini (plumosus)</i>				0
			<i>Chironomini (autres)</i>			22	22
		<i>- Tanypodinae</i>		3			3
	<i>- Orthocladiinae</i>		82	3	112	197	
	<i>Tipulidae</i>				0		
	<i>Stratiomyidae</i>				0		
Hétéroptères	<i>Corixidae</i>	<i>Corixa</i>			0		
	<i>Micronecta</i>				0		
Coléoptères	<i>Dytiscidae</i>				0		
	<i>Hydrophilidae</i>	<i>Hydrobius</i>			0		
Trichoptères	<i>Beraeidae</i>				0		
	<i>Ecnomidae</i>	<i>Ecnomus</i>	2		7	9	
Pléoptère	<i>Mollanidae</i>	<i>Mollanodes</i>				0	
	<i>Nemouridae</i>	<i>Nemoura</i>				0	
Crustacés	<i>Corophidae</i>	<i>Corophium</i>				0	
	<i>Gammaridae</i>	<i>Dikerogammarus villosus</i>	184	1001	241	1426	
	<i>Atyidae</i>	<i>Atyaephyra desmarestii</i>			2	2	
	<i>Cambaridae</i>	<i>Orconectes limosus</i>		1	3	4	
		Effectif total	396	1063	486	1945	
	Nombre de taxons	12	5	13	18		

La figure 29 illustre la composition phytoplanctonique du réservoir du Mirgenbach en 2005 (F.P. Environnement, 2005). Le phytoplancton récolté est majoritairement supérieur à 30 µm. Pendant la période de maturation sexuelle de la perche soleil, de février à mai, le peuplement phytoplanctonique du réservoir du Mirgenbach est constitué majoritairement de diatomées. Au cours de la période de reproduction, à partir de juin, les chlorophycées dominent le peuplement, avec la présence ponctuelle d'euglèniens et de cryptophycées. Les dinophycées sont présentes toute l'année, mais en effectif faible, à l'exception des mois de septembre et octobre où elles représentent environ 40% de l'effectif total. Les cyanophycées sont présentes de septembre à novembre mais représentent moins de 5% de l'effectif total.

Tableau VII : Composition zooplanctonique du réservoir du Mirgenbach (F.P. Environnement, 2005). En jaune sont figurées les espèces dominantes.

Date de récolte 2005	Mars		Avril		Mai		Juin		Juillet	
Station de prélèvement	P1	ST3	P1	ST3	P1	ST3	P1	ST3	P1	ST3
COPEPODES										
Cyclopoïdes										
Acantocyclops robustus (adulte)	2	0	11	19	42	124	8	4	1	10
Acantocyclops robustus (copepodites)	6	0	3	15	7	113	568	722	2	115
Thermocyclops crassus (adulte)	0	0	3	0	206	136	0	0	0	0
Thermocyclops crassus (copepodites)	0	0	2	0	40	123	0	0	0	0
Calanoïdes										
Eurytemora velox (adulte)	86	72	552	329	121	226	23	23	6	10
Eurytemora velox (copepodites)	105	70	269	210	23	250	392	483	28	52
Eudiaptomus gracilis (adulte)	12	5	11	30	79	624	0	0	0	0
Eudiaptomus gracilis (copepodites)	13	8	5	0	15	694	0	0	1	0
Nauplii	627	321	1627	1940	1813	6200	232	902	26	32
CLADOCERES										
Diaphanosoma brachyurum	10	16	21	338	590	4590	26	161	29	340
Daphnia longispina	0	0	0	0	0	45	4	4	0	1
OSTRACODES										
	0	3	0	0	0	0	6	2	28	54
Total crustacés	861	494	2504	2879	2936	13125	1259	2301	120	614
ROTIFERES										
Lecane										
Keratella quadrata	0	0	17	244	0	23	0	0	0	0
Keratella cochlearis	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Asplanchna	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36
Total rotifères	0	0	17	244	0	23	0	1	0	36
Total	861	494	2521	3123	2936	13148	1259	2302	120	650

**Figure 29 : Composition phytoplanctonique du réservoir du Mirgenbach en 2005 (F.P. Environnement, 2005).**

Chapitre III : Techniques de pêche, biométrie, scalimétrie et fixation

III.1. Techniques de pêche

Dans le Mirgenbach, la Perche soleil occupe préférentiellement la zone littorale, jusqu'à une profondeur de 1,5m (Dembski, 2005). Différentes techniques adaptées à la capture en zone littorale ont été retenues pour l'échantillonnage : la pêche électrique, la senne et le verveux. Certains individus ont également été capturés en zone pélagique par des filets maillants verticaux (FMV), mais cet effectif représente une très faible part du nombre total de poissons capturés. L'utilisation conjointe de ces quatre engins de pêche permet de s'affranchir de la sélectivité qui leur est spécifique. Les effectifs capturés à partir des pêches électriques représentent environ 50% de l'échantillon, ceux capturés par le verveux 25%, par la senne 25%, et par les FMV moins de 1%.

III.1.1. Méthodes actives

III.1.1.1. La pêche électrique

Le matériel de pêche à l'électricité est constitué d'un boîtier autotransformateur appelé « Héron », qui génère des tensions continues comprises entre 140 et 180 volts (Figure 30). Un courant établi entre une cathode fixe (dans l'embarcation) et une anode mobile (cercle immergé dans l'eau) attire le poisson qui manifeste des réactions allant de la nage inhibée à l'électronarcose. Les poissons sont alors récupérés à l'aide d'une épuisette. La pêche électrique est particulièrement adaptée à la prospection en zone littorale car son champ d'action n'excède pas 1m de profondeur.



Figure 30 : Présentation du Héron et illustration d'une campagne de pêche.

III.1.1.2. La senne

La senne (Figure 31) est composée de trois sections, deux ailes situées aux extrémités et une poche médiane dont la profondeur mesure de 1,5 à 2 fois la hauteur du filet. L'engin utilisé mesure 22 x 1,4 m avec une poche de 3 m. La partie supérieure de la senne est montée sur une ralingue en polypropylène, munie de flotteurs, tandis que la partie inférieure est montée d'une tresse lestée double. Le vide de maille est de 2 mm et la profondeur maximale à laquelle l'engin est employé est de 1,2 m. Le filet est tendu parallèlement à la rive, puis les ailes sont halées jusqu'à terre perpendiculairement à la rive. Une personne reste en permanence au niveau de la poche afin de libérer la senne lorsqu'un obstacle est rencontré.

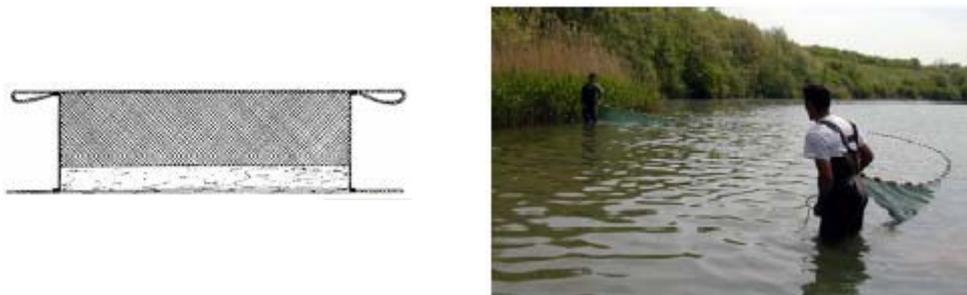


Figure 31 : Présentation de la Senne et illustration d'une campagne de pêche.

III.1.2. Méthodes passives

III.1.2.1. Le verveux ou tortue

Le verveux est un engin passif adapté à la pêche en lacs, en bras morts de rivières, en marais, et en étangs (Figure 32). Il est composé d'une nasse conique (vide de maille de 2 mm) ouverte à sa base et d'une aile (vide de maille de 2 mm). La nasse est composée d'un filet extérieur soutenu par des cerceaux de diamètre décroissant (depuis l'ouverture jusqu'à la chambre terminale) et de anchons (filets tronconiques intérieurs fixés aux cerceaux et ouverts aux deux extrémités). La base des anchons est orientée vers l'ouverture de la nasse et leur sommet trois fois plus étroit invite le poisson à s'engager plus profondément dans l'engin ce qui a pour résultat de piéger le poisson dans la poche à l'extrémité. L'aile est formée par un filet vertical d'un mètre de hauteur muni de flotteurs en surface et lesté au fond. Une extrémité de cette aile est fixée à l'ouverture de la nasse, et l'autre est fixée à la berge. Le verveux est tendu perpendiculairement à la rive et posé au fond ; le poisson longeant la rive est amené par le biais de l'aile jusqu'à l'ouverture de la nasse où il s'engage et se piège.



Figure 32 : Présentation du verveux et illustration d'une campagne de pêche.

III.1.2.2. Les filets maillants verticaux

Ce sont des engins de capture statiques, constitués d'une nappe de filet en nylon monofilament, enroulée sur un tube en PVC servant de flotteur (Figure 33). Chaque filet, lesté, repose sur le fond. Posé, il demeure vertical dans l'eau et permet ainsi d'échantillonner le poisson dans l'ensemble de la colonne d'eau, quelle que soit sa hauteur. L'ensemble est

composé de filets maillants, à enroulement, de mailles de 10, 15, 20, 30, 40, 50 et 60 mm. Les filets ont une largeur de 2,5 m, leur profondeur variant de 1 à 5 m.



Figure 33 : Présentation du filet maillant vertical, illustrations d'une pose et d'un prélèvement de filets.

III.2. Biométrie, dissection et fixation des gonades

Les individus prélevés dans le milieu d'étude sont transportés vivants au laboratoire. La longueur totale est mesurée au mm, la masse totale et la masse des gonades sont pesées à 0,01g. Les gonades sont prélevées, pesées à l'état frais puis fixées dans une solution de bouin de Hollande pour l'analyse histologique (Figure 34). L'indice gonado-somatique (IGS) est calculé selon la formule : $IGS = (Mg/Mt) \times 100$ (Mg = masse gonade, Mt = masse totale).

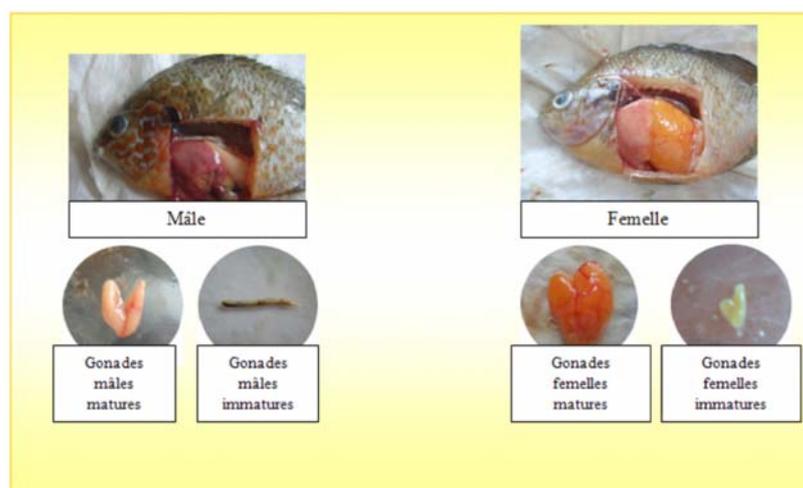


Figure 34 : Dissection des gonades immatures et matures chez le mâle et la femelle.

III.3. Estimation de l'âge par scalimétrie

Chez les poissons des eaux tempérées, l'âge individuel est obtenu par dénombrement des marques hivernales d'arrêt ou de ralentissement de croissance (Figure 35) (Regier, 1962 ; Bagliniere et Le Louarn, 1987). La détermination de l'âge des perches soleil dans le réservoir du Mirgenbach est basée sur la lecture d'écailles, ainsi que le recommandent Fox et Crivelli pour cette espèce (2001).

Cette étude était confrontée à plusieurs contraintes ou interrogations. Le seuil thermique minimal relevé sur le site du Mirgenbach, en hiver, induit-il la production de marques de ralentissement identifiables sur les écailles ? Puisque le calendrier d'échantillonnage survient au premier semestre, pour englober les débuts de la maturation sexuelle puis de la phase de reproduction, il faut identifier le cas échéant, la date de formation des marques hivernales et attribuer un âge aux poissons, que la marque correspondant à l'hiver en cours soit récente ou absente. En outre, les marques portées par les écailles peuvent être liées à d'autres événements cycliques que l'abaissement d'activité hivernale tels que la maturation sexuelle (Johnston, 1905), ou à d'autres événements biologiques (blessures, chocs physiologiques, mauvaises conditions estivales) induisant des marques aberrantes appelées « fausses » et conduisant à des erreurs d'estimation de l'âge (Dahl, 1911). Une méthode de validation de la relation entre présence de marques, période de formation des marques, dénombrement des hivers vécus par l'animal et âge individuel est donc nécessaire.

La méthode de validation retenue est basée sur le calcul de la croissance marginale selon la formule suivante : $Tx = Rd/Rt$ avec Tx : taux de croissance marginale, Rd : rayon distal et Rt : rayon total (Figure 35). Le rayon distal correspond à l'accroissement linéaire de l'écaille depuis le dernier arrêt hivernal. Il se mesure depuis la périphérie du dernier annulus hivernal jusqu'au bord de l'écaille. Pour les poissons n'ayant pas connu de premier arrêt hivernal, le rayon distal est égal au rayon total (mesuré entre le nucleus et le bord de l'écaille) et donc leur Tx est égal à 1. Chez les animaux plus âgés, Tx varie entre 0 et 1 sans atteindre cette valeur.

Les écailles, de type cténoïde, sont prélevées chez chaque individu et stockées à sec dans une enveloppe individuelle jusqu'à la lecture. Les écailles sont observées à l'aide d'une loupe binoculaire Motic SMZ 168 BL, munie d'une caméra Motic 2000, au grossissement x2. L'acquisition numérique des images (au minimum 5 écailles par individu) ainsi que les

mesures des rayons ont été réalisées en utilisant le logiciel de traitement d'image Motic Images Plus 2.0. ML.

Sur les écailles cténoïdes, la lecture n'est possible que dans le champ antérieur, à l'opposé de la partie portant les épines. La plage de lecture retenue est comprise entre le nucléus et les plus grands rayons de l'écaille. Dans un échantillon de perches soleil, les mesures effectuées sur ces 2 grands axes ainsi que sur les plus petits rayons apportent des résultats convergents (rayons total et distal), sans transformation logarithmique des données. Dans l'échantillon complet, les informations acquises pour le calcul du taux concernent donc le plus grand rayon de l'écaille.

La figure 36 présente les données acquises chez les poissons récoltés de 2004 à 2005 et nés au cours de l'été précédent la capture. L'âge est exprimé en jours, par différence entre la date de capture effective et la date de naissance théorique fixée au 15 juillet, date médiane de la fraye dans le réservoir du Mirgenbach (Dembski *et al.*, 2006, 2008). L'axe des abscisses débute à partir de 180 jours, les premiers animaux capturés au plus tôt, fin janvier ayant vécu, en théorie, au moins un semestre avant la capture. Trois groupes de valeurs se distinguent :

- les perches soleil dont le taux est égal à 1 (lot 1) ;
- celles qui sont comprises entre les courbes dessinées à main levée (lot 2) ;
- celles dont le taux est compris entre 0,2 et 0,6 à l'âge approximatif de 235 jours (lot 3).

Les autres points (A1 à A5) correspondent à des valeurs aberrantes qui seront expliquées par la suite.

Le lot 1 regroupe les animaux qui n'ont pas encore marqué leur premier hiver ou bien dont la marque en position distale n'est pas identifiable. Ces individus sont présents de janvier à mars (âges de 200 jours et 235 jours respectivement) et se regroupent sur 2 points en raison de l'unicité des bipoints (taux, date de pêche). Ils appartiennent à la classe d'âge 1 tout comme le deuxième groupe (lot 2) dont la figure illustre la dispersion des valeurs individuelles. Leur taux varie à un âge déterminé, progresse dans le temps et indique une reprise de croissance avant la fin mars, dès l'âge de 235 jours. A cet âge, le taux est déjà compris entre 0,03 et 0,15 ; il atteint 0,3 à 0,8 à l'âge d'un an. Certains poissons ($T_x > 0,5$) ont donc plus que doublé en longueur totale et grandi davantage lors de leur second semestre - entre la marque hivernale et la date anniversaire - qu'au cours de leur premier semestre, entre l'été précédent (naissance) et leur premier hiver (marque de ralentissement). Il faut également noter la présence d'un poisson âgé de 200 jours (A2) dont la croissance a déjà repris en hiver. Les

poissons du lot 3 portent un arrêt hivernal. A l'âge de 235 jours, leurs taux bien que compris entre les valeurs des 2 lots précédents s'en distinguent nettement. Ces poissons ont une année de plus que les poissons des lots 1 et 2 mais ils n'ont pas encore marqué leur deuxième hiver.

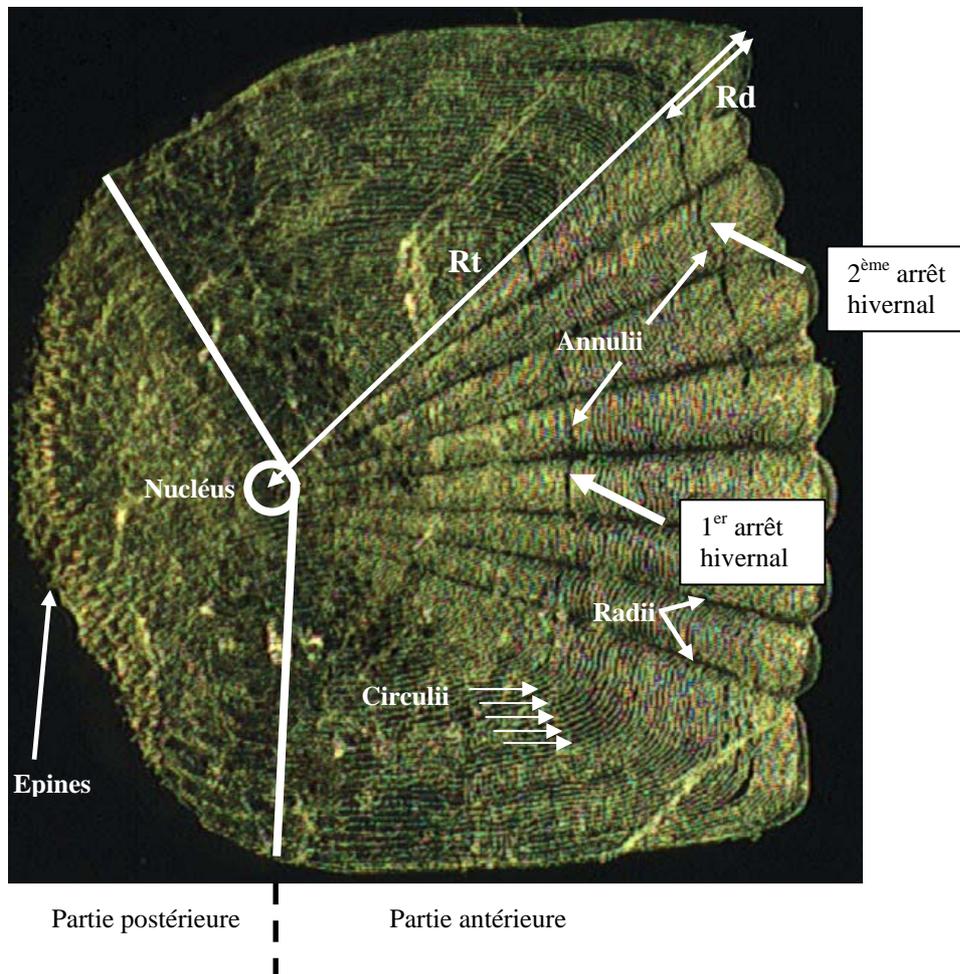


Figure 35 : Ecaille cténoïde de perche soleil présentant deux arrêts hivernaux ou annulii, chaque annulus étant séparé par des circulii. Les radii sont présents dans la partie médiane de l'écailles, du nucléus jusqu'au bord de l'écaille. Le nucléus, ainsi que les rayons total et distal sont représentés (Rt : rayon total ; Rd : rayon distal). Les épines sont présentes dans la partie postérieure.

Le point A1 correspond à un individu capturé au mois de juillet dont l'écaille ne présente pas d'arrêt hivernal. Bien que la marque ne soit pas visible, cet individu a connu un hiver et appartient donc au groupe d'âge 1. L'individu en A2, qui présente un faible Tx, mesure 85 mm, ce qui est très élevé pour un poisson âgé de 200 jours. Une hypothèse peut être émise : cet individu est un des premiers nés de la période de reproduction précédente (fin mai) et a fortement investi dans la croissance somatique de l'été à l'hiver. Les poissons en A3, A4 et

A5 ont des Tx anormalement faibles pour des poissons capturés en juillet. Ces individus pourraient être placés en ordonnée 1 car la lecture de leurs écailles a été délicate et l'existence d'une marque est incertaine, ce qui signifierait que ces individus n'ont pas connu de ralentissement de croissance hivernale. Toutefois ces individus appartiennent bien au groupe d'âge 1.

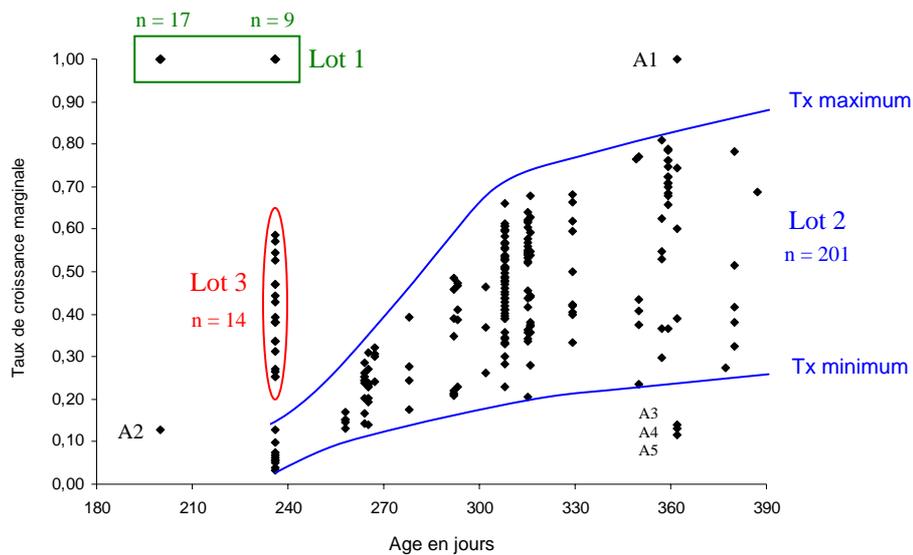


Figure 36 : Taux de croissance marginale selon l'âge (en jours) des individus. Les lots 1 et 2 regroupent des individus d'âge 1 alors que le lot 3 des individus d'âge 2. Ces individus, après correction, sont donc âgés de 600 jours.

Ces résultats fournissent des informations de nature convergente pour la validation de la méthode scalimétrique dans l'objectif d'une détermination de l'âge des perches soleil dans le Mirgenbach. Les écailles portent des marques de ralentissement de croissance, ces marques se forment en période hivernale, il est possible de discriminer les cohortes même en hiver. En outre, les poissons d'une même cohorte connaissent une hétérogénéité forte de croissance postérieurement à leur premier hiver.

Chapitre IV : Etude histologique

IV.1. Matériel histologique

Les observations histologiques ont été réalisées à l'aide d'un microscope Motic BA 400 équipé d'une tête trinoculaire permettant la fixation d'une caméra Motic 2000. L'acquisition numérique des images ainsi que les mesures, ont été obtenues en utilisant le logiciel de traitement d'image Motic Images Plus 2.0. ML.

IV.1.1. Protocole de préparation des lames histologiques

Les gonades (n = 162 femelles, n = 157 mâles), qui ont été préalablement fixées, sont incluses dans des blocs de paraffine. Les coupes transversales, d'une épaisseur de 6 μm , sont réalisées à l'aide d'un microtome (Tableau VIII). La coloration nucléocytoplasmique des lames est effectuée à l'hématoxyline de Gill-Eosine. Après déshydratation (Roti-histol) les lames sont recouvertes de Roti-histokitt puis d'une lamelle (Martoja et Martoja-Pierson, 1967 ; Gabe, 1968).

IV.1.2. Méthode d'observation et définition des profils de maturité gonadique

Pour les femelles, les lames histologiques sont observées au Gx4 pour le calcul des surfaces occupées par les différents stades cellulaires. Cependant, pour la détermination de certains stades cellulaires, les objectifs Gx10 à Gx100 peuvent être utilisés. L'analyse des distributions de surfaces occupées par les différents stades cellulaires, exprimées en %, est réalisée dans l'ensemble de la coupe transversale.

Les stades de maturité sexuelle retenus pour la perche soleil sont basés sur la distribution de fréquence de quatre stades cellulaires de l'ovogenèse définis et numérotés de 1 à 4 à partir des travaux de Gupta (1975) chez la carpe. Le stade 1 regroupe les cellules germinales, les ovogonies et les ovocytes immatures, le stade 2 les ovocytes pré-vitellogéniques, le stade 3 les ovocytes en début de vitellogénèse et le stade 4 les ovocytes en fin de vitellogénèse. Des stades post-ovulatoires et d'atrésie sont également identifiables. La présente analyse de la distribution des surfaces occupées par les différents stades cellulaires a permis de définir 6

stades de maturité sexuelle (A à F) à partir d'un sous-échantillon de 44 femelles, sur l'effectif total de 162. Les critères utilisés pour la constitution de ce sous-échantillon sont la longueur totale et les valeurs d'IGS, afin d'obtenir un sous-échantillon le plus hétérogène possible. Parmi ces 44 femelles, la répartition en classes d'âge est de 32 individus du groupe d'âge 1, 10 individus du groupe d'âge 2 et 2 individus du groupe d'âge 3. Cette diminution des effectifs et la présence de seulement 3 classes d'âge mettent déjà en évidence une faible longévité et un décroissement de la population au cours du temps.

Tableau VIII : Protocole de préparation des lames histologiques (d'après Martoja et Martoja-Pierson, 1967 ; Gabe, 1968).

Confection de lames histologiques	<ul style="list-style-type: none"> - Fixation des gonades au Bouin de Hollande pendant 24 heures - Déshydratation par de l'éthanol puis du Toluène - Imprégnation dans de la paraffine fondue pendant 24 heures - Inclusion dans un bloc de paraffine - Après refroidissement réalisation de coupe de 6µm à l'aide d'un microtome - Collage sur une lame de verre à l'aide d'eau albumineuse
Coloration des lames	<ul style="list-style-type: none"> - Déparaffinage <ul style="list-style-type: none"> o Chauffer sur platine jusqu'à fusion du ruban o 3 bains de toluène - Hydratation <ul style="list-style-type: none"> o 1 bain d'alcool à 100°C o 2 bains d'alcool à 95 °C o 1 bain d'alcool à 70°C o 1 bain d'eau déminéralisée pendant 10 min - Coloration <ul style="list-style-type: none"> o 1 bain hématoxyline de Gill pendant 1 min 30 o 1 bain eau courante 2 fois 2 min o 1 bain 70° pendant 3 min o 1 bain éosine 1 min - Déshydratation <ul style="list-style-type: none"> o 2 bains d'alcool à 95°C o 2 bains d'alcool à 100°C o 3 bains de toluène
Montage des lames	<ul style="list-style-type: none"> - Montage Roti-histokitt et lamelle - Séchage à plat quelques jours avant rangement

Pour les mâles, trois champs d'observation, d'une surface de $18500 \mu\text{m}^2$, répartis de la tunique du testicule vers le canal efférent, sont examinés ($G \times 100$). La distribution des surfaces occupées par chaque type cellulaire, le diamètre nucléaire des cellules sexuelles ainsi que leurs effectifs à l'intérieur d'un cyste sont déterminés. La distribution des surfaces dans chaque champ permet d'évaluer le développement testiculaire en caractérisant 7 stades de maturité (A à G) selon la fréquence de présence de cinq types cellulaires : les spermatogonies (accompagnées de cellules germinales primordiales et de cellules de Sertoli), les spermatocytes I et II, les spermatides et enfin les spermatozoïdes.

L'état de maturité sexuelle individuel, appelé profil de maturité gonadique, combine les observations issues des trois champs. Il est énoncé par un triplet contenant, selon le stade de maturité de chaque champ, une combinaison des lettres A à G. La première lettre concerne le stade de maturité à la périphérie du testicule correspondant à la présence de lobules bien individualisés (champ 1), la deuxième, celui de la partie intermédiaire correspondant à la présence des anastomoses inter lobulaires (champ 2) et la troisième, celui à proximité du canal efférent (champ 3) (Figure 37).

La définition de ces profils de maturité gonadique provient d'un sous-échantillon de 50 mâles, dont 33 du groupe d'âge 1, 14 du groupe d'âge 2, et 3 du groupe d'âge 3 ; 32 profils différents ont été caractérisés.

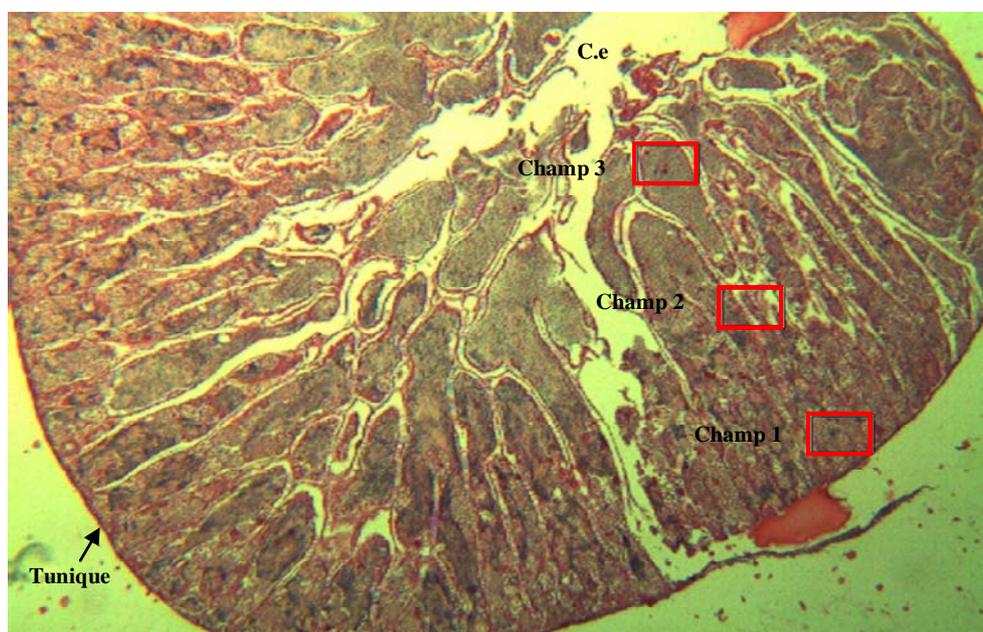


Figure 37 : Coupe transversale d'une section de testicule avec matérialisation des trois champs d'observation, de la tunique du testicule vers le canal efférent (Ce : canal efférent).

3^{EME} PARTIE
RESULTATS

Chapitre I : Etude de l'ovogenèse chez *Lepomis gibbosus* en milieu échauffé

1.1. Organisation ovarienne et follicule ovarien chez *Lepomis gibbosus*

L'organisation générale ovarienne chez *Lepomis gibbosus* est de type cystovarien. Les ovaires de type cystovarien sont organisés en lamelles ovariennes, disposées radialement vers la lumière de l'ovaire, dans laquelle seront évacués les ovocytes mûrs pendant l'ovulation (Planches IA & B). L'ovaire est entouré d'une tunique ovarienne. Tous les types cellulaires de l'ovogenèse sont présents au cours du développement de la gonade. Le développement de l'enveloppe folliculaire (constituée de l'intérieur vers l'extérieur de la *zona radiata*, des cellules folliculaires, et de la thèque) débute au stade de l'ovocyte bloqué en prophase de méiose réductionnelle.

1.2. Description des types cellulaires de l'ovogenèse chez *Lepomis gibbosus*

Les différents types cellulaires de l'ovogenèse présentent une évolution avec transition des types cellulaires qui précèdent ou qui suivent, ce qui explique des écarts-types importants dans les dimensions données ci-dessous. Par ailleurs, les cellules ayant une forme globalement sphérique, la taille de leur section varie selon que la coupe est plus ou moins polaire ou équatoriale, ceci, même si le choix a été porté sur des sections sensiblement équatoriales.

Les cellules germinales primordiales sont des cellules de petite taille avec un diamètre moyen \pm l'écart-type de $11,2\mu\text{m} \pm 4,2$ (n=77) présentant un noyau volumineux (diamètre moyen \pm l'écart-type de $6,7\mu\text{m} \pm 2,4$; n=77) avec un nucléole central ; le cytoplasme est réduit (Planche IIA & B).

Les ovogonies ont un diamètre cellulaire moyen de $31,6\mu\text{m} \pm 9,9$ (n=40) et un diamètre nucléaire moyen de $16,8\mu\text{m} \pm 6,3$ (n=37). Le noyau comporte 1 à 3 nucléoles, généralement en position centrale, qui commencent à migrer vers la périphérie du nucléoplasme. Les

nucléoles apparaissent importants par rapport à la taille de la cellule mais leur diamètre d'environ 3 μm reste constant au cours de l'ovogenèse (Planche IIA & B).

Les ovocytes immatures (Planche IIIA & B) sont des cellules de plus grande taille, d'un diamètre moyen de $81,6\mu\text{m} \pm 28,2$ (n=180). Le diamètre moyen du noyau, qui occupe environ 2/3 du volume cellulaire, est de $47\mu\text{m} \pm 12,9$ (n=159) et les nucléoles sont situés en périphérie du nucléoplasme et plus nombreux (5 à 11 par coupe). Les ovocytes immatures sont entourés d'une fine couche de cellules folliculaires.

Avec l'augmentation du volume cellulaire le cytoplasme s'accroît plus que le noyau. **Les ovocytes pré-vitellogéniques** (Planches IVA, B, C & D), caractérisés par la vacuolisation du cytoplasme (présence de petites vacuoles en périphérie), ont un diamètre cellulaire moyen de $160,4\mu\text{m} \pm 32$ (n=60) et un diamètre nucléaire moyen de $74,0\mu\text{m} \pm 17,6$ (n=60). La structure du noyau n'a pas subi de modifications majeures depuis le stade immature ; les nucléoles sont en périphérie mais généralement plus nombreux (9 à 26 par coupe). L'enveloppe folliculaire, d'une épaisseur moyenne de $5,1\mu\text{m} \pm 1,4$ (n=19), s'est développée et se compose de l'extérieur vers l'intérieur d'une thèque, de cellules folliculaires et de la *zona radiata*. Les cellules folliculaires sont pavimenteuses avec une largeur moyenne de $8,3\mu\text{m} \pm 1,6$ (n=13) et un diamètre nucléaire moyen de $5,4\mu\text{m} \pm 1,5$ (n=13).

Les ovocytes en début de vitellogénèse (Planche VA & B) présentent un diamètre cellulaire moyen de $326,1\mu\text{m} \pm 110,4$ (n=34). Le diamètre moyen du noyau est de $105,8\mu\text{m} \pm 20,8$ (n=31) ; les nucléoles sont en périphérie et varient en nombre de 8 à 30 par coupe. Des globules vitellins envahissent les vésicules à vitellus d'abord en périphérie du cytoplasme, augmentent en nombre et en taille et occupent progressivement tout le cytoplasme ; leur diamètre moyen est de $14,0\mu\text{m} \pm 10,3$ (n=300). L'épaisseur moyenne de l'enveloppe folliculaire est de $8,3\mu\text{m} \pm 3,6$ (n=33). Les cellules folliculaires sont similaires à celles des ovocytes en prévitellogénèse avec une taille moyenne de $8,3\mu\text{m} \pm 1,3$ (n=35) et un diamètre nucléaire moyen de $5,17\mu\text{m} \pm 1$ (n=35).

Les ovocytes en fin de vitellogénèse (Planche VIA, B, C & D) sont volumineux avec un diamètre moyen de $696,1\mu\text{m} \pm 139,2$ (n=32) ; le noyau a disparu. Les globules vitellins sont volumineux avec un diamètre moyen de $41,0\mu\text{m} \pm 15,7$ (n=117) et occupent l'ensemble du cytoplasme. A la fin de la vitellogénèse, les globules fusionnent pour former des plaquettes

vitellines, ce sont les **ovocytes hyalins**. L'enveloppe folliculaire, d'une épaisseur moyenne de $13\mu\text{m} \pm 6$ (n=8) présente des cellules folliculaires cubiques, d'une longueur moyenne de $10,4\mu\text{m} \pm 2,2$ (n=11) avec un diamètre nucléaire moyen de $6,5\mu\text{m} \pm 1,3$ (n=11).

Des ovocytes en atresie pré-ovulatoire et des follicules post-ovulatoires (Planche VIIA, B, C & D) sont également observés. Les ovocytes en atresie pré-ovulatoire, non émis, sont des cellules en dégénérescence qui perdent leur structure et vont progressivement disparaître ; seule subsiste l'enveloppe folliculaire d'un aspect aplati et ondulé. Les follicules post-ovulatoires dépourvus d'ovocyte après émission sont constitués de l'enveloppe folliculaire, avec des cellules folliculaires cubiques résiduelles.

Planche I : Stades A et B de maturité ovarienne (Coupes transversales d'ovaire)

A. : Stade A : ovaire au repos sexuel. Des ovogonies et des ovocytes immatures sont présents (Gx4).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 08/03/05

L_T : 74 mm

IGS : 0,89

Nombre d'hiver : 1

B. : Stade B : ovaire en pré-vitellogenèse. Présence d'ovogonies, d'ovocytes immatures, auxquels s'ajoutent des ovocytes pré-vitellogéniques (présence de vacuoles vides) (Gx4).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 05/04/05

L_T : 61 mm

IGS : 1,70

Nombre d'hiver : 1

Planche I

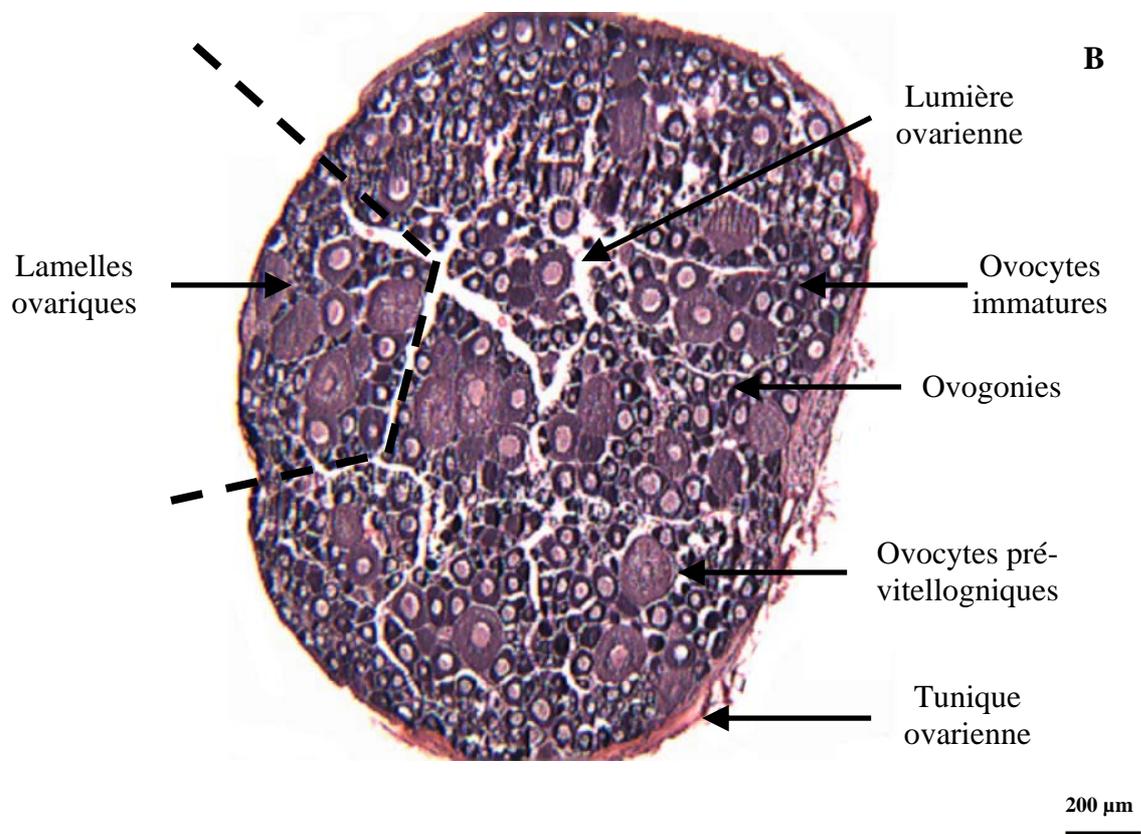
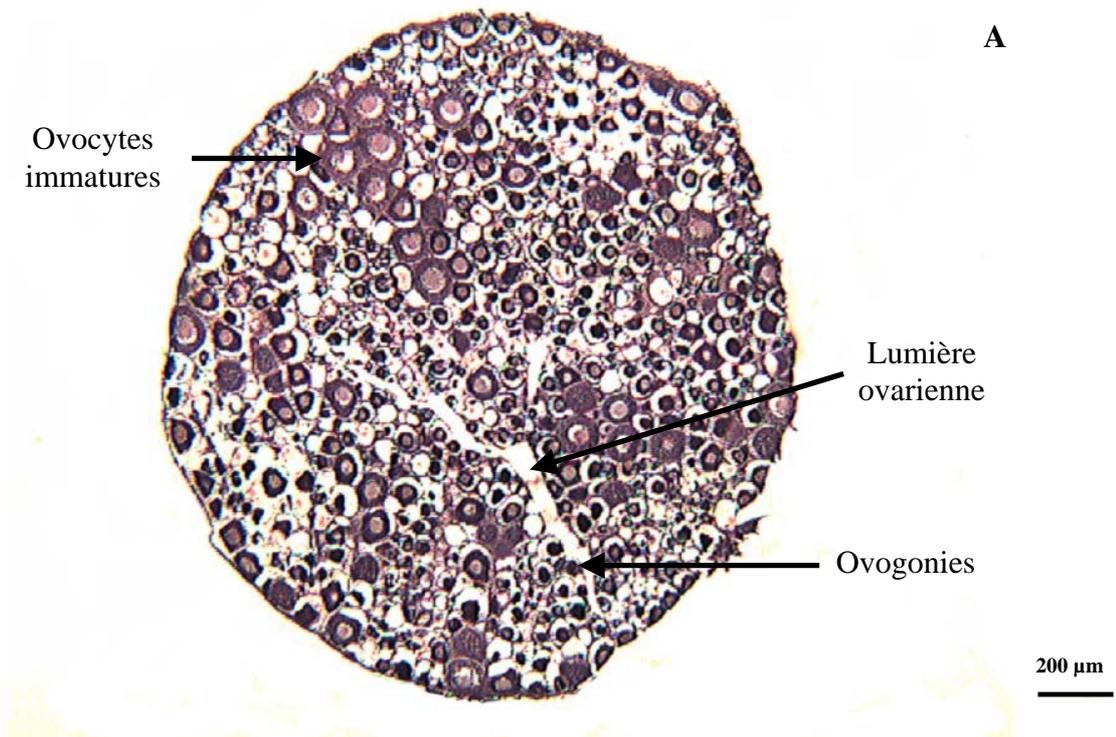


Planche II : Détails des cellules germinales primordiales, ovogonies et ovocytes immatures (Coupe transversale)

Lexique des abréviations :

Cgp. : Cellule germinale primordiale ; L.o. : Lumière ovarienne ; Nu. : Nucléole ; Ovg. :

Ovogie ; Ocy.i. : Ovocyte immature

A. Cellules germinales primordiales, ovogonies et ovocytes immatures (Gx40).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 05/04/05

L_T : 48 mm

IGS : 1,06

Nombre d'hiver : 1

Stade : A

B. : Cellules germinales primordiales et ovogonies qui présentent 1 à 3 nucléoles (Gx100).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 06/04/05

L_T : 54 mm

IGS : 1,07

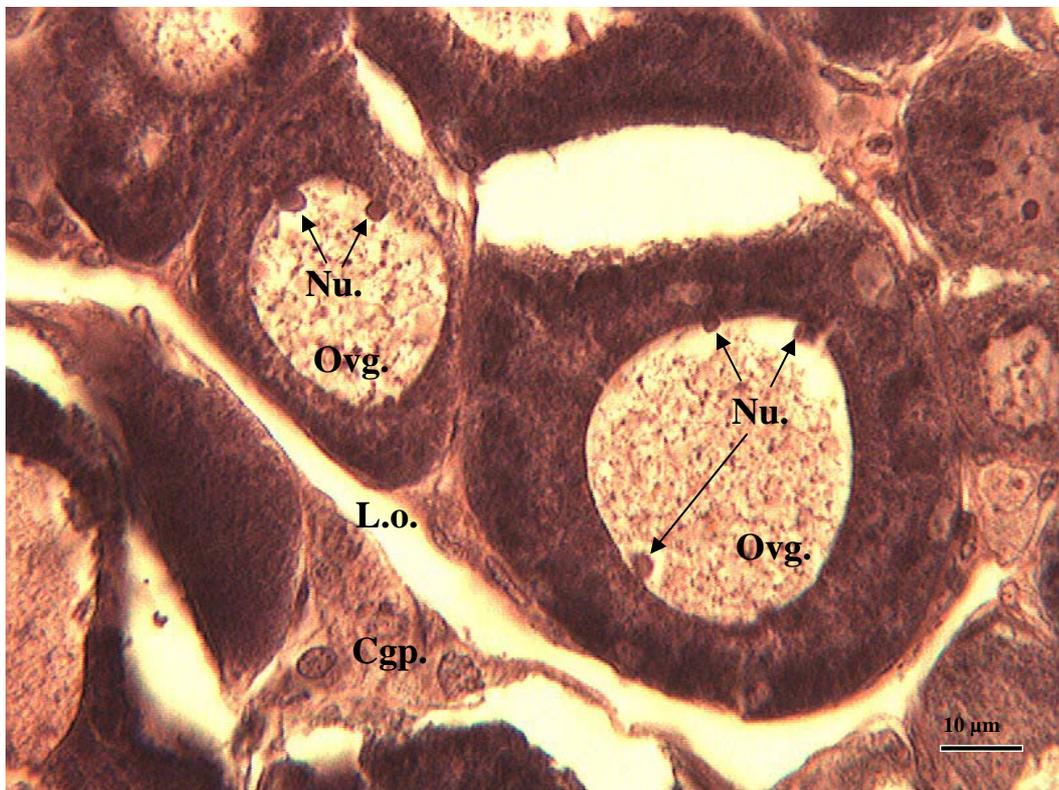
Nombre d'hiver : 1

Stade : C (Stock général de réserve compatible avec la ponte fractionnée et mobilisable lors du prochain cycle ovogénétique)

Planche II



A



B

Planche III : Détails d'ovocytes immatures (Coupe transversale d'ovaire)

Lexique des abréviations :

Ovg. : Ovogonie ; Ocy.i. : Ovocyte immature ; Nu. : Nucléole.

A. : Ovocytes immatures (Gx20).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 26/05/04

L_T : 63,5 mm

IGS : 0,78

Nombre d'hiver : 1

Stade : B

B. : Ovogonies et d'ovocytes immatures. Les nucléoles sont nettement visibles (Gx40).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 05/04/05

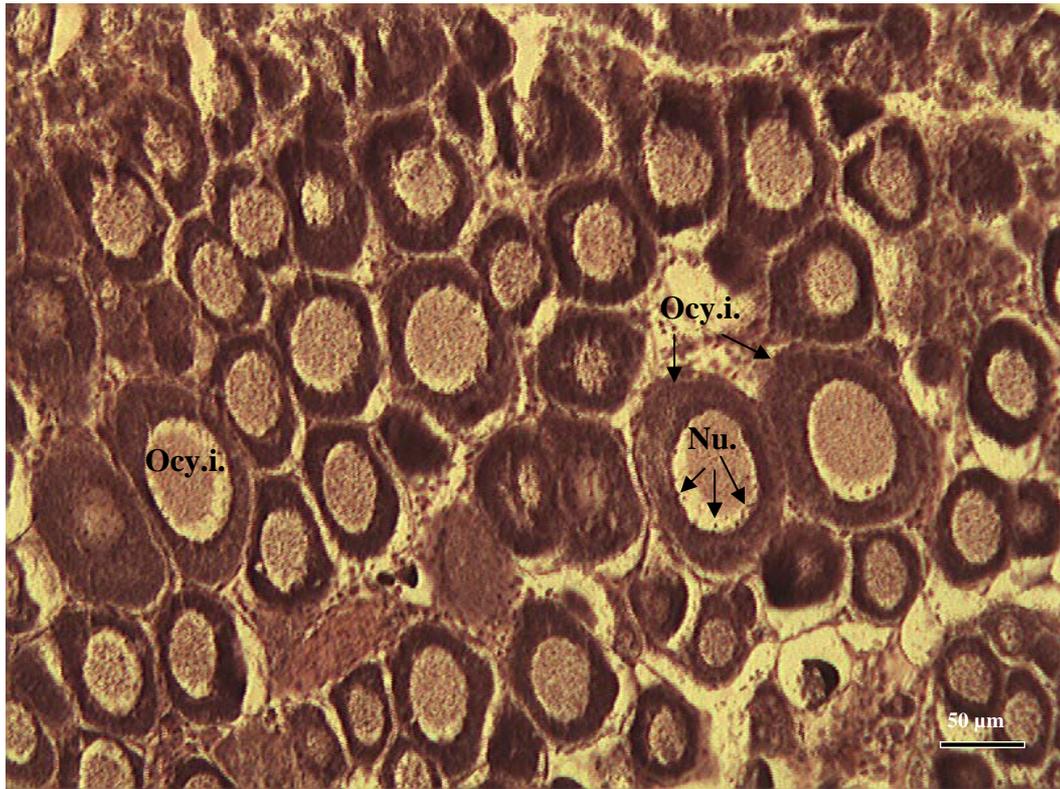
L_T : 48 mm

IGS : 1,05

Nombre d'hiver : 1

Stade : A

Planche III



A



B

Planches IV et IV suite : Détails d'ovocytes pré-vitellogéniques (Coupe transversale d'ovaire)

Lexique des abréviations :

C.f. : Cellule folliculaire ; E.f. : Enveloppe folliculaire ; L.o. : Lumière ovarienne ; Nu. : Nucléole ; Ocy.i. : Ovocyte immature ; Ocy.p. : Ovocyte pré-vitellogénique ; T. : Thèque ; V. : Vacuole ; Z.r. : *Zona radiata*.

A. : Ovogonies, ovocytes immatures et ovocytes en pré-vitellogénèse (Gx20).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 19/04/05

L_T : 64 mm

IGS : 1,48

Nombre d'hiver : 1

Stade : C

B. : Vue détaillée d'un ovocyte en pré-vitellogénèse (Gx40)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 06/04/05

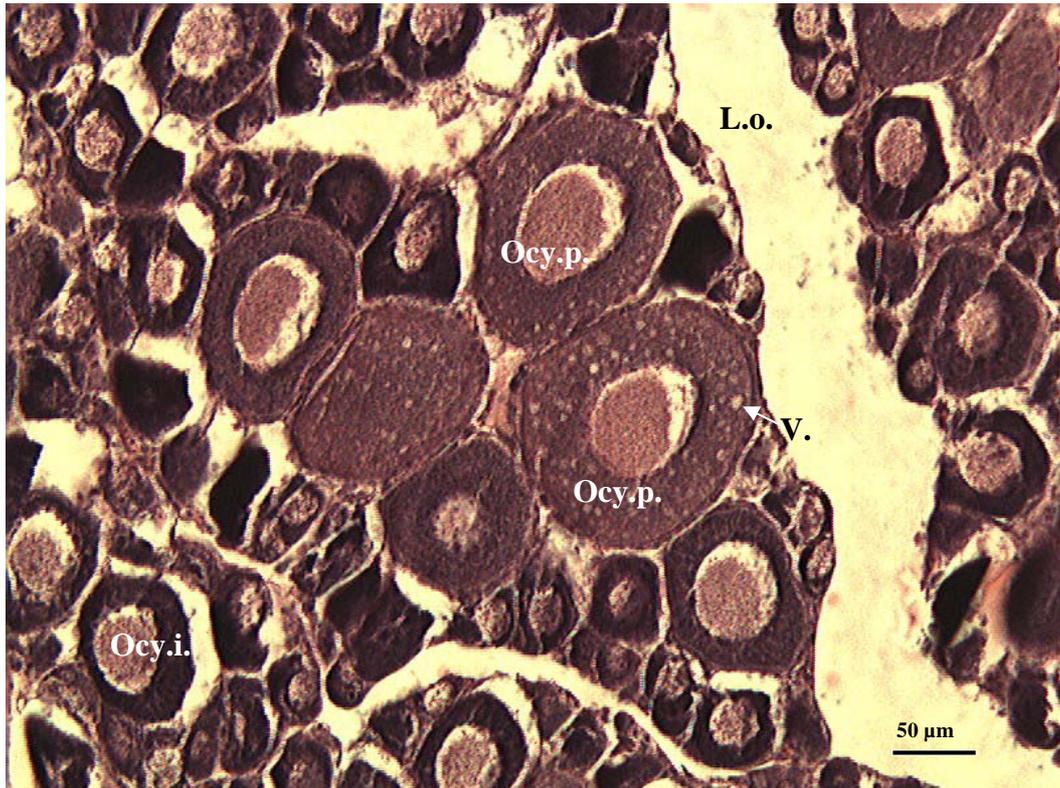
L_T : 54 mm

IGS : 1,07

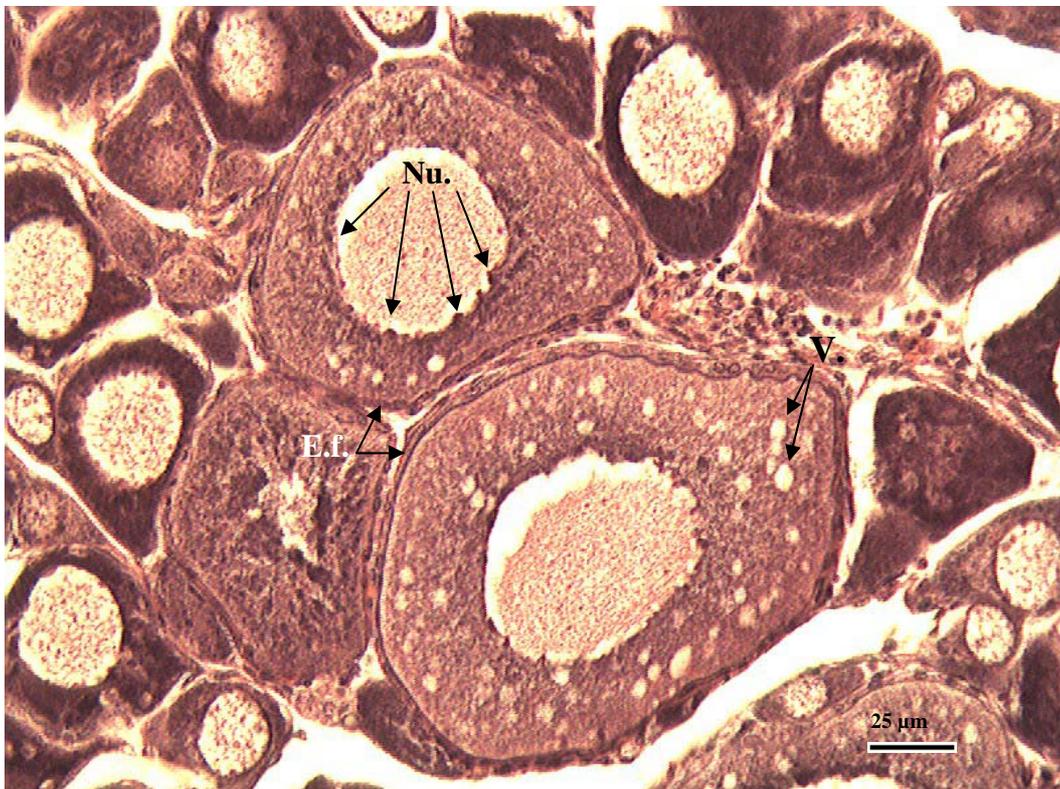
Nombre d'hiver : 1

Stade : C

Planches IV



A



B

Planche IV (Suite)

C. : Ovocyte en pré-vitellogénèse avec vue détaillée du noyau (Gx100)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 06/04/05

L_T : 54 mm

IGS : 1,07

Nombre d'hiver : 1

Stade : C

D. : Ovocyte en pré-vitellogénèse avec vue détaillée de l'enveloppe folliculaire (*zona radiata*, cellules folliculaires et thèque) (Gx100)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 06/04/05

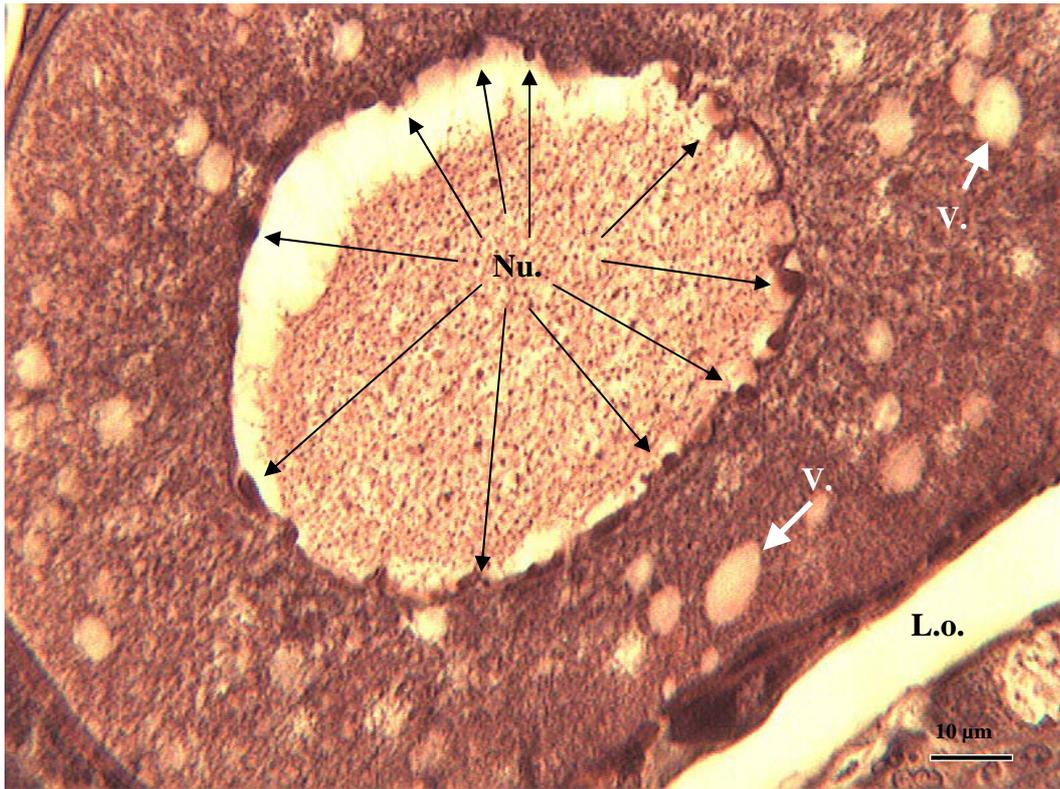
L_T : 54 mm

IGS : 1,07

Nombre d'hiver : 1

Stade : C

Planche IV (suite)



C



D

Planche V : Ovocytes en début de vitellogénèse (Coupe transversale d’ovaire)

Lexique des abréviations :

C.f. : Cellule folliculaire ; E.f. : Enveloppe folliculaire ; G.v. : Globule vitellin ; N. : Noyau ;

T. : Thèque.

A. : Coupe transversale d’un ovocyte en début de vitellogénèse avec visualisation des globules vitellins (Gx40).

Caractéristiques biologiques de l’individu :

Date de capture : 19/04/05

L_T : 64 mm

IGS : 1,48

Nombre d’hiver : 1

Stade : C

B. : Coupe transversale d’un ovocyte en début de vitellogénèse avec détails des globules vitellins et de l’enveloppe folliculaire constituée de la zona radiata, des cellules folliculaires et de la thèque (Gx100).

Caractéristiques biologiques de l’individu :

Date de capture : 19/04/05

L_T : 64 mm

IGS : 1,48

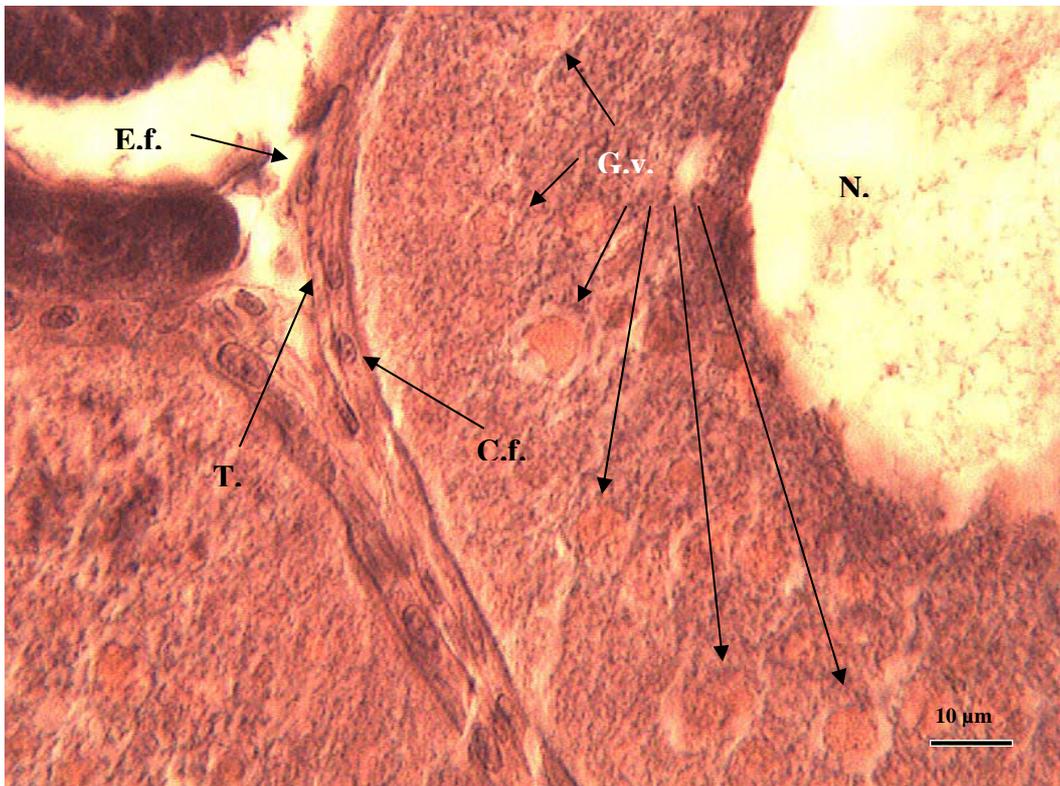
Nombre d’hiver : 1

Stade : C

Planche V



A



B

Planches VI et VI suite : Ovocytes en fin de vitellogénèse (Coupe transversale d’ovaire)

Lexique des abréviations :

G.v. : Globule vitellin ; E.f. : Enveloppe folliculaire ; C.f. : Cellule folliculaire ; Z.r. : *Zona radiata* ; T. : Thèque.

A. : Vue générale d’un ovocyte en fin de vitellogénèse (Gx20)

Caractéristiques biologiques de l’individu :

Date de capture : 19/05/05

L_T : 72 mm

IGS : 4,05

Nombre d’hiver : 1

Stade : D

B. : Vue détaillées des grains de vitellus d’un ovocyte en fin de vitellogénèse (Gx40)

Caractéristiques biologiques de l’individu :

Date de capture : 19/05/05

L_T : 72 mm

IGS : 4,05

Nombre d’hiver : 1

Stade : D

Planches VI

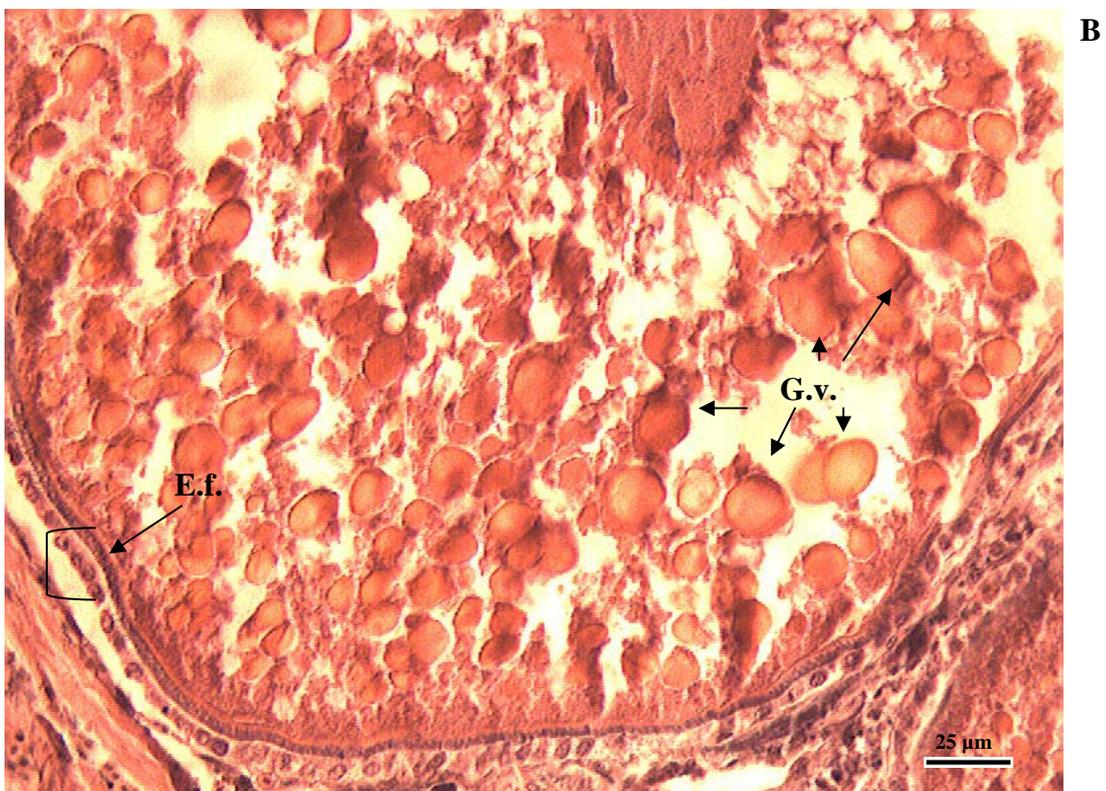


Planche VI (Suite)

C. : Vue détaillées des grains de vitellus et de l'enveloppe folliculaire d'un ovocyte en fin de vitellogenèse (Gx100)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 19/05/05

L_T : 72 mm

IGS : 4,05

Nombre d'hiver : 1

Stade : D

D. : Détail de la vue précédente : enveloppe folliculaire d'un ovocyte en fin de vitellogenèse (Gx100)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 19/05/05

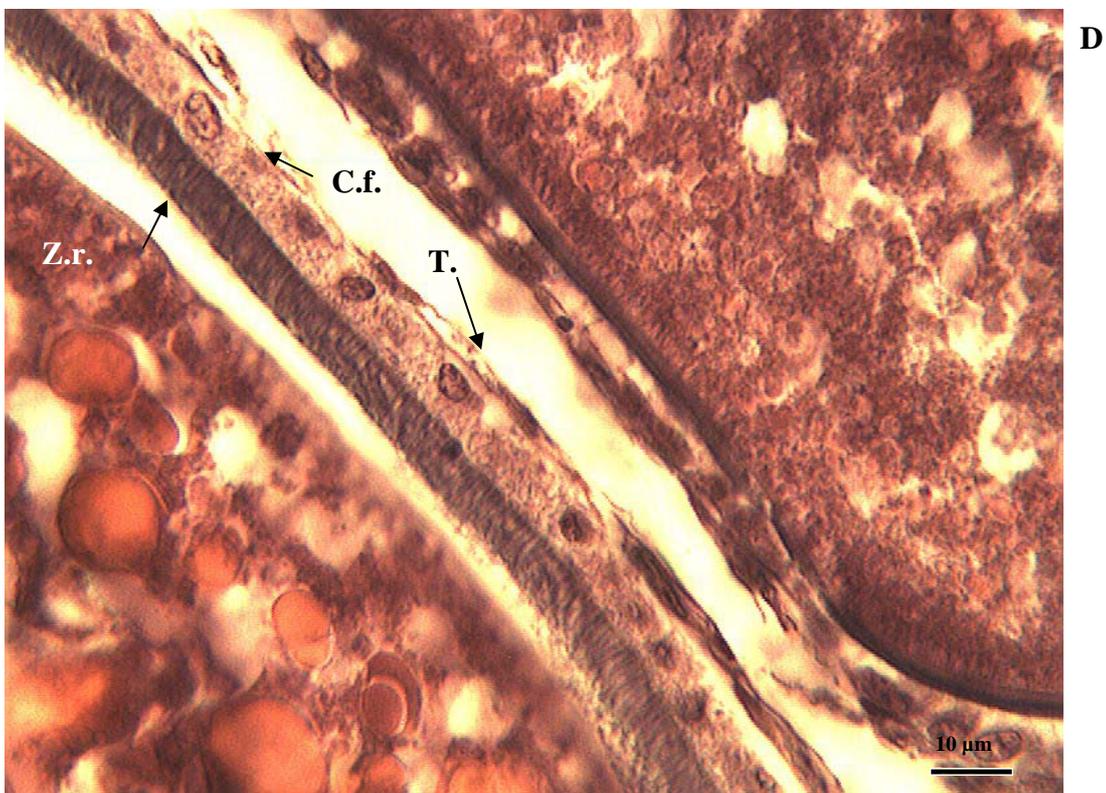
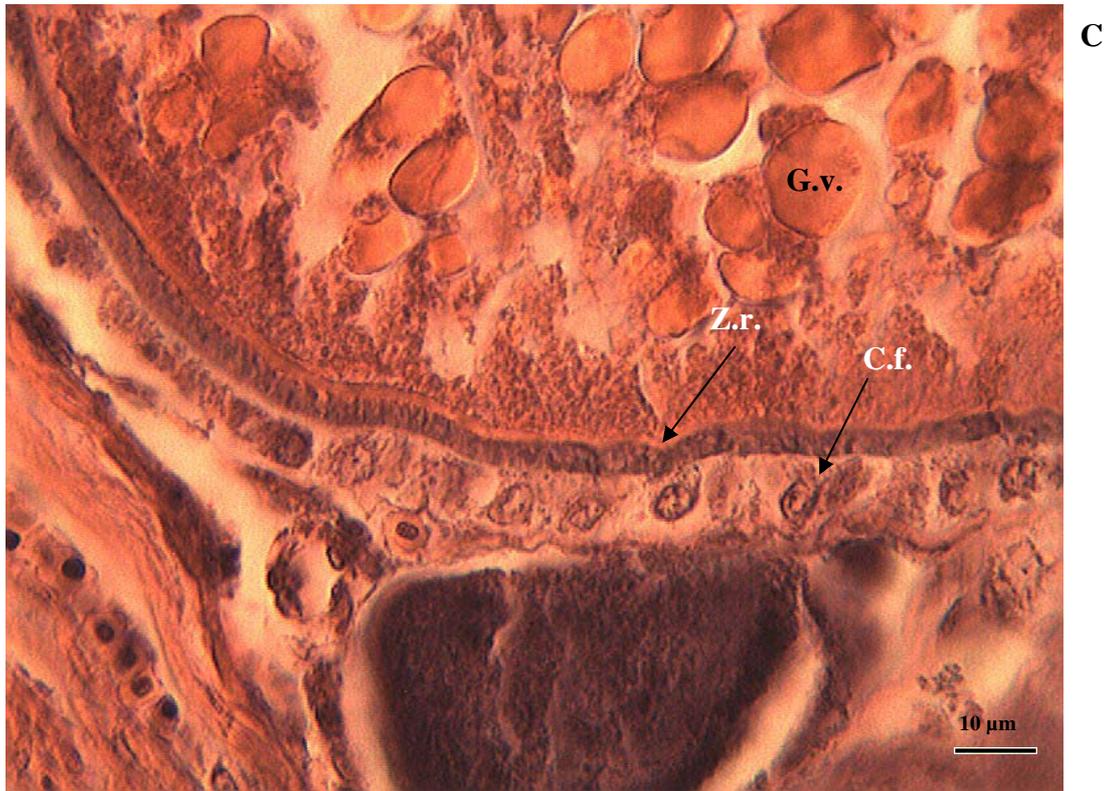
L_T : 72 mm

IGS : 4,05

Nombre d'hiver : 1

Stade : D

Planche VI (Suite)



Planches VII et VII suite : Follicules post-ovulatoires (Stade F) et ovocytes en atresie pré-ovulatoire

Lexique des abréviations :

E.f. : Enveloppe folliculaire ; POF. : Follicule post-ovulatoire ; O.a. : Ovocyte atretique.

A. & B : Follicule post-ovulatoire (respectivement Gx4 et Gx20)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 06/07/04

L_T : 88 mm

IGS : 7,30

Nombre d'hiver : 1

Stade : F

Planches VII

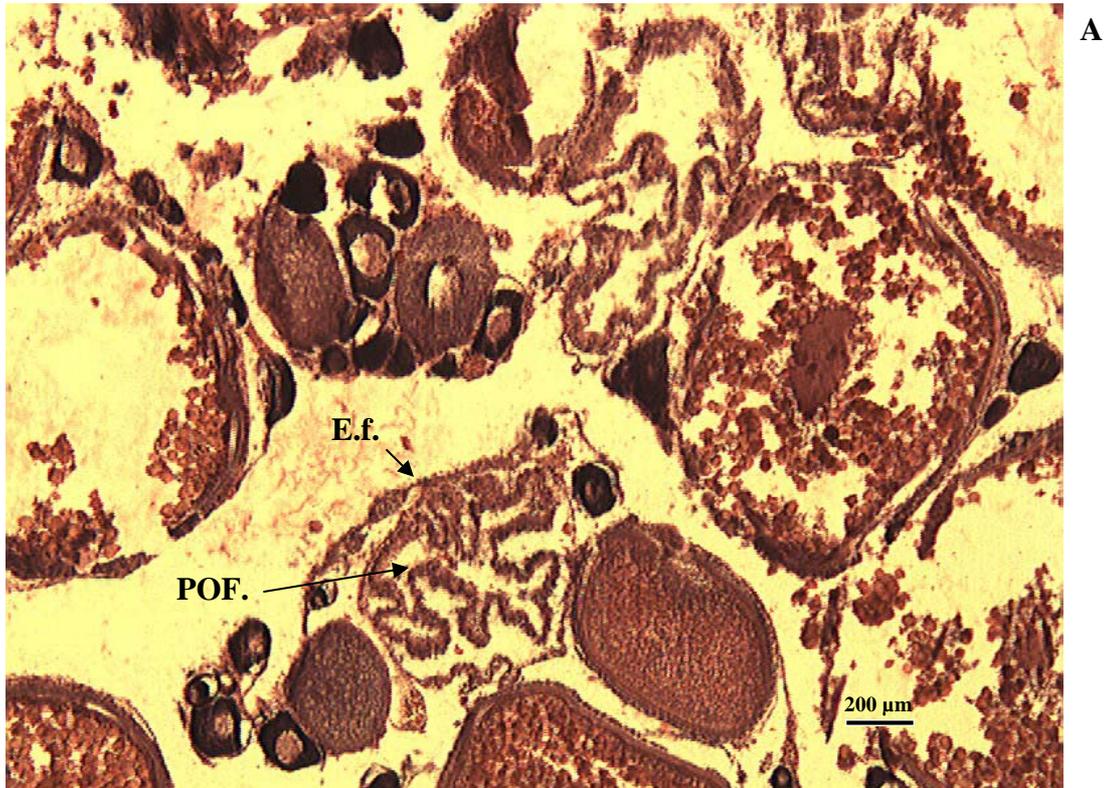


Planche VII (Suite)

C. & D. : Ovocytes en atresie pré-ovulatoires (Gx20)

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 14/09/04

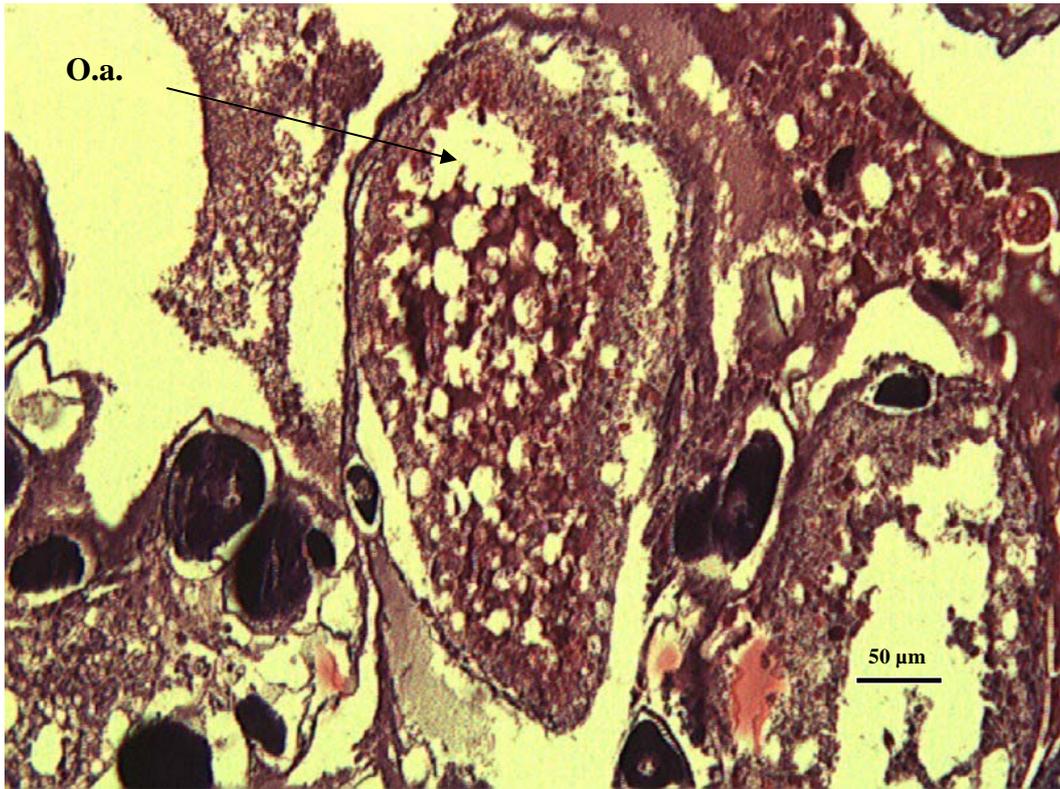
Site : Rivière Moselle (aucun phénomène d'atresie pré-ovulatoire n'a été observé dans le Mirgenbach pendant la période d'étude de mai 2004 à juillet 2005)

L_T : 126 mm

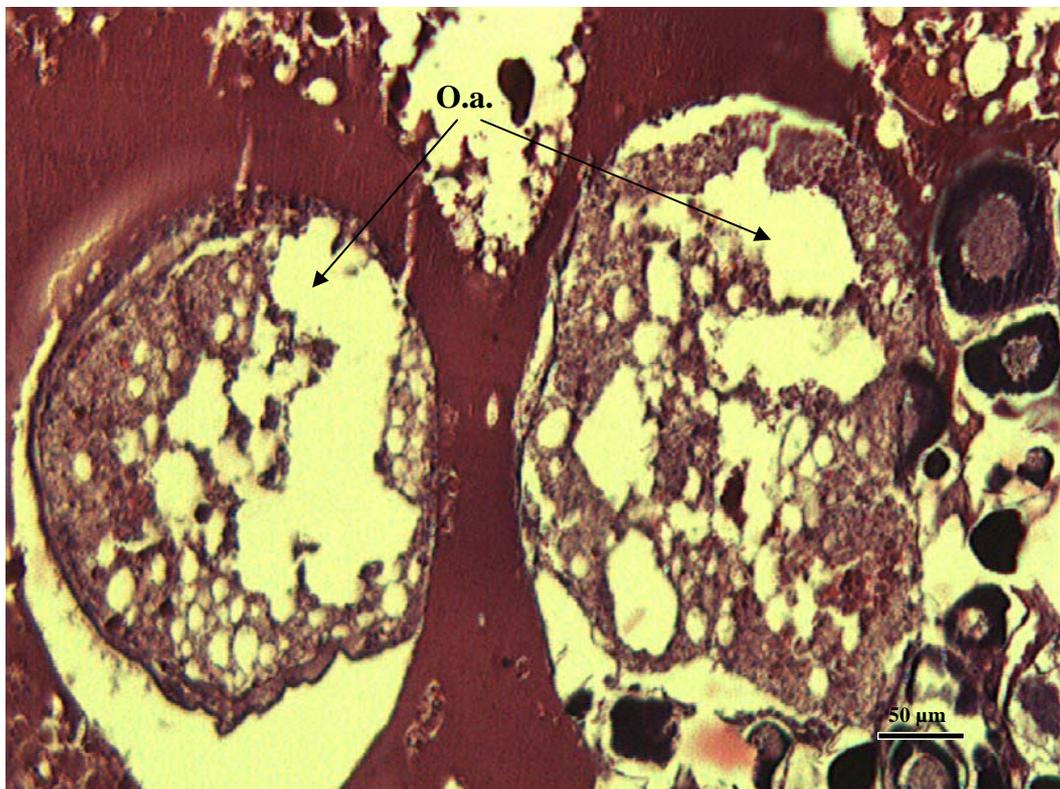
IGS : 2,74

Nombre d'hiver : 2

Planche VII (Suite)



C



D

1.3. Description des stades de maturité ovarienne chez *Lepomis gibbosus*

Les stades A à D sont illustrés sur la planche VIII. Les stades E et F ne sont pas représentés car ils sont constitués des mêmes stades cellulaires que le stade D, avec pour le stade E la présence supplémentaire d'ovocytes mûrs dans la lumière de l'ovaire et pour le stade F la présence d'ovocytes post-ovulatoires. Les caractéristiques biologiques des quatre individus utilisés pour illustrer ces stades de maturité ovarienne sont représentées sur la figure 38.

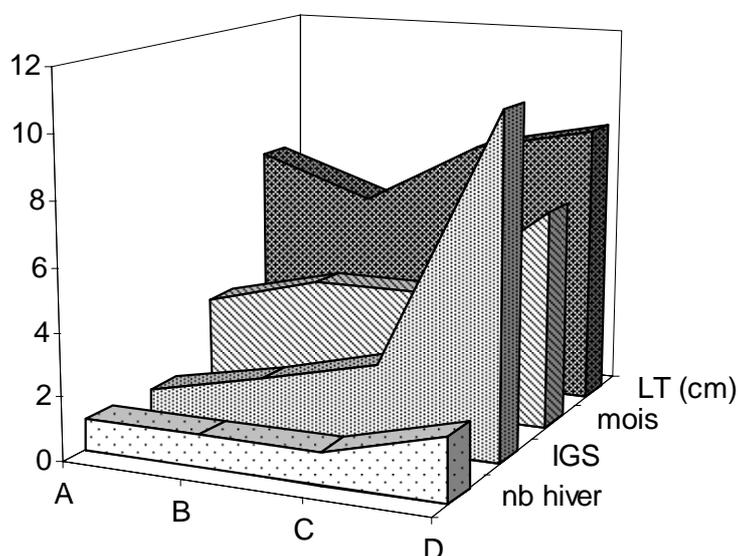


Figure 38 : Caractéristiques biologiques des quatre individus utilisés pour illustrer les stades de maturité ovarienne A à D. Nombre d'hiver en années ; Indice gonadosomatique (IGS) en % ; mois : mois de capture ; LT : Longueur totale en cm.

Le stade A (immature ou repos) se caractérise par la présence de cellules au stade 1 de développement (ovogonies et ovocytes immatures) avec ou sans vides (Figure 39). Les vides correspondent, selon les stades de maturité ovarienne, à la lumière de l'ovaire, aux espaces inter-cellulaires, liés d'une part à la rétraction des cellules lors de la préparation des lames histologiques (artéfact de préparation), et d'autre part, à la forme sphérique ou polygonale par compression des cellules lors de la vitellogenèse.

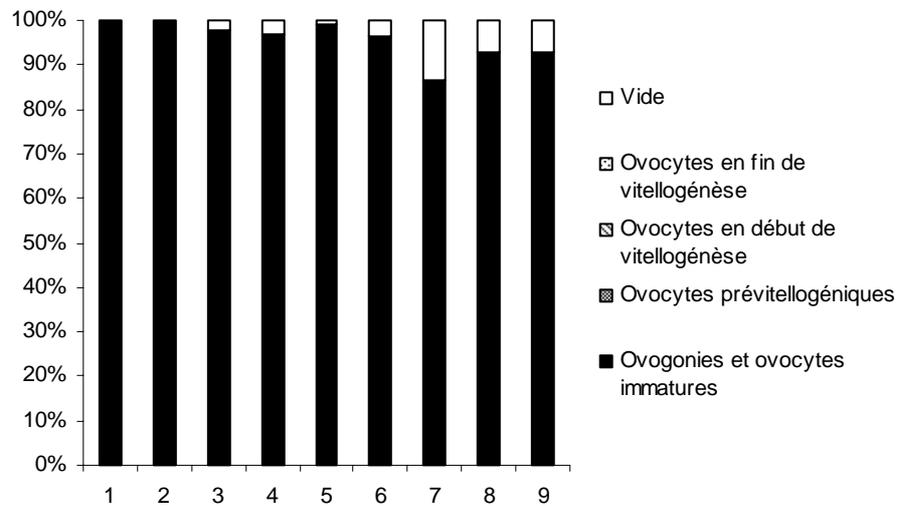


Figure 39 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 9 femelles au stade de maturité A.

Ce stade de maturité est observé chez 9 femelles au cours des mois d'avril, de mai et de juin.

Le pourcentage de surface occupé par les cellules de stade 1 varie de 86,74 à 100 % (moyenne \pm l'écart-type = $95,83 \pm 4,33$ %). Les vides occupent une surface comprise entre 0 et 13,26 % (moy. = $4,17 \pm 4,33$ %).

Le stade B correspond à la présence des cellules du stade A et de cellules au stade 2 ou ovocytes prévitellogéniques avec ou sans vides (Figure 40).

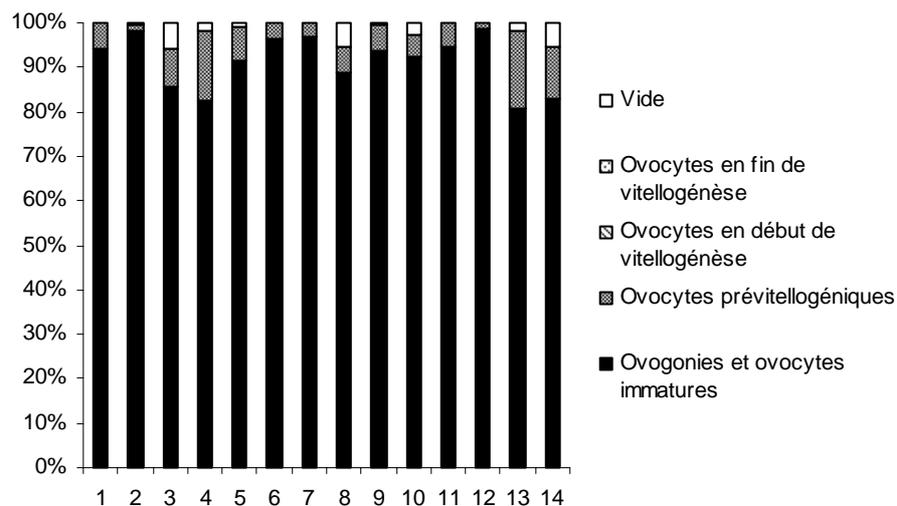


Figure 40 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 14 au stade de maturité B.

Planche VIII : Stades de maturité ovarienne A à D (Coupe transversale)

a) Stade de maturité ovarienne A : présence d'ovogonies et d'ovocytes immatures

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 08/03/05

L_T : 74 mm

IGS : 0,89

Nombre d'hiver : 1

b) Stade de maturité ovarienne B : apparition d'ovocytes prévitellogéniques

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 05/04/05

L_T : 61 mm

IGS : 1,70

Nombre d'hiver : 1

c) Stade de maturité ovarienne C : apparition d'ovocytes en début de vitellogénèse

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 05/04/05

L_T : 82 mm

IGS : 2,67

Nombre d'hiver : 1

d) Stade de maturité ovarienne D : apparition d'ovocytes en fin de vitellogénèse

Caractéristiques biologiques de l'individu :

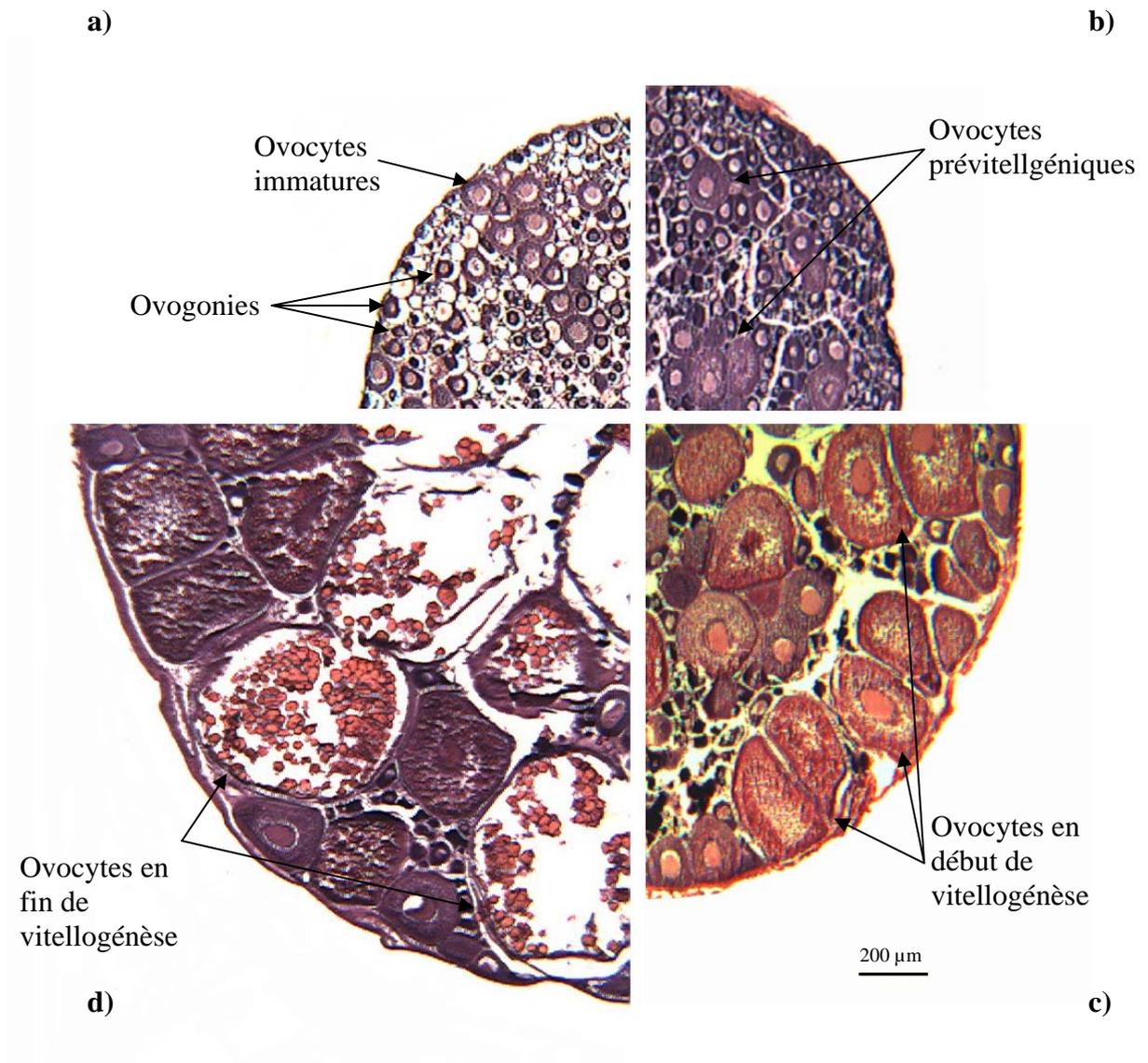
Date de capture : 06/07/04

L_T : 90 mm

IGS : 10,83

Nombre d'hiver : 2

Planche VIII



Le stade B est observé chez 14 femelles au cours des mois de janvier, mars, avril et mai. Les cellules de stades 1 occupent une surface comprise entre 80,88 et 98,48 % (moy. = $91,26 \pm 6,08$ %). La surface occupée par les cellules de stade 2 varie de 1,16 à 17,39 % (moy. = $6,99 \pm 4,88$ %). Les vides représentent 0 à 5,88 % de la surface de la gonade.

Le stade C est défini par la présence des cellules du stade B et l'apparition d'ovocytes au stade 3 ou ovocytes en début de vitellogénèse (Figure 41).

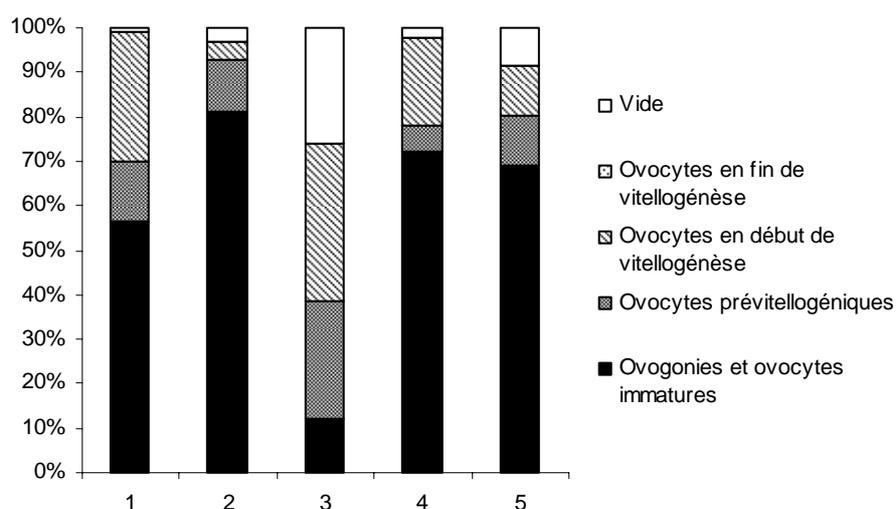


Figure 41 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 5 femelles au stade de maturité C.

Ce stade de maturité sexuelle est observé chez 5 femelles au cours des mois d'avril et de mai. Les cellules au stade 1 occupent 12,31 à 81 % de la surface gonadique (moy. = $58,14 \pm 27,10$ %). Le stade 2 représente 5,95 à 26,44 % (moy. = $13,80 \pm 7,61$ %) et le stade 3 occupe 4,17 à 35,14 % de surface gonadique (moy. = $19,92 \pm 12,73$ %). Les vides sont compris entre 0,82 et 26,11 % (moy. = $8,14 \pm 10,45$ %).

Le stade D correspond à la présence des cellules du stade C et de cellules en vitellogénèse avancée (Figure 42). Ce stade de maturité est observé chez 12 femelles au mois de mai, juin et juillet. La surface gonadique occupée par les cellules au stade 1 varie de 1,61 à 9,58 % (moy. = $4,57 \pm 2,45$ %), celle par les cellules au stade 2 de 2,37 à 7,12 % (moy. = $4,95 \pm 1,56$ %), celle par les cellules au stade 3 de 22,09 à 62,04 % (moy. = $42,08 \pm 13,11$ %) et celle par les

cellules au stade 4 de 8,43 à 44,35 % (moy. = $24,57 \pm 12,16$ %). Les vides représentent 12,33 à 39,76 % (moy. = $23,83 \pm 9,15$ %).

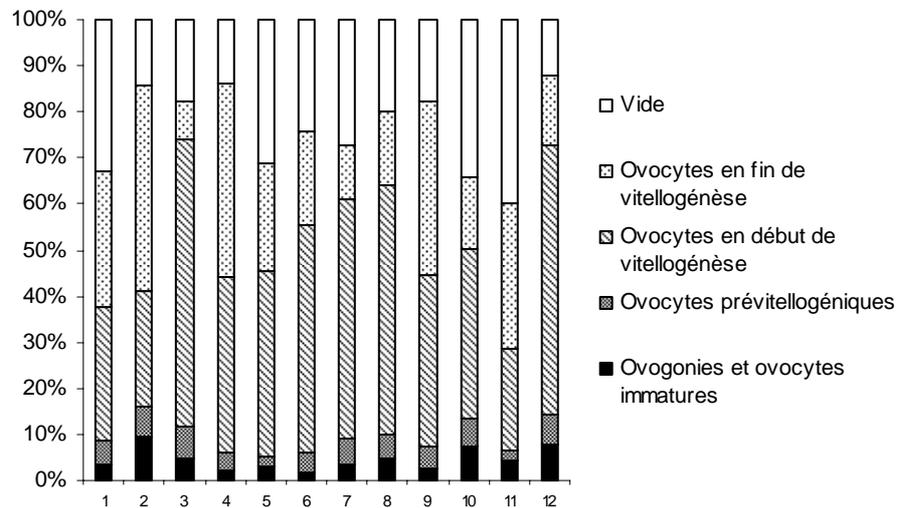


Figure 42 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 16 femelles au stade de maturité D.

Les stades E et F se caractérisent par la présence des cellules du stade D avec la présence de follicules ovariens dans la lumière de la gonade pour le stade E et avec des enveloppes folliculaires vides et déchirées, correspondant à l'émission d'un ovocyte, pour le stade F (Figure 43).

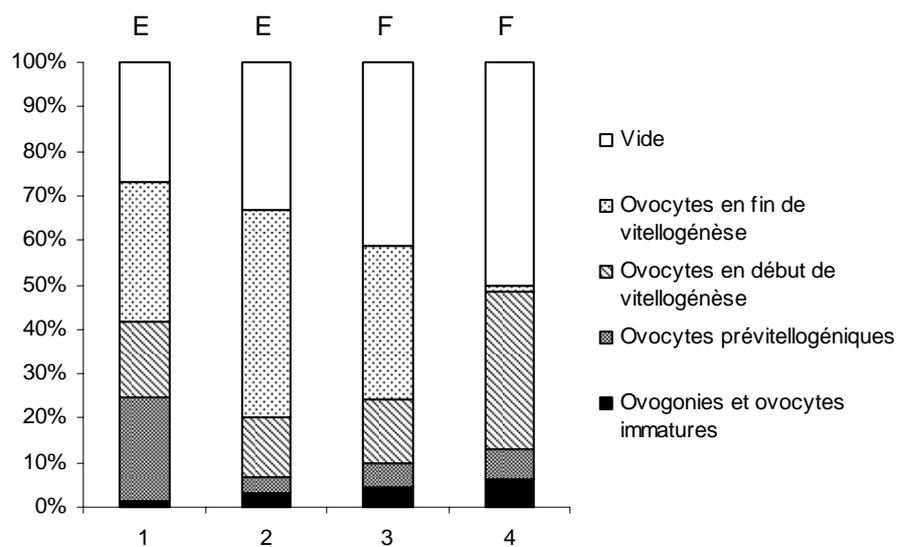


Figure 43 : Distribution des stades cellulaires (%) observée chez 4 femelles aux stades de maturité E et F.

Le stade E est observé chez 2 femelles au mois de mai et de juillet. Les cellules au stade 1 (resp. 2, 3, 4) occupent une surface comprise entre 2,02 et 3,03 % (moy. = 2,53) (resp. entre 3,67 et 31,46 % (moy.= 17,56), entre 13,34 et 23,45% (moy. = 18,39), entre 43,08 et 46,62 % (moy. = 44,85). Les vides représentent 33,34 et 33,34 % de la surface gonadique (moy. = 35,06)).

Le stade F est observé chez 2 femelles au mois de juin et juillet. La surface gonadique occupée par les cellules du stade 1 (resp. 2, 3, 4) est de 4,38 à 6,48 % (moy. = 5,43) (resp. 5,37 à 6,46 % (moy. = 5,92), 14,68 à 35,66 % (moy. = 25,17), 1,19 à 34,28 % (moy. = 17,73)). La surface des vides varie de 41,29 et 50,20 % (moy. = 45,75).

Le tableau IX récapitule les distributions des différents stades cellulaires observées pour chaque stade de maturité, en précisant les périodes d'échantillonnage ainsi que les effectifs de femelles capturées.

Tableau IX: Distribution empirique des stades cellulaires correspondant aux différents stades de maturité.

Stades de maturité	Stades cellulaires	Moyenne (%)	Ecart-Type (%)	Min (%)	Max (%)	Période	Effectif
A	Stade 1	95,83	4,33	86,74	100	Avril Mai Juin	9
	Stade 2	0	0	0	0		
	Stade 3	0	0	0	0		
	Stade 4	0	0	0	0		
	Vide	4,17	4,33	0	13,26		
B	Stade 1	91,26	6,08	80,88	98,48	Janvier Mars Avril Mai	14
	Stade 2	6,99	4,87	1,16	17,39		
	Stade 3	0	0	0	0		
	Stade 4	0	0	0	0		
	Vide	1,75	2,21	0	5,88		
C	Stade 1	58,14	27,10	12,31	81	Avril Mai	5
	Stade 2	13,80	7,61	5,95	26,44		
	Stade 3	19,92	12,73	4,17	35,14		
	Stade 4	0	0	0	0		
	Vide	8,14	10,45	0,82	26,11		
D	Stade 1	4,57	2,45	1,61	9,58	Mai Juin Juillet	12
	Stade 2	4,95	1,56	2,37	7,12		
	Stade 3	42,08	13,11	22,09	62,04		
	Stade 4	24,57	12,16	8,43	44,35		
	Vide	23,83	9,15	12	39,76		
E	Stade 1	2,53		2,02	3,03	Mai Juillet	2
	Stade 2	17,56		3,67	31,46		
	Stade 3	18,39		13,34	23,45		
	Stade 4	44,85		43,08	46,62		
	Vide	35,06		33,34	36,78		
F	Stade 1	5,43		4,38	6,48	Juin Juillet	2
	Stade 2	5,92		5,37	6,46		
	Stade 3	25,17		14,68	35,66		
	Stade 4	17,73		1,19	34,28		
	Vide	45,75		41,29	50,20		

1.4. Impact de la température sur l'ovogenèse chez la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach

Ce paragraphe fait l'objet d'un article, soumis à la revue *Journal of Fish Biology* pour publication, ci-joint : « Ovarian maturation of the pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in an overheated reservoir ».

Résumé :

La maturation sexuelle de la perche soleil (*Lepomis gibbosus*) a été étudiée dans une retenue artificielle du Nord-Est de la France (réservoir du Mirgenbach) recevant les eaux échauffées de la centrale électronucléaire de Cattenom, de mai 2004 à juillet 2005. L'analyse histologique d'ovaires d'une population de 162 femelles a permis de définir 6 stades de maturité sexuelle (A à F). En parallèle, l'indice gonado-somatique a été calculé afin de comparer nos résultats avec d'autres populations de perches soleil en Europe. Dans le réservoir du Mirgenbach, l'ovogenèse est influencée par des températures élevées, particulièrement de l'automne au printemps. La vitellogénèse débute en mars et les premières émissions de gamètes sont observées en mai. La reproduction est fractionnée avec un développement asynchrone des ovocytes. Dans ce contexte de milieu échauffé, la maturité sexuelle est précoce par rapport aux autres populations de perches soleil situées à des latitudes similaires mais la longévité, de 3 ans, est plus faible que dans les autres sites d'Europe (4 à 8 ans). Cette précocité a également été observée chez d'autres espèces dans des sites recevant des eaux échauffées de centrales nucléaires, cependant des anomalies ovocytaires ont été observées, ce qui n'est pas le cas chez la perche soleil.

Ovarian maturation of the pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in an over-heated reservoir

E. VALENTE*, G. MASSON*, A. MEYER*, A. MAUL†, J.C. PIHAN‡

*Laboratoire Interactions Ecotoxicologie Biodiversité Écosystèmes (LIEBE) UMR 7146, Campus Bridoux rue du Général Délestraint, Université Paul Verlaine, UFR Sci. F.A., 57070 Metz, France; ‡Campus Bridoux rue du Général Délestraint, Université Paul Verlaine, UFR Sci. F.A., 57070 Metz, France and †Laboratoire de Mathématiques et Applications de Metz (LMAM) UMR 7122, Ile du Saulcy, Université Paul Verlaine, F-57045 Metz, Cedex 1, France

Sexual maturation in pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) has been studied from May 2004 to July 2005 in an artificial basin in north-eastern France (Mirgenbach Reservoir) which receives over-heated water from the Cattenom nuclear power plant. The histological analysis of ovaries from a population of 162 females allowed for the definition of 6 stages of sexual maturity (A to F). At the same time, the gonado-somatic index (I_G) was calculated in order to compare our results with those of other pumpkinseed populations in Europe. In the Mirgenbach Reservoir, oogenesis is influenced by elevated temperatures, particularly from fall to spring. Vitellogenesis starts in March and the first gamete emission is observed in May. Pumpkinseed is a batch spawner with asynchronous development of oocytes. In this context of an over-heated environment, sexual maturity is precocious compared to other pumpkinseed populations located at similar latitudes, but longevity (3 years), is lower than at the other sites in Europe (4 to 8 years). This precocity was also reported from literature in other species at sites receiving over-heated nuclear plant discharge water, however oocyte abnormalities observed in these sites were not observed in the pumpkinseed population in the Mirgenbach reservoir.

Key words : *Lepomis gibbosus*, oogenesis, sexual maturation, temperature

INTRODUCTION

Fish reproduction is particularly sensitive to temperature; the onset of sexual maturity, the rhythm of reproductive cycles, the development of ovaries and the pre and post-ovulatory periods are the phases affected by an increase in temperature (Van Der Kraak and Pankhurst, 1996).

The effect of temperature on oogenesis was determined for certain species in relation to their latitudinal distribution. In roach (*Rutilus rutilus*) and pikeperch (*Sander lucioperca*), sexual maturity is precocious near the lower latitudes (Lappalainen *et al.*, 2003 ; Lappalainen and Tarkan, 2007). A study of rudd (*Scardinius erythrophthalmus*) and roach reproduction in the southern limit of their distribution (Lake Sapanca, Turkey) revealed a precocity in the beginning of maturation as compared to northern regions (Tarkan, 2006). In equatorial lakes, the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproduces year round, while the reproductive period is limited to the warmest months in geographical zones situated in the higher latitudes (Lowe-McConnell, 1987). In the middle latitude zones, in the Ourthe River (Belgium), the reproductive capacity of barbel (*Barbus barbus*) was optimal with an increase in temperature from 1.5 to 3.5°C (Baras and Philippart, 1999). Within a context of global warming, precocity in the reproductive cycle was observed in roach in Lake Geneva over a study period of 19 years, during which surface water underwent an increase in temperature of 1°C (Gillet and Quélin, 2006).

In Europe, the impact of a temperature increase on oogenesis was studied at sites receiving cooling water effluent from nuclear power plants: the test basin of the Forsmark plant and Hamnefjärden Bay in the Baltic near the Oskarshamn plant in Sweden, and Lake Druksiai near the Ignalina plant in Lithuania. Oogenesis started one month earlier in perch (*Perca fluviatilis*) and roach (Luksiene et Sandström, 1994) than in a natural environment, but with a very high egg mortality rate (Sandström *et al.*, 1997). In such environments, reproductive capacity was reduced and abnormalities in the oocytes, as well as cases of hermaphroditism, were observed (Luksiene and Sandström, 1994, Luksiene *et al.*, 2000). In the United States, Eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) reproduction in natural habitats stopped over the winter (Meffe, 1992) whereas at the experimental site near the Savannah River plant, which receives waters warmed by a nuclear reactor, reproduction is continued over the whole year but its rate was weaker and the juveniles were smaller.

Several studies have focused on ovarian dysfunction in mesotherm species (roach and perch) exposed to heated waters (Luksiene and Sandström, 1994, Sandström *et al.*, 1997; Luksiene *et al.*, 2000). Despite the context of global warming (Wood and McDonald, 1997; Burroughs, 2001; Pertoldi and Bach, 2007), few studies have addressed the effects of overheating on oogenesis in thermophile species as defined by Billard *et al.* (1981), such as pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*). In the Centrarchides family, this native North American species (Scott and Crossman, 1973), was introduced to Europe in 1880 (Vooren, 1972). Currently found in 28 European countries (Copp and Fox, 2007), it is only considered an invasive species in the central and southern regions of Europe (Villeneuve *et al.*, 2005). Its oogenesis begins with the gradual increase in springtime temperatures. Batch reproduction takes place in summer, with asynchronous development of oocytes, and sexual activity ceases in Fall and Winter (Gutiérrez-Estrada *et al.*, 2000a, 2000b ; Copp *et al.*, 2002 ; Dembski *et al.*, 2006). Some authors have been interested in the consequences of temperature variation on the sexual maturity of pumpkinseed, beginning with the spawning evolution of gonads (gonado-somatic index - I_G), comparing populations evolving at different latitudes in Europe and in their native zones (Fox and Crivelli, 2001 ; Copp *et al.*, 2002). In the Mirgenbach Reservoir, which receives warmed water from the nuclear power plant in Cattenom (north-eastern France), earlier work revealed both precocity in reaching maturity based on the I_G evolution (Dembski *et al.*, 2006) and conditions for proliferation of young of the year (Dembski *et al.*, 2008).

This study focuses on the oogenesis of a population of pumpkinseed (from the stage of sexual inactivity to maturity) confined for several generations in this reservoir of over-heated water and not the complete reproductive phase which last 3 months (Dembski *et al.*, 2006). It is based on the use of ovarian stages of sexual maturity previously identified using cell types present and relative surfaces occupied in a transversal gonad section. Several authors have defined various cellular stages in other species; the identification of these stages was based mainly on morphological criteria, on the progression of vitellogenesis and on the development of the follicular envelope. According to these studies, the number of stages described, generally from 4 to 6, as well as the corresponding histological description, varied considerably (Stahl and Leray, 1961 ; Fontana, 1969 ; Gupta, 1975 ; Wallace and Selman, 1981 ; De Moussac, 1986 ; Deniel *et al.*, 1989 ; Le Duff *et al.*, 1996 ; Beelen *et al.*, 1998 ; Gaamour, 1999 ; Carrasson and Bau, 2003). Parallel to our histological analysis, the I_G was studied in order to compare the results with other pumpkinseed populations in Europe.

The aim of this study is to improve knowledge of pumpkinseed oogenesis in a heated environment and to understand the consequences on both an individual scale (impact on the oocytes) and population-wide scale (period of sexual maturity).

MATERIALS AND METHODS

STUDY SITE

The Mirgenbach Reservoir is located in north-eastern France at 49°25' North and 6°13' East. It covers a surface area of 0.95 km² and contains 7.3 x 10⁶ m³ with a mean depth of 7.68 m and a maximum depth of 20 m. This reservoir, used for industrial purposes, serves the Cattenom nuclear power plant (Fig. 1).

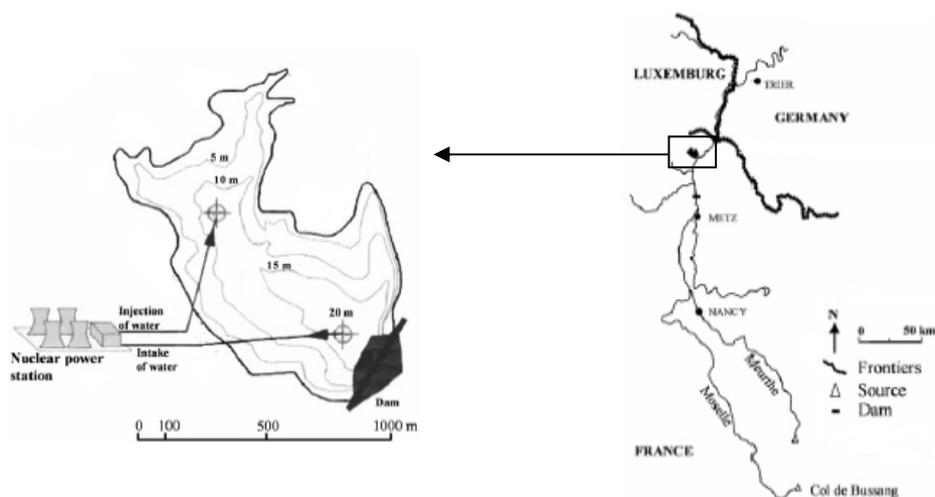


FIG. 1. Mirgenbach Reservoir; Cattenom nuclear power plant (France).

The basin is used primarily as a back-up reservoir, allowing the plant to function in a closed circuit if necessary, and secondly as a thermal buffer, receiving heated waters ($5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) discharged from the plant's 4 cooling towers before being released into the Moselle River; holding-time is 12 days. This holding area is unstratified (Vein *et al.*, 1990); it consists of heated water, high conductivity ($2000 \mu\text{S cm}^{-1}$), and high copper concentrations ($49 \mu\text{g l}^{-1}$ total Cu), causing corrosion in the condensers' brass pipes (Vinot and Pihan, 2005). However, the level of total dissolved oxygen is consistently high throughout the water column (85 to 116%). In contrast to the heated environments mentioned previously (Table I), there is no

thermo-spatial gradient within the reservoir. Fish are exposed to the same thermal conditions regardless of the individual spatial zone they occupy.

For the period from January 2001 to December 2004 (Fig. 2), the mean temperature calculated using daily measurements (data provided by the *CNPE-EDF* in Cattenom) was 17.6°C, with a minimum of 7.8°C (January 2002) and a maximum of 29.2°C (August 2003), while the temperature in the natural environment (Moselle River at Uckange, data provided by the *Agence de l'Eau Rhin-Meuse*) was 15.1°C, with a minimum of 3.6°C (January 2004) and a maximum of 29.8°C (August 2003). The difference in temperatures between the Mirgenbach reservoir and the natural environment was +2.5°C on mean inter-annually, covering 900°C days, with a maximum difference of +5.9°C (February) and minimum of +0.6°C (June and August). The gap in temperature between Mirgenbach and the natural environment is most pronounced from Fall to Spring. In the basin, the temperature difference between the cold and the warm season is less pronounced when compared to the natural environment, which is an exceptional case for middle latitude.

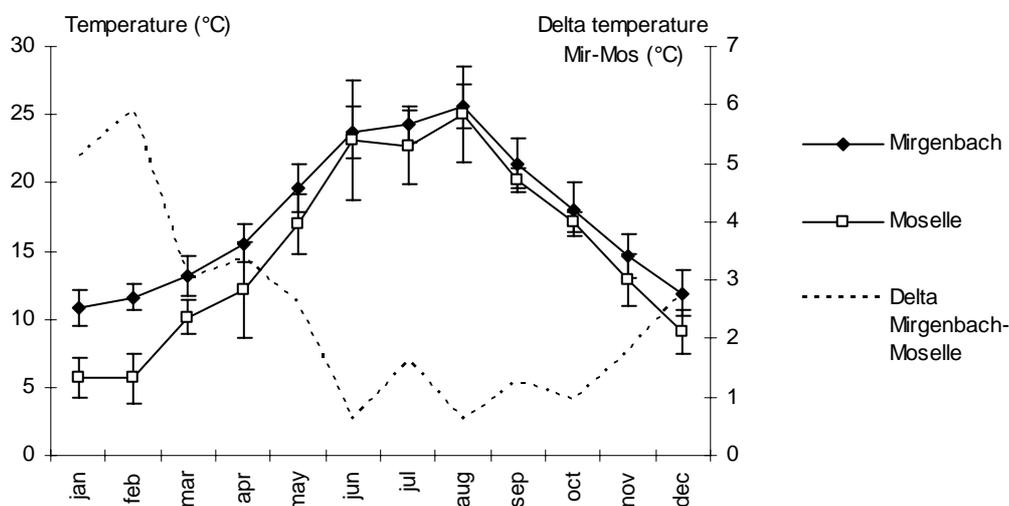


FIG. 2. Mean monthly temperatures (°C) in the Moselle River at Uckange (Mos.) and in the Mirgenbach Reservoir (Mir.) (January 2001 to December 2004) and differences in monthly temperatures between the two. The vertical bars correspond to standard deviations.

SAMPLING TECHNIQUES

The fishing calendar decided upon (May-July 2004 / January-July 2005) covered the period from sexual dormancy to sexual maturity and the beginning of the reproductive period in pumpkinseed, with the spawning period taking place from June to August (Dembski *et al.*, 2006). In the Mirgenbach Reservoir, this species prefers to occupy the littoral zone to a depth of 1.5m (Dembski *et al.*, 2006, 2008). Various techniques adapted to capture in littoral zones were used for sampling: electro-fishing, seine and fyke net, which represent 48.5%, 25.1% and 24.6% of the total sample, respectively. Some individuals were also captured using vertical gill nets (1.8% of the sample). The combined use of four different fishing devices ensured that sampling would be free from each instrument's particular selectivity.

BIOMETRY, DISSECTION AND SCALIMETRY

The pumpkinseed females collected at the study site were taken to the laboratory alive. Total length was measured in mm, total mass and gonad mass were measured to 0.01g. The ovaries were removed and weighed immediately. The gonado-somatic index (I_G), calculated according to the formula: $I_G = (M_G/M_T)*100$ (M_G = gonad mass, M_T = total mass), allowed for a comparison between the period of sexual maturity in the Mirgenbach Reservoir and in other populations in Europe (Table II). The scales were removed and individual age was determined by counting winter marks (Regier, 1962; Bagliniere and Le Louarn, 1987). Three age groups were distinguished for pumpkinseed in the Mirgenbach: age group 1 (Cohort 1), age group 2 (Cohort 2) and age group 3 (Cohort 3). The young of the year were not included in this study because they were immature (Dembski *et al.*, 2006); the youngest fish studied were those born the year prior to capture. Scale observations were performed using a Motic SMZ 168 BL binocular loupe. The images were taken using a Motic 2000 camera and processed using Motic Images Plus 2.0. ML software.

TABLE I. Study of the oogenesis of fish at European sites receiving over-heated water from nuclear power plants. (- : data unavailable).

Site	Country	Receiving environment	Surface (km ²)	Mean depth (m)	Mean annual thermal difference between the discharge site and the control site (°C)	Species studied	References
Forsmark	Sweden	Test basin	1	2.5	+10	Perch (<i>Perca fluviatilis</i>)	Sandström <i>et al.</i> , 1997
Oskarshamn	Sweden	Hamnefjärden Bay (Baltic Sea)	0.1	-	+10	Perch (<i>Perca fluviatilis</i>) Perch (<i>Perca fluviatilis</i>)	Sandström <i>et al.</i> , 1997
Ignalina	Lithuania	Lake Druksiai	49	8.2 (max : 33)	+10-12	Roach (<i>Rutilus rutilus</i>) Pike (<i>Esox lucius</i>)	Luksiene <i>et al.</i> , 2000
Cattenom	France	Mirgenbach Reservoir	0.95	7.7 (max : 20)	Mean : +2.5 Minimum : +0.6 Maximum : +6	Pumpkinseed (<i>Lepomis gibbosus</i>)	Dembski <i>et al.</i> , 2006

TABLE II. Evolution of the period of sexual maturity in pumpkinseed according to latitude based on the gonado-somatic index (I_G). Only the Mirgenbach site receives over-heated water. (- : data unavailable).

Site	Country	Latitude	Maturity period (maximum I_G)	Age at maturity (years)	Longevity (years)	Sex	Water temperature	References
							(°C) (annual mean / mean May-Aug)	
Guadiato River	Spain	37° N	April-August	1.4	5	Male and female	-	Gutierrez <i>et al.</i> , 2000a
Guadiato River	Spain	37° N	Late March-Early Sept	-	-	Female	-	Gutierrez <i>et al.</i> , 2000b
Kerkini Lake	Greece	41° N	June-July	2	6	Male and female	17.6 / 25.0	Neophytou and Giapis, 1994
Rhône Delta	France	43° N	May	1.8	7	Female	- / 23.9	Fox and Crivelli, 2001
Lower Danube	Rumania	44° N	June-July	2	-	Male and female	-	Papapodol and Ignat, 1967
Mirgenbach Reservoir	France	49° N	May-August	1	3	Female	17.6 / 23.3	Dembski <i>et al.</i> , 2006
Cottesmore Pond	England	51° N	June-July	3.9	5	Female	15.2 / 20.7	Copp <i>et al.</i> , 2002

HISTOLOGICAL STUDY

The ovaries (n = 162 females) were treated with Bouin-Hollande fixative then embedded in blocks of paraffin. Transversal sections, 6 µm in thickness, were cut using a microtome. The nucleo-cytoplasma was stained with Gill hematoxylin eosine. After dehydration (Roti-histol), the slide was covered with Roti-histokitt and a cover slide (Martoja and Martoja-Pierson, 1967 ; Gabe, 1968).

Histological slides were examined at G x 4 to G x 100, according to the cellular stage. For the analysis of surface distribution occupied by the various cellular stages, expressed in %, the entire section was examined. The examination of the sections was done using a Motic BA 400 microscope equipped with a trinocular head on which a Motic 2000 camera was mounted; measurements were performed using Motic Images Plus 2.0. ML software.

The stages of sexual maturity established for the pumpkinseed were based on the frequency distribution of four cellular oogenesis stages as defined by the work of Gupta (1975) for carp. Stage 1 covers germinal cells, oogonia and immature oocytes, stage 2 the pre-vitellogenic oocytes, stage 3 the oocytes beginning vitellogenesis and stage 4 oocytes completing vitellogenesis. The post-ovulatory and atresia stages were also described. The analysis of the distribution of surfaces covered by the different cellular stages resulted in the definition of six stages of sexual maturity (A to F), as observed in a sub-sample of 44 females out of the total sample of 162 females. For the 44 females, the division into age groups was 32 yearlings (Cohort 1), 10 two-year-olds (Cohort 2) and 2 three-year-old individuals (Cohort 3).

STATISTICAL ANALYSIS

The I_G data, grouped according to 6 stages of ovarian maturity (A to F) determined through histological observation, were compared. Prior to that, the variances in I_G within the 6 groups were compared, testing the null hypothesis (H_0) of equality of the variances. Since the tests performed led to the rejection of the null hypothesis (Cochran test, $p = 0.0062$; Bartlett test, $p = 0.0000$), the comparative study of I_G was performed using non-parametric tests (Kruskall-Wallis test, Mann-Whitney-Wilcoxon test). The Kruskal-Wallis test was used to compare the distribution of I_G values between the 6 groups. Two by two comparisons were made using the Mann-Whitney-Wilcoxon test in order to combine or distinguish the stages of maturity based

on the I_G data. These tests were performed using the Bonferroni adjustment in order to maintain Type I error risk under the 5% level, considering the multiplicity of comparisons ($n = 15$).

Regression analysis was performed to express the variation of I_G as a linear function of a number of explanatory variables (i.e. stage of maturity, total length, age and growth rate). The computation of a reduced model to fit the experimental data was carried out by following a backward stepwise procedure. All the calculations were performed using STATGRAPHICS Plus Software v.2.1 (STSC Inc., Rockville, MA).

RESULTS

DESCRIPTION OF OOGENESIS CELLULAR STAGES IN *LEPOMIS GIBBOSUS*

The germinal cells were small in size with a mean diameter \pm standard deviation of $11.2\mu\text{m} \pm 4.2$ ($n = 77$), presenting a voluminous nucleus (mean diameter $6.7\mu\text{m} \pm 2.4$; $n = 77$) with a central nucleolus; the cytoplasm was reduced.

Oogonia had a mean cellular diameter of $31.6\mu\text{m} \pm 9.9$ ($n = 40$) and a mean nuclear diameter of $16.8\mu\text{m} \pm 6.3$ ($n = 37$). The nucleus contained 1 to 3 nucleoli, commonly located in the center, which began to migrate to the periphery of the nucleoplasm. The nucleoli appeared large compared to the size of the cell, but their diameter, of about $3\mu\text{m}$, remained constant during oogenesis.

Immature oocytes were the largest cells, of a mean diameter of $81.6\mu\text{m} \pm 28.2$ ($n = 180$). The mean diameter of the nucleus, which occupied about $2/3$ of the cellular volume, was $47\mu\text{m} \pm 12.9$ ($n = 159$) and the nucleoli were situated at the periphery of the nucleoplasm and more numerous (5 to 11 per section). The immature oocytes were surrounded by a fine layer of follicular cells.

With the increase in cellular volume, the cytoplasm grew more than the nucleus. The pre-vitellogenic oocytes, characterized by the vacuolization of the cytoplasm (presence of small vacuoles at the periphery), had a mean cellular diameter of $160.4\mu\text{m} \pm 32$ ($n = 60$) and a mean nuclear diameter of $74.0\mu\text{m} \pm 17.6$ ($n = 60$). The structure of the nucleus did not undergo major modification after the immature stage; the nucleoli were at the periphery, but generally

more numerous (9 to 26 per section). The follicular envelope, of a mean thickness of $5.1\mu\text{m} \pm 1.4$ ($n = 19$), was developed and composed from the exterior to the interior of a theca layer, of follicular cells and of the *corona radiata*. The follicular cells were flattened with a mean length of $8.3\mu\text{m} \pm 1.6$ ($n = 13$) and a mean nuclear diameter of $5.4\mu\text{m} \pm 1.5$ ($n = 13$).

The oocytes beginning vitellogenesis had a mean cellular diameter \pm standard deviation of $326.1\mu\text{m} \pm 110.4$ ($n = 34$). The mean diameter of the nucleus was $105.8\mu\text{m} \pm 20.8$ ($n = 31$); the nucleoli were at the periphery and varied in number from 8 to 30 per section. Yolk globules invaded the vitellus vesicles first at the periphery of the cytoplasm, then grew in number and size and progressively took over the entire cytoplasm; their mean diameter was $14.0\mu\text{m} \pm 10.3$ ($n = 300$). The mean thickness of the follicular envelope was $8.3\mu\text{m} \pm 3.6$ ($n = 33$). The follicular cells were similar to those of oocytes in pre-vitellogenesis with a mean size of $8.3\mu\text{m} \pm 1.3$ ($n = 35$) and a mean nuclear diameter of $5.17\mu\text{m} \pm 1$ ($n = 35$).

The oocytes completing vitellogenesis were voluminous with a mean diameter of $696.1\mu\text{m} \pm 139.2$ ($n = 32$); the nucleus had disappeared. The yolk globules were voluminous with a mean diameter of $41.0\mu\text{m} \pm 15.7$ ($n = 117$) and occupied the entire cytoplasm. At the end of vitellogenesis, the globules fused to form the yolk platelets, becoming hyalin oocytes. The follicular envelope, with a mean thickness of $13\mu\text{m} \pm 6$ ($n = 8$) contained cubic follicular cells, and had a mean length of $10.4\mu\text{m} \pm 2.2$ ($n = 11$) and a mean nuclear diameter of $6.5\mu\text{m} \pm 1.3$ ($n = 11$).

The oocytes in pre-ovulatory atresia and post-ovulatory follicles were also observed. The oocytes in pre-ovulatory atresia were degenerating cells which lost their shape and progressively disappeared; only their flattened follicular envelope remained. The post-ovulatory follicles without oocytes after emission consisted of a follicular envelope with cubic follicular cells.

DESCRIPTION OF OVARIAN STAGES IN *LEPOMIS GIBBOSUS*

The statistical analysis from non-parametric Kruskal-Wallis test showed that the distribution of I_G values (Fig. 3) within the six stages of sexual maturity, designated from A to F, were different ($p < 10^{-4}$). The Mann-Whitney-Wilcoxon test allowed for the definition of four clusters of sexual maturity based on I_G data: (A), (B), (C) et (D,E,F). However, the p-value of the test comparing A and B ($p = 0.0018$) being clearly higher to those of other comparisons,

and taking into account the high number sampled, we decided to pool these two stages which led in the end to the distinction of just three clusters : (A,B), (C) and (D,E,F). The analysis using the Box-and-Whisker Plot method (not presented) also led to this regrouping into three clusters.

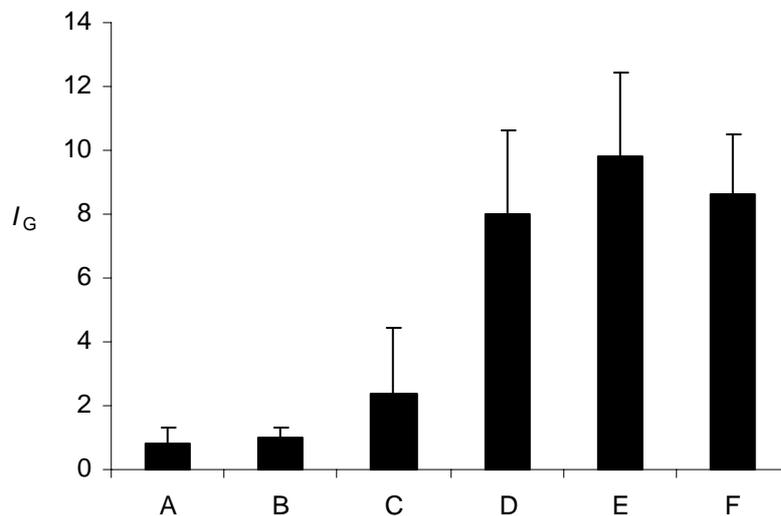


FIG. 3. Mean gonado-somatic index (I_G) at each stage of maturity (A to F). The vertical bars represent standard deviations.

Regression analysis aiming at modelling the variation of I_G as a function of the variables (stage of maturity, total length, age and growth rate), showed that the last three variables had no significant effect ($p > 0.05$) as compared to stage of maturity.

Thus, the following reduced model could be applied to the experimental data to describe the variation of I_G by means of the six stages of maturity ($p < 10^{-4}$): $I_G = 5.10 - 4.29*A - 4.11*B - 2.74*C + 2.90*D + 4.70*E + 3.54*F$ where A (resp. B, C, D, E, F) is a binary variable with values equal to 1 or 0, according to whether the stage of maturity considered is A (resp. B, C, D, E, F) or not.

Note that the variable stage of maturity accounts for more than 76% of the total variance in I_G ($r^2 = 0.7641$). This indicates a strong link between I_G and maturity, consequently a high prediction potential of the above-mentioned model to estimate I_G from the stage of maturity alone.

Furthermore, the information corresponding to each stage of maturity is summarized in Table III, which shows the distribution of the four categories of sexual cells in terms of their respective areas, regarding the total area examined.

Both the observed and calculated values of I_G are also mentioned in Table III. The comparison of the last two columns points to the good fit of the adjusted I_G model and its ability to predict new I_G values.

TABLE III. Distribution of sexual cells and gonado-somatic index (I_G) (observed and calculated) for each stage of maturity (n: number of individuals).

Stage of maturity	n	Sexual surface cells / total surface (%)				Ovarian lumen / total surface (%)	Mean I_G observed (%)	Mean I_G estimated (%)	
		Stage 1	Stage 2	Stage 3	Stage 4			[95% confidence interval]	
		1	2	3	4				
A	9	94	0	0	0	5	0.78	0.81	[0.09-1.53]
B	14	90	8	0	0	2	0.99	0.99	[0.40-1.58]
C	5	54	15	22	0	9	2.36	2.36	[1.78-2.94]
D	12	4	5	42	24	25	8.00	8.00	[7.47-8.54]
E	2	3	17	18	45	18	9.81	9.80	[8.16-11.45]
F	2	5	6	25	18	46	8.65	8.64	[7.00-10.30]

Stage A was the immature stage or quiescence stage characterized by the presence of sexual cells in stage 1 with or without ovarian lumen (Fig. 4). Stage B corresponded to the presence of sexual cells as described in stage A, with the addition of cells from stage 2, with or without ovarian lumen. These two maturity stages were observed for 23 individuals in January, March, April, May and June.

Stage C was defined by the presence of sexual cells belonging to stage B with the appearance of cells in stage 3. This stage of sexual maturity was observed for 5 individuals during the months of April and May.

Stages D, E and F corresponded to the presence of sexual cells from stage C with the appearance of cells from stage 4. Stage E varied with the presence of follicles in the ovarian lumen and stage F by the presence of empty, torn follicular envelopes, corresponding to the discharge of the oocyte. These three stages of maturity were observed for 16 individuals in the months of May, June and July.

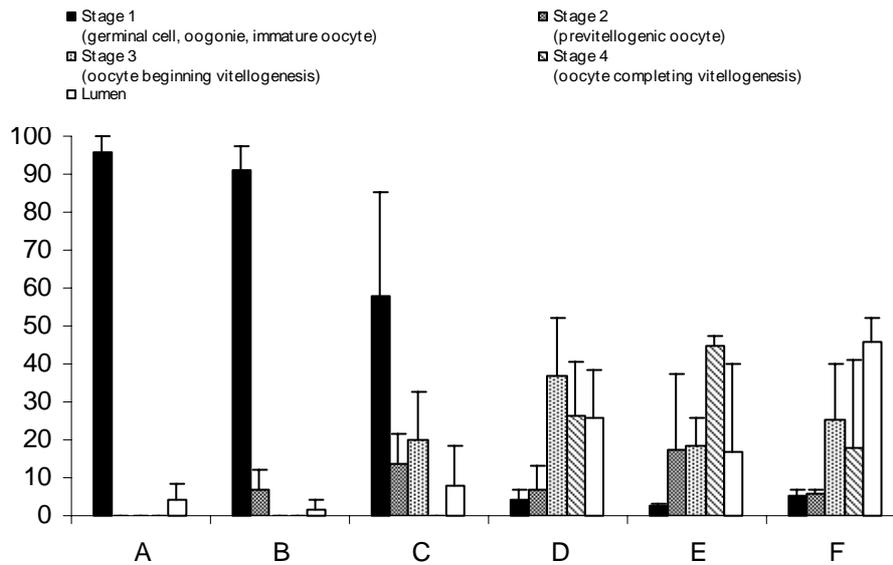


FIG. 4. Surface distribution (%) of each cellular type (1 to 4) in each stage of maturity (A to F). The vertical bars represent standard deviations.

SEASONAL EVOLUTION IN OVARIAN DEVELOPMENT

In considering ovary development, four classes of degree days (DD) were identified: [250 ; 1000[, [1000 ; 1750[, [1750 ; 2500[, [2500 ; + ∞[(Fig. 5).

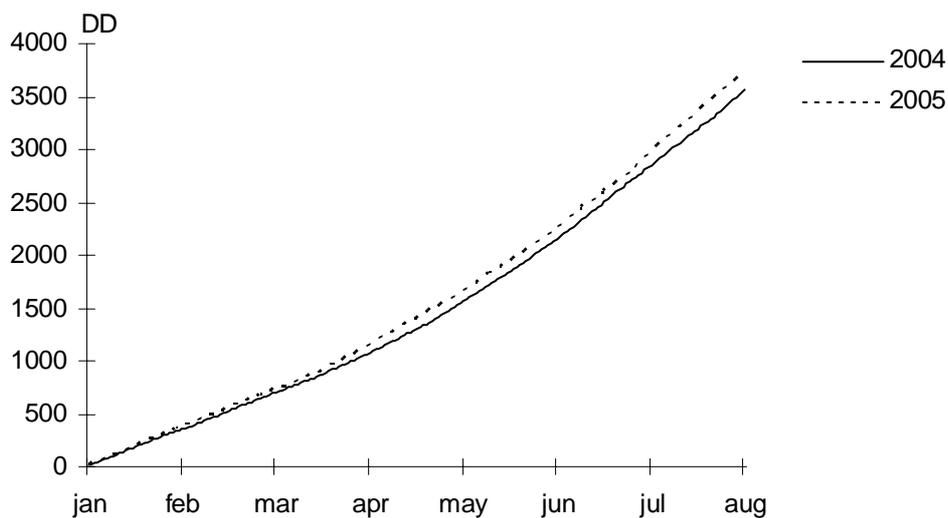


FIG. 5. Degree days (DD) in the Mirgenbach Reservoir in 2004 and 2005 from January to August.

Seasonal maturation was understood from the stages of maturity (Fig. 6) and I_G (Fig. 7). This study was performed by discriminating two age groups: cohort 1 ($n = 125$) and cohorts 2 and 3 ($n = 37$).

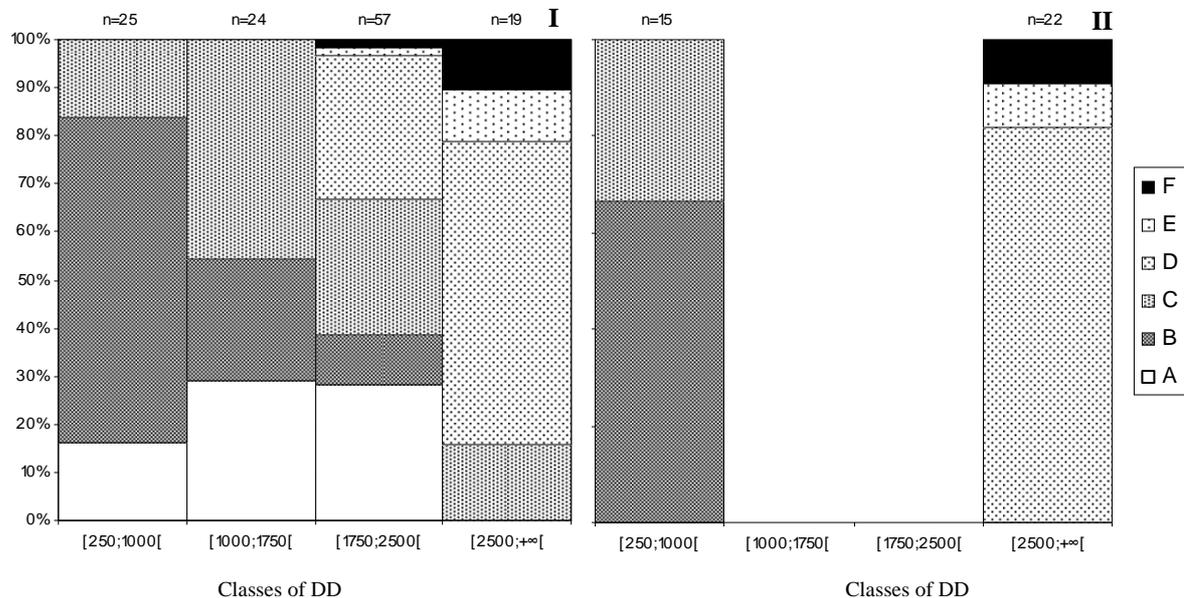


FIG. 6. Stages of sexual maturity (A to F) according to degree days (DD) in the Mirgenbach (I : Cohort 1 ; II : Cohorts 2 et 3) (n: number of individuals).

From 250 to 1000 DD, the individuals measured from 55 to 119 mm and the I_G values were inferior to 2. For cohort 1, 16% of the individuals were at stage A of sexual maturity, 68% at stage B, and 16% at stage C. For cohorts 2 and 3, the individuals at stage A were absent. Individuals at stage B represented 67% and the individuals at stage C, 33%.

From 1000 to 1750 DD, only cohort 1 was sampled, with a range in size varying between 35 and 90 mm; 29% of the individuals were at stage A, 25% at stage B, and 46% at stage C. For stages A and B ($35 < L_T < 80$ mm), 84.6% of the individuals had a I_G inferior to 2 compared to 72.7% at stage C ($40 < L_T < 90$ mm). Two individuals at stage A had I_G of 2.42 ($L_T = 35$ mm) and 2.40 ($L_T = 80$ mm), and two individuals at stage C had I_G of 2.77 ($L_T = 40$ mm) and 2.67 ($L_T = 82$ mm).

From 1750 to 2500 DD, the sole representative of age group 3 (not shown in Fig. 6) measured 145mm and belonged to stage C ; its I_G exceeded 8. The other individuals measured from 47 to 123 mm and belonged to age group 1 ; 28% of the individuals were at stage A, 10% at stage B, 28% at stage C, 30% at stage D, 2% at stage E and 2% at stage F. Their I_G values

were heterogeneous, varying from 0.2 to 15. The weakest values, inferior to 2, were observed among individuals at maturity stages A to C ($47 < L_T < 83$ mm). The intermediate I_G values, between 2 and 8, concerned individuals at stages C and D ($72 < L_T < 123$ mm). The highest I_G , superior to 8, corresponded to individuals at stages C to F ($81.5 < L_T < 103.5$ mm). At stage C, 68.8% of the individuals had a I_G inferior to 2 ; 100% of the individuals at the most evolved stages of maturity had a I_G superior to 2. For stages A and B, maximum I_G was 1.28 while individuals which had begun vitellogenesis (Stage C) had a maximum I_G of 9.13. Individuals at stages D, E and F had a minimum I_G of 3.19 and a maximum of 15.32.

Beyond 2500 DD, the individuals measured from 70 to 145 mm and the I_G values were above 2 (with a sole exception) reaching a maximal value of 14. Stages A and B were absent for cohort 1, 16% of the individuals were at stage C, 63% at stage D, 10.5% at stage E and 10.5% at stage F. For cohorts 2 and 3, stage C was absent and individuals at stage D (82%) dominated stages E (9%) and F (9%).

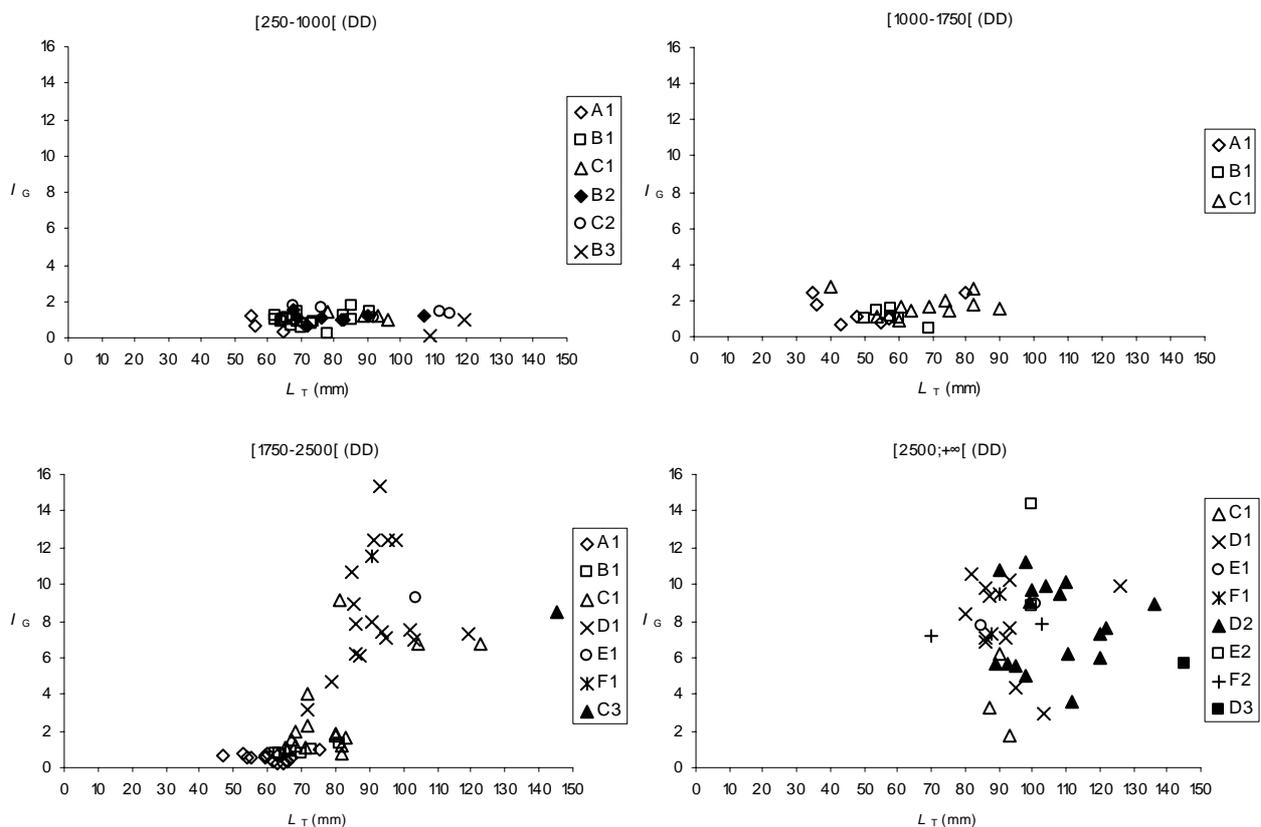


FIG. 7. Gonado-somatic index (I_G) of females according to total length (L_T), degree days (DD) and stage of maturity (A to F). In the legend, the numbers accompanying the stages correspond to the age class of the individuals.

DISCUSSION

Histological studies on fish reproduction have primarily focused on the description of different stages in the development of sexual cells (Stahl and Leray, 1961 ; Fontana, 1969 ; Gupta, 1975 ; Wallace and Selman, 1981 ; De Moussac, 1986 ; Deniel *et al.*, 1989 ; Le Duff *et al.*, 1996 ; Gaamour, 1999 ; Carrasson and Bau, 2003). Determining the state of sexual maturity is linked to these cellular stages, but according to variable criteria; for example, Beelen *et al.* (1998) determined the stage of maturity of individuals based on the most evolved sexual cells present. In the current study, six ovarian stages of sexual maturation (A to F) were defined according to the cellular types presents and the relative surface they occupied in the histological section. No other work taking ovarian histology into consideration has been identified in the literature on pumpkinseed. Our comparison of results for the same species is restricted to an analysis of the I_G so the character discrimination, or lack of it, in terms of maturation and sexual maturation, must be kept in mind.

HISTOLOGICAL DESCRIPTION OF SEXUAL MATURITY

The oogonia and the immature oocytes (Stage 1) were present at each stage of maturation and evolve towards the more mature cells during oogenesis. At the most evolved stages of maturity (D to F), the oogonia and the immature oocytes were always present but occupy a very small surface; these cells consisted of a general reserve stock providing mature cells for spawning later in the same reproductive year, as pumpkinseed is a batch spawner, or during the following reproductive year (Fontana, 1969).

Ovarian sexual development is strongly linked to the vitellogenesis process. Individuals showing pre-vitellogenic oocytes are at a less developed stage of sexual development than those with vitellogenic oocytes which have entered the sexual maturation phase (Kjesbu, 1994 ; Garcia-Diaz *et al.*, 1997 ; Maddock and Burton, 1999 ; Micale *et al.*, 1999). In addition, potential fecundity is often linked to the stock of oocytes in vitellogenesis (Murua *et al.*, 2003 ; Thorsen *et al.*, 2006).

The vitellogenic oocytes which appeared during the first stages of oogenesis remained present until spawning (Stages C to F). Stage C of maturity was an intermediate stage. Some females exhibited a low surface occupied by cells beginning vitellogenesis with an elevated relative

surface occupied by oogonia and immature oocytes, while in other females, to the contrary, the oocytes beginning vitellogenesis represented a more elevated relative surface.

Stages D, E and F indicated the period of reproduction, preceding or confirming gamete emission. The presence of hyalin oocytes (oocytes which had yolk platelets and which had undergone pre-ovulatory hydration) at stages D and E indicates immanent emission (West, 1990). The presence of post-ovulatory follicles at stage F, without oocytes, indicates that emission has taken place (Maddock and Burton, 1999). Another indicator of oocyte emission was the increase in the surface occupied by ovarian lumen of stages D to F. During stages D, E and F, all the cellular stages (Stages 1 to 4) were present which means that the development of sexual cells inside the gonad was asynchronous. In addition, the presence of stage F at different classes of degree days indicated that reproduction occurs in batches.

Entering vitellogenesis (Stage C), individuals showed highly variable I_G values ranging from 0.7 (value observed for sexually dormant or immature individuals) to 9.1 (value observed for individuals during reproduction).

Beyond 1750 DD, all individuals measuring more than 90 mm were adults, as well as the majority of females measuring 80 to 90 mm. Strong individual growth during the first year tends to decline thereafter in the Mirgenbach Reservoir (Dembski *et al.*, 2006); allocating less energy to growth, individuals can invest earlier in sexual maturation. The weakest I_G were observed among the small individuals in cohort 1 (50 to 80 mm) between 1750 and 2500 DD (May to mid-June). Beyond 2500 DD, the fish measured more than 70 mm and were all adults. This flaw of capturing small, immature fish who were one winter old in this last phase probably was not due to a defect in sampling or capture; the capture equipment was adapted to prospecting in different areas of the reservoir and allowed for the earlier study of reproduction and spatial occupation by young of the year (Dembski *et al.*, 2006, 2008). No mortality was observed regardless of the stage under consideration. Therefore, the hypothesis of an increase in growth between the two phases can be suggested. The young individuals which did not reach the threshold of maturity before 2500 DD, may have deferred their sexual maturation by investing their energy in somatic growth first. A specific study of somatic growth and the reproduction effort during the sexual maturation phase should be envisioned to reinforce the hypothesis of a strategy which is the reverse of that of males. The smallest males opt for a strategy of male cuckoldry (Dembski *et al.*, 2006).

Apart from I_G values, Dembski *et al.* (2006) have shown, following the method of Fox and Crivelli (2001), that the age of maturity of pumpkinseed collected from 2002 to 2003 in the Mirgenbach Reservoir, in the context of a heated environment, is one year old. The

histological observations of pumpkinseed picked up in 2004 and 2005 confirmed this age at maturity, with the first emission of gametes observed in May, and showed that the start of sexual maturation, corresponding to the beginning to vitellogenesis, begun in 9-month-old individuals. The investment in sexual maturity and reproduction was therefore precocious and took place parallel to growth. Nonetheless, this represents a significant energy allowance for the adults of the year, which seems to be related to a longevity of 3 years (Dembski *et al.*, 2006), the lowest in Europe. At other sites in Europe which are not over-heated, longevity spans from 4 to 8 years (Braband and Saltveit, 1989; Vila-Gispert and Moreno-Amich, 2000; Fox and Crivelli, 2001; Copp *et al.*, 2002), but sexual maturity occurs later, ranging from 1.3 years in the Ligagneau Canal in France, latitude 43°N (Fox and Crivelli, 2001) to 3.9 years in Cottesmore Pond in England, latitude 51°N (Coop *et al.*, 2002).

In various studies of pumpkinseed reproduction, the period of sexual maturity is defined according to I_G values. In the Mirgenbach Reservoir, Dembski *et al.* (2006) presented the hypothesis that individual females with a I_G inferior to 2 were immature and that they reproduced in summer for I_G superior to 4. Referring to histological observations, individuals with a weak I_G ($1.10 < I_G < 1.70$) which began sexual maturation in March, above 800 DD, ended up as mature individuals.

LATITUDINAL VARIATIONS IN SEXUAL MATURITY

Gutierrez-Estrada *et al.* (2000a, 2000b) have used I_G to demonstrate that females in the Guadiato River at 37°N were mature at the end of March. Sexual maturity occurred later at higher latitudes. It took place in May in the South of France (Rhône Delta, 43°N) (Fox and Crivelli, 2001), and in June in Lake Kerkini in Greece at 41°N (Neophytou and Giapis, 1994), in the Danube in Roumania at 44°N (Papadopol and Ignat, 1967) and in the Cottesmore Pond in the south of England at 51°N (Copp *et al.*, 2002). In the case of the Mirgenbach Reservoir in France (49°N), based on the I_G , individuals were mature in May, a month later than individuals found at 37°N, at the same time as the populations of the Rhône Delta and a month sooner than the other populations studied at 41, 44 et 51°N. The lack of certain histological information from these European sites does not allow for a more detailed analysis in comparison to our microscopic observation of ovaries.

EFFECT OF TEMPERATURE ON OOGENESIS

The Mirgenbach Reservoir contains water which has been heated compared to the surrounding natural environment (Moselle River). It appears that the precocious onset of sexual maturation in pumpkinseed is linked primarily to this elevation in temperature, though other parameters including photoperiod and food supply also influence reproduction (Gillet *et al.*, 1978; Davies and Hanyu, 1986; Beelen, 1998; Koger *et al.*, 1999; Garvey and Marschall, 2003; Migaud *et al.*, 2003; Yoneda and Wright, 2005).

The heating of the water in the Mirgenbach Reservoir, essentially in winter and spring, affected the first stages of oogenesis in pumpkinseed in particular, notably at the start of vitellogenesis, which induced a precocity in sexual maturation. However, according to Van Der Kraak and Pankhurst (1996), an abnormal variation in temperature, especially heating of water, affects the mature oocytes and ovulation in particular, and to a lesser degree, vitellogenesis.

Such seasonal precocity in sexual maturation is observed at sites receiving heated water from nuclear plants (the Oskarshamn and Forsmark plants in Sweden and the Ignalina plant in Lithuania) for perch and roach (Luksiene and Sandström, 1994; Sandström *et al.*, 1997; Luksiene *et al.*, 1999). Nevertheless, abnormalities are observed, including oocyte degeneration, significant pre-ovulatory atresia, oocytes with multiple nuclei, and cases of hermaphroditism; these result in a reduction in the quantity of ripe oocytes emitted and hence, fecundity. In addition, synchronous development in roach become asynchronous. In the Mirgenbach Reservoir, with the exception of a single case of hermaphroditism (out of 162 observations), the negative effects of an elevation in temperature on oogenesis were not observed for pumpkinseed. A thermophile species, whose onset of sexual maturation is detected at the end of Winter, pumpkinseed exhibited asynchronous development and batch spawning. Therefore, this species is favoured over mesotherm species which begin maturing in the Fall and reproduce in the Spring (Masson *et al.*, 2008, accepted).

Pumpkinseed demonstrate invasive phenomena and proliferate in the south and the center of Europe (Villeneuve *et al.*, 2005). Within a global warming context, the pumpkinseed model in the Mirgenbach Reservoir illustrates, through both the proliferation and conditions of development of young (Dembski *et al.*, 2008) and the ovarian development presented in this study, the demographic response of populations exposed to over-heated waters. Prospectively,

histological studies of male gonads in pumpkinseed in the Mirgenbach Reservoir will be realized and sexual maturity, based on I_G variations, will be compared with local populations not subjected to over-heated water.

Acknowledgments

This study was undertaken with support from the ANRT (CIFRE grant) and NANCIE-Centre International de l'Eau. We would like to thank the Cattenom CNPE-EDF for its support and access to its site, as well as the ONEMA-DR3 for help with electronic fishing.

References

- Bagliniere, J.L. & H. Le Louarn (1987) Scale characteristics of the main fresh-water fish species. In: *France. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* **306**, 2-39.
- Baras, E. & Philippart, J. C. (1999). Adaptive and evolutionary significance of a reproductive thermal threshold in *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology* **55**, 354–375.
- Beelen, R., Rinchar, J., Kestemont, P., Micha, J. C. & Mendes Guimarães, P. (1998). Etude comparative de la stratégie de reproduction du gardon (*Rutilus rutilus* L.) et de goujon (*Gobio gobio* L.) sous des conditions thermiques contrôlées : Relation entre la température et l'ovogenèse. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo* **25**, 31–43.
- Billard, R., Bry, C. & Gillet, C. (1981). Stress, environment and reproduction in teleost fish. In : *Stress and fish* (Pickering A.D., eds), pp. 185–208. London: Academic Press.
- Braband, A. & Saltveit, S. J. (1989). Ecological aspects of the fish fauna in three Portuguese reservoirs. *Archiv für Hydrobiologie* **114**, 575–589.
- Burroughs, W. J. (2001). *Climate Change: A Multidisciplinary Approach*. Cambridge University Press.
- Carrasson, M. & Bau, M. (2003). Reproduction and gonad histology of *Aidablennius sphinx* (Pisces: Blenniidae) of the Catalan Sea (northwestern Mediterranean). *Scientia Marina* **67**, 461–469.
- Copp, G. H. & Fox, M. G. (2007). Growth and life history traits of introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in Europe, and the relevance to its potential invasiveness. In:

- Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats* (Springer Netherlands, eds), pp. 289–306.
- Copp, G. H., Fox, M. G. & Kovac, V. (2002). Growth, morphology and life history traits of a cool-water European population of pumpkinseed *Lepomis gibbosus*. *Archiv für Hydrobiologie* **155**, 585–614.
- Davies, P. R. & Hanyu, I. (1986). Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. I: Under conditions of high temperature. *Aquaculture* **51**, 277–288.
- De Moussac, G. (1986). Mise en évidence de l’hermaphrodisme protogyne d’*Epinephelus chlorostigma* (Valenciennes, 1828) aux Seychelles (Pisces, Serranidae). *Cybium* **10**, 249–262.
- Dembski, S., Masson, D., Wagner, P. & Pihan, J. C. (2008). Habitat Use by YOY in the Littoral Zone of an Artificially Heated Reservoir. *International Review of Hydrobiology* **93**, 243–255.
- Dembski, S., Masson, G., Monnier, D., Wagner, P. & Pihan, J. C. (2006). Consequences of elevated temperatures on life-history traits of an introduced fish, pumpkinseed *Lepomis gibbosus*. *Journal of Fish Biology* **69**, 331–346.
- Deniel, C., Leblanc, C. & Rodriguez, A. (1989). Comparative study of sexual cycle, oogenesis, spawning of two soleïdea *Solea lascaris* (Risso 1810) and *Solea impar* (Bennet 1831) on the Western coast of Brittany. *Journal of Fish Biology* **35**, 49–58.
- Fontana, A. (1969). Etude de la maturité sexuelle des sardinelles *Sardinella eba* (Val) et *Sardinella aurita* C. et V. de la région de Pointe-Noire. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Océanographie*, vol. VII, no 2.
- Fox, M. G. & Crivelli, A. J. (2001). Life history traits of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) populations introduced into warm thermal environments. *Archiv für Hydrobiologie* **150**, 561–580.
- Gaamour, A. (1999). La sardinelle ronde (*Sardinella aurita* Valenciennes, 1847) dans les eaux tunisiennes : Reproduction, croissance et pêche dans la région du Cap Bon. *Thèse de doctorat de l’université de Bretagne occidentale*.
- Gabe, M. (1968). *Techniques histologiques* (Masson eds). Paris.
- Garcia-Diaz, M. M., Tuset, V. M., Gonzalez, J. A. & Socorro, J. (1997). Sex and reproductive aspects in *Serranus cabrilla* (Osteichthyes: Serranidae): macroscopic and histological approaches. *Marine Biology* **127**, 379–386

- Garvey, J. E. & Marschall, E. A. (2003). Understanding latitudinal trends in fish body size through models of optimal seasonal energy allocation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **60**, 938–948.
- Gillet, C. & Quélin, P. (2006). Effect of temperature changes on the reproductive cycle of roach in Lake Geneva from 1983 to 2001. *Journal of Fish Biology* **69**, 518–534.
- Gillet, C., Breton, B. & Billard, R. (1978). Seasonal effects of exposure to temperature and photoperiod regimes on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish (*Carassius auratus*). *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique* **18**, 1045–1049.
- Gupta, S. (1975). The development of carp gonads in warm water aquaria. *Journal of Fish Biology* **7**, 775–782.
- Gutiérrez-Estrada, J. C., Pulido-Calvo, I. & Fernandez-Delgado, C. (2000a). Age-structure, growth and reproduction of the introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosa*, L. 1758) in a tributary of the Guadalquivir River. *Limnetica* **19**, 21–29.
- Gutiérrez-Estrada, J. C., Pulido-Calvo, I. & Prenda, J. (2000b). Gonadosomatic index estimates of an introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) population in a Mediterranean stream, using computational neural network. *Aquatic Sciences* **62**, 350–363.
- Kjesbu, O. S. (1994). Time of start of spawning in Atlantic cod (*Gadus morhua*) females in relation to vitellogenic oocyte diameter, temperature, fish length and condition. *Journal of Fish Biology* **45**, 719–735.
- Koger, C. S., Teh, S. J. & Hinton, D. E. (1999). Variations of light and temperature regime and resulting effects on reproductive parameters in Medaka (*Oryzias latipes*). *Biology of Reproduction* **61**, 1287–1293.
- Lappalainen, J. & Tarkan, A. S. (2007). Latitudinal gradients in onset date, onset temperature and duration of spawning of roach. *Journal of Fish Biology* **70**, 441–450.
- Lappalainen, J., Dörner, H. & Wysujack, K. (2003). Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)): a review. *Ecology of Freshwater Fish* **12**, 95–106.
- Le Duff, M., Quiniou, L. & Deniel C. (1996). Cinétique de l'ovogenèse et stratégie de ponte chez la limande, *Limanda limanda*, en mer d'Iroise et en Manche orientale. *Aquatic Living Resources* **9**, 249–256.
- Lowe-McConnell, R. H. (1987). *Ecological Studies in Tropical Fish Communities*. New York: Cambridge University Press, 382 p.
- Luksiene, D. & Sandström, O. (1994). Reproductive disturbance in a roach (*Rutilus rutilus*) population affected by cooling water discharge. *Journal of Fish Biology* **45**, 613–625.

- Luksiene, D., Sandström, O., Lounasheimo, L. & Andersson, J. (2000). The effects of thermal effluent exposure on the gametogenesis of female fish. *Journal of Fish Biology* **56**, 37–50.
- Maddock, D. M. & Burton, M. P. M. (1999). Gross and histological observations of ovarian development and related condition changes in American plaice. *Journal of Fish Biology* **53**, 928–944.
- Martoja, R. & Martoja-Pierson, M. (1967). *Initiation aux techniques de l'histologie animale* (Masson eds). Paris.
- Masson, G., Dembski, S., Wagner, P., Staffolani, F., Valente, E., Maazouzi, C., Banas, D. & Pihan J. C. Les populations de poissons dans le réservoir du Mirgenbach (Cattenom, France) : un modèle pour l'étude des effets d'un changement thermique global ? *Hydroécologie Appliquée* (in press)
- Meffe, G.K. (1992). Plasticity of life-history characters in Eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae) in response to thermal stress. *Copeia* **1**, 94–102.
- Micale, V., Maricchiolo, G. & Genovese, L. (1999). The reproductive biology of the amberjack, *Seriola dumerilii* (Risso 1810). I: Oocyte development in captivity. *Aquaculture Research* **30**, 349–355.
- Migaud, H., Mandiki, R., Gardeur, J.N., Kestemont, P., Bromage, N. & Fontaine, P. (2003). Influence of photoperiod regimes on the Eurasian perch gonadogenesis and spawning. *Fish Physiology and Biochemistry* **28**, 395–397.
- Murua, H., Kraus, G., Saborido-Rey, F., Witthames, P. R., Thorsen, A. & Jonquera, S. (2003). Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* **33**, 33–54.
- Neophytou, C. & Giapis, A. J. (1994). A study of the biology of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus* (L.) in Lake Kerkini (Greece). *Journal of Applied Ichthyology* **10**, 123–133.
- Papapodol, M. & Ignat G. H. (1967). Contribution to the study of the reproduction biology and growth of the American sun-fish (*Lepomis gibbosus* (L.)) in the Lower Danube (flooded zone). *Bul. Inst. Cerc. Project. Pisc.* **26**, 55–68.
- Pertoldi (C.), Bach (L.A.) 2007. Evolutionary aspects of climate-induced changes and the need for multidisciplinary. *Journal of Thermal Biology* **32**, 118-124.
- Regier, H.A. (1962) Validation of the scale method for estimating age and growth of bluegills. *Transactions of the American Fisheries Society* **91**, 362–374.

- Sandström, O., Abrahamsson, I., Andersson, J. & Vetemaa, M. (1997). Temperature effects on spawning and egg development in Eurasian perch. *Journal of Fish Biology* **51**, 1015–1024.
- Scott, W. B. & Crossman, E. J. (1973). Freshwater fishes of Canada. Bulletin 184, *Fisheries Research Board of Canada*, Ottawa, 730 p.
- Stahl, A. & Leray, C. (1961). L'ovogenèse chez les poissons téléostéens. *Archives d'Anatomie Microscopiques* **50**, 251–267.
- Tarkan, A. S. 2006. Reproductive ecology of two cyprinid fishes in an oligotrophic lake near the southern limits of their distribution range. *Ecology of Freshwater Fish* **15**, 131–138.
- Thorsen, A., Marshall, C. T. & Kjesbu, O. S. (2006). Comparison of various potential fecundity models for north-east Arctic cod *Gadus morhua*, L. using oocyte diameter as a standardizing factor. *Journal of Fish Biology* **69**, 1709–1730.
- Van Der Kraak, G. & Pankhurst, N. W. (1996). Temperature effects of the reproductive performance of fish. In *Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish* (McDonald, G. & Wood, C. M., eds), pp. 159–176. Cambridge: Cambridge University Press.
- Vein, D., Gigueux, M., Flesch, A., Pierre, J. F., Marzou, R. & Pihan, J. C. (1990). Trophic evolution of a reservoir with overheated waters: nuclear power station at Cattenom, Moselle, eastern France. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology* **27**, 87–98.
- Vila-Gispert, A. & Moreno-Amich, R. (2000). Fecundity and spawning mode of three introduced fish species in Lake Banyoles (Catalunya, Spain) in comparison with other localities. *Aquatic Sciences* **62**, 154–166.
- Villeneuve, F., Copp, G. H., Fox, M. G. & Stakenas, S. (2005). Interpopulation variation in growth and life-history traits of the introduced sunfish, pumpkinseed *Lepomis gibbosus gibbosus*, in southern England. *Journal of Applied Ichthyology* **21**, 275–281.
- Vinot, I. & Pihan, J.C. (2005) Circulation of copper in the biotic compartments of a freshwater dammed reservoir. *Environmental pollution* **133**, 169-182.
- Vooren, C.M. (1972). Ecological aspects of the introduction of fish species into natural habitats in Europe, with special reference to the Netherlands; a literature survey. *Journal of Fish Biology* **4**, 565–583.
- Wallace, R. & Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist* **21**, 325–343.

- West, G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Resources* **41**, 199–222.
- Wood (C.M.) & McDonald (D.G.) 1997. *Global warming: implications for freshwater and marine fish*. Society for Experimental Biology. Seminar series 61. Cambridge University Press. 629 p.
- Yoneda, M. & Wright, P. J. (2005). Effects of varying temperature and food availability on growth and reproduction in first-time spawning female Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* **67**, 1225–1241.

Chapitre II : Etude, en milieu échauffé, de la spermatogenèse chez *Lepomis gibbosus* et définition des profils de maturité gonadique

II.1. Organisation testiculaire, compartiment germinal et interstitiel

Chez la perche soleil, les testicules sont organisés en lobules de types ‘non structurés’ ou ‘unrestricted’ décrits par Grier (1993), cas le plus fréquemment rencontré chez les téléostéens (Planche IXA). Chaque lobule est constitué d’un épithélium germinal et présente une lumière qui permettra l’évacuation des spermatozoïdes vers le canal efférent. Les cellules sexuelles sont organisées en cystes (seules les spermatogonies avant multiplication mitotique sont isolées), entourés d’une enveloppe constituée de cellules de Sertoli (Planche IXB). Les lobules sont délimités par une membrane basale acellulaire et séparés par un épithélium interstitiel, où sont observés des îlots de cellules de Leydig à fonction endocrine.

La spermatogenèse, qui se déroule à l’intérieur de cystes, se résume à une succession de cellules sexuelles obtenues après division cellulaire : spermatogonies, spermatocytes I, spermatocytes II, spermatides et spermatozoïdes (Planche XA,B,C&D). Les spermatogonies sont issues de cellules germinales primordiales lors de la phase de différenciation sexuelle. Un stock résiduel de cellules indifférenciées subsiste au cours de la maturation sexuelle et perdure jusqu’à la prochaine phase de quiescence. Les caractéristiques des cellules sexuelles différenciées, ainsi que le mode de division cellulaire impliqué, sont décrits dans le tableau X.

Tableau X : Description des types cellulaires de la spermatogenèse chez *Lepomis gibbosus* et mode de division cellulaire impliqué.

Type cellulaire	Diamètre nucléaire (µm)	Nombre par cyste	Division cellulaire	Degré de ploïdie	
Spermatogonies	8-12	2-4	Mitose	2n	
Spermatocytes I	5-6	4-28	Méiose	1ère division réductionnelle	2n
Spermatocytes II	3-4	48-55		2ème division équationnelle	n
Spermatides	2	90-105		n	
Spermatozoïdes	1-2			n	

Planche IX : Organisation testiculaire chez la perche soleil

C.e. : Canal efférent ; Cyst. : Cyste ; Ley. : Cellule de Leydig ; Lb. : Lobule ; L.l. : Lumière lobulaire ; Mb.l : Membrane basale du lobule ; Sert. : Cellule de Sertoli ; Spz. : Spermatozoïde.

A. Coupe transversale de testicule

Le testicule est organisé en lobules ‘non structurés’. Tous les types de cellules sexuelles sont présents le long du lobule. Les spermatozoïdes se concentrent au niveau de la lumière du lobule avant de rejoindre le canal efférent pour être émis.

Caractéristiques biologiques de l’individu :

Date de capture : 12/07/05

L_T : 98 mm

IGS : 1,65

Nombre d’hiver : 1

Stade : FFG

B. Organisation d’un lobule en coupe longitudinale

Le lobule est délimité par une membrane basale et en son centre se situe la lumière lobulaire. Il est organisé en cystes à l’intérieur desquels toutes les cellules sexuelles sont au même niveau de différenciation. Chaque cyste est entouré d’une enveloppe constituée de cellules de Sertoli. Les cellules de Leydig, à fonction endocrine, se situent dans l’espace interstitiel, entre deux lobules.

Caractéristiques biologiques de l’individu :

Date de capture : 08/03/05

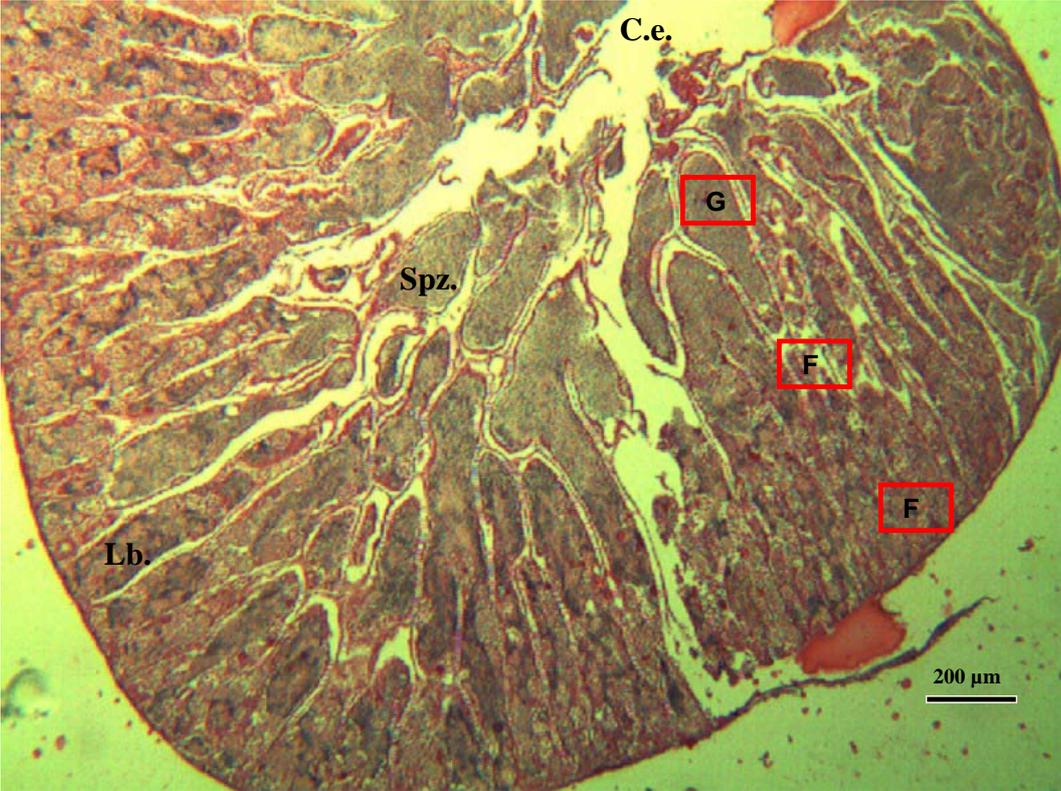
L_T : 132 mm

IGS : 0,39

Nombre d’hiver : 2

Stade : FFF

Planche IX



Planches X et X suite : Vue détaillée des cellules sexuelles de la spermatogenèse et du compartiment interstitiel (coupes transversales)

Cgp. : Cellule germinale primordiale ; Fl. : Flagelle ; Ley. : Cellule de Leydig ; L.l.: Lumière lobulaire ; Mb.l. : Membrane basale du lobule ; Spg. : Spermatogonie ; Spcy. : Spermatoocyte ; Spd. : Spermatoide ; Spz. : Spermatozoïde.

A. Coupe longitudinale d'un lobule

Dans cette section il y a présence de cystes de trois à quatre spermatogonies, entourés par les cellules de Sertoli. Il y a simultanément, dans un même lobule, multiplication goniale et réalisation de la méiose avec constitution de cystes de spermatoocytes I (2n) et II (n). Dans un même ciste, il y a présence de figures synchrones de 2^{ème} division méiotique équationnelle (cercle rouge).

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 08/03/05

L_T : 132 mm

IGS : 0,39

Nombre d'hiver : 2

Stade : FFF

B. Coupes longitudinale et transversale de lobules présentant un stade de maturité avancé

Les cellules germinales primordiales, à l'origine des spermatogonies, sont visibles. Elles constituent un stock de cellules indifférenciées qui sera présent jusqu'à la prochaine phase de quiescence. Des cellules de Leydig sont présentes dans l'espace interstitiel, entre les deux membranes basales des lobules.

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 25/05/04

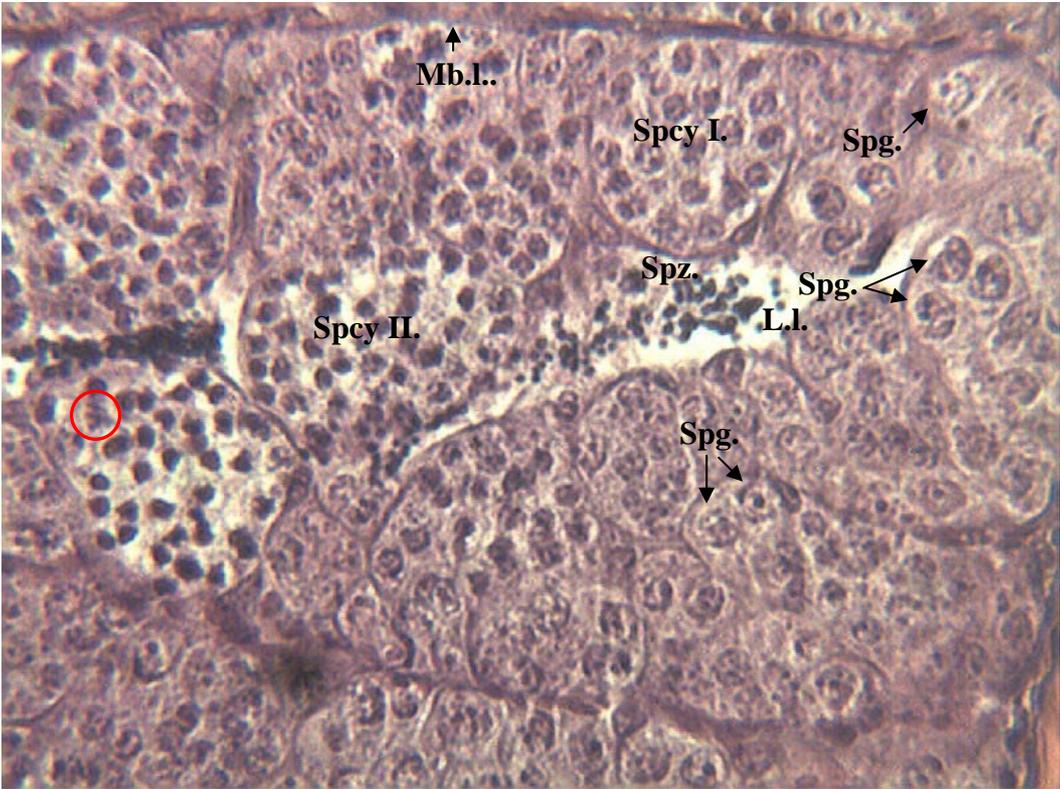
L_T : 40,5 mm

IGS : 6,63

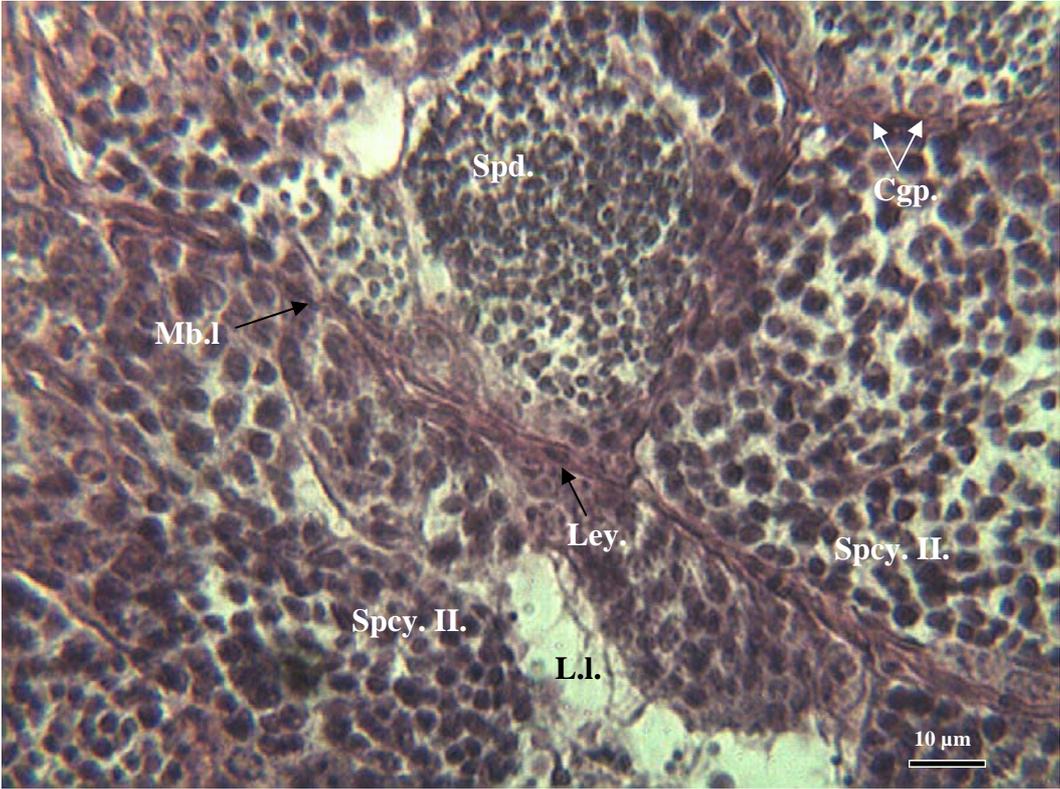
Nombre d'hiver : 1

Stade : FFF

Planches X



A.



B.

Planches X (Suite)

C. Coupe longitudinale d'un lobule

Les spermatocytes I et II, et particulièrement les spermatides sont visibles à l'intérieur des cystes. La spermiogenèse a eu lieu et des spermatozoïdes sont présents dans la lumière du lobule.

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 26/05/04

L_T : 69 mm

IGS : 3,94

Nombre d'hiver : 1

Stade : FFG

D. Coupe longitudinale d'un lobule

Les cellules de Leydig sont visibles dans l'espace interstitiel et l'on peut distinguer les faisceaux des flagelles des spermatozoïdes encore groupés.

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 26/05/04

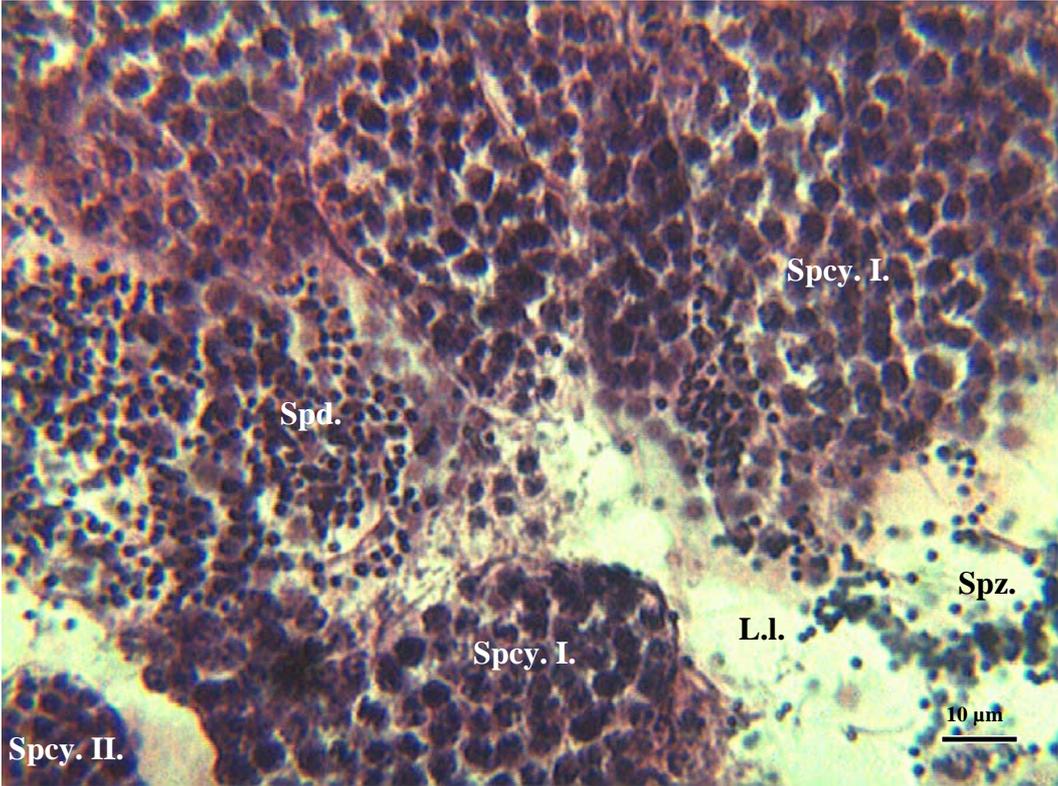
L_T : 69 mm

IGS : 3,94

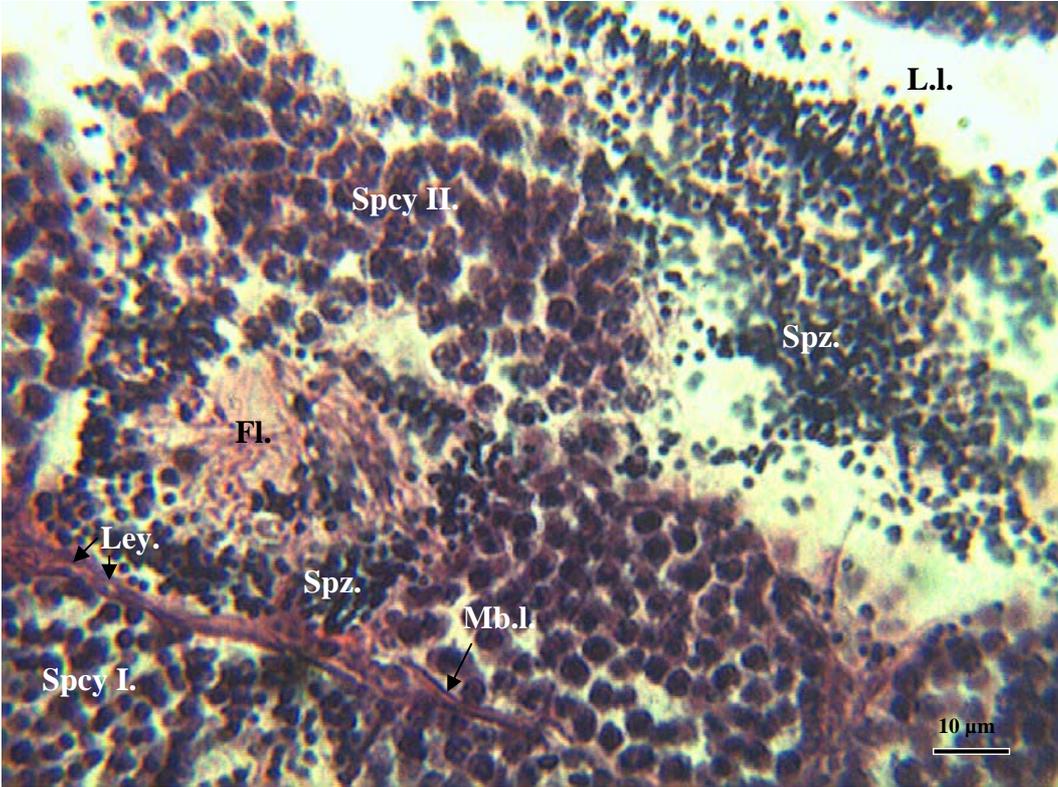
Nombre d'hiver : 1

Stade : FFG

Planche X (suite)



C.



D.

II.2. Cas d'intersexualité

La présence, dans les testicules juvéniles, d'ovocytes dénommés « testis-ova » constitue un cas fréquent d'intersexualité juvénile chez les poissons gonochoriques (Yoshikawa et Oguri, 1978). Chez la perche soleil, parmi les 161 mâles échantillonnés ayant fait l'objet d'observations histologiques, seulement un individu présente un îlot de cellules sexuelles femelles à l'intérieur du testicule (Planche XIA & B). Cet individu, capturé en mai 2004, a connu un hiver (méthode scalimétrique) et appartient donc au groupe d'âge 1. Sa longueur totale est de 99,5 mm et son IGS de 2,18. Il semble donc qu'il ne s'agisse pas d'un juvénile et que les cellules sexuelles femelles présentes ne peuvent pas être considérées comme « testis-ova ». Cependant, rappelons que la maturité sexuelle de la perche soleil dans le Mirgenbach est atteinte lors de la première année, ce qui rend difficile l'interprétation de la présence de ces cellules sexuelles femelles. Parmi les hypothèses énoncées dans la littérature les facteurs suivants sont concernés : l'élévation de la température, ainsi que la présence de xénobiotiques tels que les métaux lourds, les pesticides, et d'autres mimétiques d'hormones œstrogènes.

Planche XI : Coupe transversale d'un testicule présentant un tissu ovarien

Lexique des abréviations :

L.l. : Lumière du lobule ; Mb.l. : Membrane basale du lobule ; Ovg. : Ovogonie ; Ocy. : Ovocyte ; Scy. : Spermatoocyte ; Spg. : Spermatogonie ; Spz. : Spermatozoïdes ; T.a. : *Tunica albugea*

A. Vue générale du testicule

Sur cette coupe transversale de testicule, la spermatogenèse est très avancée, la majorité de la coupe est occupée par les spermatozoïdes situés dans les lumières lobulaires anormalement dilatées. Seules sont présentes quelques cellules sexuelles moins évoluées (spermatogonies et spermatoocytes) en périphérie de la coupe et sur la gauche. Les cellules sexuelles femelles sont au centre.

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 26/05/04

L_T : 99,5 mm

IGS : 2,18

Nombre d'hiver : 1

B. Vue détaillée des cellules sexuelles femelles présentes dans le testicule

Les cellules sexuelles femelles sont peu avancées dans l'ovogenèse ; il s'agit d'ovogonies, d'ovocytes immatures et d'ovocytes prévitellogéniques.

Caractéristiques biologiques de l'individu :

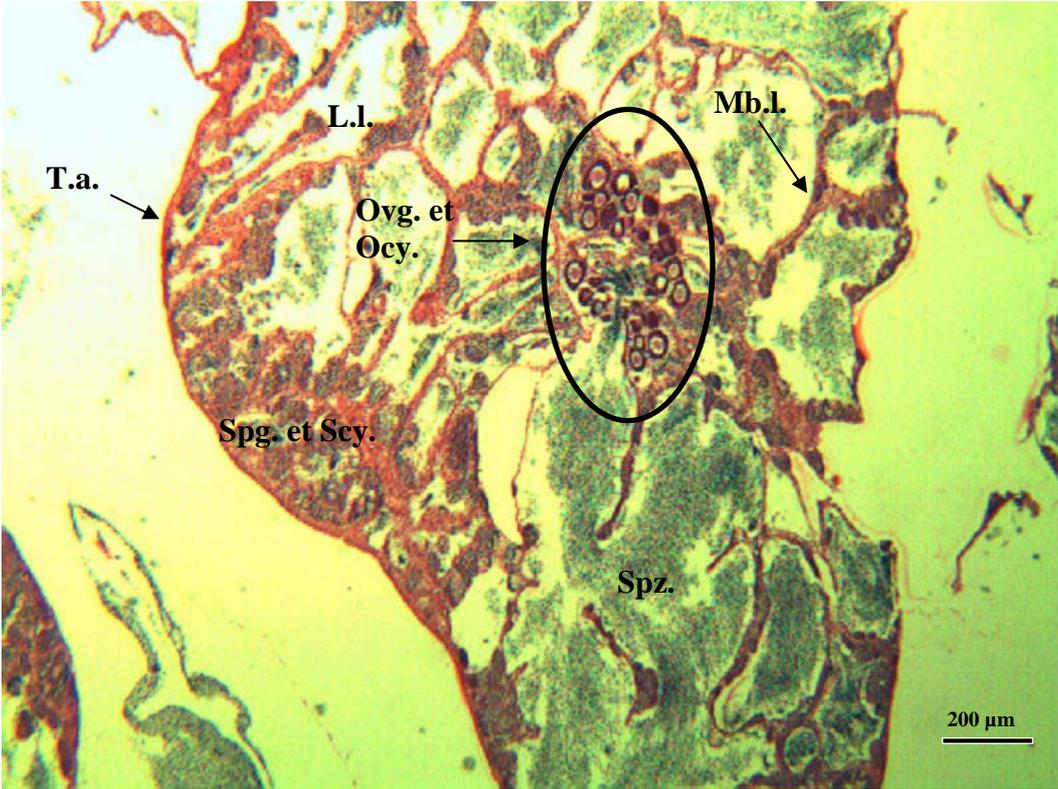
Date de capture : 26/05/04

L_T : 99,5 mm

IGS : 2,18

Nombre d'hiver : 1

Planche XI



A



B

II.3. Définition des profils de maturité gonadique

La distribution des surfaces occupées par les différents types cellulaires permet de définir 7 stades de maturité sexuelle (A à G) résumés dans le tableau XI et illustrés sur la planche XII. Le stade A est composé uniquement de spermatogonies, avec ou sans présence de lumière. Au stade B, la surface occupée par les spermatogonies est supérieure à celle des spermatocytes I et la surface de ces derniers est supérieure à celle des spermatocytes II. Au stade C, la surface des spermatocytes I est supérieure à celle des spermatogonies et des spermatocytes II. Au stade D, la surface des spermatogonies est supérieure à celle des spermatocytes I mais la surface occupée par ces derniers est inférieure à celle des spermatocytes II. Le stade E se caractérise par l'apparition des spermatides. Au stade F, des spermatozoïdes sont présents mais leur surface occupe moins de 80% de la surface totale du champ d'observation. Au stade G, les spermatozoïdes occupent plus de 80% de la surface totale du champ d'observation.

Tableau XI : Caractéristiques des stades de maturité sexuelle (A à G) selon la distribution des surfaces (%) occupées par les différents types cellulaires de la spermatogenèse dans une coupe transversale de testicule. La surface occupée par la lumière des lobules n'est pas prise en compte dans la définition des stades de maturité (spg : spermatogonie ; scy :spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

Stades de maturité sexuelle	Description (% surface)		
A		100% spg	
B	% spg > % scy I	ET	% scy I > % scy II
C	% spg < % scy I	ET	% scy I > % scy II
D	% spg > % scy I	ET	% scy I < % scy II
E	présence de spd	ET	absence de spz
F		présence de spz (% < 80%)	
G		présence de spz (% > 80 %)	

Ces stades de maturité, définis pour chaque champ, permettent de définir des profils de maturité gonadique, qui combinent les observations issues des trois champs énoncés par un triplet contenant une combinaison des lettres A à G, de la périphérie vers le canal efférent. Une illustration histologique d'un individu de profil de maturité gonadique EFG est consignée en planche XIII.

Planche XII et XII suite : Stade de maturité testiculaire A à G

Lexique des abréviations : L.l. : Lumière du lobule ; Mb.l. : Membrane basale du lobule ;
 Spg. : Spermatogonie ; Scy I. : Spermatoocyte I ; Scy II. : Spermatoocyte II ; Spd. : Spermatoide ;
 Spz. : Spermatozoïde.

a) Stade de maturité A dans le champ 1Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 31/01/05

L_T : 59 mm

IGS : 0,10

Nombre d'hiver : 1

Profil de maturité : AAA

c) Stade de maturité C dans le champ 3Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 08/03/05

L_T : 84 mm

IGS : 0,42

Nombre d'hiver : 1

Profil de maturité : CCC

b) Stade de maturité B dans le champ 1Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 08/03/05

L_T : 78 mm

IGS : 0,20

Nombre d'hiver : 1

Profil de maturité : BBB

d) Stade de maturité D dans le champ 2Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 08/03/05

L_T : 112 mm

IGS : 0,39

Nombre d'hiver : 3

Profil de maturité : BDD

Planche XII

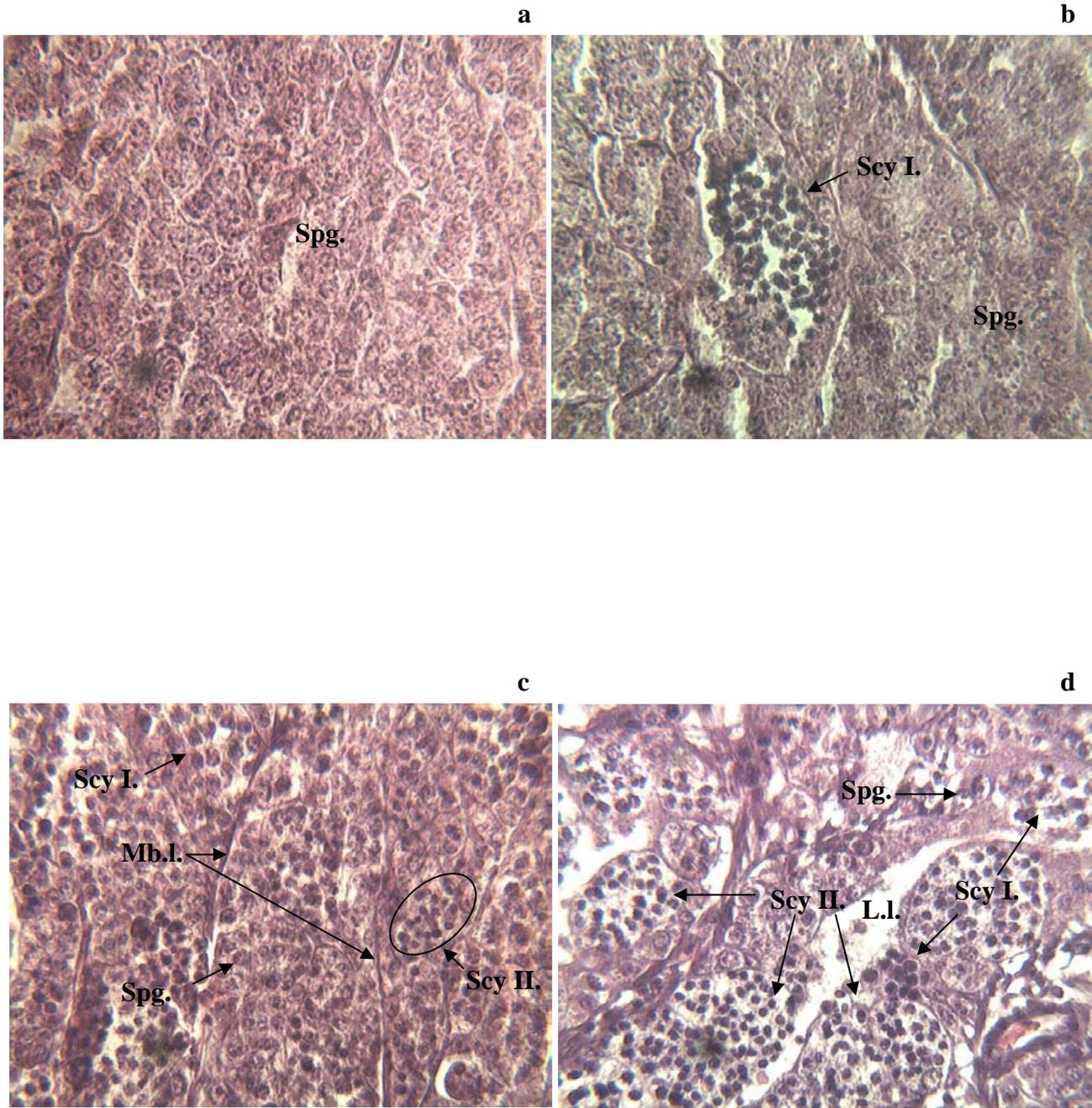


Planche XII (Suite)

e) Stade de maturité E dans le champ 1

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 04/05/05

L_T : 109 mm

IGS : 1,38

Nombre d'hiver : 1

Profil de maturité : EFF

f) Stade de maturité F dans le champ 2

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 04/05/05

L_T : 109 mm

IGS : 1,38

Nombre d'hiver : 1

Profil de maturité : EFF

g) Stade de maturité G dans le champ 3

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 12/07/05

L_T : 115 mm

IGS : 1,31

Nombre d'hiver : 2

Profil de maturité : EFG

Planche XII (Suite)

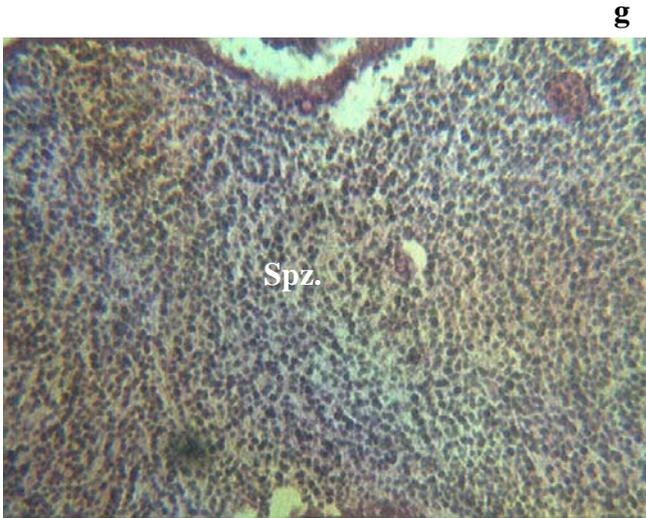
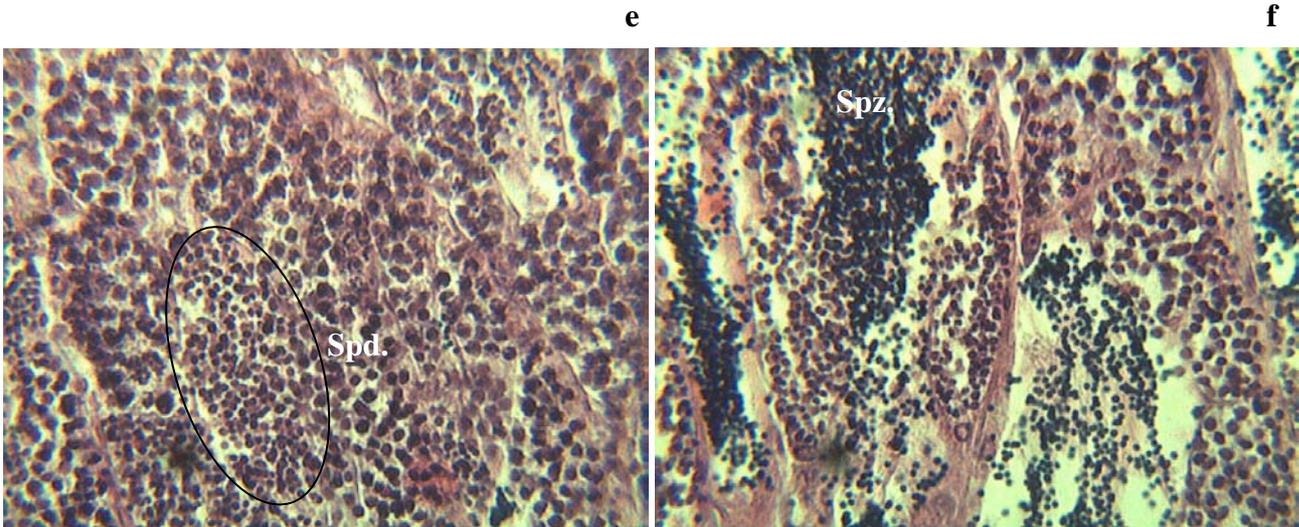


Planche XIII : Illustration d'un profil de maturité testiculaire (EFG)

Lexique des abréviations : L.l. : Lumière du lobule ; Mb.l. : Membrane basale du lobule ;
Scy I. : Spermatoocyte I ; Scy II. : Spermatoocyte II ; Spd. : Spermatoïde ; Spz. : Spermatozoïde.

Caractéristiques biologiques de l'individu :

Date de capture : 26/05/04

L_T : 62 mm

IGS : 4,75

Nombre d'hiver : 1

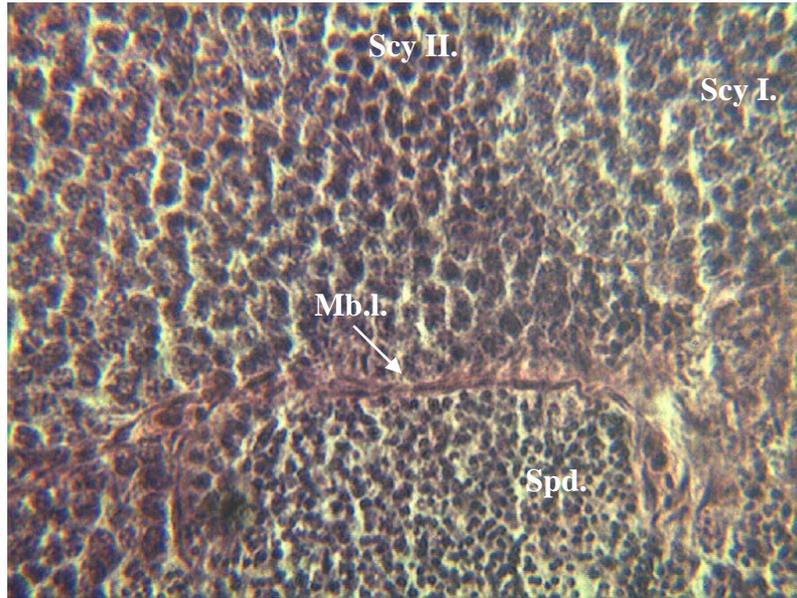
Profil de maturité : EFG

A. Stade de maturité E à la périphérie du testicule correspondant à la présence de lobules bien individualisés (champ 1)

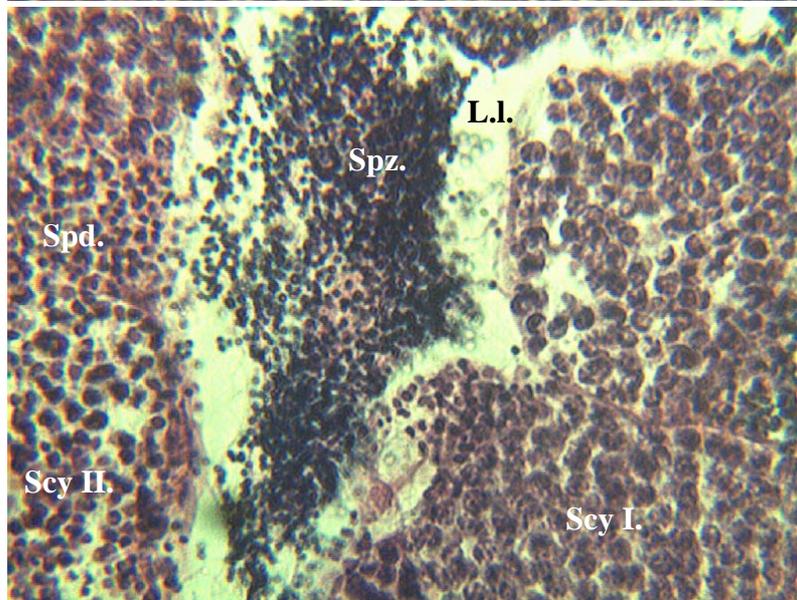
B. Stade de maturité F dans la partie intermédiaire correspondant à la présence des anastomoses inter lobulaires (champ 2)

C. Stade de maturité G à proximité du canal efférent (champ 3)

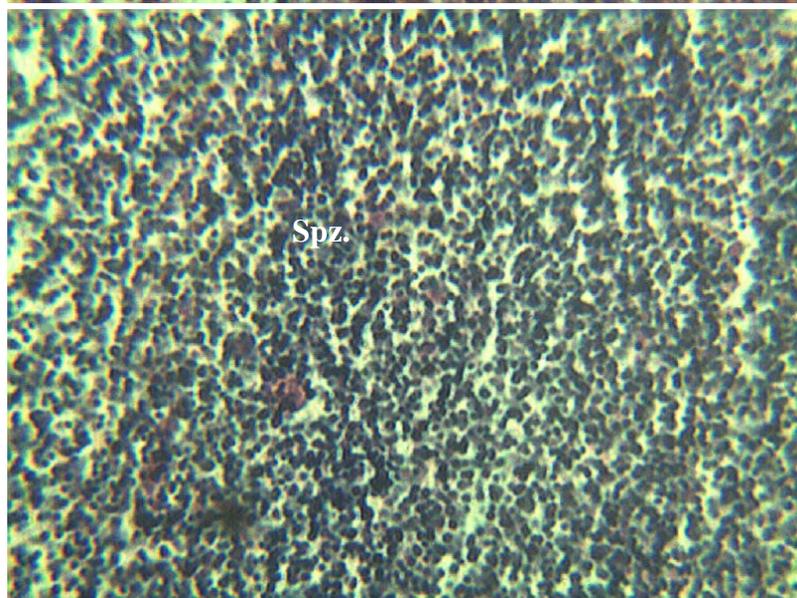
Planche XIII



A.



B.



C.

II.4. Distribution des surfaces des cellules sexuelles par profil de maturité gonadique.

La distribution des surfaces occupées par les cellules sexuelles à différents stades de différenciation est présentée selon le calendrier de maturation sexuelle chez la perche soleil. Pour chaque campagne d'échantillonnage, les individus sont représentés, de mai à juillet 2004 et de janvier à juillet 2005.

En mai, juin et juillet 2004, les profils de maturité gonadique BFF, EFG, EFF, EEG, FFF, FFG FGG sont observés, respectivement chez huit, cinq et six individus (Figure 44, 45, 46). Les champs F et G se caractérisant par la présence de spermatozoïdes, il apparaît que tous ces individus sont matures. Notons cependant qu'au stade de maturité F, la surface occupée par les spermatozoïdes peut être faible (cas d'un individu FFF en mai 2004). Globalement, tous les types de cellules sexuelles sont présents dans les trois champs. De mai à juillet la spermatogenèse est donc active.

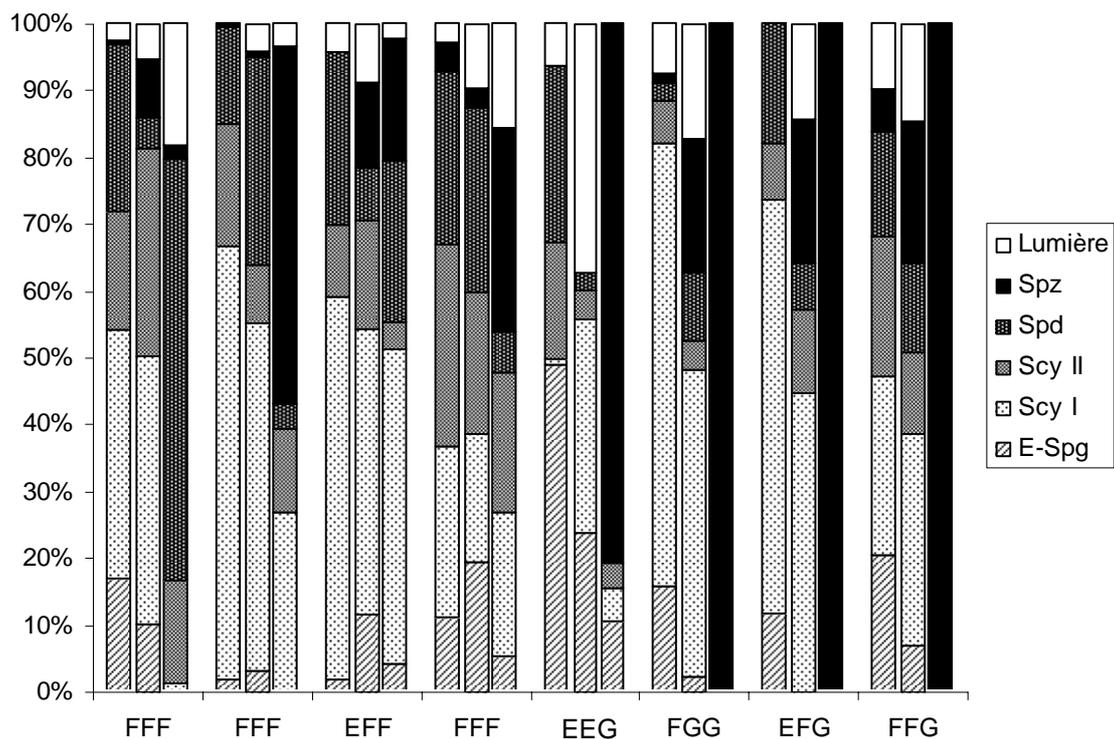


Figure 44 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 8 individus capturés les 25 et 26 mai 2004 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

En janvier 2005, trois individus ont fait l'objet d'une étude détaillée des testicules avec le calcul des distributions de surface occupée par les différents types de cellules sexuelles. Seul le stade de maturité gonadique AAA est présent. Il correspond à la période de quiescence, la spermatogenèse est inactive : seuls sont présentes des spermatogonies qui peuvent toutefois avoir une activité de multiplication goniale par mitose et s'organiser en cystes.

En mars 2005, les stades de maturité gonadique BBB, BBF, BDD, CCC et FFF sont présents chez les 11 individus étudiés. La spermatogenèse a débuté et les premiers spermatozoïdes sont observables. Mais globalement, les gonades sont constituées principalement de spermatogonies et de spermatocytes I.

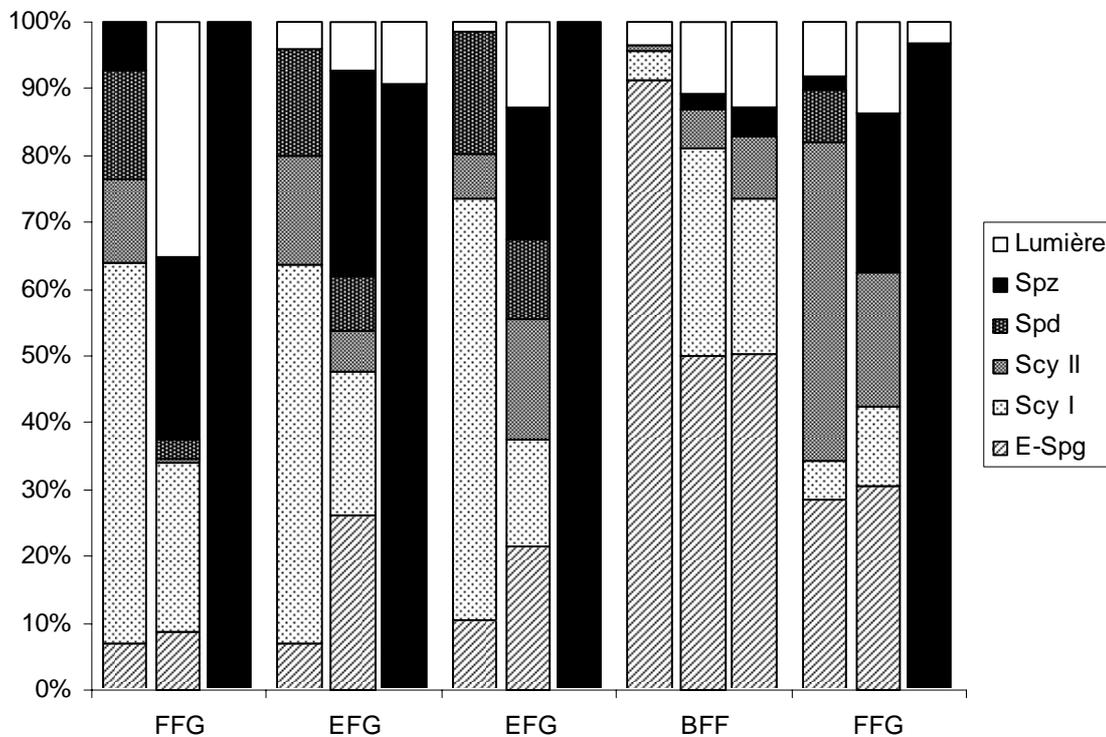


Figure 45 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés les 08 et 29 juin 2004 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

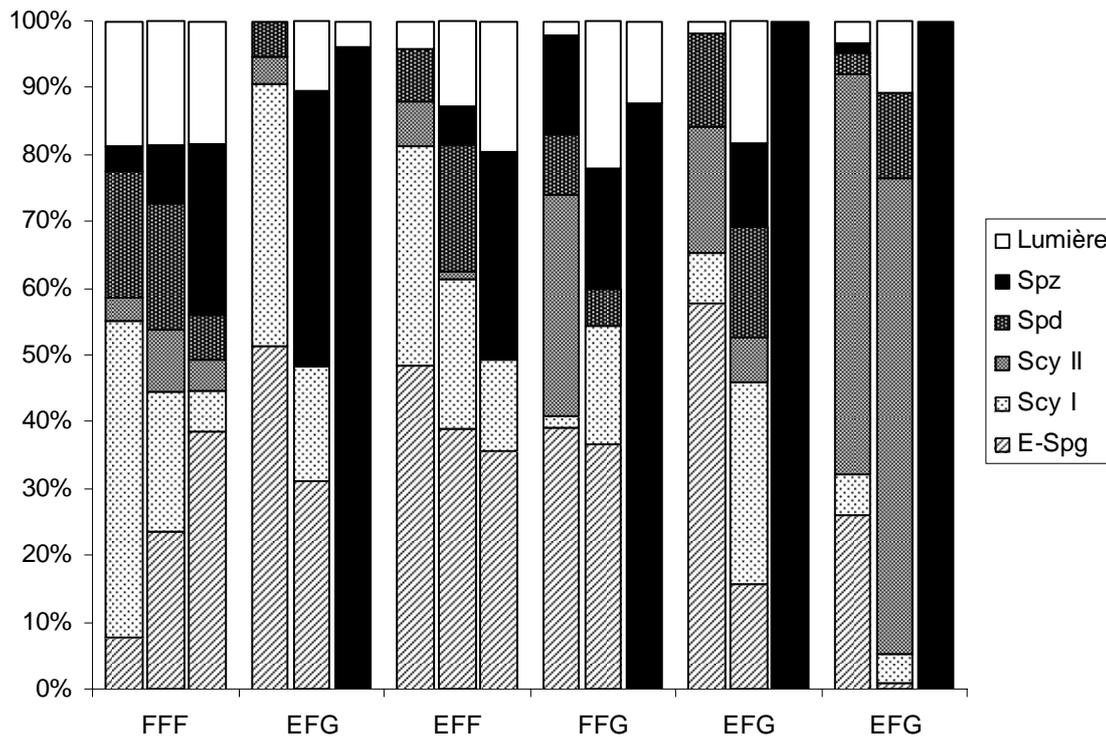


Figure 46 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 6 individus capturés le 06 juillet 2004 (spg : spermatogonie ; scy : spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

En janvier 2005, trois individus (Figure 47) ont fait l'objet d'une étude détaillée des testicules avec le calcul des distributions de surface occupée par les différents types de cellules sexuelles. Seul le stade de maturité gonadique AAA est présent. Il correspond à la période de quiescence, la spermatogenèse est inactive : seuls sont présentes des spermatogonies qui peuvent toutefois avoir une activité de multiplication goniale par mitose et s'organiser en cystes.

En mars 2005 (Figure 48), les stades de maturité gonadique BBB, BBF, BDD, CCC et FFF sont présents chez les 11 individus étudiés. La spermatogenèse a débuté et les premiers spermatozoïdes sont observables. Mais globalement, les gonades sont constituées principalement de spermatogonies et de spermatocytes I.

En avril 2005 (Figure 49), la spermatogenèse continue à progresser, les stades de maturité gonadique ABB, DEF, EEE et EEG sont présents chez les cinq individus étudiés. L'individu ABB est peu avancé dans la spermatogenèse, sa gonade étant principalement constituée de spermatogonies malgré la présence de spermatocytes I et II. Deux individus sont matures (présence des stades F et G).

En mai (Figure 50), juin (Figure 51) et juillet (Figure 52) 2005, les individus (n = 11) semblent plus mature qu'en 2004 car la surface gonadique occupée par les spermatozoïdes est plus importante. Les stades de maturité gonadique présents sont EFF, EFG, FFF et FFG.

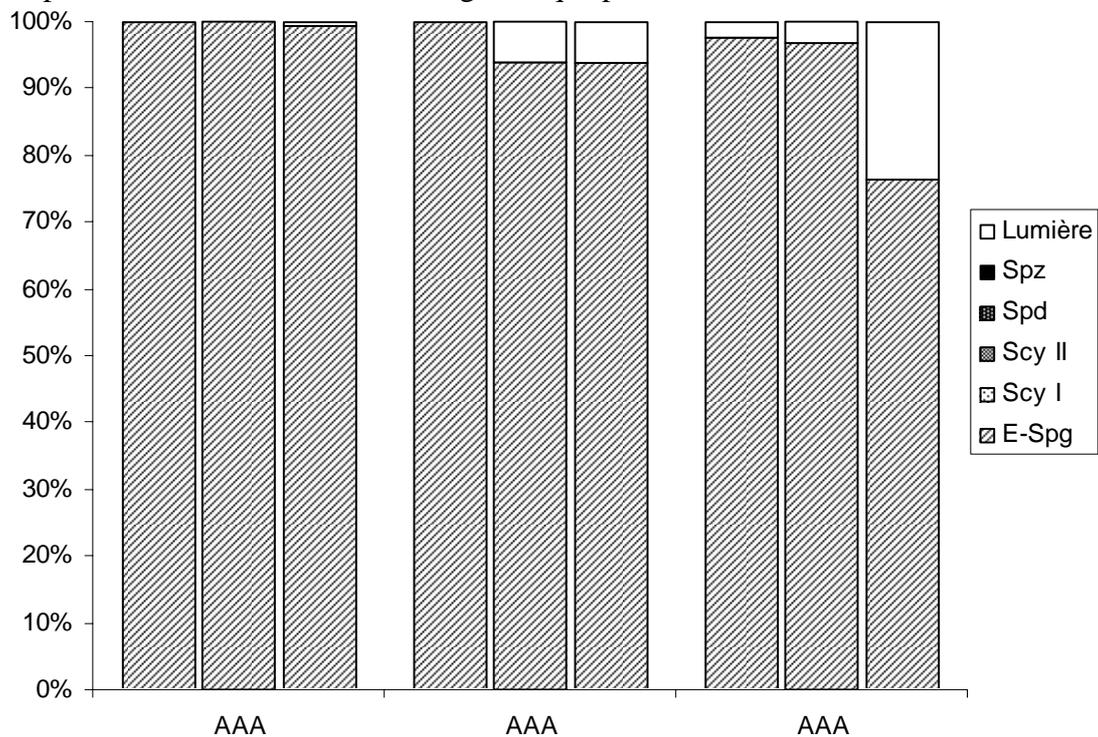


Figure 47 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 3 individus capturés le 31 janvier 2005 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ;spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

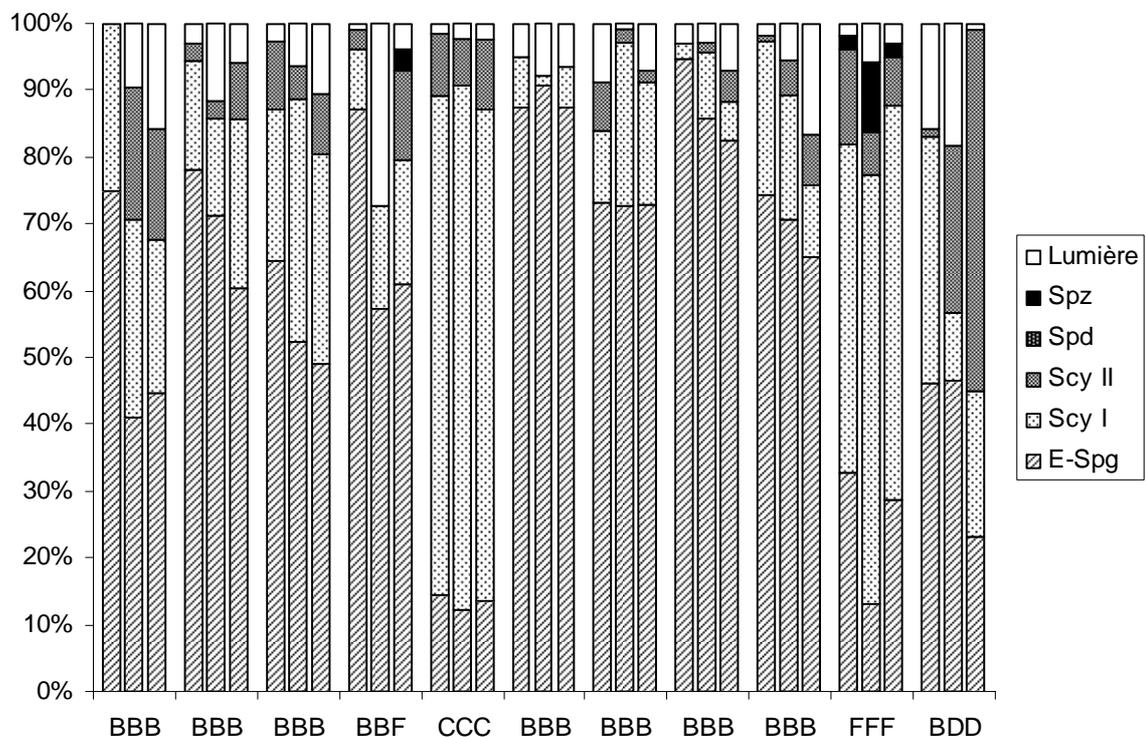


Figure 48 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 11 individus capturés le 08 mars 2005 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ;spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

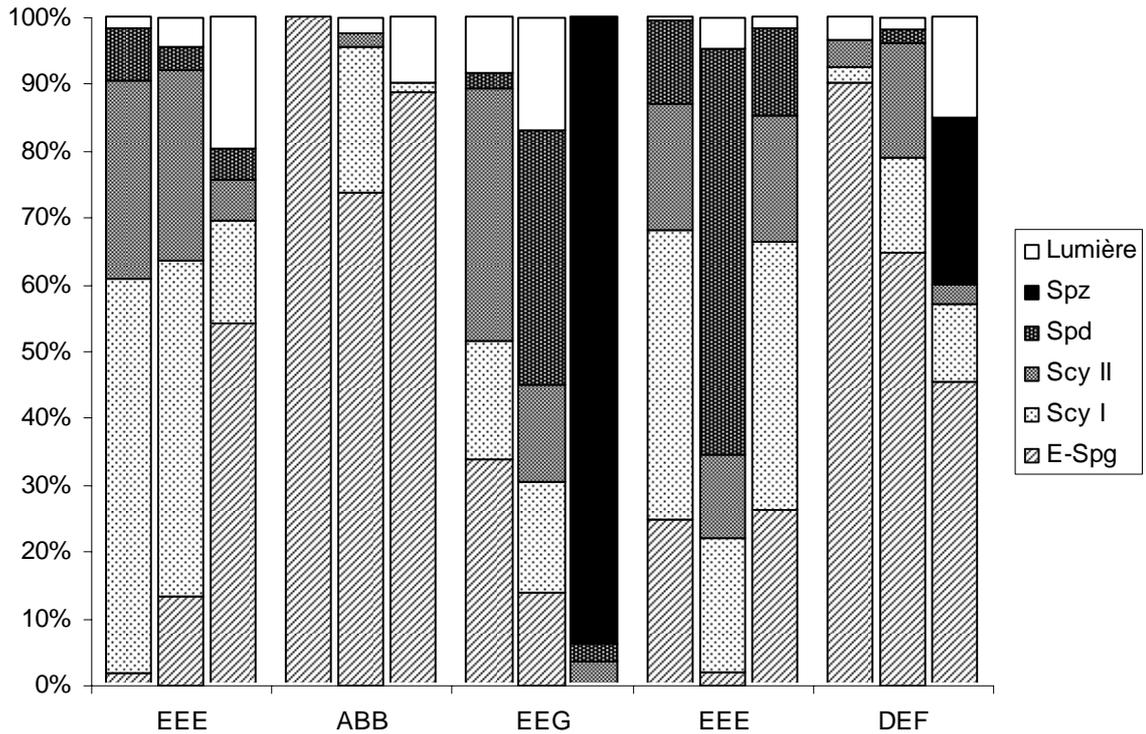


Figure 49 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés les 05, 06 et 08 avril 2005 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

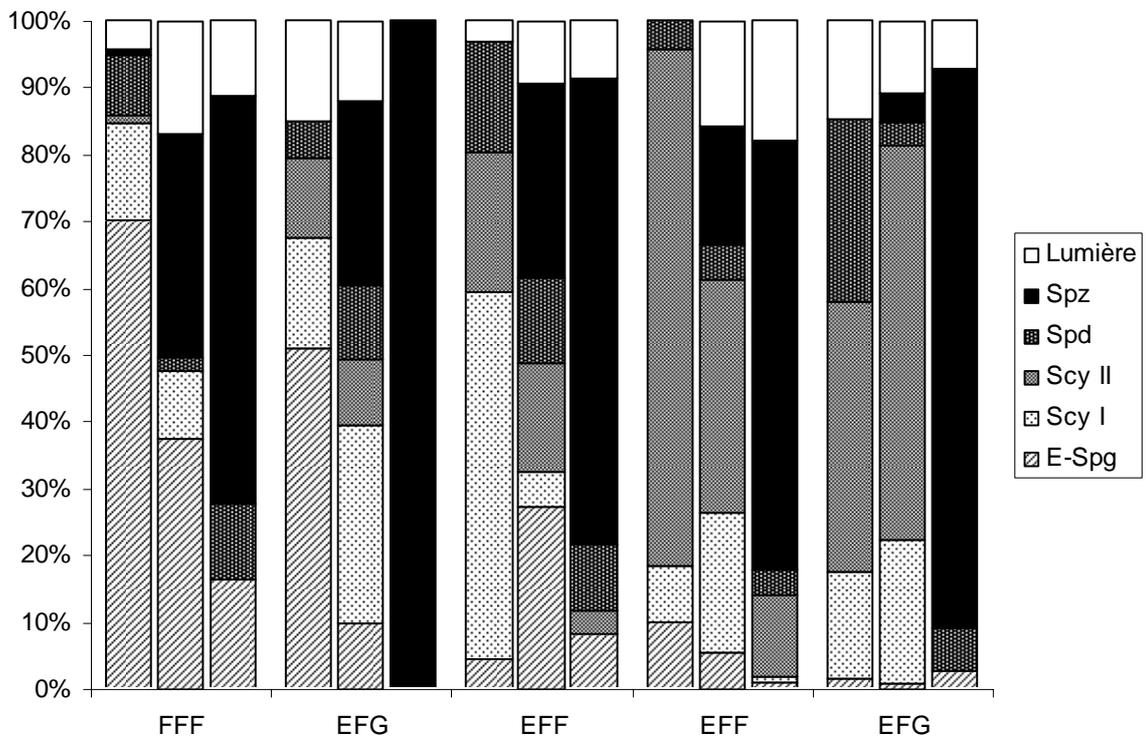


Figure 50 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés les 03, 04, 13 et 19 mai 2005 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ; spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

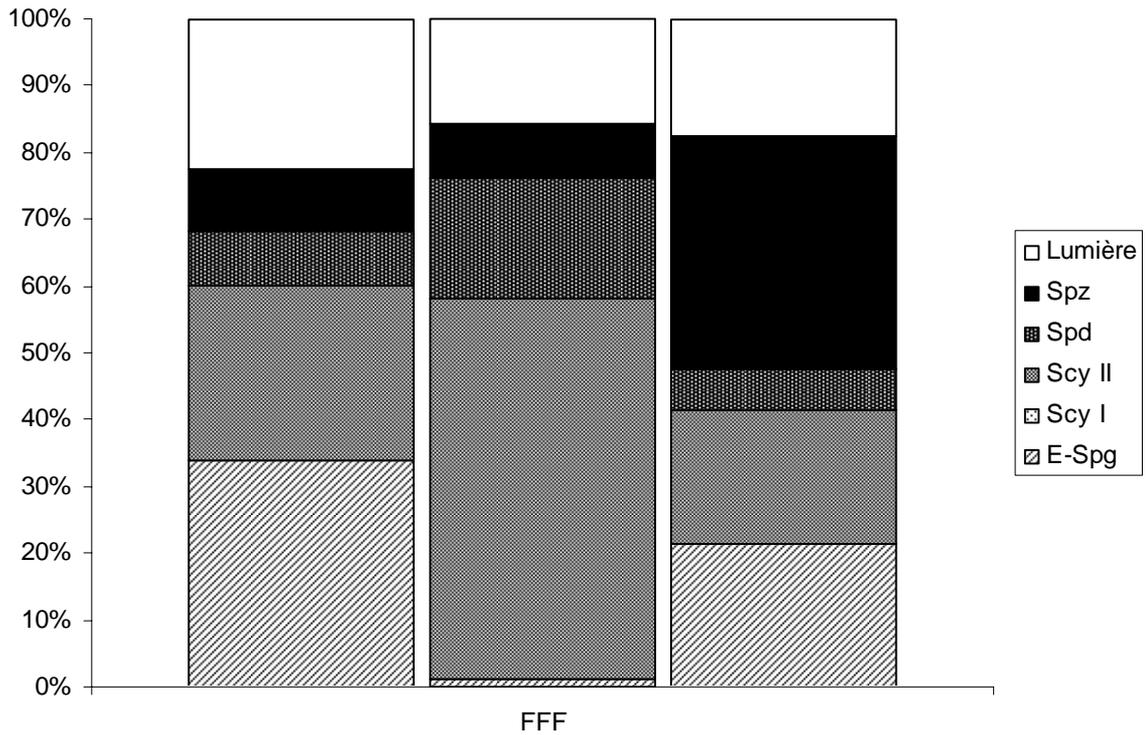


Figure 51 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez l'unique individu capturé le 17 juin 2005 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ;spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

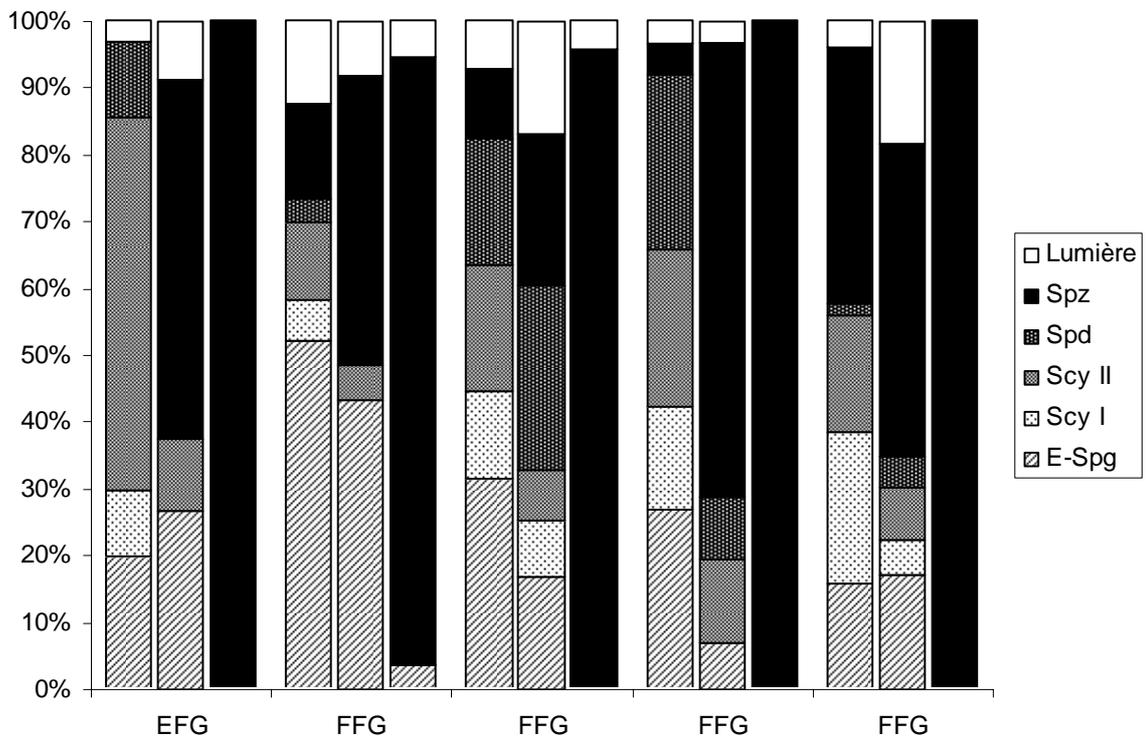


Figure 52 : Distribution surfacique des cellules sexuelles chez 5 individus capturés le 12 juillet 2005 (spg : spermatogonie ;scy :spermatocyte ;spd : spermatide ; spz : spermatozoïde).

II.5. Variation temporelle de l'indice gonado-somatique (IGS)

L'évolution mensuelle de l'IGS, de mai à août 2004 (Figure 53), met en évidence deux pics, l'un en mai et l'autre en juillet. En 2005 (Figure 54), le même profil est observé avec cependant des pics moins marqués, notamment celui de mai. Dans le Mirgenbach les valeurs maximales d'IGS observées varient de 10 à 13 (mai 2004) mais la majorité des individus présentent des IGS entre 0,5 et 4.

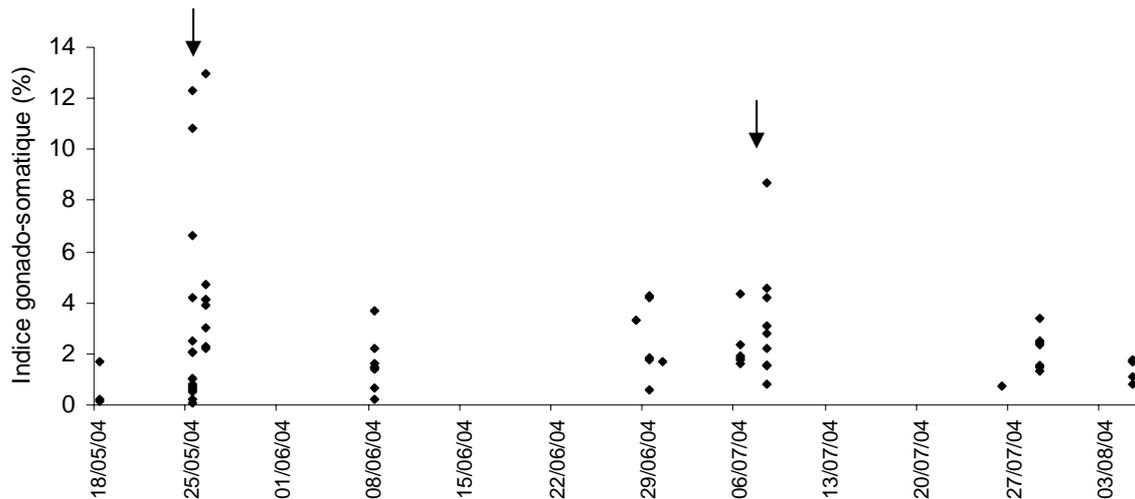


Figure 53 : Indice gonado-somatique chez la perche soleil dans la retenue du Mirgenbach, de mai à août 2004.

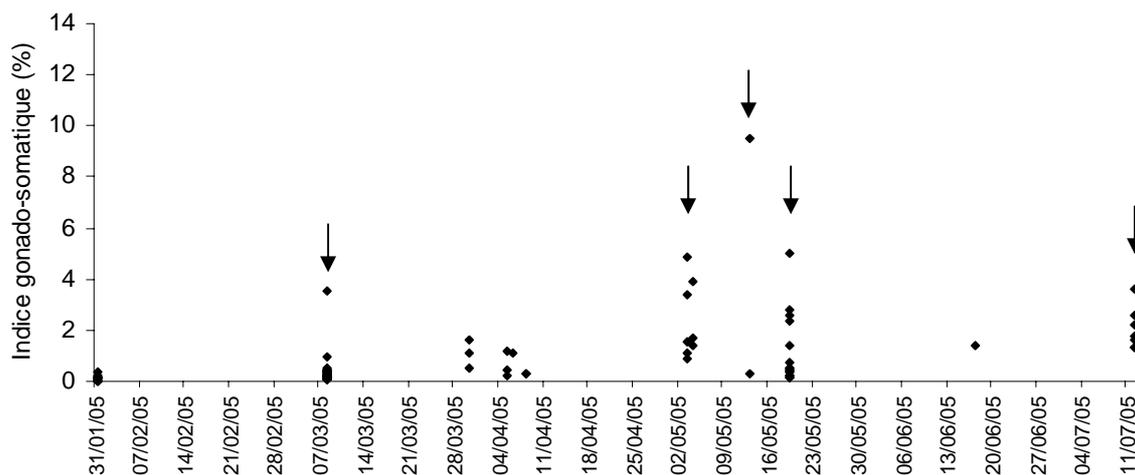


Figure 54 : Indice gonado-somatique chez la perche soleil dans la retenue du Mirgenbach, de janvier à juillet 2005.

II.6. Impact de la température sur la spermatogenèse chez la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach

Ce paragraphe fait l'objet d'un article, soumis à la revue *Journal of Fish Biology* pour publication, ci-joint: « Testis maturation of the pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in an overheated reservoir ».

Résumé de l'article :

L'étude de la reproduction chez les téléostéens est fondamentale pour comprendre le devenir des populations ichtyologiques déterminantes pour l'équilibre des milieux aquatiques, et ce, dans un contexte de changement climatique global qui aura pour effet de modifier les aires de répartition des espèces ainsi que leurs stratégies de reproduction afin de garantir la survie de la progéniture. L'effort de reproduction chez une population de perche soleil mâle (*Lepomis gibbosus*), espèce considérée comme invasive dans le sud et le centre de l'Europe, a été étudié dans le réservoir du Mirgenbach qui reçoit des eaux échauffées d'une centrale électronucléaire (Cattenom, Nord-Est de la France).

La spermatogenèse chez la perche soleil est décrite dans ce contexte de milieu échauffé à partir d'un échantillon de 157 mâles qui ont été collectés entre mai 2004 et juillet 2005 pour suivre l'évolution de la période de maturation sexuelle ainsi que la phase de reproduction à partir de l'indice gonado-somatique (IGS) et d'observations histologiques (profils de maturité gonadique). Il apparaît que les mâles adoptent deux stratégies de reproduction (i.e. petits mâles cocufiants et grands mâles nidifiants) et qu'ils sont matures avant les femelles, avec un développement sexuel précoce pour de telles latitudes, et proches des populations du sud de l'Europe par comparaison avec les populations du nord.

Testis maturation of the pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in an over-heated reservoir

E. VALENTE*, G. MASSON*, A. MEYER*, A. MAUL†, J.C. PIHAN‡

*Laboratoire Interactions Ecotoxicologie Biodiversité Écosystèmes (LIEBE) UMR CNRS 7146, Campus Bridoux rue du Général Délestraint, Université Paul Verlaine, UFR Sci. F.A., 57070 Metz, France; ‡Campus Bridoux rue du Général Délestraint, Université Paul Verlaine, UFR Sci. F.A., 57070 Metz, France and †Laboratoire de Mathématiques et Applications de Metz (LMAM) UMR CNRS 7122, Ile du Saulcy, Université Paul Verlaine, F-57045 Metz Cedex 1, France

The study of teleost reproduction is fundamental in order to understand the future of ichthyologic populations, determinant for the balance in aquatic environments, and this, in a context of global warming which will affect distribution zones of species as well as their reproductive strategies in order to guarantee survival of their progeny. The reproductive effort in a population of male pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*), a species considered invasive in southern and central Europe, was studied in the Mirgenbach Reservoir which receives warmed waters discharged from a nuclear power plant (Cattenom, northeastern France). Few studies have been devoted to male reproduction contrary to females which are directly involved in fecundity. In the current study, spermatogenesis in pumpkinseed is described for an over-heated environment. A sample of 157 males was collected between May 2004 and July 2005 to follow the evolution of the period of sexual maturation as well as the reproductive phase based on the gonadosomatic index (I_G) and histological observations. Stages of gonadal maturity were defined through partial microscopic observation of gonad cross-sections, resulting in 32 gonad maturity profiles. It appears that males adopt one of two reproductive strategies (i.e. small male cuckolders or large male nesters) and that they mature before the females with precocious sexual development for such latitudes and close to populations in southern Europe compared with northern populations.

Key words : *Lepomis gibbosus*, spermatogenesis, sexual maturation, temperature.

INTRODUCTION

An understanding of fish reproduction is fundamental to several fields of research such as population dynamics, invasion processes, eco-toxicology, aquaculture, etc (Rocha *et al.*, 2008). Among heterotherm animals, knowledge of species reproductive strategies in the context of global warming is indispensable in order to predict the fate of ichthyologic populations and thus the balance in aquatic environments (Wood and McDonald, 1997). Warmed environments may be useful in researching the ecological consequences of ongoing exposure in populations over one or more generations (Van Der Kraak and Pankhurst, 1996). In Europe, the effect of thermal discharges from nuclear or other power plants have been studied for mesotherm and thermophile (Billard *et al.*, 1981) species, particularly using histological descriptions of female gonads during periods of sexual maturation or reproduction, (Gajdusek *et al.*, 1987, Luksiene and Sandström, 1994; Sandström *et al.*, 1997; Luksiene *et al.*, 2000). Reproduction in teleosts is studied mostly in females because oogenesis controls fecundity (Murua *et al.*, 2003; Thorsen *et al.*, 2006). Few authors have taken an interest in testicular development, on the macroscopic or microscopic scale, in the context of a heated environment, while fish spermatogenesis and endocrine regulation has been described extensively (Grier, 1981; Billard *et al.*, 1982; Nagahama, 1983; Billard, 1986; Callard, 1991; Grier, 1993; Takashima and Hibiya, 1995; Schulz and Miura, 2002; Vizziano *et al.*, 2008). Some histological studies of male fish gonads, carried out in a natural setting (Carrasson and Bau, 2003; Dziejulska and Domagala, 2003; El-Halfawy *et al.*, 2007) or in captivity (Gupta, 1975; Arockiaraj *et al.*, 2004), have led to the definition of sexual maturity stages based on spermatogenesis evolution. These studies, which were mostly based on the macroscopic appearance of gonads, the presence of the most evolved sexual cells, and certain cytological criteria, led to the identification of 5 to 9 maturity levels (Dziejulska and Domagala, 2003).

The pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*), a species native to North America, has colonized the entire French hydrographic network since its introduction in 1880 (Carrel *et al.*, 2001). The effects of variations in temperature on expressed biological traits (growth, sexual maturation, longevity, invasive character) have been understood based on latitudinal variations in the distribution area (Gutiérrez-Estrada *et al.*, 2000a; Copp *et al.*, 2002; Dembski *et al.*, 2006; Copp and Fox, 2007); an approach which was also used for other fish (Lappalainen *et al.*, 2003; Tarkan, 2006; Lappalainen and Tarkan, 2007). The study of reproduction is often

limited to an analysis of the gonadosomatic index (I_G). The I_G having been considered a poor indicator of energy devoted to reproduction in males of this species (Danylchuk and Fox, 1994), most of the studies dealt with females (Gutiérrez-Estrada *et al.*, 2000b; Fox and Crivelli, 2001; Copp *et al.*, 2002; Villeneuve *et al.*, 2005). However, Gutiérrez-Estrada *et al.* (2000a) and Dembski *et al.* (2006), for the Guadiato River (Spain) and the Mirgenbach Reservoir respectively, have studied the I_G evolution in male pumpkinseed.

The originality of the current study is the histological description of spermatogenesis as well as the microscopic definition of profiles of gonadal maturity during the maturation phase and reproduction, in a heated water environment, in a species (*Lepomis gibbosus*) considered to be invasive in the south and center of Europe, and whose potential to proliferate may be observed over the next few years, within a global warming context, in the north of Europe (Villeneuve *et al.*, 2005). In addition, this species, which has been present since 1991 in the Mirgenbach Reservoir (Flesch *et al.*, 1994), has been confined there for generations. This allows for the anticipation of the consequences of a long-term rise in temperature, an approach which is rarely taken into consideration, the effect of temperature variations most often being considered in the short-term (Van Der Kraak and Pankhurst, 1996). The methodology used, based on histological observation, can be applied to other species, whether invasive or autochthonous, independent of their thermal preferences.

MATERIALS AND METHODS

STUDY SITE AND THERMAL CHARACTERISTICS

The Mirgenbach (49°25' N) Reservoir is used as a back-up reservoir for the Cattenom (northeastern France) thermo-nuclear plant, allowing the plant to function in a closed circuit if necessary, and also as a thermal buffer, receiving heated waters ($5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) discharged from the four plants cooling towers before release into the Moselle River (holding-time of 12 days). Its surface area is 0.95 km^2 , with a holding capacity of $7.3 \times 10^6 \text{ m}^3$ and an average depth of 7.68 m with a maximum depth of 20 m. It was created in 1985 in the watershed of the Mirgenbach River, a small tributary of the Moselle River, and filled with water pumped from the Moselle River, a major tributary of the Rhine River.

This unstratified reservoir (Vein *et al.*, 1990) shows water heated evenly throughout the water column and no existing thermo-spatial gradient. Conductivity ($2000 \mu\text{S cm}^{-1}$) and copper concentrations ($\text{Cu}_{\text{total}} 49 \mu\text{g.l}^{-1}$) (Vinot and Pihan, 2005) are both high. On the other hand, the level of total dissolved oxygen is consistently high throughout the water column, varying from 85 to 116%.

Since pumpkinseed are sexually dormant in the Fall, degree days (DD) were calculated from January 1st, 2004 to 2005 (Fig. 1) and were used to define 4 periods for study purposes: late January to late March ($[250 ; 1000[$ DD), late March to early May ($[1000 ; 1750[$ DD), early May to mid-June ($[1750 ; 2500[$ DD) and mid-June to the end of the study period at the end of July ($[2500 ; +\infty[$ DD). The DD values in 2004 and 2005 were similar and the inter-annual difference did not exceed 5%. The temperature gap between the Mirgenbach Reservoir and the natural environment (Moselle River) was large in winter (maximum of $+5.9^{\circ}\text{C}$ in February), reduced in summer (minimum of $+0.6^{\circ}\text{C}$ in June and August) and intermediate in spring ($+2.6^{\circ}\text{C}$ in May). This reservoir exhibits thermal characteristics close to those found in the southern limit of pumpkinseed distribution in Europe.

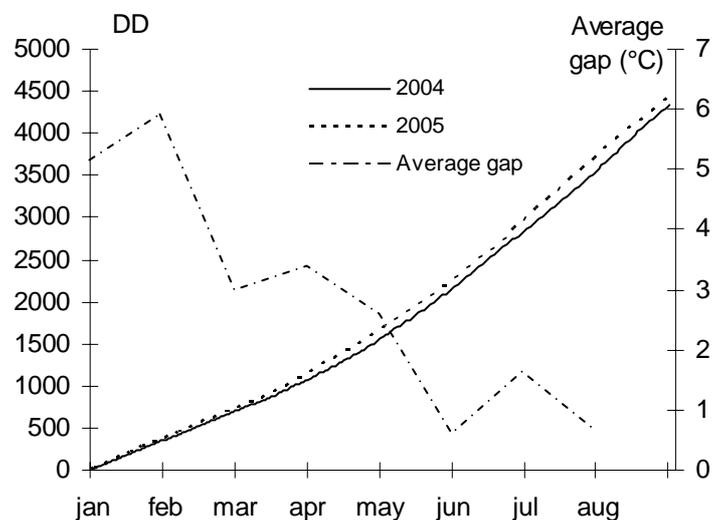


FIG. 1. Thermal characteristics in the Mirgenbach Reservoir expressed in degree days (DD) in 2004, 2005 and the average gap in temperatures ($^{\circ}\text{C}$) between the Reservoir and the Moselle River.

SAMPLING

A sample of 157 males was collected during the winter and through to early summer between May and July 2004, and between January and July 2005. This schedule covered the periods of sexual dormancy, of testicular development and of the onset of reproduction, the spawning period occurring from June to August (Dembski *et al.*, 2006). In the Mirgenbach Reservoir, pumpkinseed occupied the littoral zone to a depth of 1.5m whereas some specimens were catch in the pelagic zone (Dembski *et al.*, 2006, 2008). Several techniques adapted to catching fish in littoral zones were used: electro-fishing, seine and fyke nets. Some individuals were also caught using vertical gill nets.

BIOMETRY, DISSECTION AND SCALIMETRY

The collected individuals were taken to the laboratory alive, measured (total length ' L_T ' in mm) and weighed (total mass ' M_T ' to within 0.01g). These individuals were then eviscerated and the gonads were weighed precisely while still fresh to within 0.01g (M_G). The gonadosomatic index (I_G) was calculated according to the formula $I_G = (M_G / M_T) * 100$ (Strange, 1996). Individual age was calculated by observing and counting winter markings on the scales (Regier, 1962; Bagliniere and Le Louarn, 1987). Three groups were established by considering how many fall seasons the individuals had survived; individuals in age groups 1, 2 and 3. The young of the year were not taken into account for this study because they were still immature (Dembski *et al.*, 2006). Therefore, the youngest pumpkinseeds included in the study were born during the calendar year prior to capture. Scale observations were performed using a binocular Motic SMZ 168 BL loupe. The images were taken using a Motic 2000 camera and processed using Motic Images Plus 2.0. ML software.

HISTOLOGICAL STUDY

The gonads (n = 157 males) were fixed in a Bouin-Holland solution then imbedded in paraffin blocks. Cross sections (6 μ m) were cut using a microtome, and then stained with hematoxylin eosin (Martoja and Martoja-Pierson, 1967; Gabe, 1968). Three observation fields, of a surface

of $18500 \mu\text{m}^2$, ranging from the testicular tunic to the efferent duct were examined ($G \times 100$). The surface distributions occupied by each kind of cell, the nuclear diameter of sexual cells as well as the numbers of these cells inside a cross section of a cyst were determined. The surface distributions in each field allowed us to evaluate localized testicular development by using 7 distinct stages of maturity (A to G). Five kinds of cells were taken into consideration: spermatogonia (accompanied by germinal cells and Sertoli cells), spermatocytes I and II, spermatids and finally spermatozoa.

The state of individual sexual maturity, or gonadal maturity profile, combines the observations performed in all three fields. It is expressed by a triplet containing, according to the stage of maturity in each field, a combination of letters from A to G. The first letter refers to the stage of maturity at the periphery of the testicle (Field 1), the second to the intermediary part (Field 2) and the third to the area in proximity to the efferent duct (Field 3). The definition of these gonadal maturity profiles is based on a subsample of 50 males, consisting of 33 individuals in age group 1, 14 in age group 2, and 3 age in group 3 ; 32 different profiles were distinguished. Observations were performed using a Motic BA 400 microscope equipped with a trinocular head on which a Motic 2000 camera was mounted; measurements were taken using Motic Images Plus 2.0. ML software.

STATISTICAL ANALYSIS

Both the existence and the intensity of a monotone link between, on one side, the level of sexual maturity (32 profiles) defined by histological observation, and the other, the corresponding I_G value, was assessed using Spearman's rank correlation coefficient.

In addition, the 32 gonadic maturity profiles were grouped into "homogenous" clusters using hierarchical cluster analysis (HCA). More precisely, the method used was based on Ward's Criteria and the Euclidian distance calculated from the value of total length and I_G variables, which were previously standardized. Moreover, each profile was weighted by a coefficient corresponding to the number of fish which was associated with it. All the calculations were done with STATGRAPHICS Plus software v.2.1 (STSC Inc., Rockville, MA).

RESULTS

TESTICULAR ORGANIZATION AND SPERMATOGENESIS IN *LEPOMIS GIBBOSUS*

In pumpkinseed, the testicles are arranged in unrestricted lobules as described by Grier (1993), which is the most frequent case in teleosts. Each lobule consists of a germinal epithelium whose sexual cells are arranged in cysts (only the spermatogonia before mitotic multiplication are isolated), and exhibit a lumen which allows for the evacuation of spermatozoa to the efferent duct. The lobules are delimited by an acellular basal membrane and between each lobule, in the interstitial epithelium, pockets of Leydig cells with an endocrine function are found. Spermatogenesis can be summed up as a succession of sexual cells obtained after cellular division: spermatogonia, spermatocytes I, spermatocytes II, spermatids and spermatozoa. The characteristics of these cells, as well as the means of cell division involved, are described in Table I. Other cells also participate in spermatogenesis: hormonal or Leydig cells, existing in the interstitial compartment, and Sertoli cells. Various functions have been attributed to Sertoli cells: they play a role in the structural support of germinal cells and their nutrition (Alavi *et al.*, 2008).

TABLE I. Description of cellular types in *Lepomis gibbosus* spermatogenesis and means of cellular division involved.

Cellular type	Nuclear diameter (μm) (min-max)	Number per cyst cross section (min-max)	Cellular division	Degree of ploidy
Spermatogonia	8-12	2-4	Mitosis	2n
Spermatocytes I	5-6	4-28	Meiosis 1st division (reductional) 2nd division (divisional)	2n
Spermatocytes II	3-4	48-55		n
Spermatids	2	90-105		n
Spermatozoa	1-2			n

According to Dodd's terminology (1986), the term "primordial germinal cell" is used before the sexual differentiation of gonads, each germinal cell being at the origin of a spermatogonium (or oogonia). However, an undifferentiated residual stock exists during sexual maturation which remains until the next phase of quiescence. The spermatogonia are large-sized cells with a voluminous nucleus containing a central nucleolus (very chromophile); the chromatin is not well diffused in the nucleoplasm which exhibits a very light color with a granular aspect. The spermatogonia ($2n$) multiply by mitotic division to form spermatogonia cysts, then spermatocytes I ($2n$), surrounded by Sertoli cells which form a thin envelope around the cysts. The spermatocytes I cysts will contain 4 to 28 cells. The spermatocytes I are less voluminous than the spermatogonia, the chromatin is very chromophile and spread throughout the nucleoplasm and the nucleolus is no longer visible.

The spermatocytes I, through reductional meiotic division, give rise to spermatocytes II (n). At this point, the cysts contain twice as many cells. The evolution in spermatocytes is synchronous inside each cyst. As Dziewulska and Domagala (2003) have observed in three salmonid species, the second divisional meiosis is very rapid, which explains the scarcity of spermatocytes II in our observations. Spermatids (n) thus produced turn into spermatozoa (spermiogenesis) by dehydration of the cytoplasm and synthesis of flagella. Connections between Sertoli cells and spermatozoa break, leading to the tearing of the cyst envelope and evacuation of the spermatozoa into the lobular lumen.

TESTICULAR DEVELOPMENT AND SEXUAL MATURATION IN *LEPOMIS GIBBOSUS*

The surface distributions occupied by different types of cells enabled us to define 7 stages of sexual maturity (A to G) as described in Table II. Figure 2 shows the seasonal distribution of male pumpkinseed according to age, or stage of sexual maturity, for each age group, as well as corresponding average I_G values. At the beginning of the observation period, between 250 and 1000 DD, for all age groups combined, the proportion of individuals at stage A of maturity dropped from field 1 towards field 3, in other words, from the testicular tunic towards the efferent duct. This tendency was observed up until the reproductive period (Period 4), with the less evolved stages present for the most part near the testicular tunic and the more evolved ones near the lumen. For example, above 2500 DD, 95% of the individuals

reached stage G of maturity in field 3, while in field 1 the males were divided equally between maturity stages E and F (ratio 1:1, 50%).

At the midpoint of the observation period, between 1000 and 2500 DD, the individuals in age groups 2 and 3 were not sampled. For the individuals in age group 1, all the stages of maturity were represented, with the appearance of spermatozoa, respecting the testicular gradient tunic-lumen.

TABLE II. Characteristics of sexual maturity stages (A to G) according to surface distribution (%) occupied by the different cellular types in spermatogenesis in a testicle cross-section. The surface occupied by the lobular lumen was not taken into account in the definition of stages of maturity (spg : spermatogonium ; spcy : spermatocyte ; spd : spermatid ; spz : spermatozoa).

Stages of sexual maturity	Description (% surface)		
A	100% spg		
B	% spg > % spcy I	AND	% spcy I > % spcy II
C	% spg < % spcy I	AND	% spcy I > % spcy II
D	% spg > % spcy I	AND	% spcy I < % spcy II
E	presence of spd	AND	absence of spz
F	presence of spz (% < 80%)		
G	presence of spz (% > 80 %)		

The distribution of different stages of maturity was similar among males in age groups 1, 2 and 3. However, the most evolved maturity stages appeared earlier and the least evolved stages disappeared more quickly for individuals in age groups 2 and 3.

Once the individuals were mature and in the gamete release emission period ([2500 ; +∞[DD), maturity stages A, B and C were absent ; maturity stage D was present only in field 1 among age group 1. In other words, the gonads in the reproduction phase consisted essentially of spermatids and spermatozoa, though other types of less-evolved sexual cells were present at the extreme periphery of the lobules.

The average I_G was very weak until 1000 DD (age group 1: 0.4; age groups 2-3: 0.2), then rose to the maximum level above 1750 DD (age group 1: 2.4; age groups 2-3: 1.9) (Fig. 2).

Figure 3 illustrates the evolution in the mean I_G according to the maturity profile of testicles which integrates all 3 observation fields. The various gonadal maturity profiles were ranked from the least to the most evolved.

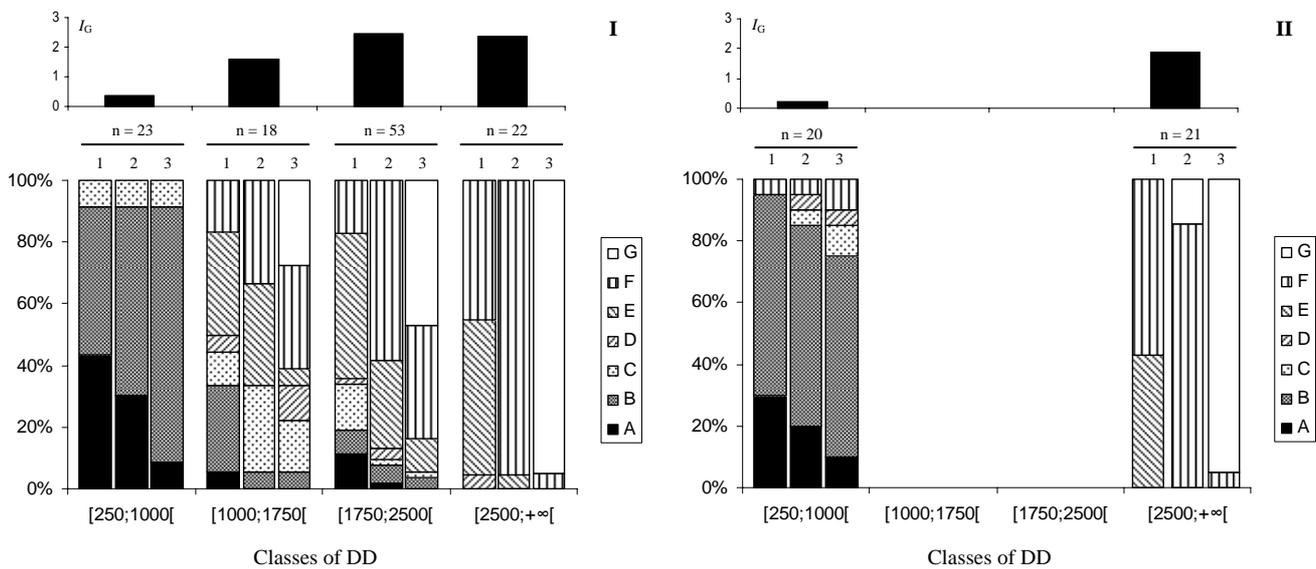


FIG. 2. Mean gonado-somatic index (I_G) values according to degree days (DD) in the Mirgenbach and distribution of gonadal maturity stages (A to G) characterizing each observation field (1 to 3: from the basal membrane to the efferent duct) among male pumpkinseed sunfish (n: number of individuals). I : Males in age group 1 ; II : Males in age groups 2 and 3 (during the intermediate periods, weak numbers were not represented).

The Spearman rank correlation coefficient between sexual maturity and I_G ($r_s = 0,7290$; $n = 157$) was significantly different from 0 ($p = 0,0000$); there was therefore an increasing monotone relation between the gonadal maturity profile and the corresponding I_G value. In other words, the I_G values rose along with the sexual development of the testicles. More precisely, up until the CCC stage, the I_G values were very weak (inferior to 1), with the exception of one individual, despite the presence of spermatozoa in field 3 (profiles ABF, AFF, BBF, BEF, BFF, BFG). Then they rose very clearly after the CDD profile, and the maximal values were observed for the most evolved profiles. Extreme I_G values, superior to 6, were observed for six individuals.

Hierarchical cluster analysis (HCA), based on Ward's criteria and the Euclidian distance calculated from the total length and I_G , allowed for a regrouping of 32 gonadal maturity

profiles into 4 distinct clusters (HCA clusters). These four clusters are shown in Figure 4. Cluster 1 (2, 3, 4 resp.) includes individuals whose total average length was 81 mm (105, 61 and 80 mm resp.) and whose mean I_G was 0.4 (0.8, 1.1 and 3.14 resp.).

Clusters 1 to 3 were divided into a large size ranges, from 52.5 to 132 mm on average, for a mean I_G value inferior to 2.5. Cluster 4 was characterized by higher mean I_G (2.5 to 5) for a less spread-out intermediary size range (76.5 to 87 mm).

Note that one individual belonging to HCA Cluster 1 presented characteristics (L_T and I_G) close to those of HCA Cluster 2. However, with regard to the weighted averages, it is not aberrant to consider this point as belonging to Cluster 1.

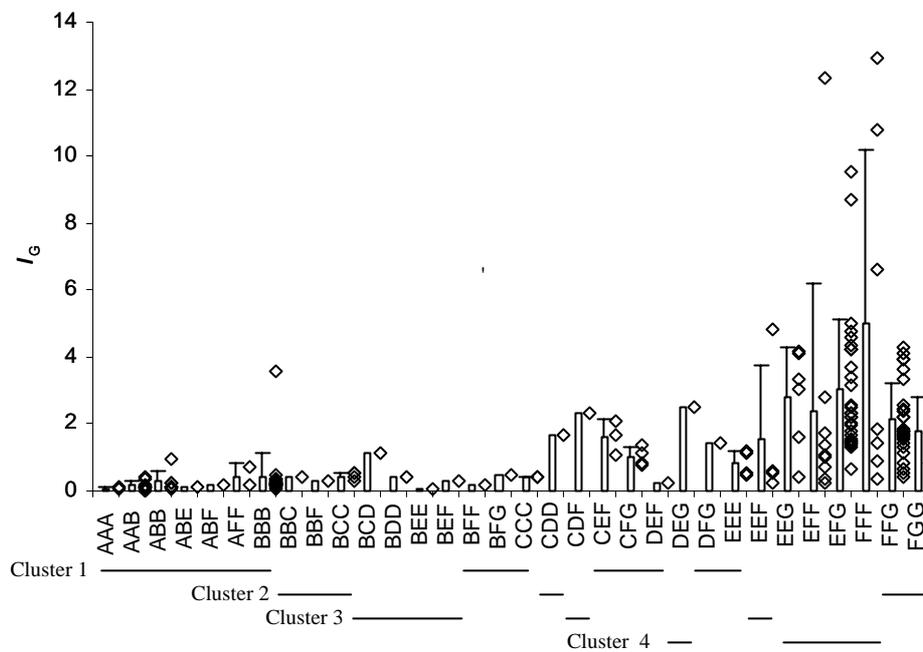


FIG. 3. Mean and individual gonado-somatic index (I_G) of the 157 males regrouped according to 32 gonadal maturity profiles (AAA, ... , FGG). The vertical bars correspond to mean I_G with standard deviation. The values for corresponding individuals can be found to the right. The horizontal bars correspond to the four HCA clusters as defined in the text.

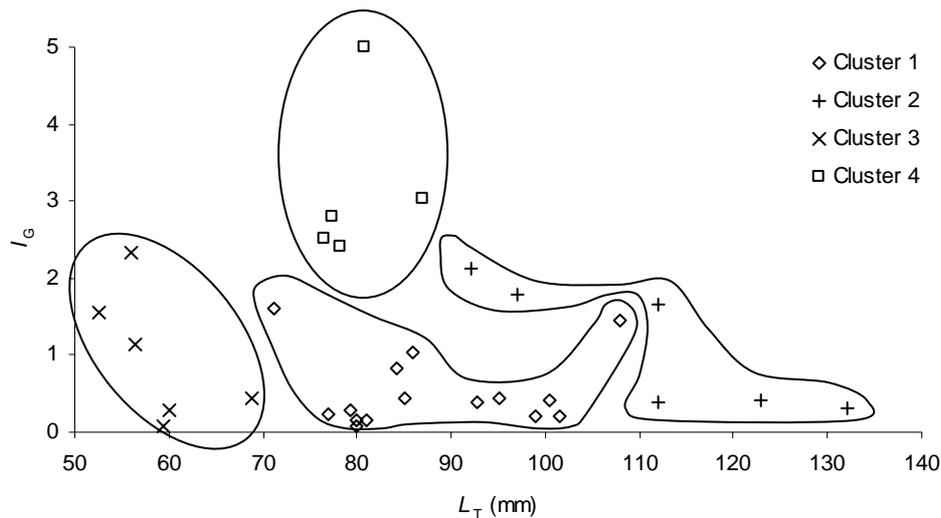


FIG. 4. Representation of Σ gonad maturity profiles (see below) according to total mean length (L_T) of males and mean gonado-somatic index (I_G). Regrouping of these profiles into four clusters is obtained from hierarchical cluster analysis (HCA):

Cluster 1 : AAA, AAB, ABB, ABE, ABF, AFF, BBB, BFF, BFG, CCC, CEF, CFG, DEF, DFG, EEE.

Cluster 2 : BBC, BBF, BDD, CDD, FFG, FGG.

Cluster 3 : BCC, BCD, BEE, BEF, CDF, EEF

Cluster 4 : DEG, EEG, EFF, EFG, FFF

The fields where spermatozoa were observed are in bold.

INDIVIDUAL VARIATIONS IN TESTICULAR DEVELOPMENT

The dispersion of individual I_G values allowed for the characterization of testicular development according to four HCA clusters previously described, with total length and the 4 periods defined by DD (Figure 5). A distinction was made between the “immature” individuals (white figures), whose gonads lacked spermatozoa, and the “mature” individuals (solid figures), which had spermatozoa. With the exception of HCA cluster 3 during the last period, all the HCA clusters are represented for each of the 4 periods being considered.

The proportion of mature individuals rose together with the increase in degree days. These individuals represented, during period 1, (periods 2, 3 and 4, resp.) 4.9 % (58.8, 84.9 and 100 %, resp.) of the group members. Even so, the I_G , which were very weak during the first period, rose with the degree days among the mature males, and in a more pronounced manner for the smaller ones, until period 3 during which the maximal I_G values were observed. Overall, the I_G maximums for mature males diminished with size. Over the course of period 4, small individuals exhibiting extreme I_G values disappeared. The I_G of fish without

spermatozoa declined between period 2 and period 3; during period 2, these I_G tended to progress with size. The minimal I_G for fish producing spermatozoa neared 0.3, while the maximal I_G of males lacking spermatozoa reached 1.65 (period 2).

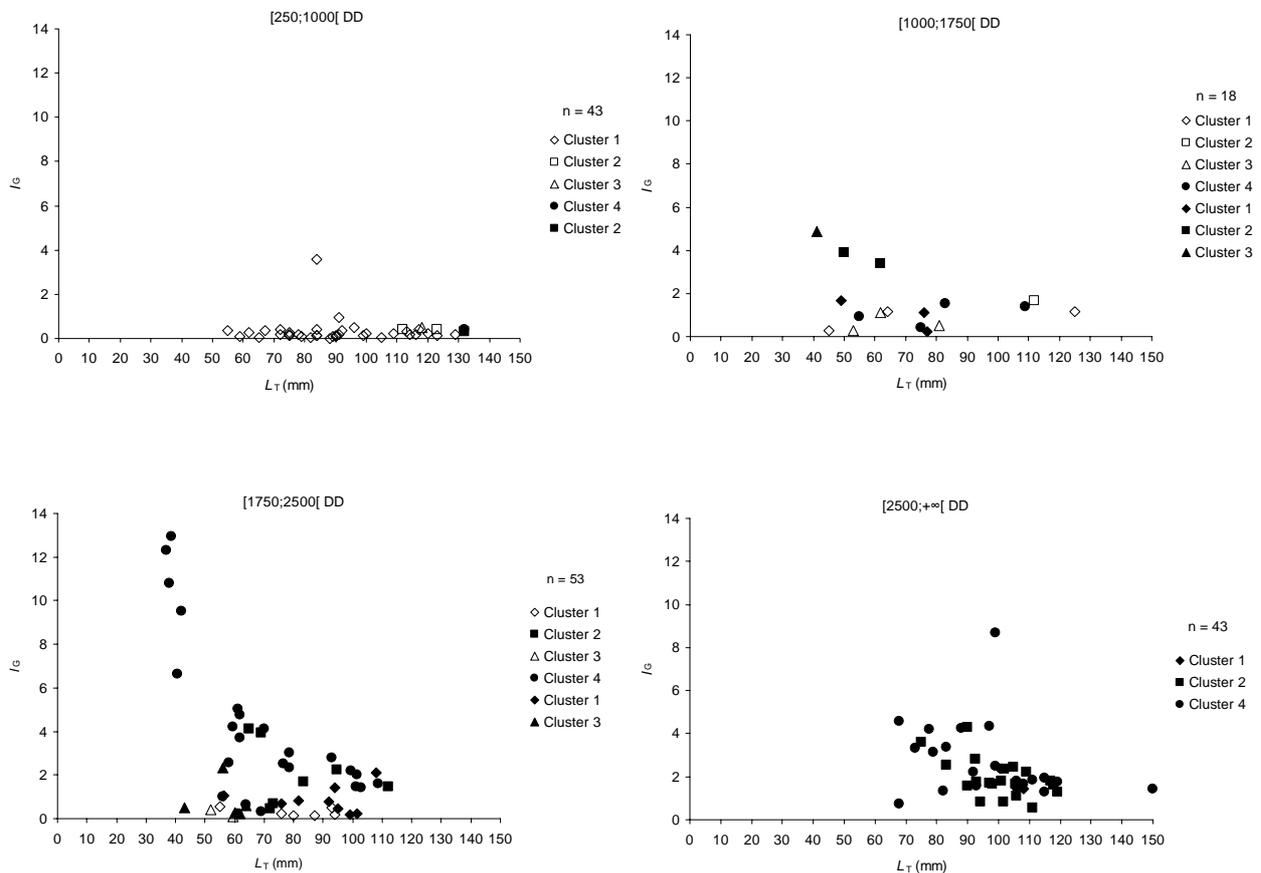


FIG. 5. Gonado-somatic index (I_G) of males according to total length (L_T), degree days (DD) and HCA clusters (1 to 4). (i) : Immature individuals (absence of spermatozoa) white figures; (m) : Mature individuals (presence of spermatozoa) solid figures; n: number of individuals.

During period 1, the first mature individuals belonged to age group 2 while those in age group 1 were immature. During period 2, ten males in age group 1 were mature; age group 3 was not caught and only two immature individuals from age group 2 were present. Starting with period 3, all the individuals having survived at least two winters were mature; the last of the immature ones belonged to age group 1.

More precisely, for each period of degree days, we observed that:

- Period 1 ([250 ; 1000[DD): the individuals measured from 55 to 132 mm. The largest ($n = 2$, $L_T = 132$ mm) belonged to HCA clusters 2 and 4 and to age group 2 and were the only ones to have spermatozoa. HCA cluster 1, which regrouped only immature individuals, formed the majority with 88 % of the group members.
- Period 2 ([1000 ; 1750[DD): the immature individuals belonged to HCA clusters 1 to 3 and to age groups 1 and 2 ($45 < L_T < 125$ mm), while the individuals carrying spermatozoa (HCA clusters 1 to 4) belonged to age group 1 and presented relatively short lengths ($41 < L_T < 109$ mm); the smallest ones had the highest I_G , at about 4. HCA clusters 1, 2, 3 and 4 were in equivalent proportions at 35.3, 17.6, 23.5 and 23.5 %, respectively.
- Period 3 ([1750 ; 2500[DD): three size classes were identified ($L_T < 45$ mm, $45 \leq L_T < 95$ mm, $L_T \geq 95$ mm). Individuals shorter than 45 mm ($n=6$) all produced spermatozoa, and they belonged to HCA cluster 3 ($I_G = 0.5$) and 4 ($6.6 < I_G < 12.9$). These extreme I_G values corresponded to gonadal maturity profiles EFF, EFG and FFF (Figure 3). Individuals longer than 95 mm ($n = 10$) also produced spermatozoa, and belonged to HCA clusters 1, 2 and 4, but their I_G were lower ($0.2 < I_G < 2.8$). Individuals who measured between 45 and 95 mm ($n=37$) regrouped the 4 HCA clusters and their maximal I_G were intermediate to those of the fish in the other two size classes. A group of immature individuals ($n = 8$) and mature ones ($n = 16$) covering the three size classes ($43 < L_T < 105$ mm) were distinguished by I_G values inferior to 0.5 for the immature individuals and to 1 for the mature individuals. HCA cluster 4, composed exclusively of adults, was the majority representing 45.3 % of the group, while HCA clusters 1, 2 and 3 represented 28.3, 13.2 and 13.2 %, respectively.
- Period 4 ([2500 ; $+\infty$ [DD): individuals measuring less than 60mm during the preceding period, some with extreme I_G values, which represented nearly 25% of fish captured ($n=14$ out of $N=53$), were missing from the catch. The males measured from 68 to 150 mm and all produced spermatozoa. Overall, the I_G comprised between 0.5 and 5, with the exception of a single male ($I_G = 8.7$). HCA cluster 2 and 4 formed the majority and represented 46.5 and 51.2 % of the group, respectively. However, HCA cluster 4, which regrouped only mature gonadal profiles contrary to the other HCA clusters, was preponderant among the individuals which had a total length inferior to 80 mm; among the individuals larger than 80 mm, the proportions of these two HCA clusters were equivalent.

DISCUSSION

In pumpkinseed, testicular lobules are of the “unrestricted” type as described by Grier (1993). However, there is a progression in cellular development from the testicular tunic towards the efferent duct, with the less evolved cellular types being closer to the periphery and the more evolved ones nearer the lumen. This structure led us to define 3 fields of observation spread along this gradient in order to characterize the gonadal maturity profiles, being freed from the tedious observation of all the histological cross sections. The surface distribution occupied by several cellular types served as an indicator of sexual maturity in each field. Thus, 32 gonadal maturity profiles were described thanks to a three-letter code corresponding to the maturity stages of the 3 testicular observation fields. This approach allowed us to take into account the heterogeneity of development within the gonad, at the same time by the cellular representation in a given field and by the complementarity of fields, contrary to maturity stages generally defined using macroscopic observation, microscopic observation of the most evolved cellular types present or cytological criteria (Fontana, 1969; Gupta, 1975; Naama *et al.*, 1986; Garcia-Diaz *et al.*, 1997; Arockiaraj *et al.*, 2004; El-Halfawy *et al.*, 2007).

Due to the multiplicity of testicular maturity profiles, the profiles were regrouped into four clusters using hierarchical cluster analysis according to total mean length and mean I_G of males belonging to different profiles. For pumpkinseed, it is recognized that I_G is not a good indicator of reproductive effort for males, contrary to females (Danylchuk and Fox, 1994). For other species as well, ovarian development is positively correlated to I_G (Brewer *et al.* 2008). In the current study, I_G values were statistically linked to gonadal maturity profiles defined through histological observation, which appears remarkable. Nevertheless, the regrouping of gonadal maturity profiles into HCA clusters did not allow for the identification of homogeneous sexual maturity levels (homogeneity of profiles): the individuals which had spermatozoa were present in each HCA cluster. This heterogeneity in stages of maturity and individual profiles within the HCA clusters can be explained by the fact that neighbouring I_G values could concern males which have not attained the same level of sexual development, or do not express the same strategy. Thus, males of various sizes with weak I_G can be mature, while a group of small mature individuals distinguish themselves by highly elevated I_G at the end of maturation-onset of reproduction ([1750 ; 2500[DD). This demarcation in I_G has already been observed in small males collected in the Mirgenbach between 2001 and 2003 (Dembski *et al.*, 2006). These small males favour precocious development of gonads to reach

adulthood quickly; this energy is allocated to the detriment of somatic growth and does not allow them to reach the size of larger males which opted for an opposing strategy (Dembski *et al.*, 2006). Both types of reproductive strategy have been observed for males of other species and have been the object of behavioural studies of *Lepomis macrochirus* (Gross and Charnov, 1980; Gross, 1991; Neff and Gross, 2001) and *Porichthys notatus* (Lee and Bass, 2004, 2006). The large males (i.e. parental males) are favoured for nest construction, mating with females and assuring the protection of their offspring contrary to small individuals (i.e. cuckolding males) which must fertilize females without the parental males knowledge (Gross, 1996). Applying these phenomena to the vital cycle scale, some males grow but remain immature and wait another year or more before entering the stock of adults. In the Mirgenbach, this phenomenon is perceptible in the trimester which precedes reproduction. If we exclude the case of cuckolding males, sexual maturation is not simultaneous for all individuals. Some males, particularly the largest ones, undergo precocious sexual development, whereas other males of intermediary size between the cuckolding ones and the largest nesters have testicular development which is deferred during the season. We can express the hypothesis that they only invest in sexual development when they benefited from post-hibernal growth and attained satisfactory dimensions before entering into maturation.

Pumpkinseed reproduction begins from the end of May to the beginning of June in the Mirgenbach Reservoir (Dembski *et al.*, 2006, 2008). At the beginning of the reproductive period ($DD > 2500$) in the current study, small cuckolding males were no longer present or discernible by an elevated I_G . Two hypothesis impose themselves: (1) these individuals invested in somatic growth instead and have grown since the preceding phase or (2) these individuals were chased away by larger males and/or disappeared. With regard to the I_G values, the maximum of which decreases in relation to total length, and size class ($70 < L_T < 120$ mm, with the exception of a 150 mm individual) during period 4, it is likely that individuals, about 40 mm during period 3, invested in somatic growth to go beyond 70 mm in size, with I_G values elevated yet inferior to the preceding extreme values ($2.5 < I_G < 6$ if we remove the maximal value). If this is the case, do these individuals keep on cuckolding or have they changed strategies? Complementary scales studies (unpublished data) have shown that the smallest individuals ($70 < L_T < 85$ mm) exhibit the highest marginal growth rates (growth since the last winter pause) at the beginning of the reproductive period ($DD > 2500$), which seems to support hypothesis 1. On the other hand, fish in age group 1 represent most of the mature males. They were born between June and the end of August of the year before (Dembski *et al.*, 2006). This reproductive duration generates a strong dispersion of sizes of young of the

year by the end of summer and in the fall, and extending into winter, which may be the source of these varying reproductive strategies: the cuckolded males could be the product of late reproduction, while the largest parental males in age group 1 could originate from the most precocious spawning.

The histological study of testicles showed that the first emissions of spermatozoa (presence of stage G) took place during the second period studied ([1000 ; 1750[DD) (i.e. end of March - beginning of May), which was precocious compared to females whose first emissions take place in the same environment between 1750 et 2500 DD (unpublished data : Valente *et al.*, 2008, submitted to *Journal of Fish Biology*). For the males of this species, few histological studies are available but the results coincide with those of pumpkinseed in the south of Europe. Gutiérrez-Estrada *et al.* (2000a) have estimated, using I_G variations, that the reproductive period begins in March for males and in April for females. It appears, then, that the rise in temperature in this reservoir, in creating thermal conditions approaching those found further south in Europe, results in precocious sexual maturation for males as compared to middle and northern European latitudes (Fox and Crivelli, 2001; Copp *et al.*, 2002; Villeneuve *et al.*, 2005; Copp and Fox, 2007).

In the Iberian Peninsula, Gutiérrez-Estrada *et al.* (2000a) have shown that individual males and females are mature in their second year of life, while in the Mirgenbach Reservoir they mature after just one year. The thermal balance in the Mirgenbach, due to the addition of warmed waters, favours individual growth and contributes to the precocious recruitment of male and female pumpkinseed which become adults at one year of age (Dembski *et al.*, 2006, current study). This sexual precocity during the vital cycle has been observed elsewhere in the Mirgenbach Reservoir for females (Dembski *et al.*, 2006; unpublished data: Valente *et al.*, 2008, submitted to *Journal of Fish Biology*) as well as for other species which also evolved in environments receiving heated water from nuclear plants (Luksiene and Sandström, 1994; Sandström *et al.*, 1997; Luksiene *et al.*, 2000). This strategy allows species with batch spawning such as the pumpkinseed to have a longer reproductive period which permits their progeny to benefit from optimal environmental conditions for survival (Leonardos and Sinis, 1998; Galloway and Munkittrick, 2006). This species adopts a type “r” strategy which looks for the highest possible rate of multiplication. The success of this strategy rests on precocious sexual maturity, elevated fertility, a short life span and the high energy investment in reproduction at the origin of small adult sizes and reduced longevity (Barbault, 1987). Males collected in the Mirgenbach reach 3 years of age (Dembski *et al.*, 2006; current study).

So, the Mirgenbach Reservoir provides a conjunction of specific conditions generating rapid growth and precocious sexual maturation in males and females (recruitment in age group 1). The annual thermal assessment accords the system conditions which are more typical further south in Europe. However, sexual maturity in the Mirgenbach is more precocious in the vital cycle (one year of age) but not in the seasonal cycle (reproduction from June to the end of August in the Reservoir compared to April to May in the south of Spain). The question must be asked about the causes of this divergence. At equivalent temperatures, reproduction occurs earlier south of the geographic zone where the stock made up of older adults does not depend on recruitment of year-old fish, or their springtime growth to achieve adult status. In the Mirgenbach Reservoir, the long period of reproduction during the late spring and summer (late May to late August) would permit the age group one individuals, which growth in spring, to invest later in gonad growth, and then enter into the reproductive process. In males, this early heating does not influence adult status for the largest adults, or initial determination of cuckolders, but acts on recruitment of fish of intermediate size thanks to favourable somatic growth conditions, or even changes in the status of cuckolding individuals which could become potential nesters. It must be noted that in this environment, weak longevity limits the range in sizes of reproducing males and makes the presence of fish larger than 120mm sporadic. A similar phenomenon takes place in females in age group 1; in the months preceding reproduction, the smallest females enter into maturation later than the largest females, a strategy which allows them to gain somatic mass but probably induces the spreading out of reproduction (Dembski *et al.*, 2006).

In order to shed light upon different adaptive strategies in an invasive species (precocity in sexual maturity, weak longevity) in response to water warming in a context of global climate change, further studies will be undertaken in the catchment area of the Moselle River. This limited geographic zone has the originality of being populated with pumpkinseed subjected to a thermal gradient growing from upstream to downstream, thus allowing us to simulate the latitudinal variations in temperature at the origin of different reproductive strategies adopted by mesotherme or thermophile species, and to compare the biological traits expressed with those found in the over-heated Mirgenbach system.

Acknowledgements

This study was undertaken with support from the *Association National Recherche Technologie* (CIFRE grant) and the *NANCIE-Centre International de l'Eau*. We would like to thank the *CNPE* of Cattenom-EDF for granting access to their site and their assistance, as well as the *ONEMA de la Délégation Régionale 3 (Champagne-Ardennes- Lorraine-Alsace)* for help with electronic fishing.

References

- Alavi, S., M., H., Cosson, J. J., Coward, K. & Rafiee, G. (2008). *Fish Spermatology*. Alpha Science International Ltd. Oxford, U.K. p. 484.
- Arockiaraj, A., Haniffa, M. A., Seetharaman, S. & Singh, S. (2004). Cyclic changes in gonadal maturation and histological observation of threatened freshwater catfish 'Narikeliru' *Mystus montanus* (Jerdon, 1849). *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **34**, 253–266.
- Bagliniere, J.L. & H. Le Louarn (1987) Scale characteristics of the main fresh-water fish species. In: *France. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* **306**, 2–39.
- Barbault, R. (1987). Are r-selection and k-selection still operative concepts? *Acta Oecologica-Oecologia Generalis* **8**, 63–70.
- Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Development Nutrition* **26**, 877–920.
- Billard, R., Bry, C. & Gillet, C. (1981). Stress, environment and reproduction in teleost fish. In : *Stress and fish* (Pickering A.D., eds), pp. 185–208. London: Academic Press.
- Billard, R., Fostier, A., Weil, C. & Breton, B. (1982). Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **39**, 65–79.
- Brewer, S. K., Rabeni, C. F. & Papoulias, D. M. (2008). Comparing histology and gonadosomatic index for determining spawning condition of small-bodied riverine fishes. *Ecology of Freshwater Fish* **17**, 54–58.
- Callard, G. V. (1991). Spermatogenesis. In: *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*, Vol. 4A, pp. 303–341, Academic Press, San Diego.

- Carrasson, M. & Bau, M. (2003). Reproduction and gonad histology of *Aidablennius sphinx* (Pisces: Blenniidae) of the Catalan Sea (northwestern Mediterranean). *Scientia Marina* **67**, 461–469.
- Carrel, G., Crivelli, A. J. & Fox, M. G. (2001). La perche soleil *Lepomis gibbosus* (Linné, 1758). In : *Atlas des poissons d'eau douce de France* (Keith, P. & Allardi, J., eds), pp.322–323. Paris: MNHN.
- Copp, G. H. & Fox, M. G. (2007). Growth and life history traits of introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in Europe, and the relevance to its potential invasiveness. In: *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats* (Springer Netherlands, eds), pp. 289–306.
- Copp, G. H., Fox, M. G. & Kovac, V. (2002). Growth, morphology and life history traits of a cool-water European population of pumpkinseed *Lepomis gibbosus*. *Archiv für Hydrobiologie* **155**, 585–614.
- Danylchuk, A. & Fox, M. G. (1994). Seasonal reproductive patterns of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) populations with varying body size characteristics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**, 490–500.
- Dembski, S., Masson, D., Wagner, P. & Pihan, J. C. (2008). Habitat Use by YOY in the Littoral Zone of an Artificially Heated Reservoir. *International Review of Hydrobiology* **93**, 243–255.
- Dembski, S., Masson, G., Monnier, D., Wagner, P. & Pihan, J. C. (2006). Consequences of elevated temperatures on life-history traits of an introduced fish, pumpkinseed *Lepomis gibbosus*. *Journal of Fish Biology* **69**, 331–346.
- Dodd, J. M. (1986). The Ovary. In: *Vertebrate Endocrinology: The Fundamentals and Biochemical Implications*, Vol. 1, pp. 351-397, Academic Press, San Diego.
- Dziewulska, K & Domagala, J. (2003). Histology of salmonid testes during maturation. *Society for Biology of Reproduction* **3**, 47–61.
- El-Halfawy, M. M., Ramadan, A. M. & Mahmoud, W. F. (2007). *Egyptian Journal of Aquatic Research* **33**, 434–454.
- Flesch, A., Masson, G. & Moreteau, J. C. (1994). Comparaison de trois méthodes d'échantillonnage utilisées dans l'étude de la répartition de la perche (*Perca fluviatilis*) dans un lac-réservoir. *Cybium* **18**, 39–56.
- Fontana, A. (1969). Etude de la maturité sexuelle des sardinelles *Sardinella eba* (Val) et *Sardinella aurita* C. et V. de la région de Pointe-Noire. Cahier O.R.S.T.O.M., série Océanographie, vol. VII, no 2.

- Fox, M. G. & Crivelli, A. J. (2001). Life history traits of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) populations introduced into warm thermal environments. *Archiv für Hydrobiologie* **150**, 561–580.
- Gabe, M. (1968). Techniques histologiques (Masson eds). Paris.
- Gajdusek (J.), Astrauska (A.), Virbickas (J.), Lucksiene (D.) & Misuniene (D.) (1987). The ecology of bream in the cooling reservoir of a Lithuanian Thermal power station. *Acta scientiarum naturali Academiae scientiarum bohemoslovacae- Brno*, **21**, 1–36.
- Galloway, B. J. & Munkittrick, K. R. (2006). Influence of seasonal changes in relative liver size, condition, relative gonad size and variability in ovarian development in multiple spawning fish species used in environmental monitoring programmes. *Journal of Fish Biology* **69**, 1788–1806.
- Garcia-Diaz, N. M., Tuset, V. M., Gonzalez, J. A. & Socorro, J. (1997). Sex and reproduction aspects in *Serranus cabrilla* (Osteichthyes: Serranidae): macroscopic and histological approaches. *Marine Biology* **127**, 379–386.
- Grier, H. J. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *American Zoologist* **21**, 345–357.
- Grier, H. J. (1993). Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. In: *The Sertoli Cell* (ed. By Russell, L. D. & Griswold, M. D.). pp. 704–730. Cache River Press, Clearwater, Florida.
- Gross, M. R. & Charnov, E. L. (1980). Alternative male life histories in bluegill sunfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **77**, 6937–6940.
- Gross, M. R. (1991). Evolution of alternative reproduction strategies: frequency-dependant sexual selection in male bluegill sunfish. *Philosophical Transactions: Biology Sciences* **332**, 59–66.
- Gross, M. R. (1996). Alternative reproduction strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends Ecology Evolution* **11**, 92–8.
- Gupta, S. (1975). The development of carp gonads in warm water aquaria. *Journal of Fish Biology* **7**, 775–782.
- Gutiérrez-Estrada, J. C., Pulido-Calvo, I. & Fernandez-Delgado, C. (2000a). Age-structure, growth and reproduction of the introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosa*, L. 1758) in a tributary of the Guadalquivir River. *Limnetica* **19**, 21–29.
- Gutiérrez-Estrada, J. C., Pulido-Calvo, I. & Prenda, J. (2000b). Gonadosomatic index estimates of an introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) population in a

- Mediterranean stream, using computational neural network. *Aquatic Sciences* **62**, 350–363.
- Lappalainen, J. & Tarkan, A. S. (2007). Latitudinal gradients in onset date, onset temperature and duration of spawning of roach. *Journal of Fish Biology* **70**, 441–450.
- Lappalainen, J., Dörner, H. & Wysujack, K. (2003). Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)): a review. *Ecology of Freshwater Fish* **12**, 95–106.
- Lee, J. S. F. & Bass, A. H. (2004). Does exaggerated morphology preclude plasticity to cuckoldry in the midshipman fish (*Porichthys notatus*)? *Naturwissenschaften* **91**, 338–341.
- Lee, J. S. F. & Bass, A. H. (2006). Dimorphic male midshipman fish: reduced sexual selection or sexual selection for reduced characters? *Behavioral Ecology* **17**, 670–675.
- Leonardos, I. & Sinis, A. (1998). Reproductive strategy of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons. (W. Greece). *Fisheries Research* **35**, 171–181.
- Luksiene, D. & Sandström, O. (1994). Reproductive disturbance in a roach (*Rutilus rutilus*) population affected by cooling water discharge. *Journal of Fish Biology* **45**, 613–625.
- Luksiene, D., Sandström, O., Lounasheimo, L. & Andersson, J. (2000). The effects of thermal effluent exposure on the gametogenesis of female fish. *Journal of Fish Biology* **56**, 37–50.
- Martoja, R. & Martoja-Pierson, M. (1967). *Initiation aux techniques de l'histologie animale* (Masson eds). Paris.
- Murua, H., Kraus, G., Saborido-Rey, F., Witthames, P. R., Thorsen, A. & Jonquera, S. (2003). Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* **33**, 33–54.
- Naama, A. K., Ahmed, H. A. & Al-Adhub, A. H. Y. (1986). Aspects of reproduction of the mullet *Liza abu* (Heckel) (Pisces, Mugilidae) in Al-Hammar Marsh, Iraq. *Cybiurn* **10**, 47–55.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. In: *Fish Physiology IX B*, (Eds. Hoar, W. S., Randall, D. J. & Donaldson, E. M.). pp 223–275. Academic Press, New York.
- Neff, B. D. & Gross, M. R. (2001). Dynamic adjustment of parental care in response to perceived paternity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **268**, 1559–1565.

- Regier, H.A. (1962) Validation of the scale method for estimating age and growth of bluegills. *Transactions of the American Fisheries Society* **91**, 362–374.
- Rocha, M. J., Arukwe, A. & Kapoor, B. G. (2008). *Fish Reproduction*. Science Publishers, Enfield, NH, USA. pp. 629.
- Sandström, O., Abrahamsson, I., Andersson, J. & Vetemaa, M. (1997). Temperature effects on spawning and egg development in Eurasian perch. *Journal of Fish Biology* **51**, 1015–1024.
- Schulz, R. W. & Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiology and Biochemistry* **26**, 43–56.
- Strange, R. J. (1996). Field examination of fishes. In: *Murphy, B. R. & Willis, D. W., eds. Fisheries Techniques*, 2nd eds. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, pp 433–446.
- Takashima, F. & Hibiya, T. (1995). *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features*. (Eds, Takashima, F. & Hibiya, T). p. 195. Fischer, Stuttgart.
- Tarkan, A. S. 2006. Reproductive ecology of two cyprinid fishes in an oligotrophic lake near the southern limits of their distribution range. *Ecology of Freshwater Fish* **15**, 131–138.
- Thorsen, A., Marshall, C. T. & Kjesbu, O. S. (2006). Comparison of various potential fecundity models for north-east Arctic cod *Gadus morhua*, L. using oocyte diameter as a standardizing factor. *Journal of Fish Biology* **69**, 1709–1730.
- Van Der Kraak, G. & Pankhurst, N. W. (1996). Temperature effects of the reproductive performance of fish. In *Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish* (McDonald, G. & Wood, C. M., eds), pp. 159–176. Cambridge: Cambridge University Press.
- Vein, D., Gigueux, M., Flesch, A., Pierre, J. F., Marzou, R. & Pihan, J. C. (1990). Trophic evolution of a reservoir with overheated waters: nuclear power station at Cattenom, Moselle, eastern France. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology* **27**, 87–98.
- Villeneuve, F., Copp, G. H., Fox, M. G. & Stakenas, S. (2005). Interpopulation variation in growth and life-history traits of the introduced sunfish, pumpkinseed *Lepomis gibbosus gibbosus*, in southern England. *Journal of Applied Ichthyology* **21**, 275–281.
- Vinot, I. & Pihan, J.C. (2005) Circulation of copper in the biotic compartments of a freshwater dammed reservoir. *Environmental Pollution* **133**, 169–182.

- Vizziano, D., Fostier, A., Loir, M. & Le Gac, F. (2008). Testis Development, its Hormonal Regulation and Spermiation Induction in Teleost Fish. In: *Fish Spermatology*. Alpha Science International Ltd. Oxford, U.K. pp 103–139.
- Wood (C.M.) & McDonald (D.G.) 1997. Global warming: implications for freshwater and marine fish. Society for Experimental Biology. Seminar Series 61, 425 p. Cambridge University Press.

DISCUSSION
&
CONCLUSION

Dans le contexte des changements globaux, les traits de vie d'une espèce à potentialité invasive, la perche soleil, ont été étudiés dans un plan d'eau aux eaux échauffées, le réservoir artificiel du Mirgenbach, annexe hydraulique de la centrale électronucléaire de Cattenom (Rivière Moselle). Une attention particulière a été portée sur sa stratégie de reproduction dans ce milieu singulier. Le milieu se caractérise par l'absence de stratification (Vein *et al.*, 1990), malgré une profondeur maximale de 20 m, une bonne oxygénation de la colonne d'eau, une conductivité et une dureté élevées, et enfin une contamination cuprique (Vinot et Pihan, 2005 ; Maazouzi *et al.*, 2008).

La perche soleil, espèce originaire du continent nord américain et introduite en Europe à la fin du 19^{ème} siècle (Vooren, 1972 ; Scott et Crossman, 1973), est considérée comme invasive dans le sud et le centre de l'Europe (Villeneuve *et al.*, 2005). Elle est présente dans 28 pays d'Europe et d'Asie mineure. Dans le réservoir du Mirgenbach, la présente étude met en évidence qu'elle constitue un modèle très intéressant pour rechercher les conséquences d'un réchauffement climatique global. De par son usage industriel, et le transit des eaux échauffées, ce plan d'eau présente un écart thermique, avec le milieu naturel (rivière Moselle), de +6°C en hiver, +3°C au printemps et +0,5°C en été. Cette gamme de température est concordante avec les prédictions établies dans le cadre du réchauffement global, à savoir entre +1 et +6°C d'ici la fin du 21^{ème} siècle (I.P.C.C., 2007).

Dans ce plan d'eau, les populations de poissons sont confinées depuis des générations, ce qui permet l'étude à long terme des effets thermiques sur les traits de vie de la perche soleil, présente depuis 1991 (Flesch *et al.*, 1994), et particulièrement sur sa reproduction.

Pour l'étude de la reproduction, les stades de maturité sexuelle sont identifiés à partir d'observations histologiques originales, parallèlement à l'étude, plus fréquemment effectuée, de l'indice gonado-somatique (IGS). Conformément à Brewer *et al.* (2008) qui ont démontré la forte corrélation entre l'IGS et les stades de maturité gonadique, définis à partir d'observations histologiques chez des femelles de poissons continentaux, les stades de maturité ovarienne que nous avons définis chez la perche soleil présentent la même corrélation. En ce qui concerne les mâles de perches soleil, nous avons mis en évidence que l'IGS n'est pas un bon indicateur de la maturation sexuelle, ni de la période de reproduction, il existe un lien indéniable mais l'intensité de ce lien est médiocre, ce qui est en accord avec

les travaux de Danylchuk et Fox (1994). En effet, il apparaît que les mâles des espèces nidifiantes présentant deux stratégies de reproduction, avec des petits mâles cocufiants et des grands mâles nidifiants, les premiers ayant des IGS très élevées, et précoces dans le cycle annuel, contrairement aux mâles nidifiants. Pour améliorer l'usage de l'IGS dans la caractérisation de la maturation sexuelle des mâles, il serait judicieux de séparer les mâles cocufiants des mâles nidifiants.

L'étude histologique a été entreprise pour décrire l'évolution des cellules sexuelles pendant la gamétogenèse et établir une codification dans les états successifs d'évolution de la maturité sexuelle. Cette étude visait également la recherche d'anomalies ovocytaires (atrésie, noyaux multiples, hermaphrodisme) telles que celles décrites par Luksiene et Sandström (1994), Sandström *et al.* (1997) et Luksiene *et al.* (1999) chez la perche fluviatile et le gardon dans des sites recevant également des eaux échauffées de centrales nucléaires. Dans le site du Mirgenbach, à part un cas d'hermaphrodisme parmi 319 individus (mâles et femelles confondus), aucune anomalie de la gamétogenèse n'a été décelée aux échelles cellulaires, ni tissulaires.

En ce qui concerne l'ovogenèse, il nous a fallu tout d'abord, après une description de l'évolution des cellules sexuelles, établir ensuite une codification des stades de maturité sexuelle. La description de l'évolution des cellules, originale pour la perche soleil, reprend les différents stades connus chez d'autres espèces de poissons, conformément aux travaux de Stahl et Leray (1961), Fontana (1969), Gupta (1975), Wallace et Selman (1981), De Moussac (1986), Deniel (1989), Le Duff *et al.* (1996), Gaamour (1999), Carrasson et Bau (2003).

La détermination de l'état de maturité ovarienne se réfère à ces stades cellulaires mais selon des critères variables ; par exemple Beelen *et al.* (1998) caractérisent le stade de maturité des individus par l'identification de la cellule sexuelle la plus évoluée. Dans la présente étude, les six stades ovariens de maturation sexuelle (codification de A à F) ont été définis en référence aux types cellulaires présents et les surfaces relatives, exprimées en pourcentages, qu'ils occupent dans une coupe histologique transversale d'ovaire, ce qui permet de préciser par des données numériques originales, les différents états de la maturité ovarienne ainsi que leur évolution. Les stades de repos sexuel, de maturation, et de reproduction (émission des gamètes) sont décelables et parfaitement définis par ce codage qui, associé à l'analyse des IGS, a permis un diagnostic précis du développement ovarien au cours de l'ovogenèse.

Nous avons apporté la preuve histologique que la reproduction des femelles de perche soleil est de type « batch spawner », c'est-à-dire à ponte fractionnée avec un développement asynchrone des ovocytes. Nous adhérons à l'avis que cette stratégie, favorisée en présence d'un milieu échauffé (Luksiene & Sandstrom, 1994 ; Sandstrom *et al.* 1997), induit une période de reproduction plus longue que celle des espèces à ponte unique, et permet de ce fait, une meilleure survie des jeunes de l'année en fonction des conditions favorables du milieu (Galloway et Munkittrick, 2006 ; Lappalainen et Tarkan, 2007).

Dans le réservoir du Mirgenbach, et sur la base des observations histologiques, nous confirmons que la période de reproduction est tardive dans le cycle annuel par rapport aux autres espèces, mais qu'il convient d'anticiper celle-ci au mois de mai plutôt que dans l'intervalle juin-août fixé par Dembski *et al.* (2006). En ce qui concerne l'occupation spatiale, les espèces de poissons les plus abondantes peuplant le réservoir (perche, sandre, gardon, brèmes commune et bordelière, grémille) entrent en maturation en automne et se reproduisent au printemps (Masson *et al.*, sous presse), de ce fait, la perche soleil profite d'un espace laissé vacant pour réaliser son cycle biologique (Dembski *et al.*, 2008).

En ce qui concerne la spermatogenèse, l'étude a en premier lieu porté sur la structure du testicule. Celui-ci est composé, à la périphérie et sous la tunique du testicule, de lobules de type 'non structuré' ou 'unrestricted' décrits par Grier (1993). Dans ce type on observe une progression du développement cellulaire du stade le moins évolué en périphérie du lobule, au stade le plus évolué dans la lumière lobulaire. La zone périphérique se poursuit par une zone de connexions inter-lobulaires confluant avec de nombreuses dilatations vers le canal efférent. Cette structure tripartite nous a conduits à définir trois champs d'observations répartis selon ce gradient afin de caractériser des profils de maturité gonadique. Dans chaque champ, le stade de maturité est identifié en se référant à sept états de maturité notés de A à G. La combinaison des trois champs, sous forme de triplet, exprime, par exemple, soit un état général de repos sexuel AAA, soit une spermiation totale, FGG, avec respectivement, de gauche à droite, l'état de maturité du champ périphérique, de l'intermédiaire et de la confluence avec le canal efférent.

Cette approche permet de tenir compte de l'hétérogénéité de développement au sein du testicule, à la fois par la représentation cellulaire dans un champ, exprimée en pourcentage

de recouvrement, et par la complémentarité des champs. Cette approche est novatrice par rapport à la définition de stades de maturité à partir de la seule observation macroscopique, du type cellulaire le plus évolué présent ou de critères cytologiques (Fontana, 1969 ; Gupta, 1975 ; Naama *et al.*, 1986 ; Garcia-Diaz *et al.*, 1997 ; Arockiaraj *et al.*, 2004 ; El-Halfawy *et al.*, 2007).

Chez les mâles, contrairement aux femelles, la confrontation des IGS avec les profils de maturité gonadique met en évidence la difficulté de retenir cet indice comme un bon indicateur de l'effort de reproduction chez les mâles, et ce, malgré l'existence d'un lien monotone statistiquement avéré entre les stades de maturité gonadique et les valeurs d'IGS. Un cas particulier est celui d'individus mâles du groupe d'âge 1, de petite taille et se démarquant par des IGS très élevés (6 à 14) en fin de maturation. Nous proposons comme interprétation que ces jeunes mâles cocufiants investissent dans le développement des gonades au détriment de la croissance somatique. Nous avons observé que les mâles des groupes d'âge 2 et 3 adoptent la même stratégie que les femelles en développant un investissement somatique préalablement à l'effort de reproduction. Il est cependant difficile de suivre l'évolution individuelle de chaque poisson et, par exemple, d'interpréter l'absence des petits mâles cocufiants au début de la période de reproduction. Nous formulons deux hypothèses restant à confirmer : leur disparition par compétition avec les mâles les plus grands, ou, l'évolution de leur statut de cocufiant à nidifiant par investissement accéléré dans la croissance somatique. L'analyse préliminaire des taux d'accroissement marginal paraît corroborer cette hypothèse. Postérieurement à l'hiver et jusqu'à la reproduction, les animaux bénéficient d'un gain de croissance somatique tout en investissant dans le développement sexuel. Pour autant, quelles sont les causes d'une présence de mâles potentiellement nidifiants et cocufiants parmi les perches soleil nées l'année antérieure ? La durée de reproduction étant longue, il se peut que les mâles cocufiants soient issus des reproductions tardives, alors que les plus grands mâles proviendraient des pontes les plus précoces. Les premières productions de spermatozoïdes ayant lieu en avril, il s'avère que la spermiation est plus précoce que l'ovulation, qui débute en mai.

L'adaptation de la perche soleil (mâles et femelles) dans le réservoir du Mirgenbach peut se résumer à une maturation et une reproduction précoces, à un âge de maturité précoce (1 an), une longévité écourtée (3 ans au lieu de 3 à 9 ans dans d'autres sites d'Europe non échauffés (Copp et Fox, 2007)), une taille à maturité, et une longueur infinie faibles. Ces traits

de vie, différents de ceux observés dans sa région native, permettent à cette espèce de dominer la zone littorale du réservoir du Mirgenbach (Dembski *et al.*, 2008).

Il apparaît que l'élévation de température dans le réservoir, en créant des conditions thermiques proches de celles du sud de l'Europe engendre une maturation sexuelle précoce par rapport aux latitudes moyennes et du nord de l'Europe (Fox et Crivelli, 2001 ; Copp *et al.*, 2002 ; Villeneuve *et al.*, 2005 ; Copp et Fox, 2007).

Au nord de l'Europe, les populations sont exposées à un bilan thermique annuel plus faible qu'au centre et au sud de l'Europe. Cette exposition retentit sur la croissance individuelle. En conséquence, à l'âge de 2 ans, il existe une grande variabilité pour les tailles moyennes atteintes, de 50 mm à près de 100 mm (Figure 55, Villeneuve *et al.*, 2005). L'acquisition de la maturité sexuelle reste dépendante de la croissance individuelle pendant les stades immatures. Elle intervient entre l'âge d'un et quatre ans pour les populations prises en compte dans la figure. Le recrutement le plus tardif concerne les poissons à croissance lente (populations d'Angleterre) et le plus précoce le Mirgenbach. L'échauffement des eaux dans ce réservoir induit l'expression de traits biologiques attendus dans un territoire beaucoup plus au sud.

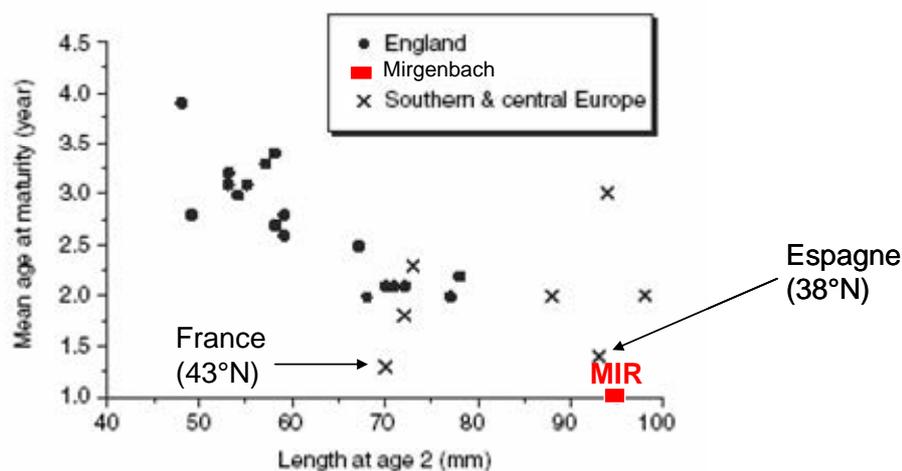


Figure 55 : Age moyen à maturité selon le taux de croissance juvénile (longueur totale moyenne à deux ans) pour 19 populations du sud de l'Angleterre (●), des populations du centre et du sud de l'Europe (x) ainsi que du Mirgenbach (■) (complété d'après Villeneuve *et al.*, 2005). Pour le Mirgenbach, l'âge de maturité a été défini par Dembski *et al.* (2006) et la taille moyenne a été calculé à partir de l'échantillon de la présente étude (mai 2004 à juillet 2005).

Cette stratégie de reproduction dans le réservoir du Mirgenbach permet-elle de considérer cette espèce comme invasive ou proliférante ? D'après la figure 56, basée sur l'étude de plusieurs populations de perches soleil en Europe, il apparaît qu'un investissement somatique (croissance) important, accompagné d'une maturité sexuelle précoce, confèrent aux populations un caractère invasif. Les populations représentées à gauche de la bande grisée vivent au nord de l'aire de répartition en Angleterre, celles qui sont placées à droite concernent le sud et l'est de l'Europe ainsi que le Mirgenbach. La stratégie de reproduction adoptée par la perche soleil dans le réservoir du Mirgenbach doit-elle permettre de classer l'espèce comme invasive ou proliférante ? Dans ce site isolé du milieu naturel, les perches soleil bénéficient d'un espace laissé vacant en zone littorale par les autres espèces piscicoles (Dembski *et al.*, 2008), et il n'est pas avéré que cette espèce induit des perturbations du milieu.

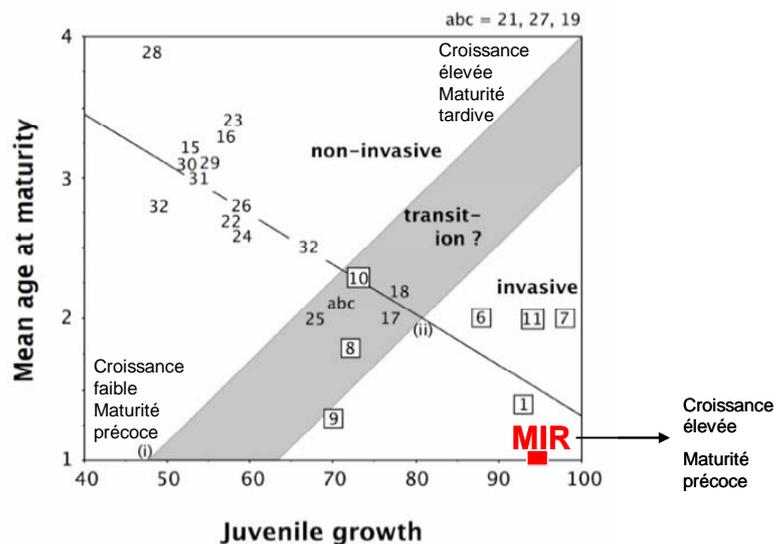


Figure 56 : Age moyen à maturité (en années) selon le taux de croissance juvénile (longueur totale moyenne à deux ans). Chaque nombre représente une population d'Europe et les nombres encadrés correspondent aux régions où cette espèce est considérée comme invasive. La phase de transition, entre le caractère non-invasif et invasif, est définie théoriquement par l'âge minimum de maturité (i) et la fin de la croissance juvénile qui est généralement de deux ans (ii) en traçant des droites à 45° (complété d'après Copp et Fox, 2007). La situation de la retenue du Mirgenbach est indiquée sur l'axe des abscisses.

En prenant en compte les caractéristiques exprimées par la perche soleil dans cet espace, elle peut être considérée comme thermophile. Si l'on prend en compte l'évolution des

populations de poissons depuis la mise en eau en 1985, les espèces thermophiles (perche soleil, brème bordelière, rotengle) semblent mieux s'adapter aux conditions du milieu que les espèces mésothermes d'eau tiède (perche fluviatile, sandre, gardon) en régression depuis quelques années au profit des brèmes bordelières et communes en zone pélagique et de la perche soleil en zone littorale (Tableau III) (Masson *et al.*, sous presse).

La reproduction dépendant principalement de la température, de la photopériode et de la ressource alimentaire (Bieniarz *et al.*, 1977 ; Davies et Hanyu, 1986a,b ; Jobling, 1993 ; Koger *et al.*, 1999 ; Sherwood *et al.*, 2002 ; Migaud *et al.*, 2003 ; Yoneda et Wright, 2005). La pérennité, dans l'avenir, de la ressource alimentaire pour la perche soleil semble mise en péril par l'effondrement des herbiers qui constituent des zones de refuge et de confinement des alevins (Dembski *et al.*, 2008). En outre, la biodiversité évolue avec la disparition de certains taxons remplacés par d'autres, le plus souvent de caractère exotique, proliférant, et qui sont dominants dans la zone littorale. Il semble, d'une manière générale, que les espèces exotiques, quelle que soit leur place dans le réseau trophique, aient la capacité de s'adapter aux conditions du milieu et d'en tirer profit par rapport aux espèces « endémiques ». Par exemple, parmi les taxons invasifs du macrobenthos, présents en 2005 (*Cordylophora*, *Physa acuta*, *Potamopyrgus*, *Dreissena polymorpha*, *Corophium*, *Dikerogammarus*, *Atyaephyra* et *Orconectes*), trois taxons ont disparu (*Physa acuta*, *Potamopyrgus*, *Corophium*) et une espèce est en régression (*Dreissena polymorpha*) ; par ailleurs trois espèces sont apparues (*Gammarus tigrinus*, *Orchestia cavimana* et *Hemimysis anomala*). Ces dernières peuvent, en association avec les *Chironomidae*, représenter une ressource alimentaire pour la perche soleil.

La perche soleil constitue donc un maillon dans ce réseau trophique d'espèces exotiques qui se succèdent dans le réservoir sans que sa présence n'ait révélé de nuisance notable. **Pour cette raison**, bien qu'étant considérée comme invasive dans le Nord-Est de la France, **il convient de la considérer comme proliférante dans la retenue du Mirgenbach.**

L'étude scalimétrique a révélé l'existence d'un fort accroissement marginal des écailles lorsque débute la reproduction des adultes à l'âge d'un an (Figure 35). Des analyses complémentaires devront être conduites pour déterminer les rôles respectifs de la croissance somatique et germinale lors des premiers (été, automne) et second semestres (hiver, printemps) sur la démographie.

Parmi les perspectives envisagées et afin d'éclairer les stratégies adaptatives de la perche soleil (précocité de la maturité sexuelle, faible longévité) (Tableau IV) en réponse à un échauffement des eaux dans un contexte de changement climatique global, des études actuellement en cours et auxquelles nous avons participé seront poursuivies dans le bassin versant de la Moselle. Cette aire géographique restreinte présente l'originalité d'être peuplée par des populations de perches soleil soumises à un gradient thermique provoqué par l'éloignement à la source et à des rejets caloriques (présence de trois Centrales Thermiques et d'activités industrielles et urbaines). Cette situation permet de faire abstraction des variations latitudinales qui accompagnent les changements thermiques (notamment la photopériode) dans son aire biogéographique. Dans le bassin versant de la Moselle, les traits biologiques exprimés seront recherchés afin de caractériser les stratégies de reproduction selon le bilan thermique auquel est soumise la population.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alavi, S., M., H., Cosson, J. J., Coward, K. & Rafiee, G. (2008). Fish Spermatology. Alpha Science International Ltd. Oxford, U.K. p. 484.
- Alikunhi, K. H. (1960). Preliminary observations on the spawning of Indian carps induced by injection of pituitary hormones. *Indian Journal of Fisheries* **6**, 1–19.
- Anderson, E. (1967). The formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. *Journal of Cell biology* **35**, 193–212.
- Arndt, E. A. (1956). Histologische und histochemische Untersuchungen über die Oogenese und bipolare Differenzierung von Süßwasser-Teleostern. *Protoplasma* **47**, 1–36.
- Arockiaraj, A., Haniffa, M. A., Seetharaman, S. & Singh, S. (2004). Cyclic changes in gonadal maturation and histological observation of threatened freshwater catfish 'Narikeliru' *Mystus montanus* (Jerdon, 1849). *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **34**, 253–266.
- Azevedo, C. (1974). Evolutionn des enveloppes ovocytaires, au cours de l'ovogenèse chez un Téléostéen vivipare, *Xiphophorus helleri*. *Journal de Microscopie* **21**, 43–54.
- Bagliniere, J.L. & H. Le Louarn (1987) Scales characteristics of the main fresh-water fish species. In: *France. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* **306**, 2–39.
- Baras, E. & Philippart, J. C. (1999). Adaptive and evolutionary significance of a reproductive thermal threshold in *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology* **55**, 354–375.
- Barbault, R. (1987). Are still r-selection and K-selection operative concepts? *Acta Oecologica-Oecologia Generalis* **8**, 63–70.
- Beelen, R., Rinchar, J., Kestemont, P., Micha, J. C. & Mendes Guimarães, P. (1998). Etude comparative de la stratégie de reproduction du gardon (*Rutilus rutilus* L.) et de goujon

- (*Gobio gobio* L.) sous des conditions thermiques contrôlées : Relation entre la température et l'ovogenèse. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo* **25**, 31–43.
- Begovac, P. C. & Wallace, R. A. (1987). Ovary of the pipefish, *Syngnathus scovelli*. *Journal of Morphology* **193**, 117–133.
- Begovac, P. C. & Wallace, R. A. (1988). Stages of oocyte development in the pipefish, *Syngnathus scovelli*. *Journal of Morphology* **197**, 353–369.
- Belaid, B., Boukhalfa, S., Benzergua, Ch., & Tazerouti, F. (1992). Etude histologique de l'ovaire d'un poisson téléostéen, cyprinidé, *Barbus callensis* (Valenciennes, 1842). *Bulletin de la Société Zoologique de France* **117**, 133–137.
- Bengen, G., Kugler, J., & Pequignot, J. (1991). Etude des ovocytes d'*Alosa alosa* L. (Clupeidae) au cours de sa migration anadrome en Garonne. *Cybiurn* **15**, 229–238.
- Besseau, L. & Faliex, E. (1994). Resorption of unemitted gametes in *Lithognathus mormyrus* (Sparidae, Telestei): a possible synergic action of somatic and immune cells. *Cell Tissue Research* **276**, 123-132.
- Bieniarz, K., Epler, P., & Popek, W. (1977). Histological changes in the ovaries of mature female Carp in summer time. *Investigaciones Pesqueras* **41**, 95–102.
- Billard, R. (1969). La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. I : Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogenèse. *Annales de Biologies animale, Biochimie, Biophysique* **9**, 251–271.
- Billard, R. (1970a). La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. III : Ultrastructure des cellules de Sertoli. *Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique* **10**, 37–50.
- Billard, R. (1970b). La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. IV : La spermio-genèse. Etude ultrastructurale. *Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique* **10**, 493–510.

- Billard, R. (1973). La spermatogenèse des poissons Poecilidae. Quelques comparaisons avec celle d'autres espèces de poissons. *Bulletin Français de Pisciculture* **250**, 17–34.
- Billard, R. (1979). La gametogenèse, le cycle sexuel et le contrôle de la reproduction chez les poissons téléostéens. *Bulletin Français de Pisciculture*, **273**, 117–136.
- Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Development Nutrition* **26**, 877–920.
- Billard, R., Bry, C. & Gillet, C. (1981). Stress, environment and reproduction in teleost fish. In : *Stress and fish* (Pickering A.D., eds), pp. 185–208. London: Academic Press.
- Billard, R., Fostier, A., Weil, C. & Breton, B. (1982). Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **39**, 65–79.
- Billard, R., Jalabert, B. & Breton, B. (1972). Les cellules de Sertoli des poissons téléostéens. Etude ultrastructurale. *Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique* **12**, 19–32.
- Bouaziz, A. (1992). Le merlu (*Merluccius merluccius mediterraneus* Cadenat, 1950) de la baie de Bou-Ismaïl : biologie et écologie. Thèse de Magistère en Océanographie, ISMAL, Alger.
- Braband, A. & Saltveit, S. J. (1989). Ecological aspects of the fish fauna in three Portuguese reservoirs. *Archiv für Hydrobiologie* **114**, 575–589.
- Brewer, S. K., Rabeni, C. F. & Papoulias, D. M. (2008). Comparing histology and gonadosomatic index for determining spawning condition of small-bodied riverine fishes. *Ecology of Freshwater Fish* **17**, 54–58.
- Bruslé, J. & Quignard, J. P. (2004). Les poissons et leur environnement. Ecophysiologie et comportements adaptatifs. p 1522. Lavoisier : Paris.
- Bruslé, J. & Bruslé, S. (1983). La gonadogenèse des Poissons. *Reproduction Development Nutrition* **23**, 453–491.

- Bruslé, S. (1985). Fine structure of oocytes and their envelopes in *Chelon labrosus* and *Liza aurata* (Teleostei, Mugilidae). *Zoological science* **2**, 681–693.
- Burroughs (W.J.) 2001. Climate change. A multidisciplinary approach. Cambridge University press.
- Busson-Mabillot, S. (1973). Evolution des enveloppes de l'ovocyte et de l'oeuf chez un poisson Téléostéen. *Journal de Microscopie* **18**, 23–44.
- Busson-Mabillot, S. (1977). Un type particulier de sécrétion exocrine: celui de l'appareil adhésive de l'oeuf d'un poisson Téléostéens. *Biologie Cellulaire* **30**, 233–244.
- Bye, V. J. (1984). The role of environmental factors in the timing of reproductive cycles. In: *Fish reproduction, Strategies and Tactics* (Eds. G. W. Potts & R. J. Wootton). pp. 187–206. Academic Press, London.
- Callard, G. V. & Callard, I. P. (1998). Spermatogenesis in nonmammals. In: *Encyclopedia of Reproduction* (Eds. E. Knobil & J. D. Niell). pp. 563–570. Academic Press, New York.
- Callard, G. V. (1991). Spermatogenesis. In: *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*, Vol. 4A, pp. 303–341, Academic Press, San Diego.
- Callard, I. P. *et al.*, (1989). Endocrine regulation of reproduction in elasmobranches: archetype for terrestrial vertebrates. *Journal of Experimental Zoology Supplement* **2**, 12–22.
- Caporiccio, B. & Connes, R. (1977). Etude ultrastructurale des enveloppes périovocytaires et périovulaires de *Dicentrarchus labrax* L. *Annales de Sciences Naturelles et de Zoologie* **19**, 351–368.
- Carrasson, M. & Bau, M. (2003). Reproduction and gonad histology of *Aidablennius sphinx* (Pisces: Blenniidae) of the Catalan Sea (northwestern Mediterranean). *Scientia Marina* **67**, 461–469.

- Carrel, G., Crivelli, A. J. & Fox, M. G. (2001). La perche soleil *Lepomis gibbosus* (Linné, 1758). In : *Atlas des poissons d'eau douce de France* (Keith, P. & Allardi, J., eds), pp.322–323. Paris: MNHN.
- Casadevall, M., Munoz, M., Carrasson, M. & Matallanas, J. (2001). The reproduction cycle of *Ophichthus rufus* (Anguilliformes) in the northwest mediterranean. *Cybium* **25**, 53–65.
- Cauty, C. & Loir, M. (1995). The interstitial cells of the trout testis (*Oncorhynchus mykiss*): ultrastructural characterization and changes throughout the reproductive cycle. *Tissue and Cell* **27**, 383–395.
- Charnov, E. L. & Gillooly, J. F. (2004). Size temperature in the evolution of fish life histories. *Integrative and Comparative Biology* **44**, 494–497.
- Collinot, G. & Damas, D. (1980). Etude ultrastructurale de la cellule de Sertoli au cours de la spermatogenèse chez *Scyliorhinus canicula* L. *Cahiers de Biologie Marine* Tome XXI, 209-219.
- Copp, G. H. & Fox, M. G. (2007). Growth and life history traits of introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) in Europe, and the relevance to its potential invasiveness. In: *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats* (Springer Netherlands, eds), pp. 289–306.
- Copp, G. H., Fox, M. G. & Kovac, V. (2002). Growth, morphology and life history traits of a cool-water European population of pumpkinseed *Lepomis gibbosus*. *Archiv für Hydrobiologie* **155**, 585–614.
- Coutant, C. C. (1990) Temperature-oxygen habitat for freshwater and coastal striped bass in a changing climate. *Transactions of the American Fisheries Society* **119**, 240–253.
- Dahl, K (1911). Age and growth of the salmon and trout in Norway. London, UK.

- Danylchuk, A. & Fox, M. G. (1994). Seasonal reproductive patterns of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) populations with varying body size characteristics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**, 490–500.
- Davies, P. R. & Hanyu, I. (1986a). Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. I: under conditions of high temperature. *Aquaculture* **51**, 277–288.
- Davies, P. R. & Hanyu, I. (1986b). Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. II: under conditions of low temperature. *Aquaculture* **51**, 277–288.
- De Moussac, G. (1986). Mise en évidence de l'hermaphrodisme protogyne d'*Epinephelus chlorostigma* (Valenciennes, 1828) aux Seychelles (Pisces, Serranidae). *Cybium* **10**, 249–262.
- De Vlaming, V. (1983). Oocyte developmental pattern and hormonal involvements among teleosts. In: Control processes in fish physiology. (Eds. Rankin, J. C., Pitcher, T. J. & Duggan, R. T.). pp. 176-199. Croom Helm, London.
- Dembski, S. (2005). Stratégies d'occupation spatiale en milieu lacustre : réponses de l'ichtyofaune dans un réservoir échauffé, non stratifié. Thèse de doctorat Sciences de la vie, Hydrobiologie: Université de Metz.: 183 p.
- Dembski, S., Masson, D., Wagner, P. & Pihan, J. C. (2008). Habitat Use by YOY in the Littoral Zone of an Artificially Heated Reservoir. *International Review of Hydrobiology* **93**, 243–255.
- Dembski, S., Masson, G. & Pihan, J. C. (2007). Etat écologique de la retenue du Mirgenbach (Cattenom, France) : Synthèse de données des compartiments biologiques (1988 - 2005). Rapport contrat Laboratoire IEBE, Université Paul Verlaine, Metz/EDF-DER.

- Dembski, S., Masson, G., Monnier, D., Wagner, P. & Pihan, J. C. (2006). Consequences of elevated temperatures on life-history traits of an introduced fish, pumpkinseed *Lepomis gibbosus*. *Journal of Fish Biology* **69**, 331–346.
- Deniel, C., Leblanc, C. & Rodriguez, A (1989). Comparative study of sexual cycle, oogenesis, spawning of two soleïdea *Solea lascaris* (Risso 1810) and *Solea impar* (Bennet 1831) on the Western coast of Brittany. *Journal of Fish Biology* **35**, 49–58.
- Dodd, J. M. & Stumper, J. P. (1984). Fishes. In: Marshall's Physiology of Reproduction. 4th ed., vol 1 (Eds Lamming, G. E.). p. 126. Edinburgh.
- Dodd, J. M. (1977). The structure of the ovary of nonmammalian vertebrates. In: *The Ovary*. Vol I: General Aspects. (Eds. Zuckerman, S. & Weir, B. J.). pp 219-263. Academic Press: New York.
- Dodd, J. M. (1983). Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes). In: *Fish physiology*. (Eds. Hoar, W. S., Randall, D. J. & Donaldson, E. M.). pp. 31-95. Academic Press: New York.
- Dodd, J. M. (1986). The ovary. In: *Vertebrate Endocrinology: The fundamentals and Biochemical Implications*, Vol. 1, pp. 351-397, Academic Press, San Diego.
- Dubost, N. (1996) Voies de diversification de l'élevage de la carpe *Cyprinus carpio* L. en Lorraine : avantages, contraintes et limites. Thèse de doctorat sciences de la vie, aquaculture et environnement: Université de Metz.: 210 p.
- Dulka, J. G. & Demski, L. S. (1986). Sperm duct contraction mediate centrally evoked sperm release in goldfish. *Journal of Experimental Zoology* **237**, 271–279.
- Dumont, J. N. & Brummett, A. R. (1980). The vitelline envelope, chorion, and micropyle of *Fundulus heteroclitus* eggs. *Gamete Research* **3**, 25–44.
- Dziewulska, K & Domagala, J. (2003). Histology of salmonids testes during maturation. *Society for Biology of Reproduction* **3**, 47–61.

- Dziewulska, K. & Domagala, J. (2005). Body size versus gonad maturation form in under-yearling precocious males of the sea trout (*Salmo trutta m. trutta* L.). *Reproduction Development Nutrition* **46**, 689–698.
- Dziewulska, K. & Domagala, J. (2006). Differentiation of gonad maturation in sibling precocious males of the sea trout (*Salmo trutta morpha trutta* L.) in their first year of life. *Aquaculture* **250**, 713–725.
- El-Halfawy, M. M., Ramadan, A. M. & Mahmoud, W. F. (2007). *Egyptian journal of aquatic research* **33**, 434–454.
- Flesch, A. (1994) Biologie de la perche (*Perca fluviatilis*) dans le réservoir du Mirgenbach (Cattenom, Moselle). Thèse de doctorat : sciences de la vie, hydrobiologie: Université de Metz.: 241 p.
- Flesch, A., Masson, G. & Moreteau, J. C. (1994). Comparaison de trois méthodes d'échantillonnage utilisées dans l'étude de la répartition de la perche (*Perca fluviatilis*) dans un lac-réservoir. *Cybium* **18**, 39–56.
- Fontana, A. (1969). Etude de la maturité sexuelle des sardinelles *Sardinella eba* (Val) et *Sardinella aurita* C. et V. de la région de Pointe-Noire. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Océanographie*, vol. VII, no 2.
- Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R. & Breton, B. (1983). The gonadal steroids. In : *Fish Physiology IX A* (Eds. Hoar, W. S., Randall, D. J., & Donaldson, E. M.). pp 277–345. Academic Press, New York.
- Fox, M. G. & Crivelli, A. J. (2001). Life history traits of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) populations introduced into warm thermal environments. *Archiv für Hydrobiologie* **150**, 561–580.
- F.P. Environnement (2005). Suivi Hydrobiologique du réservoir du Mirgenbach – Centrale Electronucléaire de Cattenom. Rapport d'étude.

- Gaamour, A. (1999). La sardinelle ronde (*Sardinella aurita* Valenciennes, 1847) dans les eaux tunisiennes : Reproduction, croissance et pêche dans la région du Cap Bon. Thèse de Doctorat de l'université de Bretagne occidentale.
- Gabe, M. (1968). Techniques histologiques (Masson eds). Paris.
- Gajdusek (J.), Astrauska (A.), Virbickas (J.), Lucksiene (D.) & Misuniene (D.) (1987). The ecology of bream in the cooling reservoir of a Lithuanian Thermal power station. *Acta scientiarum naturali Academiae scientiarum bohemoslovacae- Brno*, **21** (6), 1–36.
- Galloway, B. J. & Munkittrick, K. R. (2006). Influence of seasonal changes in relative liver size, condition, relative gonad size and variability in ovarian development in multiple spawning fish species used in environmental monitoring programmes. *Journal of Fish Biology* **69**, 1788–1806.
- Garcia-Diaz, M. M., Tuset, V. M., Gonzalez, J. A. & Socorro, J. (1997). Sex and reproductive aspects in *Serranus cabrilla* (Osteichthyes: Serranidae): macroscopic and histological approaches. *Marine Biology* **127**, 379–386.
- Garvey, J. E. & Marschall, E. A. (2003). Understanding latitudinal trends in fish body size through models of optimal seasonal energy allocation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **60**, 938–948.
- Gillet, C. & Quélin, P. (2006). Effect of temperature changes on the reproductive cycle of roach in Lake Geneva from 1983 to 2001. *Journal of Fish Biology* **69**, 518–534.
- Gillet, C. (2001) Le déroulement de la fraie des principaux poissons lacustres. In: *Gestion piscicole des lacs et retenues artificielles*. (Eds. Gerdeaux, D.). Paris: INRA. 241–282.
- Gillet, C., Breton, B. & Billard, R. (1978). Seasonal effects of exposure to temperature and photoperiod regimes on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish (*Carassius auratus*). *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique* **18**, 1045–1049.

- Grandi, G. & Colombo, G. (1997). Development and early differentiation of gonad in the European eel (*Anguilla anguilla* [L.], Anguilliformes, Teleostei): a cytological and ultrastructural study. *Journal of Morphology* **231**, 195–216.
- Grier, H. J. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *American Zoologist* **21**, 345–357.
- Grier, H. J. (1993). Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. In: *The Sertoli cell*, (ed. By Russell, L. D. & Griswold, M. D.). pp. 704–730. Cache River Press, Clearwater, Florida.
- Grier, H. J. (2000). Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centropomus undecimalis* (teleostei: Centropomidae). *Journal of Morphology* **243**, 265–281.
- Grier, H. J., van den Hurk, R. & Billard, R. (1989). Cytological identification of cell types in the testis of *Esox lucius* and *E. niger*. *Cell Tissue Research* **257**, 491–496.
- Gross, M. R. & Charnov, E. L. (1980). Alternative male life histories in bluegill sunfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **77**, 6937–6940.
- Gross, M. R. (1991). Evolution of alternative reproduction strategies: frequency-dependant sexual selection in male bluegill sunfish. *Philosophical Transactions: Biology Sciences* **332**, 59–66.
- Gross, M. R. (1996). Alternative reproduction strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends Ecology Evolution* **11**, 92–8.
- Gupta, S. (1975). The development of carp gonads in warm water aquaria. *Journal of Fish Biology* **7**, 775–782.
- Guraya, S. S. (1986). The cell and molecular biology of fish oogenesis. *Monographs in Developmental Biology* **18**, 223 p.

- Gutiérrez-Estrada, J. C., Pulido-Calvo, I. & Fernandez-Delgado, C. (2000a). Age-structure, growth and reproduction of the introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosa*, L. 1758) in a tributary of the Guadalquivir River. *Limnetica* **19**, 21–29.
- Gutiérrez-Estrada, J. C., Pulido-Calvo, I. & Prenda, J. (2000b). Gonadosomatic index estimates of an introduced pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) population in a Mediterranean stream, using computational neural network. *Aquatic Sciences* **62**, 350–363.
- Hamlett, W. C. & Koob, T. J. (1999). Female reproductive system. In: *Sharks, Skates, and Rays: the biology of Elasmobranch Fishes* (Eds. Johns Hopkins University Press). pp. 398–443.
- Hoar, W. S. & Nagahama, Y. (1978). The cellular sources of sex steroids in teleost gonads. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique* **18**, 893–898.
- Hoar, W. S. (1969). Reproduction. In: *Fish Physiology*. Vol III. (Eds. Hoar, W. S. & Randall, D. J.). pp. 1-72. Academic Press: New York.
- Hurley, D. A. & Fisher, K. C. (1966). The structure and the development of external membrane in young eggs of the brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). *Canadian Journal of Zoology* **44**, 173–190.
- I.P.C.C. (2007). Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2007: The Physical Sciences Basis*. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M. & Miller, H. L. Cambridge University Press.
- Iwamatsu *et al.*, (1988). Oogenesis in the medaka *Oryzias latipes* – stages of oocyte development. *Zoological science* **5**, 353–373.
- Jobling, M. (1993). Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. In: *Fish Ecophysiology* (Eds. Rankin, J. C. & Jensen, F. B.). pp. 1–44. London: Chapman & Hall.

- Johnston, H. W. (1905). Scales of the Tay salmon as indicative of age, growth and spawning habit. *Annual Report of the Fisheries Board of Scotland* **23**, 485–492.
- Kinnberg, K., Korsgaard, B., Bjerregaard, P. & Jespersen, A. (2000). Effects of nonylphenol and 17 β -estradiol on vitellogenin synthesis and testis morphology in male platyfish *Xiphophorus maculatus*. *Journal of Experimental Biology* **203**, 171–180.
- Kjesbu, O. S. (1994). Time of start of spawning in Atlantic cod (*Gadus morhua*) females in relation to vitellogenic oocyte diameter, temperature, fish length and condition. *Journal of Fish Biology* **45**, 719–735.
- Kobayashi, T., Nakamura, M. Kajiura-Kobayashi, H., Young, G. & Nagahama, Y. (1998). Immunolocalization of steroidogenic enzymes (P450_{scc}, P450_{v17}, P450_{arom}, and 3 β -HSD) in immature and mature testes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Tissue Research* **292**, 573–577.
- Koger, C. S., Teh, S. J. & Hinton, D. E. (1999). Variations of light and temperature regime and resulting effects on reproductive parameters in Medaka (*Oryzias latipes*). *Biology of Reproduction* **61**, 1287–1293.
- Koya, Y., Munehara, H. & Takano, K. (1997). Sperm storage and degradation in the ovary of marine copulating sculpin, *Alcichthys alcicornis* (Teleostei: Scorpaeniformes): role of intercellular junctions between inner ovarian epithelial cells. *Journal of Morphology* **233**, 153–163.
- Lappalainen, J. & Tarkan, A. S. (2007). Latitudinal gradients in onset date, onset temperature and duration of spawning of roach. *Journal of Fish Biology* **70**, 441–450.
- Lappalainen, J., Dörner, H. & Wysujack, K. (2003). Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)): a review. *Ecology of Freshwater Fish* **12**, 95–106.

- Le Duff, M., Quiniou, L. & Deniel C. (1996). Cinétique de l'ovogenèse et stratégie de ponte chez la limande, *Limanda limanda*, en mer d'Iroise et en Manche orientale. *Aquatic Living Resources* **9**, 249–256.
- Ledy, K. (2002) Développement de biomarqueurs cellulaires de contamination chez plusieurs espèces aquatiques dulçaquicoles afin d'évaluer l'état de santé de l'écosystème aquatique. Approche multiparamétrique in situ et au laboratoire. Thèse de doctorat : Sciences de la vie, Toxicologie de l'environnement: Université de Metz (Ecole doctorale RP2E). 234 p.
- Lee, J. S. F. & Bass, A. H. (2004). Does exaggerated morphology preclude plasticity to cuckoldry in the midshipman fish (*Porichthys notatus*). *Naturwissenschaften* **91**, 338–341.
- Lee, J. S. F. & Bass, A. H. (2006). Dimorphic male midshipman fish: reduced sexual selection or sexual selection for reduced characters?. *Behavioral Ecology* **17**, 670–675.
- Leonardos, I. & Sinis, A. (1998). Reproductive strategy of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons (W. Greece). *Fisheries Research* **35**, 171–181.
- Loir, M. (1990a). Trout steroidogenic testicular cells in primary culture. I: Changes in free and conjugated androgen and progesterone secretions: effects of gonadotropin, serum, and lipoproteins. *General and Comparative Endocrinology* **78**, 374–387.
- Loir, M. (1990b). Trout steroidogenic testicular cells in primary culture. II: Steroidogenic activity of Interstitial cells, Sertoli cells and spermatozoa. *General and Comparative Endocrinology* **78**, 388–398.
- Loir, M., Sourdain, P., Mendis-Handagama, S. M. & Jégou, B. (1995). Cell-cell interactions in the testis of teleosts and elasmobranchs. *Microscopy Research and Technique* **32**, 533–552.
- Lowe-McConnell, R. H. (1987). Ecological studies in tropical fish communities. New York: Cambridge University Press, 382 p.

- Lowe-McConnell, R. H. (1987). *Ecological Studies in Tropical Fish Communities*. London: Cambridge University Press. p. 382.
- Luksiene, D. & Sandström, O. (1994). Reproductive disturbance in a roach (*Rutilus rutilus*) population affected by cooling water discharge. *Journal of Fish Biology* **45**, 613–625.
- Luksiene, D., Sandström, O., Lounasheimo, L. & Andersson, J. (2000). The effects of thermal effluent exposure on the gametogenesis of female fish. *Journal of Fish Biology* **56**, 37–50.
- Maddock, D. M. & Burton, M. P. M. (1999). Gross and histological observations of ovarian development and related condition changes in American plaice. *Journal of Fish Biology* **53**, 928–944.
- Masson, G., Dembski, S., Wagner, P., Staffolani, F., Valente, E., Maazouzi, C., Banas, D. & Pihan, J. C. (2008). Les populations de poissons dans le réservoir du Mirgenbach (1986-2006, CNPE Cattenom, France) : un modèle pour l'étude des effets d'un changement thermique global ?. *Hydrobiologie Appliquée*. (sous presse).
- Martoja, R. & Martoja-Pierson, M. (1967). *Initiation aux techniques de l'histologie animale* (Masson eds). Paris.
- Marzou, R. (1996) *Etude des crustacés planctoniques d'une retenue soumise à des rejets thermiques : description, dynamique et relations avec le peuplement pisciaire*. Thèse de doctorat sciences de la vie, hydrobiologie: Université de Metz.: 191 p.
- Matsuyama, M., Nagahama, Y. & Matsuura, S. (1991). Observations on ovarian follicle ultrastructure in the marine teleost, *Pagrus major*, during vitellogenesis and oocyte maturation. *Aquaculture* **92**, 67–82.

- Mattei, X., Siau, Y., Thiaw, O. T. & Thain, D. (1993). Peculiarities in the organization of testis *Ophidion* sp. (Pisces Teleosts). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. *Journal of Fish Biology* **43**, 931–937.
- McMillan, D. B. (2007). *Fish Histology: Female Reproductive Systems*. p. 598. Springer, Dordrecht (Netherlands).
- Médoc, V. (2004). Régime alimentaire de la perche soleil (*Lepomis gibbosus*) dans la retenue du Mirgenbach (Cattenom, Moselle). Complémentarité des descripteurs et utilisation d'indicateurs biométriques. D.E.A. Sciences Agronomiques. INPL de Nancy & Université de Metz. 34 p.
- Meffe, G.K. (1992). Plasticity of life-history characters in Eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae) in response to thermal stress. *Copeia* **1**, 94–102.
- Mersch, J. (1993) Modalités d'utilisation de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* en tant qu'indicateur biologique de la contamination des écosystèmes d'eau douce par les métaux. Comparaison avec un autre type d'organismes sentinelles, les mousses aquatiques. Etude dans le bassin de la Moselle. Thèse de doctorat : sciences de la vie, toxicologie de l'environnement: Université de Metz.: 230 p.
- Mersch, J., N. Dubost & J.C. Pihan (1993) Comparaison de plusieurs supports analytique inertes et biologiques pour apprécier la contamination de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France. *Annales de Limnologie* **29**, 325-337.
- Micale, V., Maricchiolo, G. & Genovese, L. (1999). The reproductive biology of the amberjack, *Seriola dumerilii* (Risso 1810). I: Oocyte development in captivity. *Aquaculture Research* **30**, 349–355.
- Migaud, H., Mandiki, R, Gardeur, J.N., Kestemont, P., Bromage, N. & Fontaine, P. (2003). Influence of photoperiod regimes on the Eurasian perch gonadogenesis and spawning. *Fish Physiology and Biochemistry* **28**, 395–397.

- Moe, M. A. (1969). Biology of the red grouper *Epinephelus morio* (Valenciennes) from the eastern Gulf of Mexico. *Prof. Ser. mar. mab. Fla* **10**, 1–95.
- Muntambue, S., Exbrayat, J. M. & Goubier, J. (1991). Premières observations sur la biologie de la reproduction d'*Opsaridium chrystyi* (Boulenger, 1920) (Cyprinidae) de la rivière Luki et de ses principaux affluents. *Cybium* **15**, 23–33.
- Murua, H., Kraus, G., Saborido-Rey, F., Witthames, P. R., Thorsen, A. & Junquera, S. (2003). Procedure to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* **33**, 33–54.
- Naama, A. K., Ahmed, H. A. & Al-Adhub, A. H. Y. (1986). Aspects of reproduction of the mullet *Liza abu* (Heckel) (Pisces, Mugilidae) in Al-Hammar Marsh, Iraq. *Cybium* **10**, 47–55.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. In: *Fish Physiology IX B*, (Eds. Hoar, W. S., Randall, D. J. & Donaldson, E. M.). pp 223–275. Academic Press, New York.
- Neff, B. D. & Gross, M. R. (2001). Dynamic adjustment of parental care in response to perceived paternity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **268**, 1559–1565.
- Neophytou, C. & Giapis, A. J. (1994). A study of the biology of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus* (L.)) in Lake Kerkini (Greece). *Journal of Applied Ichthyology* **10**, 123–133.
- Papapodol, M. & Ignat G. H. (1967). Contribution to the study of the reproduction biology and growth of the American sun-fish (*Lepomis gibbosus* (L.)) in the Lower Danube (flooded zone). *Bul. Inst. Cerc. Project. Pisc.* **26**, 55–68.
- Patzner, R. A., Seiwald, M., Angerer, S., Ferrero, E. A. & Giulianni, P. G. (1991). Genital system and reproductive cycle of the male grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae), in the Northern Adriatic sea. *Zoologischer Anzeiger* **226**, 205–219.

- Pertoldi (C.), Bach (L.A.) 2007. Evolutionary aspects of climate-induced changes and the need for multidisciplinary. *Journal of Thermal Biology* **32**, 118–124.
- Pudney, J. (1993). Comparative cytology of the non-mammalian vertebrate Sertoli cell. In: *The Sertoli Cell*. (Eds. Russel, L. D. & Griswold, M. D.). pp. 611–657. Cache River Press, Clearwater.
- Pudney, J. (1995). Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. *Microscopy Research and Technology* **32**, 459–497.
- Pudney, J. (1996). Comparative cytology of the Leydig cell. In: *The Leydig Cell*. (Eds Payne, A., Hardy, M. P. & Russel, L. D.). pp. 97–142. Cache River Press, Vienna.
- Regier, H.A. (1962) Validation of the scale method for estimating age and growth of bluegills. *Transactions of the American Fisheries Society* **91**, 362–374.
- Rocha, M. J., Arukwe, A. & Kapoor, B. G. (2008). Fish Reproduction. Science Publishers, Enfield, NH, USA. pp. 629.
- Sakun, O. F. & Buckaja, N. A. (1963). The evaluation of stages of maturation and study of sexual cycles of fish. In: *Russian*. p. 36. Moscow.
- Sandström, O., Abrahamsson, I., Andersson, J. & Vetemaa, M. (1997). Temperature effects on spawning and egg development in Eurasian perch. *Journal of Fish Biology* **51**, 1015–1024.
- Schulz, R. W. & Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiology and Biochemistry* **26**, 43–56.
- Scott, W. B. & Crossman, E. J. (1973). Freshwater fishes of Canada. Bulletin 184, *Fisheries Research Board of Canada*, Ottawa, 730 p.

- Selman, K. & Wallace, R. A. (1986). Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *American Zoologist* **26**, 173–192.
- Selman, K., Wallace, R. A. & Player, D. (1991). Ovary of the seahorse, *Hippocampus erectus*. *Journal of Morphology* **209**, 285–304.
- Shackley, S. E. & King, P. E. (1977). Oogenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L. *Cell Tissue Research* **181**, 105–128.
- Sherwood, G.D., J. Kovacs, A. Hontela & J.B. Rasmussen (2002) Simplified food webs lead to energetic bottlenecks in polluted lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **59**, 1–5.
- Stahl, A & Leray, C. (1961). L'ovogenèse chez les poissons téléostéens. *Archives d'Anatomie microscopique* **50**, 251–267.
- Stehr, C. M. & Hawkes, J. W. (1983). The development of the hexagonally structured egg envelope of the C-O sole, (*Pleuronichthys coenosus*). *Journal of Morphology* **178**, 267–284.
- Strange, R. J. (1996). Field examination of fishes. In: *Murphy, B. R. & Willis, D. W., eds. Fisheries techniques*, 2nd eds. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, pp 433–446.
- Suquet, M., Normant, Y., Gaignon, J. L., Quémener, L., & Fauvel, C. (2005). Effect of water temperature on individual reproductive activity of pollack (*Pollachius pollachius*). *Aquaculture* **243**, 113–120.
- Suwanjarat, J., Amornsakun, T., Thongboon, L. & Boonyoung, P. (2005). Seasonal changes of spermatogenesis in the male sand goby *Oxyeleotris marmoratus* Bleeker, 1852 (Teleostei, Gobiidae). *Songklanakarin Journal of Science and Technology* **27**, 425–436.
- Takashima, F. & Hibiya, T. (1995). An Atlas of Fish Histology: normal and pathological features. (Eds, Takashima, F. & Hibiya, T). p. 195. Fischer, Stuttgart.

- Takashima, F. & Hibiya, T. (1995). An Atlas of Fish Histology: normal and pathological features. (Eds, Takashima, F. & Hibiya, T). p. 195. Fischer, Stuttgart.
- Tarkan, A. S. 2006. Reproductive ecology of two cyprinid fishes in an oligotrophic lake near the southern limits of their distribution range. *Ecology of Freshwater Fish* **15**, 131–138.
- Tavciovaska-Vasileva, I. & Rebok, K. (2005). Ultrastructural changes in Sertoli cells in Ohrid trout – *Salmo letnica* (Karaman) during the prespawning and postspawning period. *Bulgarian Journal of Veterinary Medecine* **8**, 47–57.
- Thorsen, A., Marshall, C. T. & Kjesbu, O. S. (2006). Comparison of various potential fecundity models for north-east Arctic cod *Gadus morhua*, L. using oocyte diameter as a standardizing factor. *Journal of Fish Biology* **69**, 1709–1730.
- Timmermans, L. P. M., Schipper, H. & Dulos, G. J. (1993). Peritubular cells in the testis of the common carp (*Cyprinus carpio*); ultrastructure and characterization with actin and desmin (immuno) cytochemistry. *Netherlands Journal of Zoology* **43**, 326–339.
- Tyler, C. R. & Stumper, J. P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Revue of Fish Biology and Fisheries* **6**, 287–318.
- Van den Hurk, R. (1973). Localization of steroidogenesis in the testis of oviparous and viviparous teleosts. *Proceedings Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen Series C* **77**, 270–279.
- Van den Hurk, R., Vermeij, J. A. J., Stegenga, J., Peute, J. & van Ordt, P. G. W. (1978). Cyclic changes in the testis and vas deferens of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with reference to sites of steroidogenesis. *Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique* **18**, 899–904.
- Van Der Kraak, G. & Pankhurst, N. W. (1996). Temperature effects of the reproductive performance of fish. In *Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish*

- (McDonald, G. & Wood, C. M., eds), pp. 159–176. Cambridge: Cambridge University Press.
- Vein, D., Gigueux, M., Flesch, A., Pierre, J. F., Marzou, R. & Pihan, J. C. (1990). Trophic evolution of a reservoir with overheated waters: nuclear power station at Cattenom, Moselle, eastern France. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology* **27**, 87–98.
- Vila-Gispert, A. & Moreno-Amich, R. (2000). Fecundity and spawning mode of three introduced fish species in Lake Banyoles (Catalunya, Spain) in comparison with other localities. *Aquatic Sciences* **62**, 154–166.
- Villeneuve, F., Copp, G. H., Fox, M. G. & Stakenas, S. (2005). Interpopulation variation in growth and life-history traits of the introduced sunfish, pumpkinseed *Lepomis gibbosus gibbosus*, in southern England. *Journal of Applied Ichthyology* **21**, 275–281.
- Vinot, I. & Pihan, J.C. (2005) Circulation of copper in the biotic compartments of a freshwater dammed reservoir. *Environmental pollution* **133**, 169-182.
- Vinot, I. (2004) Impact des rejets de cuivre et zinc en milieu aquatique : circulation, spéciation, biodisponibilité, bioaccumulation, transferts et toxicité. Thèse de doctorat : Sciences de la vie: Université de Metz (Ecole doctorale RP2E). 393 p.
- Vizziano, D., Fostier, A., Loir, M. & Le Gac, F. (2008). Testis Development, its Hormonal Regulation and Spermiation Induction in Teleost Fish. In: *Fish Spermatology*. Alpha Science International Ltd. Oxford, U.K. pp 103–139.
- Vooren, C.M. (1972). Ecological aspects of the introduction of fish species into naturel habitats in Europe, with special reference to the Netherlands; a literature survey. *Journal of Fish Biology* **4**, 565–583.
- Wallace, R. & Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist* **21**, 325–343.

- Wallace, R. & Selman, K. (1990). Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electronic Microscopy Technology* **16**, 175–201.
- Weltzein, F. A., Taranger, G. L., Karlsen, O., & Norberg, B. (2002). Spermatogenesis and related plasma androgen levels in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* **132**, 567–575.
- West, G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Resources* **41**, 199–222.
- Wood (C.M.) & McDonald (D.G.) 1997. Global warming: implications for freshwater and marine fish. Society for experimental biology. Seminar series 61. Cambridge university press.
- Wootton, R. J. (1998). Ecology of Teleost Fishes. 2nd ed. London: Chapman & Hall. 386 pp.
- Yoneda, M. & Wright, P. J. (2005). Effects of varying temperature and food availability on growth and reproduction in first-time spawning female Atlantic cod. *Journal of Fish Biology* **67**, 1225–1241.
- Yoshikawa, H. & Oguri, M. (1978). Sex differentiation in a Cichlid, *Tilapia zillii*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **44**, 313–318.

RESUME

L'étude de la reproduction chez les téléostéens est fondamentale pour comprendre le devenir des populations ichtyologiques déterminantes pour l'équilibre des milieux aquatiques, et ce, dans un contexte de changement climatique global qui aura pour effet de modifier les aires de répartitions des espèces ainsi que leurs stratégies de reproduction afin de garantir la survie de la progéniture. La maturation sexuelle de la perche soleil (*Lepomis gibbosus*), à partir d'un échantillon de 162 femelles et 157 mâles, a été étudiée dans une retenue artificielle du Nord-Est de la France (réservoir du Mirgenbach) recevant les eaux échauffées de la centrale électronucléaire de Cattenom.

La perche soleil, de la famille des centrarchidés, est originaire d'Amérique du Nord et a été introduite en Europe en 1880. Depuis son introduction, elle a colonisé tout le réseau hydrographique français. Cette espèce, occupant la zone littorale, est actuellement présente dans 28 pays d'Europe et d'Asie mineure, mais elle n'est considérée invasive que dans le sud et le centre de l'Europe.

Dans la présente étude, l'effort de reproduction a été étudié chez les femelles et les mâles, à partir de l'indice gonado-somatique (IGS) et de profils de maturité gonadique, définis à partir d'observations histologiques. Les données acquises concernent, d'autre part, la croissance et la longévité de cette espèce dans ce cas particulier d'écosystème échauffé.

Dans ce contexte, la maturation sexuelle est précoce par rapport aux autres populations de perches soleil localisées à des latitudes similaires. (Age de maturité : 1 an), et les mâles entrent en maturation un mois avant les femelles. La croissance des juvéniles est rapide ($L_T > 70\text{mm}$ à 1 an), excepté chez les petits mâles cocufiants, mais la longévité (3 ans) est inférieure à celles rencontrées dans d'autres sites d'Europe (4 à 8 ans). Cette précocité a également été observée chez d'autres espèces dans des sites d'Europe recevant des eaux échauffées, cependant des anomalies ovocytaires avaient été observées, ce qui n'est pas le cas pour les individus du réservoir du Mirgenbach.

De part ses conditions thermiques, le réservoir du Mirgenbach constitue un modèle intéressant pour étudier les conséquences du changement climatique global sur la biologie des poissons.

Mots clés : *Lepomis gibbosus*, ovogenèse, spermatogenèse, maturation sexuelle, croissance, longévité, température.

ABSTRACT

The study of teleost reproduction is fundamental in order to understand the future of ichthyologic populations, determinant for the balance in aquatic environments, and this, in a context of global warming which will affect distribution zones of species as well as their reproductive strategies in order to guarantee survival of their progeny. Sexual maturation in pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) has been studied in an artificial basin in north-eastern France (Mirgenbach Reservoir) which receives over-heated water from the Cattenom nuclear power plant.

Pumpkinseed, a centrarchid fish specie, is native to North America but has been introduced in Europe in 1880. Since its introduction, it has colonized the entire French hydrographic network. This specie, predominantly littoral, is already established in at least 28 countries in Europe and Asia Minor, but is currently considered to be invasive mainly in southern and central Europe.

In our study, the reproductive effort was studied in both sex, using gonado-somatic index (GSI) and gonadal maturity stages obtained from histological observations. Growth and longevity have also been studied. A sample of 162 females and 157 males was collected for this work.

In this context of warm thermal environment, sexual maturation is precocious compared to other pumpkinseed populations located at similar latitudes (age at maturity: 1 year), and the males mature one month before the females. The juvenile growth rate is high ($L_T > 70\text{mm}$ at 1 year old), except for the small male cuckolders, but longevity (3 years) is lower than at the other sites in Europe (4 to 8 years). This precocity was also observed in other species at sites receiving over-heated nuclear plant discharge water, however oocyte abnormalities were observed which was not the case for the pumpkinseed population in the Reservoir Mirgenbach.

The thermal conditions of the Mirgenbach Reservoir confer to this site a good opportunity to evaluate the consequences of the Global Warming on fish biology.

Key words: *Lepomis gibbosus*, oogenesis, spermatogenesis, sexual maturation, growth, longevity, temperature.

ANNEXE:
LEGENDE DES PLANCHES DE
L'ETUDE HISTOLOGIQUE

(Par ordre alphabétique et par sexe)



C.f. : Cellule folliculaire

Cgp. : Cellule germinale primordiale

E.f. : Enveloppe folliculaire

G.v. : Globule vitellin

L.o. : Lumière ovarienne

N. : Noyau

Nu. : Nucléole

O.a. : Ovocyte atrétique

Ocy.i. : Ovocyte immature

Ocy.p. : Ovocyte pré-vitellogénique

Ovg. : Ovogonie

POF. : Follicule post-ovulatoire

V. : Vacuole

Z.r. : *Zona radiata*

C.e. : Canal efférent

Cgp. : Cellule germinale primordiale

Cyst. : Cyste

Fl. : Flagelle

L.l. : Lumière lobulaire

Lb. : Lobule

Ley. : Cellule de Leydig

Mb.l : Membrane basale du lobule

Sert. : Cellule de Sertoli

Spg. : Spermatogonie

Spcy. : Spermatocyte

Spd. : Spermatide

Spz. : Spermatozoïde