

Profil et métabolisme des acides gras dans les tissus de la perche comme Perca fluviatilis L

Magali Peter

▶ **To cite this version:**

Magali Peter. Profil et métabolisme des acides gras dans les tissus de la perche comme Perca fluviatilis L. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2008. Français. NNT : 2008INPL025N . tel-01753047

HAL Id: tel-01753047
https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01753047

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

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Agroalimentaires

Ecole doctorale : Ressources, Procédés, Produits, Environnement

THESE

présentée pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

Discipline: Sciences Agronomiques

soutenue publiquement par

Magali PETER

le 1er juillet 2008

Profil et métabolisme des acides gras dans les tissus de la perche commune *Perca fluviatilis* L.

Membres du jury

Mme Geneviève. Corraze, CR INRA NUAGE St Pée sur Nivelle
Mme Sandrine Jacquenet, INPL Nancy-Université
M. Jean Brun-Bellut Professeur (Directeur de thèse), UHP Nancy-Université
M. Jean-Noël Gardeur (Co-directeur de thèse), UHP Nancy-Université
M. Guido Rychen Professeur, INPL Nancy-Université
M. Puy Lim Professeur, INPT (rapporteur)
M. Philippe Schmidely, Professeur AgroParisTech (rapporteur)

Unité de Recherche Animal Fonctionnalités des Produits Animaux
Equipe Diversification en Aquaculture Continentale
MAN 34, rue Sainte Catherine 54 000 Nancy

A mon père et mon grand père pour leur passion pour la pêche

REMERCIEMENTS

Je remercie le Professeur Guido Rychen, directeur de l'URAFPA (Unité de Recherche Animal Fonctionnalité des Produits Animaux) pour m'avoir accueillie au sein de son unité de recherche.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur Philippe Schmidely Professeur à AgroParisTech et Monsieur Puy Lim Professeur à l'INPT, pour l'honneur qu'ils me font de bien vouloir lire et rapporter mon travail de thèse.

Je remercie également tous les membres du jury de bien vouloir évaluer mon travail. Merci à Mme Geneviève Corraze de l'INRA équipe NUAGE, pour ses nombreux conseils tout au long de ma thèse, et à Mme Sandrine Jacquenet, de JE2482 Lipidomix INPL Nancy Université, qui a permis de développer toute la partie biologie moléculaire de ce travail.

Je remercie particulièrement le Professeur Jean Brun-Bellut pour m'avoir accordé sa confiance pour la réalisation de ce travail au sein de l'équipe « Diversification en Aquaculture Continentale ». Je tiens également à le remercier pour tout le soutien scientifique et moral qu'il m'a apporté tout au long de ce travail mais également pour ses précieux conseils qu'il continue à me donner encore aujourd'hui.

Merci aussi à Monsieur Jean Noël Gardeur pour avoir supervisé mon travail et plus précisément pour sa précieuse aide en statistiques. Merci aussi pour son coaching à l'oral !

Je remercie tous mes collègues de laboratoire, techniciens et stagiaires qui sont allés avec moi à la pêche…aux données, et plus particulièrement Guillaume, Neil, Laurent, Caroline, Audrey, Aurélie, Arnaud et Fabrice T. Je n'oublierai jamais nos fous rires et nos coups de blues, ni tout ce temps passé dans les sous sols humides du musée...

Je n'oublie pas, bien sur, mes anciens voisins du Saintois, Pascal et Marielle, pour leur bonne humeur et pour avoir si souvent « mis la main à la pâte ».

Je remercie également tout le personnel du Muséum Aquarium pour leur sourire et leur accueil et je n'oublie pas tous ces moments passés à discuter de tout et de rien pour se changer les idées autour d'une tasse de thé. Une pensée particulière à Pierre Antoine et Carole avec qui j'ai partagé tant de choses pendant toutes ces années de thèse…

Merci également à tous mes collègues du laboratoire MTM, sans qui j'aurais été un peu perdue au milieu de toute cette science de l'infiniment petit…

Et, puisqu'on se dirige vers Vandoeuvre j'en profite pour remercier tous mes collègues, stagiaires et techniciens de l'ENSAIA, et notamment Claire pour ses compétences techniques. Impossible d'oublier tout ce temps que j'ai passé en « face de l'hippodrome » durant toutes mes études: l'IUP, le DEA, la thèse…j'ai fini en beauté avec des souvenirs merveilleux grâce à toute l'équipe de l'URAFPA. J'entends encore Karine crier de joie « les poissons !! » quand elle nous voyait arriver Guillaume et moi, le rire de Catherine qui résonne dans les couloirs, Yves qui s'arrache les cheveux avec les normes de sécurité, Cyril toujours avec le sourire….et bien sur toute la bande de thésards, Fred, les « saucisses » Sophie et Nath, et tous les autres…

Je profite de cette page pour adresser un message plus personnel à tous ceux qui ont de près ou de loin participé à cette thèse ….6 ans c'est long…

Tout d'abord un grand merci à la famille Mairesse. Guillaume mon « collègue de la qualité de la perche », mais surtout mon ami, ta bonne humeur et ton amitié m'ont accompagnée au labo et dans la vie. Tu étais là pour la naissance de Louis et il y a quelques temps c'était à mon tour de venir embrasser ta petite princesse. Merci aussi à Virginie pour ta générosité, ton originalité et pour tous ces bons moments passés. Vous me manquez beaucoup…

Catherine, c'est un peu grâce à toi que toute cette histoire a débutée. Merci pour ta bonne humeur et ton aide si précieuse à tous dans le labo. Ta venue à Toulouse est le signe que je ne m'étais pas trompée sur ton amitié, merci d'avoir toujours été là et surtout merci pour ton rire ! Fred, la tatie Fidou, on en aura eu des fous rires, j'en pleure encore! Sue Ellen et Chipo, les deux vieilles du labo, les deux mamans aussi, qui tardent un peu à soutenir…bientôt ce sera ton tour. Ton humour me manque, nos conversations restent gravés dans ma mémoire, et hop à Créteil, ah teuteu jejeje…Et je n'oublie pas bien sur Manu Rondags et ses «ça va aller tout seul » qui m'ont si souvent remonté le moral.

Je finirais par ordre chronologique à remercier mes collègues du Sud, ONCOMIP et tout particulièrement Eric ainsi que le Registre des Cancers du Tarn, pour leur motivation et leurs conseils.

Tout a commencé un jour dans une bibliothèque un peu « has been » avec une blonde à l'air (faussement) un peu sévère, une brune enceinte jusqu'aux dents et une autre aux yeux bleus qui parlait beaucoup de son enfant….2 ans plus tard, Mélanie, Christelle et Valérie sont aujourd'hui mes amies et agrémentent chacune à leur façon ma vie. Beaucoup de choses ont bougé, Mélanie c'est à toi aujourd'hui d'être maman, et je suis ravie de pouvoir être à tes côtés pour partager ce moment. Bien sur, thank you for your advise in english, et surtout merci pour ta présence. Christelle, j'entends encore tes encouragements qui résonnent dans ma tête. Merci pour ton amitié, ta gentillesse et bien sur tes compétences en statistiques. Valérie, merci d'avoir si souvent été là pour m'écouter, me consoler et me faire rire. Il y a quelque temps une touche masculine est venue compléter notre groupe… Cyrille, toi qui a horreur qu'on te dise merci, là, « non, oh non », tu n'y échapperas pas. Je ne pensais pas qu'un jour je remercierais quelqu'un de m'avoir donné des gifles !! Merci pour tout ce temps passé sur ma thèse : la traduction de l'alsacien au français, la mise en forme des graphiques… Merci pour ton optimisme, ta zenitude, ton humour, ta force de caractère… Mémoire de thèse= lieu de réflexion : je recherche une explication (pourquoi pas phylogénétique…) à notre ressemblance, mais puisque insoluble est la réponse, je me contenterais aujourd'hui de te dire que, malgré mes problèmes de mémoire courte, tout ça je ne l'oublierais pas !

Merci à la famille Anouilh de s'être toujours intéressée à mon travail. Une pensée pour « la Marraine » qui aurait certainement aimé être présente le jour de la soutenance.

Mon petit Louis, ta venue a quelque peu perturbé le planning de cette thèse mais a illuminé ma vie. Milles fois pardon d'avoir si souvent « cravailler » au lieu de jouer avec toi…J'en profite pour remercier au passage toutes les nounous : Nicole, Françoise, les Grand Parents…

Fabrice, tu as été à mes côtés durant ces 6 ans et tu as eu la lourde tache de supporter mes humeurs et mes absences… merci d'avoir si souvent su me changer les idées et d'avoir participé, à ta façon à cet « autre accouchement ».

Un clin d'œil à mes grands parents qui ne sont plus là et qui auraient été fiers de moi.

Et je finirais par embrasser mes parents et leur dire combien je les aime.Vous qui m'avez toujours soutenue tout au long de ma scolarité et sans qui toute cette belle aventure n'aurait pas été possible….

Liste des abréviations utilisées

FAF BSA : free acid fatty bovine serum albumine

ANC : Apports Nutritionnels Conseillés

AG : acides gras

AGPI: acides gras poly-insaturés

AGMI: acides gras mono-insaturés

AGS: acides gras saturés

AGE : acides gras essentiels

Les acides gras :

14:0 : acide myristique

16:0 : acide palmitique

18:0 : acide stéarique

18:1n-9 : acide oléique

20:1n-9 : acide gadoléique

18:2n-6 : acide linoléique

20:4n-6 : acide arachidonique (ARA)

18:3n-3 : acide linolénique

18:4n-3 : acide stéradonique

20:4n-3 : acide eicosatetraènoïque

20 5n-3 : acide eicosapentaènoïque (EPA)

22 6n-3 : acide docosahexaènoïque (DHA)

RT-PCR : Reverse transcriptase polymerase chain reaction

Q-PCR : Quantitative polymerase chain reaction

CCM : Chromatographie sur couche mince

BHT : Butylhydroxytoluène

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CVetr : coefficient de variation de l'écart type résiduel

Pu : puissance du test statistique

SOMMAIRE

INTRODUCTION **9**

1ERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIE **12**

1 CHOIX DE L'ESPECE **13**

2 DEFINITION ET STRUCTURE DES LIPIDES TOTAUX, NEUTRES ET POLAIRES, ET DES ACIDES GRAS **14**

2.1 LES LIPIDES 14
2.1.1 Les lipides neutres *14*
2.1.2 Les lipides polaires *15*
2.1.3 Les lipides simples *16*
2.2 LES ACIDES GRAS 16
2.2.1 Acides gras saturés (AGS) *18*
2.2.2 Acides gras mono-insaturés (AGMI) *18*
2.2.3 Acides gras poly-insaturés (AGPI) *18*

3 METABOLISME **19**

3.1 DIGESTION, ABSORPTION ET TRANSPORT DES LIPIDES 19
3.1.1 Absorption *19*
3.1.2 Transport *21*
3.2 DEPOT 22
3.3 BIOCONVERSION ET CATABOLISME 24
3.3.1 Lipogenèse *24*
3.3.2 Bioconversion des acides gras *26*
3.3.2.1 Les enzymes impliquées dans la bioconversion des acides gras 26
3.3.2.2 Bioconversion des acides gras mono-insaturés (AGMI) 26
3.3.2.3 Bioconversion des acides gras poly-insaturés (AGPI) 26
3.3.2.4 Caractéristiques des delta 5 et delta 6 désaturases 28
3.3.2.5 Enzyme bi fonctionnelle delta 5/6 désaturase 29
3.3.2.6 Cinétique de formation du DHA et distribution tissulaire 29
3.3.3 Mobilisation des lipides *30*
3.3.4 Catabolisme des acides gras *32*
3.3.5 SCHEMA RESUME *33*

4 FONCTION DES LIPIDES **34**

4.1 PRODUCTION D'ENERGIE 34
4.2 COMPOSITION DES MEMBRANES CELLULAIRES 34
4.3 ROLE BIOLOGIQUE (PRODUCTION D'EICOSANOÏDES) 36
4.3.1 Rôle des eicosanoïdes *36*
4.3.2 Production des eicosanoïdes à partir des AGPI *37*

5 FACTEURS DE VARIATION DU METABOLISME DES LIPIDES **38**

5.1 FACTEURS INTRINSEQUES 38
5.1.1 Origine génétique *38*
5.1.2 Âge *38*
5.1.3 Cycle sexuel *38*
5.2 FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX 39
5.2.1 Saison *39*
5.2.2 Température *39*
5.2.3 Salinité *40*
5.3 FACTEURS NUTRITIONNELS 41
5.3.1 Effet du taux de lipides dans l'aliment *41*
5.3.2 Effet de la nature des lipides alimentaires *43*
5.3.2.1 Effet de la nature des lipides alimentaires sur la composition en acides gras des tissus 43
5.3.2.2 Régulation nutritionnelle de la bioconversion des acides gras 48
5.4 SYNTHESE 51

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CONCLUSION ET PROBLEMATIQUE SCIENTIFIQUE. **53**

OBJECTIFS DE LA THESE **54**

2EME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE 56

1 MATERIEL ET METHODE GENERAL 57

1.1 MESURE DE LA TENEUR EN LIPIDES 57
1.1.1 Lipides totaux 57
1.1.2 Lipides neutres et polaires 58
1.2 COMPOSITION EN ACIDES GRAS 58
1.3 ANALYSE DE L'EXPRESSION GENIQUE. 58
1.3.1 Extraction d'ARN 58
1.3.2 RT-PCR 60
1.3.2.1 RT (Reverse Transcriptase) 60
1.3.2.2 PCR 61
1.3.2.3 Mise au point de la méthode et observation de la distribution tissulaire des enzymes delta 6 et delta 5 desaturase 64
1.4 DOSAGE DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE DU COMPLEXE DESATURATION/ELONGATION. 65
1.4.1 Mise en suspension d'hépatocytes 65
1.4.2 Incorporation d'acide linolénique marqué 66
1.4.3 Extraction des lipides totaux 66
1.4.4 Séparation des acides gras par chromatographie sur couche mince 66
1.4.5 Quantification de la radioactivité retrouvée 67
1.4.6 Quantification de l'activité enzymatique. 67

2 EXPERIMENTATIONS ET PRINCIPAUX RESULTATS 69

2.1 ETUDE 1: CARACTERISATION DES LIPIDES CHEZ LA PERCHE 69
2.1.1 Dispositif expérimental 69
2.1.2 Traitement des données 69
2.1.3 Résultats 70
2.2 ETUDE 2: DETERMINATION ET HIERARCHISATION DE FACTEURS AYANT UN EFFET SUR LA TENEUR EN LIPIDES ET LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES TISSUS 83
2.2.1 Matériels et Méthodes 84
2.2.1.1 Expérience 1 84
2.2.1.2 Expérience 2 86
2.2.1.3 Matériel biologique 88
2.2.1.4 Aliments 88
2.2.1.5 Echantillonnage et variables de sorties 90
2.2.1.6 Traitement statistique des données 92
2.2.2 Résultats 92
2.2.2.1 Expérience 1 92
2.2.2.2 Expérience 2 97
2.2.2.3 Comparaison entre expérience 1 et expérience 2 107
2.3 ETUDE 3 : EFFET DE LA NATURE DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LA COMPOSITION EN AGPIN-3 DES TISSUS CHEZ LA PERCHE. 109
2.3.1 Matériels et Méthodes 110
2.3.1.1 Protocole expérimental 110
2.3.1.2 Aliments et mode de distribution des aliments 111
2.3.1.3 Mesures et prélèvements 114
2.3.1.4 Traitement statistique des données 116
2.3.2 Résultats 116
2.3.2.1 Nombre de poissons 116
2.3.2.2 Qualité de l'eau 117
2.3.2.3 Taux de rationnement réel 117
2.3.2.4 Paramètres de croissance 118
2.3.2.5 Etude de la teneur en lipides et du profil en AG 120
2.3.2.6 Etude de l'expression génique 134
2.3.2.7 Etude de l'activité enzymatique 142

3EME PARTIE : DISCUSSION 143

1 CARACTERISATION DES LIPIDES CHEZ LA PERCHE (CARACTERISTIQUES D'UN POISSON MAIGRE D'EAU DOUCE). 144

1.1 TENEUR EN LIPIDES TOTAUX DES TISSUS DE LA PERCHE 144
1.2 REPARTITION DES LIPIDES NEUTRES ET POLAIRES DANS LES TISSUS DE LA PERCHE 146
1.3 COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES TISSUS DE LA PERCHE 146
1.3.1 Spécificités de la composition en acides gras de chaque tissu 147
1.3.2 Spécificités de la composition en acides gras des deux types de lipides (neutres et polaires) 149
1.3.3 Effet du tissu et/ou du type de lipides sur la composition en AG 150

1.3.4 Conclusion ... 151

2 PRODUCTION DE DHA CHEZ LA PERCHE ... 151

2.1 DISTRIBUTION TISSULAIRE DES DESATURASES CHEZ LA PERCHE ... 152
2.2 ACTIVITE ENZYMATIQUE ... 154

3 EFFET DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET NUTRITIONNELS SUR LA COMPOSITION EN AGPIN-3 ... 156

3.1 EFFET DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX SUR LA CROISSANCE, LA TENEUR EN LIPIDES ET LA COMPOSITION EN AG DES TISSUS DE PERCHE ... 156
3.1.1 Facteurs ayant un effet sur la croissance des poissons ... 157
3.1.2 Facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides des tissus ... 159
3.1.2.1 Effet de la température sur la teneur en lipides du filet ... 160
3.1.2.2 Effet de la nature des lipides sur la teneur en lipides des tissus ... 161
3.1.3 Composition en AG des tissus ... 162
3.1.3.1 Déterminisme de la composition en AG ... 163
3.1.3.2 Effet de la température sur la composition en AG du filet ... 163
3.1.3.3 Effet de la nature des lipides alimentaires sur la composition en AG des tissus ... 164
3.1.4 Conclusion ... 166
3.2 EFFET DE LA NATURE DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LE METABOLISME DES AGPIN-3 ... 167
3.2.1Effet de la nature des lipides alimentaires sur l'expression génique de la delta 6 désaturase dans le foie 168
3.2.2 Effet de la nature des lipides alimentaires sur l'activité de la voie de bioconversion des AGPIn-3 dans les hépatocytes ... 169
3.3 CONCLUSION ... *170*

CONCLUSION GENERALE ... 171

PERSPECTIVES ... 172

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ... 173

ANNEXES ... 186

ABSTRACT ... 190

RESUME MOTS-CLES ... 191

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'aquaculture traditionnelle connaît aujourd'hui un réel besoin de diversification tant au niveau des produits que des techniques de production. Les changements doivent se faire en accord avec les exigences des consommateurs, des producteurs et des distributeurs. La perciculture est une voie de diversification pour différentes raisons : c'est un poisson à chair blanche, de bonne qualité nutritionnelle (Xu et Kestemont, 2002) et possédant une bonne aptitude à la transformation (Mathis *et al.*, 2003). Le marché est intéressant car l'offre est inférieure à la demande et la consommation peut se faire à différents stades de développement (Tamazouzt *et al.*, 1993).

L'effet bénéfique des lipides de poisson sur la santé chez l'homme a depuis longtemps été établi. Il est lié à la teneur élevée en acides gras poly-insaturés (AGPI) de la famille n-3 dont l'EPA (acide eicosapentaènoïque) et le DHA (acide docosahexaènoïque) sont les plus importants, et parallèlement à la faible teneur en acides gras saturés (AGS). Les AGPI de la famille n-3 sont importants pour la santé humaine car ils jouent un rôle essentiel dans le développement et la fonction de certains organes (vision, cerveau) ainsi que dans les réponses biochimiques et physiologiques de l'organisme (Arts *et al.*, 2001; Lauritzen *et al.*, 2001; Silvers et Scott, 2002). Ils ont notamment un effet protecteur sur le système cardiovasculaire qui passe par la régulation du rythme cardiaque (Dallongeville *et al.*, 2003) et qui est dû à leurs propriétés antithrombotiques (Knapp, 1997) et hypolipidemiques (Harper et Jacobson, 2001). Ils sont également importants pour la protection du système nerveux et immunitaire. Ils sont utiles dans le traitement de certaines maladies mentales (Peet *et al.*, 2001) ainsi que contre le cancer (Yam *et al.*, 2001). L'OMS recommande une consommation journalière d'acide linolénique (0,8 – 1,1g/jour) et de DHA+EPA (0,3g - 0,5g/jour).

L'étude de la nutrition lipidique chez le poisson a d'abord été menée dans le but d'une amélioration de la production en aquaculture. A l'heure actuelle, les aliments riches en farine et huile de poissons utilisés dans les élevages de poissons carnivores posent des problèmes en termes d'approvisionnement. Le remplacement de l'huile de poisson par des huiles d'origine végétale est l'une des solutions envisagées pour pallier cette pénurie. Elles sont disponibles en grande quantité pour un coût stable (Izquierdo *et al.*, 2003). Cependant il s'agit d'huiles riches en acides gras à 18

carbones qui ne contiennent pas d'AGPI à 20 ou 22 carbones. Leur utilisation nécessite donc d'abord de savoir quel est leur effet sur le métabolisme des lipides et la composition en acide gras du poisson afin de maintenir la santé du poisson et le bénéfice nutritionnel de leur consommation par l'homme.

L'objectif de ce travail de thèse est d'étudier :

- la **répartition des lipides et des acides gras (AG)** dans les différents tissus impliqués dans le métabolisme lipidique chez la perche (foie, filet et tissu adipeux périviscéral)
- **le métabolisme des AGPI** dans les différents tissus
- **l'effet des facteurs alimentaires** sur la composition et le métabolisme des lipides

dans le but de comprendre les facteurs qui contrôlent la composition en AG des tissus de la perche et plus principalement les teneurs en DHA, afin d'optimiser et de valoriser la qualité nutritionnelle de la perche.

L'étude bibliographique est divisée en trois parties. La première est une description quantitative et qualitative des lipides chez le poisson. La deuxième traite du métabolisme des lipides chez le poisson. Et la dernière liste les facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides et sur la composition en acides gras des poissons.

L'étude expérimentale vise à caractériser les lipides chez la perche, à déterminer et à hiérarchiser les facteurs ayant un effet sur la composition lipidique des tissus de la perche et traite plus précisément de l'effet du traitement alimentaire sur la qualité nutritionnelle de la perche.

1ERE PARTIE :

ETUDE BIBLIOGRAPHIE

1 CHOIX DE L'ESPECE

En Europe, l'aquaculture continentale est encore très traditionnelle, notamment l'élevage en étangs, généralement associé à une gestion extensive des plans d'eau. L'avenir de cette activité est incertain du fait de contraintes économiques, techniques et réglementaires. En s'appuyant sur le savoir faire et l'expérience des pisciculteurs, une alternative réside dans la diversification des activités et la production d'espèces indigènes en mettant en œuvre d'autres modes de production. Les poissons carnassiers des zones tempérées (brochet, perche, sandre…) sont, après les salmonidés (carnassiers d'eau froide) les espèces les plus appréciées des consommateurs. Une enquête a montré que la perche est consommée sous différentes formes (filet, poisson entier) et dans une large gamme de taille (de 4cm à 25cm ; Tamzouzt *et al.*, 1993), ce qui traduit l'existence de marchés distincts aux produits diversifiés. Ces marchés représentent souvent des volumes non négligeables : par exemple, 4000 tonnes de filets sont consommés en Suisse chaque année. La zone géographique de consommation est vaste, elle concerne les pays du pourtour alpin (France, Suisse, Italie), le Bénélux et les pays scandinaves.

La concurrence avec l'activité de pêche est limitée : d'une part la production de perche en milieu naturel est très variable d'une année sur l'autre et, d'autre part, la qualité des produits (poisson, filet) varie fortement au cours de l'année (rendemant en filet oscillant entre 30 et 45%).

Le développement de la filière passe par la maîtrise du cycle de reproduction (Migaud *et al.*, 2002; Migaud *et al.*, 2004; Migaud *et al.*, 2006), l'optimisation des conditions d'élevage (Tamazouzt *et al.*, 1998; Tamazouzt *et al.*, 2000; Kestemont *et al.*, 2001; Kestemont *et al.*, 2003; Mathis *et al.*, 2003) et la maîtrise des différents critères de qualité du produit (qualité nutritionnelle, organoleptique, technologique et sanitaire) (Mairesse *et al.*, 2006; Mairesse *et al.*, 2007). Les résultats de ces études ont permis le développement d'une dizaine d'entreprises de perciculture à travers l'Europe: Hongrie, République Tchèque, Pologne, Irlande, Belgique, Hollande et France.

L'aquaculture de la perche est estimée à 200 tonnes/an (FAO, 2006)

2 DEFINITION ET STRUCTURE DES LIPIDES TOTAUX, NEUTRES ET POLAIRES, ET DES ACIDES GRAS

2.1 Les lipides

Les lipides représentent une famille hétérogène de molécules organiques insolubles dans l'eau et dans les solvants polaires et solubles dans les solvants non polaires tels que le chloroforme. Cette famille se divise en cinq classes différentes par leur structure :

2.1.1 Les lipides neutres

Les triglycérides constituent la classe la plus importante des lipides neutres. Ils sont constitués d'une molécule de glycérol estérifiée par trois acides gras (Figure 1).

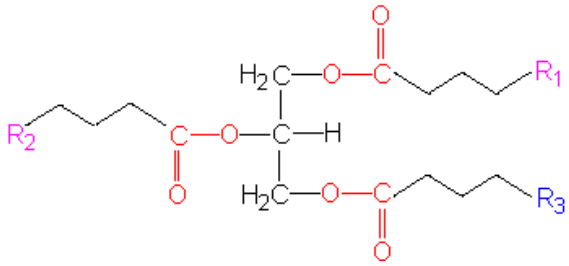


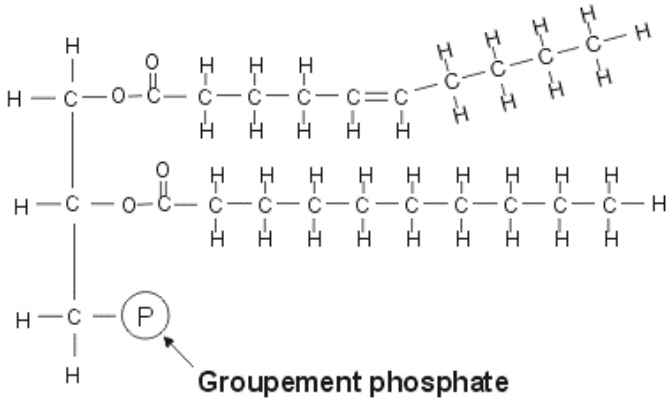
Figure 1: Schéma représentant les triglycérides
R1, R2, R3= acides gras

Ils constituent les dépôts lipidiques. Chez la plupart des poissons d'eau douce, ils sont majoritairement composés d'AGS et d'AG insaturés à courte chaîne (Henderson et Tocher, 1987). Ils sont retrouvés essentiellement dans les tissus adipeux sous cutanés, dans les adipocytes du muscle blanc et dans les tissus adipeux périviscéraux (Borresen, 1992). Cependant il existe des triglycérides particuliers, tels que ceux retrouvés dans les yeux de *Cynoscion arenarius* (perciforme) composés de trois AGPI (trois DHA) (Nicol *et al.*, 1972).

Les cirres constituent la deuxième classe la plus importante des lipides neutres. Il s'agit d'esters constitués d'un acide gras estérifié avec un alcool. Ces molécules sont présentes dans le zooplancton marin et se retrouvent dans le corps et les œufs de certains poissons zooplanctivores (harreng, anguille, capelans).

2.1.2 Les lipides polaires

Les phosphoglycérides constituent la majeure classe des lipides polaires. Ils sont plus couramment appelés phospholipides. A la différence des triglycérides ils portent un groupement acide phosphatidique sur le glycérol (Figure 2).



<u>Figure 2</u> : Schéma représentant les phospholipides

Ils sont les constituants des biomembranes. Le degré d'insaturation des lipides polaires détermine la fluidité de la membrane et donc ses fonctions (Sargent *et al.*, 1999). Les phospholipides contiennent de grandes quantités d'AGPI, jusqu'à 58%, les principaux étant l'EPA, le DHA mais aussi l'acide arachidonique qui est prédominant dans le phosphatidylinositol. Viswanathan Nair et Gopakumar (1984) ont comparé la composition en acides gras des lipides neutres et des lipides polaires de cinq espèces de poissons maigres et de trois espèces de coquillages. Dans la plupart des cas les phospholipides sont plus riches en AGPI de la famille n-3 et n-6 que les triglycérides, la seule exception étant la crevette d'eau douce.

Les sphingolipides sont une classe complexe de lipides polaires constitués d'un groupement aminé.

2.1.3 Les lipides simples

Le cholestérol est le lipide simple le plus répandu. Il est présent tel quel dans les membranes cellulaires ou stocké dans les lipides neutres sous forme d'ester. A titre d'exemple, les lipides totaux des œufs de morue sont constitués de 8,1% de triglycérides, 8,7% de cholestérol et 80% de phospholipides (Falch *et al.*, 2006).

Dans les muscles des poissons maigres, le cholestérol peut représenter jusqu'à environ 6% des lipides totaux, niveau semblable à celui trouvé dans les muscles des mammifères

2.2 Les acides gras

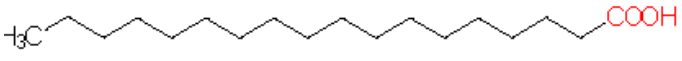
Les acides gras sont les constituants élémentaires des lipides. Ils sont composés d'une chaîne hydrocarbonée comportant à une extrémité un groupement méthyle CH3 et à l'autre extrémité un groupement carboxyle COOH. Ils se définissent par leur nombre de carbone, leur degré d'insaturation (nombre de doubles liaisons) et la position des doubles liaisons (Figure 3). Ainsi 14:0 et 16:0 désignent un acide gras à respectivement 14 et 16 atomes de carbone et sans double liaison. 18:1n-9 et 18:1n-7 désignent un acide gras à 18 carbones et une double liaison. Pour ces deux acides gras, les doubles liaisons sont situées respectivement au 9ème et au 7ème carbone en partant de l'extrémité méthyle de la chaîne carbonée. Ceci est également noté 18:1Δ9 ou 18:1ω9 ou 18:1n-9. Les acides gras insaturés sont généralement sous la forme cis (= « du même coté » c'est-à-dire que leurs deux atomes d'hydrogène se trouvent du même côté du plan formé par la double liaison carbone). Les acides gras ont également un nom commun comme l'acide palmitique 16:0, l'acide oléique 18:1n-9, et l'acide linolénique 18:3n-3, leur nom dérivant de leur origine, comme ici, l'huile de palme, l'huile d'olive et l'huile de lin. Il existe également des noms dérivant de la nomenclature gréco-romaine comme l'acide eicosapentaènoïque (EPA) 20:5n-3 et l'acide docosahexaènoïque (DHA) 22:6n-3.

Acides gras saturés

acide palmitique



acide stéarique

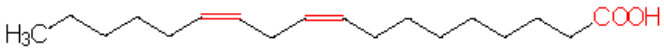


Acides gras insaturés

acide oléique

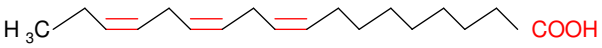


acide linoléique

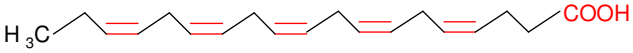


Acides gras polyinsaturés n-3

acide linolénique



EPA



DHA

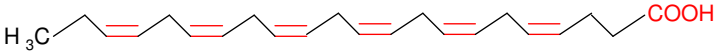


Figure 3: Les acides gras : exemple d'acide gras saturés, insaturés et poly-insaturés.

2.2.1 Acides gras saturés (AGS)

Les acides gras saturés sont présents dans le règne animal y compris chez les poissons sous forme de chaîne carbonée allant de 14 à 24 carbones. Cependant les acides gras les plus abondants sont le 16:0 et 18:0, et dans une moindre mesure le 20:0.

2.2.2 Acides gras mono-insaturés (AGMI)

Parmi les AGMI le 18:1n-9 et le 16:1n-7 sont les plus répandus dans la plupart des lipides du poisson. Cependant, le 20:1n-9 et le 22:1n-11 sont souvent retrouvés dans les lipides neutres. Ces derniers dérivent des acides gras présents dans le zooplancton (Ackman, 1989).

2.2.3 Acides gras poly-insaturés (AGPI)

Les AGPI les plus abondants chez le poisson sont le 20:4n-6 et son précurseur le 18:4n-6, ainsi que le 20:5n-3 et 22:6n-3 et leur précurseur le 18:3n-3.

Les poissons sont de loin les animaux pour lesquels la teneur en AGPI de la famille n-3 est la plus élevée, dans le filet elle varie de 15 à plus de 35% selon l'espèce. Dans le milieu naturel, la richesse en AGPIn-3 est liée à la composition du phytoplancton où ces acides gras représentent plus de 40% des lipides totaux. Ces AGPIn-3 sont conservés aux niveaux trophiques supérieurs : 15 à 20% dans le zooplancton et 20% chez le poisson (Sargent *et al.*, 1989). Cependant, dans les écosystèmes d'eau douce, c'est le 18:3n-3 qui est majoritaire (9 à 15% des acides gras totaux) alors que dans les écosystèmes marins ce sont les AGPI à longue chaîne (20 carbones et plus) qui prédominent (25 à 38%) (Sargent *et al.*, 1989). Cette différence a des répercussions sur les besoins et la synthèse des acides gras chez le poisson. En général, les poissons marins ont des teneurs plus élevées en AGPI longs que les poissons d'eau douce.

3 METABOLISME

3.1 Digestion, absorption et transport des lipides

En règle générale, la digestion, l'absorption et le transport des lipides se font chez le poisson de façon similaire aux mammifères. Il existe cependant des différences de morphologie du tube digestif (espèce avec ou sans estomac, intestin plus ou moins long, caecca pyloriques plus ou moins développés) associées aux différences de régime alimentaire et de mode de vie. Ces différences peuvent avoir un léger impact sur le processus de digestion des lipides comme par exemple la présence d'une hydrolyse des lipides dans l'estomac par une lipase gastrique chez l'esturgeon (Gisbert *et al.*, 1999).

Chez la majorité des poissons, le mécanisme de digestion des lipides est une **hydrolyse extracellulaire** par des lipases ou colipases (Sargent *et al.*, 1989) qui a lieu dans l'intestin. Le pancréas ou hépatopancréas est la principale source d'enzymes digestives chez le poisson comme chez les mammifères (Kapoor *et al.*, 1975).

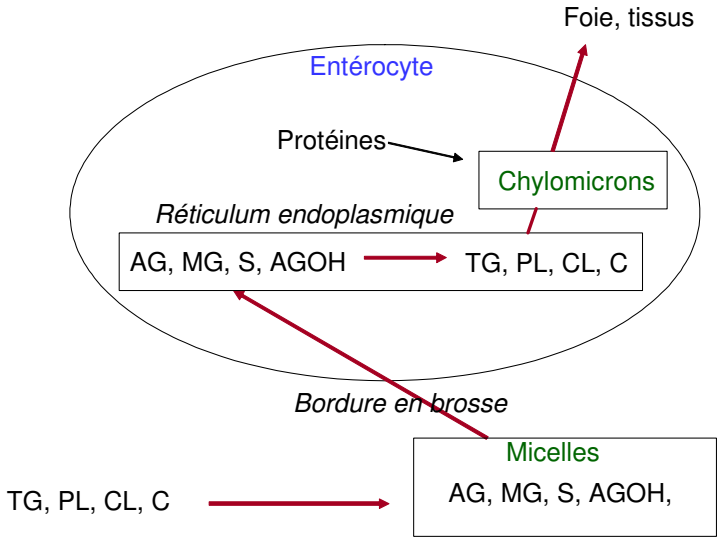
Les lipides sont réputés pour être fortement digestibles (à 95%). Cependant, **la digestibilité des acides gras n'est pas homogène** : elle diminue quand le point de fusion des acides gras augmente, donc les AGS et AGMI longs sont les moins bien digérés. Par contre la digestibilité des AGPI serait presque totale, un peu moindre pour l'acide linoléique cependant (Olsen et Ringoe, 1997).

3.1.1 Absorption

L'absorption des lipides se fait au niveau des entérocytes. Chez la perche l'intestin est divisé en trois segments et l'absorption se fait au niveau du segment proximal (Noaillac-Depeyre et Gas, 1979).

Les produits résultant de la digestion des lipides sont majoritairement des acides gras libres. Il y a cependant d'autres molécules différentes en fonction du type de lipide digéré. Ainsi on trouvera du glycérol et du 2-monoacylglycerol (provenant des triglycérides et des phospholipides), des alcools (provenant des cirres) et des stérols (provenant du cholestérol) (Figure 4). Il existe une **absorption différentielle en fonction du type d'acides gras**, basée sur la longueur de la chaîne et le degré d'insaturation (Higgs et Dong, 2000). Les acides gras à courte chaîne (2 à 10 atomes de carbone) et le glycérol sont absorbés par simple diffusion à travers la membrane des entérocytes. Les acides gras à plus de 10 carbones sont coupés par une lipase et transformés en micelles par les sels biliaires.

Les micelles représentent ainsi un agglomérat, de charge négative, qui va pouvoir être transporté de la lumière intestinale à la membrane où les acides gras seront libérés afin de pouvoir pénétrer à l'intérieur de l'entérocyte. Une fois à l'intérieur, les acides gras sont ré-estérifiés en lipides et s'associent à des protéines (apoprotéines spécifiques) afin de former des chylomicrons.



Digestion extracellulaire

LUMEN

TG: triglyécrides
PL: phospholipides
CL: cholesterol
C : cirres

AG : acides gras libres
MG : monoglycéride
S : stérols
AGOH: acides gras estérifiés avec un alcool

Figure 4: Digestion des lipides, d'après (Sargent *et al.*, 2002)

3.1.2 Transport

Une fois absorbés par les entérocytes, les acides gras sont transportés au foie via la circulation sanguine et lymphatique qui les re-distribuera dans le corps en fonction des besoins.

Les lipides alimentaires absorbés, présents dans le sang sous forme d'acide gras sont transportés librement quand le nombre de carbones est inférieur à 10. S'il est supérieur à 10, ou si les lipides sont sous la forme de triglycérides, ils sont transportés en association avec une apoprotéine (=lipoprotéine).

Dans le plasma, les triglycérides et les lipoprotéines sont hydrolysés en acides gras et glycérol par une **lipoprotéine lipase (LPL)** qui joue un rôle important dans la captation des lipides des tissus. L'activité LPL à été décrite chez différentes espèces (Black *et al.*, 1983; Sheridan et Allen, 1984; Harmon *et al.*, 1991). Chez les salmonidés, son activité a été mesurée dans le plasma (Skinner et Youssef, 1982) et dans différents tissus incluant le muscle rouge, le foie et les tissus adipeux (Black *et al.*, 1983; Sheridan et Allen, 1984). **Elle est différente en fonction du tissu et peut varier en fonction du traitement alimentaire**. Par exemple, chez la truite arc en ciel, la présence de l'enzyme a été mise en évidence dans le foie, mais avec une activité faible (20mUI/g) et qui n'est pas modifiée par les variations de la composition de la ration. L'activité LPL dans le tissu adipeux (150 mUI/mg) est trois fois plus élevée que dans le filet (45mUI.g). Dans ces deux tissus elle augmente avec l'élévation du taux de lipides alimentaires mais elle n'est pas affectée par la nature des lipides de l'aliment (Richard *et al.*, 2006).

Le transport des lipides est constitué de deux boucles : une boucle exogène et une boucle endogène (Sheridan, 1988) :

Le transport exogène correspond au transport des lipides de l'intestin aux tissus actifs ou de stockage sous forme d'acides gras ou de chylomicrons en fonction de la taille des acides gras. Les lipides provenant du plasma sont d'abord distribués au foie puis ensuite aux tissus périphériques pour stockage ou utilisation.

Le transport endogène représente le transport des lipides par l'intermédiaire des VLDL (very low density lipoproteins), lipoprotéines riches en triglycérides, sécrétées par le foie. Les VLDL sont hydrolysées dans les capillaires et dans les tissus du poisson grâce à l'action de la LPL.

3.2 Dépôt

Chez les mammifères, les lipides sont stockés dans un tissu adipeux. Chez les poissons, les lipides sont stockés dans un grand nombre de tissus différents comme **le tissu hépatique, le tissu musculaire, les tissus adipeux périviscéraux** (Henderson et Tocher, 1987; Sheridan, 1994) sous forme de triglycérides essentiellement (Sheridan, 1988; Ackman, 1995). L'importance de ces sites varie selon l'espèce : tissu périviscéral et filet chez les salmonidés, foie chez les espèces marines surtout (morue, bar). De plus, il existe également des disparités au sein d'un même tissu, par exemple chez la truite (*Salmo trutta*) des différences de teneurs en lipides existent au sein d'un même filet (Toussaint *et al.*, 2005).

Généralement le stockage se fait dans les adipocytes ou directement dans les cellules sous forme de gouttelettes lipidiques (Sheridan, 1988). Les lipides du muscle blanc sont stockés dans des adipocytes situés entre les fibres musculaires, et les lipides du muscle rouge sont stockés à l'intérieur même des fibres (Sheridan, 1994). La partie ventrale entourant la cavité viscérale est une zone généralement riche en tissu adipeux chez la plupart des poissons.

Le **stockage différentiel** des lipides au sein des tissus permet de classer les espèces de poissons en trois catégories (Tableau 1):

-maigres, dont la teneur en lipides dans le filet est inférieure à 2%

-semi-gras, dont la teneur en lipides dans le filet est comprise entre 2% et 10%.

-gras, dont la teneur en lipides dans le filet est supérieure à 10%

Tableau 1: Répartition de quelques espèces selon leur teneur en lipides musculaires (Ackman, 1995)

Poissons maigres	*Poissons semi gras*	*Poissons gras*
Bar	Esturgeon	Anguille
Lieu noir	Omble de fontaine	Hareng
Morue	Truite fario	Maquereau
Mulet	Truite arc en ciel	Saumon atlantique
Sole		Sardine
Turbot		

La perche commune avec un taux de lipides intramusculaires inférieur à 2% fait partie de la première catégorie (Kestemont *et al.*, 2001). Elle stocke préférentiellement ses lipides dans un tissu adipeux périviscéral mais également dans le foie (Kaitaranta et Ackman, 1981).

Il existe une **incorporation préférentielle** de certains acides gras qui **varie en fonction des tissus ainsi qu'en fonction du réservoir lipidique (lipides neutres ou lipides polaires) où ces acides gras sont retenus** (lipides neutres ou lipides polaires).

Linares et Henderson (1991) ont étudié l'incorporation d'acides gras marqués au ^{14}C dans des turbots. Le taux d'incorporation du DHA est supérieur à celui des autres acides gras testés. Il n'est pas différent en fonction du type de lipides. Par contre, le taux d'incorporation de l'acide arachidonique est supérieur dans les phospholipides. Concernant l'association entre incorporation et tissus, des taux élevés de DHA sont retrouvés au niveau du cerveau et de l'œil.

L'administration de palmitate et d'oléate marqué au carbone ^{14}C à des truites arc en ciel a permis de mesurer l'incorporation de ces acides gras au niveau des différents tissus. Cette incorporation varie considérablement en fonction des tissus et des types de lipides où ces acides gras jouent un rôle physiologique différent. Dans tous les tissus, la vitesse d'incorporation de l'oléate dans les lipides neutres est plus grande que celle du palmitate. Les lipides neutres représentant la forme de stockage de l'énergie, cette incorporation préférentielle d'oléate montre vraisemblablement que cet AG joue un rôle plus important que le palmitate dans la fourniture d'énergie pour l'organisme. Cependant les taux d'incorporation de ces deux acides gras aux phospholipides des tissus sont similaires. Les membranes cellulaires étant composées de phospholipides, ceci indique une contribution égale de ces deux acides gras au renouvellement des membranes cellulaires (Weber *et al.*, 2003). Cette étude illustre l'**incorporation préférentielle des AGMI dans les lipides neutres dans un but énergétique**. Parmi les différents tissus testés, le taux de fixation d'acides gras est maximal dans le foie et minimal dans le tissu adipeux périvisceral. Des concentrations différentes en protéines transmembranaires ayant comme fonction le transport des acides gras peuvent être à l'origine des différents taux d'incorporation retrouvés au niveau des différents tissus.

3.3 Bioconversion et catabolisme

3.3.1 Lipogenèse

La lipogenèse est le terme utilisé pour désigner la formation de nouveaux lipides endogènes. La lipogenèse est catalysée par un ensemble d'enzymes cytosoliques regroupées sous le terme de **complexe acides gras synthétase**, qui a également été caractérisé chez le poisson (Sargent *et al.*, 1989). On observe une conversion de l'acétyl-CoA provenant du cycle de Krebs en malonyl-CoA, précurseur des acides gras formés par le complexe acides gras synthétase (Walton et Cowey, 1982) (Figure 5). Les AG synthétisés *de novo* chez tous les organismes y compris le poisson sont l'acide palmitique 16:0, l'acide stéarique 18:0 et l'acide myristique 14:0 en plus faible quantité. Leur proportion varie selon les espèces (Sargent *et al.*, 1989), par exemple le complexe acides gras synthétase produit deux fois plus de 16:0 que de 14:0 (Eberhagen *et al.*, 1969) chez la truite, autant de 16:0 que de 14:0 chez la carpe (Eberhagen *et al.*, 1969) et plus de 16:0 que de 18:0 chez le carrelet (Wilson et Williamson, 1970). Chez le poisson chat, le 18:0 est le principal produit du complexe acides gras synthétase, suivi par le 16:0 (Warman et Bottino, 1978).

Le foie est le principal site de lipogenèse dont l'activité est régulée par des facteurs nutritionnels, plus spécialement chez les poissons d'eau douce (Lin *et al.*, 1977a; Lin *et al.*, 1977b; Sargent *et al.*, 2002). **La présence de lipides dans les aliments du poisson a tendance à limiter la lipogenèse.**

Une augmentation du rapport lipides/protéines alimentaires diminue la lipogenèse chez la carpe (Shimeno *et al.*, 1995) et chez le bar (Dias *et al.*, 1998) alors qu'une augmentation du rapport glucides/lipides alimentaires l'augmente chez la truite arc en ciel (Cowley et Sheridan, 1993).

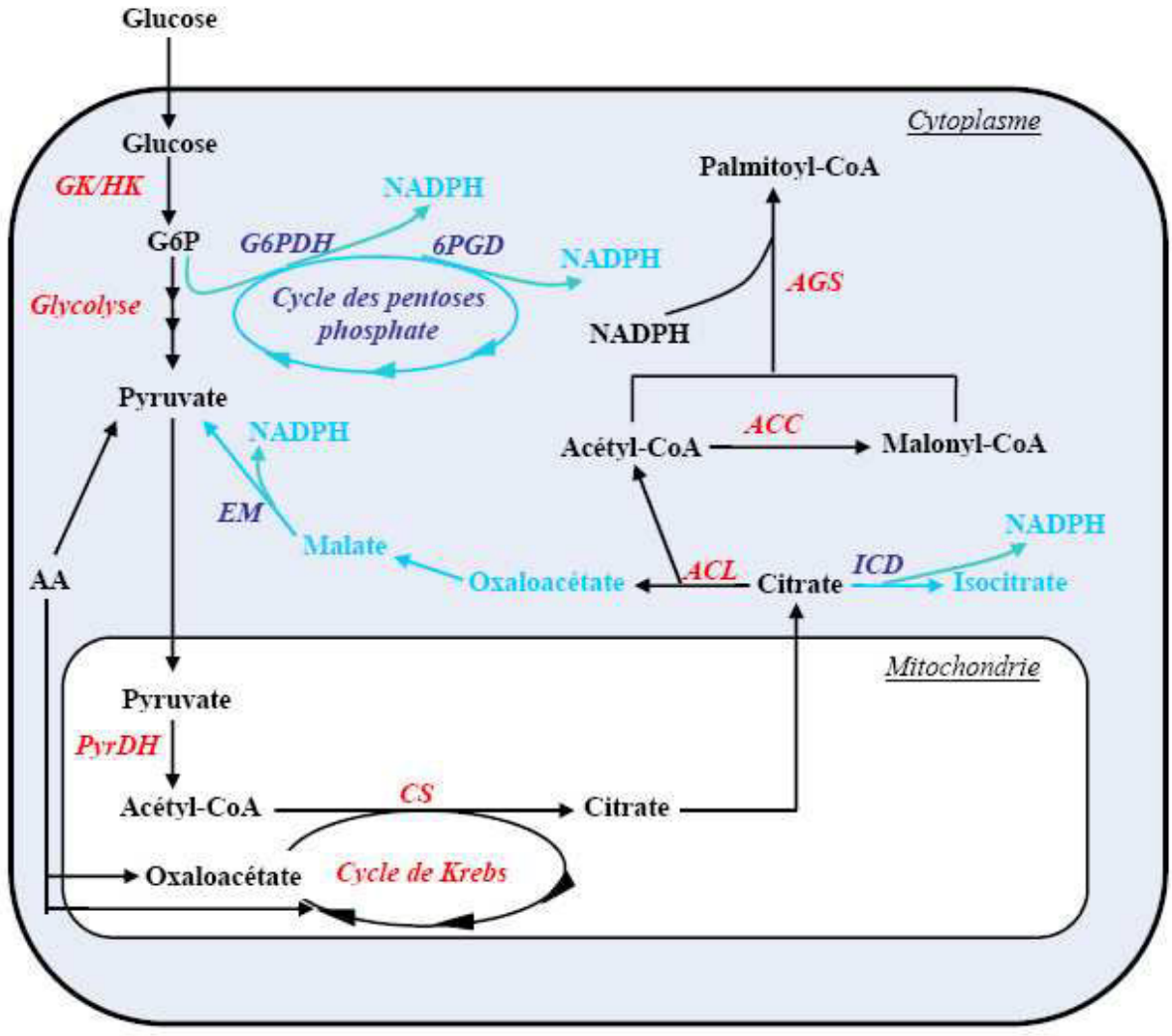
Les acides gras de la famille n-3 provenant de l'alimentation réduisent la lipogenèse chez la carpe (Shikata et Shimeno, 1994). L'activité acide gras synthétase est réduite par les AGPIn-3 et plus spécialement l'EPA et le DHA dans des hépatocytes de truites arc en ciel (Alvarez *et al.*, 2000). Une alimentation riche en AGPI de la série n-3 diminue l'activité de l'enzyme malique et de l'enzyme glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD) chez la carpe et le saumon (Shikata et Shimeno, 1994; Menoyo *et al.*, 2003). D'une manière générale la présence d'acides gras insaturés a un effet sur la lipogenèse : **les AGPI de la série n-3 et n-6, contrairement aux AGS et AGMI, réduisent la lipogenèse dans le foie** (Toussant *et al.*, 1981; Wilson *et al.*, 1990).

Cependant, chez les téléostéens, la diminution de la synthèse *de novo* des AG n'est effective que pour des variations du taux de lipides supérieures à 10% (Henderson et Sargent, 1981; Brauge *et al.*, 1995).

De plus, contrairement aux mammifères, il faut attendre plusieurs semaines pour que la régulation se mette en place (Lin *et al.*, 1977a). Ceci montre que le *turn over* des enzymes lipogéniques est plus long chez les poissons que chez les mammifères (Walton et Cowey, 1982).

Dans certaines études, le remplacement (total ou partiel) de l'huile de poisson (riche en AGPI) par de l'huile végétale (riche en AG à 18 carbones) n'affecte pas l'activité des enzymes lipogéniques. Ceci a été observé chez le turbot (Regost *et al.*, 2003), chez la daurade (Menoyo *et al.*, 2004), chez le saumon atlantique (Torstensen *et al.*, 2004b) et chez la truite (Richard *et al.*, 2006)

Figure 5 : Représentation shématique des différentes voies impliquées dans la lipogénèse
(d'après Hellerstein, 1996)



GK/HK : glucokinase/hexokinase – *PyrDH* : pyruvate déshydrogénase – *CS* : citrate synthase – *ACL* : ATP-citrate lyase – *ACC* : acétyl-CoA carboxylase - *AGS* : acides gras synthase – *G6PDH* : glucose-6-phosphate déshydrogénase – *6PGD* : 6-phosphogluconate déshydrogénase – *EM* : enzyme malique – *ICD* : Isocitrate déshydrogénase – **G6P** : glucose-6-phosphate – **AA** : acides aminés.

3.3.2 Bioconversion des acides gras

3.3.2.1 Les enzymes impliquées dans la bioconversion des acides gras

Il existe deux types d'enzymes responsables de la formation d'un grand nombre d'acides gras à partir d'un nombre limité de précurseurs : les **désaturases** et les **élongases**. Les désaturases permettent d'ajouter une double liaison (= insaturation) entre deux carbones et les élongases permettent d'allonger la chaîne carbonée des acides gras de deux carbones.

Durant ces dernières années un certain nombre de désaturases ont été caractérisées chez différents animaux dont les poissons. Il s'agit d'une famille d'enzymes retrouvées dans un grand nombre de cellules où elles participent à la régulation de la fluidité des membranes et de ce fait jouent un rôle important dans la bioconversion des acides gras. Les désaturases sont caractérisées par l'endroit de la chaîne carbonée où elles vont introduire la double liaison. Par exemple la delta 9 désaturase ne peut introduire une double liaison qu'entre le carbone 9 et le carbone 10.

3.3.2.2 Bioconversion des acides gras mono-insaturés (AGMI)

Les poissons sont capables de désaturer 16:0 et 18:0 en 16:1n-7 et 18:1n-9. Cette désaturation a lieu dans le réticulum endoplasmique des cellules et est catalysée par une enzyme: la delta 9 désaturase. Cette enzyme a été largement caractérisée dans le monde animal dont le poisson et plus spécialement chez la carpe (Chang *et al.*, 2000). Il a été démontré chez cette espèce que le froid induit l'expression de l'enzyme (Trueman *et al.*, 2000).

Les élongations de 16:1n-7 et 18:1n-9 en 20:1n-9, 22:1n-9 et 24:1n-9 ont été très peu étudiées. L'origine de ces derniers est généralement alimentaire (Ackman, 1989).

3.3.2.3 Bioconversion des acides gras poly-insaturés (AGPI)

Seuls les végétaux ont la capacité de désaturer le 18:1n-9 en **18:3n-3** et **18:2n-6** grâce à des enzymes delta 12 et delta 15 désaturases. Chez les vertébrés, ces acides gras doivent être obligatoirement présents dans l'alimentation : ce sont des **acides gras essentiels** (AGE).

Ils peuvent être ensuite transformés en AGPI à 20 et 22 carbones (20:4n-6, 20:5n-3, 22:6n-3) par une série de réactions de désaturation et d'élongation catalysées par des désaturases (delta 5 et delta 6) et des élongases. Cette voie biosynthétique est particulièrement importante chez le poisson car elle donne lieu à la production d'acides gras hautement insaturés aux rôles physiologiques importants à la fois pour le poisson et pour l'homme. Il s'agit d'une voie complexe

mais relativement bien comprise: les réactions enzymatiques ont lieu, sauf une exception, dans les microsomes du foie et ce sont les mêmes enzymes qui agissent sur les acides gras de la famille n-3, n-6 et n-9 (Figure 6). Cependant l'affinité des enzymes, et plus spécialement des désaturases, est supérieure pour les n-3 par rapport aux n-6 et l'affinité de ces deux dernières séries est supérieure à celle des n-9. C'est pourquoi l'acide 18:1n-9 ne sera converti en acides gras supérieur qu'en l'absence des acides gras essentiels 18:3n-3 et 18:2n-6 (Sargent *et al.*, 2002).

L'étude de Buzzi *et al.*, (1996) a révélé que pour le DHA, contrairement à ce qui était admis, l'insertion de la dernière double liaison n'est pas imputée à une delta 4 désaturation à partir du précurseur direct le 22:5n-3. En fait, ce dernier est allongé en 24:5n-3 qui est alors converti en 24:6n-3 par delta 6 desaturation puis en 22:6n-3 (DHA) par oxydation qui a lieu dans les peroxysomes. Une expérience similaire, utilisant des acides gras marqués incorporés dans des hépatocytes et des microsomes isolés a été menée sur le turbot. Même si la production de DHA est limitée, la présence de 24:6n-3 marqué dans les microsomes suggère qu'ici aussi la formation de DHA passerait via des intermédiaires à 24 carbones et aurait lieu dans les péroxysomes (Rodriguez *et al.*, 2002).

Comme le DHA est le produit final de la série des n-3, le 20:4n-6 est le produit final de la série des n-6. Cependant il peut encore être converti en 22:5n-6 de la même façon que l'EPA en DHA. 20:3n-9 n'est apparemment jamais converti en acides gras de taille supérieure.

La capacité des poissons à biosynthétiser les AGPI à partir des acides gras à 18 carbones semble varier en fonction de l'espèce, de l'habitat et des régimes alimentaires (Tocher *et al.*, 2001).

Les poissons d'eau douce comme la carpe, le tilapia et la truite sont capables de bioconvertir les acides gras à 18 carbones en acides gras supérieurs à 20 et 22 carbones. Ce n'est pas le cas des poissons marins comme le turbot et la daurade dont la faible capacité à bioconvertir les acides gras peut être rapprochée de la large disponibilité en AGPI dans leur alimentation (Owen *et al.*, 1975; Mourente et Tocher, 1994; Buzzi *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 2002). Cette faible capacité qu'ont les poissons marins serait liée à une faible activité de la delta 5 désaturase (Bell *et al.*, 1994) ainsi qu'à une faible activité des élongases (Ghioni *et al.*, 1999).

A l'heure actuelle, les études menées chez les espèces marines permettent de penser que leur faible capacité de bioconversion est liée à la diminution de l'expression des gènes codant pour les enzymes désaturases et/ou élongases.

3.3.2.4 Caractéristiques des delta 5 et delta 6 désaturases

Les delta 5 et delta 6 désaturases sont des enzymes transmembranaires retrouvées au niveau du réticulum endoplasmique des animaux. Elles interviennent dans la voie biosynthétique des AG. La delta 6 désaturase catalyse l'étape limitante de la bioconversion des AGPI (Pereira *et al.*, 2003). La delta 5 désaturase agit à un seul niveau dans la voie biosynthétique tandis que la delta 6 désaturase agit à deux niveaux.

Les gènes codant pour la delta 5 et la delta 6 désaturases ont été identifiés chez différentes espèces comme l'homme, le rat et la souris (Cho *et al.*, 1999a; Cho *et al.*, 1999b). La delta 6 est exprimée dans un grand nombre de tissus et spécialement dans le foie, le cerveau et le cœur (Bourre *et al.*, 1990; Cho *et al.*, 1999a). L'activité enzymatique est faible dans la plupart des tissus sauf dans le foie, montrant ainsi le rôle prépondérant du foie dans la bioconversion des AGPI (Brenner, 1989). Chez l'homme, la delta 5 désaturase est également exprimée dans un grand nombre de tissus (filet, placenta, rein, pancréas) mais principalement dans les glandes surrénales, suivies par le foie, le cerveau et le cœur (Cho *et al.*, 1999b).

Grâce aux informations et aux séquences obtenues chez les mammifères, les gènes codant pour la delta 6 désaturase ont été récemment identifiés et caractérisés chez certaines espèces de poissons: truite (Seiliez *et al.*, 2001), carpe (Zheng *et al.*, 2004a), daurade (Seiliez *et al.*, 2003), et turbot (Zheng *et al.*, 2004a). Chez tous les poissons, les protéines présentent des caractéristiques communes propres aux enzymes microsomales transmembranaires. Au niveau fonctionnel, les gènes codent pour une delta 6 désaturase uni-fonctionnelle impliquée dans l'étape limitante de la bioconversion des AGPI à partir de 18:3n-3 et 18:2n-6.

Toutes les enzymes présentent une plus grande activité envers les n-3. L'expression de la delta 6 désaturase a été observée dans différents tissus chez la truite et la daurade. L'ARNm a été détecté dans un grand nombre de tissus incluant le cerveau, le foie, les viscères, l'intestin, le rein, le cœur et le filet (Seiliez *et al.*, 2001; Seiliez *et al.*, 2003).

Chez les mammifères, l'activité enzymatique des désaturases est soumise à l'influence de facteurs intrinsèques (âge, hormones) et alimentaires (Nakamura *et al.*, 2000). L'activité delta 6 désaturase est réduite chez des rats nourris avec des aliments riches en AGPI (Brenner et Peluffo, 1966; Christiansen *et al.*, 1991). Parallèlement, l'abondance des ARNm des gènes codant pour la delta 6 et la delta 5 désaturase est faible chez les rats recevant des aliments enrichis en AGPI alors qu'elle est élevée pour ceux consommant un aliment déficient en AGE (aliment sans graisse ou aliment à base de 18:1n-9). Chez le poisson, la delta 6 désaturation de 18:3n-3 et 18:2n-6 semble également être inhibée chez le turbot et la truite nourris avec un aliment riche en AGPI (Owen *et al.*, 1975; Léger et Fremont, 1981). La régulation nutritionnelle des désaturases chez le poisson

sera traitée plus en détail dans le dernier chapitre « effet de la nature des lipides alimentaires sur le métabolisme lipidique ».

Chez l'homme, des modifications de l'expression de la delta 6 et de la delta 5 désaturase sont à l'origine de certaines maladies comme le cancer et le diabète pour la première et la maladie d'Alzheimer et des problèmes visuels pour la deuxième.

3.3.2.5 Enzyme bi fonctionnelle delta 5/6 désaturase

Un gène codant à la fois pour une delta 6 et une delta 5 activité a été identifié chez le zebrafish (*Danio rerio*) (Hastings *et al.*, 2001). La protéine présente cependant une plus grande activité delta 6 et une préférence pour les n-3. D'un point de vue phylogénétique, il semblerait que cette enzyme bi-fonctionnelle soit un élément de la régulation de la bioconversion des AGPI prototypiques des vertébrés qui a persisté chez les poissons d'eau douce. L'évolution en deux enzymes distinctes delta 5 et delta 6 pourrait être une réponse adaptative au régime alimentaire terrestre qui ne fournit que des petites quantités d'acides gras précurseurs aux C20 et C22 comparé au régime alimentaire à base de poissons.

Récemment le même type de désaturase a été cloné à partir de l'ADN du saumon atlantique (*Salmo salar*). Elle présente majoritairement une activité delta 5 désaturase ainsi qu'une faible activité delta 6 désaturase (Hastings *et al.*, 2004)

3.3.2.6 Cinétique de formation du DHA et distribution tissulaire

La formation et la distribution tissulaire de DHA a été quantifiée in vivo chez la truite arc en ciel (Bell *et al.*, 2001b) utilisant la méthode de Pawlosky (Pawlosky *et al.*, 1992). Les poissons ont reçu pendant 35 jours une alimentation à base d'huile végétale et de farine de poisson contenant du 18:3n-3 marqué au deutérium. L'accumulation de DHA dans le corps est linéaire durant les sept premiers jours d'alimentation. Le maximum de DHA est atteint à sept jours dans le foie, 14 jours dans le tissu adipeux et 24 jours dans les yeux et le cerveau. La concentration en DHA (mg/g de lipides) est maximale dans le foie et les yeux.

Parmi les tissus impliqués dans la formation du DHA chez la truite arc en ciel, le foie et l'intestin (au niveau du coecum pylorique) sont les tissus les plus actifs dans la bioconversion du DHA.

Le cerveau et les yeux, riches en DHA, semblent être un peu moins impliqués tandis que le tissu adipeux est inactif (Bell *et al.*, 2003b) .

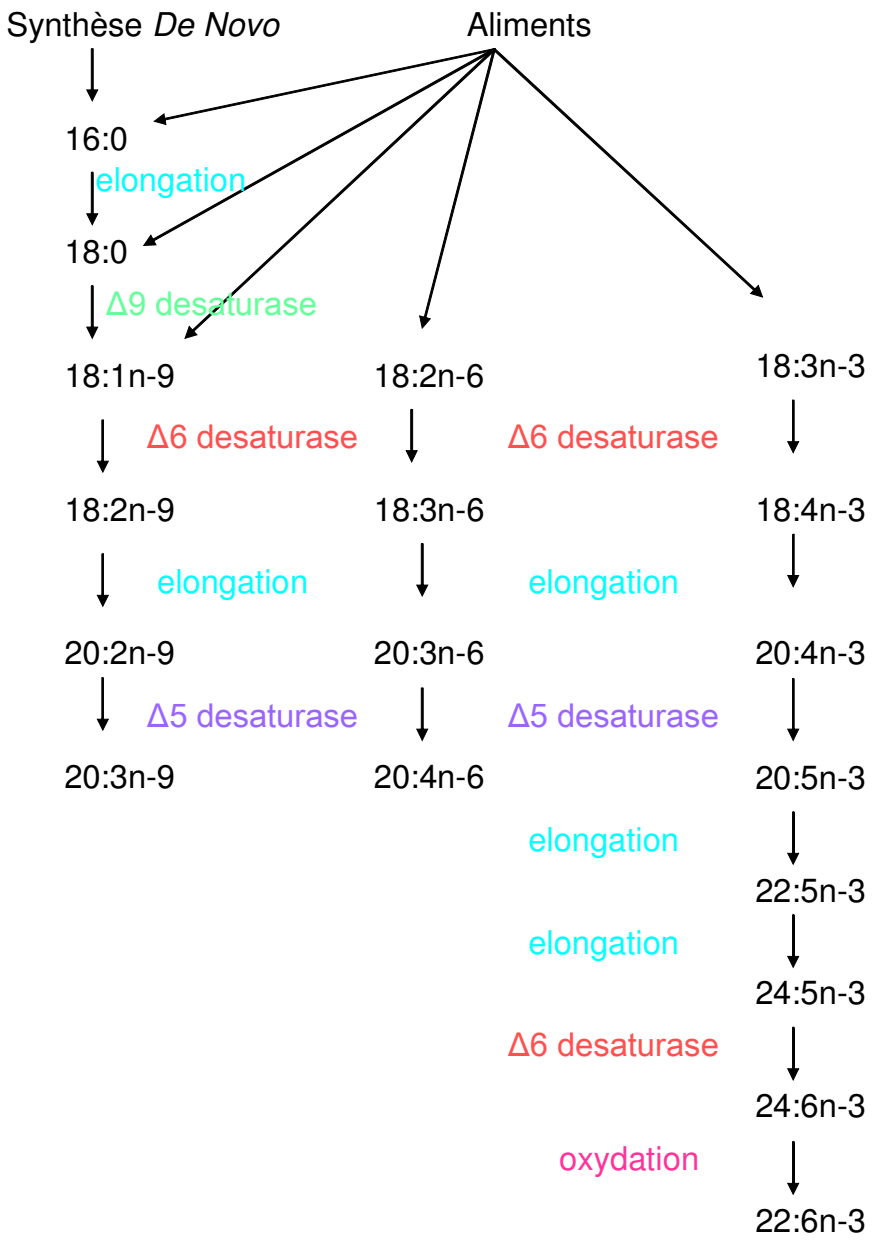


Figure 6: Voies de bioconversion des acides gras (Bell *et al.*, 1986; Sargent *et al.*, 2002)

Les acides gras proviennent de la synthèse *de novo* ou de l'alimentation. Les trois familles d'acides gras sont représentées : n-3, n-6 et n-9.

3.3.3 Mobilisation des lipides

Les triglycérides sont stockés dans un tissu adipeux afin de constituer une source d'énergie qui pourra être utilisée lorsque l'aliment n'en fournit pas suffisamment. C'est le cas notamment lors des périodes de reproduction (production de gamètes, d'œufs) ou de migration (longues distances, mobilisation des muscles rouges pour la nage) où les besoins en énergie sont élevés. A

court terme, les lipides sont mobilisés à partir du site de stockage principal mais à long terme les lipides des autres tissus comme le filet et le foie peuvent également être mobilisés.

Les triglycérides stockés sont hydrolysés par un complexe d'enzymes lipasiques sous contrôle hormonal (Sheridan, 1994). Le glycérol libéré sert de précurseur à la gluconéogenèse. Il existe trois types d'enzymes lipasiques :
-les triglycérides lipases, qui hydrolysent les triglycérides en acides gras et glycérol
-les lipases acides et neutres qui participent à la mobilisation des acides gras.

La lipase acide, qui se trouve dans les lysosomes, permet la mobilisation des acides gras en vue d'une utilisation interne (ß oxydation, cycle de Kreps), la lipase neutre, qui se trouve dans les adipocytes, permet quant à elle une mobilisation des acides gras vis à vis des tissus périphériques demandeurs (Bilinski *et al.*, 1971).

Une activité lipolytique vis à vis des longues chaînes de triglycérides a été observée chez les salmonidés : dans le muscle rouge (Bilinski et Lau, 1969), dans le foie (Sheridan et Allen, 1984) et dans les tissus adipeux (Sheridan et Allen, 1984).

Une activité lipase lysosomale acide a été observée dans le muscle rouge de la truite (Bilinski *et al.*, 1971) et dans les tissus adipeux (Sheridan et Allen, 1984). La lipase neutre a été isolée dans le tissu adipeux de la truite.

Les phospholipides sont considérés comme étant la fraction stable des lipides, puisqu'ils constituent la membrane cellulaire. Cependant, en période de « famine », certains poissons peuvent utiliser une partie des phospholipides à des fins énergétiques (Love, 1970).

Certains acides gras sont préférentiellement retenus et ceci dépend de l'espèce et de la nature du tissu où ils sont accumulés (Henderson, 1996). Montero *et al.* (2001) ont montré une rétention préférentielle du DHA chez la daurade royale nourrie avec un aliment déficient en acides gras essentiels. Cette conservation a aussi été décrite chez d'autres espèces (Lochmann et Gatlin III, 1993) incluant la perche (Kestemont *et al.*, 2001). Ces résultats montrent l'importance du DHA, qui permet aux animaux de maintenir l'intégrité de leurs cellules en absence d'acides gras essentiels dans l'alimentation (Kanazawa, 1985).

3.3.4 Catabolisme des acides gras

Le catabolisme des acides gras est la source d'énergie majeure dans la plupart des espèces de poissons.

Les acides gras sont oxydés dans le foie et dans d'autres tissus, incluant le muscle rouge (Bilinski et Lau, 1969) et le muscle blanc (Froyland *et al.*, 2000) où ils sont utilisés comme source d'énergie. Alors que la bioconversion des acides gras a lieu dans le cytosol, le catabolisme a lieu dans la mitochondrie et les peroxysomes utilisant de surcroît des enzymes complètement différentes de celles impliquées dans la bioconversion. Ils empruntent pour cela la voie de la **ß oxydation** (clivage de deux carbones et relarguage sous forme d'acetyl CoA): l'acide gras pénètre dans la mitochondrie sous forme d'acyl carnitine et est oxydé avec formation d'ATP (Léger et Fremont, 1981; Walton et Cowey, 1982).

La ß oxydation sera différente selon l'acide gras oxydé, l'espèce, le tissu et le poids de l'animal. Par exemple, les taux d'oxydation obtenus avec 18:1n-9 et 16:1n-7 sont supérieurs à ceux obtenus avec 16:0 et 18:0 (Murata et Higashi, 1979). Il existe une plus grande affinité des AGS courts et des AGMI pour la ß oxydation dans la mitochondrie (Kiessling et Kiessling, 1993). La ß oxydation des AGPI est plus compliquée, nécessitant des enzymes supplémentaires par rapport à celle des AGS (Léger et Fremont, 1981). L'oxydation du DHA par exemple nécessite une ß oxydation supplémentaire au niveau des peroxysomes (Buzzi *et al.*, 1997). L'étude de l'évolution de la composition en acides gras des tissus d'animaux maintenus à jeun permet de déterminer ceux qui sont utilisés préférentiellement pour la production d'énergie. **Les AGS et AGMI seront préférentiellement utilisés comme source d'énergie, car plus facilement et plus rapidement catabolisés.** Ceci a été observé chez de nombreux poissons (Mourente et Tocher, 1994) dont la perche (Kestemont *et al.*, 2001)

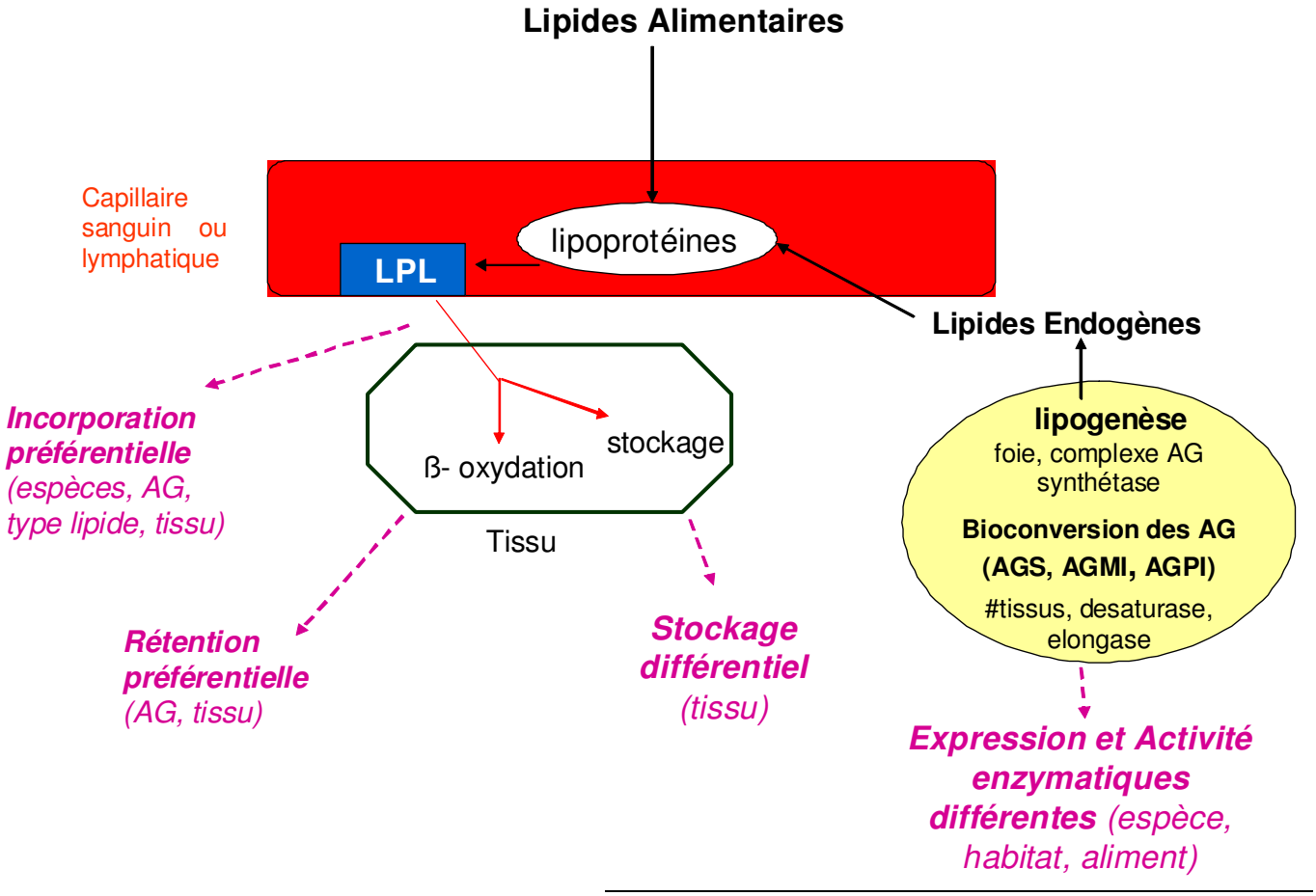
De plus**, les tissus présentent une oxydation préférentielle pour certains acides gras**. La ß oxydation de l'octanoate chez la carpe est ainsi supérieure dans les mitochondries du muscle rouge, par rapport à celle du foie (Murata et Toyomizu, 1973).

Le catabolisme sélectif des acides gras est important car c'est lui qui va déterminer la composition en acides gras des tissus, elle-même importante à la fois pour le bien être du poisson et pour le consommateur (teneur en AGPIn-3).

3.3.5 SCHEMA RESUME

La figure ci-dessous résume les différents paramètres intervenant lors du stockage des lipides.

Figure 7 : Différents paramètres intervenant lors du stockage des lipides chez le poisson.



4 FONCTION DES LIPIDES

4.1 Production d'énergie

Comme cela a été évoqué dans la première partie, la principale fonction des lipides chez le poisson est de générer de l'énergie sous forme d'ATP fourni par la ß oxydation des acides gras (Sargent *et al.*, 1989; Froyland *et al.*, 2000). Ce rôle est d'autant plus important chez les poissons que la majorité d'entre eux digèrent mal les glucides complexes qui sont la principale source d'énergie pour les animaux terrestres (Corraze *et al.*, 1999).

Chez les poissons, l'énergie fournie par les lipides est utilisée pour la croissance (Tocher *et al.*, 1985) et pour la reproduction (Sargent *et al.*, 1989). Les acides gras qui fournissent potentiellement la plus grande quantité d'énergie sont 16:0, 18:1n-9, 20:1n-9 et 22:1n-11 (particulièrement abondants dans les poissons de l'hémisphère Nord). Ces acides gras sont facilement et rapidement catabolisés.

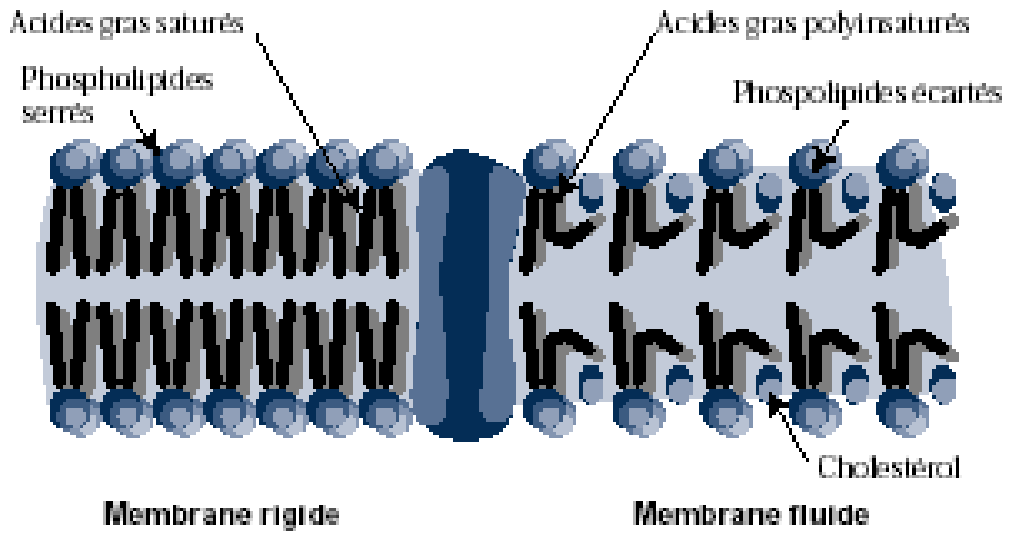
4.2 Composition des membranes cellulaires

Un des autres rôles des lipides est de satisfaire les besoins en AGE nécessaires au bon fonctionnement cellulaire et au maintien de l'intégrité des structures membranaires (fluidité, activité enzymatique…). Les besoins en AGE du poisson sont différents de ceux des mammifères et varient en fonction de l'espèce. Cette différence est liée aux différents modes alimentaires (herbivore, carnivore, omnivore) et à l'alimentation présente dans le milieu naturel. Chez les poissons, ce sont essentiellement les acides gras de la série n-3 qui sont indispensables pour la plupart des espèces (Sargent *et al.*, 1989), i.e 18:3n-3, EPA et DHA. L'alimentation des poissons d'eau douce doit contenir 1% de 18:3n-3 ou 0,5% d'EPA et DHA, les AGPI longs étant plus efficaces pour couvrir le besoin en n-3 (Watanabe, 1982). Chez les poissons marins, incapables de bioconvertir le 18:3n-3 alimentaire en AGPI supérieurs, il faut impérativement que l'alimentation apporte 0,5 à 1% d'EPA et de DHA. La plupart des espèces d'eau douce ont également des besoins en acides gras de la série n-6: 18:2n-6 et 20:4n-6.

Les cellules qui composent l'organisme doivent communiquer entre elles, échanger des substances chimiques, des nutriments, etc. Les membranes cellulaires sont les portes d'entrée et de sortie des cellules et le siège des différents récepteurs. Elles sont constituées d'une bicouche phospholipidique. Chez le poisson, cette bicouche est composée des acides gras 16:0, 18:1n-9, EPA et DHA. La fluidité membranaire est liée au degré d'insaturation des acides gras présents (Figure 8). Une membrane cellulaire fluide est beaucoup plus efficace pour les échanges trans-

membranaires et plus accessible à tous les médiateurs cellulaires (hormones, éicosanoïdes, protéines etc.).

Figure 8: Différence de conformation entre une membrane rigide constituée d'AGS et une membrane fluide constituée d'AGPI (d'après Rombi, 1995)



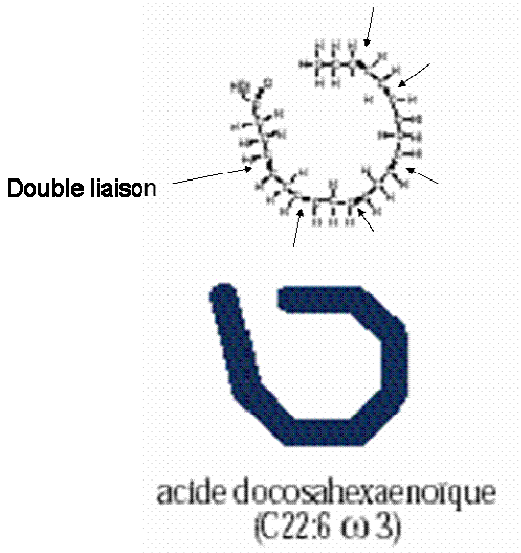
Généralement le DHA est deux fois plus représenté que l'EPA dans les phospholipides, mais ceci dépend de la classe de phospholipides et du tissu concerné. Les taux de DHA sont élevés dans les phosphatidyléthanolamine et phosphatidylsérine, alors que le taux d'EPA est élevé dans le phosphatidylinositol. Le DHA est particulièrement présent dans les tissus nerveux (cerveau, yeux).

Traditionnellement, la prépondérance des AGPI à longue chaîne n-3 et plus spécialement du DHA dans les phospholipides était imputée à une adaptation aux faibles températures dans le but de maintenir une fluidité membranaire (Sargent *et al.*, 2002). Cependant, l'abondance de DHA dans les lipides polaires des espèces tropicales met en doute cette hypothèse. De plus, une étude a démontré que c'est le rapport AGMI/AGS qui intervient dans la fluidité membranaire en réponse à un changement de température (Wodtke et Cossins, 1991).

L'autre explication est en lien avec la structure particulière du DHA qui est le seul acide gras à 22 carbones avec six doubles liaisons (Figure 9). Les phospholipides constitués de DHA pourraient alors former des phases hexagonales à l'intérieur des bicouches lipidiques dans le but de faciliter les changements de conformation des membranes. Ces changements sont particulièrement importants dans les procédés visuels et neuromusculaires (Brown, 1994). De plus ce type de structure participe à la résistance de la membrane vis à vis des différences de température et de pression, rôle important en environnement aquatique (Sargent *et al.*, 2002).

Le réticulum sarcoplasmique du muscle est particulièrement riche en DHA ceci afin de faciliter la libération du Ca2+ nécessaire au mouvement (Ushio *et al.*, 1997)

Figure 9: Structure et forme du DHA (d'après Rombi, 1995).
Les coudes correspondent aux doubles liaisons



4.3 Rôle biologique (production d'eicosanoïdes)

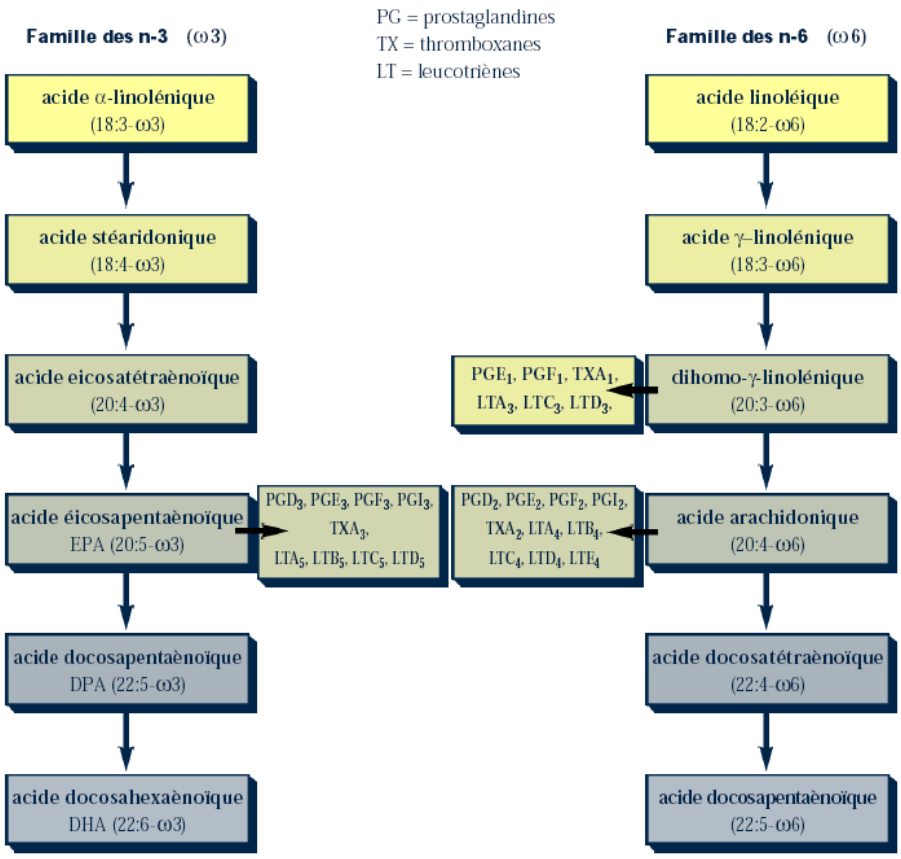
Les AGPI à 20 carbones sont les précurseurs de molécules à fonction biologique : les eicosanoïdes. Ils sont issus de la transformation enzymatique des AGE 18:3n-3 et 18:2n-6.

4.3.1 Rôle des eicosanoïdes

Les eicosanoïdes interviennent au niveau de la reproduction, de la pression sanguine, de la fonction rénale, de la fonction circulatoire locale, de l'inflammation, de l'immunité et de l'activité neurale. Ce sont des médiateurs cellulaires locaux (contrairement à la plupart des hormones), puissants, agissant sur le site même de leur production (c'est-à-dire dans pratiquement toutes les cellules). Les eicosanoïdes produits par les AGPI de la série n-3 ont un effet anti-agrégant plaquettaire, anti-arythmique et anti-inflammatoire. Ils jouent donc un rôle important dans la prévention cardiovasculaire et sont utilisés dans les pathologies inflammatoires chroniques (rhumatisme, intestin) ou aigües (microtraumatismes du sport). Les eicosanoïdes produits par les AGPI de la série n-6 contrebalancent l'effet des eicosanoïdes produits par les AGPI de la série n-3 (fluidifiant, pro-inflammatoire…). Actuellement chez l'homme, la proportion d'AGPIn-6 ingérés est 10 fois supérieure à celle préconisée. Ce déséquilibre est source de maladies cardiovasculaires, troubles allergiques et inflammatoires.

4.3.2 Production des eicosanoïdes à partir des AGPI

Il y a deux familles de molécules, l'une issue de l'action de la cyclooxygénase sur 20:4n-6 et EPA (prostaglandines <Pg>, thromboxanes <Tx>, prostacycline) et l'autre issue de l'action de la lipoxygénase sur 20:4n-6 et EPA (leucotriènes<Lt>) (Figure 10). Chez les mammifères comme chez les poissons 20:4n-6 est le précurseur le plus important dans la synthèse des éicosanoïdes. Les Pg, Tx et Lt issues des AGPI de la série n-6 sont plus puissantes que celles issues de la série n-3. Il existe une compétition entre les AGPI de la série n-6 et de la série n-3 pour les enzymes de transformation. C'est pourquoi l'action des eicosanoïdes est déterminée par le rapport 20:4n-6/EPA dans les cellules membranaires, lui-même lié à la prise alimentaire. Chez la plupart des espèces de poissons, l'EPA est présent en plus grande quantité que le 20:4n-6 dans la membrane cellulaire. Comme chez les mammifères, il diminue la production des eicosanoïdes à partir de 20:4n-6 (Ghioni, Tocher et Sargent, données non publiées).



<u>Figure 10</u>: Conversion des AGPI en eicosanoïdes d'après Dacosta (1998).

5 FACTEURS DE VARIATION DU METABOLISME DES LIPIDES

Le métabolisme lipidique est soumis à l'influence de différents facteurs. Leur impact se traduira par des variations au niveau des teneurs en lipides corporels, de la répartition en lipides neutres et polaires ainsi que de leur profil en acides gras.

5.1 Facteurs intrinsèques

5.1.1 Origine génétique

L'origine génétique peut influer sur la teneur en lipides des tissus. Chez les salmonidés la teneur en lipides du filet est différente en fonction de l'origine génétique (Gjedrem, 1993). Chez le Tilapia, la composition en acides gras du filet est différente en fonction des trois espèces *Oerochromis niloticus*, *Oerochromis macrohir* et *Tilapia rendalli* (Rasoarahona *et al.*, 2005). Chez la perche, des animaux d'origine différente, élevés dans les mêmes conditions environnementales et trophiques, ont des profils en acides gras différents (Mairesse *et al.*, 2006).

5.1.2 Âge

La quantité de lipides corporels augmente au cours du temps. Elle est corrélée à une baisse de la teneur en eau alors que la teneur en protéines reste constante (Henderson et Tocher, 1987), bien que cela ne soit pas le cas chez le hareng (Nielsen *et al.*, 2005). Cependant, cette augmentation n'est pas toujours linéaire puisque, chez le tilapia (*Oreochromis mossambicus*), la teneur en lipides corporels est maximale pour des poissons âgés de 6 mois, puis diminue progressivement par la suite (Ramachandran Nair et Gopakumar, 1982).

L'âge a également un effet sur la composition en acides gras des tissus. Une étude menée sur les salmonidés a montré que parmi les facteurs « âge, ration, et exercice musculaire », l'âge du poisson est le facteur ayant l'effet le plus important sur la composition en acides gras du filet, suivi par le niveau de la ration (Kiessling *et al.*, 2005). Ceci est lié non pas à l'accroissement des lipides musculaires avec l'âge mais à une **incorporation sélective de certains acides gras, notamment des AGMI et AGPIn-3, dont les teneurs augmentent (AGMI) ou diminuent (AGPIn-3) avec l'âge**.

5.1.3 Cycle sexuel

Les poissons ont un cycle de reproduction saisonnier, impliquant des phases de développement et de maturation. Au cours de ce cycle se succèdent des périodes de stockage d'énergie sous forme de lipides, de mobilisation et de transfert de ces lipides des sites de dépôt vers le foie pour y être métabolisés puis transportés vers les gonades (Craig *et al.*, 2000). Parallèlement à cette mobilisation, on observe chez les femelles une augmentation du poids des gonades ainsi que

de la teneur en lipides des ovaires. Chez la perche, plus de 86% de l'énergie stockée dans les tissus adipeux périviscéraux est utilisée pour la maturation des gonades (Craig, 1977).

5.2 Facteurs environnementaux

Chez les poissons, la croissance et la reproduction sont synchronisées avec les changements de saisons et sont sensibles aux facteurs environnementaux comme la température, la photopériode, la salinité, les caractéristiques alimentaires, etc ....

5.2.1 Saison

Une étude a été menée chez trois espèces de Tilapia capturées à différentes saisons afin d'observer l'effet de la saison sur la teneur en lipides et la composition en acides gras du filet (Rasoarahona *et al.*, 2005). La teneur en lipides n'est pas influencée par la saison. En revanche la composition en acides gras varie: la teneur en DHA du filet diminue entre le printemps et l'automne. Une saisonnalité dans la composition en acides gras est aussi observée chez la sole (Gökçe *et al.*, 2004) et le poisson chat (Shirai *et al.*, 2002).

Chez la perche sauvage, Mairesse *et al.*, (2006) ont montré une forte variabilité de la qualité nutritionnelle de la chair de perche entre les différentes saisons de capture. La teneur en lipides du filet reste inchangée. En effet, les changements affectent essentiellement les sites de stockage des graisses (Craig *et al.*, 2000). Par contre, la composition en acides gras varie fortement. Pour les poissons capturés dans le Rhin, la teneur en AGMI décroît de janvier à octobre, alors qu'au contraire les teneurs en DHA et en AGPIn-3 sont maximales en octobre. L'effet de la saison sur le profil en acides gras de la perche pourrait être lié à des changements quantitatifs et/ou qualitatifs des proies consommées en hiver et en été (Mairesse *et al.*, 2006).

5.2.2 Température

Chez les animaux poïkilotherme la température est un régulateur majeur des besoins énergétiques et de l'utilisation métabolique des nutriments (Médale *et al.*, 1991).

La température du milieu a un effet indirect sur la teneur en lipides corporels qui est liée à la disponibilité en nourriture en milieu naturel, et à la prise alimentaire plus faible en conditions d'élevage lorsque la température diminue.

La température entraîne également des modifications dans la composition de classes de lipides, surtout au niveau des phospholipides. Ces modifications correspondent à un phénomène d'adaptation des membranes cellulaires en réponse aux changements d'environnement.

La température agit sur l'activité biosynthétique des acides gras. L'activité de la delta 6 désaturase mesurée dans les microsomes du foie est plus élevée chez les carpes maintenues à 10°C par rapport à celles maintenues à 30°C (Schuenke et Wodtke, 1983). Ceci a également été observé chez la truite arc en ciel, avec une activité enzymatique supérieure chez les poissons élevés à 5°C par rapport à ceux élevés à 20°C (Hagar et Hazel, 1985). Plus récemment, l'étude de Tocher *et al.*, (2004) montre une diminution de l'activité de désaturation /élongation et de la ß oxydation chez les poissons élevés à 15°C par rapport à ceux élevés à 7°C.

La température a un effet différent sur la composition en acides gras des tissus, en fonction de l'espèce, du type de tissu et de la nature des lipides. En règle générale, à basse température la proportion d'AGS diminue alors que celle d'acides gras insaturés (mono et poly-insaturés) augmente (Hazel, 1979; Cossins et Lee, 1985).

A titre d'illustration, une étude a été menée sur le bar afin de tester l'impact de la température et de l'alimentation sur la composition en acides gras des lipides neutres et polaires de différents tissus (Skalli *et al.*, 2006). Les résultats montrent un effet de la température différent en fonction du tissu et du type de lipides. La température a une plus grande influence sur la composition en acides gras des phospholipides que sur celle des lipides neutres dans tous les tissus testés, excepté le foie. Une activité lipogénique est observée aux deux températures testées (22 et 29°C°) avec cependant des teneurs en 16:0 et 18:0 dans les lipides neutres plus élevées à 29°C.

Chez la truite d'élevage, la température interagit avec les facteurs alimentaires sur le métabolisme lipidique. En particulier le transport des lipides est accéléré à basse température mais la capacité de néosynthèse est moindre à 8°C qu'à 18°C (Corraze *et al.*, 1999)

5.2.3 Salinité

La salinité n'a pas d'effet propre sur la teneur en lipides corporels. Les variations observées chez certaines espèces de poissons migrateurs sont liées soit au cycle sexuel, soit à des modifications de l'alimentation. Cependant, l'étude de Eroldogan *et al*., (2004) a montré une augmentation de la teneur en lipides des bars élevés en eau douce par rapport à ceux élevés en eau de mer.

Un effet spécifique de la salinité sur la composition en acides gras a été mis en évidence chez certaines espèces, notamment pour les phospholipides. Cet effet est plus marqué sur les AG impliqués dans l'osmorégulation (Corraze et Kaushik, 1999).. Le passage de l'eau douce à l'eau de

mer s'accompagne généralement d'une augmentation de DHA et une diminution des AGS et des AGPIn-6 pour toutes les espèces (Henderson et Tocher, 1987).

Chez le bar, Cordier et *al.*, (2002) ont testé l'effet de la salinité et de la température sur la composition en acides gras des phospholipides. Une corrélation entre la salinité et la teneur en DHA a été observée dans le filet, le foie et l'intestin. Il n'y a pas de corrélation entre la teneur en DHA des phospholipides et la température de l'eau. Des variations annuelles de la composition en acides gras des phospholipides ont été observées dans tous les tissus. En conclusion, la salinité peut jouer un rôle important sur l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme lipidique durant le cycle annuel.

Chez le saumon d'atlantique, le passage de l'eau douce à l'eau de mer s'accompagne d'une augmentation de l'activité de bioconversion des AGPI qui diminue ensuite pendant la période où le poisson vit en eau de mer. Ce pic d'activité est associé à une augmentation de l'expression des gènes codant pour la delta 5 et la delta 6 désaturase (Zheng *et al.*, 2005a).

5.3 Facteurs nutritionnels

L'alimentation joue un rôle prépondérant sur le métabolisme lipidique et affecte largement la teneur en lipides et la composition en acides gras des tissus.

5.3.1 Effet du taux de lipides dans l'aliment

La plupart des espèces de poissons élevés et consommés ont une alimentation de type carnivore et présentent la particularité d'utiliser massivement les protéines pour couvrir leurs besoins énergétiques, ce qui entraîne le rejet de déchets azotés polluants. De plus, en pisciculture les protéines sont apportées par les farines de poisson qui représentent une matière première coûteuse, riche en phosphore, source supplémentaire de pollution. L'utilisation de régime à forte teneur en lipides permet d'éviter les problèmes de pollution tout en préservant la croissance (Watanabe *et al.*, 1987; Kaushik et Cowey, 1991). Cependant, ce type de régime conduit à des modifications de la composition corporelle caractérisée par un accroissement de la teneur en lipides, accompagné d'une diminution de la teneur en eau, sans variation de la teneur en protéines (Takeuchi *et al.*, 1978; Watanabe, 1982; Greene et Selivonchick, 1987).

Dans de nombreuses études, les poissons nourris avec des aliments riches en lipides augmentent significativement leur teneur en lipides corporels : dans le filet des poissons-chats (Fauconneau et Laroche, 1996) et des salmonidés (Lie, 2001), dans le tissu périviscéral et

hépatique de la perche (Xu *et al.*, 2002), (Mathis *et al.*, 2003), de la truite fario (Regost *et al.*, 2001a) et du turbot (Regost *et al.*, 2001b).

Cependant, **les différents compartiments corporels ne réagissent pas de la même façon à une augmentation de la teneur en lipides alimentaires, l'influence la plus marquée touchant les sites préférentiels de stockage qui diffèrent en fonction de l'espèce**.

Chez la truite arc en ciel, la teneur en lipides des viscères augmente fortement lorsque le taux de lipides alimentaires passe de 8 à 18%, celle des lipides musculaires augmente modérément, alors que celle des lipides hépatiques ne varie pas (Corraze et Kaushik, 1999). Ces variations n'ont aucun effet néfaste sur la santé du poisson.

De façon similaire, chez la carpe, la teneur en lipides des viscères augmente alors que celle du filet varie peu lorsque la teneur en lipides alimentaires augmente (Watanabe *et al.*, 1987).

Chez le saumon atlantique, on observe une augmentation de la teneur en lipides viscéraux ainsi qu'une augmentation de la teneur en lipides musculaires qui passe de 8 à 12% lorsque la teneur en lipides alimentaires passe de 21 à 32% (Hillestad et Johnsen, 1994). Hemre et Sandnes (1999) observent une corrélation positive entre la teneur en lipides de l'aliment et celle du filet.

Chez la perche, l'augmentation du taux de lipides alimentaires (entre 8 et 23%) n'affecte pas la santé des poissons et accélère la croissance, l'efficacité alimentaire et l'utilisation des protéines. La teneur en lipides du foie et des viscères augmente alors que celle du filet n'est pas affectée (Kestemont *et al.*, 2001). La forme d'apport énergétique (ratio lipides/protéines) a un effet sur la répartition du stockage des lipides: pour des rations dont le rapport protéines/énergie est inférieur à 22.10^3 g/kJ l'augmentation des lipides alimentaires accentue le développement du tissu adipeux périviscéral (Mathis *et al.*, 2003).

Chez les poissons marins, ce sont essentiellement les lipides hépatiques qui augmentent et dans une moindre mesure les lipides musculaires, la teneur en lipides des viscères ne varie pas (Takeuchi *et al.*, 1978). Chez le bar, une augmentation du taux de lipides dans l'aliment entraîne une augmentation de la teneur corporelle en lipides essentiellement au niveau du foie et des viscères parallèlement à une diminution de la teneur en eau. Cependant, la teneur en lipides musculaires n'est pas affectée (Boujard *et al.*, 2004).

L'augmentation de la quantité de lipides tissulaires ne se répercute pas de la même façon sur toutes les classes lipidiques : la teneur en lipides neutres, forme de stockage de l'énergie, varie fortement avec l'apport en lipides alimentaires alors que celle des lipides polaires, correspondant aux lipides structuraux, est quasi constante (Haard, 1992; Johansson *et al.*, 1995; Kiessling *et al.*, 2001). Les lipides neutres sont majoritairement composés d'AGS et d'AG insaturés à courte chaîne (i.e 18:1n-9) alors que les lipides polaires sont riches en AGPI. Ceci a des répercussions sur la composition en acides gras des tissus. Chez la truite arc en ciel, l'augmentation de la teneur en lipides musculaires est corrélée à un accroissement du taux d'AGMI et à une réduction du taux d'AGPI (Johansson *et al.*, 1995). Chez ce poisson, le muscle blanc semble être le tissu le plus sensible aux variations de composition en acides gras en rapport avec le niveau de la ration alimentaire (Kiessling *et al.*, 2001).

5.3.2 Effet de la nature des lipides alimentaires

Les aliments, riches en farines et huiles de poissons, utilisés actuellement dans les élevages de poissons carnivores risquent de poser, outre des problèmes de pollution, des problèmes en terme d'approvisionnement. Le remplacement de l'huile de poisson par des huiles d'origine végétale est l'une des solutions envisagées pour pallier cette pénurie. Elles sont disponibles en grande quantité pour un coût inférieur (Izquierdo *et al.*, 2003). Ces huiles n'offrent pas les mêmes qualités nutritionnelles que les huiles de poisson. A l'heure actuelle, de nombreux travaux sont menés afin de voir quel est l'impact du remplacement total ou partiel de l'huile de poisson par des huiles végétales. Ces études permettent également de mieux comprendre le métabolisme des lipides chez le poisson.

Les différentes huiles végétales utilisées sont l'huile de colza, riche en acide oléique; l'huile de palme, riche en acide palmitique; l'huile d'olive, riche en acide oléique; l'huile de tournesol, riche en acide linoléique et l'huile de soja et de lin, riches en acide linolénique.

5.3.2.1 Effet de la nature des lipides alimentaires sur la composition en acides gras des tissus

Composition en acides gras des tissus et composition en acides gras des aliments

Si la teneur en lipides des aliments a une grande influence sur les dépôts lipidiques, la nature des lipides ingérés ne semble pas avoir d'effet sur l'importance des dépôts mais sur la composition en acides gras des lipides corporels.

De nombreuses études ont montré que la composition en acides gras des tissus reflète celle des lipides alimentaires (Henderson et Tocher, 1987; Sargent *et al.*, 2002) bien que certains acides gras

alimentaires soient d'abord modifiés avant d'être incorporés dans les lipides tissulaires, alors que d'autres sont directement métabolisés (Henderson, 1996; Sargent *et al.*, 2002). Il existe des corrélations très significatives entre la composition en acides gras du filet et de l'aliment (Bell *et al.*, 2003a; Turchini *et al.*, 2003; Torstensen *et al.*, 2004a). Par exemple, chez la truite (*Salmo trutta*) les quantités tissulaires des AGS, AGMI, AGPI sont corrélées de façon positive aux aliments (Turchini *et al.*, 2003).

- Lipides neutres et lipides polaires

En règle générale, le profil en acides gras des lipides neutres est plus ressemblant à celui des lipides alimentaires que celui des lipides polaires. Ceci est lié au fait que les lipides polaires correspondent aux lipides structuraux et qu'ils sont constitués essentiellement d'un nombre limité d'acides gras (16:0, 18:1n-9, EPA et DHA) (Henderson et Tocher, 1987; Jump, 2002; Sargent *et al.*, 2002). Néanmoins, la composition en acides gras des lipides polaires comme des lipides neutres est soumise à l'influence des acides gras alimentaires (Bell *et al.*, 1996; Xu *et al.*, 1996; Jump, 2002; Regost *et al.*, 2003).

Exemples

Poissons maigres

Des perches de 25g ont été nourries durant 4 semaines avec un aliment dépourvu de lipides avant d'être nourries durant 10 semaines avec un aliment enrichi en huile. Quatre aliments isoénergétiques, différant par la nature de l'huile végétale (huile d'olive, de tournesol, de lin et de foie de morue) ont été testés en duplicata sur la teneur en lipides et la composition en acides gras du foie, du filet et des viscères (Xu et Kestemont, 2002).

Des réductions significatives de la teneur en lipides des tissus ont été observées après la période de nourrissage avec l'aliment dépourvu de lipides. La teneur en lipides des viscères diminue de 31,4% par rapport à la teneur initiale en lipides, celle du filet de 66,7% et celle du foie de 74,1%.

La nature des lipides alimentaires a un effet sur l'évolution de la teneur en lipides du foie et des viscères. L'huile de tournesol, de lin et de poisson augmentent de façon significative la teneur en lipides de ces tissus par rapport à l'huile d'olive. La teneur en lipides du filet quant à elle reste inchangée. **La nature des lipides alimentaires a un effet sur la composition en acides gras des tissus**: de grandes quantités d'acide oléique sont accumulées dans les lipides tissulaires des poissons nourris avec de l'huile d'olive. L'aliment à base d'huile de lin permet d'augmenter de façon significative le taux de 18:3n-3, EPA, 22:5n-3 et DHA dans le foie par rapport à l'aliment à base d'huile d'olive et de tournesol, le rapport n-3/n-6 est quant à lui 16 fois plus élevé que dans l'aliment à base d'huile de tournesol. Ces résultats suggèrent que la delta 6 désaturase et la delta 5 désaturase sont très actives chez les poissons nourris avec de l'huile de lin et semblent être plus

actives envers les n-3. Par contre, l'aliment à base d'huile de tournesol augmente de façon significative les teneurs en 18:3n-6, 20:3n-6 et 22:5n-6 dans le foie et diminue parallèlement les taux d'EPA et de DHA. Ces résultats suggèrent que les delta 6 et delta 5 désaturases n'ont pas d'activité spécifique envers les n-3 ou les n-6 dans le métabolisme lipidique de la perche et que les réactions de désaturation et d'élongation sont influencées par la composition en acides gras de l'aliment.

La morue de Murray est, comme la perche, un poisson maigre d'eau douce, à la différence qu'il vit en eaux chaudes. La composition en acides gras du filet est soumise à l'influence de la nature des lipides alimentaires. L'utilisation d'aliments expérimentaux à base d'huile de colza permet d'augmenter significativement les concentrations en acides gras de la famille n-6 dont l'acide linoléique est le plus représenté, contrairement aux aliments à base d'huile de lin et d'huile de poisson avec lesquels les concentrations en n-3 sont les plus élevées. Les concentrations en EPA, DHA et acide arachidonique sont les plus importantes dans le filet des poissons nourris avec l'huile de poisson. L'acide oléique est largement plus représenté dans les filets des poissons nourris avec l'huile de colza tandis que l'acide linolénique est significativement plus présent chez les poissons nourris avec de l'huile de lin (Francis *et al.*, 2006). Les résultats de cette expérience montrent que l'huile de colza et l'huile de lin peuvent être utilisées en remplacement partiel de l'huile de poisson à raison de 50% sans effet néfaste sur la santé du poisson et sur sa qualité nutritionnelle.

Ceci a également été observé chez d'autres espèces de poissons maigres comme le turbot (Regost *et al.*, 2003) et de poissons gras comme la truite (Turchini *et al.*, 2003).

Le but de l'étude de Regost *et al*. (2003), était de tester le remplacement de l'huile de poisson par de l'huile végétale suivi par un retour à l'huile de poisson, sur les performances de croissance et le métabolisme lipidique chez le turbot. Trois aliments isolipidiques (16% de lipides avec 9% d'huile ajoutée) et isoprotéiques (55%) de composition ne différant que par la nature des lipides (huile de poisson, huile de soja, huile de lin) ont été testés durant 13 semaines en triplicata chez des poissons de taille commerciale (poids initial de 579g) élevés à 17°C. A la fin de l'expérimentation les poissons ont été nourris pendant 8 semaines avec un aliment à base d'huile de poisson uniquement.

La croissance des poissons était élevée quel que soit l'aliment avec cependant une valeur un peu inférieure pour les poissons élevés avec de l'huile végétale (+ 336g pour l'huile végétale et + 377g pour l'huile de poisson). La composition en acides gras du foie et du filet reflète celle de l'aliment: les tissus des poissons nourris avec l'huile de soja sont riches en 18:2n-6, et ceux des poissons

nourris avec l'huile de lin sont riches en 18:3n-3. Les tissus des poissons nourris avec de l'huile végétale ont des teneurs en EPA et en DHA plus faibles que ceux des poissons nourris avec de l'huile de poisson. Dans le foie des poissons nourris avec de l'huile de poisson, les teneurs en EPA (5,5%) et en DHA (15%) sont deux fois supérieures à celles mesurées dans le foie des poissons nourris avec de l'huile végétale. Dans le filet les teneurs en EPA varient en fonction du type de lipides (neutres et polaires) et de l'aliment. On observe des valeurs comprises entre 4,5 et 10 pour l'EPA et entre 9 et 30 pour le DHA. Les maximums sont observés pour l'huile de poisson: les teneurs en EPA sont 1,5 fois plus élevées dans les lipides neutres et 1,6 fois dans les lipides polaires; les teneurs en DHA sont 1,3 fois plus élevées dans les lipides neutres et 1,2 fois dans les lipides polaires. L'activité des enzymes lipogéniques est faible et non influencée par l'alimentation. A la fin de la seconde période de l'expérimentation, après le retour à l'huile de poisson (8 semaines), la composition en acides gras du filet des poissons précédemment nourris avec l'huile de lin et l'huile de soja reste toujours différente de celle des poisons nourris avec l'huile de poisson. Leurs teneurs en 18:2n-6 et 18:3n-3 sont plus faibles que celles trouvées à la fin de la première période d'expérimentation mais plus élevées que celles retrouvées chez les poissons nourris avec de l'huile de poisson. Par exemple, à la fin de la première période d'expérimentation la teneur en 18:3n-3 des poissons nourris avec de l'huile de lin était de 18,3% dans les lipides neutres et de 8,1% dans les lipides polaires.
Après un retour à l'huile de poisson ces teneurs passent à 10,4% dans les lipides neutres et 4% dans les lipides polaires. Une augmentation des acides gras caractéristiques de l'huile de poisson est observée dans le filet et le foie des poissons initialement nourris avec de l'huile végétale.

Cinq aliments ne différant que par la nature des lipides ont été utilisés pour élever des bars d'un poids initial de 95g jusqu'à un poids final de 200g (Parpoura et Alexis, 2001). Les huiles testées sont de l'huile d'olive, de soja et de poisson. Elles sont utilisées seules (huile olive, huile de soja, huile de poisson) ou mélangées (mélange soja + poisson, mélange olive + poisson). Les aliments sont isolipidiques (12% de lipides) et isoprotéiques (46,1% de protéines). Là aussi la composition en acides gras du foie reflète celle de l'aliment. Les lipides neutres et les lipides polaires sont affectés par le traitement alimentaire. Plus précisément, l'huile de poisson, riche en AGPI a un effet significatif sur la composition en EPA et en DHA des phospholipides. Pour tous les aliments testés, il y a une très forte corrélation positive entre les AGMI de l'aliment et des lipides neutres du foie (r=0,94), et entre les quantités d'acides gras n-6 de l'aliment et des lipides neutres (r=0,99) et polaires (r=0,97) du foie. Des variations histo-pathologiques (dégénération et hémorragies dans le foie, modifications de la structure de l'intestin) sont observées chez les poissons nourris exclusivement avec des huiles végétales. Les mêmes symptômes existent aussi

chez les poissons nourris à base du mélange huile de poisson/ huile végétale, mais sont moins fréquents.

Poissons gras

L'effet de la composition en acides gras de l'aliment a été testé chez le saumon (*Salmo salar*) (Bell *et al.*, 2003a). Une population de saumon a été nourrie durant 16 semaines avec des aliments à base d'huile de poisson (HP) et d'huile de colza (HC): 100% HP, 100% HC, mélange HP/HC (90%HP/10%HC, 75%HP/25%HC, 50%HP/50%HC). Puis ils ont été nourris exclusivement avec de l'huile de poisson durant 12 semaines.

Il n'y a pas d'effet de l'alimentation sur la croissance du poisson. Les teneurs musculaires en 18:1n-9, 18:2n-6 et 18:3n-3 augmentent en fonction du taux d'inclusion croissant d'huile de colza dans l'aliment. A l'inverse, les teneurs en EPA et en DHA diminuent. Elles sont significativement inférieures dans le filet des poissons nourris avec 100%HC. Le retour à une alimentation exclusivement à base d'huile de poisson permet de restaurer les taux d'EPA et de DHA. Cependant il faut attendre 12 semaines pour que cette restauration soit complète.

Conclusion

Le remplacement partiel d'huile de poisson par de l'huile végétale est possible chez certaines espèces dans la mesure où il n'affecte que légèrement la croissance des poissons. Il existe également des variations histo-pathologiques plus ou moins importantes en fonction de la quantité d'huile végétale incorporée. Un remplacement partiel supérieur à 60% a un effet néfaste sur la croissance des espèces marines (chez le turbot : Regost et al., 2003 ; le bar : Mourente et al., 2005 et la daurade : Izquierdo et al., 2005).

La qualité nutritionnelle du poisson est liée aux acides gras présents dans l'aliment qu'il ingère. Les tissus des poissons nourris avec de l'huile végétale sont riches en acides gras 18:2n-6 et 18:3n-3 alors que ceux des poissons nourris avec de l'huile de poisson sont riches en AGPI EPA et DHA. La principale différence se situe entre les poissons d'eau douce et les poissons marins. Il semblerait, que les premiers sont capables de transformer les acides gras 18:2n-6 et 18:3n-3 en AGPI. Cepandant, un retour à l'huile de poisson est quasiment toujours nécessaire afin d'augmenter la teneur en AGPI des tissus. La durée de cette réalimentation varie en fonction du taux initial d'huile végétale utilisée, de l'espèce et du taux final d'AGPI attendu.

5.3.2.2 Régulation nutritionnelle de la bioconversion des acides gras

Activité enzymatique

La composition en acides gras des tissus est, comme nous l'avons vu précédemment, liée à la composition en acides gras de l'aliment. Cependant, elle varie également en fonction de la capacité des poissons à transformer les acides gras alimentaires. Comme cela a été décrit dans la partie 2.3, les AGPI comme le DHA sont biosynthétisés à partir des acides gras précurseurs à 18 carbones fournis par l'alimentation, par l'action des enzymes désaturases (delta 5 et delta 6) et élongases. Cette activité biosynthétique semble soumise à variation en fonction de la nature des lipides alimentaires et en fonction de l'espèce.

Plusieurs types d'expérimentations utilisant des acides gras marqués ont permis d'étudier l'activité biosynthétique chez les poissons. Les acides gras marqués peuvent être incorporés dans l'alimentation du poisson ou injectés dans le corps de l'animal (injection péritonéale). Le marquage radioactif permet de suivre les transformations biochimiques. Par exemple, l'étude de Owen *et al*., (1975) a montré que, chez la truite arc en ciel nourrie avec de l'acide linolénique marqué, 70% de la radioactivité est retrouvée sur le DHA, indiquant ainsi sa provenance. L'étude de Léger et Fremont., (1981), a montré que la présence d'EPA et de DHA dans l'aliment inhibe la delta 6 desaturation de 18:2n-6 et 18:3n-3.

A l'heure actuelle l'activité des enzymes de bioconversion des acides gras est évaluée suite à l'incorporation d'AG marqués directement dans des suspensions de cellules (hépatocytes et entérocytes). Il a été ainsi démontré dans des études menées chez différentes espèces de salmonidés que la désaturation et l'élongation de 18:3n-3 mesurée dans les hépatocytes et dans les entérocytes est augmentée chez les poissons nourris avec de l'huile végétale par rapport aux poissons nourris avec de l'huile de poisson. Cependant, la teneur en AGPIn-3 dans le filet et dans le foie diminue significativement (Bell *et al.*, 2001a; Tocher *et al.*, 2001; Tocher *et al.*, 2002; Tocher *et al.*, 2003; Tocher *et al.*, 2004).

De la même façon, l'activité désaturation/élongation et ß oxydation de 18:3n-3 et de l'EPA marqués au ^{14}C a été mesurée dans les hépatocytes et les entérocytes chez le bar nourri avec de l'huile de poisson, partiellement (60%) substituée par un mélange d'huiles végétales (colza, lin, palme) combinées pour apporter le même équilibre entre AGS, AGMI et AGPI à 18 carbones que celui présent dans l'huile de poisson, mais sans acides gras hautement insaturés (DHA et EPA) (Mourente *et al.*, 2005). Le taux de conversion du 18:3n-3 est très faible quel que soit le traitement alimentaire (entre 0,20 et 1 pmol/mg proteine/h). Il est cependant trois fois plus élevé dans les entérocytes que dans les hépatocytes. De la même façon, le taux de conversion de l'EPA est faible (entre 0,2 et 1 pmol/mg proteine/h), indépendant du traitement alimentaire et plus élevé dans les entérocytes que dans les hépatocytes. De plus, la majorité de la radioactivité a été retrouvée dans

des produits résultant d'une delta 6 désaturation. Le taux de ß oxydation du 18:3n-3 est considérablement plus élevé que celui de l'EPA, à la fois dans les hépatocytes et dans les entérocytes. Contrairement à ce qui a été observé chez les salmonidés, il n'y a pas d'effet visible de l'huile végétale sur l'activité des enzymes impliquées dans la bioconversion et le catabolisme des acides gras chez le bar, sans doute du fait d'une faible activité biosynthétique. De plus, il est probable que le métabolisme des AG est particulier chez les poissons, comme le bar, qui stocke une grande quantité de lipides dans le foie, ces AG pouvant eux mêmes interférer directement ou indirectement avec le test enzymatique.

Le mécanisme biochimique permettant d'expliquer la régulation nutritionnelle des enzymes désaturases et élongases impliquées dans la bioconversion des acides gras n'est pas encore bien établi. De façon générale, une alimentation à base d'huile végétale permet d'augmenter la bioconversion des AGPI selon deux mécanismes : (i) augmentation de la concentration en substrats à 18 carbones, (ii) absence des produits inhibiteurs à 20 et 22 carbones. Ce dernier cas est observé chez les mammifères, où la présence d'acides gras hautement désaturés dans l'alimentation supprime la désaturation des acides gras (Nakamura et Nara, 2003). Chez le poisson, une étude de Tocher *et al.*, (2003) montre que la désaturation des AGPI chez le saumon nourri avec de l'huile végétale était soumise à l'influence simultanée de l'absence d'AG inhibiteur et de l'augmentation d'AG précurseurs dans l'alimentation.

Expression génique

La nature des lipides alimentaires a un effet sur l'expression des gènes codant pour les enzymes impliquées dans la bioconversion des acides gras.

Le gène codant pour la delta 6 désaturase a été cloné chez la truite arc en ciel (Seiliez *et al.*, 2001). L'expression de la delta 6 désaturase a pu ensuite être observée chez des juvéniles de truites nourries avec deux types d'aliments différant par la nature des lipides : l'un à base d'huile de poisson riche en AGPI et l'autre à base d'huile de lin riche en acide linolénique. Les aliments ont été testés en triplicata durant huit semaines à 18°C. L'expression de la delta 6 désaturase a été analysée dans le foie par Northern Blot et RT-PCR. Deux transcrits de taille différente ont été détectés pour la delta 6 désaturase. La quantité d'ARN est plus faible chez les poissons nourris avec l'huile de poisson révélant ainsi la présence d'une régulation nutritionnelle similaire à celle observée chez les mammifères : **la présence d'AGPI dans l'alimentation réprime l'activité delta 6 désaturase tandis que la présence d'acides gras précurseurs tel que l'acide linolénique l'induit**.

De façon similaire, le gène codant pour la delta 6 désaturase a été cloné chez la daurade (Seiliez *et al.*, 2003). L'expression de la delta 6 désaturase a pu ensuite être observée chez des poissons nourris avec un aliment à base d'huile d'olive riche en acide oléique et dépourvu d'AGPI. La composition en acides gras et l'expression enzymatique ont été comparées avec celle retrouvées chez des poissons nourris avec de l'huile de poisson. Les poissons nourris avec de l'huile d'olive présentent une composition en acides gras pauvre en AGPIn-3 et caractérisée par l'apparition d'AGPI en n-9 typique d'une alimentation déficiente en AGE et à une activité élevée de la delta 6 désaturase. Parallèlement l'expression enzymatique est élevée. Là aussi il y a deux transcrits codant pour la delta 6 désaturase. L'absence d'AG résultant d'une delta 5 désaturation suggère que la delta 5 désaturase n'est pas active chez ces poissons.

Activité enzymatique et expression génique

Zheng et al., (2004b) ont testé l'effet de la nature des lipides alimentaires à la fois sur l'expression et sur l'activité des enzymes impliquées dans la bioconversion des acides gras (delta 5 désaturase et élongase) ainsi que sur l'activité biosynthétique totale. Des saumons ont été nourris durant 40 semaines avec des aliments de composition différente en acides gras. Les aliments utilisés étaient à base d'huile de poisson et d'huile de lin. Cinq aliments ont été testés : 100% huile de poisson (FO), 100% huile de lin (LO), 25% huile de lin (LO25), 50% huile de lin (LO50) et 75% huile de lin (LO75).

Les activités enzymatiques ont été déterminées sur des hépatocytes incubés avec de l'acide linolénique marqué au ^{14}C par dosage de la radioactivité retrouvée au niveau des différents AGPI. L'activité biosynthétique totale a été évaluée en calculant la somme de la radioactivité retrouvée dans des produits de désaturation (18:4, 20:4, 20:5, 22:5, 22:6), l'activité delta 5 désaturase en sommant la radioactivité retrouvée dans les produits de delta 5 désaturation (20:5, 22:5, 22:6) et l'activité élongase en sommant la radioactivité retrouvée dans les produits d'élongation (20:4, 20:5, 22:5, 22:6). L'expression des gènes a été déterminée par Q-PCR dans le foie. Les analyses ont été faites à deux temps : au bout de 20 semaines et au bout de 40 semaines d'expérience.

Les résultats de cette expérience montrent que les activités enzymatiques et l'expression des gènes sont corrélées de façon significative aux teneurs en acide linolénique et AGPIn-3 de l'aliment mais à des temps différents.

Ceci a déjà été observé chez le saumon (Tocher *et al.*, 2003) mais les expérimentations doivent se poursuivre afin de mieux comprendre ce phénomène complexe qui implique l'ensemble des facteurs agissant sur le métabolisme des lipides. Les acides gras alimentaires ont un effet sur l'activité et sur l'expression génique des enzymes impliquées dans la voie de bioconversion. L'activité biosynthétique est influencée à la fois par le taux d'acides gras précurseurs (acide

linolénique) et par le taux d'AGPI présent dans l'aliment. L'action des acides gras alimentaires peut se faire directement au niveau membranaire en changeant la fluidité et également au niveau de la transcription des gènes (Seiliez *et al.*, 2001; Seiliez *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2004b). Les AGPI peuvent affecter la transcription des gènes de façon directe et indirecte en agissant sur la composition des membranes, la production d'eicosanoides et le stress oxydant, (Jump, 2002). En changeant la composition en acides gras des phopholipides de la membrane, les AGPI peuvent agir sur l'activité des enzymes (Giron *et al.*, 1996).

Les AGPI en se liant à la membrane peuvent influencer les récepteurs nucléaires (hormonaux, PPARs) et ainsi avoir une action au niveau de la régulation du métabolisme lipidique.

5.4 SYNTHESE

Tableau 2 : Facteurs les plus importants ayant un effet direct sur la teneur en lipides et la composition en AG des tissus chez le poisson

FACTEURS	**EFFETS DIRECTS SUR :**	
	Teneur en lipides	**Composition en AG**
Intrinsèques		
Origine génétique	oui	oui
Age	oui : teneur en lipides ↑ avec l'age	oui : incorporation sélective d'AG selon l'age
Cycle sexuel	Oui : mobilisation des lipides pour maturation des gonades	non
Environnementaux		
Saison	non	oui : lié à la disponibilité des aliments
Température	oui : lié à la disponibilité des aliments	oui Quand T°↓ : - ↑ activité désaturase - ↑ teneur AGPI - ↑ transport lipides
Salinité	non	oui : passage eau douce/eau de mer ↑ DHA
Nutritionnels		
Taux de lipides alimentaires	oui : quand taux lipides aliment ↑ : - ↑ teneur en lipides des sites de stockage - ↑ teneur en lipides neutres - teneur lipides polaires stable (lipides structuraux)	non effet indirect lié à la teneur en lipides neutres et en lipides polaires
Nature des lipides alimentaires	oui	oui : profil en AG des tissus ressemble au profil en AG de l'aliment

Figure 11 : Schema synthétique représentant les modes d'action de la nature des lipides alimentaires sur le métabolisme des lipides chez le poisson, et « état de l'art » chez la perche.

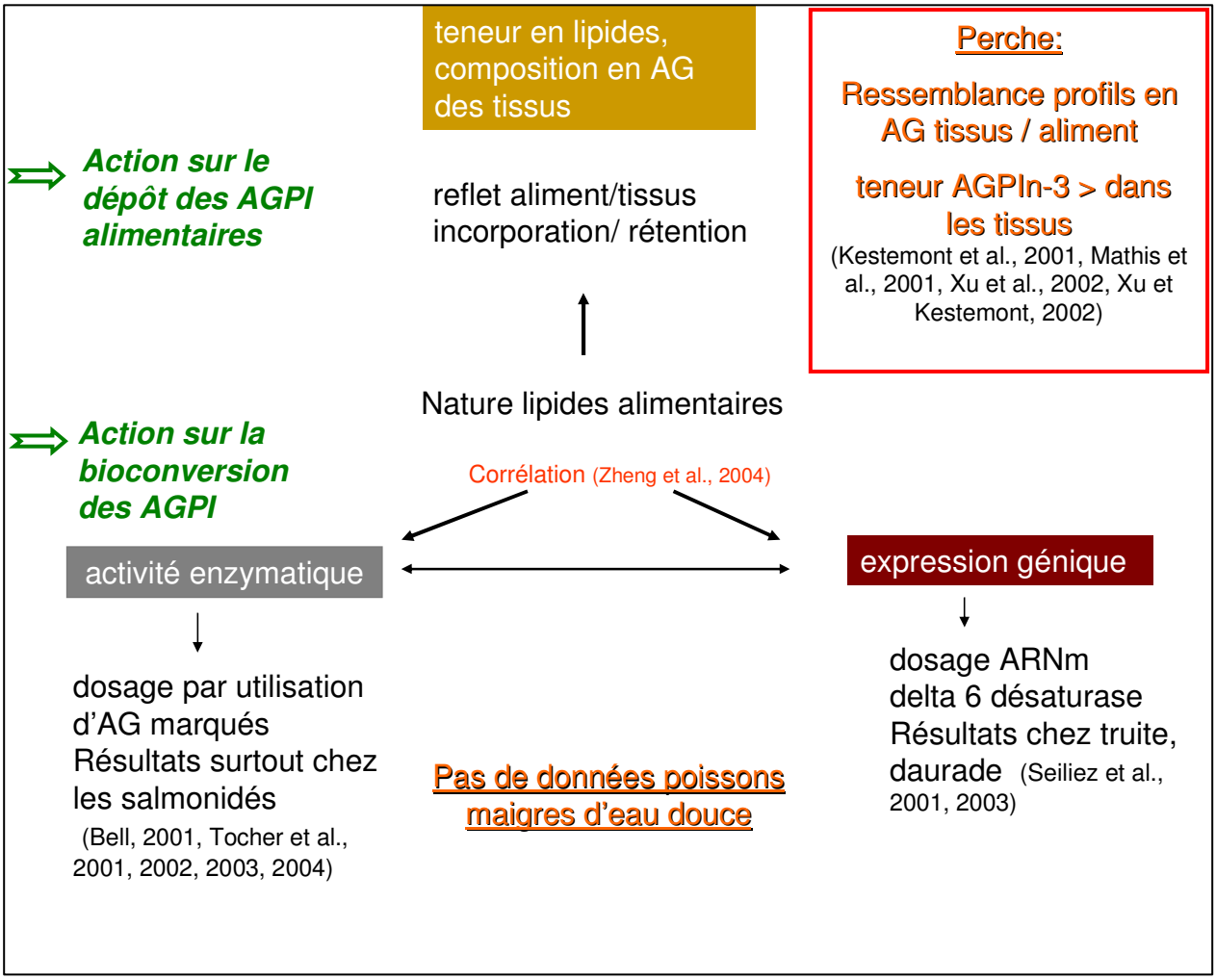


Tableau 3 : Utilisation d'huile végétale en remplacement de l'huile de poisson : caractéristiques, effet sur la composition en AG et sur la bioconversion des AG, différence entre poissons maigres et poissons gras.

Utilisation d'huile végétale en remplacement d'huile de poisson	
Caractéristiques	Riche en AGE à 18C, pauvre en AGPI
Effet sur la composition en AG des tissus	
Poissons gras	↑ 18:2n-6, 18:3n-3, ↓AGPI
Poissons maigres	↑ 18:2n-6, 18:3n-3, ↓AGPI
Effet sur la bioconversion des AG	
Poissons gras	↑ expression gènes ↑désaturation/élongation
Poissons maigres	**pas d'effet significatif delta 5 désaturase inactive**

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CONCLUSION ET PROBLEMATIQUE SCIENTIFIQUE.

Le poisson est la source la plus importante en AGPIn-3 (surtout EPA, DHA) dans l'alimentation pour l'homme et joue ainsi un rôle important dans la santé.

Les travaux menés sur les lipides chez le poisson montrent qu'il existe des **différences qualitatives et quantitatives dans la teneur en lipides et la composition en acides gras** des tissus. De plus, de **nombreux facteurs environnementaux ou physiologiques** agissent sur le métabolisme des lipides. Les données de la littérature montrent notamment l'effet de la température chez le saumon atlantique (Tocher et Dick, 1990), la truite arc en ciel (Corraze et Kaushik, 1999), la carpe (Schuenke et Wodtke, 1983) et le bar (Skalli *et al.*, 2005) ainsi que l'effet de l'âge ou de la taille chez les salmonidés (Kiessling *et al.*, 2001; Kiessling *et al.*, 2005). Cependant, parmi tous les facteurs testés, **l'alimentation semble être le facteur le plus important**. Il agit sur la teneur en lipides des tissus de stockage préférentiel (Fauconneau et Laroche, 1996; Lie, 2001; Regost *et al.*, 2001a; Regost *et al.*, 2001b) ainsi que sur la composition en AG des lipides (Xu et Kestemont, 2002; Bell *et al.*, 2003a; Regost *et al.*, 2003; Turchini *et al.*, 2003) et de nombreuses études montrent que la composition en acides gras des poissons reflète celle de leur alimentation.

La plupart des études menées sur les poissons d'eau douce concernent des poissons gras ou semi- gras, qui stockent les lipides dans le filet et le foie. Il y a très peu d'études sur les poissons maigres d'eau douce. La perche commune, *Perca fluviatilis* L., qui stocke ses lipides au niveau du tissu adipeux périviscéral est une espèce modèle de poisson maigre. De plus, c'est un poisson intéressant pour la diversification en aquaculture car sa chair est riche en AGPIn-3, et plus précisément en DHA. La maîtrise de la qualité nutritionnelle de ce produit passe par l'optimisation des facteurs influant la teneur et la composition des lipides des tissus.

Les travaux menés sur la perche montrent qu'il existe une différence entre la composition des tissus et celle des aliments. En particulier, les tissus ont des teneurs en AGPI n-3 bien supérieures à celles des aliments. A côté des hypothèses d'incorporation ou de rétention préférentielle, qui ont été démontrées chez d'autres espèces et évoquées dans l'introduction bibliographique de cette thèse, certains auteurs (Kestemont *et al*., (2001), Mathis *et al*., (2001), Xu *et al*., (2002)) font l'hypothèse d'une bioconversion de DHA in situ à partir des AG précurseurs présents dans

l'aliment. Cette bioconversion est une particularité des poissons d'eau douce, qui à l'inverse des poissons marins sont capables de biosynthétiser les AGPI à partir d'AG à 18 carbones présents dans l'alimentation.

La bioconversion a été étudiée chez différentes espèces de poissons marins comme le turbot (Owen *et al.*, 1975; Cowey et Sargent, 1977) et la daurade (Mourente et Tocher, 1994; Seiliez *et al.*, 2003) ainsi que chez des espèces grasses d'eau douce, essentiellement des salmonidés (Buzzi *et al.*, 1996; Seiliez *et al.*, 2001). La bioconversion des AGPI est caractérisée par une suite de réactions enzymatiques (désaturase et élongases). Ce sont les mêmes enzymes qui effectuent la bioconversion des AGPIn-3 et AGPIn-6. La faible capacité des poissons marins serait liée à une faible activité de la delta 5 désaturase (Bell *et al.*, 1994; Seiliez *et al.*, 2003) ainsi qu'à une faible activité des élongases (Ghioni *et al.*, 1999) . Afin de mieux comprendre comment l'aliment agit sur la bioconversion des AG, les auteurs ont testé l'effet de l'aliment sur l'activité enzymatique totale des cellules (hépatocytes et entérocytes) ainsi que sur l'expression des différentes enzymes (delta 6 et delta 5 désaturase, élongases). Plus particulièrement c'est l'expression de la delta 6 désaturase qui a été étudiée car il s'agit de l'enzyme limitante dans la bioconversion des AGPI. Les résultats montrent que l'activité enzymatique et l'expression génique sont corrélées à la teneur en AGPI de l'aliment : la présence d'AGPI dans l'aliment réprime la bioconversion tandis que la présence d'AG précurseurs comme l'acide linolénique l'induit.

A l'heure actuelle aucune donnée n'est disponible à ce sujet pour les espèces maigres d'eau douce comme la perche. Est-ce que le stockage des AG et la production d'AGPI sont conduits de la même façon chez les espèces maigres et chez les espèces grasses comme les salmonidés ? Le but de ce travail est donc d'apporter des éléments de réponse à cette question en analysant la composition en AG des tissus et en hiérarchisant ses facteurs de variation, et de vérifier les hypothèses de bioconversion des AGPI à partir d'AG en observant les différents lieux de désaturation et d'élongation et en étudiant l'effet de l'alimentation sur la production d'AGPIn-3.

OBJECTIFS DE LA THESE

L'objectif principal de la thèse est de mettre en évidence et de valoriser la qualité nutritionnelle de la perche en étudiant les différents paramètres du métabolisme lipidique. Pour cela nous avons mis en place trois études dans le but de mieux comprendre d'où viennent les taux élevés d'AGPIn-3 observés et ainsi de pouvoir à terme agir à différents niveaux de l'élevage pour améliorer la qualité nutritionnelle du poisson.

Dans un premier temps, nous avons caractérisé les lipides des différents tissus impliqués dans le métabolisme lipidique en observant leurs teneurs en lipides totaux, neutres et polaires et leur composition en acides gras. Cette expérience avait également pour but de démontrer une éventuelle spécificité de chaque tissu (teneur en lipides et composition en AG) ou de chaque type de lipides.

Dans un deuxième temps nous avons voulu déterminer et hiérarchiser les facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides et la composition en AG. Pour cela nous avons mis en place une expérience multifactorielle qui permet de tester simultanément un ensemble de facteurs et leurs interactions.

Enfin, nous avons étudié plus particulièrement l'effet du traitement alimentaire sur la composition en AGPIn-3, l'activité enzymatique et l'expression des gènes codant pour les enzymes impliquées dans la bioconversion des AG. Le but de cette dernière expérimentation étant de mettre en parallèle les trois types de résultats afin d'établir un lien entre teneur en AGPIn-3 et le métabolisme lipidique et de mieux comprendre d'où viennent les taux élevés de DHA.

2EME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

Dans cette partie, nous présenterons dans un premier temps l'ensemble des techniques analytiques qui ont été utilisées dans les expérimentations. Il s'agit de la mesure de la teneur en lipides et de la composition en AG des tissus, ainsi que de la mesure de l'expression génique et de l'activité enzymatique. Puis dans un deuxième temps nous présenterons les trois études réalisées en décrivant tout d'abord le protocole expérimental et les spécificités de chaque étude puis les principaux résultats.

1 MATERIEL ET METHODE GENERAL

1.1 Mesure de la teneur en lipides

1.1.1 Lipides totaux

La teneur en lipides totaux des tissus et de l'aliment est déterminée à partir de la méthode de Folch *et al.* (1957) modifiée par Chen et *al*. (1981), par extraction liquide-liquide utilisant un mélange de dichlorométhane/méthanol (2/3, 1/3) comme solvant. Elle est exprimée en % de poids frais. Pour éviter tout risque d'oxydation des lipides, les échantillons de tissus sont stockés à -20°C avant l'extraction. La quantité de matériel biologique nécessaire à l'extraction est fonction du tissu étudié (Tableau 4). Le tissu est broyé à l'ultraturax dans 50ml de solution de Folch. La solution est filtrée puis 37,5 mL d'eau saline à 0,73% sont ajoutés. Après décantation (1 nuit) la phase inférieure contenant les lipides est récupérée. Après évaporation du solvant, les lipides totaux sont re-suspendus dans une solution de dichlorométhane + BHT 0,01% (Butylhydroxytoluène : 1ml pour 100mg de lipides). Les lipides totaux sont conservés à -20°C sous azote.

Tableau 4 : Quantité de matériel biologique nécessaire au dosage

	Filet	Foie	Tissu adipeux périviscéral	Aliment
Quantité de tissu (g)	14	5	1	5

1.1.2 Lipides neutres et polaires

Les lipides totaux sont séparés en lipides neutres et polaires par séparation sur mini colonne de silice (Sep Pak silica cartridge, Millipore) selon la méthode de Juaneda et Rocquelin (1985). La teneur en lipides neutres et polaires est exprimée en % des lipides totaux.

Les lipides totaux (1 mL) sont déposés sur la colonne. Les lipides neutres sont élués les premiers avec 30mL de dichlorométhane, puis les lipides polaires avec 30 mL de méthanol. Après évaporation des solvants, les lipides sont re-suspendus dans une solution de dichlorométhane + BHT 0,01% (1ml pour 100mg de lipides). Comme les lipides totaux, ils sont conservés à -20°C sous azote.

1.2 Composition en acides gras

Les acides gras des lipides totaux, neutres et polaires sont identifiés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à ionisation de flamme. Pour cela ils doivent être au préalable transformés en esters de méthyle d'acides gras par une transméthylation acide utilisant du boron trifluoride (BF3) dans le méthanol selon la méthode décrite par Santha et Ackman (1990).

Une fois les lipides extraits des tissus, ils sont saponifiés en ajoutant de la potasse méthanolique 0,5M (6mL pour 100mg de lipides). Après incubation au bain-marie (90°C, 10min) les acides gras obtenus sont méthylés à l'aide de BF3 méthanol 14%. La méthylation se fait au bain-marie (90°C, 1h). Les acides gras méthylés sont séparés par centrifugation (deux fois 986g, 5 minutes). Les acides gras méthylés contenus dans le surnageant sont récupérés par extraction avec 5ml d'hexane BHT 0,02%. Après filtration sur du sulfate de sodium anhydre ils sont stockés sous azote à -80°C.

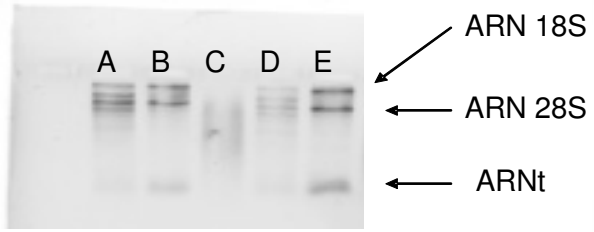
Les acides gras sont identifiés par comparaison avec des mélanges d'acide gras standard connus (Sigma, France) par CPG. Le chromatographe (DI 200, Delsi Nermag, Argenteuil, France) est équipé d'une colonne DB Wax (30m x 0.25 mm i.d., 0.25 ìm, J &W Scientific, Folsom, CA). L'hélium est utilisé comme gaz porteur (0.9ml/min). Les acides gras sont quantifiés à l'aide du logiciel de calculs Millenium 32 (Waters corporation, Milford, USA).

1.3 Analyse de l'expression génique.

1.3.1 Extraction d'ARN

Etant donné la fragilité de l'ARN et la résistance des RNases (enzymes dégradant les ARN), les solutions et la verrerie utilisées durant les manipulations sont traitées afin d'éliminer ces enzymes. De plus, la présence de RNases sur les mains rend le port de gants obligatoire.

Les échantillons de tissus sont prélevés à l'aide de matériel stérile, et sont congelés immédiatement dans de l'azote liquide et stockés à -80°C avant l'extraction. Après décongélation sur de la glace, les tissus sont découpés à l'aide d'un scalpel stérile. L'ARN total est extrait des tissus par séparation à l'aide de Trizol® (Invitrogen). Il s'agit d'une solution prête à l'emploi à base de phénol et de sels de guanidium qui permet l'extraction de tous les ARN et qui dénature les protéines. Après 5 minutes d'incubation dans le trizol, 200µl de chloroforme sont ajoutés permettant une meilleure séparation des phases aqueuse et organique. Après agitation et incubation (2 min, T° ambiante) les tubes sont centrifugés (15 min, 9700g, T° ambiante). La phase aqueuse contenant les ARN est récoltée et reprise dans un tube propre où sont ajoutés 500µl d'isopropanol qui permettent la précipitation des ARN. Après 10 min d'incubation, les tubes sont centrifugés (10 min, 9700g, 4°C). Le culot d'ARN obtenu est ensuite rincé à l'éthanol à 70% et séché à température ambiante. Les ARN sont ensuite repris dans une petite quantité d'eau ultrafiltrée autoclavée. La quantité d'ARN obtenue est alors mesurée par spectrophotométrie dans l'ultraviolet à 260 nm. L'absorption à 280 nm est également mesurée afin d'estimer la contamination éventuelle de l'extrait par des protéines. L'absorbance se définit par l'unité de densité optique mesurée à 260 nm. Une unité de densité optique correspond à l'absorbance d'une solution d'ARN à la concentration de 40 µg/ml. La concentration d'ARN doit être amenée à 75ng/µl en diluant avec de l'eau ultrapure. La qualité des ARN obtenus est vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose 1% en tampon TBE autoclavé (65mM Tris pH 9, 22,5mM borate, 1.25 mM EDTA) (Figure 12). Les ARN obtenus sont congelés à -80°C.



A et D: degradation partielle

C: ARN totalement dégradé

B et E: ARN de bonne qualité

Figure 12 : Photographies de gels d'agarose montrant des ARN de bonne qualité et des ARN dégradés

1.3.2 RT-PCR

La RT-PCR permet de transformer les ARN en ADN et de les amplifier. Elle regroupe une réaction de transcription inverse des ARN en ADN (RT) et une réaction de polymérisation des ADN (PCR).

1.3.2.1 RT (Reverse Transcriptase)

La réaction de transcription inverse permet de transformer l'ARN des tissus en ADN complémentaire (ADNc).

La réaction se déroule en plusieurs phases. Tout d'abord une phase de dénaturation des ARN par incubation à 65°C. Ceci permet d'obtenir de l'ARN linéaire afin de faciliter l'hybridation. L'hybridation se fait grâce à l'ajout d'un mélange de courtes molécules d'ADN (hexamer random) complémentaires des ARN appelées amorces et qui vont s'hybrider au hasard à plusieurs endroits tout au long du brin d'ARN. Puis la reverse transcriptase (RT) assure la synthèse en transcrivant l'ARN en ADN à partir des amorces.

Cette réaction est faite à partir de 150ng d'ARN à l'aide d'un kit **SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR** (Invitrogen, ref. 11904-018) selon le protocole décrit par le fabricant. Des mélanges réactionnels (mix 1 et 2) sont préparés en ajustant les quantités en fonction du nombre de réactions souhaitées.

Réaction de « reverse transcriptase » :

Dénaturation et initiation de la réaction d'hybridation :

La réaction a lieu dans des tubes eppendorfs stériles.

Mix 1 : Volume réactionnel pour 1 réaction

Produits	Volume en µl
ARN (75ng/µl)	2
Hexamères random (50ng/µl)	1
dNTP (10mM)	1
H2O qsp 10µl	6
Total	10

Les tubes sont ensuite passés au bain marie, 5 minutes à 65°C puis immédiatement plongés dans la glace pour éviter la réhybridation des ARN sur eux-mêmes.

Elongation et terminaison:

Mix 2 : Volume réactionnel pour 1 réaction

Produits	Volume en µl
Tampon RT (200mM Tris-HCl, 500mM KCl)	2
MgCl2 (25mM)	4
0,1M DTT	4
RNase out inhibitor (40units/µl)	1
Enzyme RT (50units/µl)	1
Total	10

Les tubes sont ensuite incubés 50 minutes à 42°C (température optimale d'élongation de la RT), puis 15 minutes à 70°C (dénaturation de l'enzyme pour arrêter la réaction d'élongation) puis refroidis 5 minutes dans la glace.

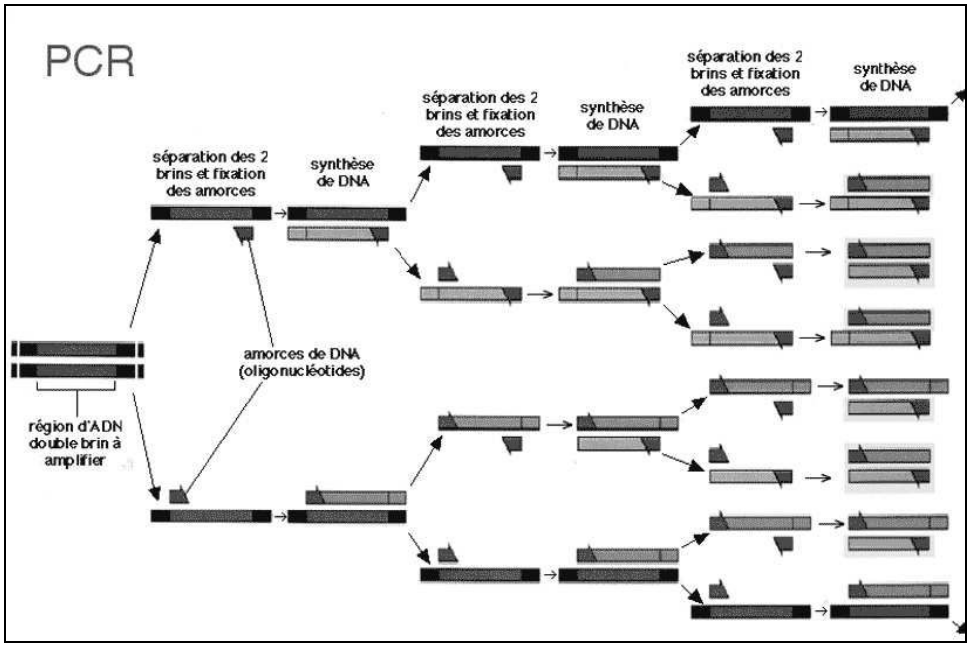
De la RNase H (1µl) est ensuite ajoutée à chaque tube. La RNase H est une enzyme qui dégrade, sans spécificité de séquence, les ARN présents dans les duplex ARN/ADN. La réaction se fait à 37°C pendant 20 minutes.

L'ADNc ainsi obtenu est ensuite stocké à -20°C.

1.3.2.2 PCR

La PCR (*polymerase chain reaction*) permet d'amplifier spécifiquement une région d'ADN double brin de quelques centaines de paires de bases (Figure 13). Cet ADN doit d'abord être séparé en simples brins (dénaturation à 95°C). On ajoute à l'ADN de départ une large quantité d'amorces (oligonucléotides synthétiques complémentaires des deux extrémités de la région à amplifier) qui vont s'hybrider à 50-60°C environ avec la séquence complémentaire sur chacun des brins d'ADN, et les quatre dNTP (désoxynucléotide triphosphates) qui serviront de substrats.

On soumet le tout à l'activité d'une ADN polymérase (Taq polymerase) qui synthétise à 72°C un brin complémentaire à partir du 3'OH de l'amorce hybridée. On obtient quatre brins d'ADN. On recommence à dénaturer ces 4 brins, puis on les laisse s'hybrider avec les amorces (toujours en excès) et la polymérase entre en action pour aboutir à 8 brins d'ADN. On recommence à dénaturer ces 8 brins, puis on les laisse s'hybrider avec les amorces (toujours en excès) et la polymérase entre en action pour aboutir à 16 brins d'ADN. Et ainsi de suite 30 à 40 fois, ce qui aboutit à 34359738368 brins de DNA (34 milliards), ce qui représente une quantité suffisante pour étudier le fragment d'ADN amplifié.



<u>Figure 13</u> : Schéma explicatif des différentes étapes de la polymérisation des ADN par PCR.

La réaction a lieu dans des tubes eppendorfs de taille adaptée au thermocycleur (Figure 14).



<u>Figure 14</u> : Photographie d'un thermocycleur

Le mélange réactionnel pour la PCR est le suivant (volume pour 1 réaction)

Produits	Volume en µl
ADNc	2
Tampon Taq (200mM Tris-HCl, 500mM KCl)	2.5
MgCl2 (50mM)	0.75
dNTP (10mM)	0.5
Taq polymérase (5units/µl)	0.03
Sonde 3' 10µM	1.25
Sonde 5' 10µM	1.25
H2O qsp 25 µl	8.28
Total	25

Les tubes sont ensuite incubés au thermocycleur selon un enchaînement de temps et de températures différentes :

1) 5 minutes à 94°C : ouvre l'ADN double brin qui devient simple brin
2) 30 cycles : hybridation et amplification
    a. 94°C pendant 30 secondes (dénaturation)
    b. 55°C pendant 30 secondes (hybridation)
    c. 72°C pendant 30 secondes (élongation 1min/kb)
3) 72°C pendant 5 minutes : terminaison
4) Stockage à 20°C puis congélation à –20°C

Chaque réaction de PCR doit être contrôlée avec un contrôle positif (ARN extrait de cellules humaines) et un contrôle négatif (eau ultrapure), ainsi que normalisée à l'aide d'un contrôle interne. Après plusieurs essais, et en accord avec la bibliographie, le contrôle interne choisi est la séquence correspondant à l'enzyme GAPDH.

Le génome de la perche n'étant pas séquencé en entier, la première étape de ce travail a été de mettre au point les amorces utilisées pour l'hybridation. Elles ont été choisies par comparaison avec d'autres séquences connues. A notre connaissance, ce travail n'a jamais été fait chez la perche et constitue un résultat important pour d'autres études à venir c'est pourquoi la mise au point des amorces est décrite plus en détails dans la partie Résultats de ce travail de thèse.

-pour la delta 6 désaturase, une séquence consensus entre la truite (Genbank AF301910), l'homme (Genbank AF126799), la souris (Genbank AF126798), le rat (Genbank AB021980) et la carpe (Genbank AF309557) a été trouvée

-pour la delta 5 désaturase une séquence consensus entre l'homme (Genbank AF199596), le rat (Genbank AF320509) et le saumon (Genbank AF478472) a été trouvée

-pour la GAPDH (Glycéraldéhyde 3-Phosphate déshydrogénase) une séquence consensus entre la truite (Genbank AF027130), l'homme (M33197) et la souris (M32599) a été choisie.

Les sondes utilisées ont été fabriquées par Invitrogen. Elles ont été livrées à une concentration de 100µM.

Les produits d'amplification obtenus par PCR sont ensuite analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2%. Les dépôts se font avec 15µl d'ADN amplifié + 10µl de bleu de dépôt. La quantification du signal émis est réalisée par le logiciel QuantityOne (VersaDoc, BioRad) et le résultat normalisé par rapport à la GAPDH.

Pour reconnaître la présence du produit obtenu on compare le signal au contrôle positif et au marqueur de poids moléculaire.

1.3.2.3 Mise au point de la méthode et observation de la distribution tissulaire des enzymes delta 6 et delta 5 desaturase.

Les tissus ont une consistance différente, avec plus ou moins d'eau, de tissu conjonctif ou de tissu adipeux. De plus, ils ne contiennent pas tous la même quantité d'ARN. C'est pourquoi il a fallu dans un premier temps adapter la méthode d'extraction d'ARN à chaque tissu. Le protocole d'extraction doit permettre d'obtenir suffisamment d'ARN, de bonne qualité. Les ARN obtenus sont récupérés dans l'eau ultrapure. Ils ne doivent pas être trop dilués. La concentration idéale qui permet de mener à bien les protocoles décrits en 1.3.2.1 et 1.3.2.2 est d'environ 2µg/µl. Les tests ont été effectués sur des tissus de perches élevées au laboratoire (Tableau 5).

Le foie est un tissu riche en enzymes, quelques dégradations partielles sont souvent observées au niveau du gel d'agarose. Lors de l'extraction le tissu doit être broyé encore congelé afin d'éviter toutes dégradations. Le tissu adipeux étant très riche en lipides, le protocole d'extraction à l'aide de Trizol utilisé pour les autres tissus ne permet pas une bonne séparation de la phase aqueuse contenant les ARN. L'extraction a donc été effectuée à l'aide du coffret RNeasy Lipid Tissue Kit® (Qiagen) dédié à l'extraction des ARN à partir de tissus riches en lipides selon le protocole décrit par le fabricant. La quantité maximale de tissu pouvant être utilisée dans ce kit est de 100mg de tissu adipeux. Cependant, le tissu adipeux renfermant très peu d'ARN, cette quantité permet d'obtenir des solutions d'ARN peu concentrées, de l'ordre de 500ng/µl.

Tableau 5: Protocole d'extraction des ARN en fonction du tissu : Quantité optimale de tissu à utiliser, volume d'eau ultrapure à rajouter, concentration et qualité des ARN obtenus**.**

Tissu	Quantité optimale de tissu	Volume d'eau ultrapure	Concentration	Qualité des ARN obtenus
Filet	160 mg	10µl	2µg/µl	bonne
Foie	45 mg	60µl	2µg/µl	quelques dégradations
Cerveau	50 mg	30 µl	3 µg/µl	bonne
Intestin	40 mg	15 µl	3 µg/µl	quelques dégradations
Gonades	50 mg	20 µl	5 µg/µl	bonne
Tissu adipeux périviscéral	-	-	-	-

1.4 Dosage de l'activité enzymatique du complexe désaturation/élongation.

Le dosage de l'activité enzymatique du complexe désaturation/élongation consiste à doser le taux de DHA formé par unité de temps ramené à la quantité de protéines présentes. Le dosage a lieu dans les hépatocytes, après incubation de 18:3n-3 marqué au carbone 14 selon le protocole suivant :

1.4.1 Mise en suspension d'hépatocytes

Les hépatocytes sont isolés en suivant le protocole de Tocher et *al*. (2003) : le foie est nettoyé à l'aide d'une solution de HBSS (Hank's balanced salt solution) contenant 10mM de tampon HEPES®. Puis il est broyé et digéré par action de l'enzyme collagénase présente à 1mg/ml dans une solution de HBSS + 10mM HEPES® (incubation sous agitation, 20°C, 45 minutes). La solution de foie est ensuite filtrée à travers un filtre à falcon ® (diamètre 100µm) et centrifugée (500g/2min) deux fois (lavage du culot avec solution d'HBSS). Le culot d'hépatocytes est alors re-suspendu dans 10ml de milieu 199 contenant 10mM de tampon HEPES®.
Des aliquots de 100µl sont conservés pour la détermination des protéines (Lowry *et al.*, 1951).

La viabilité des cellules est vérifiée par un test au bleu de trypan. Une solution de 50µl d'hépatocytes + 150 µl de bleu trypan (dilué de moitié avec de la solution de HBSS + 10mM HEPES®) est observée au microscope afin de comptabiliser le nombre de cellules vivantes et le

nombre de cellules mortes (Figure 15). Le taux de viabilité se définit par le rapport: nombre de cellules vivantes / (nombre de cellules vivantes + nombre de cellules mortes) x100.

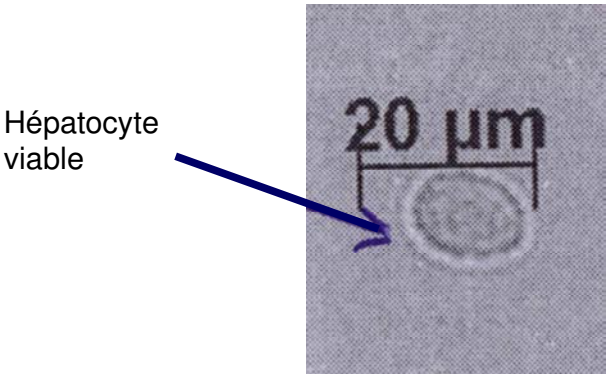


Figure 15 : Observation d'un hépatocyte viable au microscope.

1.4.2 Incorporation d'acide linolénique marqué

L'acide linolénique 9,12 15 [1-14C] nous a été délivré par Perkin Elmer à une activité spécifique de 50µCi.

La suspension d'hépatocytes est transférée dans une boite de culture dans laquelle les cellules vont adhérer. De l'acide linolénique marqué (0,25µCi) a été ajouté dans la suspension. Afin de faciliter l'incorporation, l'acide gras est préalablement transformé en un complexe avec de la FAF BSA (free acid fatty bovine serum albumine) selon le protocole de Ghioni et *al.* (1997). Après une incubation de 2 heures à 20°C sous agitation, les cellules sont détachées à l'aide d'une solution froide de FAF BSA à 1% dans de l'HBSS. La solution est centrifugée (deux fois 400g, 2minutes). Le culot est nettoyé avec de la FAF BSA à 1% dans de l'HBSS. Le surnageant est éliminé et le culot séché.

1.4.3 Extraction des lipides totaux

L'extraction des lipides totaux des hépatocytes se fait sur le culot sec à l'aide de la méthode de Folch (1957) par ajout de 5ml d'une solution de chloroforme/méthanol (2/1, v/v) + BHT et de 1ml de chlorure de potassium (KCl) 0,88%. Après l'apparition de deux phases, l'ensemble est centrifugé à 600g pendant 5 minutes. La phase inférieure contenant les lipides est récoltée et filtrée sur papier Whatman N°1 avant d'être stockée à -20°C.

1.4.4 Séparation des acides gras par chromatographie sur couche mince

Les acides gras sont méthylés par transestérification en ajoutant 1ml de Toluène et 2,5 ml d'acide sulfurique (H2SO4) à 1% dans le méthanol selon la méthode décrite par Christie (1982). Les acides gras méthylés sont extraits par ajout de 2 ml de bicarbonate de potassium (KHCO3) à

2% puis 5ml d'hexane/diethyl ether (1 :1, v/v). La solution est centrifugée (500g, 2 minutes) et la phase supérieure contenant les acides gras méthylés est récoltée. Après évaporation sous jet d'azote les acides gras méthylés sont re-suspendus dans 100µl d'hexane contenant 0,01% de BHT.

Les acides gras méthylés sont ensuite séparés par chromatographie sur couche mince (CCM) selon la méthode décrite par Tocher et Sargent (1990) (Figure 16). Les plaques de silice sont au préalable pulvérisées avec une solution de nitrate d'argent à 10% activées à 110°C pendant 30 minutes. Le solvant de migration est un mélange de toluène/acétonitrile (95 :5, v/v).

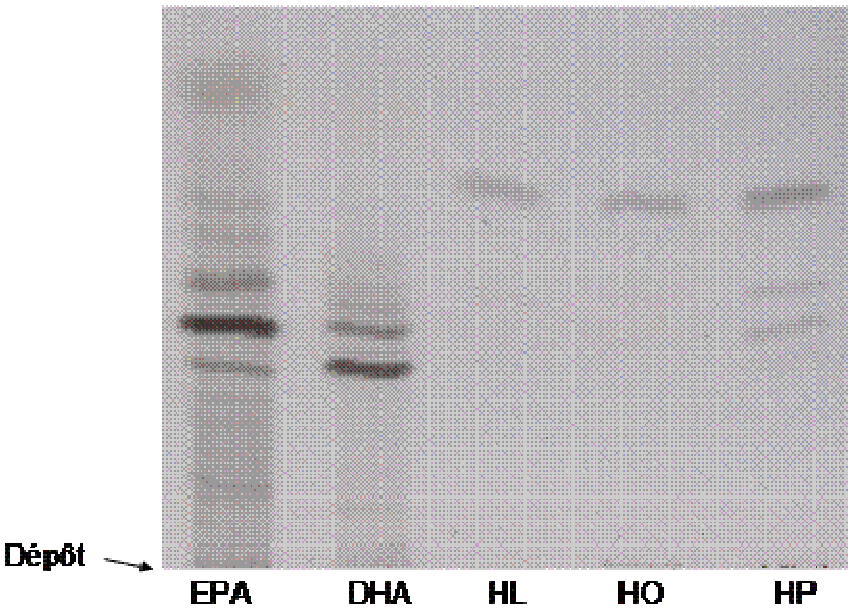
1.4.5 Quantification de la radioactivité retrouvée

Les bandes radioactives présentes sur la plaque de CCM sont révélées par autoradiographie à l'aide de films Kodak MR1 appliqués contre la plaque de CCM à l'obscurité durant 7 jours. Le film permet de visualiser les bandes radioactives sous forme de taches noires. Des acides gras standards déposés en même temps que l'échantillon sur la plaque permettent d'identifier les acides gras attendus, à savoir le 18:3n-3, l'EPA et le DHA.

Les aires de silice correspondantes sont grattées et diluées dans du liquide à scintillation. La radioactivité est comptée au compteur à scintillation.

1.4.6 Quantification de l'activité enzymatique.

Le protocole décrit plus haut permet de doser la radioactivité retrouvée dans les acides gras supérieurs formés à partir de 18:3n-3 marqué au carbone 14 pendant 2 heures (de concentration et radioactivité connues) et de normaliser ce taux en fonction de la quantité de protéines contenues dans la suspension d'hépatocytes. Ce protocole permet donc de quantifier le taux de conversion de l'acide linolénique marqué en mol/H/mg protéine, ce qui permet d'évaluer l'activité enzymatique du complexe biosynthétique (désaturation – élongation) des AGPIn-3.



<u>Figure 16</u>: Photographie représentant une plaque de séparation des acides gras marqués.

Les acides gras témoins (EPA, DHA) et les lipides extraits des hépatocytes des animaux nourris avec huile de lin (HL), huile d'olive (HO) et huile de poisson (HP) sont déposés sur le bas de la plaque. Les acides gras migrent vers le haut (hauteur visualisée par une bande noire)

2 EXPERIMENTATIONS ET PRINCIPAUX RESULTATS

2.1 Etude 1: Caractérisation des lipides chez la perche

Cette première étude vise à **caractériser les lipides au sein des trois tissus impliqués dans le métabolisme lipidique de la perche commune: le foie, le filet et le tissu adipeux périviscéral.** Elle a pour but de mesurer les teneurs en lipides totaux des différents tissus ainsi que la part de chaque classe de lipides (lipides neutres et polaires) et de déterminer leur composition en acides gras afin d'observer d'éventuelles différences en fonction du type de lipides et/ou du type de tissu concerné.

2.1.1 Dispositif expérimental

Trois poissons aux caractéristiques morpho-anatomiques proches (Tableau 6) (poids moyen: 513 ± 40g) ont été sélectionnés dans une population élevée dans un bassin de 500L fonctionnant en circuit fermé. La température a été maintenue constante à 22°C et la photopériode fixée à 16/8, bloquant ainsi la maturation sexuelle des individus (Gardeur *et al.*, 2007). Ils ont été alimentés avec l'aliment Hepalim Biomar®, à taux de rationnement optimal (Mélard *et al.*, 1996).

Les poissons ont été tués par choc thermique en les plongeant dans un bain de glace fondante. Pour chaque individu, la longueur totale, le poids total, le sexe, le poids du foie, des gonades, des viscères et du tissu adipeux périviscéral ont été déterminés. Sur chaque poisson des échantillons de filet, foie et tissu adipeux périviscéral ont été prélevés en triplicata et conservés à -80°C en vue de l'analyse des lipides (Méthode décrite dans la partie 1). La teneur en lipides totaux et la composition en acides gras de l'aliment ont également été déterminées.

2.1.2Traitement des données

Les teneurs en lipides et les profils en acides gras sont exprimés en moyenne +/- l'écart type. Afin d'étudier le déterminisme des acides gras, **l'effet du tissu et du type de lipide** a été testé sur la composition en acides gras par une analyse de variance à deux facteurs. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Statbox (Grimmersoft). Les moyennes sont comparées grâce au test de Newman-Keuls ($P < 0.05$).

Tableau 6: Caractéristiques morpho anatomiques des trois individus sélectionnés

Individu	1	2	3
longueur total (cm)	32,5	31,5	31,5
poids total (g)	559,2	486,6	493,6
Sexe	F	F	F
poids foie (g)	5	4,3	4
poids gonade (g)	3,2	2,16	1,45
poids viscères (g)	7,7	8,4	8,7
poids tissu adipeux (g)	25,86	21	16
IHS (%)	0,89	0,88	0,81
IGS (%)	0,57	0,44	0,29
IVS (%)	1,38	1,73	1,76

IHS : indice hépato somatique = poids du foie/poids total x100
IGS : indice gonado somatique = poids des gonades/poids total x100
IVS : indice viscéro somatique = poids des viscères/poids total x100

2.1.3 Résultats

Teneur en lipides et part des lipides neutres et polaires dans les 3 tissus

Les teneurs en lipides totaux des tissus ainsi que les parts des lipides neutres et polaires au sein de chaque tissu sont présentées dans le Tableau 7.

Les lipides sont majoritairement stockés dans le tissu adipeux périviscéral (84,7 +/- 7,0 %) essentiellement sous forme neutre (93%). Le foie stocke une petite quantité de lipides (5,2 +/- 1,2%), majoritairement neutres (63%). Une très faible quantité de lipides est retrouvée dans le filet (1,1 +/- 0,3%), où le rapport lipides neutres et polaires avoisine les 50/50.

Tableau 7 : Mesure de la teneur en lipides totaux, neutres et polaires des trois tissus (filet, foie, tissu adipeux périviscéral).

La teneur en lipides totaux (LT) est exprimée en % du poids frais. La part des lipides neutres et polaires est calculée en % des lipides totaux.

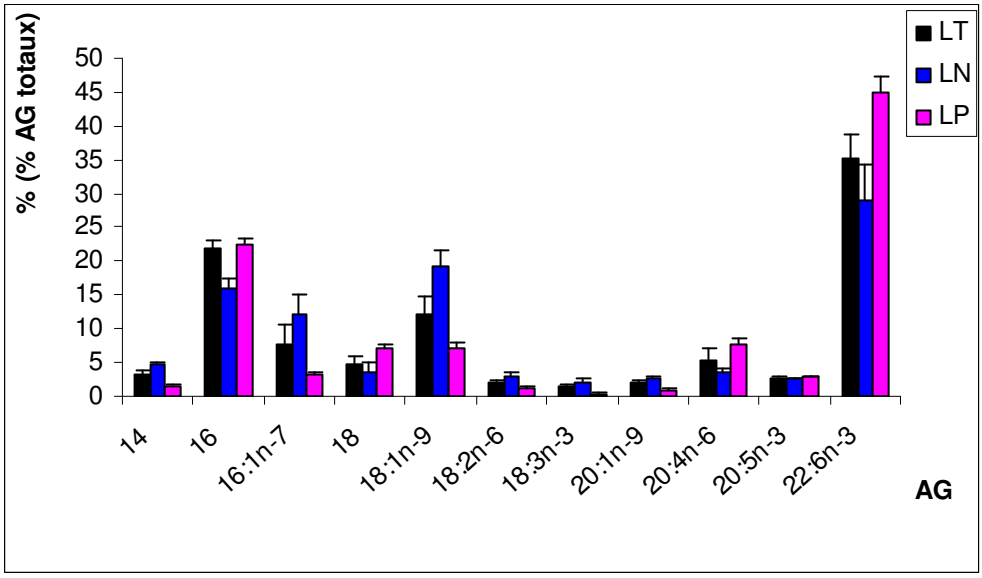
	Filet	Foie	Tissu adipeux périviscéral
LT (% poids frais)	1,1 +/- 0,3	5,2 +/- 1,2	84,7 +/- 7,0
→ LN (% des LT)	54 +/- 6	63 +/- 8,5	93 +/- 2,3
→ LP (% des LT)	46 +/- 6	37 +/- 8,5	7 +/- 2,3

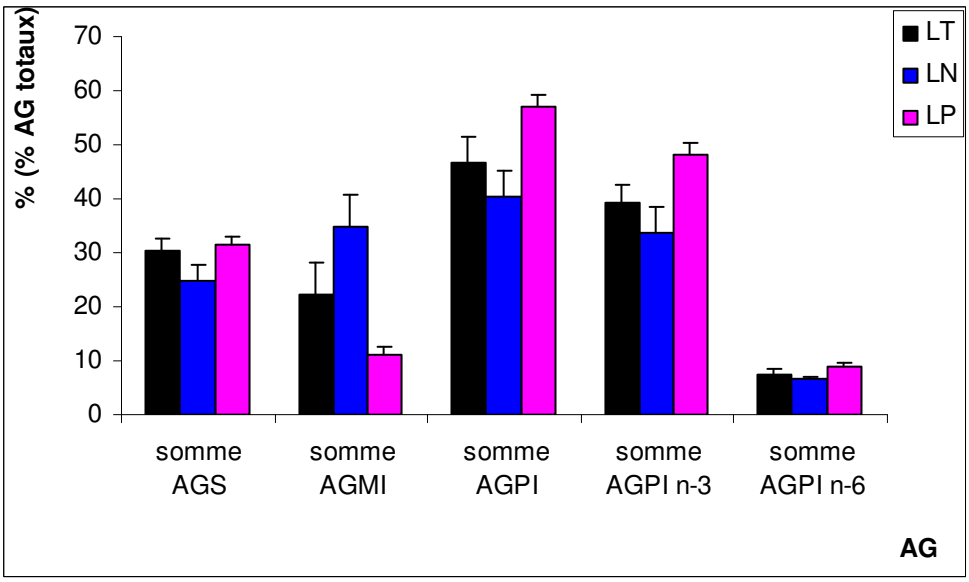
Composition en acides gras

Les acides gras majoritaires retrouvés dans les trois tissus sont l'acide palmitique (16:0, teneurs comprises entre 12 et 25%), l'acide oléique (18:1n-9, teneurs comprises entre 6 et 20%) et le DHA (22:6n-3, teneurs comprises entre 19 et 40%) (Figure 17, Figure 18, Figure 19). Ce sont les mêmes que ceux retrouvés dans l'aliment (Figure 20). La teneur en AGPI est comprise entre 30 et 50%, celle en AGMI entre 8 et 35% et la teneur en AGS varie entre 20 et 35%. En fait, chaque tissu semble avoir un profil en AG spécifique. De la même façon, il semble y avoir des différences de profils en AG selon le type de lipides concerné. C'est pourquoi nous avons testé l'effet du type de lipides et l'effet du tissu sur la composition en AG (Tableau 8).

<u>Figure 17</u> : Composition en AG du filet

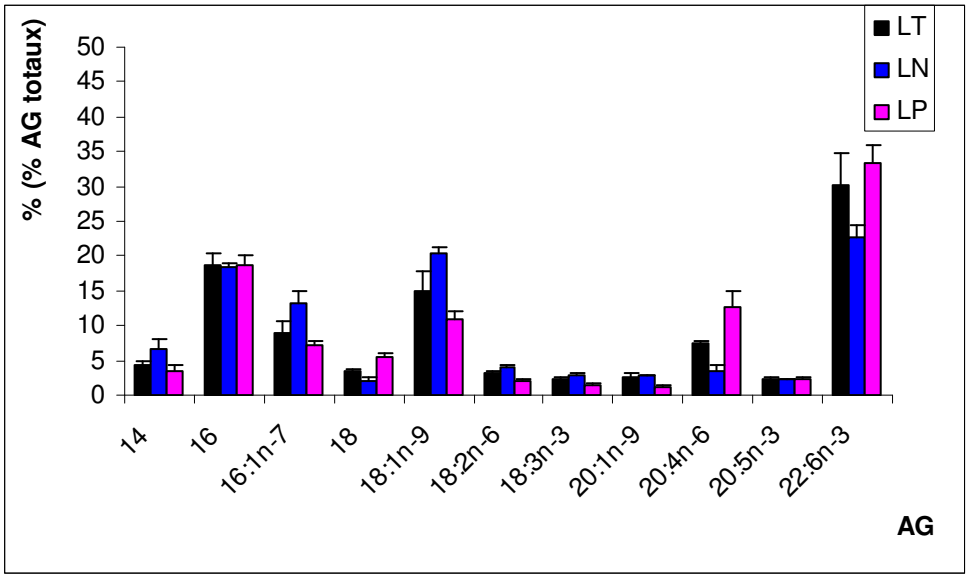
LT : Lipides totaux, LN : lipides neutres, LP : lipides polaires.
Sont représentés les AG les plus importants en termes de quantité et de qualité.
AGS= somme des AG saturés, AGMI= somme des AG mono-insaturés, AGPI= somme des AG poly-insaturés, AGPIn-3= somme des AG poly-insaturés de la famille n-3, AGPIn-6= somme des AG poly-insaturés de la famille n-6

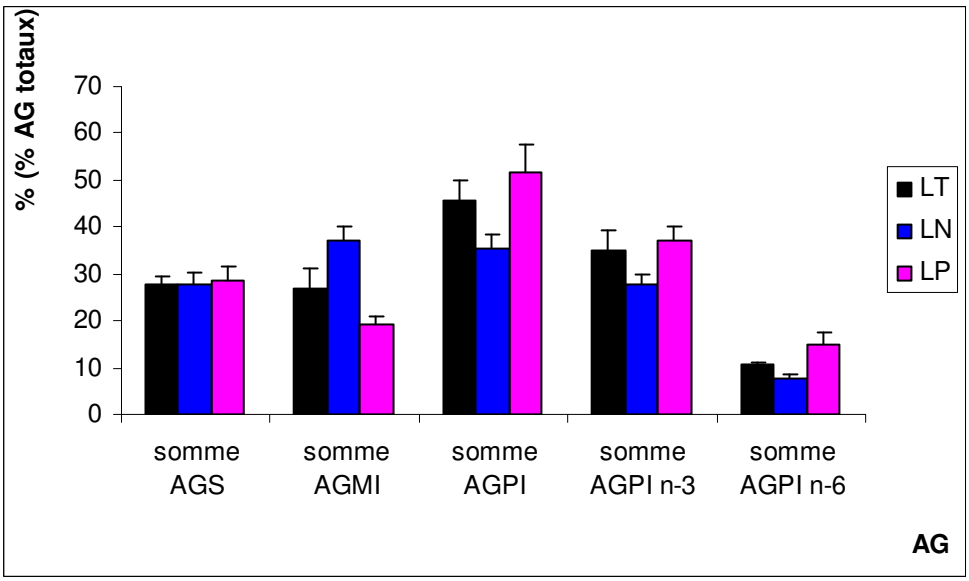




<u>Figure 18</u> : Composition en AG du foie

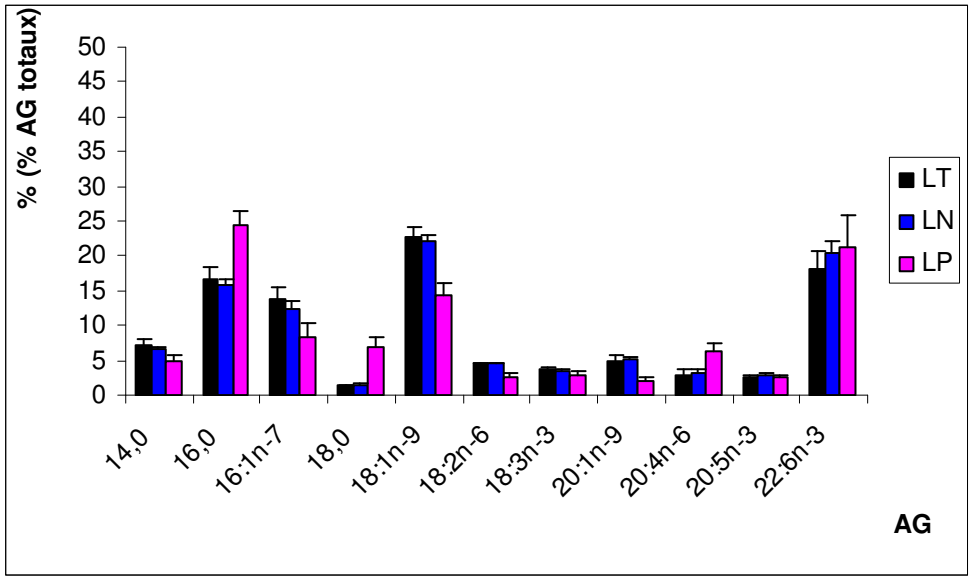
LT : Lipides totaux, LN : lipides neutres, LP : lipides polaires.
Sont représentés les AG les plus importants en termes de quantité et de qualité.
AGS= somme des AG saturés, AGMI= somme des AG mono-insaturés, AGPI= somme des AG poly-insaturés, AGPIn-3= somme des AG poly-insaturés de la famille n-3, AGPIn-6= somme des AG poly-insaturés de la famille n-6

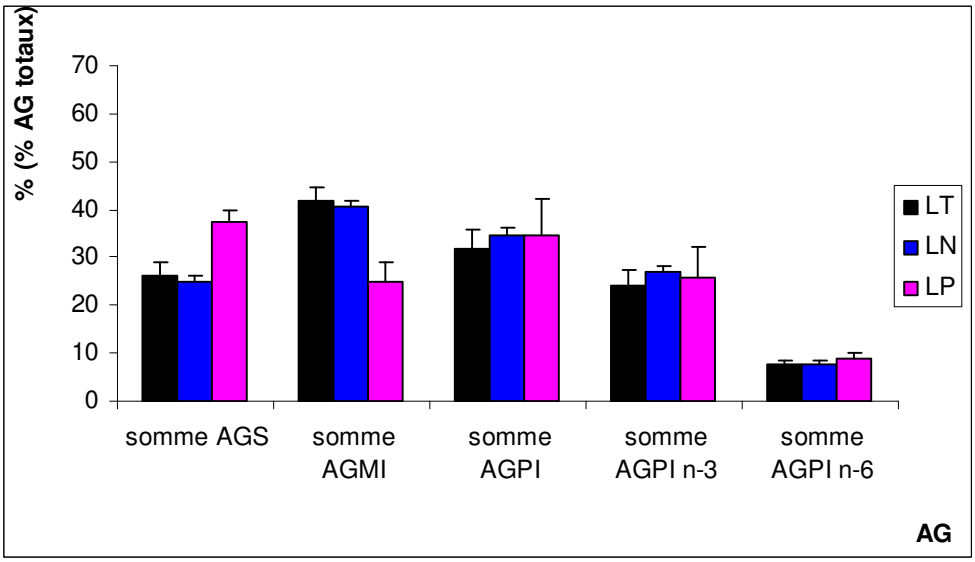




<u>Figure 19</u> : Composition en AG du tissu adipeux périviscéral

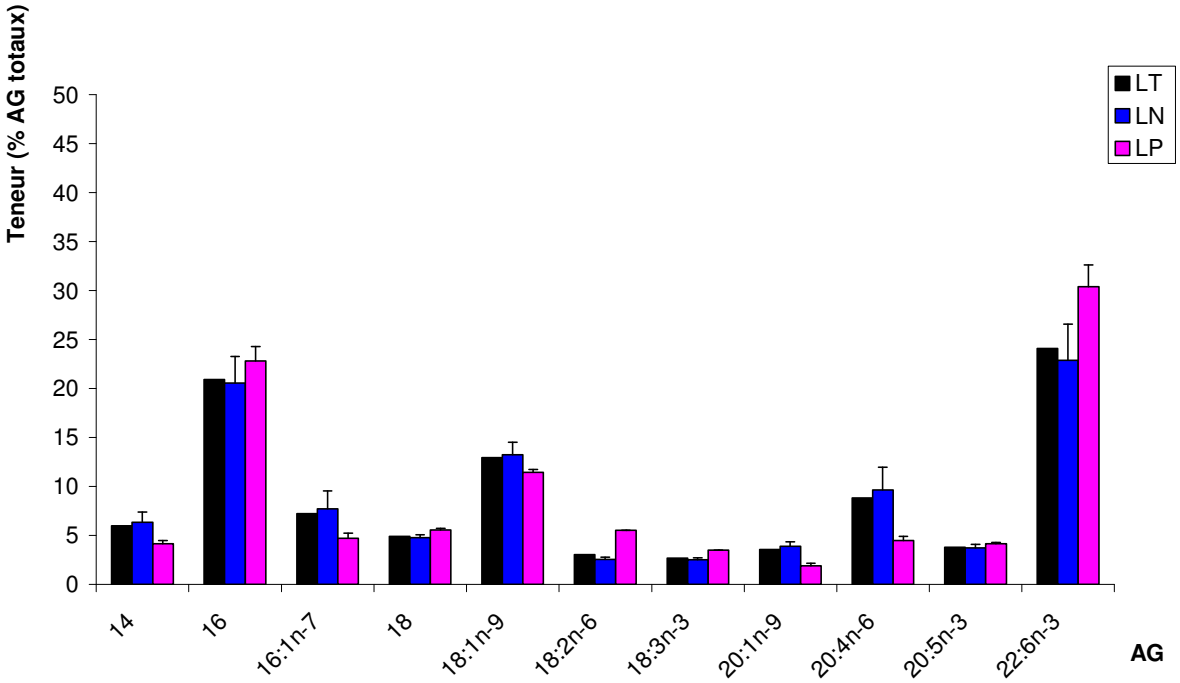
LT : Lipides totaux, LN : lipides neutres, LP : lipides polaires.
Sont représentés les AG les plus importants en termes de quantité et de qualité.
AGS= somme des AG saturés, AGMI= somme des AG mono-insaturés, AGPI= somme des AG poly-insaturés, AGPIn-3= somme des AG poly-insaturés de la famille n-3, AGPIn-6= somme des AG poly-insaturés de la famille n-6

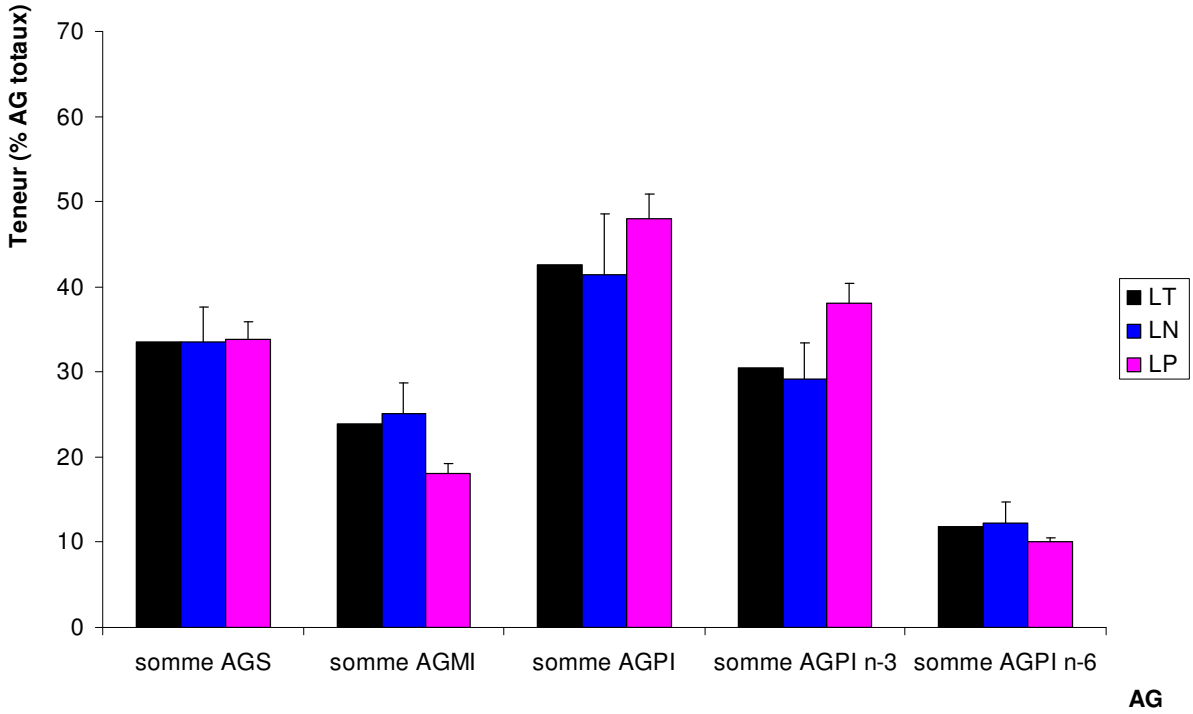




<u>Figure 20</u>: Composition en Acides gras des lipides totaux (LT), neutres (LN) et polaires (LP) de l'aliment (% AG totaux). Le profil en AG des lipides totaux a été calculé à partir de sa composition en lipides neutres et polaires.

LT : Lipides totaux, LN : lipides neutres, LP : lipides polaires.
Sont représentés les AG les plus importants en termes de quantité et de qualité.
AGS= somme des AG saturés, AGMI= somme des AG mono-insaturés, AGPI= somme des AG poly-insaturés, AGPIn-3= somme des AG poly-insaturés de la famille n-3, AGPIn-6= somme des AG poly-insaturés de la famille n-6





Déterminisme des acides gras

Il existe pour tous les acides gras testés un effet de l'interaction du tissu et du type de lipides sauf pour 16:1n-7, 18:1n-9, 18:2n-6, EPA ainsi que pour la somme des AGMI (Tableau 8). Pour ces derniers nous allons décrire les effets simples.

<u>Tableau 8</u>: Effet du tissu et du type de lipides en fonction de chaque acide gras et de la somme des acides gras saturés (AGS), mono-insaturés (AGMI) et poly-insaturés (AGPI).

NS: effet non significatif, S : effet significatif (P<0,05)

AG	Effet du tissu		Effet du type de lipides		Interaction tissu type de lipides		CV Etr (%)
	Effet	Puissance	Effet	Puissance	Effet	Puissance	
16:0	NS	36	S	99	S	99	6,7
16:1n-7	S	74	S	99	NS	99	17,1
18:1n-9	S	97	S	99	NS	99	9,3
18:2n-6	S	98	S	99	NS	99	11,2
18:3n-3	S	99	S	99	S	99	14,8
20:4n-6	S	92	S	99	S	99	19,6
20:5n-3 (EPA)	S	18	NS	7	NS	78	7,7
22:6n-3 (DHA)	S	99	S	99	S	99	12
AGS	NS	64	S	98	S	98	7
AGMI	S	93	S	99	NS	99	12
AGPI	S	97	S	97	S	99	9,6
AGPIn3	S	98	S	91	S	98	11,4
AGPIn6	S	95	S	97	S	99	12

Effets simples

⇨**Effet tissu** (Figure 21)

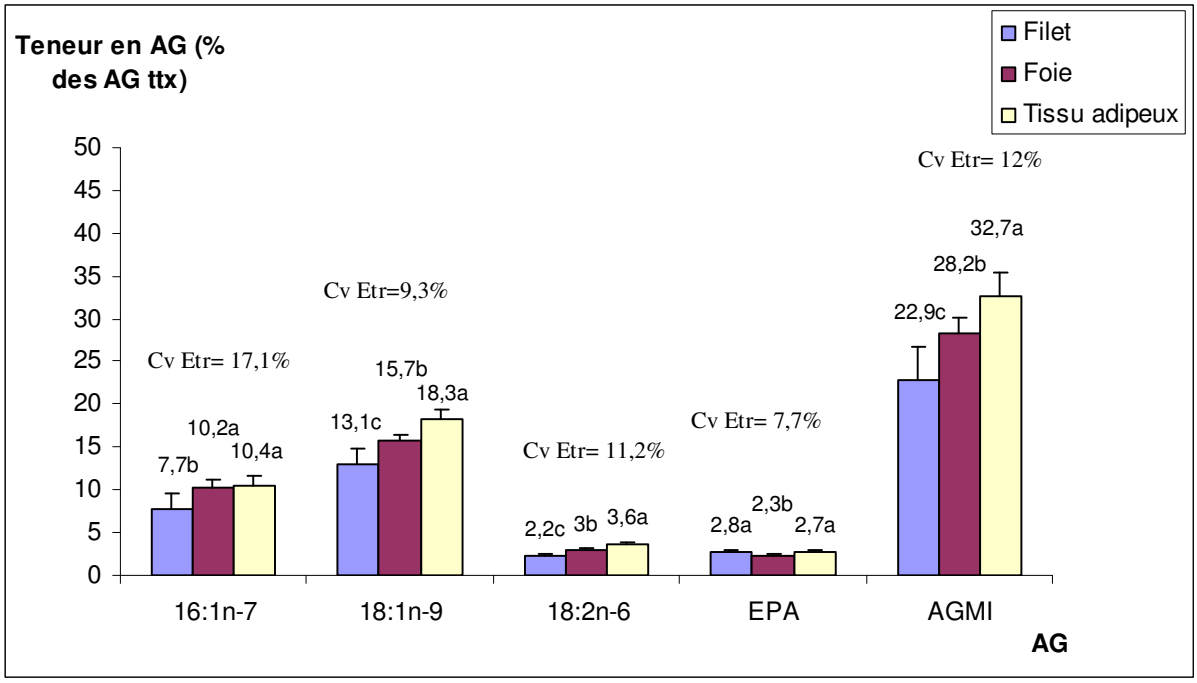
Le tissu a un effet sur la teneur en 16:1n-7, 18:1n-9, 18:2n-6, EPA ainsi que pour la somme des AGMI.

Les acides gras 18:1n-9, 18:2n-6 et la somme des AGMI suivent la même tendance: les teneurs sont maximales dans le tissu adipeux, minimales dans le filet et intermédiaires dans le foie.

La teneur en 16:1n-7 est minimale dans le filet et il n'y a pas de différence significative entre foie et tissu adipeux.

Les teneurs en EPA sont significativement supérieures dans le filet et le tissu adipeux

Figure 21 : Effets simples : Effet du tissu sur le profil en AG

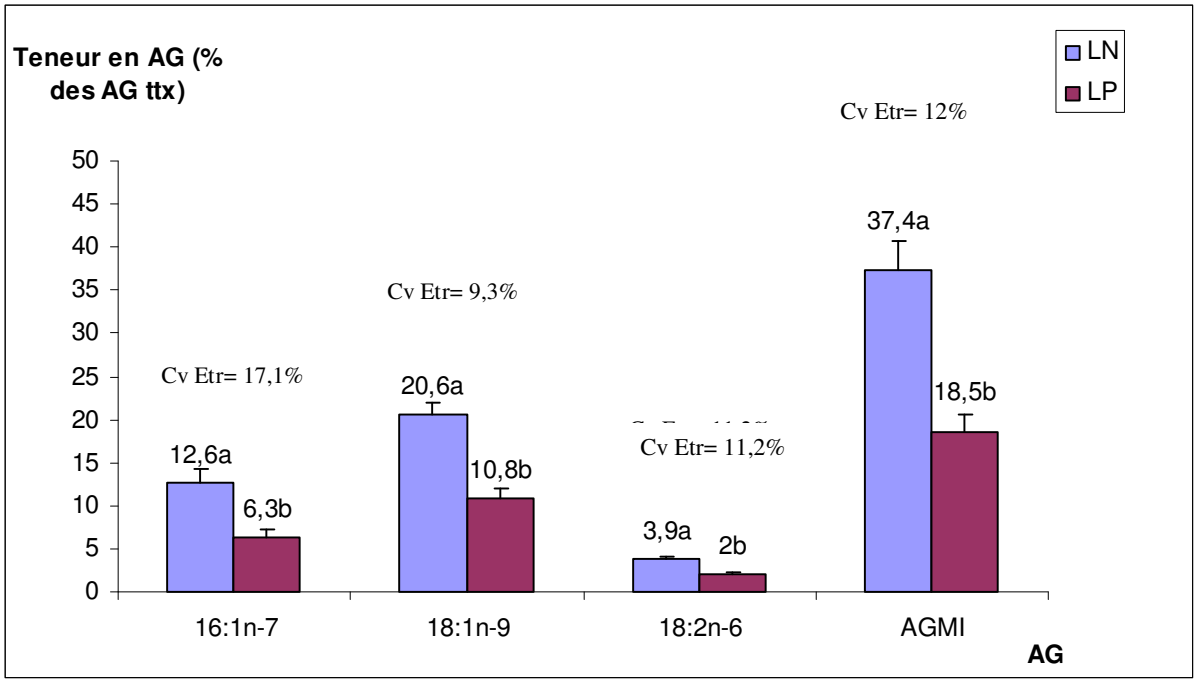


Des lettres différentes montrent un effet significatif du tissu ($p<0.05$)

⇨**Effet type de lipide** (lipides neutres et lipides polaires) (Figure 22)

Le type de lipide a un effet simple sur la teneur en 16:1n-7, 18:1n-9, 18:2n-6 ainsi que pour la somme des AGMI. Leurs teneurs sont significativement supérieures dans les lipides neutres par rapport aux lipides polaires.

Figure 22 : Effets simples : Effet du type de lipide sur la teneur en AG



Des lettres différentes montrent un effet significatif du tissu ($p<0.05$)

*Interactions effet tissu*type de lipide*

La teneur des AG 16:0, 18:3n-3, 20:4n-6, DHA, AGPI, AGS, AGPIn-3, AGPIn-6 est soumise à l'effet du tissu en interaction avec l'effet du type de lipides (Figure 23).

La teneur en 16:0 et en AGS est significativement maximale dans les lipides polaires du tissu adipeux et du filet.

Pour le 18:3n-3, les effets tissu et type de lipide sont significatifs et identiques entre filet et foie, par contre l'effet tissu n'est pas significatif entre foie et tissu adipeux, de même que l'effet type de lipide n'est pas significatif au niveau du tissu adipeux.

Pour le 20:4n-6 et les AGPIn-6, les teneurs en lipides polaires sont significativement supérieures à celles des lipides neutres quel que soit le tissu et l'interaction est due à la valeur plus élevée du 20:4n-6 des LP dans le foie comparativement à celles du filet et du tissu adipeux.

La teneur en DHA est quant à elle significativement maximale dans les lipides polaires du filet, intermédiaire dans les lipides polaires du foie et les lipides neutres du filet, et minimale dans les lipides neutres du foie et au niveau des deux types de lipides du tissu adipeux.

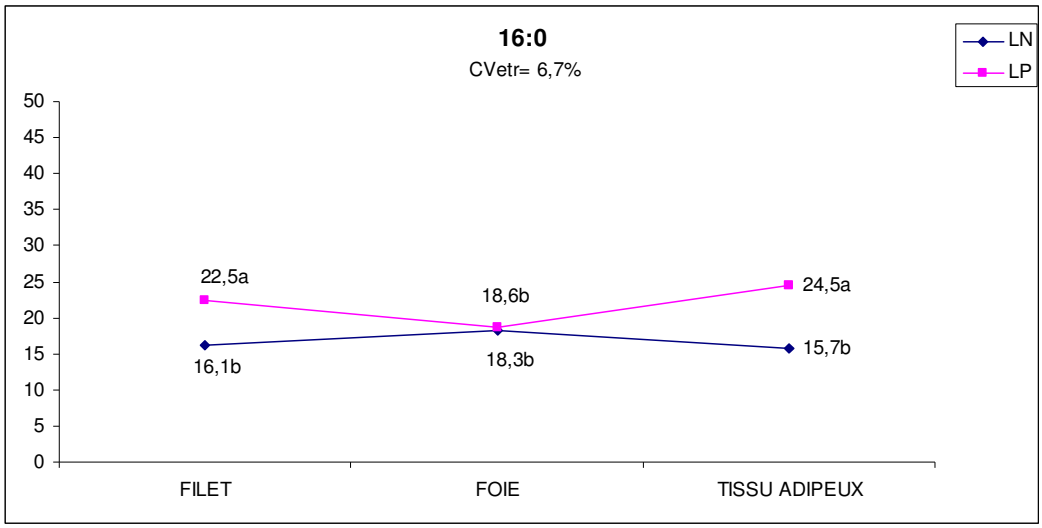
La teneur en AGPIn-3 suit pratiquement la même tendance que celle en DHA, avec cependant une différence au niveau des lipides neutres du filet qui ne diffèrent plus significativement des lipides neutres du foie.

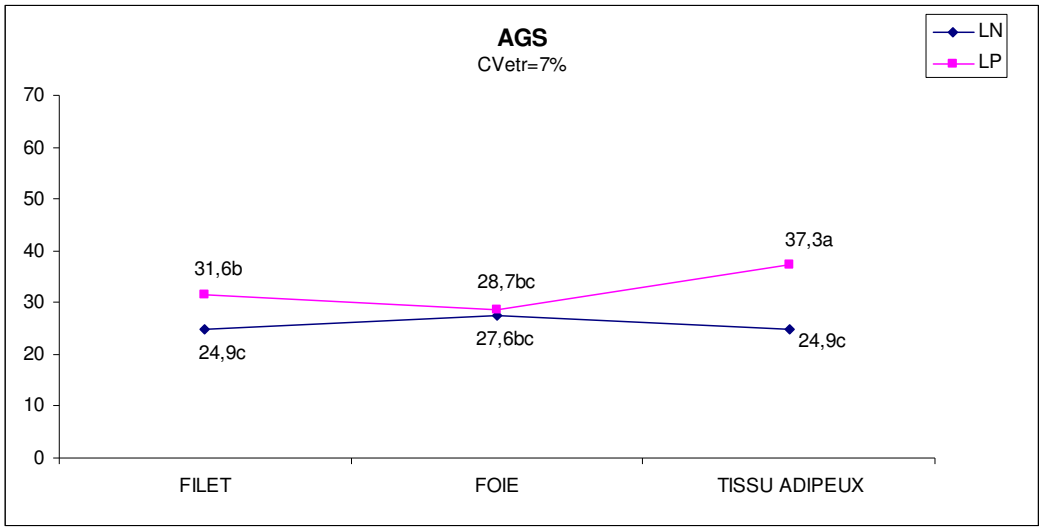
La teneur en AGPI est significativement maximale en lipides polaires mais seulement pour le filet et le foie.

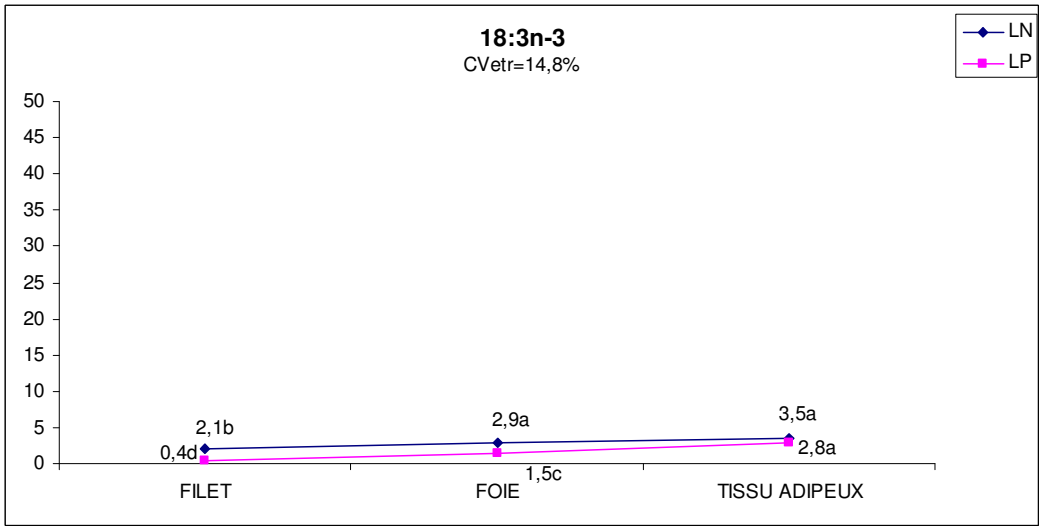
Figure 23 : Interaction effet tissu et effet type de lipide

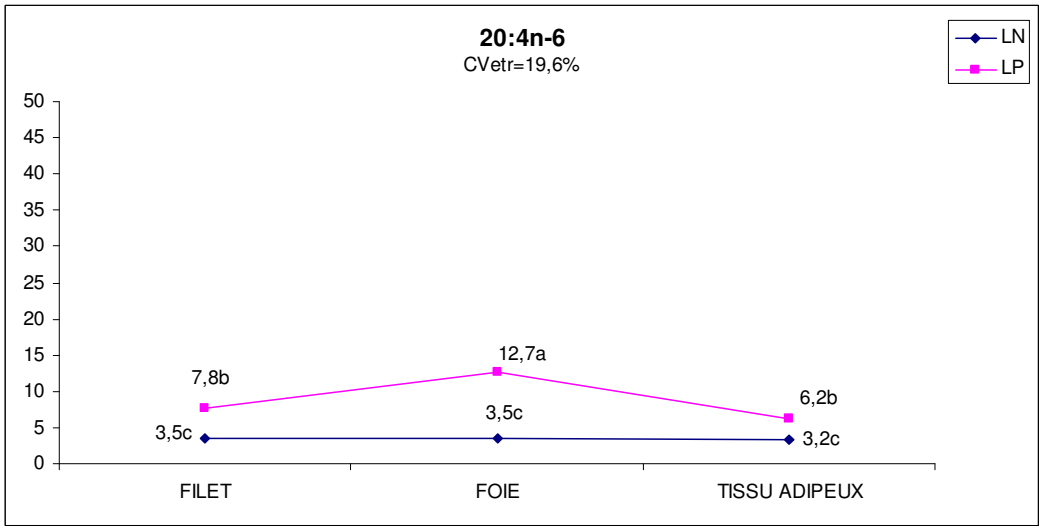
Teneur en AG (% des AGttx) en fonction du tissu (filet, foie, tissu adipeux) et du type de lipides.

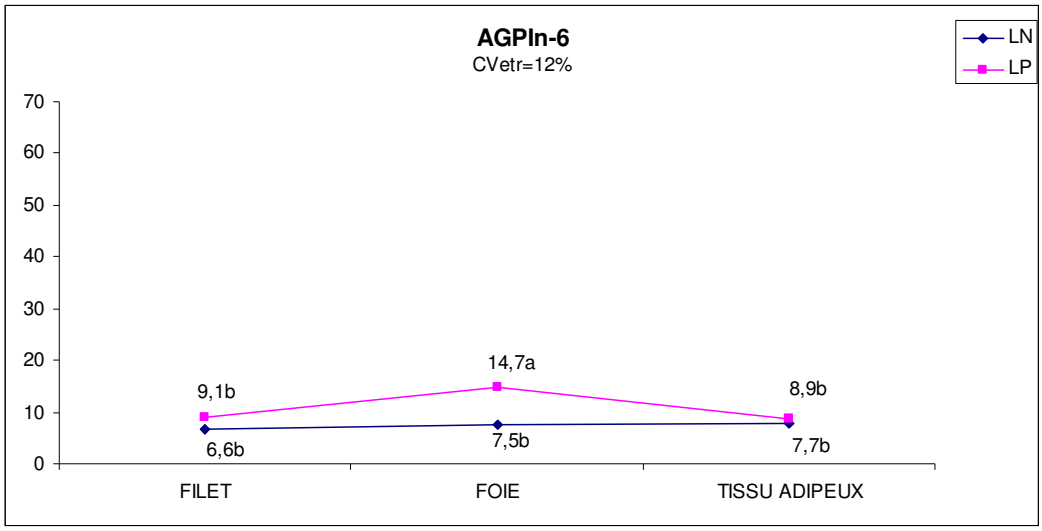
Les lettres en exposant représentent des valeurs significativement différentes ($p<0,05$)

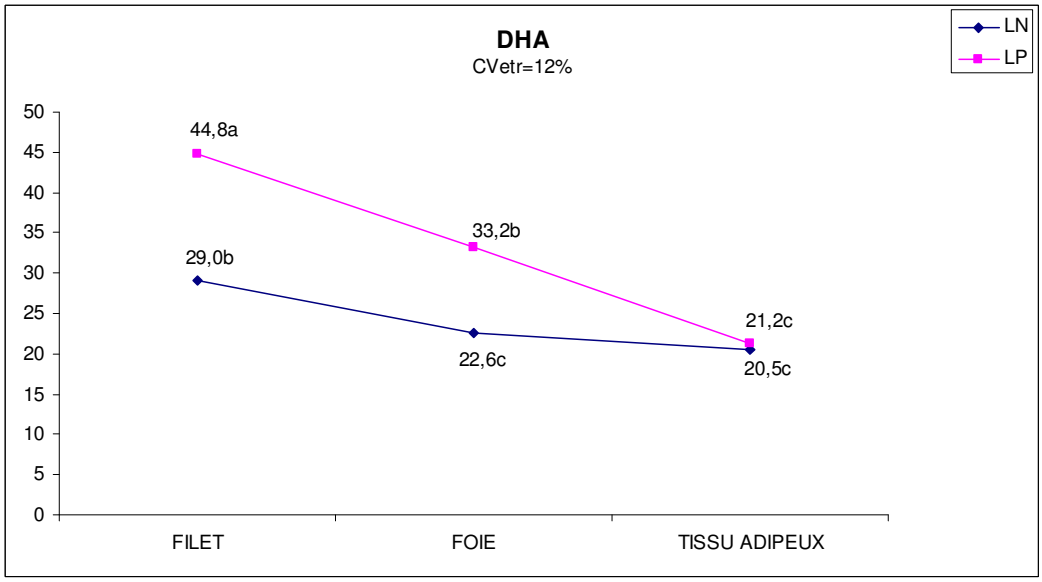


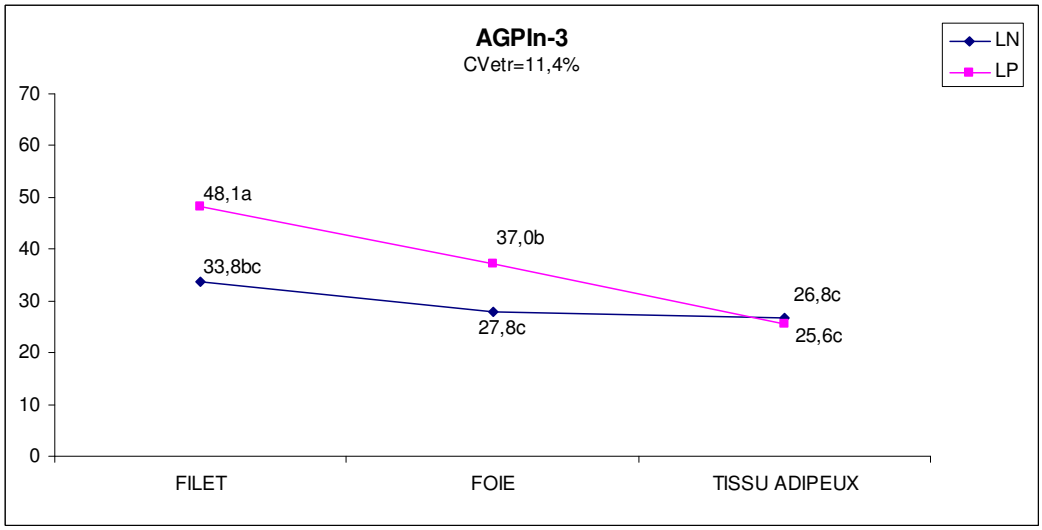

AGS
CVetr=7%
LN
LP
70
60
50
40
30
20
10
0
31,6b
28,7bc
37,3a
24,9c
27,6bc
24,9c
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX

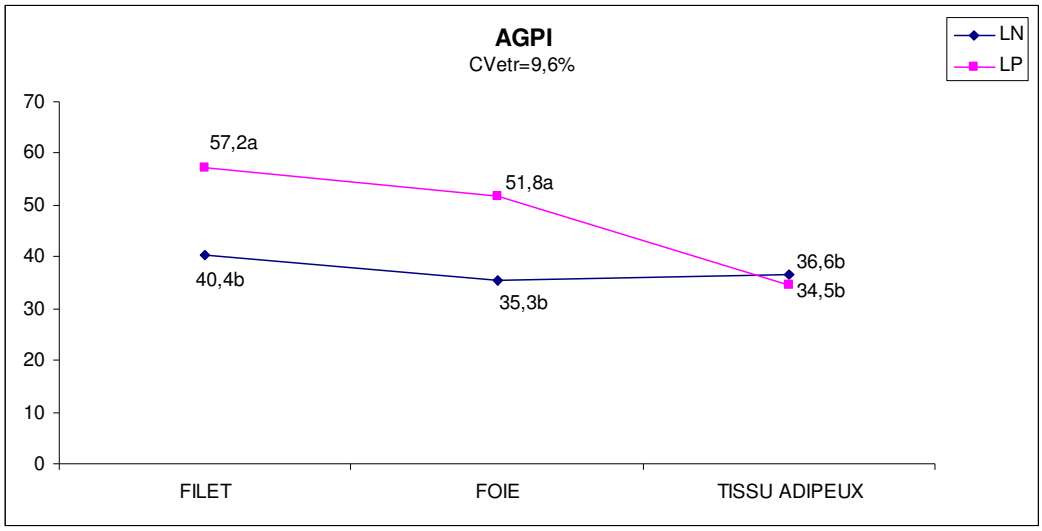

18:3n-3
CVetr=14,8%
LN
LP
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
2,1b
0,4d
2,9a
1,5c
3,5a
2,8a
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX


20:4n-6
CVetr=19,6%
LN
LP
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
7,8b
3,5c
12,7a
3,5c
6,2b
3,2c
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX


AGPIn-6
CVetr=12%
LN
LP
70
60
50
40
30
20
10
0
9,1b
14,7a
8,9b
6,6b
7,5b
7,7b
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX


DHA
CVetr=12%
LN
LP
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
44,8a
33,2b
29,0b
21,2c
22,6c
20,5c
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX


AGPIn-3
CVetr=11,4%
LN
LP
70
60
50
40
30
20
10
0
48,1a
37,0b
33,8bc
26,8c
27,8c
25,6c
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX


AGPI
CVetr=9,6%
LN
LP
70
60
50
40
30
20
10
0
57,2a
51,8a
40,4b
35,3b
36,6b
34,5b
FILET
FOIE
TISSU ADIPEUX

2.2 Etude 2: Détermination et hiérarchisation de facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides et la composition en acides gras des tissus

Les caractéristiques qui définissent la qualité finale d'un produit sont multiples. Pour chacune, le nombre de facteurs potentiellement influents est important, leur hiérarchisation et leurs interactions sont rarement étudiées. En effet, la majeure partie des travaux expérimentaux effectués à ce jour utilise une démarche de type causale, entre un nombre très limité de facteurs. Cette méthode consiste à bloquer à un niveau chacun des facteurs d'influence sauf celui que l'on veut tester et à mesurer les réponses sur les variables de sortie des variations de niveaux du facteur testé (Goupy, 2001). Les réponses obtenues sont liées aux valeurs des niveaux fixés, ce qui rend les résultats peu transposables. De plus, la non prise en compte des interactions entre les facteurs conduit généralement à des conclusions contradictoires (Schimmerling *et al.*, 1998). Une approche multifactorielle, qui privilégie le nombre de facteurs étudiés au nombre de modalités de quelques facteurs permet de hiérarchiser les facteurs et d'appréhender les liaisons multidimensionnelles entre les variables.

Comme cela a été décrit dans la première partie, la qualité de la chair de poisson est liée à un ensemble de facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides et/ou la composition en AG. L'utilisation d'une étude multifactorielle afin de tester l'effet simultané des facteurs environnementaux est alors appropriée. Elle permet de tester un grand nombre de facteurs et de détecter les éventuelles interactions entre eux.

L'étude a été menée par deux expérimentations :

- La première avait pour but de quantifier et de hiérarchiser l'effet des facteurs environnementaux sur des variables biométriques et zootechniques, morphologiques, technologiques, environnementales et nutritionnelles. **Elle a permis d'établir quatre combinaisons de facteurs particulièrement remarquables pour la croissance et la qualité de la chair.**

- La deuxième avait pour objectif de vérifier la reproductibilité des résultats obtenus avec la première expérience. **Elle a permis de valider les résultats obtenus et la méthode utilisée.**

A partir de ces données, **l'objectif de cette étude** est de mettre en évidence les facteurs et les interactions ayant un effet sur la teneur en lipides et sur la composition en acides gras des tissus et de les hiérarchiser.

2.2.1 Matériels et Méthodes

2.2.1.1 Expérience 1

Facteurs testés

36 facteurs appartennant aux six éléments constituant le système aquacole (élevage, génotype, environnement biologique, environnement trophique, environnement physico chimique et état physiologique) et connus pour influencer la croissance et la qualité des poissons ont été étudiés par méta analyse à partir de données bibliographiques. Une ACP menée sur les données de 15 expériences (172 unités expérimentales, 33 variables) a permis de sélectionner les facteurs les plus importants qui doivent être testés en priorité. En se basant sur ces résultats, douze facteurs à deux modalités chacun (1, -1) (Tableau 9) ont été testés. Parmi eux il y a sept facteurs nutritionnels (composition des aliments, mode de distribution) et 5 facteurs environnementaux. Les niveaux de chaque facteur ont été choisis en fonction des données disponibles dans la littértaure (Mélard et al., 1996 ; Fontaine et al., 1997 ; Ketemont et al., 2001, Xu et al., 2001, Mathis et al., 2003).

La qualité de l'eau n'a pas été testée. C'est un facteur à effet de seuil : il n'a un effet sur la croissance et sur la qualité des poissons que pour des valeurs extrèmes. Des controles ont été faits régulièrement afin de vérifier que les seuils ne sont pas atteints (concentration en ammonium et en nitrites <5mg/l; pH : 7,4; teneur en oxygène dissous> 4mg/l).

Tableau 9: Facteurs testés dans l'expérience 1

Le taux de rationnement est calculé en fonction du poids moyen par bac

Facteur	Niveau	
	+1	-1
Température	23°C	16°C
Taux de rationnement	$22.45 Poids^{-0.68}$	$30.67 Poids^{-0.68}$
Teneur en lipides de l'aliment	21%	17%
Nature des protéines de l'aliment	Blé + farine de poisson + farine de soja	Blé + farine de poisson
Nature des lipides de l'aliment	Huile de colza	Huile de poisson
Teneur en astaxanthine de l'aliment	0.4%	0%
Densité finale attendue	10 kg/m^3	6 kg/m^3
Mode de distribution de la ration	2 repas/j matin et soir	Continu
Hétérogénéité initiale du poids (Coefficient de variation du poids)	30%	15%
Photopériode	16L:8O	8L:16O
Spectre lumineux	Blanc industriel	Violacé
Jours d'alimentation par semaine	7	6

Dispositif expérimental

L'étude de 12 facteurs à 2 modalités chacun dans un plan complet implique de tester 2^{12} = 4096 combinaisons différentes. Afin de diminuer le nombre de combinaisons à tester, la méthode des plans factoriels fractionnaires est utilisée. Cette méthode permet de quantifier les effets simples ou combinés de nombreux facteurs et de déterminer leur niveau optimal avec un nombre limité d'essais.

Ainsi, les douze facteurs ont été testés avec 24 unités expérimentales en utilisant la matrice d'un plan factoriel fractionnaire de résolution IV (Box *et al.*, 1978; Babiak *et al.*, 2000; Ruohonen *et al.*, 2001). Ce plan permet d'estimer individuellement chacun des 12 effets principaux et les interactions de degré 2 sont estimées en groupe (11 groupes de 6 interactions confondues entre 2

facteurs). Parmi les 4096 combinaisons possibles, 24 ont été testées et les 4072 restantes ont été estimées à partir des effets mesurés sur les 24 testées.

Le plan de résolution IV a été obtenu en doublant un plan de résolution III de Plakett and Burman. Toutefois, après analyse de la composition des aliments distribués, un non respect du cahier des charges concernant la composition des aliments fournis par l'industriel a été détecté. Ainsi le dispositif expérimental prévu n'a pas été totalement respecté entraînant une perte d'orthogonalité et de niveau de résolution IV de la matrice expérimentale. En conséquence, les coefficients d'effets des facteurs ne sont plus indépendants, leur estimation est moins précise et surtout les confusions d'effet qui ne devaient concerner que les interactions sont plus nombreuses et concernent également des groupes incluant des effets principaux. Ainsi la dénomination des effets présentés en résultats correspond à une hypothèse d'effet le plus probable au sein d'un groupe d'estimation d'effets confondus.

L'expérience a été menée durant 116 jours. Les poissons ont été élevés dans 24 unités expérimentales correspondant chacune a un bassin autonome de 500L fonctionnant en circuit fermé et contenant 25 ou 42 poissons suivant l'objectif de densité finale fixé. Au début de l'expérience le poids moyen des poisons était de 59.4 ± 13.9g.

Les détails de cette expérience sont disponibles dans l'étude de Gardeur *et al*., 2007.

2.2.1.2 Expérience 2

Facteurs testés

L'expérience 1 a permis de mettre en évidence 4 combinaisons de facteurs intéressantes pour la croissance et la qualité des poissons (I, II, III, IV, Tableau 10).

Ces quatre combinaisons ont été choisies en privilégiant certaines variables:

Combinaison I = croissance maximale (Cmax)

⇨ parmi les 24 combinaisons de facteurs testeés, c'est celle qui a permis d'obtenir la croissance des poissons la plus impotante

Combinaison II = hétérogénéité finale du poids minimale (Hmin)

⇨ parmi les 24 combinaisons de facteurs testeés, c'est celle qui a permis d'obtenir une bonne croissance des poissons avec en plus une hétérogénéité de poids minimale.

Combinaison III = signal/bruit maximum

⇨ le ratio signal/bruit est un indicateur de performance qui tient compte de la valeur du facteur (signal = valeur moyenne) et de la variabilité de cette valeur (bruit = variance). Lorsque le ratio est élevé, la performance est grande. Pour calculer ce ratio il faut disposer des écarts types intra bac. C'est pourquoi la combinaison III a été estimée en prenant en compte les valeurs moyennes et leur variabilité sur le poids final, le développement gonadique, le rendement en filet et la couleur (SB)

Combinaison IV = meilleure combinaison estimée

⇨ sur les 4096 combinaisons possibles, 24 ont été testées. Les 4072 restantes ont été estimées par un modèle d'estimation qui utilise la moyenne de la variable et les effets significatifs des facteurs et/ou de leurs interactions déterminés à partir des 24 combinaisons testées.

Ces quatre combinaisons ont été testées à nouveau dans l'expérience 2 dans un plan expérimental en randomisation à un facteur étudié, avec quatre répliquas afin de vérifier les effets observés dans l'expérience 1 et de les compléter en caractérisant la composition en acides gras des 3 tissus précédemment étudiés: filet, foie, tissu adipeux périviscéral.

Tableau 10: Les quatre combinaisons testées dans l'expérience 2

Facteurs	**I Croissance maximum (Cmax)**	**II Hétérogénéité minimum (Hmin)**	**III Signal/Bruit maximum (SB)**	**IV Estimée (EST)**
Température	23°C	23°C	23°C	23°C
Taux de rationnement	$22.45Pm^{-0.68}$	$22.45Pm^{-0.68}$	$22.45Pm^{-0.68}$	$22.45Pm^{-0.68}$
Teneur en lipides de l'aliment	**21%**	**17%**	**21%**	**17%**
Nature des protéines de l'aliment	Farine de poisson	Farine de poisson	Farine de poisson	Farine de poisson
Nature des lipides de l'aliment	**Huile de poisson**	**Huile de colza**	**Huile de colza**	**Huile de poisson**
Teneur en astaxanthine de l'aliment	**0%**	**0,4%**	**0%**	**0%**
Densité finale attendue	10kg/m3	10kg/m3	10kg/m3	10kg/m3
Mode de distribution de la ration	**2 repas par jour**	**Continu**	**Continu**	**Continu**
Hétérogénéité initiale du poids (CV)	30%	30%	30%	30%
Photopériode	16L:8O	16L:8O	16L:8O	16L:8O
Spectre lumineux	**Blanc industriel**	**Violacé**	**Violacé**	**Blanc industriel**
Jours d'alimentation par semaine	**7**	**6**	**7**	**6**

Dispositif expérimental

La durée de l'expérience est quasi la même que celle de l'expérience 1 (129 jours). Seize groupes de 42 poissons ont été élevés en circuit fermé (mêmes unités expérimentales que pour l'expérience 1, Figure 24). Au début de l'expérience le poids moyen des poissons était de 38.3±11.9g. Le taux de rationnement utilisé correspond au taux optimal de l'expérience 1 ($22.45xP^{-0.68}$).



Figure 24: Photo d'une unité expérimentale

2.2.1.3 Matériel biologique

Les poissons utilisés pour les deux expériences proviennent des mêmes conditions d'élevage (Université de Liège). Avant les expérimentations ils ont été nourris avec un aliment commercial (Ecolife® 15% de lipides et 50% de protéines, BioMar).

2.2.1.4 Aliments

Seize aliments ont été utilisés dans l'expérience 1 (Tableau 11). Ils ont été fabriqués, à la demande, par Biomar®. Quatre de ces aliments ont été repris dans l'expérience 2. Ils correspondent aux aliments utilisés dans les 4 combinaisons retenues en expérience 1. La composition en AG des aliments a été analysée selon la méthode décrite dans la partie Matériel et Méthode (Tableau 12).

Tableau 11: Formulation des aliments

PP : protéines de poisson, TS : tourteau de soja

HP : huile de poisson, HC : huile de colza

Les aliments 10, 11, 13 et 14 ont été utilisés dans l'expérience 2.

Aliment°	% PP	% TS	% blé	% HP	% HC	% farine de blé	% Vitamines	% Lecithine	% astaxanthine
1	43	30	14,9		10,5	0,78	0,42	0,4	
2	43	30	14,9	10,5		0,78	0,42	0,4	
3	43	30	14,5		10,5	0,78	0,42	0,4	0,4
4	43	30	14,5	10,5		0,78	0,42	0,4	0,4
5	43,5	30	8,4		16,5	0,78	0,42	0,4	
6	43,5	30	8,4	16,5		0,78	0,42	0,4	
7	43,5	30	8		16,5	0,78	0,42	0,4	0,4
8	43,5	30	8	16,5		0,78	0,42	0,4	0,4
9	60		28,4		10	0,78	0,42	0,4	
10	60		28,4	10		0,78	0,42	0,4	
11	60		28		10	0,78	0,42	0,4	0,4
12	60		28	10		0,78	0,42	0,4	0,4
13	61		21,9		15,5	0,78	0,42	0,4	
14	61		21,9	15,5		0,78	0,42	0,4	
15	61		21,5		15,5	0,78	0,42	0,4	0,4
16	61		21,5	15,5		0,78	0,42	0,4	0,4

Tableau 12 : Composition en AG (% acides gras totaux) des aliments utilisés dans l'expérience 2.

	Combinaisons			
	I Cmax (HP, 21%)	**II Hmin (HP+HC, 17%)**	**III SB (HP+HC, 21%)**	**IV EST (HP, 17%)**
Aliments n°	*14*	*11*	*13*	*10*
AG				
16:0	**18.5 ± 1.8**	8.9 ± 0.6	10.4 ± 0.1	**20.7 ± 1.6**
18:0	3.4 ± 0.2	2.1 ± 0.0	2.0 ± 0.1	3.1 ± 0.3
Somme AGS	***30.5 ± 2.9***	*13* ± 0.7	*15,2*± 0.2	***34 ± 2***
16:1n-7	**8.2 ± 0.7**	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.1	**8.6 ± 0.1**
18:1n-9	13.8 ± 0.6	**41.0 ± 0.3**	**39.9 ± 0.6**	9.3 ± 0.5
20:1n-9	6.8 ± 0.3	3.5 ± 0.3	2.8 ± 0.2	5.1 ± 0.8
Somme AGMI	*27 ± 0.3*	***46,4 ± 0.0***	***44,9 ± 0.7***	*23,1 ± 1.3*
18:2n-6	6.0 ± 0.2	**19.2 ± 0.2**	**18.4 ± 0.3**	4.3 ± 0.3
20:4n-6	0.9 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	1.0 ± 0.1
Somme AGPIn-6	*7,2 ±0.3*	***19,5 ± 0.2***	***18,8 ± 0.3***	*5,6 ± 0.4*
18:3n-3	2.8 ± 0.1	**9.1 ± 0.1**	**9.0 ± 0.1**	1.7 ± 0.1
18:4n-3	**3.7 ± 0.2**	1.1 ± 0.0	1.0 ± 0.0	**3.8 ± 0.4**
20:5n-3 (EPA)	**7.5 ± 0.6**	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.1	**7.8 ± 0.6**
22:6n-3 (DHA)	**20.5 ± 1.5**	8.1 ± 0.9	8.3 ± 0.6	**23.0 ± 0.0**
Somme AGPIn-3	***35,6 ± 2.3***	*21,1 ± 0.9*	*21,1* ± 0.8	***37,4 ± 1.2***

Cmax = croissance maximale; Hmin = hétérogénéité du poids minimale; SB = rapport signal/bruit maximal; EST = combinaison estimée à partir des effets des facteurs. HP = huile de poisson; HC = huile de colza; 21% ou 18% = teneur en lipides de l'aliment.
Les caractères gras correspondent aux AG prédominant dans chaque combinaison

2.2.1.5 Echantillonnage et variables de sorties

Les effets des douze facteurs ont été testés sur des paramètres de croissance, d'efficacité alimentaire, physiologiques (indices morpho-anatomiques et rendement de filetage) et environnementaux ainsi que sur l'aspect et sur la qualité nutritionnelle (teneur en lipides et composition en acides gras) des produits (Tableau 13). C'est uniquement ce dernier point qui sera développé dans ce chapitre

A la fin de l'expérimentation les poissons ont été sacrifiés par choc thermique en les plongeant dans un bain de glace fondante additionnée d'un anesthésiant (phenoxy ethanol à la concentration de 2 ml/l).

Tableau 13 : Variables de sortie mesurées dans les expériences 1 et 2 et mode de mesure ou de calcul

Variables de sorties	Mode de mesure ou de calcul
Poids final	Pesée
Taux de croissance relatif (TCR)	TCR (%)=100.(Poids final-Poids initial)/Poids initial
Taux de croissance spécifique (TCS)	TCS (%)=100.(ln(poids final)–ln(poids initial))/nombre de jours d'expérimentation
Efficacité alimentaire EA	EA =(Biomasse finale–Biomasse initiale+poids morts)/ quantité totale d'aliment distribué
Indice hépatosomatique (IHS)	(IHS) (%)= poids du foie/poids final éviscéré x100
Indice viscéro somatique (IVS)	(IVS) (%)=poids des viscères/poids final éviscéré x100
Indice gonado somatique (IGS)	(IGS) (%)=poids des gonades/poids final éviscéré x100
Indice de gras (Igras)	(Igras) (%)=poids du gras/poids final x100
Teneur en lipides (%)	% de la matière fraîche
Profil en AG (% AG totaux)	% lipides totaux

Expérience 1

Les mesures individuelles ont été faites sur tous les poissons de chaque bac. Dix poissons appartenant à la classe de poids [90-130g] ont été échantillonnés (tirage aléatoire) pour l'analyse des lipides du filet. La teneur en lipides totaux du filet a été déterminée en dupliqua à partir d'un pool de dix poissons selon la méthode décrite dans la partie matériel et méthode général. Le profil en AG a été déterminé à partir des extraits de lipides totaux.

Expérience 2

Comme en expérience 1, les mesures individuelles ont été faites sur tous les poissons de chaque bac. Dix poissons par bac ont été aléatoirement choisis pour l'analyse des lipides. A la différence de l'expérience 1, l'analyse des lipides a été faite ici sur les trois tissus : filet, foie et tissu adipeux péri viscéral.

La teneur en lipides totaux des trois tissus a été déterminée en dupliqua à partir d'un pool de tissus sur les dix poissons selon la méthode décrite dans la partie matériel et méthode général. Le profil en AG a été déterminé à partir des extraits de lipides totaux.

2.2.1.6 Traitement statistique des données

Expérience 1

Les effets potentiellement influents sont déterminés par la méthode des graphiques de Daniel (Daniel, 1959) (Kobilinsky 1997; logiciel Analys). C'est la méthode des quantiles ½ normaux. En ordonnées sont placées les valeurs absolues des effets par ordre croissant. Les abscisses correspondantes sont les quantiles de la loi normale centrée réduite (fonction de répartition de la loi normale centrée réduite). Les effets potentiellement influents (=non nuls) se détachent de la droite d'alignement, ce qui permet de les repérer (Kobilinsky, 1997).

Ces effets potentiels mis en évidence sont alors analysés par analyse de variance afin de tester leur significativité avec le modèle reprenant les facteurs principaux et les interactions d'ordre 2 potentiellement influents et les effets potentiellement non influents comme résiduelle (logiciel Analys).

Expérience 2

Les paramètres de sortie ont été analysés par analyse de variance à un facteur avec 11 ddl en résiduelle (SAS Institute Inc, 1989; SAS Institute Inc, 1990). Les moyennes ont été comparées en utilisant le test de Newman-Keuls ($P < 0.05$). Les données présentées dans les résultats correspondent à la moyenne +/- l'écart type.

Les résultats d'un répliqua de la combinaison III n'ont pas été pris en considération dans l'analyse statistique à cause d'une trop grande mortalité (33 poissons morts sur 40 le même jour du fait d'un défaut d'oxygénation dans ce bac).

2.2.2 Résultats

2.2.2.1 Expérience 1

Paramètres de croissance et indices physiologiques

Au terme de l'expérimentation le poids moyen éviscéré final des poissons est de 85.4 ± 14.6g.

Le métabolisme des lipides étant lié à la croissance et à la santé du poisson, il parait intéressant de présenter dans un premier temps les facteurs ayant un effet sur les paramètres de croissance et les indices physiologiques. Le Tableau 14 présente les facteurs ayant un effet sur les principaux paramètres de croissance, les indices physiologiques et l'efficacité alimentaire :

Tableau 14: Effet des facteurs environnementaux sur la croissance et les indices physiologiques.

Pf=poids final, TCS = taux de croissance spécifique, EA = efficacité alimentaire, IHS = indice hépatosomatique, IVS = indice viscéro somatique, IGS = indice gonado somatique, Igras = indice de gras.

	Pf	**TCS**	**EA**	**IHS**	**IVS**	**IGS**	**Igras**
Moyenne	96.7	0,41	0.40	1.87	5.65	4.53	3.38
Ecart-type	14.9	0.14	0.16	0.57	1.55	4.40	1.47
CV Etr (%)	12	13	23	15	13	11	18
Température	*** 10%	*** 21%	*** 25%	** -12%	*** 18%	*** -74%	*** 32%
Nature des lipides alimentaires	** -5%	*** -9%					
Photopériode	*** 8%	*** 15%	*** 19%	* -8%	*** 15%	*** -46%	*** 23%
Température * Photopériode				*** 15%	* 5%	*** 32%	* 8%
Nature des protéines alimentaires				*** -18%			

Les étoiles indiquent le seuil de signification (*** : effet hautement significatif (p<0.001); **: effet très significatif (p<0.01); * : effet significatif (p<0.05). Les facteurs non présentés dans les tableaux ne sont pas significatifs. Les effets des différents facteurs et de leurs interactions sont calculés à partir de la moyenne (½ différence par rapport à la moyenne) et sont indiqués en %. Avec un signe positif, c'est la modalité 1 qui est supérieure à la moyenne alors qu'avec un signe négatif, c'est la modalité –1 qui est supérieure à la moyenne.

Les principaux facteurs ayant un effet sur la croissance du poisson sont, par ordre d'importance décroissante, **la température, la photopériode** puis **la nature des lipides.**

Les facteurs ayant un effet sur l'efficacité alimentaire sont uniquement **la température** et **la photopériode.** Les paramètres physiologiques sont essentiellement dépendants de **la température**, **de la photopériode et de leur interaction ainsi que la nature des lipides pour l'indice hépatosomatique.**

Ces résultats pourront éventuellement être utilisés pour une meilleure compréhension des observations faites sur la teneur en lipides et la composition en AG des tissus.

Teneur en lipides totaux du filet

Le taux moyen de lipides totaux dans le filet est de 1.4% ± 0.2. Le taux maximal ne dépassant pas 2%. **Parmi les douze facteurs testés seuls deux ont un effet sur la teneur en lipides totaux du filet: la nature des lipides alimentaires puis la température de l'eau** (Tableau 15). Ils expliquent 37% de la variabilité observée, la température expliquant 17% et la nature des lipides 20%. L'interaction entre température et nature des lipides explique 6% de la variabilité. La teneur maximale en lipides est observée sur des poissons élevés dans une eau à 16°C et nourris avec un aliment à base d'huile de colza.

Tableau 15 : Effet des facteurs environnementaux sur la teneur en lipides totaux du filet.

	Teneur en lipides
Moyenne (% de poids frais)	1.41
Ecart type	0.2
CV Etr (%)	17%
Température	* -9%
Nature des lipides alimentaires	* -9%
Température* Nature des lipides alimentaires	* -4%

Les étoiles indiquent le seuil de signification (*** : effet hautement significatif (p<0.001); **: effet très significatif (p<0.01); * : effet significatif (p<0.05). Les facteurs non présentés dans les tableaux ne sont pas significatifs. Les effets des différents facteurs et de leurs interactions (½ différence par rapport à la moyenne) sont indiqués en %. Avec un signe positif, c'est la modalité 1 qui est supérieure à la moyenne alors qu'avec un signe négatif, c'est la modalité –1 qui est supérieure à la moyenne.

Composition en acides gras des lipides totaux du filet

Le profil en AG du filet ainsi que les principaux effets des facteurs sont listés dans le Tableau 16. Les acides gras déterminés correspondent aux plus importants en termes de quantité mais aussi de fonctionnalité. La somme des AGS, AGMI et AGPI tient quant à elle compte de tous les acides gras présents.

Avec un taux moyen de 40% des acides gras totaux, **le DHA est l'acide gras majoritaire du filet**. **La nature des lipides alimentaires** a un effet sur la teneur en DHA, ce facteur explique

56% de la variabilité. Les plus faibles taux de DHA sont mesurés dans des filets de poissons ayant été nourris avec un aliment à base d'huile de colza.

Le 18:4n-3 est le premier AG synthétisé à partir de 18:3n-3 lors de la bioconversion de DHA. Cet AG est soumis à l'influence essentielle de la nature des lipides alimentaires de la même façon que le DHA.

Parmi les autres acides gras, l'acide palmitique (16:0, 16%) et l'acide oléique (18:1n-9, 9%) sont les plus abondants, les autres étant présents à des taux inférieurs à 5%. Les variations de 16:0 ne sont expliquées par aucun des facteurs testés dans cette expérimentation. La teneur en 18:1n-9 est hautement influencée par la nature des lipides alimentaires, et augmente avec l'adjonction d'huile de colza.

La teneur en 20:4n-6 est influencée par sept effets principaux et trois interactions expliquant 89% de la variabilité. La température et la nature des lipides alimentaires sont les facteurs les plus influents mais l'effet température varie selon le mode de distribution de la ration, le nombre de jours d'alimentation par semaine et le pourcentage d'astaxanthine de l'aliment.

De la même façon, la teneur en 18:3n-3 est soumise à un grand nombre d'effets: mode de distribution de la ration, taux de rationnement, teneur en lipides de l'aliment et trois interactions expliquent 93% de la variabilité. L'effet température intervient indirectement en modifiant 2 des effets principaux (mode distribution et teneur en lipides de l'aliment) ainsi qu'avec la nature des lipides de l'aliment.

Excepté pour 16:0 et 18:3n-3, la nature des lipides alimentaires est le facteur d'influence prépondérant sur tous les AG. L'ajout d'huile de colza dans l'aliment augmente significativement les teneurs en 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6 et 20:4n-6 et diminue celles de 14:0, 16:1n-7, 18:4n-3, 20:1n-9, EPA et DHA. Cet effet n'agit en interaction qu'avec la température et pour les 2 seuls AG 16:1n-7 et 20:5n-3 (EPA).

La somme des AGPI représente la moitié des acides gras totaux du filet avec 46% d'AGPIn-3 et 4% d'AGPIn-6. L'effet nature des lipides est prépondérant. Le taux de rationnement a un effet significatif sur la teneur en AGPI et AGPIn-3 alors que la teneur en AGPIn-6 est aussi influencée par la nature des protéines, la température, la densité finale attendue, l'hétérogénéité initiale de poids ainsi que par les interactions de facteurs: température*nombre de jours d'alimentation, température*taux de rationnement et température*hétérogénéité initiale de poids. L'adjonction d'huile de colza dans l'aliment augmente significativement le taux d'AGPIn-6 et diminue celui des AGPIn-3. Une faible densité finale augmente significativement les AGPIn-6.

La somme des AGS représente 1/3 des acides gras totaux et n'est influencée que par la nature des lipides alimentaires. Par contre, la somme des AGMI, représentant 16% des acides gras totaux, n'est sous l'influence d'aucun des facteurs testés ni de leurs interactions.

Tableau 16 : Effet des facteurs environnementaux a) sur les principaux AG du filet et b)sur la somme des acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI), polyinsaturés (AGPI) totaux et de la famille des n-3 (AGPIn-3) et des n-6 (AGPIn-6)

a) Principaux AG

	16:0	**16:1 n-7**	**18:0**	**18:1 n-9**	**18:2 n-6**	**18:3 n-3**	**18:4 n-3**	**20:1 n-9**	**20:4 n-6**	**EPA**	**DHA**
Moyenne (% des AG totaux)	16.4	4.0	3.4	8.8	2.2	3.3	0.4	2.5	2.2	2.1	40.5
Ecart type	2.1	0.9	0.2	1.8	0.7	1.2	0.1	0.3	0.4	0.4	4.7
CV Etr (%)	4	12	18	9	7	12	13	8	8	4	6
Température							**		***	**	
							9%		8%	3%	
Photoperiode									**		
									-5%		
Densité finale attendee											*
											3%
Hétérogénéité de poids initial									*		
									-5%		
Nombre de jours d'alimentation									**		
									5%		
Teneur en lipides alimentaires						**			*		
						8%			4%		
Nature des lipides alimentaires		***	*	***	***		***	***	**	***	***
		-17%	9%	14%	29%		-21%	-9%	9%	-15%	-9%
Nature des protéines alimentaires									**		
									-6%		
Mode de distribution de la ration						***					
						-15%					
Taux de rationnement						***					*
						15%					4%
Température* Nature des lipides alimentaires		*								*	
		-5%								-2%	
Température* Nature des protéines alimentaires						***					
						-11%					
Température* Mode de distribution de la ration						*			**		
						10%			-5%		
Température* % lipides alimentaires						***					
						-12%					
Température* Nombre de jours d'alimentation									**		
									7%		
Température* % astaxanthine									*		
									5%		

b) Somme des AG

	AGS	AGMI	AGPI	AGPIn-3	AGPIn-6	n-3/n-6
Moyenne (% des AG totaux)	33.2	16.4	50.6	46.1	4.4	10.9
Ecart type	3.8	1.7	4.3	4.5	0.9	2.5
CV Etr (%)	3.5	8.3	4.8	4.7	4.8	9.3
Température					** 4%	
Nature des lipids alimentaires	*** 3%		*** 5%	*** -7%	*** 22%	*** -23%
Nature des proteines Alimentaires					*** -6%	
Densité finale attendue			* 3%		** -4%	* 5%
Hétérogénéité de poids initial					** -4%	
Taux de rationnement			** 3%	* 4%		
Température*nombre de jours d'alimentation					*** 6%	* -4%
Température*taux de rationnement					* 3%	
Température* Hétérogénéité de poids initial					* 3%	

Les étoiles indiquent le seuil de signification (*** : effet hautement significatif (p<0.001); **: effet très significatif (p<0.01); * : effet significatif (p<0.05). Les facteurs non présentés dans les tableaux ne sont pas significatifs. Les effets des différents facteurs et de leurs interactions (1/2 différence par rapport à la moyenne) sont indiqués sous les étoiles. Avec un signe positif, c'est la modalité 1 qui est supérieure à la moyenne alors qu'avec un signe négatif, c'est la modalité –1 qui est supérieure à la moyenne.

2.2.2.2 Expérience 2

Teneur en lipides totaux des trois tissus

Au terme de l'expérimentation 2, le poids moyen final des poissons est de 75.6 ± 8.3g avec un poids moyen significativement inférieur pour la combinaison Hmin par rapport à la combinaison Cmax et SB.

La teneur en lipides totaux du filet n'est pas affectée par les conditions expérimentales et reste faible avec une moyenne de 1.2% ± 0.2 (Tableau 17). La teneur en lipides du foie, varie entre 4.4% et 7.8% et est significativement supérieure pour les poissons ayant été soumis à la

combinaison de facteurs SB (Tableau 17). La même tendance est retrouvée au niveau du tissu adipeux périviscéral, avec des teneurs élevées, variant entre 86.4% et 93.3%.

Tableau 17 : Paramètres de croissance (poids initial et final en gramme) et teneur en lipides totaux (% du poids frais) du filet, du foie et du tissu adipeux périviscéral en fonction de la combinaison de facteurs appliquée.

Combinaisons de facteurs	I Cmax (HP, 21%)	II Hmin (HP+HC, 17%)	III SB (HP+HC, 21%)	IV EST (HP, 17%)	CV Etr (%)	Pu(%)
			Croissance			
Poids final (g)	$80.1^{a} \pm 4.1$	$67.1^{b} \pm 5.6$	$82.8^{a} \pm 10.5$	$72.4^{ab} \pm 5.2$	8.1	78
			Teneur en lipides du tissu			
Filet	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.3 ± 0.2	17.2	19
Foie	$5.0^{b} \pm 0.2$	$4.4^{b} \pm 0.8$	$7.8^{a} \pm 1.3$	$5.1^{b} \pm 1.6$	20.4	84
Tissu adipeux	$91.4^{ab} \pm$	$88.0^{bc} \pm 1.8$	$93.3^{a} \pm 3.2$	$86.4^{c} \pm 2.8$	5	28

Les teneurs en lipides sont des moyennes ± écart type obtenues à partir de quatre pools de dix poissons chacun. Les valeurs dans une même ligne avec des lettres différentes en exposant sont significativement différentes (P<0,05%).
Cmax = croissance maximale; Hmin = hétérogénéité du poids minimale; SB = rapport signal/bruit maximal; EST = combinaison estimée à partir des effets des facteurs;
HP = huile de poisson; HC = huile de colza; 21% ou 18% = teneur en lipides de l'aliment.
CVetr : coefficient de variation de la l'écart type résiduel, Pu : puissance du test statistique

Composition en acides gras des lipides totaux des trois tissus

Filet (Tableau 18)

Le DHA est l'acide gras prédominant dans le filet. Il est présent à des taux allant de 34,5% à 43,5% en fonction du traitement, la teneur en DHA étant significativement inférieure dans le filet des poissons soumis à la combinaison SB.

Les autres acides gras abondants dans le filet sont 16:0, 18:1n-9 et 18:2n-6. La teneur en 16:0 est significativement supérieure pour les poissons nourris avec la combinaison EST et inférieure pour ceux nourris avec la combinaison SB. Les taux en 18:1n-9, 18:2n-6, AGPIn-6 et 18:3n-3 sont significativement différents selon chaque traitement avec des teneurs les plus faibles pour les combinaisons Cmax et EST, c'est-à-dire pour les combinaisons dont l'origine des lipides de l'aliment est uniquement de poisson. Les teneurs en AGS, 16:1n-7, 20:4n-6, 18:4n-3, EPA, AGPIn-3 et le rapport n-3/n-6 sont significativement plus élevées pour ces mêmes combinaisons.

Ces résultats confirment la prédominance de l'effet nature des lipides constaté dans l'expérience 1.

Foie (Tableau 19)

Le DHA (de 16,2% à 29,4%), le 16.0 (de 15,4% à 19,3%), le 18:1n-9 (de 15,3% à 31,5%) et le 18:2n-6 (de 4,4% à 16,1%) sont les acides gras les plus représentés dans le foie. Les combinaisons ont un effet sur la composition en AG: les teneurs en AGS, 16:1n-7, 20:1n-9, 18:4n-3, EPA, DHA, AGPIn-3 et n-3/n-6 sont supérieures chez les poissons soumis à la combinaison Cmax ou EST, et inversement, les teneurs en 18:1n-9, AGMI, 18:2n-6, AGPIn-6 et 18:3n-3 sont inférieures pour ces mêmes combinaisons. Le foie se distingue du filet essentiellement par des taux de lipides et d'AGMI plus élevés et par des taux d'AGPIn-3 (dont DHA) très inférieurs. Les effets traitement sont très proches, confirmant également la prédominance de l'effet nature des lipides alimentaires.

Tissu adipeux périviscéral (Tableau 20)

Les acides gras les plus représentés dans le tissu adipeux périviscéral et les effets du traitement sont les mêmes que ceux retrouvés dans le filet et le foie, cependant, les teneurs en DHA du tissu sont inférieures et similaires à celles de l'aliment.

Quelle que soit la combinaison testée (Figure 25), le filet est riche en AGPI et plus spécialement en AGPIn-3 du fait des teneurs élevées en DHA. Le tissu adipeux périviscéral est quant à lui particulièrement riche en 18:1n-9 et 18:2n-6. Les teneurs mesurées dans le foie se situent entre celles du filet et celles du tissu adipeux.

Le foie semble avoir une composition en AG intermédiaire. Les teneurs en AGS, AGMI et AGPI sont proches, quelle que soit la combinaison testée.

La nature des aliments (huile poisson ou huile végétale) est reflétée dans le profil en AG des différents tissus:

-pour la combinaison Hmin et SB (huile végétale), les profils en AG du tissu adipeux et de l'aliment se superposent parfaitement (Figure 22)

- pour la combinaison Cmax et EST (huile de poisson), c'est le profil en AG du foie qui ressemble plus à celui de l'aliment. Les teneurs en AGPI et AGPIn-3 des tissus sont nettement supérieures à celles de l'aliment (Figure 22).

Tableau 18 : Composition en acides gras (% acides gras totaux) du filet en fonction de la combinaison de facteurs testée.

Combinaison des facteurs	I Cmax (HP, 21%)	II Hmin (HP+HC, 17%)	III SB (HP+HC, 21%)	IV EST (HP, 17%)	CV Etr %	Puissance %
Teneur en lipides (% poids frais)	$1.2^{a} \pm 0.2$	$1.1^{a} \pm 0.2$	$1.1^{a} \pm 0.2$	$1.3^{a} \pm 0.2$	17	19
AG						
16:0	$\mathbf{16.4^{b} \pm 0.3}$	$\mathbf{16.2^{b} \pm 0.9}$	$\mathbf{14.9^{c} \pm 0.1}$	$\mathbf{17.8^{a} \pm 0.8}$	4	95
18:0	$4.2^{a} \pm 1.2$	$3.7^{a} \pm 0.2$	$3.2^{a} \pm 0.0$	$3.9^{a} \pm 0.5$	18	25
Somme des AGS	$23.4^{b} \pm 0.7$	$21.6^{c} \pm 1.0$	$20.2^{c} \pm 1.0$	$25.2^{a} \pm 0.9$	4	99
16:1n-7	$4.5^{b} \pm 0.8$	$2.9^{c} \pm 0.5$	$3.5^{c} \pm 0.2$	$5.7^{a} \pm 0.3$	12	98
18:1n-9	$\mathbf{12.9^{c} \pm 1.8}$	$\mathbf{17.5^{b} \pm 1.2}$	$\mathbf{21.9^{a} \pm 1.3}$	$\mathbf{10.2^{d} \pm 0.5}$	9	99
20:1n-9	$2.2^{b} \pm 0.3$	$1.8^{c} \pm 0.0$	$1.9^{bc} \pm 0.0$	$2.7^{a} \pm 0.1$	8	97
Somme AGMI	$19.7^{bc} \pm 2.9$	$22.4^{b} \pm 1.5$	$25.5^{a} \pm 4.0$	$18.8^{c} \pm 0.7$	8	97
18:2n-6	$\mathbf{4.9^{c} \pm 0.6}$	$\mathbf{9.2^{b} \pm 0.4}$	$\mathbf{10.1^{a} \pm 0.4}$	$\mathbf{3.1^{d} \pm 0.2}$	7	99
20:4n-6	$1.6^{a} \pm 0.1$	$1.3^{b} \pm 0.0$	$1.1^{c} \pm 0.0$	$1.6^{a} \pm 0.1$	8	98
Somme AGPIn-6	$6.4^{c} \pm 0.5$	$10.5^{b} \pm 0.3$	$11.2^{a} \pm 0.5$	$4.7^{d} \pm 0.1$	5	99
18:3n-3	$1.6^{c} \pm 0.3$	$2.7^{b} \pm 0.2$	$3.5^{a} \pm 0.4$	$0.8^{d} \pm 0.0$	12	99
18:4n-3	$0.9^{b} \pm 0.2$	$0.4^{c} \pm 0.0$	$0.5^{c} \pm 0.0$	$1.2^{a} \pm 0.0$	13	99
EPA	$4.5^{b} \pm 0.1$	$2.7^{c} \pm 0.1$	$2.5^{c} \pm 0.1$	$5.1^{a} \pm 0.3$	4	99
DHA	$\mathbf{43.0^{a} \pm 3.9}$	$\mathbf{39.2^{ab} \pm 2.0}$	$\mathbf{36.4^{b} \pm 4.3}$	$\mathbf{43.5^{a} \pm 0.6}$	6	91
Somme AGPIn-3	$50.3^{a} \pm 3.4$	$45.3^{b} \pm 1.9$	$41.4^{c} \pm 1.7$	$51.2^{a} \pm 0.3$	5	97
n-3/n-6	$7.9^{b} \pm 1.1$	$4.3^{c} \pm 0.3$	$3.7^{c} \pm 0.3$	$10.8^{a} \pm 0.3$	9	99

Les valeurs correspondent à une teneur moyenne de l'acide gras ± l'écart type calculée à partir de quatre pools de dix poissons chacun. Les valeurs dans une même ligne avec des lettres en exposant différentes sont significativement différentes (P<0,05%). Cmax = croissance maximale; Hmin = hétérogénéité du poids minimale; SB = rapport Signal/bruit maximal; EST = combinaison estimée à partir des effets des facteurs. HP = huile de poisson; HC = huile de colza; 21% ou 18% = teneur en lipides de l'aliment.
CV Etr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

Tableau 19 : Composition en acides gras (% acides gras totaux) du foie en fonction de la combinaison de facteurs testée.

Combinaison des facteurs	I Cmax (HP, 21%)	II Hmin (HP+HC, 17%)	III SB (HP+HC, 21%)	IV EST (HP, 17%)	CV Etr %	Puissance %
Teneur en lipides (% poids frais)	5.0^{b} ± 0.2	4.4^{b} ± 0.8	7.8^{a} ± 1.3	5.1^{b} ± 1.6	20	84
AG						
16:0	**19.3^{a} ±0.9**	**16.7^{ab} ±1.8**	**15.4^{b} ± 1.0**	**18.8^{a} ± 1.6**	8	80
18:0	2.8^{a} ± 0.3	3.0^{a} ± 0.8	1.8^{b} ± 0.3	2.2^{ab} ± 0.4	21	70
Somme des AGS	27.9^{a} ±1.0	22.7^{b} ± 2.2	20.1^{c} ± 0.9	27.4^{a} ± 1.7	7	98
16:1n-7	8.5^{b} ± 0.8	4.8^{c} ± 1.1	5.7^{c} ± 1.1	10.9^{a} ± 0.8	14	99
18:1n-9	**17.7^{c} ± 0.8**	**27.8^{b} ± 1.7**	**31.5^{a} ± 2.7**	**15.3^{c} ± 0.7**	8	99
20:1n-9	2.2^{b} ± 0.2	1.7^{c} ± 0.2	1.6^{c} ± 0.1	3.0^{a} ± 0.4	13	99
Somme AGMI	28.4^{c} ± 1.4	34.4^{b} ± 2.5	38.8^{a} ± 3.8	30.0^{bc} ± 2.5	9	92
18:2n-6	**7.6^{b} ± 0.3**	**14.9^{a} ± 0.8**	**16.1^{a} ± 0.7**	**4.4^{c} ± 1.3**	8	99
20:4n-6	1.6^{a} ± 0.0	1.2^{a} ± 0.3	0.7^{b} ± 0.2	1.4^{a} ± 0.3	19	92
Somme AGPIn-6	9.2^{b} ± 0.4	16.1^{a} ± 0.6	16.8^{a} ± 0.9	5.9^{c} ± 1.1	7	99
18:3n-3	2.6^{c} ± 0.1	4.8^{b} ± 0.6	6.0^{a} ± 0.3	1.3^{d} ± 0.3	11	99
18:4n-3	1.2^{a} ± 0.2	0.5^{b} ± 0.1	0.6^{b} ± 0.1	1.5^{a} ± 0.3	18	99
EPA	3.3^{a} ± 0.2	1.4^{b} ± 0.3	1.1^{b} ± 0.2	3.7^{a} ± 0.5	15	99
DHA	**26.4^{a} ± 1.8**	**19.5^{b} ± 3.7**	**16.2^{b} ± 3.1**	**29.4^{a} ± 4.1**	15	94
Somme AGPIn-3	34.2^{a} ± 1.6	26.5^{b} ± 3.5	24.1^{b} ± 3.7	36.7^{a} ± 3.6	11	94
n-3/n-6	3.7^{b} ± 0.2	1.7^{c} ± 0.2	1.4^{c} ± 0.2	6.4^{a} ± 1.5	24	99

Les valeurs correspondent à une teneur moyenne de l'acide gras ± l'écart type calculée à partir de quatre pools de dix poissons chacun. Les valeurs dans une même ligne avec des lettres différentes en exposant sont significativement différentes (P<0,05%). Cmax = croissance maximale; Hmin = hétérogénéité du poids minimale; SB = rapport Signal/bruit maximal; EST = combinaison estimée à partir des effets des facteurs. HP = huile de poisson; HC = huile de colza; 21% ou 18% = teneur en lipides de l'aliment.
CV Etr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

Tableau 20 : Composition en acides gras (% acides gras totaux) du tissu adipeux périviscéral en fonction de la combinaison de facteurs testée.

Combinaison des facteurs	I Cmax (HP, 21%)	II Hmin (HP+HC, 17%)	III SB (HP+HC,21%)	IV EST (HP, 17%)	CV Etr %	Puissance %
Teneur en lipides (% poids frais)	87.6^{a} ± 8.0	88.0^{a} ± 1.8	93.3^{a} ± 3.2	86.4^{a} ±2.8	5	31
AG						
16:0	**15.8^{b} ± 0.7**	**11.9^{c} ± 0.3**	**12.4^{c} ± 0.6**	**18.4^{a} ± 0.5**	4	99
18:0	1.3^{b} ± 0.1	1.2^{bc} ± 0.1	1.1^{c} ± 0.0	1.7^{a} ± 0.1	5	99
Somme des AGS	24.1^{b} ± 1.2	17.1^{c} ± 0.6	17.1^{c} ± 0.6	29.0^{a} ± 1.1	4	99
16:1n-7	9.5^{b} ± 0.5	5.0^{c} ± 0.3	5.3^{c} ± 0.2	11.3^{a} ± 0.1	4	99
18:1n-9	**23.5^{b} ± 0.9**	**38.6^{a} ± 0.8**	**38.8^{a} ± 0.5**	**15.5^{c} ± 1.0**	3	99
20:1n-9	3.8^{b} ± 0.1	3.4^{c} ± 0.3	2.7^{d} ± 0.2	4.7^{a} ± 0.1	5	99
Somme AGMI	36.8^{b} ± 0.7	47.0^{a} ± 0.4	47.0^{a} ± 0.5	31.8^{c} ± 1.1	2	99
18:2n-6	**9.8^{b} ± 0.6**	**17.9^{a} ± 0.4**	**17.3^{a} ± 0.5**	**6.1^{c} ± 0.4**	4	99
20:4n-6	0.7^{a} ± 0.1	0.4^{b} ± 0.0	0.4^{b} ± 0.2	0.9^{a} ± 0.1	18	98
Somme AGPIn-6	10.6^{b} ± 0.6	18.3^{a} ± 0.4	17.8^{a} ± 0.4	7.0^{c} ± 0.4	4	99
18:3n-3	3.6^{c} ± 0.2	6.5^{b} ± 0.3	6.8^{a} ± 0.1	1.8^{d} ± 0.1	4	99
18:4n-3	2.1^{b} ± 0.1	0.9^{c} ± 0.0	0.9^{c} ± 0.0	2.8^{a} ± 0.3	10	99
EPA	3.9^{b} ± 0.2	1.3^{c} ± 0.1	1.4^{c} ± 0.1	5.1^{a} ± 0.4	9	99
DHA	**18.1^{b} ± 0.2**	**8.4^{c} ± 0.7**	**8.6^{c} ± 0.9**	**21.3^{a} ± 0.6**	5	99
Somme AGPIn-3	28.3^{b} ± 0.2	17.5^{c} ± 0.7	18.0^{c} ± 0.9	32.0^{a} ± 0.5	3	99
n-3/n-6	2.7^{b} ± 0.1	1.0^{c} ± 0.1	1.0^{c} ± 0.1	4.6^{a} ± 0.3	8	99

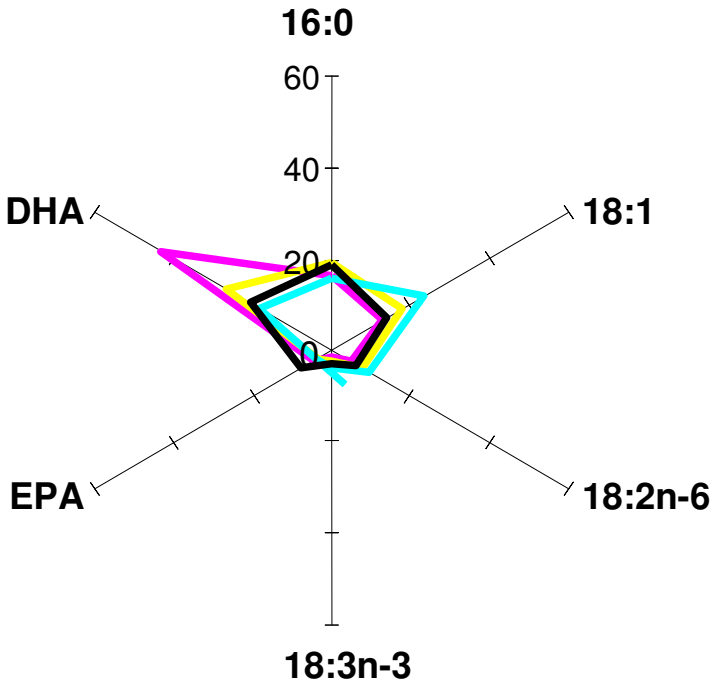
Les valeurs correspondent à une teneur moyenne de l'acide gras ± l'écart type calculée à partir de quatre pools de dix poissons chacun. Les valeurs dans une même ligne avec des lettres différentes en exposant sont significativement différentes (P<0,05%). Cmax = croissance maximale; Hmin = hétérogénéité du poids minimale; SB = rapport Signal/bruit maximal; EST = combinaison estimée à partir des effets des facteurs. HP = huile de poisson; HC = huile de colza; 21% ou 18% = teneur en lipides de l'aliment.
CV Etr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

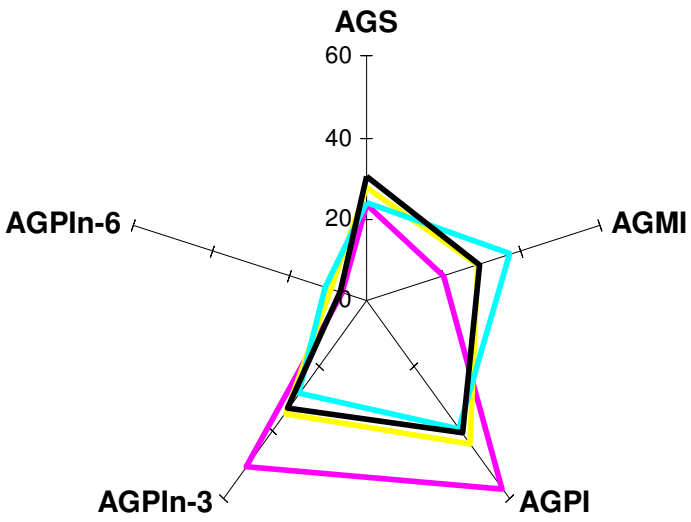
Figure 25 : Comparaison du profil en acides gras des trois tissus et de l'aliment en fonction de la combinaison testée.

Les acides gras représentés sont les plus importants en termes de quantité. La somme des AGS, AGMI et AGPIn-3, AGPIn-6 tient compte de tous les acides gras présents.

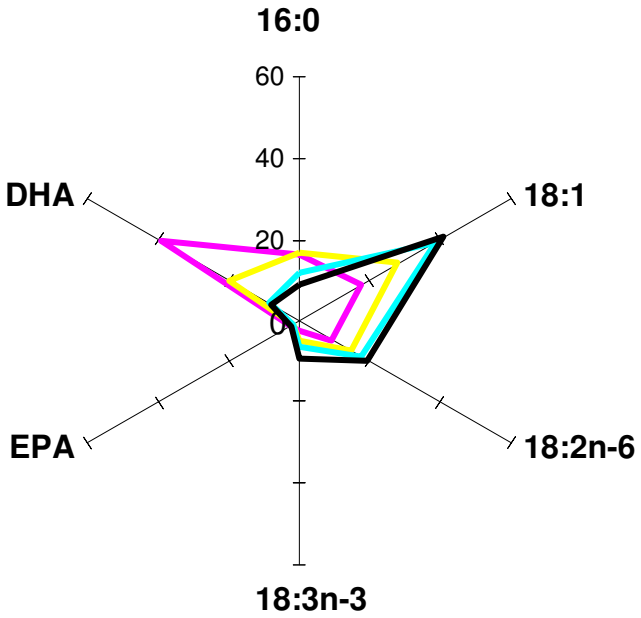
filet foie tissu adipeux aliment

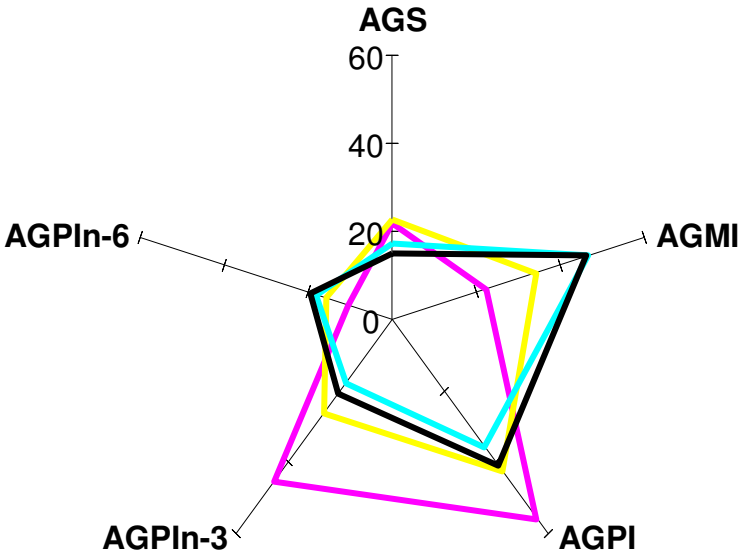
a) Combinaison Cmax



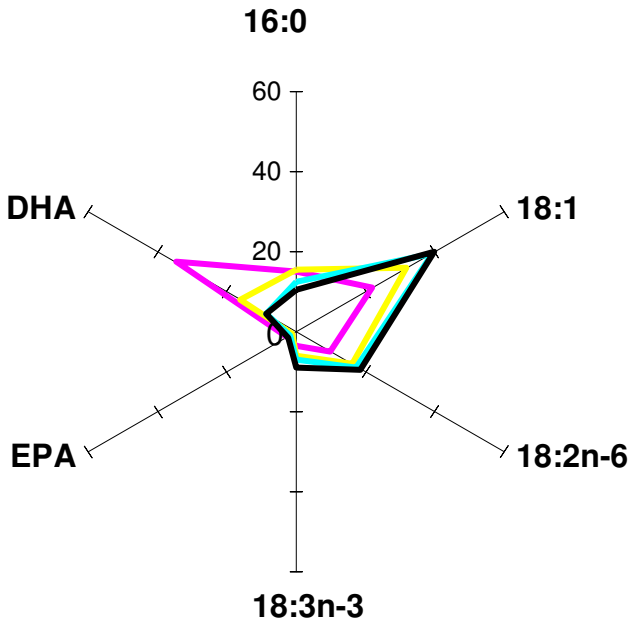


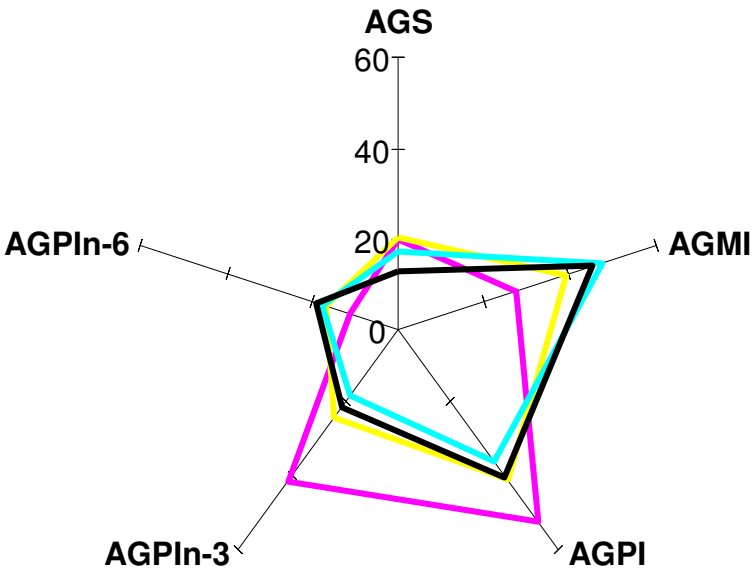
b) Combinaison Hmin



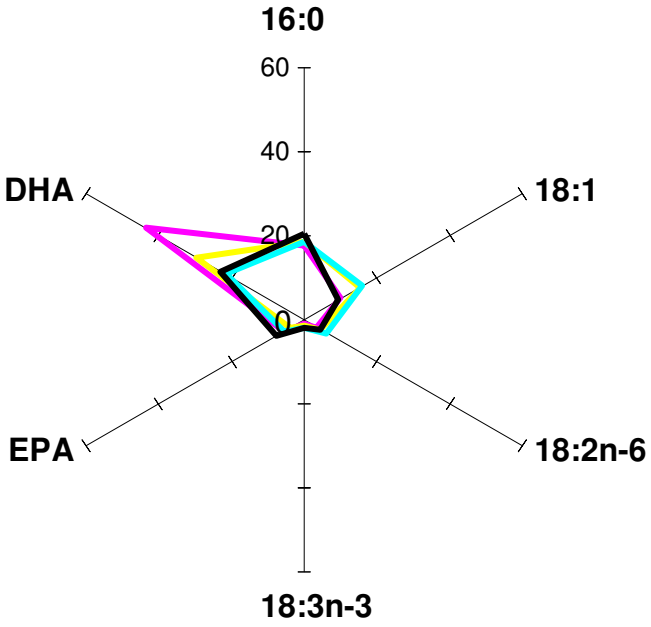


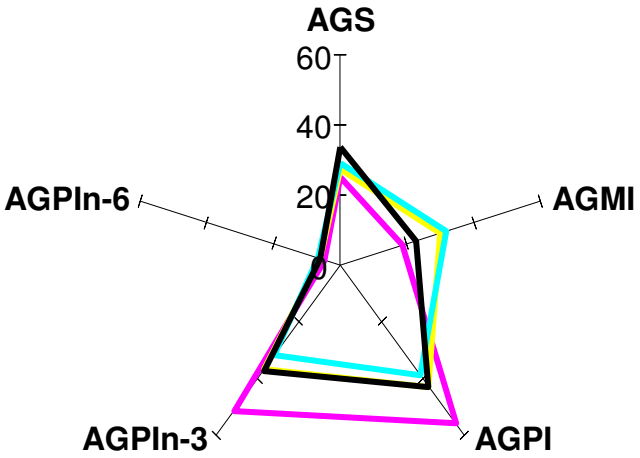
c) Combinaison SB





d) Combinaison EST





2.2.2.3 Comparaison entre expérience 1 et expérience 2

Le gain de poids moyen des poissons ainsi que la teneur en lipides du filet sont du même ordre de grandeur dans les deux expériences (Tableau 21). Dans l'expérience 1, la nature des lipides de l'aliment a un effet sur la teneur en lipides du filet. Ceci ne semble pas être le cas dans l'expérience 2. En effet, la teneur en lipides du filet est identique avec les quatre combinaisons de facteurs testées alors que la nature des lipides est différente : Cmax et EST ont des aliments à base d'huile de poisson et Hmin et SB ont des aliments à base d'huile de colza.

Les profils en acides gras des 2 expérimentations (Figure 26) se superposent pour les combinaisons Cmax et EST d'une part (Huile de poisson) et pour les combinaisons Hmin et SB d'autre part (Huile de colza). Le filet des poissons élevés avec Hmin et SB est plus riche en DHA. On retrouve dans chaque expérimentation une prédominance de l'effet nature des lipides alimentaires sur les profils en acides gras.

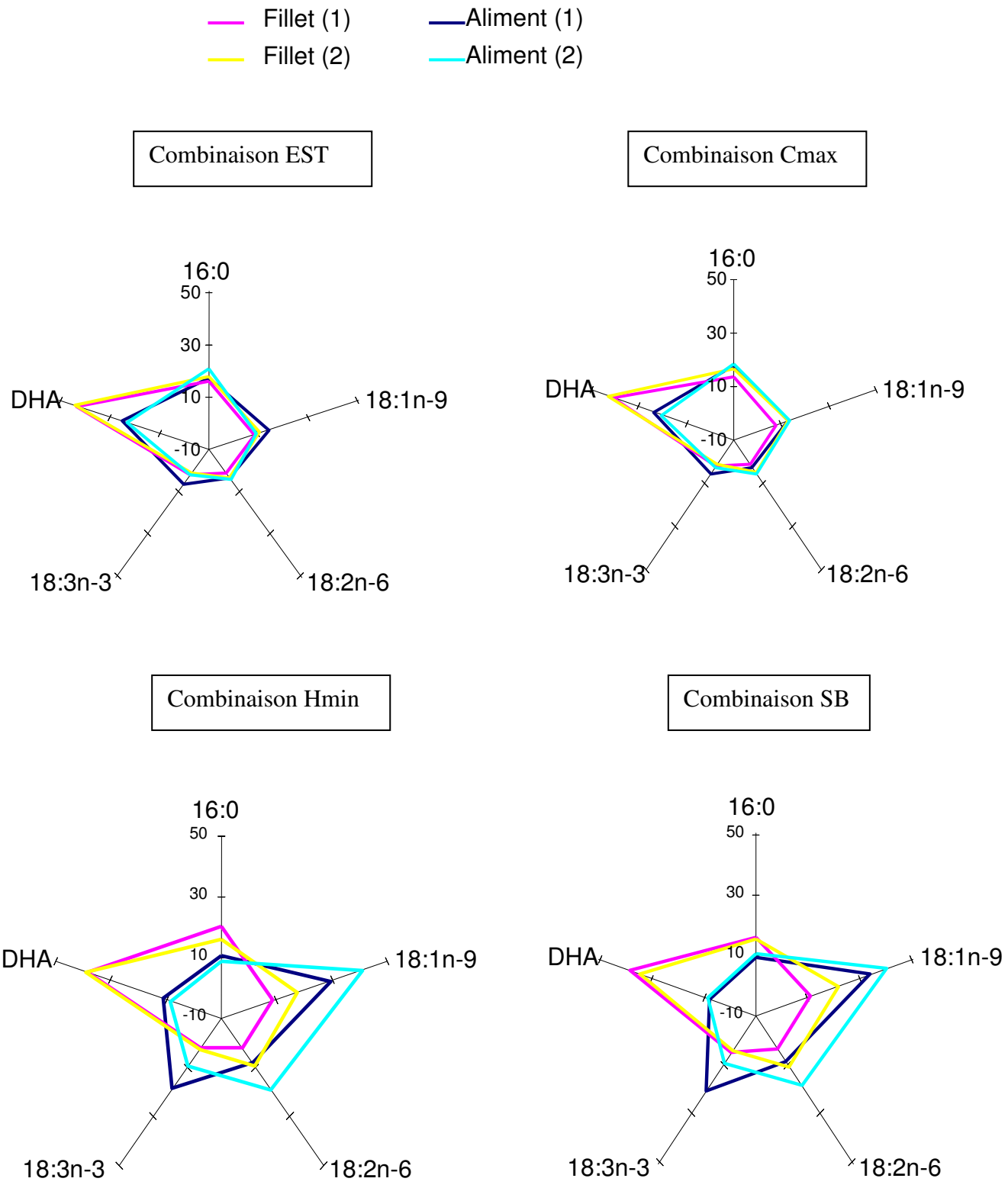
Tableau 21: Comparaison entre les données (poids initial et final, gain de poids, teneur en lipides du filet) obtenues sur les poissons élevés dans l'expérience 1 et dans l'expérience 2.

	Expérience 1	**Expérience 2**
Poids moyen initial (g)	59,4 ± 13,9	38,3 ± 11,9
Poids moyen éviscéré final (g)	85,4 ± 14,6	68,4 ± 6
Gain de poids moyen (g)	26	30
Teneur en lipides du filet (% poids frais)	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2

<u>Figure 26:</u> Superposition des profils en acides gras du filet dans l'expérience 1 et 2 (filet (1), filet (2)) en fonction de la combinaison testée.

Sur chaque graphe figure également la composition en AG des aliments utilisés dans l'expérience 1 (aliment (1)) et dans l'expérience 2 (aliment (2)).

Seuls les acides gras majoritaires sont représentés. Ils sont exprimés en % du total des AG présents.



2.3 Etude 3 : Effet de la nature des lipides alimentaires sur la composition en AGPIn-3 des tissus chez la perche.

Rappel des résultats obtenus

La composition en acides gras de la perche commune est différente en fonction du tissu et du type de lipides étudiés. Le filet est particulièrement riche en AGPI et notamment en DHA (~40%), le tissu adipeux en AGMI (~35-45%), le foie ayant une composition intermédiaire (~25-35% d'AGMI et de DHA). Les lipides polaires sont plus riches en AGPI que les lipides neutres. Un taux élevé de DHA (20 à 40%) a été retrouvé dans tous les tissus et dans les deux types de lipides. L'alimentation est le facteur principal ayant un effet sur la teneur en lipides et la composition en acides gras des tissus. Il semble y avoir un déterminisme différent selon l'acide gras: les acides gras tels que le 18:3n-3 et le 20:4n-6 ont un déterminisme complexe car ils sont soumis à l'effet de plusieurs facteurs et de leurs interactions, tandis que les acides gras tels que le DHA, l'EPA ou le 18:1n-9 ont un déterminisme plus simple et sont essentiellement conditionnés par l'effet de l'alimentation. Le profil en AG des tissus reflète celui de l'aliment. Cependant, les teneurs en AGPIn-3 tissulaires, et plus particulièrement en DHA, sont supérieures à celles retrouvées dans l'aliment, suggérant la présence d'une bioconversion des AG alimentaires en AG supérieurs.

Le but de cette dernière étude est de confirmer l'hypothèse de bioconversion de DHA *in situ* à partir d'AGPI précurseurs présents dans l'aliment en étudiant la présence et les paramètres des réactions d'élongation et de désaturation des acides gras dans les différents tissus.

Pour cela l'effet de trois aliments iso-énergétiques différant par leur composition en acides gras a été testé sur la teneur en lipides et la composition en acides gras des tissus ainsi que sur l'expression génique des enzymes impliquées dans le métabolisme des AGPIn-3. Le principe de cette étude est d'utiliser des aliments de composition différente en acides gras de manière à faire varier la teneur en DHA et en 18:3n-3 des rations et d'observer la teneur en AGPI, particulièrement en DHA, des lipides polaires et des lipides neutres des différents tissus. L'un des objectifs est de voir si la présence de DHA dans l'aliment interfère sur la composition des tissus ou bien si le faible niveau de DHA est compensé par une production de DHA endogène à partir du 18:3n-3.

2.3.1 Matériels et Méthodes

2.3.1.1 Protocole expérimental

Les poissons, provenant d'un même lot de la perciculture d'Ampont (57), ont été repartis de manière aléatoire dans dix bassins selon une distribution en cinq classes de poids (Figure 27). 9 bassins ont été utilisés durant l'expérimentation. Les poissons du dixième bassin ont été utilisés pour effectuer des mesures et des prélèvements correspondant au premier jour de l'expérience (Ji), servant ainsi de référence.

L'expérimentation a duré 3 mois. Les perches ont été élevées dans neuf unités expérimentales correspondant chacune à un bassin de 500L autonome, en circuit fermé, contenant 46 poissons. Les bassins étaient équipés de mousses filtrantes et d'une lampe à UV afin de traiter l'eau circulante, d'une pompe d'un débit 1000L.H^{-1} et d'un diffuseur d'air. La température était maintenue à 23°C et la photopériode fixée à 16/8. Le poids moyen des individus au début de l'expérience était de 108,6 ± 19,1g, **correspondant volontairement à une taille commerciale pour tester l'effet de l'aliment sur la bioconversion en fin de période de croissance, à une taille habituelle de consommation**.

Durant la période d'acclimatation plusieurs poissons ont été trouvés morts par terre sans savoir de quel bac ils provenaient. Suite à cela nous avons installé des filets sur les bacs. Cette manipulation a été source de stress pour les poissons. 5 jours plus tard nous avons débuté l'expérimentation.

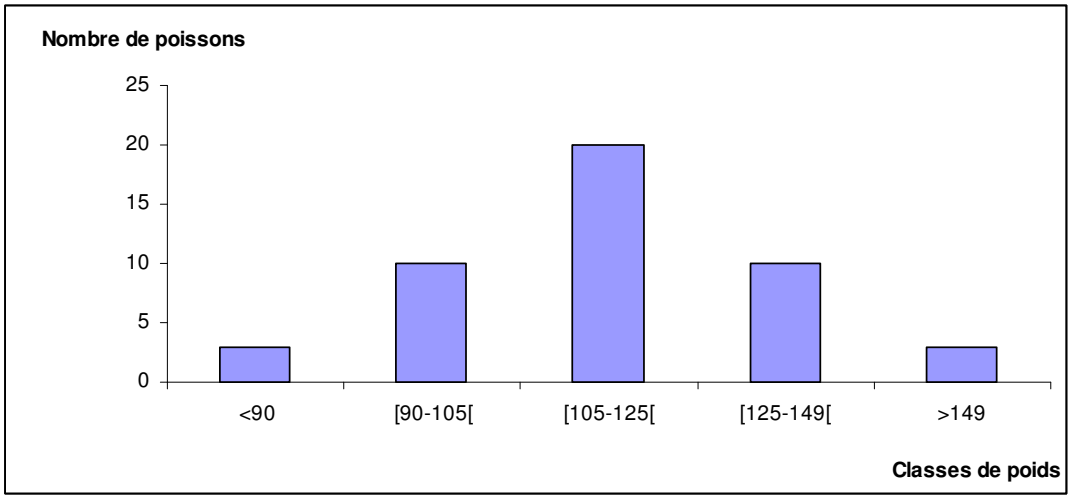


Figure 27: Distribution des poissons selon les cinq classes de poids (en gramme)

2.3.1.2 Aliments et mode de distribution des aliments

Ingrédients et teneur en lipides des aliments

Les poissons ont été nourris avec trois aliments iso énergétiques (17% de lipides), de composition en acides gras différente: à base d'huile de poisson (aliment HP), d'huile d'olive (aliment HO), ou d'huile de lin (aliment HL) (Tableau 22). Les aliments ont été formulés pour satisfaire les besoins nutritionnels du poisson et fabriqués par BioMar, Danemark. Cependant, le dosage de la teneur en lipides des aliments a révélé **qu'ils n'étaient pas iso-énergétiques puisque l'aliment à base d'huile d'olive a une teneur en lipides totaux de 15,7%, inférieure à la teneur en lipides théorique de 17%** (Tableau 23)

Tableau 22: Composition théorique des trois aliments (BioMar, Danemark).

	Huile Poisson	Huile Lin	Huile Olive
Composition (%)			
Protéines	45	45	45
Matière grasse	17	17	17
Glucides	36	36	36
Antioxidant	1	1	1
Vitamines, minéraux, acides amines	1	1	1
Matière séche	95	95	95
Composition (g)			
Pois	20	20	20
Concentré de protéines de poisson	15	15	15
Tourteau de soja	15	15	15
Tourteau de tournesol	15	15	15
Amidon de maïs	10	10	10
Amidon de blé	7,86	7,86	7,86
Lecitine	0,5	0,5	0,5
Methionine	0,3807	0,3807	0,3807
Lysine	2,1956	2,1956	2,1956
Phosphate monosodique	1,5689	1,5689	1,5689
Huile de poisson	13,8519		
Huile de lin		13,8519	
Huile d'olive			13,8519
Premix C	0,48	0,48	0,48
Premix B	0,15	0,15	0,15
Premix A	0,05	0,05	0,05
Humidité	-1,99	-1,99	-1,99
Total	100,0	100,0	100,0
Phosphore	0,85	0,85	0,85
% protéines marines	11,51	11,51	11,51
% protéines végétales	88,49	88,49	88,49

Tableau 23: Composition réelle : Teneurs en lipides totaux, neutres et polaires mesurées pour les trois aliments : HP huile de poisson, HL huile de lin, HO huile d'olive, exprimée en % de poids frais.

Aliments	**HP**	**HL**	**HO**
Teneur en lipides totaux	17,8 ± 0,0	17,4 ± 0,6	**15,7 ± 0,4**
Dont LN (%)	84	85	81
LP (%)	16	15	19

Les teneurs sont exprimées en % du poids frais et correspondent à une moyenne ± écart type calculée à partir de deux échantillons de 5g chacun.

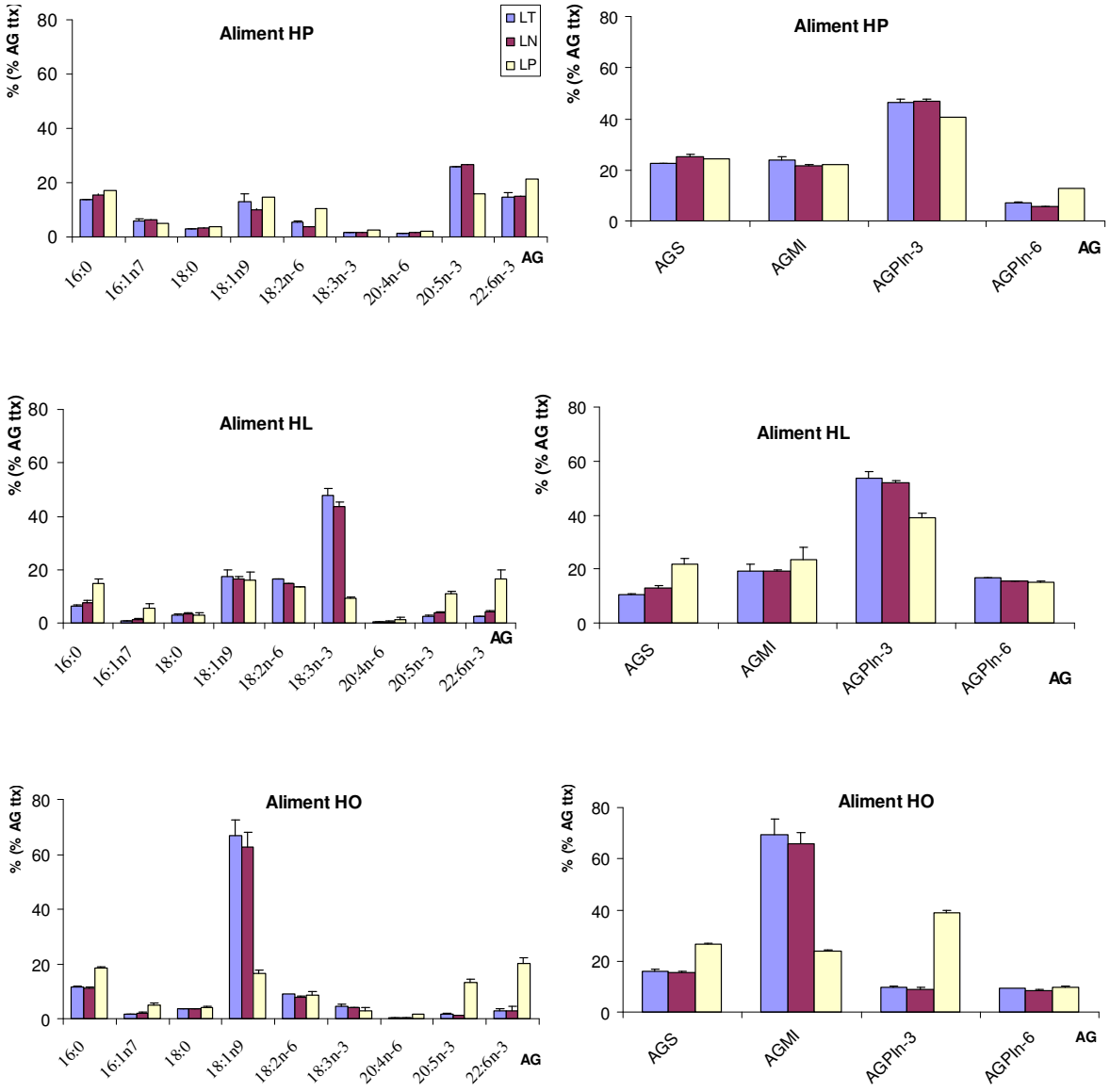
Composition en AG

Les profils en acides gras des aliments sont différents de ceux attendus (Figure 28). Initialement les aliments devaient être formulés de manière à apporter un excès de DHA avec l'huile de poisson, l'absence de DHA avec un excès de 18:3n-3 pour l'huile de lin, et l'absence d'AGPIn-3 (DHA, EPA, 18:3n-3) pour l'huile d'olive. Le but étant de voir si la variation de DHA dans l'aliment interfère sur la composition des tissus et si le faible niveau de DHA est compensé par une production de DHA endogène à partir du 18:3n-3. L'huile d'olive étant de ce point de vue un aliment contrôle.

Or les résultats observés montrent que l'aliment huile de poisson est certes le plus riche en AGPIn-3 (45% des acides gras totaux) mais avec une teneur en EPA supérieure à celle en DHA (25% des AG totaux contre15% respectivement). L'aliment huile de lin est également riche en AGPIn-3, avec une teneur élevée en 18:3n-3 (48% des acides gras totaux). Cependant cet aliment contient toute de même 2,5% de DHA et 2,7% d'EPA. L'aliment huile d'olive est le plus riche en AGMI (70% des acides gras totaux) et le plus pauvre en AGPIn-3 (9%). Il contient cependant 4,7% de 18:3n-3, 1,8% d'EPA et 3% de DHA. La présence d'AGPI peut s'expliquer par le concentré de protéines de poisson.

Figure 28: Composition en acides gras des lipides totaux (LT), neutres (LN) et polaires (LP) des trois aliments (a) HP : huile de poisson, b) HL : huile de lin, c) HO : huile d'olive.

Seuls les AG importants (quantitativement ou qualitativement) sont présentés. La somme des AG tient compte de tous les AG présents. AGS= somme des acides gras saturés, AGMI = somme des acides gras mono-insaturés, AGPI = somme des acides gras poly-insaturés, AGPIn-3= somme des acides gras poly-insaturés de la famille n-3, AGPIn-6= somme des acides gras poly-insaturés de la famille n-6.



Mode de distribution des aliments

Les poissons ont été nourris au taux de rationnement optimal (Ropt%= 3,3 x $Pm^{-0,24}$ (Mélard *et al.*, 1996) avec Pm = poids moyen) jusqu'à satiété apparente, à la main, 2 fois par jour, 6 jours sur 7.

L'attribution du type de traitement alimentaire à l'unité expérimentale a été faite de façon aléatoire (Figure 29).

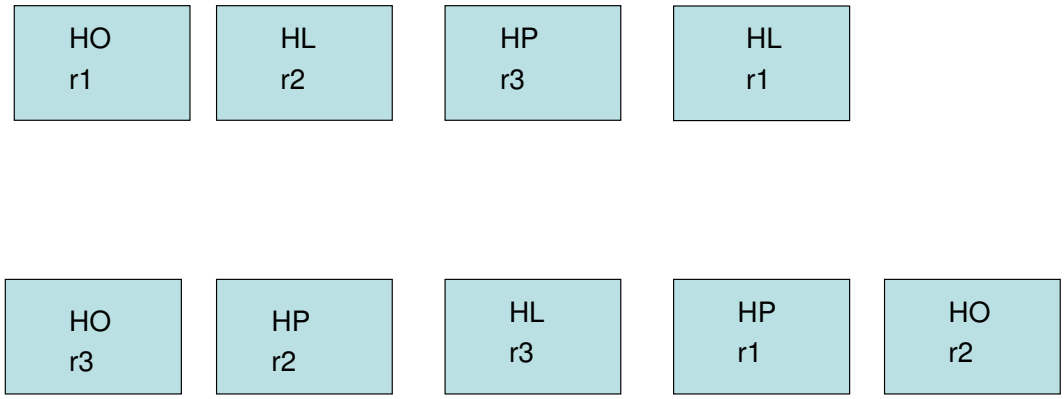


Figure 29: Disposition des bacs dans la salle d'expérimentation et attribution du traitement alimentaire

HL huile de lin, HP : huile de poisson, HO : huile d'olive.
r= répétition

2.3.1.3 Mesures et prélèvements

Des mesures de qualité d'eau (pH, oxygène, nitrites, ammonium, température) ont été effectuées 2 à 3 fois par semaine.

L'abattage initial (sur un bassin) et final (sur neufs bassins) a été effectué par choc thermique (bain de glace fondante).

Mesures morpho anatomiques

Des mesures morpho anatomiques individuelles (poids total, poids des gonades, poids des viscères, poids du foie, poids du gras périviscéral) ont été effectuées sur tous les poissons au premier jour (Ji) et au dernier jour (Jf) de l'expérimentation. Les poids moyens sont utilisés pour calculer des indices biométriques renseignant sur l'état physiologique des poissons (IHS, IVS, IGS) mais également pour calculer la fixation des acides gras. Le poids du filet a été déterminé après filetage par un professionnel, 48 heures après l'abattage sur dix poissons choisis aléatoirement dans chaque bassin.

Métabolisme lipidique

A Ji et Jf, pour chaque bassin, les dix premiers poissons mesurés ont été réservés à l'étude du métabolisme lipidique (analyse des lipides, dosage de l'expression génique des enzymes). Cinq autres poissons par bassin ont été totalement broyés afin de doser la teneur en lipides totaux, neutres et polaires et leur composition en AG.

Analyse des lipides

Les teneurs en lipides totaux (LT), neutres (LN) et polaires (LP) des trois tissus: filet, foie, tissu adipeux périviseral ont été déterminées au jour initial et final en dupliqua à partir d'un pool de dix tissus par bac selon la méthode décrite dans la partie matériel et méthode général. Le profil en AG a été déterminé à partir des extraits des trois types de lipides (LT, LN, LP).

Expression génique

Au dernier jour de l'expérimentation, le niveau d'expression du gène de la delta 6 désaturase a été estimé par RT-PCR, selon la méthode décrite dans la partie matériel et méthode général, dans le filet et le foie (l'expression du gène n'a pas été dosée dans le tissu adipeux car le protocole d'extraction ne nous permet pas d'obtenir des quantités d'ARN suffisantes).

Afin d'éviter tout problème de contamination et de dégradation lors de l'abattage, les tissus ont été prélevés avec précaution (gants, matériel stérile) sur les dix premiers poissons de chaque bassin et immédiatement plongés dans un bain d'azote liquide. Ils ont été conservés à -80°C.

L'expression de la delta 6 désaturase a été dosée par bac, en dupliqua, à partir d'un pool de trois poissons. Les résultats obtenus sont exprimés par bac, en unité arbitraire: l'expression est calculée à partir du rapport entre l'intensité du signal obtenu pour la delta 6 désaturase et l'intensité du signal obtenu pour la GAPDH, évaluée à partir d'une quantification du gel par densitométrie (logiciel Quantity One).

La quantité de tissu utilisée pour l'extraction d'ARN correspond à:

- deux pools de 3x55mg pour le filet
- deux pools de 3x15mg pour le foie

Activité enzymatique

Au dernier jour de l'expérimentation six poissons par modalités ont été réservés afin de doser l'activité du complexe enzymatique responsable de la bioconversion du 18:3n-3 en DHA. Le dosage a été effectué selon la méthode décrite dans la partie matériel et méthode général par incubation de 18:3n-3 marqué au C^{14} et dosage de la radioactivité retrouvée au niveau des AGPI EPA et DHA.

Mise en suspension d'hépatocytes.

Les foies des six poissons ont été disséqués et mis immédiatement en suspension afin d'en extraire les hépatocytes. La viabilité des cellules a été calculée et des aliquots ont été conservés à -20 °C afin de doser la teneur en protéines. Cependant du fait de difficultés de manipulation sur le spectrophotomètre, le dosage des protéines ne nous a pas permis d'obtenir des données exploitables.

Incubation des cellules au 18:3n-3 marqué.

Les suspensions hépatocytaires ont été incubées avec 0.05µCi de 18:3n-3 marqué au carbone 14.

Séparation des acides gras marqués et dosage de la radioactivité.

Après 2 heures d'incubation, les lipides totaux ont été extraits. Les acides gras ont été séparés par CCM et identifiés après migration par comparaison avec des standards sur un film photo après 7 jours de développement. La radioactivité a été évaluée en dupliqua au compteur à scintillation.

2.3.1.4 Traitement statistique des données

Afin de tester l'effet des aliments sur les paramètres de sortie : **croissance, indices morpho anatomiques, teneur en lipides totaux, neutres et polaires et composition en acides gras de ces lipides**, une analyse de variance à 1 facteur (aliment) et à trois niveaux (HP, HL, HO) a été réalisée (n=9, résiduelle à 6 ddl) *(Logiciel Statbox Grimmersoft).* Les moyennes ont été comparées en utilisant le test de Newman-Keuls ($P < 0.05$). Les données présentées dans les résultats correspondent aux moyennes +/- l'écart type.

Pour chaque variable analysée les coefficients de variation de l'écart-type résiduel (CVetr) et le pourcentage de puissance du test sont fournis (Pu%).

En ce qui concerne **l'expression de la delta 6 désaturase**, du fait de défauts de normalité des résidus, l'analyse de variance a été remplacée par le test non paramétrique de Kruskal et Wallis.

2.3.2 Résultats

2.3.2.1 Nombre de poissons

A la fin de l'expérimentation les bacs contenaient de 33 à 37 poissons, sauf pour trois bacs: une répétition de la modalité HP avait 22 poissons, une répétition de la modalité HL avait 5 poissons et une répétition de la modalité HO avait 7 poissons. Cette forte mortalité correspond à un incident technique dû à une panne de surpresseur qui a limité l'apport en oxygène des bacs durant plusieurs heures (temps non quantifié car la panne est survenue pendant la nuit). La mortalité observée suite à cette panne est supérieure dans les bacs qui s'alimentaient bien et dont les

poissons avaient besoin de plus d'oxygène. Cependant, on peut penser que tous les poissons ont subi un stress important. Cette panne est survenue en milieu d'expérimentation (au bout d'1 mois et demi) et le stress ainsi provoqué peut avoir eu un effet important sur la croissance. D'autant plus qu'en début d'expérimentation les poissons mangeaient encore peu car ils ont été stressés par leur transfert dans les bacs et par l'ajout de filets anti saut sur les bacs, ce qui ne se produit pas habituellement avec des poissons de beaucoup plus petite taille.

⇨ En conséquence les données sont traitées sur 2 répliquas au lieu de 3.

2.3.2.2 Qualité de l'eau

Les analyses d'eau réalisées tout au long de l'expérience montrent que la qualité de l'eau est préservée. Les teneurs en ammonium sont inférieures à la valeur seuil de $0.5 mg.l^{-1}$ ainsi que les nitrites. Le pH a été maintenu aux alentours de 7.4 grâce à des ajouts d'hydrogénocarbonate de sodium environ tous les 2 jours. L'oxygène est supérieur à $4 mg.l^{-1}$ qui est la valeur minimale pour la survie.

Il apparaît dans les bassins une coloration de l'eau mais qui n'affecte pas sa qualité. L'analyse de variance ne montre pas d'effets significatifs du traitement alimentaire sur la qualité de l'eau ce qui était le résultat recherché.

2.3.2.3 Taux de rationnement réel

Pour chaque bac, connaissant la quantité d'aliment distribué, le nombre de poissons et le poids moyen final, le taux de rationnement réel a été calculé considérant la relation :
Taux de rationnement = quantité d'aliment ingéré / (nombre de poissons x poids moyen).

Les taux de rationnement sont identiques dans chaque bac sauf pour les bacs 503, 508, 510 qui correspondent aux bacs contenant un plus petit nombre de poissons, ce qui justifie leur élimination (Tableau 24).

Les poissons ont mis un certain temps à s'habituer aux aliments expérimentaux car ils n'avaient pas la même texture ni la même odeur que l'aliment distribué avant l'expérimentation. De plus, les aliments expérimentaux flottaient et les poissons ont été obligés de venir à la surface pour se nourrir, ce qui n'est pas un comportement habituel.

Tableau 24: Taux de rationnement réel (%) des bacs nourris avec l'huile de poisson (HP), l'huile de lin (HL) et l'huile d'olive (HO).

Traitement	Bacs	Taux de rationnement appliqué (%)	Nombre final de poissons	Poids moyen final (g)	Quantité ingérée d'aliments (g)	Taux de rationnement réel (%)
HP	509	1	33	139	2202	**0.5**
	507	1	34	134.5	2253	**0.5**
	503	*1*	*22*	*140.1*	*2258*	***0.7***
HL	502	1	37	130.7	2576	**0.5**
	504	1	33	135.8	2129	**0.5**
	508	*1*	*5*	*124.4*	*1131*	***1.8***
HO	505	1	37	130.9	2200	**0.5**
	510	*1*	*7*	*137.7*	*1221*	***1.3***
	506	1	33	142.4	2198	**0.5**

503, 508 et 510 correspondent aux bacs contenant le plus petit nombre de poissons

2.3.2.4 Paramètres de croissance

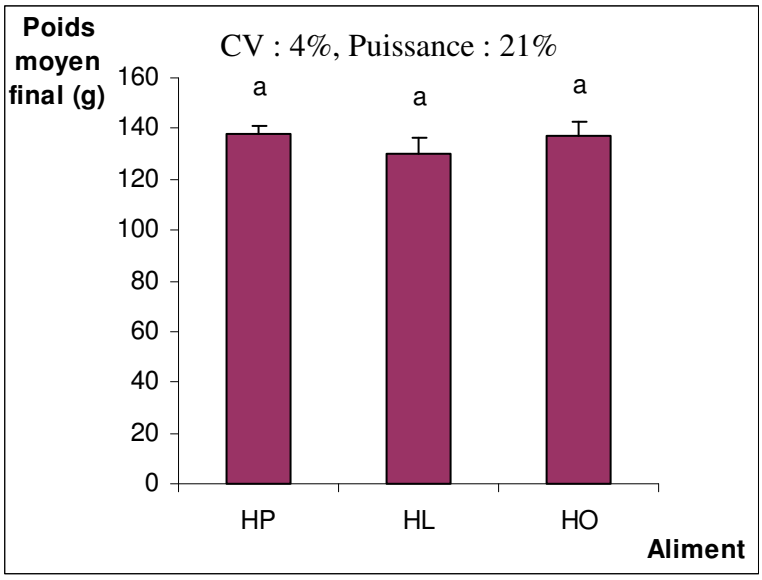
Le poids moyen final des poissons est compris entre 133g et 137g en fonction de l'aliment utilisé. **La croissance est faible, quel que soit le traitement alimentaire**. (Figure 30). Le taux de croissance spécifique des poissons est compris entre 0.25 et 0.28%. Il ne semble pas y avoir d'effet de l'aliment sur la croissance, cependant la puissance du test statistique est trop faible pour pouvoir conclure.

Figure 30: Croissance des poissons (a) poids moyen final en g; b) Taux de croissance spécifique TCS

Les données correspondent à la moyenne +/- l'écart-type des deux répliquas.

TCS (%) = (ln(poids final) – ln(poids initial)/ nombre de jours d'expérimentation) x 100) en fonction du traitement alimentaire

a) Poids moyen final



b) Taux de croissance spécifique

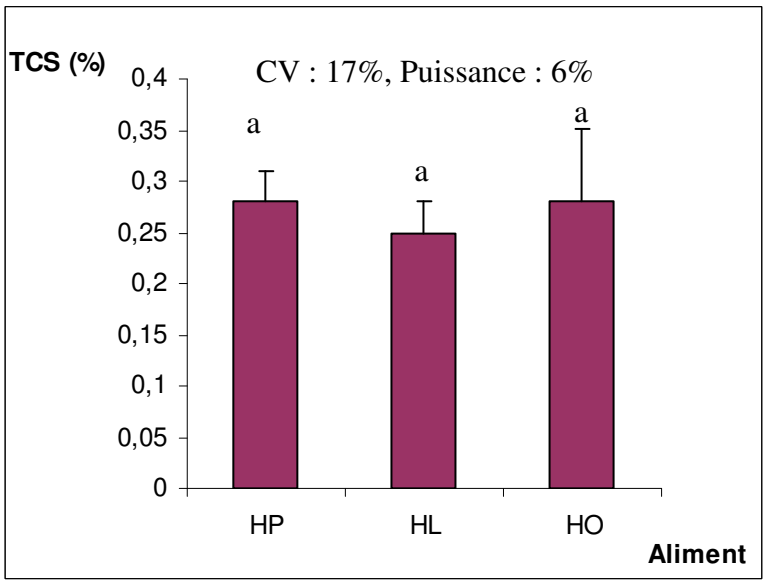


Tableau 25: Variables de sortie au jour initial (Ji) et au jour final en fonction de l'alimentation (HP : huile de poisson, HL : huile de lin HO : huile d'olive)

Poids du filet, du foie et du tissu adipeux; indices hépato somatique (IHS), gonado somatique (IGS), viscero somatique (IVS)

	Ji	HP	HL	HO	CVEtr %	Puissance %
Poids des filets (g)	45 ± 0.5	53 ± 0.1	50.2 ± 0.1	53.0 ± 2.3	5	8
Poids du foie (g)	1.5 ± 0.4	1.0 ± 0.0	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	10	14
Poids du tissu adipeux (g)	2.8 ± 1.2	4.6 ± 0.4	4.8 ± 0.4	4.4 ± 0.4	8	8
IHS (%)	1.5 ± 0.3	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	9	11
IVS (%)	2.1 ± 0.4	5.2 ± 0.2	5.5 ± 0.1	5.1 ± 0.1	3	8
IGS (%)	0.3 ± 0.3	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	19	12

Les valeurs du jour initial (poids du foie et du tissu adipeux) correspondent à la moyenne ± l'écart type des 42 poissons du bac de référence. Le poids du filet correspond à la moyenne ± l'écart type obtenue à partir de 10 poissons.
CV Etr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel, Pu: Puissance du test statistique

Les poids des tissus semblent avoir varié entre Ji et Jf : le poids du filet et du tissu adipeux périvsicéral ont augmenté et le poids du foie a diminué.

Le traitement alimentaire n'a pas d'effet significatif sur le poids des tissus ni sur les l'IHS et IGS mais la puissance du test statistique est faible (Tableau 25).

2.3.2.5 Etude de la teneur en lipides et du profil en AG

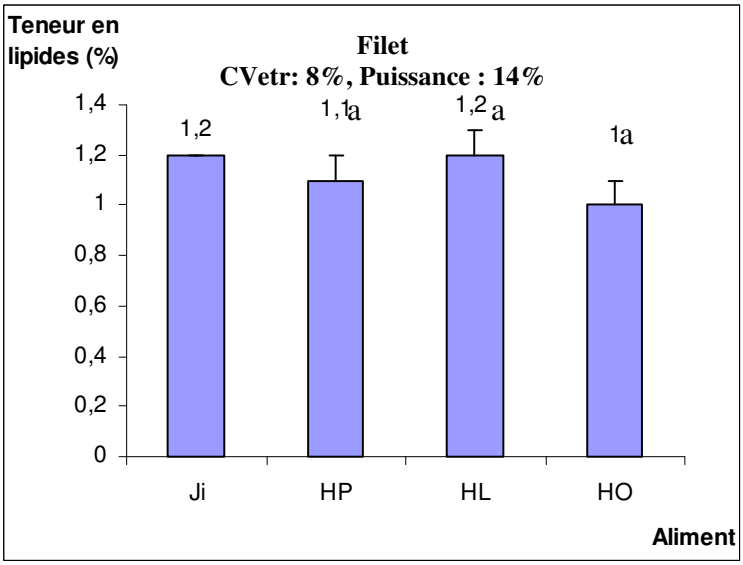
Teneur en lipides et composition en acides gras

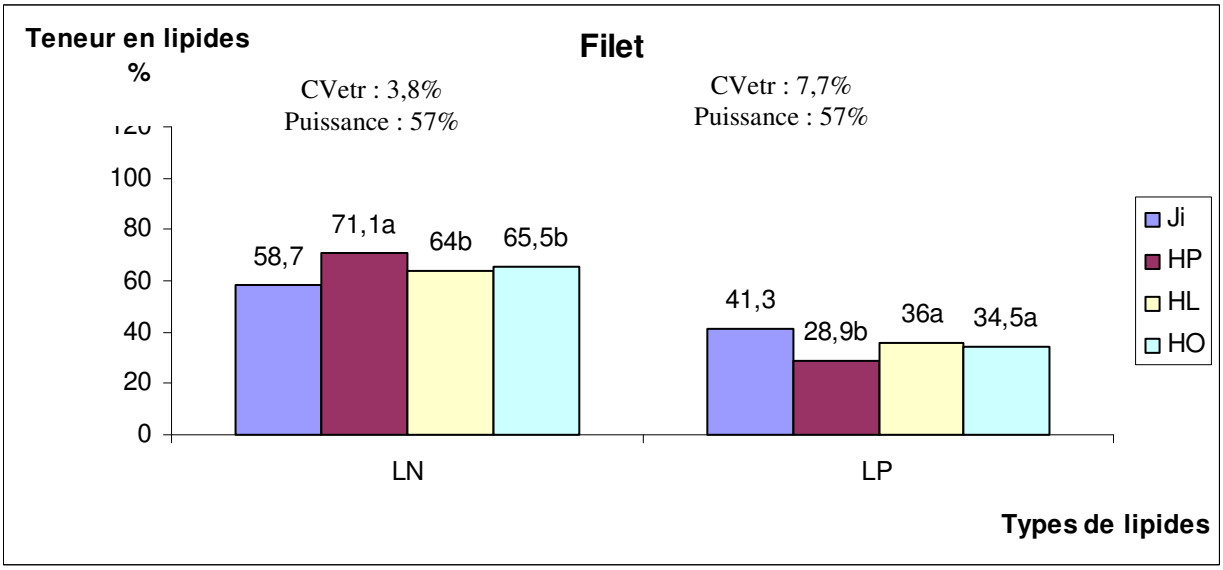
Teneur en lipides totaux, neutres et polaires des trois tissus

La teneur en lipides totaux du filet est faible (1,2%). Elle varie peu du début à la fin de l'expérimentation. Elle ne varie pas significativement en fonction du traitement alimentaire (Figure 31). La répartition entre lipides neutres et polaires (LN/LP) varie de 60/40 au début de l'expérimentation à 60/40 et 70/30 à la fin de celle ci. La part des lipides neutres est significativement supérieure dans les lipides du filet des poissons nourris avec de HP.

La teneur en lipides totaux du foie est comprise entre 4.8% et 6.9% (Figure 32). Elle semble augmenter au cours du temps. Là aussi il n'y a pas d'effet du traitement alimentaire cependant la puissance est faible. Le rapport LN/LP est identique à celui du filet. Il évolue de la même façon. La puissance du test statistique est trop faible pour pouvoir conclure sur un effet du traitement alimentaire sur la part des lipides neutres et polaires dans les lipides totaux du foie.

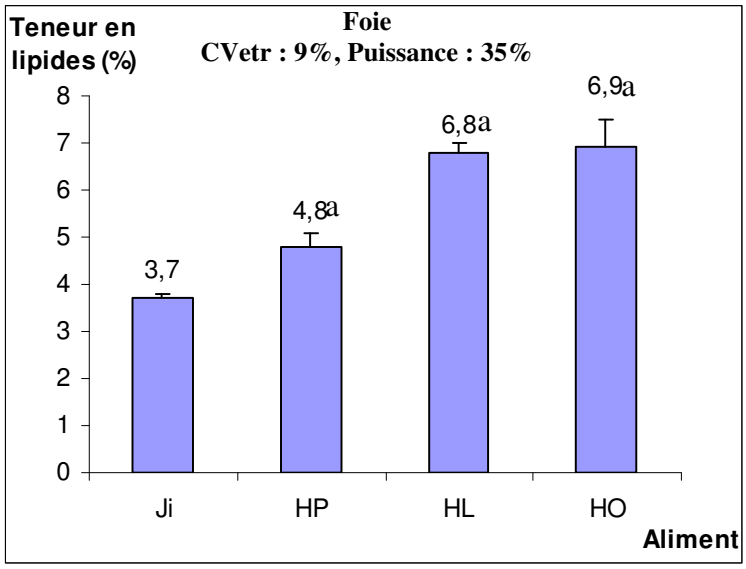
La teneur en lipides du tissu adipeux est élevée (environ 90%), elle semble augmenter avec le temps et ne varie pas en fonction du traitement alimentaire (Figure 33). Le rapport LN/LP est de l'ordre de 90/10. Il reste identique tout au long de l'expérimentation.

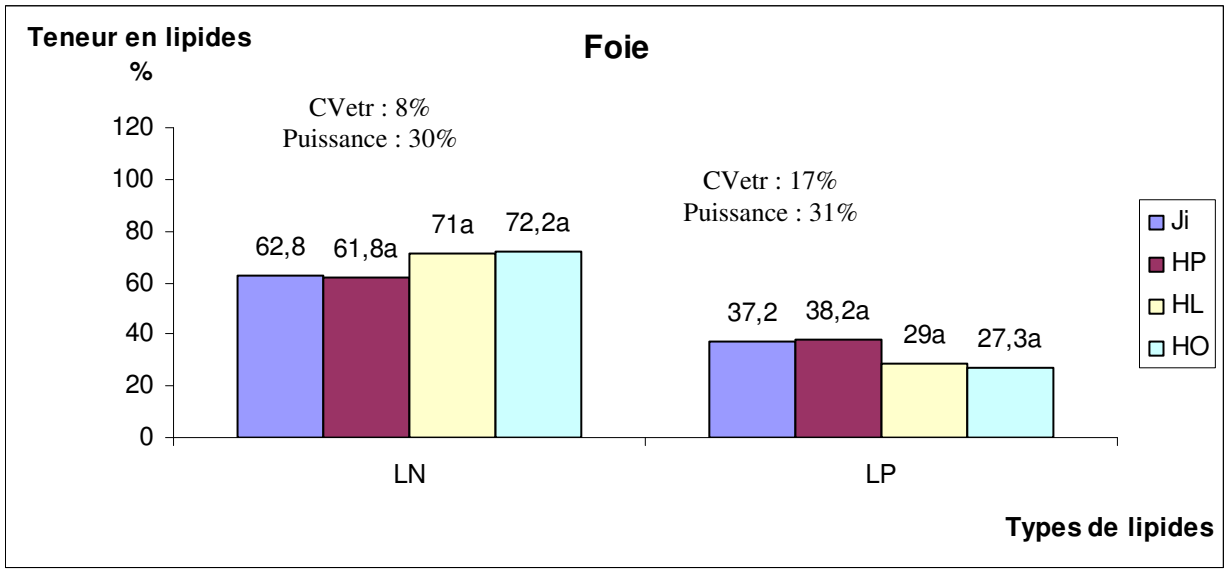




<u>Figure 31</u> : Teneur en lipides du filet (en % de poids frais) et part des lipides neutres (LN, % des lipides totaux) et polaires (LP, % des lipides totaux) au jour initial et au jour final en fonction du traitement alimentaire (HP : huile de poisson, HL : huile de lin, HO : huile d'olive)

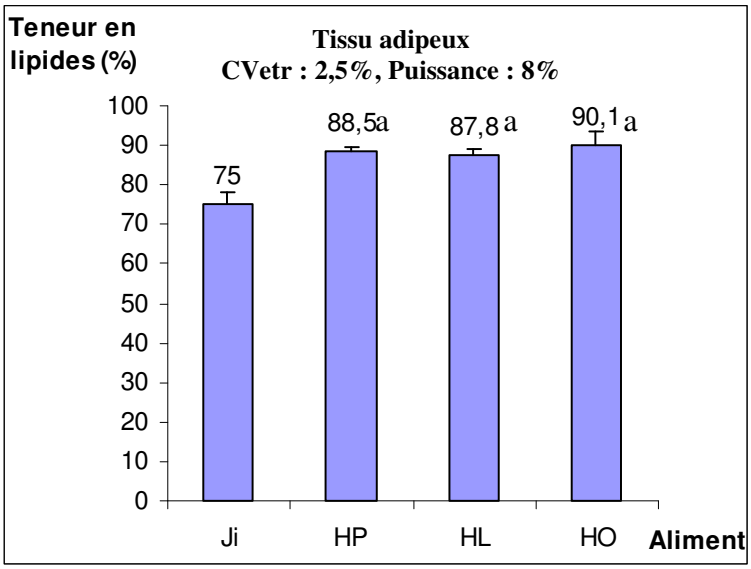
Les moyennes affectées de lettres différentes en exposant sont significativement différentes (P<0.05). CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

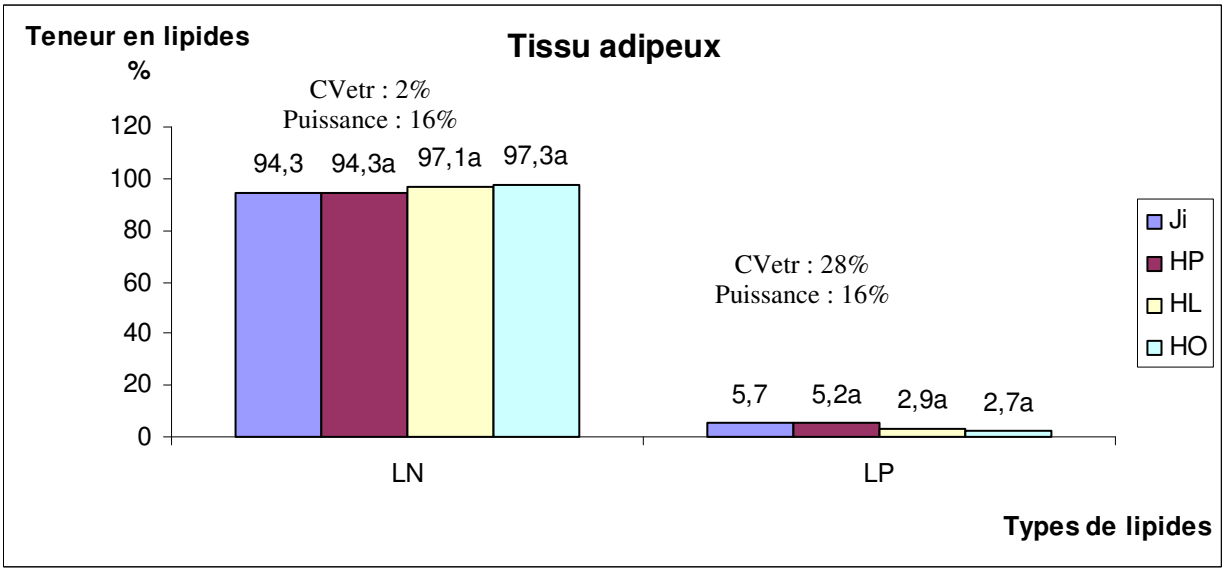




<u>Figure 32</u> : Teneur en lipides du foie (en % de poids frais) et part des lipides neutres (LN, % des lipides totaux) et polaires (LP, % des lipides totaux) au jour initial et au jour final en fonction du traitement alimentaire (HP : huile de poisson, HL : huile de lin, HO : huile d'olive)

Les moyennes affectées de lettres différentes en exposant sont significativement différentes (P<0.05). CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.





<u>Figure 33</u> : Teneur en lipides du tissu adipeux périviscéral (en % de poids frais) et part des lipides neutres (LN, % des lipides totaux) et polaires (LP, % des lipides totaux) au jour initial et au jour final en fonction du traitement alimentaire (HP : huile de poisson, HL : huile de lin, HO : huile d'olive)

Les moyennes affectées de lettres différentes en exposant sont significativement différentes (P<0.05). CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

Teneur en lipides et composition en acides gras des poissons entiers

Les poissons sont caractérisés par leur richesse en AGPn-3 quel que soit l'aliment (entre 29 et 41,2% des AG totaux) avec une teneur élevée en DHA (entre 15 et 20%) et en EPA (entre 9 et 17%) (Tableau 26)

La teneur en AGPIn-6 varie entre 12 et 16% des AG totaux avec un taux élevé en 18:2n-6 et faible en 20:4n-6.

Les AG les plus représentés (teneur > à 9%) sont le 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6, EPA, et DHA.

Les profils en AG sont différents en fonction des aliments:

Les poissons nourris avec de l'huile de poisson (HP) ont des teneurs significativement supérieures en 14:0, 16:1n-7, 18:4n-3, EPA et DHA par rapport à celles obtenues avec les deux autres aliments. Le profil en AG des poissons nourris avec HP est proche du profil en AG des poissons au jour initial.

Les poissons nourris avec de l'huile de lin (HL) ont des teneurs significativement supérieures en 18:3n-3 et 18:2n-6.

Les poissons nourris avec de l'huile d'olive (HO) ont des teneurs significativement supérieures en 18:1n-9.

La teneur en AGPIn-3 est plus élevée pour les poissons nourris avec HP et HL par rapport à ceux nourris avec HO. Par contre, il n'y a pas de différence significative entre HP et HL.

Il n'y a pas de différences significatives entre la teneur en 18:3n-3 des poissons nourris avec HP et HO, tout comme il n'y a pas de différences entre les teneurs en EPA et DHA chez les poissons nourris avec HL et HO.

La teneur en AGPIn-3 finale semble supérieure à la teneur initiale pour les animaux nourris avec HP et HL. Pour HL on a des teneurs en 18:3n-3 supérieures aux teneurs initiales, alors que pour HP tous les AGPIn-3 semblent être supérieurs. Pour les poissons nourris avec HO les teneurs en AGPIn-3 semblent plus faibles qu'initialement.

Tableau 26: Teneur en lipides totaux et composition en acides gras (% acides gras totaux) du poisson entier en fonction de l'aliment testé (Huile de poisson (HP), Huile de Lin (HL), Huile d'Olive (HO).

	Aliments					
	Ji	**HP**	**HL**	**HO**	CV Etr (%)	Puissance (%)
TENEUR EN LIPIDES	4.7 ± 0.2	6.0 ± 0.5	5.1 ± 0.5	5.9 ± 0.5	7.1	24
AG (% AG totaux)						
14:0	3.9 ± 0.0	4.1^{a} ± 0.2	2.4^{b} ± 0.1	2.5^{b} ± 0.2	7	70
16:0	13.5±0.6	11.7 ± 0.9	9.0 ± 0.9	10.1 ± 0.4	7.6	28
18:0	1.4 ± 0.0	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	7.5	13
Total AGS	19.7 ± 0.7	18.0 ± 1.4	13.4 ± 1.1	14.4 ± 0.2	6.8	40
16:1n-7	9.2 ± 0.0	9.0^{a} ± 0.3	6.0^{b} ± 0.4	7.0^{b} ± 0.5	5.7	60
18:1n-9	18.2 ± 0.5	16.2^{b} ± 0.8	18.3^{b} ± 0.1	33.3^{a} ± 1.4	4.1	92
Total AGMI	31.6 ± 0.5	29.9 ± 1.0	27.1 ± 0.8	43.4 ± 0.9	2.8	91
18:2n-6	9.5 ± 0.0	10.1c ± 0.3	14.8^{a} ± 0.2	11.8^{b} ± 0.3	2.2	90
20:4n-6	1.1 ± 0.0	1.3 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0	3.8	85
Total AGPIn-6	10.9 ± 0.0	11.8 ± 0.3	16.0 ± 0.2	13.0 ± 0.3	2.1	86
18:3n-3	1.9 ± 0.0	2.2^{b} ± 0.4	17.3^{a} ± 1.1	3.8^{b} ± 0.2	8.6	94
18:4n-3	1.3 ± 0.0	1.3^{a} ± 0.0	1.0^{b} ± 0.1	0.8^{b} ± 0.1	4.8	73
20:5n-3	13.1 ± 0.3	16.7^{a} ± 0.3	9.3^{b} ± 0.6	9.3^{b} ± 0.7	4.6	87
22:6n-3	20.6 ± 0.1	20.3^{a} ± 0.0	14.9^{b} ± 0.0	14.7^{b} ±0.2	0.6	99
Total AGPIn-3	37.5 ± 1.2	41.2^{a} ± 0.1	43.4^{a} ± 1.7	29.2^{b} ±0.7	2.9	84

Les valeurs correspondent aux teneurs moyennes de l'acide gras ± l'écart type (calculées à partir de deux pools de 10 poissons chacun). Les valeurs dans une même ligne avec des lettres en exposant différentes sont significativement différentes (P<0,05%). Ji: jour initial
CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.

Profils en AG des lipides totaux, neutres et polaires des trois tissus

On retrouve au niveau de chaque tissu les mêmes tendances que celles observées chez les poissons entiers, avec des profils différents en fonction de l'aliment ingéré. Cependant on note quelques différences spécifiques à chaque tissu, ainsi qu'à chaque type de lipides :

➔**Filet** (Tableau 27)

Lipides totaux

Le filet est caractérisé par une forte teneur en AGPIn-3 (entre 47 et 55% des AG totaux), une teneur moyenne en AGS et AGMI proche de 20% et une faible teneur en AGPIn-6 (inférieure à 12%). Les AG majoritairement présents dans le filet sont le 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6, EPA et DHA. Les autres sont présents à des taux inférieurs à 5%.

AGPIn-3 :

Le **DHA** est l'AG majoritaire du filet, quel que soit le traitement alimentaire. Ses teneurs varient entre 31 et 36%. La teneur en DHA est significativement inférieure avec HL par rapport à HP. Par contre il n'y a pas de différence significative entre les taux de DHA des poissons nourris avec HP et HO, ni entre HL et HO. L'effet est inversé pour le **18:3n-3** qui est présent en plus grande proportion (8,4%) pour les poissons nourris avec HL. La teneur en **EPA,** supérieure à 10%, est élevée. Elle est identique pour HL et HO et supérieure pour HP.

A noter que l'AG **18:4n-3** est présent à des teneurs faibles comprises entre 0,4 et 0,6 avec un minimum pour HO.

L'aliment a un effet sur la composition en AG du filet :

Les filets des poissons nourris avec l'huile de poisson ont des teneurs significativement minimales en 18:1n-9, AGMI, 18:2n-6, AGPIn-6, et 18:3n-3. A l'inverse ils ont des teneurs en AGPIn-3 maximales (EPA, DHA).

Les filets des poissons nourris avec l'huile de lin sont caractérisés par une très forte teneur en 18:3n-3. La teneur en AGPIn-6, majoritairement représentés par le 18:2n-6, est maximale. La teneur en 18:1n-9 est moyenne (supérieure à celle observée avec l'huile de poisson et inférieure à celle observée avec l'huile d'olive)

Les filets des poissons nourris avec l'huile d'olive sont caractérisés par une forte teneur en AGMI, représentée par le 18:1n-9, dont le taux est significativement supérieur aux 2 autres traitements.

Lipides neutres et polaires

Le profil en acides gras des lipides neutres est proche de celui des lipides totaux et peu différent de celui des lipides polaires, à part pour 18:3n-3 et DHA. Par rapport aux lipides polaires, les lipides neutres sont plus riches en AGMI majoritairement représentés par le 18:1n-9. Ils sont également moins riches en AGPI de la famille n-3.

Les effets traitements observés sur les lipides totaux se retrouvent globalement au niveau des lipides neutres, les lipides polaires étant plus stables (AGS, AGMI). Par exemple, l'huile d'olive augmente significativement la teneur en 18:1n-9 pour les lipides totaux et les lipides neutres alors qu'elle n'a pas d'effet sur les lipides polaires.

Les effets traitements observés sur les lipides totaux et neutres sont différents de ceux observés sur les lipides polaires pour le DHA. Sa teneur est toujours inférieure pour HL, par contre elle est maximale pour HO dans les lipides polaires et maximale pour HP dans les lipides neutres.

Comparaison teneurs en AGPIn-3 initiales et finales

Il y a des différences entre le profil en AGPIn-3 des poissons au jour initial et au jour final, suivant l'aliment distribué :

- HO semble diminuer la teneur totale en AGPIn-3 des lipides totaux (via les lipides neutres) et augmenter la teneur en 18:3n-3. La teneur en DHA dans les lipides polaires des poissons nourris avec HO semble être supérieure à la valeur initiale, mais ceci peut s'expliquer plus par la variabilité observée au Ji (problème de dosage) que par un phénomène biologique.
- HP semble augmenter la teneur en EPA des lipides totaux.
- HL semble augmenter la teneur en 18:3n-3, et diminuer celle en EPA, DHA.

A part pour le DHA, la teneur en AGPIn-3 dans les lipides polaires reste stable par rapport au jour initial.

Tableau 27: Composition en acides gras (% acides gras totaux) des lipides totaux (LT), neutres (LN) et polaires (LP) du filet au jour initial et au jour final en fonction du traitement alimentaire (Huile de poisson (HP), Huile de Lin (HL), Huile d'Olive (HO).

		Aliments					
FILET		**Ji**	**HP**	**HL**	**HO**	CV Etr %	Puissance (%)
AG (% AG totaux)							
16:0		15.3 ± 0.3	15.7 ± 0.4	14.6 ± 0.4	15.8 ± 0.2	2.3	36
	LN	14.7± 0.3	13.1 ± 0.3	12.2 ± 0.4	13.1 ± 0.4	30	44
	LP	17.6 ± 0.2	17.6 ± 0.3	16.2 ± 0.6	16.6 ± 0.0	2.5	63
Total AGS		21 ± 0.7	22.6^{a} ± 0.0	20.7^{b} ± 0.5	21.4^{b} ± 0.2	1.8	46
	LN	27 ± 0.8	20^{a} ± 0.2	18^{c} ± 0.3	19^{b} ± 0.1	1.2	63
	LP	24 ± 0.4	24.5 ± 0.6	23.1 ± 0.6	23.1 ± 0.6	2.5	40
18:1n-9		10.7 ± 0.0	9.5^{c} ± 0.8	10.9^{b} ± 0.4	17.4^{a} ± 0.5	4.9	99
	LN	11.8 ± 0.2	13.4^{c} ± 0.3	16.3^{b} ± 0.8	23.3^{a} ± 1.9	6.9	96
	LP	9.8 ± 2	11 ± 1.8	10.3 ± 1.4	11.8 ± 1.1	5.7*	33
20:1n-9		1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1	15	10
	LN	1.8 ± 0.3	1.8± 0.2	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.1	11	9
	LP	1.4 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.0	0.9 ± 0.3	17	20
Total AGMI		17 ± 8.6	14.5^{c} ± 0.3	16.8^{b} ± 0.3	22.6^{a}± 0.8	2.5	90
	LN	20.8 ± 1.5	22.5^{c} ± 1.1	26^{b} ± 2.1	32^{a} ± 1.7	6.4	86
	LP	15.8 ± 2.8	16.2 ± 1.9	15.4 ± 1.0	15.6 ± 1.5	9.7	7
18:2n-6		5.7 ± 0.0	5.2^{c} ± 0.5	9^{a} ± 0.1	7.6^{b} ± 0.3	4.7	98
	LN	5.8 ± 0.1	8.1^{b} ± 0.5	10.8^{a} ± 0.6	8.9^{b} ± 0.6	6.2	80
		4.7 ± 1.4	5.6^{b} ± 0.6	7.9^{a} ± 0.7	7^{a} ± 0.5	9	70
18:3n-6		0.2 ± 0.0	0.1	0.1	0.1	17.6	6
	LN	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	15	10
	LP	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1± 0.0	23	23
20:4n-6		1.6 ± 0.2	2.4^{a}± 0.1	1.8^{b}± 0.1	1.9^{b}± 0.4	4.5	91
	LN	1.9 ± 0.2	1.8^{a} ± 0.1	1.2^{b}± 0.2	1.4^{b}± 0.1	8.7	81
	LP	2.4 ± 0.4	2.7 ± 0.2	2.2 ± 0.4	2.3 ± 0.3	11	22
Total AGPIn-6		7.6 ± 0.0	7.8^{c} ± 0.4	11.3^{a} ± 0.2	9.8^{b} ± 0.3	3.4	98
	LN	7.9 ± 0.3	10.2^{b} ± 0.6	12.3^{a} ± 0.8	10.8^{b} ± 0.3	5.4	70
	LP	7.3 ± 1.1	8.4^{b} ± 0.9	10.3^{a} ± 03	9.7^{a} ± 0.4	6.3	63
18:3n-3		1.1 ± 0.0	1.1^{c} ± 0.4	8.4^{a} ± 0.4	1.8^{b} ± 0.1	7.2	99
	LN	1.6 ± 0.4	2^{b} ± 0.2	12.7^{a} ± 2.3	2.5^{b} ± 0.3	10*	99
	LP	1.2 ± 0.0	1.2^{c} ± 0.2	5.3^{a} ± 0.5	2.7^{b} ± 0.5	15.1	96
18:4n-3		0.5 ± 0.2	0.6^{a} ± 0.1	0.6^{a} ± 0.0	0.4^{b}± 0.0	11	80
	LN	0.9± 0.3	0.8± 0.0	0.9 ± 0.0	0.7 ± 0.1	12	34
	LP	0.5 ± 0.0	0.4^{ab}	0.5^{a}	0.3^{b}	16	41
20:4n-3		0.3 ± 0.1	0.3^{ab} ± 0.0	0.3^{a} ± 0.0	0.2^{b} ± 0.0	12	61
	LN	0.4 ± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	0.3^{b} ± 0.0	6.7	70
	LP	0.3 ± 0.0	0.3^{ab}	0.3^{a}	0.2^{b}	11	60
20:5n-3		15.1 ± 0.0	16.6^{a}± 0.3	10.6^{b} ± 0.4	10.1^{b} ± 0.3	2.8	99
	LN	15.2 ± 1.9	13.8^{a}± 1.3	10.2^{b} ± 1.4	9.9^{b} ± 1.5	12.4	60
	LP	15.6 ± 0.7	15.1^{a} ± 0.3	12.1^{b} ± 1.2	10.8^{b} ± 0.6	6.3	86
22:5n-3		0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.6 ± 0.3	36	40
	LN	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	13	37
	LP	1 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0	8.5	40
22:6n-3		35.3 ± 0.0	35.6^{a} ± 2.1	30.9^{b} ± 0.1	33.4^{ab} ±1.3	4.3	63
	LN	31.4 ± 3.8	27.4^{a} ± 0.9	20.5^{c} ± 1.3	24.4^{b} ± 0.2	3.8	94
	LP	35.2 ± 3.4	32.5^{b}± 1	29.6^{c} ± 1.7	37.5^{a} ± 0.2	3.8	90
Total AGPIn-3		52.6 ± 0.3	54.8^{a} ± 1.5	51.6^{b} ± 0.4	46.6^{c} ± 1.4	2.4	92
	LN	50.9 ± 2	49^{a} ± 1	45^{b} ± 1	38^{c} ± 0.4	2	82
	LP	51.8 ± 1.7	50.4^{a}± 1.1	49.8^{a} ± 3.6	52^{a} ± 0.5	4.4	17

Les valeurs correspondent à une teneur moyenne de l'acide gras ± l'écart type calculée à partir de trois pools de dix filets chacun. Les valeurs dans une même ligne avec des lettres en exposant différentes sont significativement différentes (P<0,05%). CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel.
* : variable transformée

➔**Foie** (Tableau 28)

Lipides totaux

Le foie est caractérisé comme le filet par une forte teneur en AGPIn-3, avec des variations plus importantes en fonction de l'aliment (31 à 54%). La teneur en AGMI (39% pour HO) est plus importante que celle observée dans le filet, ceci est dû surtout à la teneur en 18:1n-9 (33%). La teneur en AGS est similaire à celle du filet. Les AGPIn-6 sont comme pour le filet les moins représentés avec cependant des teneurs plus élevées variant entre 10 et 17% avec, comme pour le filet, un maximum pour HL.

Comme pour le filet, les AG majoritairement présents dans le foie sont le 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6, EPA et DHA. Les autres sont présents à des taux inférieurs à 5%.

AGPIn-3

Les AGPIn-3 sont les plus représentés. Cependant, il n'y a pas de différence significative entre HP (54%) et HL (46,2%) mais vraisemblablement par manque de puissance. L'huile d'olive reste le traitement alimentaire qui confère des teneurs les plus faibles en AGPIn-3.

Le **DHA** reste l'AG majoritaire du foie pour les animaux nourris avec de l'huile de poisson alors que pour HL c'est le 18:3n-3 et pour HO le 18:1n-9.

La teneur en **EPA** est significativement supérieure pour les poissons nourris avec de l'huile de poisson comparativement aux 2 autres traitements.

Les teneurs en EPA et en DHA sont proches de celles observées dans le filet.

Comme pour le filet, l'aliment a un effet sur la composition en AG du foie :

Les effets sont différents de ceux observés sur le filet.

Comme pour le filet, la teneur en EPA est significativement supérieure pour HP, la teneur en 18:1n-9 est significativement supérieure avec HO et la teneur en AGPIn-6 est minimale avec HP et maximale avec HL.

Les différences se situent surtout au niveau des AGPIn-3 :

Comme pour le filet, la teneur en 18:3n-3 est significativement supérieure avec HL mais par contre il n'y a pas de différence significative entre HP et HO. Le 18:4n-3 est significativement supérieur pour HL. Le DHA est significativement supérieur pour HP.

Lipides neutres et polaires

Comme pour le filet, les lipides neutres sont plus riches en AGMI et moins riches en AGPIn-3 que les lipides polaires. Là aussi, les effets traitements observés sur les lipides totaux se retrouvent au niveau des lipides neutres, les lipides polaires étant plus stables.

Comparaison des teneurs initiales et finales en AGPIn-3

Comme dans le filet, HP semble augmenter la teneur en EPA et DHA et la teneur en AGPIn-3 totale. D'un autre côté, HP semble diminuer la teneur en 18:3n-3. HL augmenterait fortement la teneur en 18:3n-3 et 18:4n-3 mais diminuerait la teneur en DHA et EPA.

Comme pour le filet, HO diminuerait la teneur en AGPIn-3 mais également la teneur en DHA et EPA.

Tableau 28 : Composition en acides gras (% acides gras totaux) des lipides totaux (LT) neutres (LN) et polaires (LP) du foie au jour initial et au jour final en fonction du traitement alimentaire (Huile de poisson (HP), Huile de Lin (HL), Huile d'Olive (HO).

			Aliments				
FOIE		**Ji**	**HP**	**HL**	**HO**	CV Etr (%)	Puissance (%)
AG (% AG totaux)							
16:0	**LT**	16.6 ± 0.5	16^{a} ± 0.7	13^{b} ± 0.6	15.5^{a} ± 0.2	3.8	88
	LN	15.2± 0.7	12.9^{b} ± 0.2	15.1^{a} ± 0.3	15.4^{a} ± 0.7	3.2	89
	LP		15^{a} ± 0.5	15.4^{a} ± 1.5	15.7^{a} ± 0.5	6.3	9
Total AGS	**LT**	23.4 ± 1	22.5^{a} ± 0.6	18.1^{c} ± 0.6	20.4^{b} ± 0.6	2.9	93
	LN	22.1 ± 1.1	20^{a} ± 2.5	20.8^{a} ± 2.4	20.6^{a} ± 0.1	9.9	6
	LP		21.7^{a} ± 0.7	22.5^{a} ± 1.6	22.2^{a} ± 1	5.2	8
18:1n-9	**LT**	12.9 ± 1	9.7^{b} ± 0.9	15.5^{b} ± 2.8	33^{a} ± 4.3	15.6	96
	LN	15.3 ± 1	17.6^{b} ± 1.2	14.3^{c} ± 0.6	36^{a} ± 5.8	3.3*	97
	LP		12.2^{a} ± 2.6	13.4^{a} ± 5.4	17.4^{a} ± 2.3	10.3*	18
20:1n-9	**LT**	1.4 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.1	13	5
	LN	2.0 ± 0.0	1.5 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.4 ± 0.2	20	2
	LP		1.3 ± 0.3	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.0	18	10
Total AGMI	**LT**	21 ± 0.5	16.5^{b} ± 1.8	20.6^{b} ± 3.2	38.9^{a}± 3.8	12	94
	LN	24.5 ± 0.7	23.6^{b} ± 1.5	23.2^{b} ± 0.8	42.3^{a} ± 5	10	93
	LP		17.6^{a} ± 3.7	18.9^{a} ± 5.8	22^{a} ± 2.5	7*	12
18:2n-6	**LT**	8.1 ± 0.7	6.7^{c} ± 2	15.6^{a}± 0.1	11.3^{b} ± 0.7	12	91
	LN	8.6 ± 0.7	16.3^{a} ± 0.7	10.1^{c} ± 0.2	12.2^{b} ± 0.3	3.5	99
	LP		8.5^{a} ±1.6	8.2^{a} ± 2.8	8.9^{a} ± 0.6	12*	6
18:3n-6	**LT**	0.3 ± 0.0	0.3^{c} ± 0	0.6^{a}± 1	0.4^{b} ± 0	6.7	98
	LN	0.3 ± 0.1	0.5^{a} ± 0.1	0.4^{a} ± 0.1	0.4^{a} ± 0.1	24	7
	LP		0.4^{a}± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	0.5^{a}± 0.1	10*	41
20:4n-6	**LT**	2.3 ± 0.3	2.3 ± 1.0	1.2 ± 0.4	1.8 ± 0.6	41	5
	LN	2.1 ± 0.1	1.3 ± 0.6	1.6 ± 0.6	0.9 ± 0.2	45	15
	LP		2.9 ± 1.1	2.9 ± 1.4	2.5 ± 0.4	39	6
Total AGPIn-6	**LT**	10.9 ± 0.4	9.6^{c} ± 2.4	17.4^{a} ± 0.8	13.5^{b}± 0.5	11.2	84
	LN	11 ± 0.8	16^{a} ± 3.2	14.2^{a} ± 3	13.6^{a} ± 0.2	17.4	10
	LP		11.8^{a} ± 0.6	11.6^{a} ± 1.5	11.9^{a} ± 0.5	8.5	6
18:3n-3	**LT**	3.5 ± 2	1.6^{b} ± 0.8	21.7^{a} ± 0.9	3.4^{b}± 1	11	99
	LN	2.1 ± 0.2	2.5^{c} ± 0.1	18.2^{a} ± 2.6	4.6^{b} ± 1.5	12*	97
	LP		6.2^{a} ± 2	3.3^{a} ± 2	3.8^{a} ± 1	43.4	20
18:4n-3	**LT**	0.8 ± 0.0	0.6^{b} ± 0.3	1.4^{a} ± 0.1	0.6^{b} ± 0.1	9	98
	LN	1.0± 0.0	1.3^{a}± 0.2	1.2^{a} ± 0.3	0.6^{b} ± 0.1	18*	82
	LP		0.8^{ab}± 0.2	1.0^{a}± 0.1	0.5^{c}± 0.0	18	70
20:4n-3	**LT**	0.4 ± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	0.5^{a} ± 0.1	0.3^{b} ± 0.0	11	78
	LN	0.5 ± 0.0	0.4^{a}± 0.0	0.4 ^{a}± 0.0	0.2^{b} ± 0.1	11	88
	LP		0.4^{a} ± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	0.3^{b} ± 0.1	10	75
20:5n-3	**LT**	11.8 ± 1.6	14.6^{a}± 1.3	5^{b} ± 1.3	4.8^{b} ± 1.2	16	99
	LN	13.5 ± 0.6	14.7^{a} ± 1.9	6^{b}± 0.7	6^{b} ± 1.5	16.5	92
	LP		12^{a} ± 2.3	11^{a} ± 0.6	8.3^{a} ± 0.2	6*	56
22:5n-3	**LT**	1.2 ± 0.1	1.1^{a} ± 0.5	0.1^{b*} ± 0.1	1.2^{a} ± 0.4	50	60
	LN	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.7	1.1 ± 0.15	0.6 ± 0.2	48	21
	LP		1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.71 ± 0.0	17	30
22:6n-3	**LT**	28 ± 0.3	33.8^{a} ± 4.7	18.9^{b} ± 2.6	18.8^{b} ± 1.6	3.9	86
	LN	23 ± 0.0	21.4^{a} ± 2.9	12^{b}± 1.6	10.6^{b} ± 2	5.9*	86
	LP		27.8^{a}± 3.9	29.4^{a} ± 4.6	29.6^{a} ± 1.4	4*	10
Total AGPIn-3	**LT**	44.5 ± 0.1	54.0^{a} ± 4	46.2$^{a\,b}$± 0.1	30.6^{b} ± 5.5	12	40
	LN	41.6 ± 0.3	40^{a} ± 1.4	41.4^{a} ± 1.7	22.6^{b} ± 5.1	9.2	91
	LP		50.3^{a}± 1.3	50.2^{a} ± 0.8	44.2^{b} ± 1.1	2.4	90

Les valeurs correspondent à une teneur moyenne de l'acide gras ± l'écart type calculée à partir de trois pools de dix tissus chacun. La quantité de lipides polaires extraite à partir des échantillons prélevés au Jour initial était trop faible pour pouvoir mener à bien les analyses.
Les valeurs dans une même ligne avec des lettres en exposant différentes sont significativement différentes (P<0,05%).
CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel. * : variable transformée

➔**Tissu adipeux périviscéral** (Tableau 29)

Lipides totaux

A la différence des deux autres tissus, et de la tendance observée chez les poissons entiers, ce sont les AGMI qui sont les plus représentés dans le tissu adipeux. Leur teneur varie entre 30 et 50% avec le maximum pour HO. Les AGS sont présents à des teneurs légèrement plus faibles que pour le filet et le foie (entre 16 et 20%) avec toujours un maximum pour HP. Les teneurs en AGPIn-6 sont similaires à celles retrouvées dans le foie avec un maximum pour HL (18%).

L'AG majoritaire du tissu adipeux varie en fonction du traitement alimentaire. Il s'agit de 18:1n-9 pour HP (20%) et HO (40%) et de 18:3n-3 pour HL (24%). Les autres AG majoritaires sont les mêmes que pour le filet et le foie.

AGPIn-3

La somme de ces AGPI reste élevée et varie entre 22 et 42% avec un maximum pour HL. Comme pour les deux autres tissus, HO est le traitement alimentaire qui diminue le plus le taux des AGPIn-3. Le **DHA** est présent à des taux inférieurs à ceux du filet et du foie (entre 11 et 16%). L'effet du traitement alimentaire est le même que celui observé dans le foie avec un maximum pour HP. L'**EPA** est présent à des taux similaires à ceux mesurés dans le foie, avec les mêmes effets du traitement alimentaire. La teneur en **18:3n-3** est aussi élevée que dans le foie, avec toujours, comme pour les deux autres tissus, un taux significativement supérieur avec HL. Le **18:4n-3** est significativement maximal avec HP et minimal avec HO.

Lipides neutres et polaires

Les lipides neutres et polaires ont des profils en AG proches de ceux des lipides totaux. A l'instar des deux autres tissus, les lipides neutres ne sont ni plus riches en AGMI ni moins riches en AGPIn-3 que les lipides polaires, à part pour le traitement HO. Comme pour les deux autres tissus, les lipides polaires représentent la fraction la plus stable face à la variation de l'origine des lipides de l'aliment.

Les effets traitement sur les AGPIn-3 sont différents de ceux observés sur le foie, mais similaires à ceux observés sur le filet, sauf pour le DHA qui est significativement supérieur dans les lipides totaux et neutres des poissons nourris avec HP.

Comparaison teneurs en AGPIn-3 initiales et finales

HP et HL semblent augmenter la teneur en AGPIn-3 sauf au niveau des lipides totaux de HP où la concentration diffère peu de celle du jour initial.

HO diminue la teneur de tous les AGPIn-3 à part 18:3n-3 qui paraît similaire au jour initial voire supérieure pour les lipides neutres et polaires, comme c'est le cas dans le filet et le foie.

Tableau 29: Composition en acides gras (% acides gras totaux) des lipides totaux (LT), neutres (LN) et polaires (LP) du tissu adipeux périvisceral au jour initial et au jour final en fonction du traitement (Huile de poisson (HP), Huile de Lin (HL), Huile d'Olive (HO).

		Aliments					
Tissu adipeux		**Poisson**	**HP**	**HL**	**HO**	CV Etr	Puissance
AG (% AG totaux)							
16:0	**LT**	13.4 ± 0.6	13.1^{a} ± 0.5	10.4^{b} ± 0.7	12.2^{a} ± 0.5	4.7	81
	LN	13.6± 0.1	13.6^{a} ± 1	11^{b} ± 0.4	12.2^{b} ± 0.1	5.1	74
	LP	13.4 ± 0.6	14.3^{a} ± 1.3	12.5^{a} ± 0.8	14.6^{a} ± 0.4	6.7	36
Total AGS	**LT**	20.0 ± 1.4	20.0^{a} ± 0.2	15.5^{b} ± 1.3	17.2^{b} ± 0.9	5.3	82
	LN	20.1 ± 0.3	20.4^{a} ± 1.8	15.8^{b} ± 1.4	17.2^{b} ± 0.5	7.6	66
	LP	19.2± 0.1	21.7^{a} ± 2.2	18.3^{a} ± 1.2	20.8^{a} ± 0.5	7.2	36
18:1n-9	**LT**	18 ± 0.4	19.7^{b} ± 0.9	19.2^{b} ± 0.3	40.1^{a} ± 1.2	6.7	99
	LN	18.7 ± 0.4	17.2^{b} ± 1.3	18.3^{b} ± 0.5	37.7^{a}± 1.1	4.3	99
	LP	22.7 ± 0.0	17.3^{a} ± 2.5	18.5^{a} ± 0.2	19.2^{a} ± 0.7	8.8	3
20:1n-9	**LT**	3.0 ± 0.3	2.4 ± 0.3	2.0 ± 0.1	2.1 ± 0.0	9.7	10
	LN	2.8 ± 0.1	2.3^{a} ± 0.2	1.8^{b} ± 0.1	2.0^{ab} ± 0.2	7.8	42
	LP	1.8 ± 0.1	2.3^{a} ± 0.1	2.0^{b} ± 0.0	2.2^{a} ± 0.1	4	65
Total AGMI	**LT**	32.4 ± 0	30.3^{b} ± 2.2	27.7^{b} ± 0.6	49.6^{a}± 2.2	5	99
	LN	32.5 ± 0.4	28.8^{b} ± 2.4	27.3^{b} ± 0.4	47.2^{a} ± 1.5	4.8	99
	LP	36.5 ± 5	28.1^{a} ± 1.7	27.8^{a} ± 0.3	32.2^{a} ± 4.9	8.4*	22
18:2n-6	**LT**	10.2 ± 0.8	11.6^{b} ± 0.3	17.1^{a}± 1	12.5^{b} ± 0.2	4.4	97
	LN	10.6 ± 1	11.7^{b} ± 0.2	15.6^{a} ± 1.2	12.5^{b} ± 0.2	1.9*	88
	LP	11 ± 0.0	10.4^{a} ± 2.2	11.9^{a} ± 0.2	10.5^{a} ± 0.7	12.7	15
18:3n-6	**LT**	0.3 ± 0.1	0.3^{a} ± 0	0.2^{a}± 0	0.2^{a} ± 0	16	14
	LN	0.3 ± 0.0	0. 3^{a} ± 0.0	0.3^{a}± 0.1	0.2^{a} ± 0.1	15	23
	LP	0.3 ± 0.0	0.2^{a} ± 0.0	0.2^{a} ± 0.0	0.3^{a}± 0.1	26	12
20:4n-6	**LT**	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1	15	37
	LN	0.9 ± 0.3	1.1^{a} ± 0.2	0.6^{b} ± 0.0	0.7^{b} ± 0.2	20	66
	LP	1.2 ± 0.2	1.5 ± 0.5	1.3 ± 0.2	1.4 ± 0.1	23	9
Total AGPIn-6	**LT**	11.4 ± 0.7	12.8^{b} ± 0	18.0^{a} ± 1.1	13.4^{b}± 0.2	1.35	97
	LN	11.8 ± 1.0	13.2^{b} ± 0.3	16.7^{a} ± 1.3	13.6^{b}± 0.2	5.1	83
	LP	12.4 ± 0.4	12.1^{a}± 1.9	13.5^{a} ± 0.0	12^{a}± 0.7	9.2	18
18:3n-3	**LT**	3.2 ± 1	2.5^{b} ± 0.2	24.2^{a} ± 0.6	3.8^{b} ± 0.7	7	97
	LN	3.8 ± 2.2	3.1^{b} ± 0.4	22.7^{a} ± 2.2	4.2^{b} ± 1.1	14.6	99
	LP	3.1 ± 0.0	7.7^{b} ± 0.2*	10.2^{a} ± 0.2	5.6^{c} ± 0.4	3.9	96
18:4n-3	**LT**	1.3	1.3^{a} ± 0.1	1.0^{b} ± 0.0	0.6^{c} ± 0.0	4.7	99
	LN	1.3± 0.0	1.4^{a}± 0.0	1.1^{b}± 0.0	0.7^{c} ± 0.0	5.5	98
	LP	0.8± 0.2	1.3^{a}± 0.0	0.9^{a} ± 0.0	0.9^{a} ± 0.0	17	42
20:4n-3	**LT**	0.6 ± 0	0.5^{a} ± 0.1	0.4^{b} ± 0.0	0.2^{c} ± 0.1	17	74
	LN	0.5 ± 0.0	0.5^{a}± 0.0	0.4^{a}± 0.0	0.3^{a}± 0.0	15.4	40
	LP	0.4 ± 0.1	0.4^{a} ± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	0.4^{a} ± 0.0	9.6	16
20:5n-3	**LT**	11.9 ± 0.0	16.0^{a}± 0.7	5.4^{b} ± 0.9	6^{b} ± 0.7	8.6	99
	LN	11.8 ± 0.4	17.0^{a}± 1.1	6.2^{b} ± 0.9	6.6^{b} ± 0.9	9.9	99
	LP	10.2 ± 2.6	14.5^{a} ±2.6	9.7^{b} ± 0.0	10.8^{b} ± 0.6	13	62
22:5n-3	**LT**	1.4 ± 0.1	1.5^{a} ± 0.2	0.7^{b} ± 0.1	0.8^{b} ± 0.0	13	93
	LN	1.2 ± 0.1	1.7^{a} ± 0.1	1.0^{b} ± 0.1	1.1^{b} ± 0.1	6.7	97
	LP	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	14	11
22:6n-3	**LT**	18.9 ± 0.7	16.3^{a} ± 1.7	10.5^{b} ± 0.8	11.1^{b} ± 1.2	3.9	81
	LN	17.8 ± 1.7	17^{a} ± 0.8	9.8^{b} ± 0.8	11^{b} ± 0.9	6.7	97
	LP	16.8 ± 2.9	15.8^{a}± 1.4	15^{a} ± 1	16.9^{a} ± 0.7	6.6	25
Total AGPIn-3	**LT**	37.4 ± 0.7	37.1^{b} ± 1.6	41.9^{a} ± 3.3	22.1^{c} ± 1.2	6.6	97
	LN	36.6 ± 0.0	40.2^{a} ± 1.6	41.4^{a}± 1.4	23.9^{b} ± 1.3	4	99
	LP	32.8 ± 5	39.2^{a}± 1	36.5^{ab} ± 1	34^{b} ± 2.8	5	45

Les valeurs correspondent à une teneur moyenne de l'acide gras ± l'écart type, calculée à partir de trois pools de dix tissus chacun.Les valeurs dans une même ligne avec des lettres en exposant différentes sont significativement différente (P<0,05%). CVetr: coefficient de variation de l'écart-type résiduel. * : variable transformée

2.3.2.6 Etude de l'expression génique

Détermination des sondes

La PCR est une technique qui nécessite de connaître les séquences génomiques car elle repose sur l'hybridation entre elles de séquences parfaitement complémentaires.
Comme cela a été dit, le génome de la perche n'est pas séquencé pour l'instant et aucune donnée n'est disponible. Cependant, des delta 5 et delta 6 désaturases ont été clonées et caractérisées chez différentes espèces. Leurs séquences sont répertoriées dans des banques de données et sont disponibles en accès libre sur internet. Il est alors possible de déterminer une séquence par comparaison avec des séquences que l'on pense être proches. Par exemple dans notre cas on peut utiliser des séquences codant pour des enzymes clonées chez le poisson.
Le logiciel ClustalW permet ainsi de rechercher des homologies entre les différentes séquences simultanément et d'obtenir un alignement de séquences. L'alignement de séquences permet de mettre en évidence des zones conservées entre les différentes séquences choisies (Figure 34)

Les sondes utilisées pour l'hybridation chez la perche ont été choisies par alignement de séquences entre:

-pour la delta 6 désaturase : la truite (Genbank AF301910), l'homme (Genbank AF126799), la souris (Genbank AF126798), le rat (Genbank AB021980) et la carpe (Genbank AF309557)

-pour la delta 5 désaturase : l'homme (Genbank AF199596), le rat (Genbank AF320509) et le saumon (Genbank AF478472).

-pour la GAPDH : l'homme (Genbank M33197, la souris (Genbank M32599, la truite (Genbank AF027130)

Les séquences des sondes ont été établies à partir des nucléotides présents dans les zones les plus conservées entre les différentes séquences alignées. Pour les positions qui ne sont pas identiques chez tous les organismes, le nucléotide présent chez le poisson a été choisi. La taille de la sonde (nombre de nucléotides) doit respecter certaines règles. Premièrement, pour que la sonde soit spécifique du gène qu'on recherche, c'est-à-dire pour qu'elle se fixe sur ce gène uniquement, elle doit faire au moins 18 nucléotides. Deuxièmement, il faut que la température nécessaire à l'hybridation de la sonde sur l'ADN à amplifier soit supérieure d'au moins 5°C à la température d'hybridation du programme de PCR. Cette dernière étant généralement de 55°C, les sondes doivent avoir une température de fusion (Tm) d'environ 60-65 °C.

La température de fusion se calcule en fonction de la nature des bases nucléotidiques (G : Guanine, C : Cytosine, A : Adénine, T : Thymine). Les bases sont appariées selon la règle : G avec C et A avec T. Une paire de bases GC nécessite 4°C pour être rompue et une AT 2°C. Pour calculer la Tm d'une sonde, on attribue donc 4°C à un G ou un C et 2°C à un T ou un A. En conclusion, pour choisir la taille de la sonde on choisit une région de 18 nucléotides conservés entre les différentes séquences alignées et on l'étend d'un côté et de l'autre pour atteindre une température de 60°C.

Deux sondes sont nécessaires : **la sonde sens et antisens** (Tableau 30). La sonde sens a une séquence identique à la séquence de l'alignement car elle s'hybridera sur le brin d'ADN complémentaire à cette séquence. La sonde antisens a la séquence complémentaire inversée de la séquence de l'alignement.

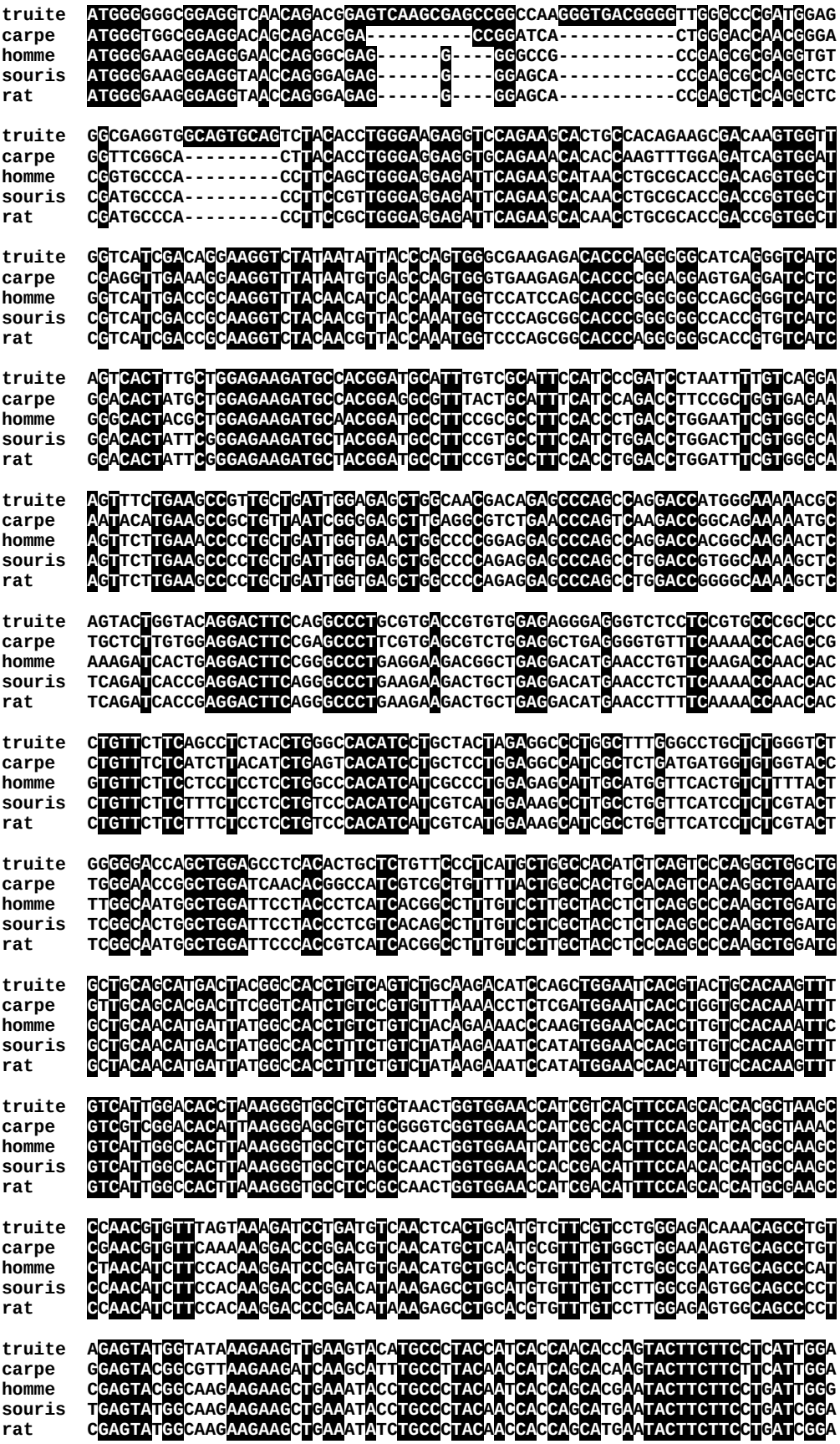
Une fois que les séquences des sondes ont été choisies, elles ont été testées sur des cellules humaines (Figure 35)

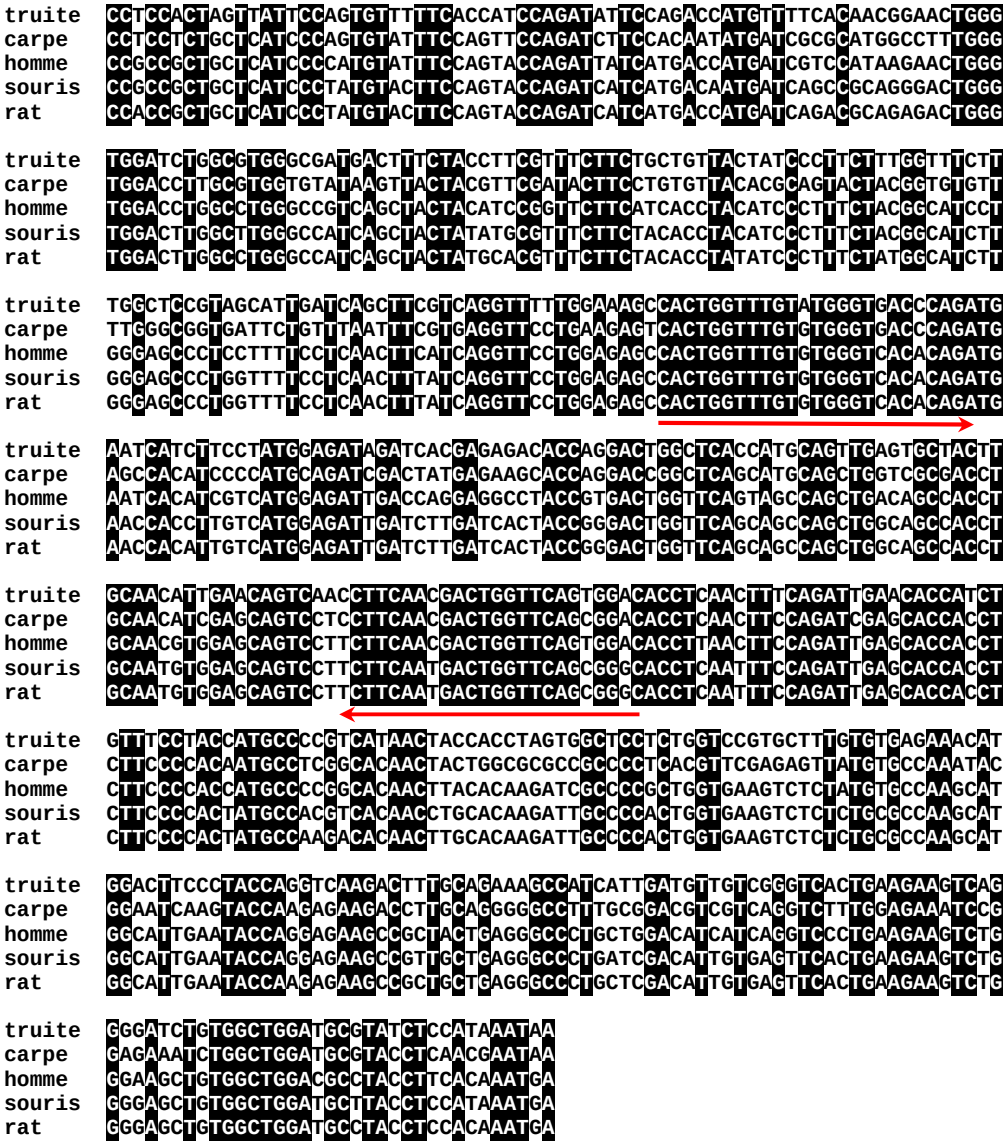
L'hybridation nécessaire dans la réaction de RT-PCR peut être compromise si quelques nucléotides ne sont pas identiques entre les sondes et les ARN de la perche. Les sondes étant choisies par approximation, il y a donc un risque que la réaction ne fonctionne pas si les séquences établies sont trop différentes de la réalité.

Figure 34: Alignement de séquences codant pour la delta 6 désaturase.

L'alignement a été établi par le logiciel ClustalW entre les séquences codant pour la delta 6 désaturase chez la truite, la carpe, l'homme, la souris et le rat.

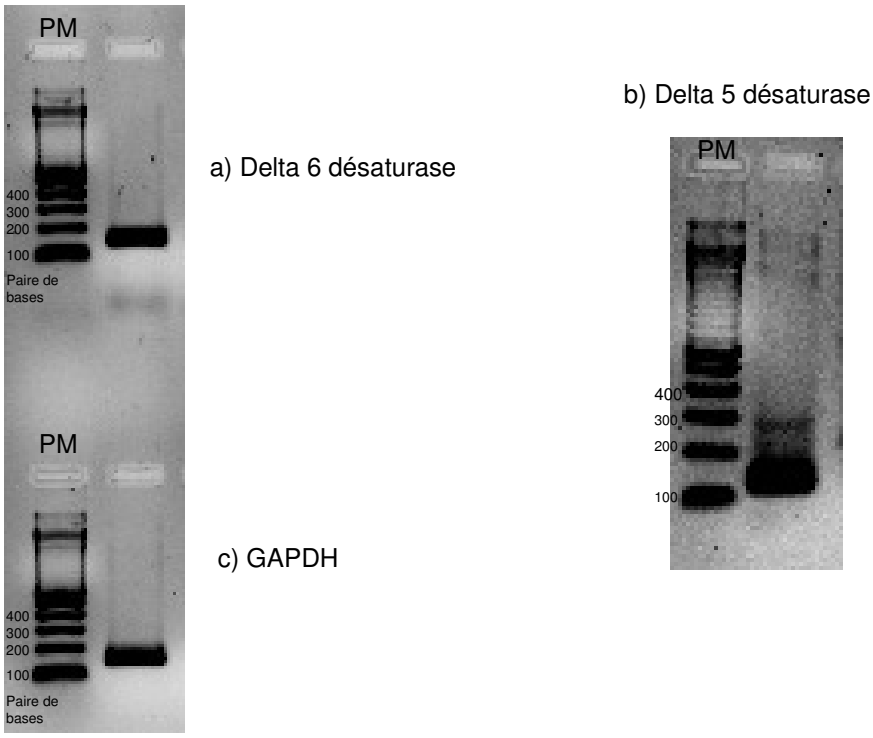
Les zones en noir correspondent aux zones conservées. Les flèches correspondent aux zones choisies pour établir la séquence des sondes permettant l'amplification de l'ARN de la delta 6 désaturase chez la perche.





<u>Tableau 30</u>: Sondes utilisées pour la RT-PCR (Invitrogen).

	Séquence sens	*Séquence inverse antisens*
Delta 6 désaturase	*5'-CACTGGTTTGTATGGGTGACCCAGA-3'*	*5' GTCCACTGAACCAGTCGTTGAAGG 3'*
Delta 5 désaturase	*5'-CTGGTTTGTATGGGTGACCCAGATG-3'*	*5' GCAGCCAGCCAGCCTGGCCTGA 3'*
GAPDH	*5'-CCCTCATGACCACAGTCCACGCC 3'*	*5' ACCTTGCCCACAGCCTTGGCAGC 3'*



<u>Figure 35</u> : Contrôle positif : Gels d'électrophorèse montrant les produits d'amplification de a) la delta 6 désaturase, b) la delta 5 désaturase et c) la GAPDH obtenus à partir d'ARN extraits de cellules humaines.

Le premier puits correspond au marqueur de poids moléculaire (PM).

Distribution tissulaire de la delta 6 désaturase

La présence de la delta 6 désaturase au sein des différents tissus a été testée sur une dizaine d'échantillons prélevés dans des conditions « stériles » (sans ARN) sur des perches élevées dans les structures expérimentales du laboratoire.

Aux conditions expérimentales testées, en utilisant 2µl d'ADNc lors de la PCR, la delta 6 désaturase n'a été détectée que dans le **foie** (Figure 36).

Afin de confirmer ce résultat, les conditions d'analyse ont été changées en augmentant la quantité d'ADNc utilisée : 4µl puis 6µl.

Dans les deux cas, la delta 6 désaturase n'a jamais été détectée dans le **filet**, ni dans les **gonades.** Par contre elle a été détectée dans le **cerveau** et l'**intestin** en utilisant 4µl d'ADNc. Cependant elle n'est pas présente dans tous les échantillons. Cinq échantillons de chaque tissu ont été testés. Pour le cerveau l'enzyme a été détectée dans 2 échantillons parmi les cinq testés. Pour l'intestin l'enzyme a été détectée dans 3 échantillons.

En ce qui concerne le **tissu adipeux**, la trop faible quantité obtenue d'ARN lors de l'extraction ne nous a pas permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de delta 6 désaturase dans ce tissu.

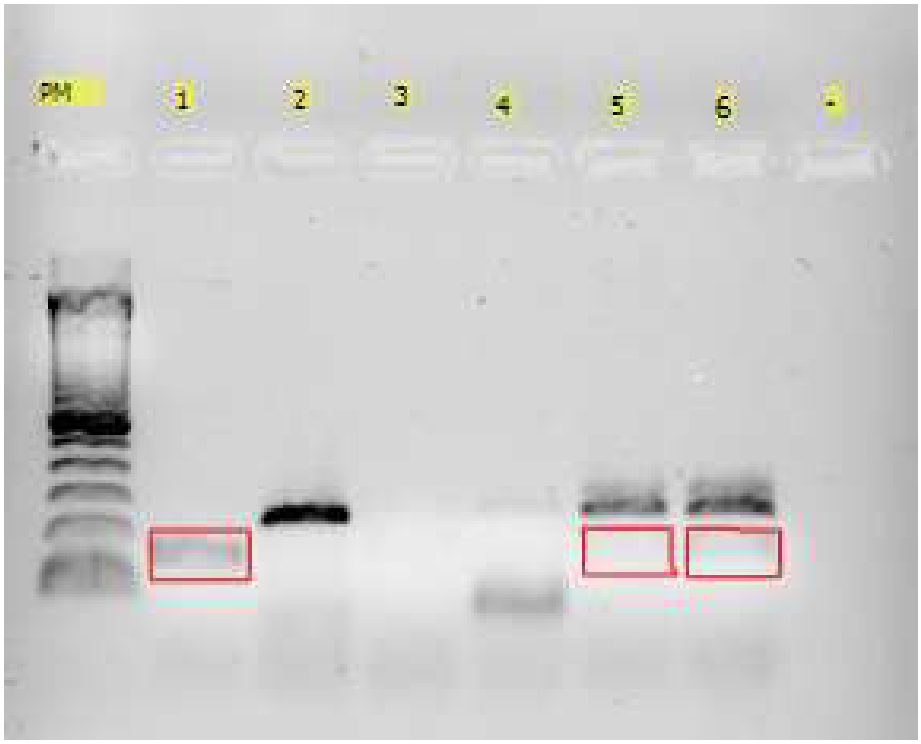


Figure 36: Distribution tissulaire de la delta 6 désaturase

1= Foie, 2= filet, 3= graisse, 4= gonades, 5= intestin, 6= cerveau, -= contrôle négatif.

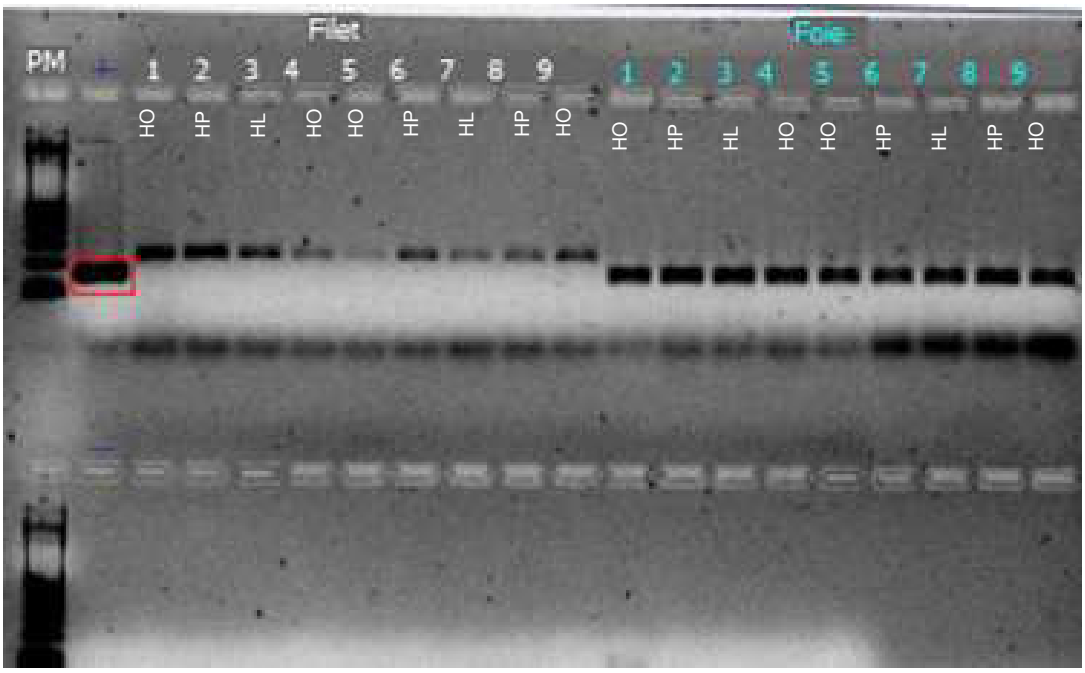
Les bandes entourées en rouge correspondent au produit attendu.
La présence d'un produit de PCR de taille plus élevée dans l'intestin et le cerveau diminue le signal correspondant à la delta 6 désaturase.

Distribution tissulaire de la delta 5 désaturase

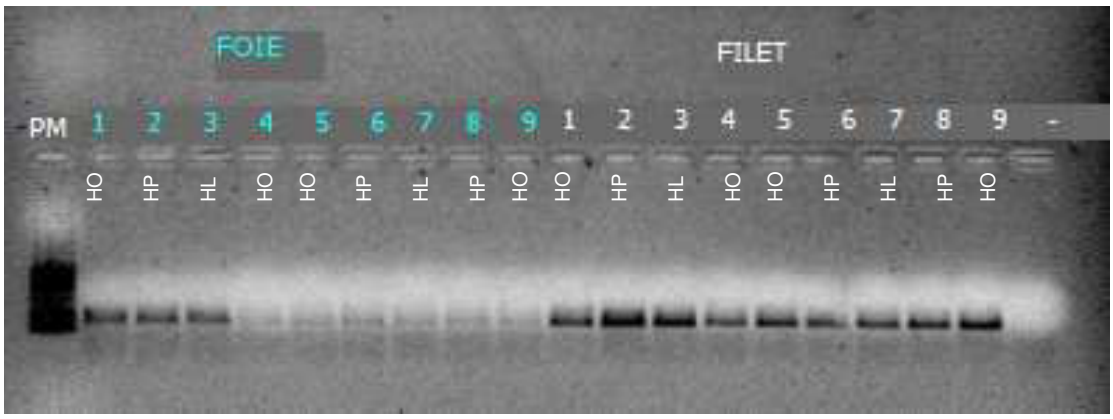
Aux conditions expérimentales testées, en utilisant 2µL d'ADNc lors de la PCR, la delta 5 désaturase n'a été détectée dans aucun tissu.

Effet de l'aliment sur l'expression de la delta 6 désaturase dans les trois tissus

La delta 6 désaturase n'a été détectée que dans le foie. Il y a une bande présente dans le filet, elle correspond à un produit de poids moléculaire plus élevé que le produit attendu (Figure 37). Il n'y a pas d'effet du traitement alimentaire sur l'expression de l'enzyme dans le foie (Figure 38).



a) Le signal entouré en rouge, obtenu avec le contrôle positif (+) indique la position de la delta 6 désaturase de cellules humaines.



b) La GAPDH est exprimée dans les deux tissus.

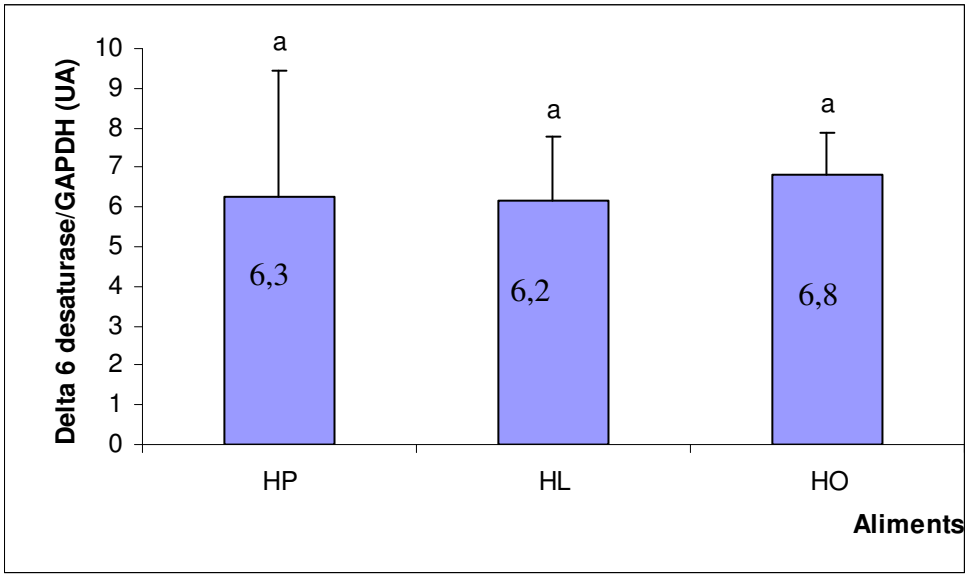
<u>Figure 37</u>: Photographies des gels d'agarose représentant a) l'expression de la delta 6 désaturase dans le filet et dans le foie en fonction du traitement alimentaire, b) l'expression du contrôle interne GAPDH dans le filet et dans le foie en fonction du traitement alimentaire.

Huile de poisson (HP) : bacs 503 (puits n°2), 507 (puits n°6), 509 (puits n°8)
Huile de lin (HL) : bacs 502 (puits n°1), 504 (puits n°3), 508 (puits n°7)
Huile d'olive (HO) : bacs 505 (puits n°4), 506 (puits n°5), 510 (puits n°9)
Le dernier puits (-) est le contrôle négatif.

<u>Figure 38</u>: Expression de la delta 6 désaturase dans le foie en fonction du traitement alimentaire (HP : huile de poisson, HL : huile de lin, HO : huile d'olive).

L'expression est calculée à partir du rapport entre l'intensité du signal obtenu pour la delta 6 désaturase et l'intensité du signal obtenu pour la GAPDH, évaluée à partir d'une quantification du gel par densitométrie (logiciel Quantity One).

Le test de Kruskal et Wallis est non significatif.



2.3.2.7 Etude de l'activité enzymatique

La quantité de radioactivité injectée dans les cellules était très faible et a rendu difficile la quantification de la radioactivité retrouvée dans les différents acides gras. De plus, la viabilité des cellules inférieure à 95% est faible, mais similaire entre les différents traitements alimentaires (Tableau 31). Cependant, l'observation du film reflétant les plaques de CCM montre la présence de 18:3n-3 et de DHA marqués.

Le taux de conversion du [1-14C] 18:3n-3 en $mol.h^{-1}.mg\ protéines^{-1}$ n'a pas pu être calculé (problème de spectrophotomètre lors du dosage des protéines). L'activité enzymatique a alors été évaluée en calculant le rapport [1-14C] DHA / [1-14C] 18:3n-3 (Tableau 31). De la radioactivité a été retrouvée avec les trois traitements alimentaires. Le nombre insuffisant de données ne nous permet pas de conclure sur l'effet du traitement alimentaire (pas de test statistique).

Tableau 31: Viabilité des hépatocytes et rapport [1-14C] DHA / [1-14C] 18:3n-3 (dpm) en fonction des différents traitements alimentaires HP : huile de poisson, HL : huile de lin, HO : huile d'olive.

	HP	HL	HO
Viabilité (%)	76	72	70
[1-14C] DHA / [1-14C]18:3n-3 (dpm)	0.07±0.03	0.05±0.03	0.03±0.01

Les résultats représentent la moyenne ± l'écart type obtenue à partir de deux plaques de CCM.

3EME PARTIE :

DISCUSSION

1 CARACTERISATION DES LIPIDES CHEZ LA PERCHE (CARACTERISTIQUES D'UN POISSON MAIGRE D'EAU DOUCE).

INTRODUCTION

Les trois études menées ici ont permis d'obtenir des résultats sur la teneur en lipides, la répartition en lipides polaires et lipides neutres et la composition en acides gras des différents tissus : foie, filet, tissu adipeux périviscéral chez la perche.

Comme cela a été décrit dans la première partie bibliographique, la composition lipidique des tissus est soumise à de nombreuses variations dues à des facteurs intrinsèques (âge, cycle sexuel, origine génétique), environnementaux (température, saison, salinité) et nutritionnels (teneur et type de lipides alimentaires).

Ce premier chapitre a pour but de dessiner le profil en lipides des perches élevées en laboratoire afin de décrire les particularités d'un poisson maigre d'élevage dulcicole.

1.1 Teneur en lipides totaux des tissus de la perche

Chez la perche, les lipides sont majoritairement stockés dans le tissu adipeux périviscéral, avec des teneurs comprises entre 85-90% du poids frais en fonction des trois études présentées ici. Les valeurs les plus élevées ont été observées avec un aliment à 21% de lipides, quelle que soit la nature des lipides. Il est assez difficile de comparer ces valeurs avec celles de la littérature car en règle générale les auteurs n'analysent pas le tissu adipeux mais plutôt les viscères dans leur globalité, englobant le tissu adipeux périsviscéral. Chez la perche, les différents auteurs trouvent une teneur en lipides viscéraux comprise entre 30 et 80% en fonction du traitement alimentaire. Les valeurs maximales ont été citées dans l'étude de Xu et al., (2002) où des juvéniles ont été nourris avec un aliment riche en lipides (19,3%) ainsi que dans l'étude de Xu et Kestemont, (2002) où les aliments (à 16% de lipides) à base d'huile de foie de morue et d'huile de lin augmentent significativement la teneur en lipides des viscères. Dans tous les cas, les viscères représentent le tissu le plus riche en lipides.

Le foie stocke également une petite quantité de lipides. Les résultats montrent des valeurs comprises entre 4,4% et 7,8% en fonction des trois études présentées ici, les valeurs les plus hautes correspondent à celles retrouvées chez les poissons nourris avec un aliment ayant une teneur en lipides de 21% (étude 2). Dans l'étude 3 les ordres de grandeur sont les mêmes avec des valeurs minimales pour les poissons nourris avec de l'huile de poisson. Les teneurs sont proches de celles retrouvées dans la littérature. Les différences qui peuvent s'observer sont dues aux différents

facteurs propres à chaque expérimentation (type d'alimentation, taille initiale du poisson, durée de l'expérimentation…). Par exemple, l'étude de Xu et Kestemont, (2002) qui teste l'effet de la nature des lipides sur le métabolisme lipidique de la perche utilise des poissons de plus petite taille que ceux utilisés dans nos trois études. Les teneurs observées en lipides du foie sont légèrement supérieures aux nôtres et comprises entre 7,1 et 12,6% en fonction de l'alimentation testée.
En règle générale, les études menées sur les poissons d'eau douce révèlent des teneurs en lipides du foie pas très élevées, à l'inverse des espèces marines comme la morue où la teneur en lipides du foie peut atteindre 70% de la matière fraîche (Henderson et Tocher, 1987).

La perche stocke une très faible quantité de lipides dans le filet, stable, toujours inférieure à 2% quelle que soit l'expérimentation. Cette observation confirme les données de la littérature (Kestemont *et al.*, 2001; Xu et Kestemont, 2002; Mathis *et al.*, 2003; Mairesse *et al.*, 2006; Orban *et al.*, 2007). Des valeurs supérieures (teneur en lipides musculaires de 5%) ont été cependant observées chez des juvéniles nourris avec des aliments hautement énergétiques (12, 15 et 19% de lipides) (Xu *et al.*, 2002).

La teneur en lipides du foie et du tissu adipeux augmente avec la taille du poisson, alors que celle du filet reste stable. Chez la majorité des poissons, la quantité de lipides corporels augmente au cours du temps corrélée à une baisse de la teneur en eau alors que la teneur en protéine reste constante (Henderson et Tocher, 1987).

La teneur en lipides musculaires permet de distinguer les différentes catégories de poissons. Comme cela a été décrit dans la partie bibliographie, on distingue les poissons maigres des poissons semi gras ou gras en fonction de la teneur en lipides musculaires. Cependant il existe des différences au sein des catégories. La morue et l'églefin sont des poissons maigres de mer. Ils stockent, comme la perche, de très faibles quantités de lipides musculaires (<1%), cependant, à l'inverse de la perche, ils stockent majoritairement leurs lipides dans le foie (50-75%) (Henderson et Tocher, 1987). Le tissu de dépôt est différent en fonction de l'espèce, **chez la perche, comme chez les mammifères, le lieu de stockage de l'énergie nécessaire à la croissance et à la reproduction est le tissu adipeux.**

1.2 Répartition des lipides neutres et polaires dans les tissus de la perche

Par rapport à la littérature, le travail présenté ici permet d'apporter une information complémentaire sur la répartition des lipides neutres et polaires dans les tissus de la perche.

Les premiers résultats que nous avons pu obtenir nous ont permis de montrer que **le rapport lipides neutres/lipides polaires (LN/LP) est variable en fonction du tissu**: les lipides sont présents essentiellement sous forme neutre dans le tissu adipeux (LN/LP: 90/10), majoritairement sous forme neutre dans le foie (60/40) et en parties quasi égales dans le filet (50/50). Puis nous avons pu mettre en évidence qu'il varie, dans le foie et le filet, en fonction de l'alimentation. Par exemple pour le filet on retrouve un rapport de 70/30 chez les animaux nourris avec de l'huile de poisson alors qu'il est de 60/40 chez ceux nourris avec de l'huile d'olive ou de l'huile de lin. Pour le foie c'est exactement l'inverse.

Des valeurs similaires sont retrouvées chez des espèces maigres d'eau douce comme le poisson à tête de serpent (*Channa argus*) où le rapport LN/LP est de 70/30 dans les lipides du filet. Ce qui n'est pas le cas chez l'anguille japonaise qui est une espèce grasse où les lipides musculaires (22% du poids frais) sont essentiellement constitués de lipides neutres (Henderson et Tocher, 1987).

L'étude de Nanton *et al*., (2007) montre également des teneurs en lipides neutres plus importantes dans le tissu adipeux et des teneurs en lipides polaires plus importantes dans le filet chez le saumon Atlantique.

La répartition des lipides neutres et polaires est à mettre en parallèle avec les fonctions que jouent ces deux types de lipides. Les lipides neutres représentent la forme de stockage de l'énergie et sont utilisés durant les périodes de jeûne ou pendant la maturation sexuelle. Les lipides polaires sont quant à eux les constituants des membranes cellulaires et le reflet de l'activité biosynthétique (Sargent *et al.*, 1989).

1.3 Composition en acides gras des tissus de la perche

Les résultats des trois études montrent une variation de la composition en AG en fonction du tissu examiné, en fonction du type de lipides concerné et en fonction des différents facteurs expérimentaux testés.

Cependant, on peut dire que **les principaux AG (teneur > 5 % des AG totaux) retrouvés chez la perche sont : l'acide palmitique 16:0, l'acide palmitoléïque 16:1n-7, l'acide oléique 18:1n-9, et l'acide docosahexaènoïque DHA 22:6n-3**.

1.3.1 Spécificités de la composition en acides gras de chaque tissu

Qualitativement, la composition en acides gras des trois tissus diffère peu et est similaire à celle de l'aliment: on retrouve la présence des mêmes acides gras. De légères différences quantitatives ont tout de même été observées dans les trois études: les teneurs en AG varient. En fait, chaque tissu semble avoir une composition spécifique.

Le filet est caractérisé par un fort taux d'AGPI (40-60% AG totaux) avec un rapport n-3/n-6 élevé (4-11). Le taux moyen des AGPIn-3 étant de 40% des AG totaux avec un maximum de 55% chez des poissons nourris avec un aliment à 17% de lipides, ceux ci provenant d'huile de poisson (étude 3).

Contrairement au filet qui en contient entre 15 et 25%, **le tissu adipeux est caractérisé par sa richesse en AGMI** dont les teneurs varient entre 30 et 50% des AG totaux avec un maximum observé chez des poissons nourris avec un aliment à 21% de lipides à base d'huile de poisson et de colza (étude 2) ainsi que chez des animaux nourris avec de l'huile d'olive, riche en 18:1n-9 (étude 3).
Cette richesse en AGMI est liée au rôle de réservoir énergétique que joue le tissu adipeux. Plusieurs études menées chez les mammifères et chez les poissons ont démontré que les AGMI étaient préférentiellement stockés (Florant *et al.*, 1990; Lund et Sidell, 1992). Ce type d'AG étant plus rapidement oxydé pour fournir de l'énergie quand l'organisme en a besoin (Jezierska *et al.*, 1982; Sidell *et al.*, 1995).

Le foie semble avoir une composition en AG intermédiaire entre celles observées dans le filet et dans le tissu adipeux.
- Les AGPI sont présents à des taux variant entre 40 et 60% des AG totaux. Le maximum a été observé dans l'étude 3 chez les poissons nourris avec de l'huile de poisson. La différence avec le filet réside dans le rapport n-3/n-6 qui est plus faible pour le foie (1,5-5). Le taux moyen des AGPIn-3 étant de 30% des AG totaux avec un maximum de 50% chez des poissons nourris avec un aliment à 17% de lipides « de poisson » (étude 3).
- Les AGMI varient entre 17 et 40% des AG totaux. Avec, comme pour le filet, un minimum pour les poissons nourris avec de l'huile de poisson (étude 3) et un maximum, comme pour le tissu adipeux, chez les poissons nourris avec un aliment à 21% de lipides à base d'huile colza (étude 2) ainsi que chez les animaux nourris avec de l'huile d'olive, riche en C18:1n-9 (étude 3).

Les AGS sont présents dans tous les tissus à des taux variant entre 15 et 25%. Les plus faibles valeurs sont retrouvées dans le tissu adipeux.

Le DHA est l'AG prédominant dans le filet et le foie. Il est présent à des taux variant entre 35 et 45% des AG totaux dans le filet et entre 15 et 35% dans le foie. Ce n'est pas le cas dans **le tissu adipeux où c'est le 18:1n-9 qui est majoritairement représenté**. Cependant les teneurs en DHA de ce tissu restent élevées (8-20% des AG totaux en fonction de l'alimentation). Ces taux élevés de DHA ont également été retrouvés par d'autres auteurs dans les différents tissus de la perche, avec notamment des teneurs supérieures à celles de l'aliment, supposant une rétention préférentielle de cet AG ainsi qu'une bioconversion à partir d'AG précurseurs présents dans l'alimentation (Kestemont *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2002; Xu et Kestemont, 2002; Mathis *et al.*, 2003). Cette bioconversion, décrite dans la partie bibliographie, est spécifique aux poissons d'eau douce (Sargent *et al.*, 1989).

Les autres AGPIn-3 importants sont le **18:3n-3 et l'EPA** qui sont les précurseurs du DHA dans sa voie de bioconversion. Dans notre étude les proportions de 18:3n-3 observées sont basses. Elles sont plus importantes dans le tissu adipeux et le foie que dans le filet. Ce qui est la tendance inverse du DHA et qui suggère que le 18:3n-3 est transformé en DHA. L'EPA est quant à lui plus faiblement représenté dans le foie, siège des réactions métaboliques.

Les différences de composition en AG des tissus **montrent que chaque tissu répond différemment à l'apport en AG alimentaire et soulignent le rôle particulier de chaque tissu.** Ceci a déjà été observé dans d'autres études menées chez la perche (Xu *et al.*, 2002; Xu et Kestemont, 2002) où les ordres de grandeur sont similaires aux valeurs de nos résultats. Par contre, il existe des **différences entre le profil en AG des perches sauvages et des perches d'élevage**. Par rapport aux poissons sauvages, les poissons d'élevage ont des teneurs en AGMI plus élevées et des teneurs en AGPIn-3 et AGPIn-6 plus basses (Mairesse *et al.*, 2006; Orban *et al.*, 2007). Ces différences pouvant être liées à la composition des aliments.

Les poissons sont de loin les animaux aux teneurs en AGPIn-3 les plus élevées. Cependant la proportion en AGPIn-3 varie en fonction de l'espèce. Les filets des poissons de haute mer comme le grenadier sont les plus riches en DHA avec des teneurs variant entre 30 et 40% des AG totaux (Okland *et al.*, 2005). La plupart des poissons d'eau douce est classiquement caractérisée par des teneurs plus élevées en AGS et en AGPI à 18 carbones et plus basses en AGPI à 20 et 22 carbones que les poissons marins (Henderson et Tocher, 1987). Ce n'est pas le cas chez la perche

qui a des teneurs élevées en DHA et EPA. En ceci la perche ressemble aux poissons marins. Des études récentes, menées chez différentes espèces de poissons de Turquie ont montré que les teneurs en AGPI peuvent êtres similaires chez les poissons d'eau douce et d'eau de mer (Okland *et al.*, 2005; Ozogul *et al.*, 2007). Chez la daurade, qui est comme la perche un poisson maigre, mais une espèce marine, on trouve des teneurs en AGPIn-3 similaires (40% dans le filet et dans le foie). Cependant la teneur en DHA est plus faible (20%), surtout dans le filet. Chez la morue (*Gadus Morhua*) les AGPIn-3 sont, comme chez la perche, plus importants dans le filet (51,7% des AG totaux) que dans le foie (28,3%) avec des teneurs élevées en DHA (28,6% dans le filet et 11,5% dans le foie) et faibles en 18:3n-3. Cependant les teneurs en DHA sont plus faibles que celles observées chez la perche (Kennedy *et al.*, 2007). Ceci renforce l'idée de la forte capacité que pourrait avoir la perche à bioconvertir les AG présents dans l'alimentation en AG supérieurs.

Le thon est également une espèce caractérisée par de fortes teneurs en DHA avec des teneurs maximales pouvant atteindre les 30% d'AG totaux dans le filet et dans le foie (Watanabe *et al.*, 1995; Saito *et al.*, 1997). A la différence de la perche, en tant qu'espèce marine le thon n'est pas capable de bioconvertir cet AG. Les fortes teneurs correspondent à une accumulation de DHA, le thon étant l'un des prédateurs hiérarchiquement le plus élevé dans la chaîne alimentaire en mer.

1.3.2 Spécificités de la composition en acides gras des deux types de lipides (neutres et polaires)

La composition en AG des lipides neutres et polaires a été observée dans les études 1 et 3 et a permis de démontrer l'existence d'un profil en AG différent en fonction du type de lipides. Ce résultat est important car la composition en acides gras des lipides totaux est influencée par le type de lipides majoritaires au sein du tissu. Ce qui fournit donc une explication supplémentaire aux spécificités de chaque tissu, car les tissus riches en lipides sont généralement principalement composés de lipides neutres tandis que les tissus pauvres en lipides sont composés de lipides polaires essentiellement (Henderson et Tocher, 1987).

Nos résultats montrent des teneurs en **AGS équivalentes dans les deux types de lipides, des teneurs en AGMI supérieures dans les lipides neutres et des teneurs en AGPI supérieures dans les lipides polaires.** Ces différences ne sont pas observées dans le tissu adipeux. Si l'on prend les données de la première étude, les AGPI représentent environ 55% des AG totaux dans les lipides polaires et 40% dans les lipides neutres. Dans le foie ils représentent environ 50% des AG totaux dans les lipides polaires et 35% dans les lipides neutres. Et dans le tissu adipeux il n'y a pas de différence significative (environ 35% dans les deux types de lipides).

D'une manière générale, chez les poissons d'eau douce, les AGMI constituent la majeure partie des acides gras des lipides neutres, alors que les lipides polaires contiennent de plus grandes quantités d'AGPI (Henderson et Tocher, 1987). Dans le filet de tanche, les lipides polaires sont caractérisés par un taux élevé d'AGPI, particulièrement de DHA et les lipides neutres reflètent la composition en AG des lipides totaux (Turchini *et al.*, 2007). Dans le filet de truite, les AGPI représentent 50% des AG dans les lipides polaires et 30% dans les lipides neutres (Rinchard *et al.*, 2007). Comme chez la perche, les AGS sont présents à des taux similaires dans les deux types de lipides (Kiessling *et al.*, 2001; Weber *et al.*, 2003). Cette tendance a été observée également chez les poissons marins comme chez la daurade (Kalogeropoulos *et al.*, 1993).

Les différences de composition en AG observées entre lipides neutres et lipides polaires s'expliquent par la spécificité de l'oxydation des AG chez le poisson. **Les lipides neutres**, principaux constituants des tissus de réserve énergétiques, sont riches en AGMI car ce type d'AG est préférentiellement catabolisé à des fins énergétiques (Bell *et al.*, 1998). Ils pourront ainsi fournir le carburant nécessaire à la reproduction et à la croissance. **Les lipides polaires**, riches en AGPI représentent le dépôt nécessaire au métabolisme des eïcosanoïdes.

1.3.3 Effet du tissu et/ou du type de lipides sur la composition en AG

Nous avons testé l'effet du tissu et du type de lipides sur la composition en AG des lipides afin de valider les spécificités observées dans les deux paragraphes précédents. L'analyse statistique a été faite dans l'expérience 1, et, malgré le faible nombre de poissons testés, nos résultats montrent qu'il existe pour la plupart des AG, excepté 16:1n-7, 18:1n-9, 18:2n-6, EPA et AGMI, **un effet de l'interaction du tissu et du type de lipides.**

Concernant le DHA, les teneurs sont significativement supérieures dans les lipides polaires du filet et inférieures dans les lipides neutres du foie et dans les deux types de lipides du tissu adipeux. Les taux élevés de DHA au niveau des lipides polaires pourraient s'expliquer par le rôle important que joue le DHA au niveau de la membrane cellulaire. Sa structure favorise les changements de conformation de la membrane, importants dans les procédés visuels et neuromusculaires par exemple, et elle participe à la résistance de la membrane vis à vis des variations de température et de pression, ces paramètres jouant un rôle important en environnement aquatique.

De plus, les teneurs élevées au niveau du filet peuvent s'expliquer par le rôle du DHA au niveau du métabolisme du muscle. En effet, le réticulum sarcoplasmique du muscle est particulièrement riche en DHA afin de faciliter la libération du Ca2+ nécessaire au mouvement (Ushio *et al.*, 1997). La perche étant un carnassier ses muscles sont souvent sollicités pour attraper ses proies.

1.3.4 Conclusion

La perche est un poisson maigre qui stocke ses lipides à des fins énergétiques dans un tissu adipeux périviscéral. Son profil en AG est similaire à celui des autres poissons maigres, comme les espèces marines, avec une teneur élevée en AGPI et une teneur faible en 18:3n-3. Ce poisson constitue donc un bon modèle d'étude du métabolisme des AGPI chez une espèce maigre.

Mis à part les conditions expérimentales, le profil en AG du poisson est différent à la fois en fonction du tissu et du type de lipide observé. Comme dans la littérature, un taux élevé de DHA (20 à 40%) a été retrouvé chez la perche, dans les trois tissus examinés (filet, foie et tissu adipeux) et dans les deux types de lipides (neutres et polaires), avec un maximum pour les lipides polaires du filet confirmant ainsi sa qualité nutritionnelle. En effet, si l'on regarde les résultats de l'étude 3, une perche de taille commerciale d'environ 130g contient 60g de filet (2 x 30g), 1,5g de foie et 4,5g de masse graisseuse (tissu adipeux périviscéral). En terme de quantité, ses trois tissus pourraient contenir jusqu'à 240mg, 30mg et 800mg de DHA chacun. Les apports nutritionnels conseillés (ANC) en AGPIn-3 sont chez l'homme de 2000mg d'acide alpha linolénique et 120mg de DHA/jour. La consommation d'un filet de perche couvre donc les ANC en DHA.

2 PRODUCTION DE DHA CHEZ LA PERCHE

INTRODUCTION

Les résultats sur la composition en AG des tissus de la perche présentés ici, ainsi que ceux de la littérature montrent un taux élevé de DHA dans les tissus, parallèlement à un faible taux de 18:3n-3. De plus, la teneur en DHA des tissus est supérieure à celle des aliments, comme l'ont également montré Kestemont *et al.* (2001) et Xu *et al.* (2002). Ces auteurs font l'hypothèse d'une bioconversion de DHA in situ à partir des AGPI à 18 carbones précurseurs présents dans l'aliment. Un des objectifs de cette thèse était de vérifier cette hypothèse de production de DHA à partir de 18:3n-3 et d'étudier les paramètres de cette bioconversion.

Cette voie de bioconversion des AGPIn-3 a été décrite dans la partie bibliographique: les poissons d'eau douce sont capables de transformer le 18:3n-3 présent dans l'alimentation en AGPI à 20 et 22 carbones (EPA, DHA) par une série de réactions de désaturations et d'élongations catalysées respectivement par des désaturases (delta 5 et delta 6) et des élongases.

C'est pour mieux comprendre d'où viennent les fortes teneurs en DHA dans les tissus de la perche et pour vérifier l'hypothèse de bioconversion, que nous avons déterminé l'expression génique des delta 5 et delta 6 désaturases dans différents tissus afin de voir les lieux de production de DHA.

2.1 Distribution tissulaire des désaturases chez la perche

Le génome de la perche n'étant pas séquencé en entier, les sondes utilisées pour l'hybridation ont été choisies par approximation.

Pour la delta 5 désaturase une séquence consensus entre l'homme, le rat et le saumon a été trouvée et la séquence chez la perche a ainsi pu être prédite. Nous n'avons pu obtenir de résultats concernant l'expression génique de la delta 5 désaturase chez la perche. Cependant, ce résultat ne suggère pas pour autant l'absence d'expression de delta 5 désaturase chez la perche. En effet, l'absence d'hybridation entre les gènes de la perche et les sondes élaborées pour la delta 5 désaturase signifie que la séquence choisie pour la delta 5 est certainement trop éloignée de la réalité. Ceci ne perturbe pas notre étude, car l'étape limitante de la voie de bioconversion des AGPIn-3 est la transformation de 18:3n-3 en 18:4n-3 catalysée par la delta 6 désaturase. Ainsi, les résultats obtenus avec la delta 6 désaturase suffisent à discuter des lieux de bioconversion de DHA chez la perche.

Pour la delta 6 désaturase, la séquence chez la perche a été prédite à partir d'une séquence consensus entre la truite, l'homme, la souris, le rat et la carpe. Aux conditions expérimentales testées, la delta 6 désaturase a été détectée avec certitude **dans le foie**. Il semblerait qu'elle soit aussi présente dans **le cerveau et dans l'intestin**. Cependant la présence d'un produit de PCR de taille plus élevée que le produit attendu pour la delta 6 désaturase dans les échantillons de cerveau et d'intestin testés diminue le signal correspondant à la delta 6 désaturase et ne nous permet pas de conclure avec certitude à la présence de l'enzyme dans ces deux tissus. L'enzyme n'a jamais été détectée dans le filet, ni dans les gonades. La quantité de matériel obtenu lors de l'extraction de l'ARN du tissu adipeux ne nous a pas permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de delta 6 désaturase dans ce tissu.

Il y a peu de résultats disponibles dans la littérature sur l'expression des gènes codant pour les désaturases chez le poisson. L'expression génique de la delta 5 et delta 6 désaturase a été dosée chez le saumon d'atlantique par une PCR quantitative en temps réel (Zheng *et al.*, 2005a). Les deux enzymes sont fortement exprimées dans l'intestin, le foie et le cerveau. L'expression des gènes codant pour la delta 6 désaturase a également été dosée chez la truite arc en ciel, par RT-PCR (Seiliez *et al.*, 2001). Comme chez le saumon, l'ARNm codant pour la delta 6 désaturase a été détecté dans plusieurs tissus incluant le foie, l'intestin, le rein, le cœur et le muscle blanc. L'étude de Ling *et al*., (2006b) a également révélé la présence de la delta 5 et delta 6 désaturase dans le filet, le foie et les ovaires du poisson porte épée.

La différence avec notre étude réside dans la spécificité de la sonde. En effet, pour le saumon et la truite, les gènes codant pour les désaturases ont été clonés et séquencés. Les auteurs ont donc pu mettre au point des sondes spécifiques à chacune de ces espèces.

La perche est à l'inverse du saumon et de la truite une espèce maigre. On peut alors penser que la distribution tissulaire des enzymes peut être différente en fonction de la catégorie lipidique du poisson. L'étude de Seiliez *et al*. (2003), menée sur le turbot contrecarre cette hypothèse car la présence d'ARNm codant pour la delta 6 désaturase a été détectée dans les deux tissus testés qui sont les viscères et le filet. Donc il semblerait que la distribution tissulaire des enzymes impliquées dans la bioconversion des AG soit la même chez les espèces maigres et grasses et que l'absence d'ARNm codant pour la delta 6 désaturase dans le filet, les gonades et le tissu adipeux soit dû à notre méthode d'analyse. Cependant ceci reste à confirmer car nos résultats sont les seuls concernant une espèce maigre d'eau douce.

L'absence d'ARNm codant pour la delta 6 dans un tissu ne signifie pas forcément que l'enzyme n'est pas présente dans le tissu. En effet, une quantité infinitésimale (non détectée pas notre méthode d'analyse) d'ARNm suffit pour la traduction en protéine. Donc il est probable que le gène codant pour l'enzyme soit exprimé dans tous les tissus chez la perche mais que notre méthode ne soit pas suffisamment sensible pour les détecter.

Autre hypothèse, la protéine pourrait être traduite dans le foie et ensuite exportée par la voie sanguine vers les autres tissus. Mais pour cela il faudrait que ce soit une protéine circulante. Or ceci ne semble pas être le cas chez les autres espèces (protéine transmembranaire, avec absence de peptide N terminal qui permettrait de conduire la protéine à la membrane et serait clivé au moment de la libération dans le sang).

L'hybridation observée dans le cerveau et l'intestin est également observée dans le filet et les gonades mais pas dans le foie. Ceci évoque **un phénomène d'épissage alternatif tissu spécifique** qui pourrait donner naissance à une forme différente de delta 6 désaturase, un variant de plus grande taille par inclusion d'un exon additionnel par exemple. Si l'on observe la littérature à ce sujet, on trouve chez la truite arc en ciel (dans le foie) (Seiliez *et al.*, 2001) et chez la daurade (dans les viscères) (Seiliez *et al.*, 2003) la présence de deux transcrits correspondant à la delta 6 désaturase (obtenus par Northern Blot). Les auteurs ne fournissent pas d'explications à ces deux transcrits, qui ont également été observés de la même manière pour la delta 6 désaturase chez le rat et la souris (Cho *et al.*, 1999a; Cho *et al.*, 1999b). Cho *et al*. (1999a) supposent cependant qu'il y a

deux isoformes de l'enzyme, l'une catalysant la désaturation du 18:3n-3 en 18:4n-3 et l'autre la désaturation du 24:5n-3 en 24:6n-3.
Chez le poisson, un phénomène d'épissage alternatif tissu spécifique a été décrit pour le gène codant pour une enzyme de croissance (Krueckl et Sherwood, 2001). La preuve ultime pour connaître la nature de la bande observée dans notre étude serait son séquençage et la comparaison avec d'autres delta 6 désaturases.

Afin de confirmer les résultats obtenus, les perspectives de travail sont premièrement de refaire le test sur un nombre plus important d'échantillons, en vérifiant au préalable l'absence d'ADN génomique potentiellement polluant, et deuxièmement de séquencer le gène chez la perche afin de pouvoir mettre au point des sondes qui lui sont spécifiques.

En conclusion, on peut dire que **l'hypothèse de bioconversion de DHA à partir de 18:3n-3 chez la perche a été vérifiée par la présence du gène codant pour la delta 6 désaturase dans certains tissus**. Au vu des résultats on peut penser que le gène est beaucoup exprimé dans le foie et dans une moindre mesure dans les autres tissus, sauf le tissu adipeux où l'expression n'a pas pu être dosée. Ces résultats ne sont pas en accord avec les taux de DHA observés dans les tissus puisque c'est le filet le plus riche en DHA, suivi par le foie et le tissu adipeux. A partir de cette observation plusieurs hypothèses sont possibles :

- l'expression du gène n'est pas corrélée avec le taux de DHA, le gène peut être exprimé mais l'enzyme n'est pas active
- le gène codant pour la delta 6 désaturase est exprimé dans ces trois tissus mais notre méthode d'analyse ne nous a pas permis de le détecter
- le DHA est produit dans le foie uniquement et est ensuite distribué aux différents tissus

2.2 Activité enzymatique

Afin de vérifier l'hypothèse de bioconversion de DHA dans les tissus de la perche nous avons dosé l'activité de la voie biosynthétique désaturation/élongation dans le foie par incorporation de 18:3n-3 marqué au carbone 14 et dosage du taux de DHA radioactif formé.

Malgré une faible quantité de radioactivité injectée dans les hépatocytes, de la radioactivité a été détectée au niveau du DHA démontrant ainsi la production de DHA.
Afin de vérifier l'hypothèse de bioconversion de DHA de chaque tissu, il aurait fallu également isoler des cellules musculaires et des adipocytes. Cependant, le protocole n'a pu être mis au point pour l'instant que sur les hépatocytes.

L'incorporation d'AG marqué est une méthode qui a été utilisée chez différentes espèces pour vérifier les hypothèses de bioconversion des AGPI. Comme dans notre étude, la bioconversion de 18:3n-3 en DHA a été mesurée dans le foie (hépatocytes et microsomes) chez les salmonidés (Buzzi *et al.*, 1996; Tocher *et al.*, 2001; Tocher *et al.*, 2003) et chez le turbot (Rodriguez *et al.*, 2002). Elle a également été mesurée dans les entérocytes chez la truite arc en ciel (Tocher *et al.*, 2004) et dans une lignée cellulaire chez la carpe (Tocher et Dick, 2001). L'étude de Ghioni *et al*. (1999) a utilisé des AG marqués incorporés à des lignées cellulaires de saumon et de turbot et à démontré que la faible capacité des poissons marins à bio synthétiser les AGPI était due à une faible activité des élongases.

Ce même type d'étude peut permettre d'étudier les flux d'AG en mesurant les AG radioactifs dans les tissus et le sang, comme cela a été fait dans l'étude de Stubhaug *et al.* (2005). Cependant, ce type de dosage utilisant l'incorporation d'AG marqué dans une cellule ne permet pas d'avoir une vision globale de tout ce qui se passe dans l'animal. De plus, comme cela a été le cas dans notre étude, l'utilisation de cellules isolées conduit à la formation d'une grande quantité de produits intermédiaires et peu de DHA final ce qui rend difficile la mesure de la radioactivité retrouvée. C'est pourquoi certains auteurs ont mis en place des expérimentations *in vivo* qui permettent de doser le taux de formation de DHA dans les différents tissus en utilisant un marquage au deutérium (isotope naturel de l'hydrogène) sur 5 hydrogènes du 18:3n-3 (D5 (17, 17, 18, 18, 18) 18:3n-3). L'AG est incorporé à l'aliment plutôt qu'injecté à l'animal pour éviter le stress. Bell *et al*., (2001b) ont étudié ainsi la synthèse et la distribution de DHA à différents temps. La plus grande concentration de DHA a été retrouvée dans le foie au bout de 7 jours, démontrant le rôle biosynthétique de cet organe. Les concentrations de DHA sont 3 fois supérieures dans les yeux, montrant une incorporation préférentielle dans ce tissu.

Il pourrait être intéressant de faire ce type d'expérience chez la perche afin de voir dans quels tissus le DHA est produit et en quelles quantités.

Parmi les tissus impliqués dans la formation du DHA chez la truite arc en ciel, le foie et l'intestin (au niveau du caecum pylorique) sont les tissus les plus actifs dans la bioconversion du DHA, le cerveau et les yeux, riches en DHA, semblent être un peu moins impliqués tandis que le tissu adipeux est inactif (Bell *et al.*, 2003b).

En ce qui concerne la perche, notre expérience a permis de montrer que le foie est actif et les autres tissus n'ont pas été testés.

3 EFFET DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX ET NUTRITIONNELS SUR LA COMPOSITION EN AGPIn-3

INTRODUCTION

- Dans le premier chapitre nous avons mis en évidence la qualité nutritionnelle de la perche par sa richesse en AGPIn-3 et plus particulièrement en DHA. Les teneurs en AGPIn-3 variant en fonction du tissu et du type de lipides.
- Dans le deuxième chapitre nous avons démontré l'existence de la voie de bioconversion de DHA à partir de 18:3n-3 qui explique en partie les fortes teneurs en DHA observées dans les tissus.
- Dans la partie bibliographie nous avons vu que la composition en lipides des tissus est soumise à l'effet de différents facteurs environnementaux.

➡ Le but de ce dernier chapitre est de voir dans un premier temps quels sont les facteurs ayant un effet important sur la teneur en AGPIn-3. Puis dans un deuxième temps de voir plus précisément comment ces facteurs peuvent faire varier la composition en AG des tissus et donc la qualité nutritionnelle du poisson. Pour cela les résultats de l'étude 2 (Détermination et hiérarchisation de facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides et la composition en acides gras des tissus) et de l'étude 3 (Effet du traitement alimentaire sur la composition en AGPIn-3 des tissus chez la perche) sont discutés ici.

3.1 Effet des facteurs environnementaux sur la croissance, la teneur en lipides et la composition en AG des tissus de perche

L'effet des facteurs environnementaux sur la teneur en lipides et la composition en acides gras a été déterminé lors de l'étude 2. Pour cela, deux expériences ont été mises en place au laboratoire dans le cadre d'un projet Aliment Qualité Sécurité (AQS) : Système de production et qualité technologique et nutritionnelle de la Perche (Ministère de la recherche). L'objectif essentiel était de comprendre et d'optimiser le déterminisme de la construction de la qualité chez la Perche.

- la première expérience a permis de hiérarchiser l'effet des facteurs et de leurs interactions et de trouver des combinaisons de facteurs optimales à la croissance et à la qualité de la perche.
- la deuxième expérience dont le but était de valider les quatre combinaisons optimales trouvées lors de la première expérience a permis de confirmer les effets observés sur le

filet dans la première expérience et de regarder si ces effets sont les mêmes pour le foie et le tissu adipeux

La nature des lipides, connue pour être un facteur important ayant un effet sur les caractéristiques lipidiques des tissus du poisson, a ensuite été détaillée dans l'étude 3. Le but de cette étude était de comprendre comment l'alimentation peut agir pour augmenter la teneur en AGPIn-3 et plus particulièrement en DHA afin d'optimiser la qualité nutritionnelle de la chair de perche. Nous avons pour cela élevé des poissons en utilisant trois sources lipidiques, de composition en acides gras différentes. Puis nous avons regardé l'effet de ces aliments sur

- la composition en AG des lipides totaux, neutres et polaires du filet, du foie et du tissu adipeux périviscéral
- l'expression génique de la delta 6 désaturase dans le foie
- l'activité de la voie de bioconversion des AGPIn-3 dans les hépatocytes

3.1.1 Facteurs ayant un effet sur la croissance des poissons

La croissance des poissons est faible dans les deux études et le taux de croissance spécifique ne dépasse pas 1%.

Pour l'étude 2, les taux de croissance spécifiques sont compris entre 0,4% et 0,6% (maximum pour la modalité Signal/Bruit de l'expérience 2), avec des valeurs proches de celles trouvées par Xu *et al*., (2002) chez des juvéniles avec un poids initial similaire à celui de notre étude. L'expérience de Kestemont *et al*. (2001) a testé l'impact de l'utilisation d'un antioxydant dans l'aliment sur la croissance et la qualité des animaux élevés (poids initial inférieur à celui de notre étude). Les taux de croissance spécifiques observés dans notre étude se rapprochent de ceux de cette étude pour les aliments sans antioxydant et sont 3 fois plus faibles que ceux observés chez les poissons nourris avec l'aliment complété par l'antioxydant.

Pour l'étude 3, les taux de croissance spécifiques sont très inférieurs à ceux observés dans la littérature. Les IHS et IVS sont deux fois plus faibles que ceux observés chez la perche nourrie avec un aliment à 15% et 19% de lipides (Xu *et al.*, 2002). Xu et Kestemont (2002) ont testé comme nous l'effet de l'huile d'olive, de l'huile de lin et de l'huile de poisson. Les auteurs trouvent un taux de croissance spécifique similaire au nôtre pour l'huile d'olive, 3,5 fois supérieur au nôtre pour l'huile de lin et 4 fois supérieur au nôtre pour l'huile de poisson.

Les différences de croissance observées avec nos résultats s'expliquent tout d'abord par le **poids initial des poissons** qui est plus élevé dans nos expériences. Il va jusqu'à être quatre fois plus grand dans l'étude 3 par rapport à celle de Xu et Kestemont (2002). Nous avons utilisé cette taille car elle correspond à la taille commerciale, mais pour des expériences visant à étudier le

métabolisme de l'animal il vaudrait mieux utiliser des juvéniles afin d'être dans de meilleures conditions de croissance.

La faible croissance des animaux peut également s'expliquer par des **conditions environnementales stressantes** comme la densité d'élevage et la petite taille des bassins utilisés. Plus particulièrement en ce qui concerne l'étude 2, la faible croissance peut aussi s'expliquer par le stress supplémentaire provoqué par la panne des sur-presseurs. La perche est particulièrement sensible aux perturbations extérieures et est stressée par des manipulations classiques utilisées en aquaculture (Jentoft *et al.*, 2005), par le nettoyage des bacs ou tout simplement par l'ombre des personnes se situant aux alentours des bacs (Kestemont *et al.*, 2001). Ce stress provoque une diminution de la prise alimentaire, une augmentation des dépenses énergétiques et conduit à diminuer le taux de croissance (Wendelaar-Bonga, 1997) (Strand *et al.*, 2007). L'étude de Strand et al. (2007) met en évidence des taux de croissance spécifique faibles, proches de nos résultats, pour des juvéniles soumis à un stress (entre 0.3 et 0.7% en fonction de l'intensité du stress appliqué: ombres, mouvements, nettoyage des bacs). L'utilisation de cages de couverture des bacs aurait pu éventuellement permettre de diminuer le stress lors du nourrissage des poissons.

Xu et Kestemont (2002) ont mis en évidence un effet de l'aliment sur l'efficacité alimentaire (effet significativement inférieur avec l'huile d'olive). Cet effet vraisemblablement lié à une différence d'appétence est certainement également présent dans nos deux études. L'efficacité alimentaire dans l'étude 2 est fonction de la température et de la photopériode mais la nature des lipides n'a pas d'effet. Pour l'étude 3, l'efficacité alimentaire n'a pas été quantifiée (poids des morts non mesuré), par contre, les valeurs du taux de rationnement réel montrent que les animaux ont moins consommé les aliments par rapport aux objectifs fixés. Mais il n'y a pas de différence de consommation en fonction de la source lipidique, l'appétence des aliments semble être la même. L'idéal aurait été de garder un lot témoin nourri avec l'aliment classiquement utilisé que l'on sait être bien apprécié des poissons pour vérifier si la diminution de la prise alimentaire est due à un problème d'appétence ou à autre chose.

La faible croissance peut donc s'expliquer par une sous alimentation des poissons (stress, problème d'appétence) mais elle peut aussi être due à une faible valorisation de l'aliment. En effet, l'augmentation des réserves (tissu adipeux périvsicéral) tout au long de l'expérimentation traduit nécessairement un ingéré et montre ainsi que la faible croissance est plutôt liée à la qualité des aliments ingérés (mauvaise assimilation de ces lipides, déséquilibre des apports en acides gras par rapport aux besoins) plutôt qu'à la quantité.

Dans l'étude 2, **les principaux facteurs ayant un effet sur la croissance du poisson sont la température, la photopériode et la nature des lipides**. Le poids final le plus élevé est obtenu avec une photopériode longue et une température haute. La croissance des poissons est plus faible lorsqu'on remplace l'huile de poisson par de l'huile de colza. Dans le cadre de cette expérience et avec les modalités retenues, **les meilleurs résultats de croissance sont obtenus lorsqu'une photopériode longue est associée à une température d'élevage haute et lorsqu'on n'ajoute pas de lipides d'origine végétale dans les aliments**

Cependant, l'effet de la nature des lipides alimentaires sur la croissance n'a pas été confirmé dans l'étude 3 : **la croissance des poissons est très faible, quel que soit le traitement alimentaire.**

Elle ne semble pas être influencée par la nature des lipides, cependant la puissance du test statistique est trop faible pour pouvoir conclure et il est possible que la croissance soit plus faible avec l'huile de lin. Les résultats de Xu et Kestemont (2002) montrent un effet de la nature des lipides sur la croissance avec des taux supérieurs pour l'huile de poisson et inférieurs pour l'huile d'olive. De plus les huiles végétales utilisées diffèrent dans l'étude 3 par rapport aux 2 précédentes et peut biaiser la comparaison.

Différentes études menées sur les poissons d'eau douce ont montré que le remplacement de l'huile de poisson par de l'huile végétale n'a pas d'effet négatif important sur la croissance et sur la survie des poissons (Wonacott *et al.*, 2004; Subhadra *et al.*, 2006; Torstensen *et al.*, 2006).

3.1.2 Facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides des tissus

Malgré la faible croissance des animaux, la teneur en lipides des poissons augmente tout au long de l'expérimentation.

Dans l'étude 2, parmi les douze facteurs testés dans l'expérience 1, **la température de l'eau et la nature des lipides alimentaires** sont les deux seuls facteurs ayant un **effet direct et en interaction** sur la teneur en lipides totaux du filet. La teneur en lipides du filet diminue significativement quand la température de l'eau est plus élevée et ce d'autant plus que des huiles végétales sont incorporées dans l'aliment.

3.1.2.1 Effet de la température sur la teneur en lipides du filet

Dans l'expérience 1, la teneur en lipides du filet est supérieure pour la modalité température basse, c'est-à-dire 16°C versus 23°C.

Des résultats similaires aux nôtres ont été observés chez la perche. Mairesse *et al.* (2006) mettent en évidence des différences dans la teneur en lipides du filet chez deux populations de poissons pêchées dans des environnements géographiquement différents. Les auteurs soulignent les différences d'alimentation et de température des deux milieux et montrent des teneurs en lipides totaux du filet plus élevées lorsque la température est basse.

Différents auteurs ont démontré l'effet de la température sur la teneur en lipides du filet (Fauconneau *et al.*, 1995; Fauconneau et Laroche, 1996; Van Ham *et al.*, 2003). Van Ham *et al.* (2003) ont observé comme nous des teneurs en lipides plus faibles pour des températures plus élevées. Ingemanson *et al.* (1993), ont montré que la teneur en lipides du muscle rouge de la truite augmente quand la température baisse. Selon eux, les températures élevées conduisent à une augmentation de la croissance ce qui implique une augmentation du métabolisme avec l'utilisation des réserves lipidiques comme carburant aboutissant à une diminution de la teneur en lipides du filet. D'autre auteurs ont observé à l'inverse une augmentation de la teneur en lipides qu'ils expliquent par une augmentation de la prise alimentaire stimulée par les températures élevées (Fauconneau *et al.*, 1995).

L'effet de la température n'a pas été testé sur la teneur en lipides des sites de stockage de l'énergie chez la perche, i.e le tissu adipeux périviscéral et le foie. Cependant, si l'on prend en compte l'hypothèse de l'utilisation des réserves énergétiques à haute température on peut penser que la teneur en lipides de ces tissus augmente à basse température. Cependant, on note que la température a un effet sur l'indice de gras qui diminue lorsque la température diminue ce qui est contradictoire avec l'hypothèse émise. Ceci est à mettre en parallèle avec la maturation sexuelle qui se produit à basse température associée à une photopériode courte. Chez la plupart des espèces, la maturation sexuelle et la formation des gonades se traduisent par un épuisement des réserves corporelles et une baisse de la teneur en lipides du filet. Le profil en acides gras du filet peut aussi être modifié. Chez la perche en milieu naturel, aucune variation de la teneur en lipides musculaires n'est observée (Sulistyo *et al.*, 1998). Au contraire, la mise en circulation des réserves énergétiques periviscérales semble permettre une légère augmentation de cette teneur.

L'interaction température/nature des lipides a un effet sur la teneur en lipides du filet. Cet effet se retrouve sur le taux de croissance relatif: une température basse associée à un aliment contenant uniquement de l'huile de poisson augmente le taux de croissance relatif et la teneur en

lipides du filet. Cette interaction a déjà été observée chez la truite d'élevage où les teneurs en lipides corporels sont plus élevées à basse température, associée à une faible activité de la synthétase des acides gras régulée par la composition de l'aliment (Corraze *et al.,* 1999).

La deuxième expérience menée sur la validation des combinaisons optimales ne nous a pas permis de confirmer l'effet de la température observé dans l'expérience 1 puisqu'une seule température (23°C) a été utilisée. En effet, le couple température haute (23°C) et photopériode longue (16/8) a été utilisé car cette combinaison permet d'obtenir les meilleures performances de croissance et ne provoque pas l'entrée des réserves énergétiques dans le processus de maturation sexuelle, qui est bloqué.

3.1.2.2 Effet de la nature des lipides sur la teneur en lipides des tissus

➔Teneur en lipides du filet

Excepté pour les résultats de l'expérience multifactorielle (étude 2, expérience 1), la teneur en lipides du filet ne semble pas être soumise à l'effet de la nature des lipides alimentaires, et ceci malgré la faible puissance du test statistique observé dans l'étude 3 (5%, due aux très faibles écarts). Ce résultat est en accord avec la littérature: la teneur en lipides du filet est faible et stable tout au long de l'expérimentation, quel que soit le traitement alimentaire (Xu *et al.*, 2002; Xu et Kestemont, 2002; Mairesse *et al.*, 2006). Cependant, Kestemont *et al*., (2001) ont montré que la présence d'un antioxydant dans l'aliment pouvait avoir un effet sur la teneur en lipides du filet, ce qui implique que la nature des acides gras peut agir à un certain niveau. Peut être qu'un problème d'oxydation des AG de l'aliment utilisé dans l'expérience 1 de l'étude 2 pourrait expliquer l'effet observé.

La nature des lipides alimentaires a par contre un effet sur la part des lipides neutres qui est significativement supérieure avec l'huile de poisson. Ces résultats apportent un renseignement nouveau par rapport à ceux rapportés jusqu'à présent pour la perche, mais ont déjà été observés chez d'autres espèces: Torstensen *et al*., (2004b) ont également observé des teneurs en lipides neutres plus faibles chez le saumon d'atlantique nourri avec de l'huile végétale (100% huile de colza et mélange 50/50 colza/poisson). Cependant, chez cette espèce les lipides sont stockés dans le filet alors que chez la perche les lipides sont stockés dans le tissu adipeux périviscéral et le foie. Menoyo *et al.* (2007) n'ont quant à eux pas trouvé d'effet de l'aliment (huile de poisson *vs* huile de lin) sur la répartition lipides neutres et polaires du filet chez le saumon d'atlantique. Ces différences sont liées à la teneur en lipides neutres de chaque huile.

➔Teneur en lipides du foie

A la différence du filet, la teneur en lipides du foie augmente avec le temps et est significativement inférieure pour les poissons nourris avec l'huile de poisson. Cette différence peut s'expliquer par une incorporation préférentielle de 18:1n-9 pour les animaux nourris avec de l'huile d'olive (étude 3) et de 18:2n-6 pour ceux nourris avec de l'huile de lin (étude 3) et de l'huile de colza (étude 2) comme cela a été observé chez le saumon d'atlantique (Ruyter *et al.*, 2006; Menoyo *et al.*, 2007). Xu et Kestemont (2002) ont également observé ce phénomène d'incorporation préférentielle qui conduit à une augmentation de leur teneur en lipide: Celle du foie est maximale chez les animaux nourris avec de l'huile de lin.

➔Teneur en lipides du tissu adipeux périviscéral

La nature des lipides alimentaires a un effet sur la teneur en lipides du tissu adipeux périsvicéral dans l'étude 2 qui ne se retrouve pas dans l'étude 3. Dans le premier cas, c'est plus la teneur en lipides de l'aliment qui a un effet, avec une teneur maximale pour les aliments contenant 21% de lipides quelle que soit leur nature.

Les résultats de Xu et Kestemont, 2002, montrent un effet de la nature des lipides sur la teneur en lipides des viscères, avec une teneur maximale pour les poissons nourris avec l'huile de poisson et l'huile de lin. Les différences avec nos résultats sont dues à la faible croissance des poissons et à leur poids initial. De plus, dans notre étude nous avons disséqué le gras qui entoure les viscères tandis que Xu et Kestemont (2002) ont travaillé sur les viscères entières.

➔Teneur en lipides du poisson entier

La teneur en lipides des poissons entiers a été observée dans l'étude 3. Elle ne semble pas être influencée par le traitement alimentaire. Cependant la puissance du test est faible et peut masquer un effet traitement correspondant à une teneur inférieure obtenue avec l'huile de lin (5,1%) contre 6,0% et 5,9% respectivement avec l'huile de poisson et l'huile d'olive.

3.1.3 Composition en AG des tissus

Dans l'étude 2, la composition en AG du filet a été testée en fonction d'un certain nombre de facteurs environnementaux. Les résultats ont permis de conclure que la composition en AG du filet est soumise à l'effet des facteurs environnementaux différemment en fonction du type d'AG, **certains AG ont un déterminisme simple avec seulement un ou deux facteurs ayant un effet, d'autres un déterminisme plus complexe**.

Dans notre expérience, la teneur en 16:0 du filet n'est soumise à l'effet d'aucun facteur environnemental parmi les 12 facteurs testés.

3.1.3.1 Déterminisme de la composition en AG

Concernant la composition en AG du filet, parmi ceux testés, **le 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 20:1n-9 ont un déterminisme simple** : ils sont soumis à un seul effet : la nature des lipides alimentaires.

Le **16:1n-7 et le 18:4n-3** sont soumis à l'effet de deux facteurs : la nature des lipides alimentaires et la température. Pour le 18:4n-3 la température a un effet seul, alors que pour le 16:1n-7 la température interagit avec la nature des lipides. Ceci se retrouve aussi pour l'**EPA** et le **DHA** qui sont soumis à 3 effets : la nature des lipides alimentaires, la température et l'interaction température/nature des lipides pour l'EPA, la nature des lipides alimentaires, la densité finale et le taux de rationnement pour le DHA.

Les acides gras **18:3n-3** et **20:4n-6 ont un déterminisme très complexe** car ils sont soumis respectivement à 6 et 10 effets incluant 3 effets d'interaction.

Ces résultats permettent de mettre en évidence des différences entre les familles d'acides gras: les **n-9 semblent être assez stables au contraire des n-6 et des n-3 qui sont apparemment soumis à l'effet de plusieurs facteurs**. Ceci peut s'expliquer par leurs rôles respectifs, les n-9 ayant surtout un rôle important dans les réserves énergétiques tandis que les n-6 et les n-3 interviennent à plusieurs autres niveaux du métabolisme (croissance, reproduction…). De plus, on peut noter que pour les n-6 la complexité du déterminisme augmente avec le degré d'insaturation. La tendance semble être inversée pour les n-3, sauf pour l'EPA et le DHA.

L'approche multifactorielle nous a permis de mettre en évidence des interactions de facteurs ayant un effet sur la composition en AG. A notre connaissance il n'existe pas pour l'instant d'autres études de ce type dans la littérature.

3.1.3.2 Effet de la température sur la composition en AG du filet.

Nos résultats confirment les données de la littérature, puisque l'effet de la température sur la composition en acides gras des tissus a été démontré chez différentes autres espèces, et **apportent des informations nouvelles en montrant que cet effet température est souvent modifié par d'autres effets (interactions significatives).**

L'effet température varie en fonction de l'espèce, du type de tissu et de la nature des lipides. En règle générale, à basse température la proportion d'AGS diminue alors que celle d'acides gras

insaturés (mono et poly-insaturés) augmente (Hazel, 1979; Cossins et Lee, 1985), l'activité des enzymes impliquées dans la désaturation des AG étant plus élevée à basses températures (Schuenke et Wodtke, 1983; Hagar et Hazel, 1985; Tocher *et al.*, 2004).

Ce n'est pas le cas dans notre étude où la température seule n'a pas d'effet sur la somme des AGS, AGMI, AGPI. La température a un effet sur les AGPI (somme des AGPIn-6, 20:4n-6 et EPA) dont les teneurs augmentent lorsque la température est plus élevée. Ces différences sont peut être dues aux températures testées: l'écart entre les deux températures est faible et notre modalité basse (16°C) est plus élevée que les températures classiquement utilisées (10°C pour Hagar, Hazel, 1985, 5°C pour; Schuenke, Wodtke, 1983 ou 7°C pour Tocher*, et al.*, 2004).

3.1.3.3 Effet de la nature des lipides alimentaires sur la composition en AG des tissus

La nature des lipides alimentaires est le facteur le plus important qui intervient sur la plupart des AG du filet. Dans nos deux études, malgré la faible croissance des animaux, le profil en AG des poissons entiers et des tissus (filet, foie, tissu adipeux périviscéral) est différent en fonction de l'aliment testé.

L'utilisation d'huile végétale contribue à diminuer les teneurs en AGPI n-3 (DHA, EPA) et à augmenter les teneurs en 18:3n-3 (huile de lin, de colza), 18:1n-9 (huile d'olive) et 18:2n-6 (huile de lin, de colza). A l'inverse, les poissons nourris avec de l'huile de poisson ont des profils plus proches de celui des poissons initiaux et sont plus riches en AG à longue chaîne 20:4n-6, EPA et DHA. L'utilisation de l'huile végétale peut donc affecter la qualité nutritionnelle du poisson.

La composition en AG des tissus reflète habituellement celle de l'aliment (Jobling, 2001). Nos résultats confirment ceux de la bibliographie, le remplacement de l'huile de poisson par de l'huile végétale se traduit sur la composition en acides gras des tissus chez toutes les espèces par une diminution de la teneur en EPA et en DHA et par une augmentation de la teneur en acides gras à 18 carbones (Alexis, 1997; Bell *et al.*, 2001a; Izquierdo *et al.*, 2003; Regost *et al.*, 2003; Mairesse *et al.*, 2006).

Cependant, nos résultats montrent des teneurs en AGPIn-3 tissulaires nettement supérieures à celles de l'aliment. Ceci confirme les résultats de la littérature et est le signe de la présence d'une bioconversion endogène (Xu et Kestemont, 2002)

Nos résultats montrent également que chaque tissu répond différemment à l'effet de l'aliment et ceci est lié à la composition initiale des tissus en rapport avec la fonction qu'ils

occupent (cf Chapitre 1). Dans l'étude 2, lorsque les poissons sont nourris avec un aliment à base d'huile végétale, le profil en AG du tissu adipeux est représentatif de celui de l'aliment. Au contraire, quand les poissons sont nourris avec de l'huile de poisson uniquement, c'est le profil en AG du filet et du foie qui ressemble à l'aliment. Ceci est lié aux principaux AG des tissus qui reflètent les principaux AG des aliments.

Dans l'étude 3, les huiles végétales contiennent des teneurs inférieures en EPA et DHA par rapport à celles retrouvées dans l'huile de poisson. Ces différences se retrouvent dans les tissus mais dans une moindre mesure soulignant ainsi l'importance de ces AG pour le poisson. L'huile de lin et l'huile d'olive contiennent 5 fois moins de DHA que l'huile de poisson. Dans le foie, la teneur en DHA des animaux nourris avec de l'huile végétale est 1,8 fois plus faible que celle des animaux nourris avec de l'huile de poisson. Dans le tissu adipeux ce rapport passe à 1,5 et dans le filet à 1,1.

Cette **rétention préférentielle d'AGPIn-3** a été observée chez d'autres espèces comme le saumon atlantique (Bell *et al.*, 2001a; Bell *et al.*, 2002), la truite arc en ciel (Caballero *et al.*, 2002), le turbot (Regost *et al.*, 2003), le bar (Mourente *et al.*, 2005), la daurade (Izquierdo *et al.*, 2005) et plus récemment le sar à bec fin (Piedecausa *et al.*, 2007).

Le filet semble retenir de façon plus importante le DHA que les autres tissus. Dans le foie et dans le tissu adipeux, l'utilisation d'huile végétale (HL et HO) provoque une diminution d'environ 50% de la teneur en DHA et en EPA par rapport au profil en AG initial. Dans le filet la diminution est d'environ 30%. Et ceci est peut être lié au rôle important du DHA dans le métabolisme du filet du poisson.

Les résultats de l'étude 3 confirment ceux de l'étude 2 mais ils nous apportent une information supplémentaire concernant l'effet de la nature des lipides alimentaires sur les lipides neutres et polaires : **les effets observés sur les lipides totaux se retrouvent dans les lipides neutres et l'aliment a peu d'effet sur les lipides polaires**. Par exemple, dans le filet, l'utilisation d'huile d'olive augmente significativement la teneur en AGMI et diminue significativement la teneur en AGPIn-3 dans les lipides neutres alors qu'elle n'a aucun effet sur ces AG dans les lipides polaires. Par contre, la teneur en DHA des lipides polaires est supérieure chez les animaux nourris avec de l'huile d'olive. Cette différence est significative dans le filet.

En règle générale, l'effet de l'aliment est plus important sur la composition en acides gras des lipides neutres que sur celle des lipides polaires. C'est le cas chez le saumon atlantique (Ruyter *et al.*, 2006) où le profil en AG de l'aliment se reflète de manière plus importante dans les lipides

neutres. Chez les juvéniles de bar, la carence en AGPIn-3 dans l'aliment influence fortement la composition en AG des lipides neutres et plus modérément celle des lipides polaires. Comme chez la perche, chaque tissu testé (foie, filet, branchies, œil, cerveau) possède des caractéristiques lipidiques qui lui sont propres, ainsi que des caractéristiques qui lui sont propres en termes de réponses aux carences alimentaires. Ainsi le tissu neural (cerveau et œil) du bar a une forte capacité à réguler le contenu en DHA de ses lipides polaires, préservant de cette manière ses fonctionnalités malgré les carences (Skalli *et al.*, 2005). Comme pour notre expérience, le profil en AG du filet est celui qui est le plus semblable au profil du poisson entier.

3.1.4 Conclusion

En conclusion on peut dire que **parmi les douze facteurs testés, la nature des lipides alimentaire est le facteur qui a l'effet le plus important sur la composition en AG des tissus**. Le profil en AG des tissus reflète celui de l'alimentation, avec des différences en fonction du tissu. Cependant, d'autres facteurs peuvent interagir avec la nature des lipides alimentaires, tels que la température ou le taux de rationnement. Certains AG sont soumis à de nombreux effets (18:3n-3, 20:4n-6), d'autres comme le DHA ont un déterminisme relativement plus simple.
Afin de mieux comprendre l'action de la température sur le métabolisme des lipides il faudrait tester son effet sur les lipides neutres et polaires ainsi que sur les autres tissus (foie, tissu adipeux).

Le but de nos expériences, et plus précisément de l'étude 3, était de voir si la perche est capable de biosynthétiser du DHA à partir de l'AG précurseur 18:3n-3. Si tel est le cas, une alimentation à base d'huile de lin pourrait conduire à des teneurs en DHA proches de celles obtenues avec de l'huile de poisson et ainsi permettre d'obtenir des poissons de qualité nutritionnelle proche. Ceci n'a pas été démontré dans nos études et s'avère différent de ce qui a été observé chez la perche par Xu et Kestemont (2002).
Nos résultats montrent une teneur en DHA significativement supérieure pour le foie et le tissu adipeux des animaux nourris avec de l'huile de poisson.
Par contre, dans le filet il n'y a pas de différence significative entre HP et HO avec un écart absolu de 2.2% entre ces 2 traitements, ce qui est relativement faible et permet de faire l'hypothèse que si même cet effet peut exister (puissance du test limite de 63%), il est très faible.

Ces résultats corroborent en partie ceux de Xu et Kestemont (2002) puisque ces derniers ont mis en évidence une teneur en DHA indépendante de l'aliment pour le filet et variable pour les viscères et le foie. Mais ils montrent que dans le foie, la teneur en DHA est identique pour les animaux nourris

avec de l'huile de lin et de l'huile de poisson (18:3n-3 transformé en DHA dans l'huile de lin) et inférieure pour ceux nourris avec l'huile d'olive alors que nos résultats montrent un écart important entre teneurs en DHA avec un aliment à base d'huile de poisson et à base d'huile de lin.

Les différences avec nos résultats peuvent avoir plusieurs explications :

La première est la présence d'une activité biosynthétique faible dans notre étude due à la faible croissance du poisson. On observe tout de même, dans le foie uniquement, une augmentation significative de la teneur en 18:4n-3 pour les poissons nourris avec l'huile de lin. Le 18:3n-3 ingéré en grande quantité a été un peu transformé en 18:4n-3 mais cette bioconversion ne s'est pas poursuivie jusqu'au DHA. Ceci est différent des résultats de Xu et Kestemont (2002) où la teneur en 18:3n-3 des tissus des poissons nourris avec de l'huile de lin est nettement plus faible que la teneur dans l'aliment, montrant ainsi une forte bioconversion de DHA. Cette bioconversion semble être plus élevée dans le foie.

Des teneurs élevées en 18:4n-3 ont également été observées dans le foie de la morue de Murray (Francis *et al.*, 2006) et du poisson porte épée (Ling *et al.*, 2006a) en réponse à une alimentation à base d'huile de lin, signe que cette huile permet d'activer les voies de bioconversion des AGPIn-3.

La deuxième explication concerne la composition en AG des aliments. Dans l'expérience de Xu et Kestemont l'huile de lin et l'huile d'olive sont totalement dépourvues de DHA et d'EPA ce qui n'est pas le cas dans nos études (HL: 2,5%DHA, 2,7%EPA ; HO: 3%DHA, 1.8%EPA). **Il semblerait donc que les teneurs en DHA et en EPA de l'aliment dans notre étude aient été suffisantes pour que les animaux aient moins besoin de bioconvertir les AG alimentaires. Ces valeurs d'EPA et de DHA exercent un retrocontrôle sur le métabolisme des AGPIn-3.**

La durée de l'expérimentation (3 mois) peut également être un facteur explicatif. Xu et Kestemont (2002) ont nourris leurs animaux durant 10 semaines ce qui est à peu près équivalent à notre expérimentation. Cependant ils ont utilisé des juvéniles avec un poids initial 5 fois plus bas que celui des poissons utilisés dans notre expérience. Dans notre étude la durée de l'expérience aurait pu être multipliée par deux pour pouvoir observer des changements dans le métabolisme.

3.2 Effet de la nature des lipides alimentaires sur le métabolisme des AGPIn-3

La richesse en AGPIn-3 des tissus de la perche est un critère de qualité important. Dans l'optique d'améliorer la qualité de la perche et afin de mieux comprendre les effets observés sur la composition en AG des tissus, l'effet de la nature des lipides alimentaires (facteur le plus

important) a été testé sur le métabolisme des AGPIn-3 et donc sur l'expression et l'activité de la delta 6 désaturase, enzyme limitante dans la bioconversion des AGPIn-3.

3.2.1 Effet de la nature des lipides alimentaires sur l'expression génique de la delta 6 désaturase dans le foie

Il n'y a pas d'effet transcriptionnel visible de l'aliment sur l'expression génique de la delta 6 désaturase mesurée dans le foie après 3 mois d'expérimentation. Les explications rejoignent celles déjà émises concernant la composition en AG :

La première explication est qu'il n'y a **pas de régulation nutritionnelle** ou que **la faible croissance des poissons** ne permet pas de mettre en évidence un éventuel effet de l'alimentation. La quantité d'aliment ingéré est peut être trop faible pour faire varier de manière significative la transcription des gènes.

La deuxième explication concerne la **durée de l'expérimentation**. Peut être y a-t-il eu un changement visible après 1 mois par exemple et qu'ensuite ce taux se soit normalisé ou alors peut être que la durée d'expérimentation est trop faible pour provoquer un effet visible de l'aliment sur la transcription des gènes. Dans la littérature la durée d'expérimentation est comprise entre 8 semaines et 2 ans.

La troisième explication étant que, s'il y a eu régulation nutritionnelle mais qu'elle n'est pas visible au niveau de la transcription de l'ARNm, elle peut alors avoir lieu au **niveau de la traduction de l'ARNm** en protéine ou alors **au niveau de l'activité de l'enzyme**. La traduction de l'ARN en protéine pourrait être évaluée par Western Blot. Cette méthode de détection immunologique de la protéine delta 6 désaturase nécessite cependant des anticorps spécifiques dirigés contre cette enzyme. A notre connaissance ceci n'existe pas pour la perche. De plus, ce type de manipulation pourrait effectivement nous donner une information sur l'effet de l'aliment sur la quantité de protéine traduite, mais ne nous permettrait pas d'affirmer si cette protéine est fonctionnelle. Pour cela, seule une expérience à base d'AG marqués pourrait nous donner cette information. Ce type d'expérience nous fournirait une évaluation de l'activité biosynthétique totale de la cellule (delta 6 et delta 5 désaturation, élongation). Zheng et *al*., (2004b) ont montré chez le saumon que l'augmentation de l'expression des enzymes est corrélée à une augmentation de leur activité.

3.2.2 Effet de la nature des lipides alimentaires sur l'activité de la voie de bioconversion des AGPIn-3 dans les hépatocytes

Du DHA radioactif a été retrouvé dans les lipides des hépatocytes indépendamment du traitement alimentaire utilisé. La faible quantité de radioactivité injectée dans les cellules ne nous a pas permis d'obtenir des données statistiquement fiables et ne nous permet pas de conclure sur l'effet de l'alimentation sur l'activité de la voie de bioconversion des AGPIn-3 dans les hépatocytes de la perche.

Ces résultats nous ont permis de voir que **les enzymes impliquées dans la bioconversion des AGPIn-3 sont actives quel que soit le traitement alimentaire**. Mais nous n'avons pas pu mesurer avec efficacité cette activité.

A notre connaissance, aucun auteur n'a pour l'instant publié de résultats sur l'effet de la nature des lipides sur l'activité et sur l'expression des enzymes impliquées dans la bioconversion des AGPIn-3 chez la perche. Par contre il existe des études sur l'effet de l'alimentation sur le métabolisme lipidique menées chez des espèces d'eau douce et des espèces marines. Nos résultats sont différents de ceux observés dans la littérature sur les poissons d'eau douce. En effet, il a été démontré chez les salmonidés que l'utilisation d'huile végétale dans l'aliment provoque une augmentation de l'activité de bioconversion des AGPI dans le foie (Bell *et al.*, 1997; Tocher *et al.*, 2001; Ruyter *et al.*, 2003; Tocher *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2005b) et dans l'intestin (culture d'enterocytes) (Tocher *et al.*, 2002) qui sont tous les deux des sites importants dans l'activité biosynthétique des AG. L'étude de Zheng *et al.* (2005b) a montré que l'utilisation d'huile végétale induit une augmentation de l'expression de la delta 5 et de la delta 6 desaturase dans les intestins, foie, muscle rouge et tissu adipeux. Ling *et al.* (2006b), ont également montré une augmentation de l'expression de la delta 6 et de la delta 5 désaturase dans le foie, le filet et les ovaires du poisson porte épée en réponse à une alimentation à base d'huile de lin.

Le mécanisme de l'augmentation de l'activité de bioconversion des AGPIn-3 en réponse à une alimentation riche en huile végétale n'a pas encore entièrement été élucidé. Par contre l'effet inhibiteur des AGPI dans l'alimentation a été clairement démontré : la présence d'AGPI dans l'aliment inhibe l'activité biosynthétique (Brenner, 1981) en provoquant la suppression de l'expression des gènes codant pour les enzymes impliquées dans la bioconversion des AGPI (Tocher, 2003; Zheng *et al.*, 2004b). De la même façon, l'absence d'AGPI dans l'alimentation pourrait provoquer une augmentation de l'activité biosynthétique, potentialisée par la présence d'acide gras précurseurs dans les huiles végétales (18:3n-3 et 18:2n-6). Zheng, *et al.* (2004 b) ont

montré que l'activité de la delta 5 desaturase et d'une élongase était corrélée de façon positive avec la teneur en 18:3n-3 de l'aliment et de façon négative avec la teneur en AGPIn-3 supérieurs.

3.3 Conclusion

Le but de cette expérience était de voir comment la nature des lipides pouvait avoir une influence sur le métabolisme et la composition en AG des tissus et donc sur la qualité nutritionnelle du poisson.

Dans des conditions de faible croissance, l'aliment a peu d'effet sur le métabolisme des AGPIn-3. Le seul effet visible est la baisse d'AGPIn-3 et la hausse des AG en 18 associée à l'utilisation d'huiles végétales.

La delta 6 désaturase est exprimée et active dans le foie, cependant nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet de l'alimentation. Chez les salmonidés et chez le poisson porte épée, il a été démontré que l'utilisation d'huile végétale riche en 18:3n-3 augmente l'activité biosynthétique corrélée à une augmentation de l'expression enzymatique. Cependant cette activité ne compense pas forcément le manque de DHA et d'EPA de l'aliment et conduit tout de même à diminuer la qualité nutritionnelle des tissus (Tocher *et al.*, 2001; Tocher *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2005a; Ling *et al.*, 2006a).

A l'inverse, la perche semble être capable d'utiliser quasiment entièrement le 18:3n-3 de l'aliment pour le transformer en DHA lorsque l'aliment n'en contient pas (Xu et Kestemont, 2002), ce qui n'était pas le cas dans notre étude. Il semblerait que les faibles quantités de DHA et d'EPA présentes dans l'alimentation soient suffisantes pour le métabolisme du poisson. Les teneurs en DHA du filet sont élevées et similaires à celles de la littérature. On peut en conclure que **dans des conditions de faible croissance, sur des poissons de taille commerciale, une teneur de 3% de DHA et de 2% d'EPA dans l'alimentation est suffisante pour garantir la qualité nutritionnelle du poisson**.

Il faudrait refaire cette expérience avec les mêmes conditions expérimentales mais dans des conditions de croissance non limitées.

CONCLUSION GENERALE

Dans une problématique de diversification de l'aquaculture continentale, le but de ce travail de thèse était de caractériser et de comprendre la qualité nutritionnelle de la chair de perche en expliquant d'où viennent les fortes teneurs en AGPIn-3 et plus particulièrement en DHA dans différents tissus. Comme dans la littérature, un taux élevé de DHA (20 à 40%) a été retrouvé dans tous les tissus et dans les deux types de lipides. Cette composition, caractéristique d'un poisson maigre, fait de la perche un bon modèle pour contribuer à l'étude du métabolisme des AGPIn-3.

Les hypothèses permettant d'expliquer les fortes teneurs en DHA sont une incorporation et une rétention préférentielle de cet AG ainsi qu'une capacité, typique des poissons d'eau douce, à bioconvertir le 18:3n-3 présent dans l'alimentation en AGPIn-3 supérieur, EPA et DHA.
Ces hypothèses ont été vérifiées dans notre étude :
⇨ Premièrement, **la rétention préférentielle de DHA a été mesurée dans les trois tissus avec une rétention plus importante dans le filet.**
⇨ Deuxièmement, **l'enzyme delta 6 désaturase impliquée dans la voie de bioconversion du DHA a été retrouvée dans le foie et son activité a été démontrée**.

Nous avons démontré que **la nature des lipides alimentaires en effet direct ou en interaction avec d'autres facteurs est le facteur le plus important ayant un effet sur la composition en AGPIn-3 du poisson.**

L'utilisation d'huiles végétales dans l'alimentation du poisson est un challenge important car elle permettrait d'économiser l'huile de poisson de moins en moins disponible. Cependant elle a un effet négatif sur la qualité nutritionnelle du poisson car elle contient peu ou pas d'EPA et de DHA. Mais cet effet peut être compensé grâce aux teneurs élevées en AG précurseurs de DHA qui pourraient entraîner une augmentation de l'expression et de l'activité des enzymes impliquées dans la bioconversion des AGPIn-3. Cependant, chez les salmonidés, cette augmentation d'activité ne compense pas forcément le manque de DHA et d'EPA de l'aliment. Chez la perche, une seule étude était disponible à ce sujet et montrait qu'à l'inverse des salmonidés la perche serait capable de compenser le manque de DHA et d'EPA. Nous avons démontré que dans des **conditions de croissance limitées, sur un poisson de taille commerciale, une teneur de 3% de DHA et de 2% d'EPA dans l'aliment était suffisante pour obtenir une composition en AG de la chair de bonne qualité pour le consommateur avec une bioconversion des AGPIn-3 limitée.** Il faudrait recommencer la même expérimentation mais en utilisant des poissons de petite taille afin de

travailler dans des conditions de croissance non limitées et de doser l'activité biosynthétique des AGPIn-3 et de voir si dans de telles conditions le poisson est capable de compenser le manque de DHA et d'EPA par bioconversion du 18:3n-3 présent dans l'alimentation.

PERSPECTIVES

Les résultats de ce travail complètent les résultats des quelques publications disponibles sur la perche. Ils constituent les premiers concernant le dosage de l'expression et de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme des AGPIn-3 chez cette espèce.

De ce fait, plusieurs axes de travail peuvent être abordés afin de compléter les résultats :

Tout d'abord en ce qui concerne l'analyse du profil en AG des poissons, il faudrait optimiser la technique de dosage dans les tissus afin de diminuer la variabilité attribuée à la méthode. Pour mesurer de façon plus précise l'incorporation des AG il faudrait utiliser des AG marqués dans la nourriture des animaux.

Ensuite, pour mieux définir le flux des AG, il faudrait déterminer la composition lipidique du plasma et des lipoprotéines afin d'avoir une information supplémentaire sur les lipides alimentaires absorbés, présents dans le sang sous forme d'acides gras. Il pourrait également être intéressant de doser l'activité de la lipoprotéine lipase qui joue un rôle important dans la captation des lipides des tissus.

Afin de voir comment il peut être possible d'optimiser la qualité nutritionnelle du poisson par l'aliment, il faudrait tester une deuxième fois l'effet des aliments de composition en AG différente sur le métabolisme des AGPIn-3 en optimisant les techniques de dosage et en utilisant des animaux de plus petite taille et dans de bonnes conditions de croissance.

Il faudrait pour cela séquencer les gènes codant pour la delta 5 et la delta 6 desaturase pour doser de façon plus précise l'expression des enzymes dans le tissu. Il faudrait également quantifier l'effet du traitement alimentaire sur l'activité du système desaturase/elongase dans les hépatocytes et pourquoi pas également dans les adipocytes et les fibres musculaires afin de voir si l'activité est la même dans tous les tissus.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ackman, R. G. (1989). Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils. Florida, CRC Press.

Ackman, R. G. (1995). Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids. Fish and fisheries products. Composition, nutritive properties and stability. A. Ruiter, CAB International**:** 117-156.

Alexis, M. N. (1997). "Fish meal and fish oil replacers in Mediterranean marine fish diet." Cah. Options Mediterr. 22: 183-204.

Alvarez, M. J., A. Diez, C. Lopez-Bote, M. Gallego and J. M. Bautista (2000). "Short term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes." British Journal of Nutrition 84: 619-628.

Arts, M. T., R. G. Ackman and B. J. Holub (2001). "Essential fatty acids in aquatic ecosystem : a crucial link between diet and human health and evolution." Can. J. Fish . Aquat. Sci 58(122-137).

Babiak, I., E. Brzuska and J. Perkowski (2000). "Fractional factorial design of screening experiments on cryopreservation of fish sperm." Aquac Research 31: 273-282.

Bell, J. G., I. Ashton, C. J. Secombes, B. R. Weitzel, J. R. Dick and J. R. Sargent (1996). "Dietary lipid affects phospholipid and fatty acid compositions, eicosanoid production and immune function in Atlantic salmon (*Salmo salar*)." Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids: 173-182.

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

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

Bell, J. G., J. McEvoy, J. L. Webster, F. McGhee, R. M. Millar and J. R. Sargent (1998). "Flesh lipid and carotenoid composition of Scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*)." J. Agric. Food. Chem 46: 119-127.

Bell, J. G., F. McGhee, P. J. Campbell and J. R. Sargent (2003a). "Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out"." Aquaculture 218(1-4): 515-528.

Bell, J. G., D. R. Tocher, B. M. Farndale, D. I. Cox, R. W. McKinney and J. R. Sargent (1997). "The effect of dietary lipid on PUFA metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation." Lipids 32: 515-525.

Bell, J. G., D. R. Tocher, F. M. MacDonald and J. R. Sargent (1994). "Effects of diets rich in linoleic and alpha linolenic acids on growth, lipid class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophtalmus maximus* L.)." Fish physiology and Biochemistry 13: 105-118.

Bell, M. V., J. R. Dick and A. E. A. Porter (2001b). "Biosynthesis and tissue deposition of DHA in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." Lipids 36(10): 1153-1159.

Bell, M. V., J. R. Dick and A. E. A. Porter (2003b). "Tissue deposition of n-3 pathway intermediates in the synthesis of DHA in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)." Lipids 38(9): 925-931.

Bell, M. V., R. J. Henderson and J. R. Sargent (1986). "The role of polyunsaturated fatty acids in fish." Comp Biochem Physiol(4): 711-719.

Bilinski, E., R. E. Jonas and Y. C. Lau (1971). "Lysosomal triglyceride lipase from lateral line muscle of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*)." J.Fish.Res.Bd.Can 28: 1015-1018.

Bilinski, E. and Y. C. Lau (1969). "Lipolytic activity toward long-chain triglycerides in lateral line muscle of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*)." J.Fish.Res.Bd.Can 26: 1837-1866.

Black, D., A. M. Youssef and E. R. Skinner (1983). "The mechanism of lipid uptake by tissues in rainbow trout." Biochem. Soc. Trans 11: 93-94.

Borresen, T. (1992). Quality aspects of wild and reared fish. Quality assurance in the Fish Industry Huss H.H et al., Elsiever Science: 1-17

Boujard, T., A. Gelineau, D. Coves, C. G., G. Dutto, E. Gasset and S. Kaushik (2004). "Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets." Aquaculture 231: 529-545.

Bourre, J. M., M. Piciotti and O. Dumont (1990). "Delta 6 desaturase in brain and liver during development and aging." Lipids 25: 354-356.

Box, G. E. P., W. G. Hunter and J. Stuart (1978). An introduction to design, data analysis, and model building. Statistics for experimenters. New York, Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics**:** 374-434.

Brauge, C., G. Corraze and F. Médale (1995). "Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater." Comp. Biochem. Physiol. 111A: 117-124.

Brenner, R. R. (1981). "Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids." Prog Lipid Res 20: 41-47.

Brenner, R. R. (1989). Factors influencing fatty acid chain elongation and desaturation. The role of fats in human nutrition. A. J. Vergroesen and M. Crawford. San Diego, Academic Press. 2nd Ed.**:** 45-79.

Brenner, R. R. and R. O. Peluffo (1966). "Effect of saturated and unsaturated fatty acids on the desaturation in vitro of palmitic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic acids." J. Biol. Chem 241: 5213-5219.

Brown, M. F. (1994). "Modulation of rhodopsin function by properties of the membrane bilayer." Chem. Phys. Lipids 73: 159-180.

Buzzi, M., R. J. Henderson and J. R. Sargent (1996). "The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil." Biochimica et Biophysica Acta 1299: 235-244.

Buzzi, M., R. J. Henderson and J. R. Sargent (1997). "Biosynthesis of DHA acid in trout hepatocytes proceeds via 24 carbon intermediates." Comp. Biochem. Physiol 116B(2): 263-267.

Caballero, M. J., A. Obach, G. Rosenlund, D. Montero, M. Gisvold and M. S. Izquierdo (2002). "Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*." Aquaculture 214: 253-271.

Chang, B. E., S. L. Hsieh and C. M. Kuo (2000). "Molecular cloning of full length cDNA encoding delta 9 desaturase through PCR strategies and its genomic organisation and expression in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)." Mol Reprod Develop 58: 245-254.

Chen, I. S., C. S. J. Shen and A. J. Sheppard (1981). "Comparison of methylene chloride and chloroform for extraction of fats from food products." J. Am. Oil. Chem. Soc 58: 599-601.

Cho, H. P., M. T. Nakamura and S. D. Clarke (1999a). "Cloning, expression and nutritionnal regulation of the mammalian delta 6 desaturase." J. Biol. Chem 274(1): 471-477.

Cho, H. P., M. T. Nakamura and S. D. Clarke (1999b). "Cloning, expression, and fatty acid regulation of the human delta 5 desaturase." J. Biol. Chem 274(52): 37335-37339.

Christiansen, E. N., J. S. Lund, T. Rortveit and A. C. Rustan (1991). "Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver." Biochimica et Biophysica Acta 1082(1): 57-62.

Christie, W. W. (1982). Lipid Analysis. Oxford, Pergamon press.

Cordier, M., G. Brichon, J.-M. Weber and G. Zwingelstein (2002). "Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Roles of environmental temperature and salinity." Comp. Biochem. Physiol 133B(3): 281-288.

Corraze, G. and S. Kaushik (1999). "Les lipides des poissons marins et d'eau douce." OCL 6(1): 111-115.

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

Cossins, A. R. and J. A. C. Lee (1985). The adaptation of menbrane structure and lipid composition to cold. Circulation, Respiration and Metabolism. R.Gilles. Berlin, Springer-Verlag**:** 543-552.

Cowey, C. B. and J. R. Sargent (1977). "Lipid nutrition in Fish." Comp Biochem Physiol 57B: 269-273.

Cowley, D. J. and M. A. Sheridan (1993). "Insulin stimulates hepatic lipogenesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss.*" Fish physiology and Biochemistry 11: 421-428.

Craig, J. F. (1977). "Seasonal changes in the diet and night activity of adult perch, *Perca fluviatilis* L." Journal of Fish Biology 11: 161-166.

Craig, S. R., D. S. Mackenzie, G. Jones and D. M. Gatlin III (2000). "Seasonnal hanges in th reproductive condition on bodey composition of free rearing red drum, *Sciaenops ocellatus*." Aquaculture 190(1-2): 89-102.

Dacosta, Y. (1998). La supplémentation nutritionnelle par les acides gras oméga-3. France.

Dallongeville, J., J. Yarnell, P. Ducimetiere, D. Arveiler, J. Ferrieres, M. Montaye, G. Luc, A. Evans, A. Bingham, B. Hass, J.-B. Ruidavets and P. Amouyel (2003). "Fish consumption is associated with lower heart rates." Circulation 108(7): 820-825.

Daniel, C. (1959). "Use of half-normal plots in interpreting factorial two-level experiments." Technometrics 1: 311-341.

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

Eberhagen, D., H. Mrosek, N. Pranzelt and W. Seitz (1969). "On the synthesis product of fatty acid synthetase from the livers of different vertebrates." Hoppe Seylers Z Physiol Chem 350: 407-410.

Eroldogan, O. T., M. Kumlu and M. Aktas (2004). "Optimum feeding rates for European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. reared in seawter and freshwater." Aquaculture 231(1-4): 501-515.

Falch, E., T. R. Storseth and M. Aursand (2006). "Multi-component analysis of marine lipids in fish gonads with emphasis on phospholipids using high resolution NMR spectroscopy." Chemistry and Physics of Lipids 144(1): 4-16.

Fauconneau, B., H. Alami-Durante, M. Laroche, J. Marcel and D. Vallot (1995). "Growth and meat quality relations in carp." Aquaculture 129: 265-297.

Fauconneau, B. and M. Laroche (1996). "Characteristis of the flesh and quality of products of catfishes." Aquatic Living Resources 9: 165-179.

Florant, G. L., L. C. Nuttle, D. E. Mullinex and D. A. Rintoul (1990). "Plasma ans white adipose tissue lipid composition in marmots." Am.J.Physiol 258: R1123-R1131.

Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane-Stanley (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues." J. Biol. Chem 226: 497-509.

Fontaine, P., Gardeur, J.N., Kestemont, P., Georges, A. (1997). "Influence of feeding level on growth, intraspecific weight variability and sexual growth dimorphism of Eurasian perch P. fluviatilis reared in a recirculation system." Aquaculture 157: 1-9.

Francis, D. S., G. M. Turchini, P. L. Jones and S. S. De Silva (2006). "Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*." Aquaculture 253: 547-556.

Froyland, L., O. Lie and R. K. Berge (2000). "Mitochondrial and peroxisomal beta oxydation capacities in various tissues from Atlantic salmon Salmo salar." Aquaculture Nutrition 6: 85-89.

Gardeur, J. N., N. Mathis, A. Kobilinsky and J. Brun-Bellut (2007). "Simultaneous effects of nutritional and environmental factors on growth and flesh quality of *Perca fluviatilis* using a fractional factorial design study." Aquaculture 273, (1): 50-63.

Ghioni, C., D. R. Tocher, M. V. Bell, J. R. Dick and J. R. Sargent (1999). "Low C18 to C20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18:4(n-3), to eicosapentaenoic acid, 20:5(n-3), in a cell line from turbot, *Scophtalmus maximus*." Biochimica et Biophysica Acta 1437: 170-181.

Ghioni, C., D. R. Tocher and J. R. Sargent (1997). "The effect of culture on morphology, lipid and fatty acid composition, and polyunsaturated fatty acid metabolism of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin cells." Fish physiology and Biochemistry 16: 499-513.

Giron, M. D., A. Lara and M. D. Suarez (1996). "Effects of dietary fats on the lipid composition and desaturase activities of rat liver microsomes." Biochemistry and molecular biology international 40(4): 843-851.

Gisbert, E., M. C. Sarasquete, P. Williot and F. Castelló-Orvay (1999). "Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny." J. Fish. Biol 55: 596-616.

Gjedrem, T. (1993). "Genetic variations in quantitative traits and selective breeding in fish and shellfish." Aquaculture 33: 51-72.

Gökçe, M. A., O. Tasbozan, M. Celik and S. S. Tabakoglu (2004). "Seasonal variations in proximate and fatty acid compositions on female common sole (*Solea solea*)." Food Chemistry 88(3): 419-423.

Goupy, J. L. (2001). La méthode des plans d'expériences. Optimisation du choix des essais & de l'interprétation des résultats. . Dunod. Paris 293.

Greene, D. H. S. and D. P. Selivonchick (1987). "Lipid metabolism in fish." Prog Lipid Res 26: 53-85.

Haard, N. F. (1992). "Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish." Food Research International 25: 289-307.

Hagar, A. F. and J. R. Hazel (1985). "Changes in desaturase activity and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissue of thermally acclimating rainbow trout." J. Comp. Physiol B 156: 35-42.

Harmon, J. S., K. G. Michelsen and M. A. Sheridan (1991). "Purification and partial purification of hepatic triacylglycerol lipase isolated from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*." Fish Physol. Biochem 9: 361-368.

Harper, C. R. and T. A. Jacobson (2001). "The fats of life: The role of omega 3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease." Archives of International Medicine 161: 2185-2192.

Hastings, N., M. Agaba, D. R. Tocher and e. al. (2001). "A vertebrate fatty acid desaturase with delta 5 and delta 6 activities." PNAS 98: 14304-14309.

Hastings, N., M. Agaba, D. R. Tocher, X. Zheng, C. A. Dickson and J. R. Dick (2004). "Molecular clonong and functional characterization of fatty acyl desaturase and elongase cDNAs involved in the production of EPA and DHA from ALA in Atlantic salmon (*Salmo salar*)." Mar. Biotechnol 6: 463-474.

Hazel, J. R. (1979). "Influence of thermal acclimation on membrane lipid composition of rainbow trout liver." Am. J. Physiol 236 (1): 91-101.

Hellerstein, M.K., (1996). Regulation of hepatic de novo lipogenesis in human. Annu. Rev. Nutr. 16 : 523-557**.**

Hemre, G. I. and K. Sandnes (1999). "Effect of dietary lipid level on muscle composition in atlantic salmon *Salmo salar*." Aquaculture Nutrition 5: 9-16.

Henderson, R. J. (1996). "Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids." Arch. Anim. Nutr 49: 5-22.

Henderson, R. J. and J. R. Sargent (1981). " Lipid biosynthesis in rainbow trout, Salmo gairdnerii, fed diets of differing lipid content." Comp. Biochem. Physiol 69C 31-37.

Henderson, R. J. and D. R. Tocher (1987). "The lipid composition and biochemistry of freshwater fish." 26: 281-347.

Higgs, D. and F. M. Dong (2000). Lipids and fatty acids. The Encyclopedia of Aquaculture. R. R. Stickney. New York, John Wiley and Sons**:** 476-496.

Hillestad, M. and F. Johnsen (1994). High-energy/low-protein diets for Atlantic salmon: effects on growth, nutrient retention and slaughter quality Aquaculture 124: 109-116.

Ingemansson, T., N. U. Olsson and P. Kaufmann (1993). " Lipid composition of light and dark muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after thermal acclimation: a multivariate approach." Aquaculture 113: 153-165.

Izquierdo, M. S., D. Montero, L. Robaina, M. J. Caballero, G. Rosenlund and R. Gines (2005). "Alterations in filet fatty acid profile and flesh quality in githead sea bream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish finishing." Aquaculture 250: 431-444.

Izquierdo, M. S., A. Osbach, L. Arantzamendi, D. Montero, L. Robaina and G. Rosenlund (2003). "Dietary lipid source for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality." Aquaculture Nutrition 9(397-407).

Jentoft, S., A. H. Aastveit, P. A. Torjesen and O. Andersen (2005). "Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." 141: 353-358.

Jezierska, B., J. R. Harzel and S. D. Gerking (1982). "Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout *Salmo gairdneri richardson* with attention to FA." J.Fish Biol 21: 681-692.

Jobling, M. (2001). Nutrient partionning and the influence of fedd composition on body composition. Food intake in fish. D. Houlihan, Boujard, T., Jobling, M. Oxford, Blackwell**:** 354-375.

Johansson, L., A. Kiessling, T. Asgard and L. Berglund (1995). "Effect of ration level in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), on sensory characteristics, lipid content and fatty acid composition." Aquaculture Nutrition 1: 59-66.

Juaneda, P. and G. Rocquelin (1985). "Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartdriges." Lipids 20: 40-41.

Jump, D. B. (2002). "The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids." The Journal of Biological Chemistry 277: 8755-8758.

Kaitaranta, J. K. and R. G. Ackman (1981). "Total lipids and lipid classes of fish roe." Comp.Biochem.Physiol. 69B: 725-729.

Kalogeropoulos, N., M. N. Alexis and R. J. Henderson, Eds. (1993). Effect of dietary lipids on tissue fatty acid composition of gilthead bream. Fish Nutrition in Practice Athens:Les Colloques INRA.

Kanazawa, A. (1985). Essential fatty acid and lipid requirement of fish. Nutrition and Feeding in Fish. A. M. M. a. J. G. B. C.B. Cowey. London., Academic press**:** 281-298.

Kapoor, B. G., H. Smit and I. A. Verighina (1975). "The alimentary canal and digestion in teleosts." Adv. Mar. Biol 13: 109-239.

Kaushik, S. J. and C. B. Cowey (1991). Dietary factors affecting nitrgen excretion by fish. Nutritional strategies and aquaculture waste. S. o. N. S. i. M. o. A. Waste. Ontario, Cowey, C.B., Cho, C.Y.**:** 51-63.

Kennedy, S. R., R. Bickerdike, R. K. Berge, A. R. Porter and D. R. Tocher (2007). "Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and tetraacylthioacetic (TTA) on growth, lipid composition and key enzymes of FA oxydation in liver and muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*)." Aquaculture 264: 372-382.

Kestemont, P., S. Jourdan, M. Houbart, C. Mélard, M. Paspatis, P. Fontaine, A. Cuvier, M. Kentouri and E. Baras (2003). "Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences." Aquaculture 227(1-4): 333-356.

Kestemont, P., E. Vandeloise, C. Melard, P. Fontaine and P. B. Brown (2001). "Growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis* fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin." Aquaculture 203(1-2): 85-99.

Kiessling, A., J. Pickova, J. G. Eales, B. Dosanjh and D. Higgs (2005). "Age, ration level, and exercise affect the fatty acid profile of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) muscle differently." Aquaculture 243(1-4): 345-356.

Kiessling, A., J. Pickova, L. Johansson, T. Asgard, T. Storebakken and K.-H. Kiessling (2001). "Changes in fatty acid composition in muscle and adipose tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age." Food Chemistry 73: 271-284.

Kiessling, K.-H. and A. Kiessling (1993). "Selective utilization of fatty acids in rainbow trout (*Oncorynchus mykiss Walbaum*) red muscle mitochondria." Can. J. Zool 71: 248-251.

Knapp, H. R. (1997). "Dieatry fatty acids in human thrombosis and hemostasis." American Journal of Clinical and Nutrition 65: 1687S-1698S.

Kobilinsky, A. (1997). Les plans factoriels. . Plans d'expériences Applications à l'entreprise. E. Technip. Paris**:** 69-209.

Krueckl, S. L. and N. M. Sherwood (2001). "Developmental expression, alternative splicing and gene copy number for the pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and growth hormone releasing hormone (GRF) gene in rainbow trout." Molecular and Cellular Endocrinology 182: 99-108.

Lauritzen, L., H. S. Hansen, M. H. Jorgensen and K. F. Michaelsen (2001). "The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina." Progr. Lipid Res 40: 1-94.

Léger, C. and L. Fremont (1981). "Fatty acid composition of lipids in the trout (*Salmo gairdnerii*)." Comp. Biochem. Biophys. 69B: 99-105.

Lie, O. (2001). "Flesh quality – the role of nutrition." Aquaculture Research 32(1): 341-348.

Lin, H., D. R. Romsos, P. I. Tack and G. A. Leveille (1977a). "Effects of fasting and feeding various diets on hepatic lipogenic enzyme activities in coho salmon (*Oncorhynchus kisuch*)." J. Nutr 107: 846-854.

Lin, H., D. R. Romsos, P. I. Tack and G. A. Leveille (1977b). "Influence of diet on in vitro and in vivo rates of fatty acid synthesis in coho salmon (*Oncorhynchus kisuch* Walbaum)." J.Nutr. 107: 1677-1682.

Linares, F. and R. J. Henderson (1991). "Incorporation of 14C-labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, *Scophtalmus maximus* (L.) in vivo." J.Fish.Biol 38: 335-347.

Ling, S., M.-K. Kuah, T. S. T. Muhammad, S. Kolkovski and A. Chong Shu -Chien (2006a). "Effect of dietary HUFA on reproductive performance, tissue fatty acid profile and destaurase and elongase mRNA in female swordtail *Xiphophorus helleri*." Aquaculture 261: 204-214.

Ling, S., M.-K. Kuah, T. S. T. Muhammad, S. Kolkovski and A. Chong Shu -Chien (2006b). "Effect of dietary HUFA on reproductive performance, tissue fatty acid profile and destaurase and elongase mRNA in female swordtail *Xiphophorus helleri*." Aquaculture 261: 204-214.

Lochmann, R. T. and D. M. Gatlin III (1993). "Evaluation of different types and levels of triglycerides, singly and in combination with different levels of n-3 highly unsaturated fatty acid ethyl esters in diets of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*." Aquaculture 114: 113-130.

Love, R. M. (1970). The chemical biology of fishes- with a key to the chemical litterature. London, Academic press**:** 541.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall (1951). "Protein measurement with the Folin phenol reagent." J. Biol. Chem. 193 265-275.

Lund, E. D. and B. D. Sidell (1992). "Neutral lipid composition of Antartic fish tissues may reflect use of fatty acyl susbstrates by catabolic system." Mar biol 112: 377-382.

Mairesse, G., M. Thomas, J.-N. Gardeur and J. Brun Bellut (2006). "Effects of geographic source, rearing system and season on the nutritional quality of wild and reared *Perca fluviatilis*." Lipids 41: 221-229.

Mairesse, G., M. Thomas, J. N. Gardeur and J. Brun-Bellut (2007). "Effects of dietary factors, stocking biomass and domestication on the nutritional and technological quality of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*." Aquaculture 262(1): 86-94.

Mathis, N., C. Feidt and J. Brun-Bellut (2003). "Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*)." Aquaculture 217(1-4): 453-464.

Médale, F., P. Aguirre and S. J. Kaushik (1991). Utilization of carbohydrates by rainbow trout at two water temperature. Energy Metabolism of Farm Animals. E. N°58**:** 391-395.

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

Menoyo, D., M. S. Izquierdo, L. Robaina, R. Gines, C. J. Lopez-Bote and J. M. Bautista (2004). "Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (Sparus aurata) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soybean oils." British Journal of Nutrition 92: 41-52.

Menoyo, D., C. Lopez-Bote, A. Diez, A. Obach and J. M. Bautista (2007). "Impact of n-3 fatty acid chain lenght and n-3/n-6 ratio in Atlantic salmon (*Salmo salar*) diets." Aquaculture 267(1-4): 248-259.

Menoyo, D., C. J. Lopez-Bote, J. M. Bautista and A. Obach (2003). "Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids." Aquaculture 225: 295-307.

Migaud, H., P. Fontaine, P. Kestemont, N. Wang and J. Brun-Bellut (2004). "Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*." Aquaculture 241(1-4): 561-574.

Migaud, H., P. Fontaine, I. Sulistyo, P. Kestemont and J.-N. Gardeur (2002). "Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis*: effects of rates of cooling and cooling durations on female gametogenesis and spawning." Aquaculture 205(3-4): 253-267.

Migaud, H., N. Wang, J.-N. Gardeur and P. Fontaine (2006). "Influence of photoperiod on reproductive performances in Eurasian perch *Perca fluviatilis*." Aquaculture 252(2-4): 385-393.

Montero, D., L. E. Robaina, J. Socorro, J. M. Vergara, L. Tort and M. S. Izquierdo (2001). "Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles held at high stocking density and fed an essential fatty acid deficient diet." Fish physiology and Biochemistry 24: 63-72.

Mourente, G., J. R. Dick, J. G. Bell and D. R. Tocher (2005). "Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and [beta]-oxidation of [1-14C]18:3n-3 (LNA) and [1-14C]20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (Dicentrarchus labrax L.)." Aquaculture Fish Nutrition and Feeding - Proceedings of the 11th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish organized by the Department of Fisheries, Thailand held in Phuket Island, Thailand, 2-7 May 2004. 248(1-4): 173-186.

Mourente, G. and D. Tocher (1994). "In vivo metabolism of [1-14C] linolenic acid (18:3n-3) and [1-14C] eicosapentaenoic acid (20:5(n-3)) in marine fish: Time-course of the desaturation/elongation pathway." Biochim Biophys Acta 1212: 109-118.

Murata, H. and T. Higashi (1979). "Studies on the metabolism of fatty acids in fish. IV. Rate of fatty acid decrease based on ß oxidation in carp dark muscle mitochondria." Bull. Jap. Soc. Scient. Fish 45: 211-217.

Murata, H. and M. Toyomizu (1973). "Studies on the metabolism of fatty acids in fish. III. ß oxidation of fatty acid in carp dark muscle mitochondria." Bull. Jap. Soc. Scient. Fish 39: 801-807.

Nakamura, M. T., H. P. Cho and S. D. Clarke (2000). "Regulation of hepatic delta 6 desaturase expression and its role in th polyunsaturated fatty acid inhibition of fatty acid synthetase gene expression in mice." J.Nutr 130: 1561-1565.

Nakamura, M. T. and T. Y. Nara (2003). "Essential fatty acid synthesis and its regulation in mammals." Prostaglandins, Leukotrienes and essential Fatty Acids 68: 145-150.

Nanton, D.A. Vegusdal, A. Rørå, A.M.B. Ruyter, B. Baeverfjord,G. and B. E. Torstensen (2007). "Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (Salmo salar) fed fish oil and vegetable oil" Aquaculture 265, 1-4: 230-243.

Mizuno, E. C. Ellison and J. R. Chipault (1972). "Occurrence of glyceryl tridocosahexaenoate in the eye of the sand trout *Cynoscion arenarius*." Lipids 7(3): 171-178.

Nielsen, D., G. Hyldig and H. N. Nielsen (2005). "Lipid content in herring (Clupea harengus L.) influence of biological factors and comparison of different methods of analyses: solvent extraction, Fatmeter, NIR and NMR." Lebensm.Wiss.u.Technol. 38(1-2): 537-548.

Noaillac-Depeyre, J. and N. Gas (1979). "Structure and function of the intestinal epithelial cells in the perch (*Perca fluviatilis* L.)." The anatomical record 195(4): 621-627.

Okland, H. M. W., I. S. Stoknes, J. F. Remme, M. Kjerstad and M. Synnes (2005). "Proximate composition, fatty acid and lipid class composition of the muscle from deep-sea teleosts and elasmobranchs." Comparative Biochemistry and Physiology 140B(3): 437-443.

Olsen, R. E. and E. Ringoe (1997). "Lipid digestibility in fish: a review." Recent Res Devel in Lipids Res 1: 199-265.

Orban, E., T. Nevigato, M. Masci, G. Di Lena, I. Casini, R. Caproni, L. Gambelli, P. De Angelis and M. Rampacci (2007). "Nutritionnal quality and safety of European perch (Perca fluviatilis) from three lakes of Central Italy." Food Chemistry 100: 482-490.

Owen, J. M., J. W. Adron, C. Middleton and C. B. Cowey (1975). "Elongation and desaturation of dietary fatty acids in Turbot *Scophthalmus maximus L.*, and Rainbow trout, *Salmo gairdnerii* rich." Lipids 10: 528-531.

Ozogul, Y., F. Ozogul and S. Alagoz (2007). "Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater sepcies of Turkey: A comparative study. ." Food Chemistry 103: 217-223.

Parpoura, A. C. R. and M. N. Alexis (2001). "Effect of different dietary oil in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition." Aquaculture International 9: 463-476.

Pawlosky, R. J., H. W. Sprecher and N. Salem (1992). "High sensitive negative ion GC-MS method for detection of desaturated and chain elongated products of deuterated linolenic and linoleic acids." J. Lipid Res. 33: 1711-1717.

Peet, M., J. Brind, C. N. Ramchand, S. Shah and G. K. Vankar (2001). "Two double blind placebo controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of shizophrenia." Schizophrenia Research 49: 243-251.

Pereira, S. L., A. E. Leonard and P. Mukerji (2003). "Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes." Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 68(2): 97-106.

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

Ramachandran Nair, K. G. and K. Gopakumar (1982). "Effect of age on the fatty acid composition of tilapia (*Tilapia mossambica*)." Journal of Food Science and Technology 19: 250-254.

Rasoarahona, J. R. E., G. Barnathan, J.-P. Bianchini and E. M. Gaydou (2005). "Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus, O. macrochir and Tilapia rendalli*) from Madagascar." Food Chemistry 91(4): 683-694.

Regost, C., J. Arzel, M. Cardinal, M. Laroche and S. J. Kaushik (2001a). "Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation." Aquaculture 193(3-4): 325-345.

Regost, C., J. Arzel, M. Cardinal, J. Robin, M. Laroche and S. J. Kaushik (2001b). "Dietary level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*)." Aquaculture 193: 291-309.

Regost, C., J. Arzel, J. Robin, G. Rosenlund and S. J. Kaushik (2003). "Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*).1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism." Aquaculture 217(1-4): 465-482.

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

Rinchard, J., S. Czesny and K. Dabrowski (2007). "Influence of lipid class and fatty aci deficiency on survival, growth, and fatty acid composition in raibow trout juveniles." Aquaculture 264: 363-371.

Rodriguez, C., J. A. Pérez and R. J. Henderson (2002). "The esterification and modification of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids by hepatocytes and liver microsomes of turbot (*Scophtalmus maximus*)." Comparative Biochemistry and Physiology Part B 132: 559-570.

Rombi, M. (1995). Acides gras oméga 3 et antioxydant: de la fluidité des menbranes cellulaires à la thérapeutique de l'avenir.

Ruohonen, K., J. Kettunen and J. King (2001). Experimental design in feeding experiments. Proceedings of Food intake in fish. B. T. J. M. Houlihan D, Blackwell Sciences**:** 88-107.

Ruyter, B., C. Moya-Falcon, G. Rosenlund and A. Vegusdal (2006). "Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects of temperature and dietary soybean oil." Aquaculture 252: 441-452.

Ruyter, B., C. Rosjo, B. Grisdale-Helland, G. Rosenlund, A. Obach and M. S. Thomassen (2003). "Influence of temperatture and high dietary linoleic acid content on esterification, elongation and desaturation of PUFA in Atlantic salmon hepatocytes." Lipids 38: 833-840.

Saito, H., K. Ishihara and T. Murase (1997). "The fatty acid composition in Tuna (Bonito, Euthynnus pelamis) caught at three different localities from tropics to temperate." J. Sci. Food. Agric 73: 53-59.

Santha, N. C. and R. G. Ackman (1990). "Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters." J. Chromatogr. Biomed. Appl 553: 1-10.

Sargent, J. R., G. Bell, L. McEvoy, D. R. Tocher and A. Estevez (1999). "Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish." Aquaculture 177: 191-199.

Sargent, J. R., R. J. Henderson and D. R. Tocher (1989). The lipids. Fish nutrition, 2nd ed. J. E. Halver. New York, Academic press**:** 153-218.

Sargent, J. R., D. Tocher and G. Bell (2002). The lipids, Academic Press, Inc.

SAS Institute Inc (1989). SAS/STAT® User's guide, 6, 4th edn, Volume 2, pp. 846, Cary, NC: SAS Institute Inc., 846p.

SAS Institute Inc (1990). "SAS® Procedures guide." 6, 3rd edn,Cary, NC: SAS Institute Inc, p705.

Schimmerling, P., J. C. Sisson and A. Zaïdi (1998). Pratique des plans d'expériences. Tec & Doc Paris.

Schuenke, M. and E. Wodtke (1983). "Cold-induced increase of delta 9 and delta 6 desaturase activities in endoplasmic menbranes of carp liver." Biochim Biophys Acta 734: 70-75.

Seiliez, I., S. Panserat, C. G., S. Kaushik and P. Bergot (2003). "Cloning and nutritional regulation of a delta 6 desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*)." Comp Biochem Physiol 135B: 449-460.

Seiliez, I., S. Panserat, S. Kaushik and P. Bergot (2001). "Cloning, tissue distribution and nutritional regulation of a delta 6 desaturase-like enzyme in rainbow trout." Comp Biochem Physiol 130B: 83-93.

Sheridan, M. A. (1988). "Lipid dynamics in Fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization." Comp.Biochem.Physiol 90B: 676-690.

Sheridan, M. A. (1994). "Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates." Comp.Biochem.Physiol. 107B(4): 495-508.

Sheridan, M. A. and W. V. Allen (1984). "Partial purification of triacylglycerol lipase isolated from steelhead trout (*Salmo gairdnerii*) adipose tissue." Lipids 19: 347-352.

Shikata, T. and S. Shimeno (1994). "Metabolic response to dietary stearic acid, linoleic acid and highly unsaturated fatty acid in carp." Fish Sci 60: 735-739.

Shimeno, S., D. Kheyyali and T. Shikate (1995). "Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp." Fish Sci 61: 977-980.

Shirai, N., H. Suzuki, S. Tokairin, H. Ehara and S. Wada (2002). "Dietary and seasonal effects on the dorsal meat lipid composition of Japanese (*Silurus asotus*) and Thai catfish (*Clarias macrocephalus* and *hybrid Clarias macrocephalus* and *Clarias galipinus*)." Comp.Biochem.Physiol 132A: 609-619.

Sidell, B. D., E. L. Crockett and W. R. Driedzic (1995). "Antartic fish tissues preferntially catabolyse monoenoic fatty acids." J.exp Zoo 271: 73-81.

Silvers, K. M. and K. M. Scott (2002). "Fish consumption and self reported physical and mental health status." Public Health Nutr. 5: 427-431.

Skalli, A., J. H. Robin, N. Le Bayon, H. Le Delliou and J. Person-Le Ruyet (2006). "Impact of essential fatty acid deficiency and temperature on tissues' fatty acid composition of Euroean sea bass." Aquaculture 255: 223-232.

Skinner, E. R. and A. M. Youssef (1982). "The characterization of lipoprotein lipase isolated from the postheparin plasma of the rainbow trout, *Salmo gairdnerii*, Richardson." Biochem. J 203: 727.

Strand, A., A. Alanara and C. Magnhagen (2007). "Effet of group size on feed intake and feed efficiency of juvenile perch." Journal of Fish Biology 71: 615-619.

Stubhaug, I., D. R. Tocher, G. J. Bell, J. R. Dick and B. E. Torstensen (2005). "Fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes and influence of dietary vegetable oil." Biochimica Biophysica Acta 1734: 277-288.

Subhadra, B., R. T. Lochmann, S. Rawles and R. G. Chen (2006). "Effect of dietary lipid source on growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)." Aquaculture 255: 210-222.

Sulistyo, I., J. Rinchard, P. Fontaine, J. N. Gardeur, B. Capdeville and P. Kestemont (1998). "Reproductive cycle and plasma levels steroids in female Eurasian perch *Perca Fluviatilis*." Aquatic Living Resources 11(2): 101-110.

Takeuchi, T., T. Watanabe and C. Ogino (1978). "Supplementarity effect of lipids in a high protein diet for rainbow trout,." Bull Jpn Soc Sci Fish 44: 677-81.

Tamazouzt, L., B. Chatain and P. Fontaine (2000). "Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae (*Perca fluviatilis* L.)." Aquaculture 182(1-2): 85-90.

Tamazouzt, L., J.-P. Dubois and P. Fontaine (1993). "Production et marché actuels de la perche Perca fluviatilis en europe." La pisciculture française 114: 4-8.

Tamazouzt, L., C. Leray, A.-M. Escaffre and D. Terver (1998). "Effects of food particle size on *Perca fluviatilis* larval growth." Aquatic Sciences 60(2): 89-98.

Tocher, D. R. (2003). "Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish." Reviews in Fisheries Science 11(2): 107-184.

Tocher, D. R., J. G. Bell, J. R. Dick and V. O. Crampton (2003). "Effects of dietary vegetable oil on Atlantic salmon hepatocyte fatty acid desaturation and liver fatty acid compositions." Lipids 38: 723-732.

Tocher, D. R., J. G. Bell, P. MacGlaughlin, F. McGhee and J. R. Dick (2001). "Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oils." Comp Biochem Physiol B 130: 257-270.

Tocher, D. R. and J. R. Dick (1990). "Incorporation and metabolism of (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in phospholipid classes in cultured atlantic salmon (*Salmo salar*) cells." Comp Biochem Physiol 96B(1): 73-79.

Tocher, D. R. and J. R. Dick (2001). "Effects of essential fatty acid deficiency and supplementation with docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on cellular fatty acid compositions and fatty acyl desaturation in a cell culture model." Prostaglandins, Leukotrienes and essential Fatty Acids 64(1): 11-22.

Tocher, D. R., J. Fonseca-Madrigal, G. J. Bell, J. R. Dick, R. J. Henderson and J. R. Sargent (2002). "Effects of diets containing linseed oil on faty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar).*" Fish physiology and Biochemistry 26: 157-170.

Tocher, D. R., J. Fonseca-Madrigal, J. R. Dick, W.-K. Ng, J. G. Bell and P. J. Campbell (2004). "Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 137(1): 49-63.

Tocher, D. R., A. J. Fraser, J. R. Sargent and J. C. Gamble (1985). "Lipid class composition during embryonic and early larval development in Atlantic herring (Clupea harengus L.)." Lipids 20: 84–89.

Tocher, D. R. and J. R. Sargent (1990). "Effect of temperature on the incorporation into phospholipid classes and metabolism via desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish cells in culture." Lipids 25: 435-442.

Torstensen, B. E., J. G. Bell, G. Rosenlund, R. J. Henderson, I. E. Graff, D. R. Tocher, O. Lie and J. R. Sargent (2006). "Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetal oil blend." J. Agric. Food. Chem 53: 10166-10178.

Torstensen, B. E., L. Frøyland and O. Lie (2004a). "Replacing dietary fish oil with increasing levels of rapeseed oil and olive oil - effects on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme activities." Aquaculture Nutrition 10: 175-192.

Torstensen, B. E., L. Froyland, R. Ornsrud and O. Lie (2004b). "Tailoring of a cardioprotective muscle fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed vegetable oils." Food Chemistry 87(4): 567-580.

Toussaint, C., B. Fauconneau, F. Medale, G. Collewet, S. Akoka, P. Haffray and A. Davenel (2005). "Description of the heterogeneity of lipid distribution in the flesh of brown trout (Salmo trutta) by MR imaging." Aquaculture 243(1-4): 255-267.

Toussant, M., M. Wilson and S. D. Clarke (1981). "Coordinate suppression of liver acetyl-CoA and fatty acid synthetase by polyunsaturated fat." J. Nutr 111: 146-153.

Trueman, R. J., P. E. Tiku, M. X. Cadick and A. R. Cossins (2000). "Thermal thresholds of lipi restructuring and delta 9 desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.)." J.Exp.Biol 203: 641-650.

Turchini, G. M., T. Mentasti, L. Frøyland, E. Orban, F. Caprino, V. M. Moretti and F. Valfré (2003). "Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta* L.)." Aquaculture 225: 251-267.

Turchini, G. M., V. M. Moretti, T. Mentasti, E. Orban and F. Valfrè (2007). "Effects of dietary lipid source on fillet chemical composition, flavour volatile compounds and sensory charcateristics in the freshwater fish tench (*Tinca tinca* L.)." Food Chemistry 102: 1144-1155.

Ushio, H., T. Ohshima, C. Koizumi, V. Visuthi, V. Kiron and T. Watanabe (1997). "Effect of dietary fatty acids on Ca2+-ATPase activity of the sarcoplasmic reticulum of rainbox trout skeletal muscle." Comp Biochem Physiol B 118B(3): 681-691.

Van Ham, E. H., M. H. G. Berntssen, A. K. Imsland, A. C. R. Parpoura, S. E. Wendelaar-Bonga and S. O. Stefansson (2003). "The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophtalmus maximus*)." Aquaculture 217: 547-558.

Viswanathan Nair, P. G. and K. Gopakumar (1984). "Lipid and fatty acid composition of fish and shell fish." Journal of Food Science and Technology 21: 389-392.

Walton, M. J. and C. B. Cowey (1982). "Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish." Comp.Biochem.Physiol 73B(1): 59-79.

Warman, A. W. and N. R. Bottino (1978). "Lipogenic activity of catfish liver. Lack of response to dietary changes and insulin administration." Comp. Biochem. Physiol. 59B: 153-161.

Watanabe, T. (1982). "Lipid nutrition in Fish." Comp Biochem Physiol 73B: 3-15.

Watanabe, T., T. Murase and H. Saito (1995). "Specificity of fatty acid composition of highly migratory fish. A comparison of docosahexaenoic acid content in total lipids extracted in various organs of bonito (*Euthynnus pelamis*)." Comp Biochem Physiol 111B(4): 691-695.

Watanabe, T., T. Takeuchi, S. Satoh, T. Ida and M. Yaguchi (1987). "Development of low protein high energy diets fo practical carp culture with special reference to reduction of total excretions." Bull Jpn Soc Sci Fish 53: 1413-1423.

Weber, J. M., G. Brichon and G. Zwingelstein (2003). "Fatty acid metabolism in raibow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues: differential incorporation of palmitate and oleate." Can J Fish Aquat Sci 60: 1281-1288.

Wendelaar-Bonga, S. E. (1997). "The stress response in fish." Physiol. Rev. 77: 591-625.

Wilson, A. C. and I. P. Williamson (1970). "Fatty acid synthetase from the liver of the plaice, Pleuronectes platessa." Biochem. J. 117: 26-27.

Wilson, S. D., L. Salati, W. Blake and S. D. Clarke (1990). "The potency of polyunsaturated and saturated fats as short term inhibitors of hepatic lipogenesis." J. Nutr 120: 544-552.

Wodtke, E. and A. Cossins (1991). "Rapid cold-induced changes of membrane order and delta 9-desaturase activity in endoplasmic reticulum of carp liver: a time-course study of thermal acclimation." Biochim Biophys Acta 1064(2): 343–350.

Wonacott, E. J., R. L. Lane and C. C. Kohler (2004). "Influence of dietary replacement of menhaden oil with canola oil on fatty acid composition of sunsine bass." N. Am. J. Aquac 66: 243-250.

Xu, R., S. S. O. Hung and J. B. German (1996). "Effects of dietary lipids on fatty acid composition of triglycerides and phospholipids in tissues of white sturgeon." Aquaculture Nutrition 2: 101-109.

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

Xu, X. L. and P. Kestemont (2002). "Lipid metabolism and FA composition in tissues of eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats." Lipids 37(3): 297-304.

Yam, D., A. Peled and M. Shinitzky (2001). "Suppression of tumor growth and metastasis by dietary fish oil combined with vitamins E and C and cisplatin." Cancer Chemotherapy and Pharmacology 47: 34-40.

Zheng, X., I. Seiliez, N. Hastings, D. R. Tocher, S. Panserat, C. A. Dickson, P. Bergot and A. J. Teale (2004a). "Characterization and comparison of fatty acyl delta 6 desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species." Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 139(2): 269-279.

Zheng, X., D. R. Tocher, C. A. Dickson, J. G. Bell and A. J. Teale (2004b). "Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*)." Aquaculture 236(1-4): 467-483.

Zheng, X., D. R. Tocher, C. A. Dickson, J. G. Bell and A. J. Teale (2005a). "Highly unsaturated fatty acid synthesis in vertebrates: new insights with the cloning and characterization of a delta 6 desaturase of Atlantic salmon. ." Lipids 40(1): 13-24.

Zheng, X., B. E. Torstensen, D. R. Tocher, J. R. Dick, R. J. Henderson and J. G. Bell (2005b). "Environnemental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturasenand elogase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*)." biochem. Biophys. Acta 1734 (13-24).

ANNEXES

Annexe 1: Séquences connues pour la delta 6 désaturase

>truite

ATGGGGGGCGGAGGTCAACAGACGGAGTCAAGCGAGCCGGCCAAGGGTGACGGGGTTGGGCCCGAT
GGAGGGCGAGGTGGCAGTGCAGTCTACACCTGGGAAGAGGTCCAGAAGCACTGCCACAGAAGCGAC
AAGTGGTTGGTCATCGACAGGAAGGTCTATAATATTACCCAGTGGGCGAAGAGACACCCAGGGGGC
ATCAGGGTCATCAGTCACTTTGCTGGAGAAGATGCCACGGATGCATTTGTCGCATTCCATCCCGAT
CCTAATTTTGTCAGGAAGTTTCTGAAGCCGTTGCTGATTGGAGAGCTGGCAACGACAGAGCCCAGC
CAGGACCATGGGAAAAACGCAGTACTGGTACAGGACTTCCAGGCCCTGCGTGACCGTGTGGAGAGG
GAGGGTCTCCTCCGTGCCCGCCCCCTGTTCTTCAGCCTCTACCTGGGCCACATCCTGCTACTAGAG
GCCCTGGCTTTGGGCCTGCTCTGGGTCTGGGGGACCAGCTGGAGCCTCACACTGCTCTGTTCCCTC
ATGCTGGCCACATCTCAGTCCCAGGCTGGCTGGCTGCAGCATGACTACGGCCACCTGTCAGTCTGC
AAGACATCCAGCTGGAATCACGTACTGCACAAGTTTGTCATTGGACACCTAAAGGGTGCCTCTGCT
AACTGGTGGAACCATCGTCACTTCCAGCACCACGCTAAGCCCAACGTGTTTAGTAAAGATCCTGAT
GTCAACTCACTGCATGTCTTCGTCCTGGGAGACAAACAGCCTGTAGAGTATGGTATAAAGAAGTTG
AAGTACATGCCCTACCATCACCAACACCAGTACTTCTTCCTCATTGGACCTCCACTAGTTATTCCA
GTGTTTTTCACCATCCAGATATTCCAGACCATGTTTTCACAACGGAACTGGGTGGATCTGGCGTGG
GCGATGACTTTCTACCTTCGTTTCTTCTGCTGTTACTATCCCTTCTTTGGTTTCTTTGGCTCCGTA
GCATTGATCAGCTTCGTCAGGTTTTTGGAAAGCCACTGGTTTGTATGGGTGACCCAGATGAATCAT
CTTCCTATGGAGATAGATCACGAGAGACACCAGGACTGGCTCACCATGCAGTTGAGTGCTACTTGC
AACATTGAACAGTCAACCTTCAACGACTGGTTCAGTGGACACCTCAACTTTCAGATTGAACACCAT
CTGTTTCCTACCATGCCCCGTCATAACTACCACCTAGTGGCTCCTCTGGTCCGTGCTTTGTGTGAG
AAACATGGACTTCCCTACCAGGTCAAGACTTTGCAGAAAGCCATCATTGATGTTGTCGGGTCACTG
AAGAAGTCAGGGGATCTGTGGCTGGATGCGTATCTCCATAAATAA

>homme

ATGGGGAAGGGAGGGAACCAGGGCGAGGGGGCCGCCGAGCGCGAGGTGTCGGTGCCCACCTTCAGC
TGGGAGGAGATTCAGAAGCATAACCTGCGCACCGACAGGTGGCTGGTCATTGACCGCAAGGTTTAC
AACATCACCAAATGGTCCATCCAGCACCCGGGGGGCCAGCGGGTCATCGGGCACTACGCTGGAGAA
GATGCAACGGATGCCTTCCGCGCCTTCCACCCTGACCTGGAATTCGTGGGCAAGTTCTTGAAACCC
CTGCTGATTGGTGAACTGGCCCCGGAGGAGCCCAGCCAGGACCACGGCAAGAACTCAAAGATCACT
GAGGACTTCCGGGCCCTGAGGAAGACGGCTGAGGACATGAACCTGTTCAAGACCAACCACGTGTTC
TTCCTCCTCCTCCTGGCCCACATCATCGCCCTGGAGAGCATTGCATGGTTCACTGTCTTTTACTTT
GGCAATGGCTGGATTCCTACCCTCATCACGGCCTTTGTCCTTGCTACCTCTCAGGCCCAAGCTGGA
TGGCTGCAACATGATTATGGCCACCTGTCTGTCTACAGAAAACCCAAGTGGAACCACCTTGTCCAC
AAATTCGTCATTGGCCACTTAAAGGGTGCCTCTGCCAACTGGTGGAATCATCGCCACTTCCAGCAC
CACGCCAAGCCTAACATCTTCCACAAGGATCCCGATGTGAACATGCTGCACGTGTTTGTTCTGGGC
GAATGGCAGCCCATCGAGTACGGCAAGAAGAAGCTGAAATACCTGCCCTACAATCACCAGCACGAA
TACTTCTTCCTGATTGGGCCGCCGCTGCTCATCCCCATGTATTTCCAGTACCAGATTATCATGACC
ATGATCGTCCATAAGAACTGGGTGGACCTGGCCTGGGCCGTCAGCTACTACATCCGGTTCTTCATC
ACCTACATCCCTTTCTACGGCATCCTGGGAGCCCTCCTTTTCCTCAACTTCATCAGGTTCCTGGAG
AGCCACTGGTTTGTGTGGGTCACACAGATGAATCACATCGTCATGGAGATTGACCAGGAGGCCTAC
CGTGACTGGTTCAGTAGCCAGCTGACAGCCACCTGCAACGTGGAGCAGTCCTTCTTCAACGACTGG
TTCAGTGGACACCTTAACTTCCAGATTGAGCACCACCTCTTCCCCACCATGCCCCGGCACAACTTA
CACAAGATCGCCCCGCTGGTGAAGTCTCTATGTGCCAAGCATGGCATTGAATACCAGGAGAAGCCG
CTACTGAGGGCCCTGCTGGACATCATCAGGTCCCTGAAGAAGTCTGGGAAGCTGTGGCTGGACGCC
TACCTTCACAAATGA

>souris
ATGGGGAAGGGAGGTAACCAGGGAGAGGGGAGCACCGAGCGCCAGGCTCCGATGCCCACCTTCCGTTGGG
AGGAGATTCAGAAGCACAACCTGCGCACCGACCGGTGGCTCGTCATCGACCGCAAGGTCTACAACGTTAC
CAAATGGTCCCAGCGGCACCCGGGGGGCCACCGTGTCATCGGACACTATTCGGGAGAAGATGCTACGGAT
GCCTTCCGTGCCTTCCATCTGGACCTGGACTTCGTGGGCAAGTTCTTGAAGCCCCTGCTGATTGGTGAGC
TGGCCCCAGAGGAGCCCAGCCTGGACCGTGGCAAAAGCTCTCAGATCACCGAGGACTTCAGGGCCCTGAA
GAAGACTGCTGAGGACATGAACCTCTTCAAAACCAACCACCTGTTCTTCTTTCTCCTCCTGTCCCACATC
ATCGTCATGGAAAGCCTTGCCTGGTTCATCCTCTCGTACTTCGGCACTGGCTGGATTCCTACCCTCGTCA
CAGCCTTTGTCCTCGCTACCTCTCAGGCCCAAGCTGGATGGCTGCAACATGACTATGGCCACCTTTCTGT
CTATAAGAAATCCATATGGAACCACGTTGTCCACAAGTTTGTCATTGGCCACTTAAAGGGTGCCTCAGCC
AACTGGTGGAACCACCGACATTTCCAACACCATGCCAAGCCCAACATCTTCCACAAGGACCCGGACATAA
AGAGCCTGCATGTGTTTGTCCTTGGCGAGTGGCAGCCCCTTGAGTATGGCAAGAAGAAGCTGAAATACCT
GCCCTACAACCACCAGCATGAATACTTCTTCCTGATCGGACCGCCGCTGCTCATCCCTATGTACTTCCAG
TACCAGATCATCATGACAATGATCAGCCGCAGGGACTGGGTGGACTTGGCTTGGGCCATCAGCTACTATA
TGCGTTTCTTCTACACCTACATCCCTTTCTACGGCATCTTGGGAGCCCTGGTTTTCCTCAACTTTATCAG
GTTCCTGGAGAGCCACTGGTTTGTGTGGGTCACACAGATGAACCACCTTGTCATGGAGATTGATCTTGAT
CACTACCGGGACTGGTTCAGCAGCCAGCTGGCAGCCACCTGCAATGTGGAGCAGTCCTTCTTCAATGACT
GGTTCAGCGGGCACCTCAATTTCCAGATTGAGCACCACCTCTTCCCCACTATGCCACGTCACAACCTGCA
CAAGATTGCCCCACTGGTGAAGTCTCTCTGCGCCAAGCATGGCATTGAATACCAGGAGAAGCCGTTGCTG
AGGGCCCTGATCGACATTGTGAGTTCACTGAAGAAGTCTGGGGAGCTGTGGCTGGATGCTTACCTCCATA
AATGA
>rat
ATGGGGAAGGGAGGTAACCAGGGAGAGGGGAGCACCGAGCTCCAGGCTCCGATGCCCACCTTCCGCTGGG
AGGAGATTCAGAAGCACAACCTGCGCACCGACCGGTGGCTCGTCATCGACCGCAAGGTCTACAACGTTAC
CAAATGGTCCCAGCGGCACCCAGGGGGGCACCGTGTCATCGGACACTATTCGGGAGAAGATGCTACGGAT
GCCTTCCGTGCCTTCCACCTGGACCTGGATTTCGTGGGCAAGTTCTTGAAGCCCCTGCTGATTGGTGAGC
TGGCCCCAGAGGAGCCCAGCCTGGACCGGGGCAAAAGCTCTCAGATCACCGAGGACTTCAGGGCCCTGAA
GAAGACTGCTGAGGACATGAACCTTTTCAAAACCAACCACCTGTTCTTCTTTCTCCTCCTGTCCCACATC
ATCGTCATGGAAAGCATCGCCTGGTTCATCCTCTCGTACTTCGGCAATGGCTGGATTCCCACCGTCATCA
CGGCCTTTGTCCTTGCTACCTCCCAGGCCCAAGCTGGATGGCTACAACATGATTATGGCCACCTTTCTGT
CTATAAGAAATCCATATGGAACCACATTGTCCACAAGTTTGTCATTGGCCACTTAAAGGGTGCCTCCGCC
AACTGGTGGAACCATCGACATTTCCAGCACCATGCGAAGCCCAACATCTTCCACAAGGACCCCGACATAA
AGAGCCTGCACGTGTTTGTCCTTGGAGAGTGGCAGCCCCTCGAGTATGGCAAGAAGAAGCTGAAATATCT
GCCCTACAACCACCAGCATGAATACTTCTTCCTGATCGGACCACCGCTGCTCATCCCTATGTACTTCCAG
TACCAGATCATCATGACCATGATCAGACGCAGAGACTGGGTGGACTTGGCCTGGGCCATCAGCTACTATG
CACGTTTCTTCTACACCTATATCCCTTTCTATGGCATCTTGGGAGCCCTGGTTTTCCTCAACTTTATCAG
GTTCCTGGAGAGCCACTGGTTTGTGTGGGTCACACAGATGAACCACATTGTCATGGAGATTGATCTTGAT
CACTACCGGGACTGGTTCAGCAGCCAGCTGGCAGCCACCTGCAATGTGGAGCAGTCCTTCTTCAATGACT
GGTTCAGCGGGCACCTCAATTTCCAGATTGAGCACCACCTCTTCCCCACTATGCCAAGACACAACTTGCA
CAAGATTGCCCCACTGGTGAAGTCTCTCTGCGCCAAGCATGGCATTGAATACCAAGAGAAGCCGCTGCTG
AGGGCCCTGCTCGACATTGTGAGTTCACTGAAGAAGTCTGGGGAGCTGTGGCTGGATGCCTACCTCCACA
AATGA
>carpe
ATGGGTGGCGGAGGACAGCAGACGGACCGGATCACTGGGACCAACGGGAGGTTCGGCACTTACACCTGGG
AGGAGGTGCAGAAACACACCAAGTTTGGAGATCAGTGGATCGAGGTTGAAAGGAAGGTTTATAATGTGAG
CCAGTGGGTGAAGAGACACCCCGGAGGAGTGAGGATCCTCGGACACTATGCTGGAGAAGATGCCACGGAG
GCGTTTACTGCATTTCATCCAGACCTTCCGCTGGTGAGAAAATACATGAAGCCGCTGTTAATCGGGGAGC
TTGAGGCGTCTGAACCCAGTCAAGACCGGCAGAAAAATGCTGCTCTTGTGGAGGACTTCCGAGCCCTTCG
TGAGCGTCTGGAGGCTGAGGGGTGTTTCAAAACCCAGCCGCTGTTTCTCATCTTACATCTGAGTCACATC
CTGCTCCTGGAGGCCATCGCTCTGATGATGGTGTGGTACCTGGGAACCGGCTGGATCAACACGGCCATCG
TCGCTGTTTTACTGGCCACTGCACAGTCACAGGCTGAATGGTTGCAGCACGACTTCGGTCATCTGTCCGT
GTTTAAAACCTCTCGATGGAATCACCTGGTGCACAAATTTGTCGTCGGACACATTAAGGGAGCGTCTGCG
GGTCGGTGGAACCATCGCCACTTCCAGCATCACGCTAAACCGAACGTGTTCAAAAAGGACCCGGACGTCA
ACATGCTCAATGCGTTTGTGGCTGGAAAAGTGCAGCCTGTGGAGTACGGCGTTAAGAAGATCAAGCATTT
GCCTTACAACCATCAGCACAAGTACTTCTTCTTCATTGGACCTCCTCTGCTCATCCCAGTGTATTTCCAG
TTCCAGATCTTCCACAATATGATCGCGCATGGCCTTTGGGTGGACCTTGCGTGGTGTATAAGTTACTACG
TTCGATACTTCCTGTGTTACACGCAGTACTACGGTGTGTTTTGGGCGGTGATTCTGTTTAATTTCGTGAG
GTTCCTGAAGAGTCACTGGTTTGTGTGGGTGACCCAGATGAGCCACATCCCCATGCAGATCGACTATGAG
AAGCACCAGGACCGGCTCAGCATGCAGCTGGTCGCGACCTGCAACATCGAGCAGTCCTCCTTCAACGACT
GGTTCAGCGGACACCTCAACTTCCAGATCGAGCACCACCTCTTCCCCACAATGCCTCGGCACAACTACTG
GCGCGCCGCCCCTCACGTTCGAGAGTTATGTGCCAAATACGGAATCAAGTACCAAGAGAAGACCTTGCAG
GGGGCCTTTGCGGACGTCGTCAGGTCTTTGGAGAAATCCGGAGAAATCTGGCTGGATGCGTACCTCAACG
AATAA

Annexe 2: Séquences connues pour la delta 5 désaturase

>homme

ATGGCCCCCGACCCGTTGGCCGCCGAGACCGCGGCTCAGGGACTTACCCCGCGCTACTTCACCTGG
GACGAGGTGGCCCAGCGCTCAGGGTGCGAGGAGCGGTGGCTAGTGATCGACCGTAAGGTGTACAAC
ATCAGCGAGTTCACCCGCCGGCATCCAGGGGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCCGGGCAGGAT
GCCACGGATCCCTTTGTGGCCTTCCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAGTATATGAACTCTCTC
CTGATTGGAGAACTGTCTCCAGAGCAGCCCAGCTTTGAGCCCACCAAGAATAAAGAGCTGACAGAT
GAGTTCCGGGAGCTGCGGGCCACAGTGGAGCGGATGGGGCTCATGAAGGCCAACCATGTCTTCTTC
CTGCTGTACCTGCTGCACATCTTGCTGCTGGATGGTGCAGCCTGGCTCACCCTTTGGGTCTTTGGG
ACGTCCTTTTTGCCCTTCCTCCTCTGTGCGGTGCTGCTCAGTGCAGTTCAGGCCCAGGCTGGCTGG
CTGCAGCATGACTTTGGACACCTGTCGGTCTTCAGCACCTCAAAGTGGAACCATCTGCTACACCAT
TTTGTGATTGGCCACCTGAAGGGGGCCCCCGCCAGTTGGTGGAACCACATGCACTTCCAGCACCAT
GCCAAGCCCAACTGCTTCCGCAAAGACCCAGACATCAACATGCATCCCTTCTTCTTTGCCTTGGGG
AAGATCCTCTCTGTGGAGCTTGGGAAACAGAAGAAAAATTATATGCCGTACAACCACCAGCACAAA
TACTTCTTCCTAATTGGGCCCCCGGCCTTGCTGCCTCTCTACTTCCAGTGGTATATTTTCTATTTT
GTTATCCAGCGAAAGAAGTGGGTGGACTTGGCCTGGATGATTACCTTCTACGTCCGCTTCTTCCTC
ACTTATGTGCCACTATTGGGGCTGAAAGCCTTCCTGGGCCTTTTCTTCATAGTCAGGTTCCTGGAA
AGCAACTGGTTTGTGTGGGTGACACAGATGAACCATATTCCCATGCACATTGATCATGACCGGAAC
ATGGACTGGGTTTCCACCCAGCTCCAGGCCACATGCAATGTCCACAAGTCTGCCTTCAATGACTGG
TTCAGTGGACACCTCAACTTCCAGATTGAGCACCATCTTTTTCCCACGATGCCTCGACACAATTAC
CACAAAGTGGCTCCCCTGGTGCAGTCCTTGTGTGCCAAGCATGGCATAGAGTACCAGTCCAAGCCC
CTGCTGTCAGCCTTCGCCGACATCATCCACTCACTAAAGGAGTCAGGGCAGCTCTGGCTAGATGCC
TATCTTCACCAATAA

>rat

ATGGCTCCCGACCCGGTGCAGACCCCTGACCCGGCCTCCGCCCAGCTCCGCCAAATGCGCTACTTT
ACTTGGGAGGAGGTGGCGCAGCGCTCCGGGAGGGAGAAGGAGCGATGGCTCGTGATCGACCGGAAG
GTGTACAACATCAGCGACTTCAGTCGCCGCCACCCGGGAGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCT
GGTCAGGATGCCACGGATCGTTTTGTGGCATTCCACATTAACAAGGGCCTTGTAGAAAAGTATATG
AACTCTCTTCTGATTGGAGAGCTAGCTCCGGAGCAGTCCAGCTTTGAACCCACCAAGAATAAGGCG
CTCACTGATGAATTCCGGGAGCTGCGGGCCACAGTGGAGCGAATGGGCCTCATGAAAGCCAACCAT
CTCTTCTTCCTGTTCTATCTGCTGCACATCCTGCTGCTGGACGTGGCCGCCTGGCTCACTCTTTGG
ATCTTTGGAACTTCCTTGGTGCCCTTCACCCTCTGTGCAGTGCTGCTCAGTACAGTTCAGGCCCAG
GCAGGTTGGCTACAGCATGACTTTGGGCACCTGTCCGTCTTCAGCACCTCAACATGGAATCACCTG
GTACATCATTTTGTCATTGGCCACCTGAAGGGGGCCCCAGCCAGCTGGTGGAACCACATGCATTTC
CAGCACCACGCCAAGCCCAACTGCTTCCGCAAAGACCCCGATATCAACATGCATCCCCTCTTCTTC
GCCCTGGGGAAGGTCCTTTCTGTGGAGCTTGGGAAAGAAAAGAAGAAGCACATGCCATACAACCAT
CAGCACAAGTACTTCTTCCTGATTGGACCCCCAGCCTTGCTGCCTCTCTACTTCCAGTGGTACATT
TTCTATTTTGTTGTTCAGCGGAAGAAATGGGTGGACTTGGCCTGGATGCTCAGCTTCTATGTTCGT
GTCTTCTTCACTTACATGCCGCTGCTGGGGCTGAAAGGCCTCCTATGTCTTTTCTTCATTGTCAGG
TTCCTGGAGAGCAACTGGTTTGTGTGGGTGACGCAGATGAACCATATCCCCATGCACATTGATCAT
GACCGGAATGTGGACTGGGTCTCCACCCAGCTACAGGCAACCTGCAACGTTCACCAGTCAGCCTTC
AACAACTGGTTCAGTGGCCACCTCAATTTCCAGATTGAACACCATCTCTTGCCCACGATGCCACGA
CACAACTACCACAAGGTGGCACCCCTGGTACAATCTCTGTGCGCCAAGTACGGCATCAAGTATGAG
TCCAAGCCCCTGCTCACGGCCTTCGCGGACATTGTTTACTCCCTGAAGGAGTCAGGACAGCTCTGG
CTGGATGCTTACCTTCACCAATAG

>saumon

ATGGGGGGCGGAGGCCAGCAGACGGAGTCAAGCGAGCCGGCCAAGGGTGACGGGCTTGAGCCCGAT
GGAGGGCAAGGTGGCAGTGCAGTCTACACCTGGGAAGAGGTCCAGAGGCACTCCCACAGAAGCGAC
CAGTGGTTGGTCATCGACAGGAAGGTCTATAATATTACCCAGTGGGCAAAGAGACACCCGGGTGGC
ATCAGGGTCATCAGTCACTTTGCTGGAGAAGATGCCACGGAAGCATTTTCCGCATTCCATCTTGAT
GCTAATTTTGTCAGGAAGTTTCTGAAGCCGTTGCTGATTGGAGAGCTGGCACCGACAGAGCCCAGC
CAGGACCATGGGAAAAATGCAGCTCTGGTGCAGGACTTCCAGGCCTTGCGTGACCATGTGGAGAGG
GAGGGTCTCCTCCGTGCCCGCCTCCTGTTCTTCAGCCTCTACCTGGGCCACATCCTGCTACTAGAG
GCCCTGGCTTTGGGCCTGCTCTGGGTCTGGGGGACCAGCTGGAGCCTCACACTGCTCTGTTCCCTC
ATGCTGGCCACGTCTCAGGCCCAGGCTGGCTGGCTGCAGCATGACTACGGCCACCTGTCAGTCTGC
AAGAAATCCAGCTGGAACCACAAACTGCACAAGTTTGTCATTGGACACCTAAAGGGTGCCTCTGCT
AACTGGTGGAACCATCGTCACTTCCAGCACCACGCTAAGCCCAACGTGTTTCGTAAAGATCCTGAT
ATCAACTCACTGCCTGTCTTCGTCCTGGGAGACACACAGCCTGTAGAGTATGGTATAAAGAAGTTG
AAGTACATGCCCTACCATCACCAACACCAGTACTTCTTCCTCATTGGACCTCCACTAATCGTTCCA
GTGTTTTTCAACATCCAGATATTCCGGACCATGTTTTCACAACGGGACTGGGTGGATCTGGCGTGG
TCGATGAGTTTCTACCTTCGCTTCTTCTGCTGTTACTATCCCTTCTTTGGTTTCTTTGGCTCAGTA
GCATTGATCAGCTTCGTCAGGTTTTTGGAAAGCCACTGGTTTGTATGGGTGACCCAGATGAATCAC
CTTCCTATGGAGATGGATCATGAGAGACACCAGGACTGGCTCACCATGCAGTTGAGCGCTACTTGC
AACATTGAACAGTCAACCTTCAACGACTGGTTCAGTGGACACCTCAACTTTCAGATTGAACACCAT
CTGTTTCCTACCATGCCCCGTCATAACTACCACCTGGTGGCTCCTCTGGTGCGTACTTTGTGTGAG
AAACATGGAGTTCCCTATCAGGTCAAGACTTTGCAGAAAGGCATGACTGATGTTGTCAGGTCACTG
AAGAAGTCAGGGGATCTGTGGCTGGATGCATATCTCCATAAATGA

ABSTRACT

Perca fluviatilis L. (Eurasian perch) is characterized by a low intramuscular amount of lipids (<2%) and a high poly-unsatured fatty acid (PUFA) content. Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) is present in a high proportion (40% of total fatty acid).

The aims of this work are twofold: first to analyse the factors that could influence the lipid metabolism of *Perca fluviatilis* L. and second to identify factors that could explain the elevated contents of DHA in this fish.
Assumptions, which have been tested to explain the high concentration of DHA, are a selective incorporation of this fatty acid and the ability of this fish to transform 18:3n-3 present in the diet into higher PUFA n-3, EPA and DHA; typical capacity of freshwater fish (bioconversion assumption).
Three experiments have been conducted to test these assumptions. First, we described lipid composition of the different tissues, which play a role in lipid metabolism, by distinguishing total, neutral and polar lipids. Second, we identified and classified the factors influencing the lipid content and fatty acid composition by using a multifactorial approach. Third, we analysed the effect of diet fatty acid composition on PUFA n-3 tissues composition, enzymatic activity and genes expression, which code for enzymes implicated in fatty acid bioconversion. As *Perca fluviatilis* L. genome is not sequenced for the moment, the first work was to construct experiments for dosing enzymatic activity and gene expression in this species.

Concentration of DHA was elevated in all the tissues we analysed, showing the good nutritional quality of *Perca fluviatilis* L. In the fillet, lipid content was stable. PUFA content was high (40-60% of total fatty acid), with elevated contents in DHA (35-45% of total fatty acid), which was the main fatty acid of this tissue. Lipid content in the liver and the fat tissue was variable according to the type of food. Adipose tissue, that is the lipid storage tissue in this species, was composed of 85-90% of lipid, of which 30-50% are mono-unsatured fatty acids (MUFA), mainly 18:1n-9. Liver fatty acid composition presented characteristics in an intermediate position between fatty acid composition of the fillet and the adipose tissue, but DHA was still the most abundant fatty acid. Our results were in accordance with literature. They added informations on the distribution and the concentration in neutral and polar lipids (NL and PL) of the tissues we studied (fillet NL/PL=50/50; Liver: NL/PL=60/40; adipose tissue: NL/PL=90/10), and on their composition in fatty acid (polar lipids are mainly composed of PUFA whereas neutral lipids are richer in saturated fat acids). Our results showed that the profile in fat acid depended on the tissue and the type of lipids.

Our assumption of the ability of *Perca fluviatilis* L. to transform PUFA was verified because we were able to detect delta 6 desaturase in the liver, intestine, and brain. Moreover, the activity of this enzyme was put in evidence in the liver. Our assumption of selective incorporation of some fatty acids was also verified, MUFA being preferentially absorbed in the adipose tissue and PUFA in the fillet and the liver.

Regarding the effect of factors we studied, our results showed that a differential determinism existed according to the type of fatty acid. The nature of lipids contained in the diet was the most important factor. This factor could influence the profile of fatty acid in the tissues through a direct effect or in interaction with other factors. Although the diet is the main factor of variation, our results showed that under condition of limited growth and for a fish with a commercial size, a content of 3% of DHA and 2% of EPA in the diet was sufficient to obtain, in the fillet, a composition in fatty acids of good quality for consumers with a limited bioconversion of PUFA.

RESUME

La perche commune, *Perca fluviatilis* L. est un poisson maigre (moins de 2% de lipides dans le filet) mais dont les teneurs en acides gras polyinsaturés de la famille n-3 (AGPIn-3) et principalement en acide docosahexaènoque (DHA) sont très élevées (40% des AG totaux).

L'objectif de ce travail est d'étudier les facteurs qui influent sur le métabolisme lipidique chez la perche et qui assurent ces taux élevés de DHA. Les hypothèses testées qui permettraient d'expliquer les fortes teneurs en DHA sont une incorporation préférentielle de cet AG ainsi qu'une capacité, typique des poissons d'eau douce, à bioconvertir le 18:3n-3 présent dans l'alimentation en AGPI n-3 supérieur, EPA et DHA.

Pour tester ces hypothèses nous avons mis en place trois expérimentations. Dans un premier temps, nous avons caractérisé les lipides des différents tissus impliqués dans le métabolisme lipidique en observant leurs teneurs en lipides totaux, neutres et polaires et leur composition en acides gras. Dans un deuxième temps nous avons déterminé et hiérarchisé les facteurs ayant un effet sur la teneur en lipides et la composition en AG en utilisant un plan d'expérience multifactorielle. Enfin, nous avons étudié plus particulièrement l'effet de la composition en acides gras de la source alimentaire sur la composition en AGPI n-3 des tissus, l'activité enzymatique et l'expression des gènes codant pour les enzymes impliquées dans la bioconversion des AG. Le génome de la perche n'étant pas séquencé pour l'instant, le premier travail a été de mettre au point les protocoles de dosage d'activité enzymatique et d'expression génique chez cette espèce.

La qualité nutritionnelle de la perche a été vérifiée, avec la mise en évidence de taux élevés de DHA dans tous les tissus. Dans le muscle la teneur en lipides est stable. La teneur en AGPI est élevée (40-60% des AG totaux), avec des teneurs élevées en DHA (35-45% des AG totaux) qui est l'AG majoritaire dans ce tissu. La teneur en lipides du foie et du tissu adipeux est variable en fonction de l'aliment. Le tissu adipeux est le lieu de stockage de l'énergie, il contient entre 85-90% de lipides dont 30-50% sont sous forme mono-insaturée, principalement représentés par le 18:1n-9. Le foie a une composition en AG intermédiaire entre celle du muscle et celle du tissu adipeux, le DHA étant là aussi l'AG majoritaire. Nos résultats ont complété ceux de la littérature en donnant des informations sur la répartition et la teneur en lipides neutres et polaires des tissus (Muscle LN/LP= 50/50 ; Foie LN/LP= 60/40 ; Tissu adipeux : LN/LP= 90/10), ainsi que sur leur profil en acides gras (les lipides polaires sont composés majoritairement d'AGPI alors que les lipides neutres sont plus riches en acides gras saturés). Ils ont permis de mettre en évidence une spécificité du profil en acides gras en fonction du tissu ou du type de lipides.

L'hypothèse de bioconversion des AGPI a été vérifiée puisque la delta 6 désaturase a été détectée dans le foie, l'intestin, le cerveau. De plus, son activité a été mise en évidence dans le foie.

L'hypothèse d'incorporation préférentielle de certains acides gras a également été vérifiée, avec une incorporation préférentielle d'AGMI dans le tissu adipeux et d'AGPI dans le filet et le foie.

Concernant l'effet des facteurs étudiés, nos résultats ont montré qu'il existe un déterminisme différent en fonction de l'acide gras..

La nature des lipides alimentaires est le facteur le plus important, il a un effet direct ou en interaction avec d'autres facteurs sur le profil en AG des tissus. Nos résultats ont montré que si l'alimentation est le facteur principal de variation, dans des conditions de croissance limitée, sur un poisson de taille commerciale, une teneur de 3% de DHA et de 2% d'EPA dans l'aliment est suffisante chez la perche pour obtenir une composition en acides gras du filet de bonne qualité pour le consommateur avec une bioconversion des AGPI n-3 limitée.

MOTS-CLES: Lipides, Acides gras, Métabolisme, *Perca fluviatilis.*

INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE
DE LORRAINE

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

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :
Monsieur Puy LIM, Professeur, Ensat, Ecolab, Castanet-Tolosan
Monsieur Philippe SCHMIDELY, Professeur, AgroParisTech, DSVS, Paris

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

Madame PETER Magali

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

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

"Profil et métabolisme des acides gras dans les tissus de la perche commune *Perca fluviatilis* L."

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « **Sciences agronomiques** »

Fait à Vandoeuvre, le 16 juin 2008
Le Président de l'I.N.P.L.,
F. LAURENT

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE – NANCY –

TEL. 33/03.83.59.59.59
FAX. 33/03.83.59.59.55