

UNIVERSITE DE LA ROCHELLE

# THESE DE DOCTORAT

Spécialité: Océanologie Biologique et Environnement Marin

Présentée par  
Sandie MILLOT

## DOMESTICATION, SELECTION ET COMPORTEMENT DU BAR

Variabilité des aptitudes comportementales et de la tolérance au stress  
de groupes génétiquement distincts de bar, *Dicentrarchus labrax*



Soutenue le 14 Octobre 2008

CHATAIN Béatrice, Cadre de Recherche, IFREMER, Palavas-les-flots  
BEGOUT Marie-Laure, Cadre de Recherche, IFREMER L'Houmeau  
BARAS Etienne, Directeur de Recherche, IRD, UR 175, Montpellier  
QUILLET Edwige, Directrice de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas  
GRASTEAU Sandrine, Chargée de Recherche, INRA, Nouzilly  
HUNTINGFORD Felicity, Professeur, Univ. de Glasgow  
LEFRANCOIS Christel, Maître de Conférence, Univ. de La Rochelle

Directrice de thèse  
Responsable scientifique  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examinatrice  
Examinatrice  
Examinatrice







UNIVERSITE DE LA ROCHELLE

# THESE DE DOCTORAT

Spécialité: Océanologie Biologique et Environnement Marin

Présentée par

Sandie MILLOT

## DOMESTICATION, SELECTION ET COMPORTEMENT DU BAR

Variabilité des aptitudes comportementales et de la tolérance au stress de groupes génétiquement distincts de bar, *Dicentrarchus labrax*

### Soutenue le 14 Octobre 2008

CHATAIN Béatrice, Cadre de Recherche, IFREMER, Palavas-les-flots  
BEGOUT Marie-Laure, Cadre de Recherche, IFREMER L' Houmeau  
BARAS Etienne, Directeur de Recherche, IRD, UR 175, Montpellier  
QUILLET Edwige, Directrice de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas  
GRASTEAU Sandrine, Chargée de Recherche, INRA, Nouzilly  
HUNTINGFORD Felicity, Professeur, Univ. de Glasgow  
LEFRANCOIS Christel, Maître de Conférence, Univ. de La Rochelle

Directrice de thèse  
Responsable scientifique  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examinatrice  
Examinatrice  
Examinatrice



*On se lasse de tout, sauf de comprendre.*  
*Virgile*





# Avant-propos

Cette thèse a été financée par une bourse doctorale octroyée par le Conseil Général de la Charente-Maritime pour une période de 3 ans (2005-2008).

De plus, cette thèse s'intègre dans deux projets de recherche européens qui ont assurés son soutien financier :

1). Le programme **SEAFOODplus** projet Ethiqua (<http://www.seafoodplus.org/Home.326.0.html> contrat n° FOOD-CT-2004-506359, 2004-2008) a pour but de définir une charte de qualité éthique en identifiant et proposant des pratiques d'élevage et des systèmes de production aquacole respectueux du bien-être animal en atteignant les objectifs suivants :

- a. Identifier quelles sont les réactions comportementales et physiologiques des poissons face aux différentes pratiques d'élevage et déterminer au sein d'une même espèce la variabilité inter-individuelle,
- b. Développer des techniques de suivi individuel (smart tag) afin de collecter des données complémentaires sur l'activité physiologique et comportementale des poissons,
- c. Déterminer des indicateurs individuels de bien-être face à différents types d'épreuve (stress) en condition expérimentale afin d'évaluer la tolérance au stress,
- d. Etablir une relation entre l'état de bien-être du poisson et différents aspects de leur qualité de chair,
- e. Identifier l'influence des variations génétiques inter-individuelles observées au sein d'une même espèce face à différents types de stress afin de mettre en évidence les différentes stratégies d'adaptation,
- f. Etudier les effets du transport sur la physiologie, le comportement et la qualité de la chair,
- g. Développer des méthodes pour optimiser les conditions de pré-abattage en regard de l'état physiologique et de la qualité de chair des poissons,
- h. Tester ces méthodes dans des infrastructures aquacoles et préparer un guide des règles à suivre.

2) Le programme **FASTFISH** (on **F**arm **A**ssessment of **S**Tress level in farmed **F**ISH ; <http://fastfish.imr.no/start> contrat n° 022720, 2006-2008) a pour objectif de poser les bases du développement d'une pisciculture moderne, durable et compétitive en Europe. A partir de deux espèces modèles, le saumon atlantique (*Salmo salar*) et le bar européen (*Dicentrarchus labrax*), le projet s'est donné les objectifs suivants :

- a. Trouver des indicateurs comportementaux non invasifs et fiables pour suivre et quantifier les effets de facteurs de stress aigus et chroniques,
- b. Valider et quantifier ces indicateurs par des mesures immunologiques et physiologiques,
- c. Développer des protocoles d'acquisition opérationnels et des bases de données pour la mesure en continu des variables environnementales,
- d. Développer un logiciel (FAST-TOOL) basé sur le suivi des données environnementales et comportementales pour l'estimation et la gestion des niveaux de stress dans les systèmes de production,
- e. Tester et affiner la base de données, les protocoles et l'outil FAST-TOOL en entreprises aquacoles pendant des périodes de stress,
- i. Identifier les pré-requis et les mécanismes commerciaux pour implanter le logiciel FAST-TOOL dans l'industrie aquacole et estimer les coûts et les bénéfices pour les producteurs.



# Remerciements

Ce travail de recherche n'aurait pas été possible sans la contribution de nombreuses personnes à qui je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance.

Tout d'abord je remercie Patrick Gentien (CREMA), Gérard Blanchard (CRELA) et Gérard Biais (RHLR), les directeurs successifs de mes laboratoires de tutelle à L'Houmeau pour m'avoir accueillie dans le cadre de cette thèse.

Je tiens tout particulièrement à remercier mes deux directrices de thèses :

Un énorme merci à Béatrice Chatain pour m'avoir guidée, épaulée et soutenue pendant ces trois années de travail. Merci de m'avoir initiée à la génétique, d'avoir complété ma formation en statistique et de m'avoir permis de développer mon esprit de synthèse. Merci également de m'avoir fourni mes « titi », plus communément connus sous le nom de bars, pour mes travaux de recherche. Sur un plan plus personnel, un grand merci pour ta gentillesse, ton humour et surtout ton grain de folie ! Merci d'avoir toujours cru en moi et d'avoir su me remonter le moral dans les moments difficiles. Merci à Serge, pour avoir su transcrire (en deux secondes) un concept compliqué sous la forme d'un schéma, qui j'en suis sûre n'a pas fini d'être utilisé !

Un très grand merci à Marie-Laure Bégout pour m'avoir encadrée dès mon DEA et m'avoir permis de réaliser cette thèse. Merci de m'avoir appris tant de choses sur le comportement et la physiologie des poissons, de m'avoir toujours fait confiance en me laissant l'autonomie nécessaire à la réalisation de ce projet. Merci de m'avoir permis de voyager et de rencontrer de nombreux chercheurs influents dans le domaine du bien-être et du comportement des poissons en me laissant participer aux différents workshops et colloques sur le sujet. Grâce à vous j'ai pu créer un réseau relationnel indispensable pour mon avenir professionnel. Merci aussi pour votre bonne humeur, votre soutien inconditionnel et pour tous les moments de complicité partagés pendant ces quatre années. Merci à Xavier pour m'avoir hébergée très souvent dans son appartement à Montpellier, pour sa bonne humeur et pour avoir fait le messenger entre Marie-Laure et moi durant ces derniers mois.

Je tiens à remercier les différents membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail. Merci à Edwige Quillet et Etienne Baras qui tous deux rapporteurs de cette thèse m'ont fourni des commentaires constructifs dans l'amélioration du manuscrit ; merci à Sandrine Grasteau, Christel Lefrançois et Felicity Huntingford qui en tant qu'examinatrices ont apporté leur grande expérience dans ce jury.

Je remercie Børge Damsgård et Tor Evensen de m'avoir accueillie au sein de leur laboratoire NOFIMA à Tromsø (Norvège) pour que je puisse analyser mes vidéos. Merci aussi de m'avoir fait découvrir votre si beau pays.

Je remercie énormément tous les techniciens qui m'ont aidée dans ce travail de recherche :

Sur le site de l'Houmeau :

Un spécial thanks à Didier Leguay, plus connu sous le nom de « Didi the kid » pour s'être autant investi dans la mise en place des différentes expériences de cette thèse (transport de poissons, contorsions sous les bassins pour réparer des fuites ou encore nuits blanches passées sur un escabeau pour tenter de faire fonctionner les antennes détectrices de PIT tag), pour son soutien, sa joie de vivre et pour m'avoir fait tant rire... bref merci d'être mon ami.

Merci également à Michel Prineau, le roi des bricolos, à Lucette Joassard pour toutes les analyses physiologiques, à Philippe Pineau pour la maintenance des structures piscicoles, à Nicolas, Hervé, Yves, Gaël, Martine, Françoise....

Sur le site de Palavas :

Un très grand merci à Alain Vergnet pour m'avoir plus qu'aidée lors de l'expérience sur le stress chronique, d'avoir toujours été disponible, efficace et enthousiaste.

Merci à Benoît pour ses installations électroniques de génie, à Benoist, Julie, Sébastien, Cyril, François, Marie-Odile...

Je remercie toute l'équipe administrative du laboratoire de L'Houmeau, Bénédicte, Annick, Evelyne, Marie et Joëlle pour toutes les commandes et ordres de mission à préparer.

Je tiens à remercier vivement tous les stagiaires que j'ai fait 'souffrir' pendant ces trois années. Sans vous ce travail n'aurait pas pu être réalisable ! Donc un très très grand merci à Mélanie, Reynald, Anne-Lise, Andréa, Emilie et Sam.

Merci également à Marc Vandeputte, Denis Covès, Gilbert Dutto qui m'ont toujours fourni de précieux conseils.

Merci à Frédérique Deloffre-Vye de m'avoir permis durant cette dernière année de thèse de prendre du recul sur mon travail, de réfléchir sur mon avenir et surtout de me poser les bonnes questions.

Un merci chargé d'affection pour Jean-Paul Lagardère qui le premier m'a inoculé le virus de la recherche et qui de ses Landes natales, où il coule une retraite bien méritée, a toujours suivi mes travaux de recherche avec intérêt. J'ai également une pensée bien chaleureuse pour Françoise.

Merci à tous mes compagnons de thèse pour leur bonne humeur et leur joie de vivre : Vincent, Christine, Eric, Nathalie, Stéphane, François, Benoît, Tarek, Marcella, Marie-Elise, Marion, Laure, Carole....

Un très grand merci à mes amis les plus proches pour leur soutien de tous les instants et leurs encouragements : Karine (ma roulette), Lucie, Julien et Guilhem.

Un merci très spécial à Hervé, premièrement pour avoir réalisé les magnifiques illustrations de la couverture et des entêtes de chapitre de cette thèse et deuxièmement pour m'avoir soutenue dès le début de mes études et avoir toujours répondu présent quand j'avais besoin d'un coup de pouce... tout simplement, merci d'être mon ami. Un grand merci également à sa famille qui m'a toujours soutenue et encouragée.

Enfin un énorme merci rempli d'amour à mes parents, ma sœur et mon frère qui m'ont accompagnée tout au long de mes études, soutenue, encouragée et témoinnée tellement d'affection.

Je terminerai en remerciant mon Papouf d'amour (c'est mon chat... et oui, je sais c'est pathétique), qui a été ma bouffée d'oxygène, mon anti-stress et mon apport de câlins quotidiens pendant ces dernières années.

# Sommaire

<b>Chapitre 1. Introduction Générale.....</b>	<b>1</b>
1. Domestication.....	2
<b>1.1. Définition et historique.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Concept de domestication / sélection.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Spécificités de la domestication piscicole.....</b>	<b>9</b>
2. Bien-être animal.....	11
<b>2.1. Définition et historique.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Spécificités du bien-être chez les poissons.....</b>	<b>15</b>
2.2.1. Comment évaluer le bien-être chez les poissons ?.....	16
2.2.2. Quelles pratiques aquacoles peuvent affecter le bien-être des poissons ?.....	18
2.2.3. Quelles sont les conséquences de ces pratiques sur le bien-être des poissons et comment les reconnaître?.....	19
2.2.4. Quelles sont les solutions pour améliorer le bien-être des poissons ? Compatibilité avec les objectifs de production.....	20
3. Présentation de la thèse.....	22
<b>3.1. Modèle biologique.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2. Etudes réalisées dans cette thèse.....</b>	<b>26</b>
<b>Chapitre 2. Feed demand behavior in sea bass juveniles: effects on individual specific growth rate variation and health (inter-individual and inter-group variation).....</b>	<b>29</b>
<b>Chapitre 3. Individual fish rhythm directs group feeding: a case study with sea bass juveniles under self-demand feeding conditions.....</b>	<b>43</b>
<b>Chapitre 4. Acute stress effects on the self-feeding behavior, growth performance and physiological status of two sea bass strains.....</b>	<b>57</b>
<b>Chapitre 5. Effets d'un facteur de stress aigu sur le comportement d'auto-nourrissage, les performances de croissance et le statut physiologique de bars issus d'une deuxième génération de domestication et de sélection.....</b>	<b>73</b>
<b>Chapitre 6. Chronic stress effects on the self-feeding behavior, growth performance and physiological status of four sea bass strains.....</b>	<b>91</b>

<b>Chapitre 7. Analyse comparative des effets du stress aigu sur le comportement natatoire de deux souches de bar de première et de deuxième génération de domestication et de sélection.....</b>	<b>109</b>
<b>Chapitre 8. Risk-taking behaviour variation over time in sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>, L.): effects of day-night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth.....</b>	<b>127</b>
<b>Chapitre 9. Exploration behavior and flight response toward a stimulus in three sea bass strains (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.).....</b>	<b>143</b>
<b>Chapitre 10. Discussion Générale.....</b>	<b>156</b>
1. Caractérisation comportementale de bars issus d'un élevage industriel.....	157
2. Caractérisation des effets du stress et de l'influence du niveau de domestication et de sélection .....	159
<b>2.1. Sur le comportement alimentaire et la croissance .....</b>	<b>159</b>
<b>2.2. Sur le statut physiologique .....</b>	<b>161</b>
<b>2.3. Sur le comportement natatoire .....</b>	<b>162</b>
<b>2.4. Sur la personnalité.....</b>	<b>163</b>
3. Principales conclusions.....	164
4. Validation d'indicateurs comportementaux et physiologiques.....	165
<b>4.1. Pour évaluer l'apparition d'un stress en condition d'élevage.....</b>	<b>165</b>
<b>4.2. Pour évaluer les effets de la domestication ou de la sélection sur la tolérance au stress.....</b>	<b>165</b>
5. Implication de ces résultats pour la production piscicole .....	166
6. Perspectives .....	167
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>168</b>

# Introduction Générale

Chapitre

1



Il est important, pour bien comprendre notre démarche, d'appréhender toutes les nuances liées aux processus de domestication et de sélection mais aussi les différents aspects de la notion de bien-être. En effet, si la notion de domestication est déjà très complexe en soi, la distinction entre domestication et sélection l'est plus encore car il est possible de domestiquer sans sélectionner, alors que l'inverse ne se conçoit pas. Dans le même ordre d'idée, la notion de bien-être est souvent liée à celle de capacité d'adaptation et de tolérance au stress. Nous allons donc, dans un premier temps, définir ces trois concepts et les replacer dans l'historique de l'agriculture et de l'élevage d'animaux terrestres et aquatiques.

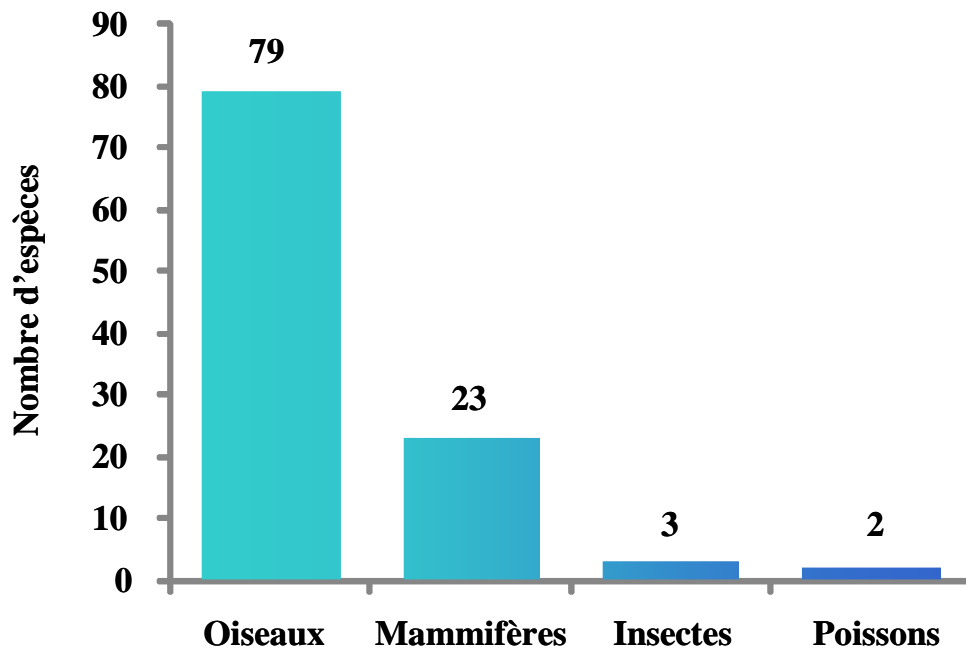
## 1. Domestication

### 1.1. Définition et historique

Les premières traces de domestication remontent à 10 000 - 15 000 ans. Elles concernent l'ancêtre du chien, *Canis lupus* (Brisbin & Risch, 1997) et ont pour origine le désir de l'homme de détenir un animal de compagnie. Par la suite, le besoin de s'approvisionner régulièrement en nourriture et en vêtements a poussé l'homme à domestiquer d'autres espèces végétales et animales, raison pour laquelle la domestication est souvent assimilée à l'agriculture ou à l'élevage. Denis (2004) signale cependant qu'une espèce peut être cultivée ou élevée sans forcément être domestiquée, alors que la réciproque n'est pas vraie. Chez les plantes, par exemple, la domestication est souvent définie comme « le processus de sélection artificielle menée par l'homme pour accentuer certains caractères intéressants et en amoindrir d'autres non désirés et présents chez les plantes sauvages ; cette transformation les rendant généralement dépendantes d'un environnement artificiel » (Harlan, 1992). Chez les animaux, la domestication est plutôt définie comme « le processus par lequel une population animale devient adaptée à l'homme et à un environnement de captivité par des changements génétiques intervenant au cours des générations et des étapes de développement renouvelées à chaque génération » (Price, 1984). La législation française, quant à elle, définit les espèces domestiques comme ayant « fait l'objet d'une pression de sélection continue et constante, cette pression aboutissant à la formation d'un groupe d'animaux qui a acquis des caractères stables et génétiquement héréditaires » (Ministère de l'Environnement ; NP/94/6 du 28 octobre 1994). L'instruction précise également que « le fait qu'un animal d'espèce non domestique soit né libre ou captif et le temps qu'il a passé en captivité, sont sans influence sur son caractère non domestique : tout au plus peut on parler d'un animal d'espèce sauvage, apprivoisé ou tenu en captivité ». Ainsi, selon cette dernière définition, le nombre d'espèces, reconnues légalement en France comme domestiquées, est très inégalement réparti parmi les différentes classes animales (Fig. 1, d'après Suquet *et al.*, 2004).

Définir le moment où une espèce animale passe de l'état « sauvage » à l'état « domestiqué » n'en demeure pas moins difficile. Ce changement d'état varie en fonction de l'espèce et les zoologistes n'ont jamais cherché à estimer la durée nécessaire à cette transformation, mais il est tacitement admis qu'elle est « longue, voire très longue » (Denis, 2004).





*Figure 1 : Répartition des espèces légalement considérées comme domestiques selon la législation française (d'après Suquet et al., 2004)*

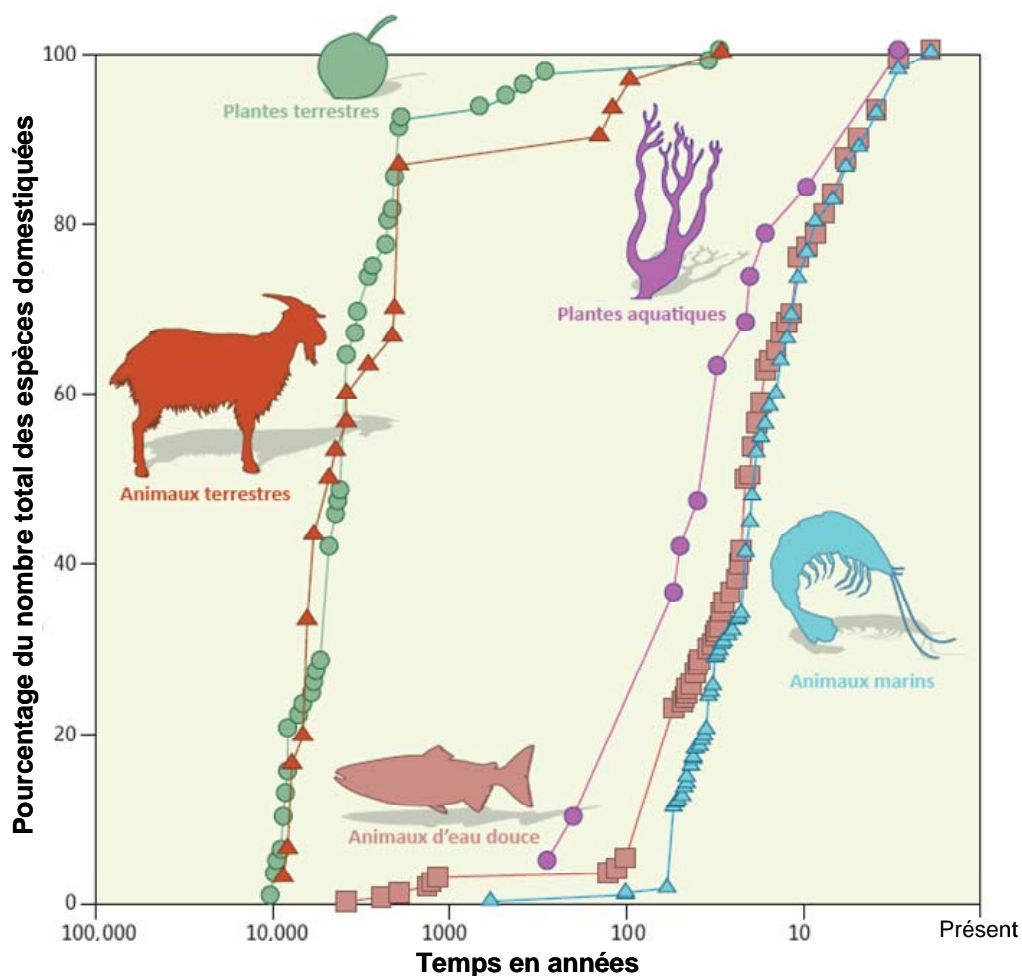
Selon la conception zoologique classique, trois conditions sous-tendent la domestication d'une espèce :

- 1) Un certain degré d'appivoisement qui va jusqu'à l'entretien d'un minimum de relations sociales avec l'homme.
- 2) Un contrôle de la reproduction qui va de pair avec la mise en œuvre d'une sélection visant à l'« amélioration des animaux ».
- 3) Une utilisation des animaux : un animal ne sera pas domestiqué s'il est inutile ou ne le reste pas s'il ne révèle pas d'intérêt particulier.

La notion de « relations sociales avec l'homme » reste cependant très subjective car pris au sens strict de la définition, elle éliminerait de la liste des espèces domestiquées comme les mollusques, les insectes et les poissons (Denis, 2004).

D'un point de vue historique, on estime que l'homme a commencé à cultiver des végétaux et à élever des animaux il y a environ 10 000 ans avec le développement des sociétés grégaires (Troy *et al*, 2001). En parallèle avec la culture d'annuelles à graines ou à fruits comme le haricot ou le blé, les premières espèces animales domestiquées furent la chèvre, le mouton et le bœuf (Troy *et al*, 2001) ; la domestication du porc, de la poule et du cheval n'apparaissant que 1000 à 4000 ans plus tard (West & Zhou, 1988 ; Anthony *et al*, 1991 ; Guiffra *et al*, 2000). L'élevage et la domestication des espèces aquatiques sont beaucoup plus récents : la domestication apparaît avec la carpe (*Cyprinus carpio*) et le poisson rouge (*Carassius auratus*) il y a environ 3 500 ans (Balon, 1995 ; Liao & Huang, 2000). D'une manière

générale, la domestication des espèces terrestres s'est développée très rapidement au contraire de celle des espèces aquatiques. On estime que 2 000 ans ont suffi à domestiquer les espèces terrestres actuellement cultivées et élevées. Néanmoins, depuis la révolution industrielle, la domestication de nouvelles espèces terrestres a fortement ralenti alors, qu'au contraire, elle connaît une progression fulgurante chez les espèces aquatiques (Fig. 2, d'après Duarte, 2007) ; 97 % des espèces aquatiques (soit 430 espèces) actuellement élevées, ont été domestiquées au cours du dernier siècle, dont 25% ces 10 dernières années. Ce rythme de domestication est environ 100 fois plus élevé que celui qui a été observé chez les plantes ou les animaux terrestres aux périodes les plus fastes. Au total, et malgré une relation plus ancienne avec l'homme, on estime qu'à l'heure actuelle, 0,08% des plantes et 0,0002% des animaux terrestres connus ont été domestiqués contre 0,17% et 0,13% des plantes et des animaux marins (Groombridge & Jenkins, 2000).



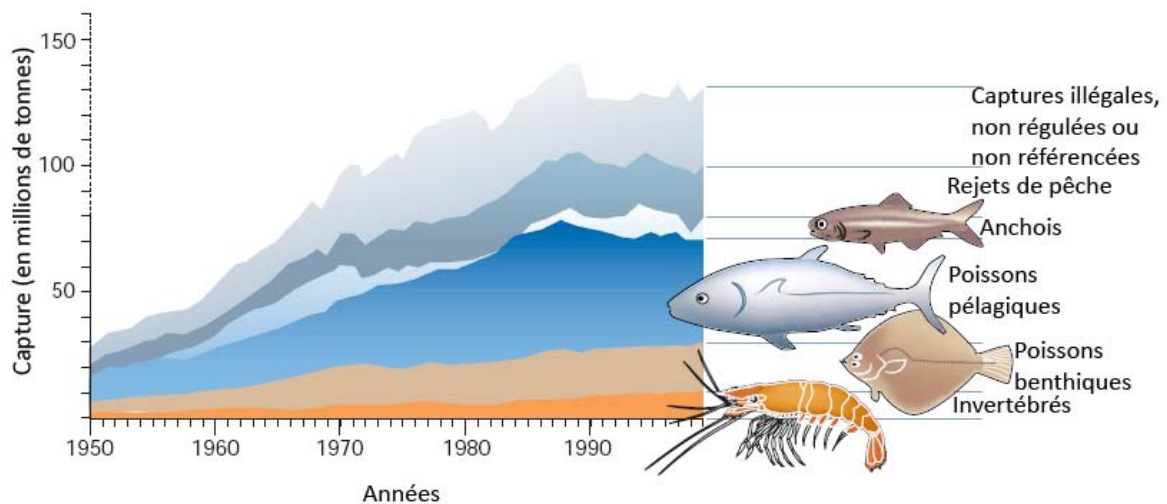
**Figure 2** : Evolution temporelle du pourcentage du nombre total des espèces domestiquées par catégorie (d'après Duarte et al., 2007)

Cette disparité s'explique, en premier lieu, parce que la domestication des espèces terrestres s'est principalement concentrée sur les mammifères et les oiseaux et très peu sur les invertébrés (*i.e.* les abeilles ou les escargots) alors qu'un large éventail de taxons aquatiques

ont pu être domestiqué (*i.e.* mollusques, crustacés, vertébrés, échinodermes, méduses et vers; Olive, 1999 ; FAO, 2006). On considère actuellement que plus de 3 000 espèces aquatiques sont potentiellement comestibles contre seulement 200 espèces terrestres (Pullin, 1996 ; FAO, 2006), ouvrant ainsi de vastes perspectives de domestication.

En second lieu, les formes de vie sont bien plus diversifiées dans l’océan que sur terre, ce qui augmente d’autant les chances d’y trouver des espèces offrant des critères favorables à leur exploitation, *e.g.* absence de toxicité, croissance rapide, cycle de vie court, tolérance à l’aliment et aux conditions de captivité (Diamond, 2002).

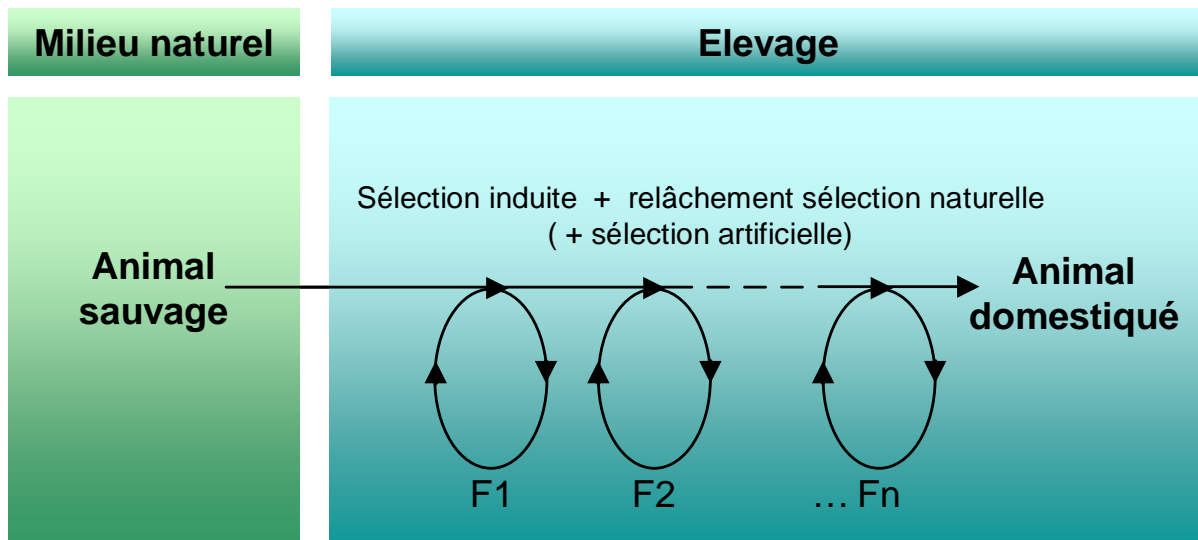
Enfin, la domestication des espèces aquatiques a pu bénéficier de la rapide avancée des connaissances techniques et scientifiques associée à une demande sociétale croissante en produits aquacoles et à la stagnation des pêches mondiales due à la surexploitation des ressources marines (Fig. 3, d’après Pauly *et al.*, 2002). Cette conjoncture a permis un essor mondial de l’aquaculture, *e.g.* : en 2003, les élevages aquacoles représentaient 31.9% de la production totale (pêche et élevage) mondiale de poissons et devrait représenter plus de la moitié des produits aquatiques consommés par l’homme d’ici 2030 (FAO, 2006).



**Figure 3** : Estimations des captures de produits de la mer de 1950 à 1999 (d’après Pauly *et al.*, 2002)

## 1.2. Concept de domestication / sélection

Le processus de domestication ne peut être dissocié du processus de sélection car il intègre, dans les faits, trois types de sélection : (1) la sélection artificielle, (2) la sélection induite par la captivité et (3) le relâchement de la sélection naturelle (Price & King, 1968 ; Price, 1998 ; Fig. 4).



**Figure 4 :** Le concept de domestication et de sélection (d'après Price & King, 1968).  
*F* : génération ; 1, 2, ...*n* : nombre de générations

La sélection artificielle est l'aspect le mieux connu du processus de domestication. Elle est appliquée intentionnellement sur des caractères choisis par le sélectionneur, mais peut entraîner, de façon fortuite, des caractères non désirés génétiquement corrélés au caractère choisi (Price & King, 1968). Elle concerne principalement des caractères phénotypiques et physiologiques, dit de production : taille, poids (volaille : Mignon-Grasteau & Faure, 2002 ; poisson : Vandeputte & Launey, 2004), efficacité alimentaire (porc : Mercat & Mormède, 2002), âge de la maturité sexuelle (poisson : Fostier & Jalabert, 2004), qualité de la chair (poisson : Fauconneau & Laroche, 1995 ; volaille : Terlouw, 2002), productivité : lait, ponte... (bovin : Coulon *et al.*, 1997 ; volaille : Mignon-Grasteau & Faure, 2002) ou sur des caractères comportementaux, dit d'adaptation : docilité (bovin : Le Neindre *et al.*, 1993 ; Grandin & Deesing, 1998 ; Grignard *et al.*, 2001 ; caprin : Lyons *et al.*, 1988), soins parentaux (bovin : Le Neindre, 1989), sociabilité (volaille : Mills *et al.*, 1991).

La sélection fortuite d'un caractère peut avoir des répercussions positives ou négatives pour l'animal et/ou l'éleveur. Par exemple, des animaux sélectionnés sur la docilité et une réactivité moins importante à l'homme semblent développer plus rapidement un comportement maternel approprié (bovin : Le Neindre *et al.*, 2002 ; ovin : Murphy *et al.*, 1998), présenter une productivité de lait plus importante (bovin : Visscher et Goddard, 1995) et une meilleure qualité de chair (bovin : Boissy *et al.*, 2000 ; Voisinet *et al.*, 1997). Autre exemple, certains animaux sélectionnés pour la croissance présentent une moindre agressivité (poisson : Ruzzante et Doyles, 1991, Ruzzante, 1994 ; Johnsson *et al.*, 1996 ; volaille : Kjaer & Mench, 2003). Parmi les exemples d'associations négatives, on peut citer : la sélection sur la largeur de la poitrine chez la dinde qui a abouti à l'élimination des aptitudes des mâles à pouvoir s'accoupler naturellement obligeant la pratique systématique de l'insémination artificielle pour ces lignées (Price, 1999), la forte augmentation du poids du poulet de chair qui a conduit à une baisse générale de l'activité, de la libido, à une augmentation de l'appétit et de la sensibilité aux infections (Kjaer & Mench, 2003), la sélection sur la ponte qui a abouti à des animaux plus nerveux, agressifs, présentant des problèmes de picage (Craig & Muir, 1993 ; Muir, 1996), la sélection d'animaux pour une forte capacité laitière qui s'est accompagnée d'une diminution de leurs aptitudes à prendre soin de la progéniture (bovin : Le Neindre, 1989 ; ovin : Boissy *et al.*, 1996). En aquaculture, des contradictions existent

également, comme la sélection de la maturation sexuelle tardive pour éviter le ralentissement de la croissance qui a contribué à la dégradation de la qualité de la chair (Fontaine & Le Bail, 2004).

La sélection induite par la captivité représente toutes les sélections qui ne sont pas le fait de la volonté de l'homme (Price & King, 1968 ; Hale, 1969 ; Wright, 1977), comme le succès reproducteur faible ou la mortalité des individus les moins bien adaptés aux conditions d'élevage. En absence de sélection artificielle, la sélection induite est le mécanisme de base des changements génétiques chez les populations captives. L'influence de cette sélection dans le processus de domestication dépend : de la mesure avec laquelle l'environnement de captivité permet le développement l'expression des caractéristiques biologiques de l'espèce (Spurway, 1955) et du nombre de générations ayant vécu en élevage (Doyle *et al.*, 1995). En effet, la sélection induite par la captivité sera plus importante dans un environnement d'élevage mal adapté aux exigences de l'espèce (développé ci-dessous) et pendant les premières générations suivant le passage du milieu naturel à la captivité. Cependant globalement, le degré d'adaptation des animaux à l'environnement d'élevage va s'améliorer par l'augmentation de la fréquence de leurs gènes « favorables » à la pression de sélection.

Le relâchement de la sélection naturelle, quant à lui, intervient majoritairement lors du passage du milieu sauvage au milieu captif (Price, 1976 ; Waples, 1991) car certains comportements très importants dans le milieu naturel (*e.g.* rechercher de la nourriture, éviter les prédateurs, parade sexuelle...) perdent tout leur sens en captivité. D'autres comportements vont se substituer à ces derniers au cours des générations : propension plus importante à accepter de nouveaux aliments (volaille : Picard *et al.*, 2000 ; poisson : Reymond, 1989 ; Bégout Anras *et al.*, 2001), diminution de l'agressivité et du comportement territorial (bovin : Bouissou & Boissy, 2005 ; poisson : Baras *et al.*, 1998 ; Petersson & Järvi, 2000), dominance mieux établie (bovin : Bouissou & Boissy, 2005 ; poisson : Juell *et al.*, 2003), baisse des performances sensorielles (volaille : Picard *et al.*, 2000 ; poisson : Blaxter, 1970 ; Kawamura *et al.*, 1989) ; modification du seuil de vigilance et diminution de la distance de fuite vis-à-vis d'un prédateur potentiel (bovin : Murphey *et al.*, 1981 ; ovin : Lankin, 1997 ; poisson : Olla *et al.*, 1994 ; Johnsson *et al.*, 2001), perte du comportement migratoire (poisson : Tsukamoto *et al.*, 1990 ; Bridger *et al.*, 2001) ou du comportement reproducteur et de couvaison (poisson, Vandeputte & Launey, 2004 ; volaille : Guémené *et al.*, 2001 ; Beaumont & Chapuis, 2004).

Le processus de domestication se traduit généralement par une diminution de la fréquence ou de l'intensité avec laquelle un comportement particulier s'exprime (Kretchmer & Fox, 1975 ; Heaton, 1976 ; Hale, 1969 ; Price, 1984 ; Ruzzante, 1994). Cependant, pour réussir la phase de domestication, il faut faire des compromis entre la productivité et l'état de stress des animaux. Il y a donc tout intérêt à rechercher des animaux aux capacités d'adaptation élevées, à forte sociabilité et relativement peu sensibles au stress. Cette recherche passe, en général, par la sélection de critères adaptatifs. Certains aménagements dans les pratiques d'élevage et l'amélioration des conditions de vie pour apporter un maximum de « confort » aux animaux sont également nécessaires pour améliorer leurs capacités d'adaptation et dans le cas où les conditions d'élevage ne répondent pas aux exigences de l'espèce, des modifications profondes du comportement et de l'état de santé peuvent apparaître (Hale, 1969, Miller, 1977).

Pour les espèces terrestres, les pratiques d'élevage pouvant altérer le processus de domestication ont été largement étudiées :

La qualité de l'environnement dans lequel les animaux sont placés joue un rôle prépondérant *i.e.* nécessité de disposer d'abris ou de nids (volaille : Jenkins, 1961 ; Mignon-Grasteau & Faure, 2002 ; Cooper & Appleby, 2003 ; porc : Baxter, 1982 ; Jarvis *et al.*, 2001), d'un substrat adapté (bovin : Enting *et al.*, 1997 ; Telezhenko & Bergsten, 2005 ; Tucker *et al.*, 2006 ; volaille : Lagadic & Faure, 1987 ; Zimmerman *et al.*, 2003 ; Arnould & Leterrier, 2007 ; porc : Widowski & Curtis 1990 ; Haskell & Hutson 1996), d'une température, d'une photopériode et d'une qualité d'air adaptées (bovin : Capdeville et Tillie, 1995 ; volaille : De Basilio, 2002 ; porc : Renaudeau, 2004) ou encore d'un espace suffisant pour se mouvoir (bovin : Dellmeier *et al.*, 1985 ; Le Neindre, 1993 ; Veisser *et al.*, 2006 ; volaille : Appleby, 2004).

L'alimentation joue également un rôle primordial. Les animaux ne pouvant se nourrir de façon autonome, sont extrêmement sensibles à la diversité, la quantité, la dispersion ainsi qu'au rythme et au mode de distribution de l'aliment (volaille : Mench, 2002, ovin : Fisher & Matthews, 2001 ; bovin : Mounier *et al.*, 2007 ; porc : Carlstead, 1986 ; Meunier-Salaün & Dantzer, 1990 ; Barnett & Taylor, 1997).

La densité et le mode d'élevage sont souvent cités comme altérant le processus de domestication *i.e.* une densité trop importante (volaille : Dawkins, 1980 ; ruminant : Bouissou & Boissy, 2005 ; porc : Meunier-Salaün & Dantzer, 1990), une recomposition de la population trop fréquente (*e.g.* regroupement d'animaux par classe d'âge ou par classe de poids ; ruminant : Veissier *et al.*, 2001 ; Bouissou & Boissy, 2005) ou bien encore l'isolement et la privation d'interactions sociales avec des congénères ; lapin, Stauffacher, 1992 ; ruminant : Price & Thos, 1980 ; Price & Wallach, 1990 ; Veissier *et al.*, 1994 ; Boissy & Le Neindre, 1997 ; Grignard *et al.*, 2000).

De même, la nature des relations entre l'homme et l'animal est un facteur déterminant, le comportement brutal d'un éleveur durant certaines pratiques d'élevage (traites, opérations de prophylaxie, de pesée...) pouvant fortement altérer le processus de domestication (porc : Gonyou *et al.*, 1986 ; Tanida *et al.*, 1995 ; ruminant : Bouissou & Vandenheede, 1995 ; Lensink *et al.*, 2001 ; Breuer *et al.*, 2003)

Les conséquences de conditions et pratiques d'élevage non adaptés sur le comportement et l'état de santé de l'animal sont de nature très diverses :

Un milieu de captivité non adapté à l'espèce peut entraîner des comportements stéréotypés (bovin : Fraser & Broom, 1997 ; porc : Lawrence & Rushen, 1993, Terlow, 1993), de l'agressivité (volaille, Huber-Eicher & Sëbo, 2001 ; Gunnarsson *et al.*, 1999 ; bovin, Kondo *et al.*, 1989), des problèmes locomoteurs et des changements d'activité (volaille, Gordon, 1994 ; Buyse *et al.*, 1996 ; ruminant : Boissy *et al.*, 2002) ou bien une réduction d'appétit (porc, Quiniou *et al.*, 2000 ; ovin : Fisher & Matthews, 2001 ; bovin : Mounier *et al.*, 2007). Il peut également être responsable d'une réduction de croissance (bovin : Price *et al.*, 2003, Veissier *et al.*, 1989, porc : Le Bellego *et al.*, 2002), de l'apparition de dermatites (volaille : Arnould & Leterrier, 2007 ; bovin : Mounier *et al.*, 2007 ; porc, Meunier-Salaün *et al.*, 2007), de maladies infectieuses ou parasitaires (volaille : Höglund *et al.*, 1995 ; ruminant : Bareille, 2007), voire de mortalité et de cannibalisme (volaille : Arnould & Leterrier, 2007 ; Wahlström *et al.*, 1998 ; Tauson *et al.*, 1999 ; porc : Meunier-Salaün *et al.*, 2007).

Les problèmes d'alimentation, quant à eux, provoquent en général un arrêt ou une modification de la prise alimentaire (volaille : Mench, 2002, ruminant : Fisher & Matthews, 2001, Mounier *et al.*, 2007), une augmentation de l'agressivité (porc : Dantzer, 1990, bovin :

Ingrand, 2000), une inhibition de la croissance (porc Carlstead, 1986 ; Barnett & Taylor, 1997 ; volaille : Picard *et al.*, 2000) ou bien encore des comportements stéréotypés *i.e.* succion et mordillement dirigés vers les congénères ou jeux de langue chez les bovins (Mounier *et al.*, 2007).

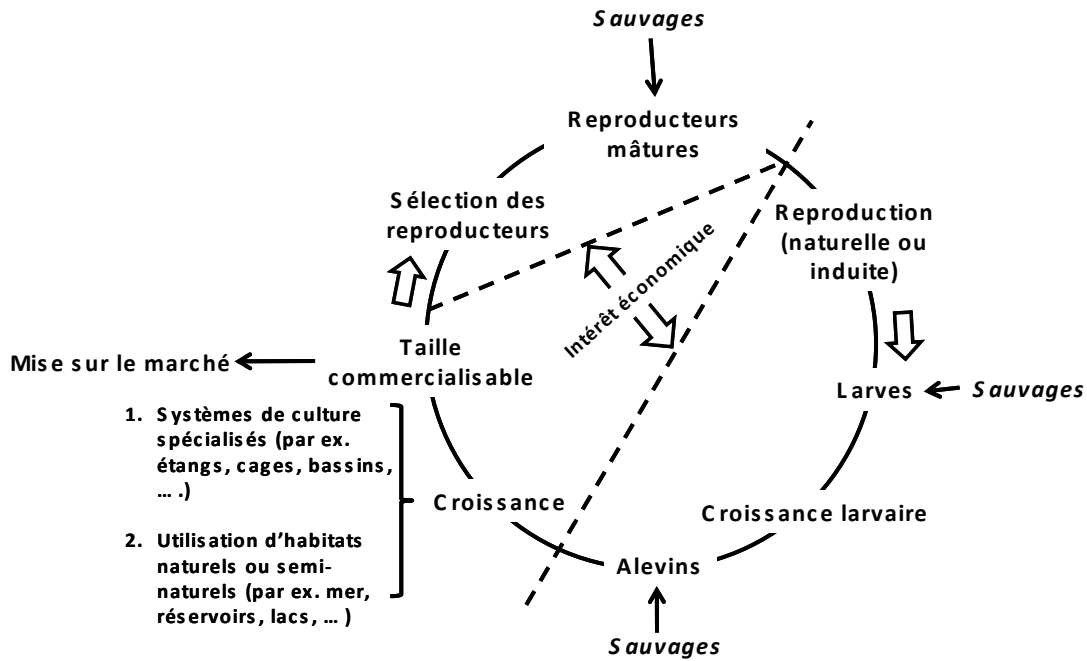
Une densité inappropriée (ou un remaniement du groupe) entraîne généralement une désorganisation de cette structure et a pour conséquence une augmentation de l'agressivité et de la compétition pour l'aliment, l'eau, la zone d'ombre ou la niche, le territoire, le choix du partenaire sexuel (lapin : Martrenchar *et al.*, 2001 ; volaille : Guémené *et al.*, 2007 ; porc : Meunier-Salaün & Dantzer 1990; ruminant : Bouissou & Boissy, 2005 ; Ingrand, 2000).

Un comportement brutal de l'éleveur se traduit généralement par une réaction de fuite (porc : Gonyou *et al.*, 1986 ; Tanida *et al.*, 1995 ; ruminant : Bouissou & Vandenheede, 1995 ; Lensink *et al.*, 2001 ; Breuer *et al.*, 2003) et une augmentation de l'agressivité de l'animal vis-à-vis de l'homme (ruminant : Rousing *et al.*, 2004)

### 1.3. Spécificités de la domestication piscicole

Une des spécificités majeures de l'élevage aquacole, et plus particulièrement piscicole, est qu'il s'adresse à des espèces de domestication récente. Il est d'ailleurs difficile de parler de domestication en aquaculture puisque, dans de nombreux cas, les techniques d'élevage sont encore à mettre au point dans le détail et les cycles d'élevage et de reproduction ne sont qu'imparfaitement maîtrisés (apports fréquents d'individus sauvages ; Fig. 5 ; Vandeputte & Launey, 2004 ; De Silva & Anderson, 2004). Ainsi, en pisciculture, le terme de domestication, signifie pour ceux qui l'emploient, la mise au point des méthodes d'élevage d'une espèce et la compréhension de ses besoins permettant d'aboutir à la maîtrise du cycle d'élevage. On peut donc qualifier cette approche de « domestication zootechnique » appellation qui est relativement différente de celle plus « génétique » définie par Price (1984).

Une autre spécificité de la pisciculture est que les processus de domestication et de sélection ont un impact rapide, parfois dès la première génération sur l'adaptation des poissons (Vandeputte & Prunet, 2002 ; Bégout Anras & Lagardère, 2004, Huntingford, 2004). Malgré le peu de recul existant sur l'impact de la captivité sur les espèces aquacoles élevées, il semble néanmoins que ce processus conduisent chez les poissons à des modifications comportementales et physiologiques proches de celles observés chez les espèces terrestres (perte de comportements « naturels » anti-prédateurs et migratoires, perturbation de la reproduction, modification de l'agressivité, de la croissance, de l'alimentation et de la locomotion (nage)...). Les principales différences avec ces dernières espèces restent liées aux caractéristiques associées à la vie en milieu aquatique comme l'extrême dépendance vis-à-vis du milieu (composantes physico-chimiques et température de l'eau) puisque ce sont des animaux osmorégulateurs et poïkilothermes. Les processus de domestication et de sélection entraînent donc généralement chez les poissons des modifications de leur tolérance aux changements environnementaux (Babouchkine, 1987 ; Wagner *et al.*, 2001).



**Figure 5 :** Les différentes étapes de la production piscicole (d'après De Silva & Anderson, 2004).

Le processus de sélection artificielle quant à lui, est encore très restreint chez les poissons et n'a pas encore abouti à la formation de race, tout au plus peut on parler de souche et dans certains cas très rares, de lignée. Cette sélection concerne principalement des caractères de productivité tels que le poids, la longueur (Gall & Huang, 1988a ; Vandeputte & Launey, 2004), le taux de conversion alimentaire (Kinghorn, 1983), les performances de reproduction (Gall & Huang, 1988b ; Blanc *et al.*, 1993), l'âge de la maturité sexuelle (Burger & Chevassus, 1987, Su *et al.*, 1999), la résistance aux maladies (Henryon *et al.*, 2002 ; Chevassus & Dorson, 1990 ; Gjedrem *et al.*, 1991 ; Gjedrem & Gjören, 1995, Nilsson, 1992), la qualité et la couleur de la chair (Kause *et al.*, 2002 ; Fauconneau, 2004), et la teneur en lipide du muscle (Huss, 1995). Il existe cependant encore de nombreux caractères qui pourraient améliorer l'adaptation des poissons à l'élevage tels que la tolérance aux eaux acides (Gjedrem, 1976), aux hautes (Perry *et al.*, 2001) ou basses (Babouchkine, 1987) températures, le comportement agressif à forte ou faible densité (Ruzzante & Doyle, 1991, Vollestad & Quinn, 2003) ou encore la réponse de stress (Pottinger & Carrick, 1999 ; Tanck *et al.*, 2001 ; Fevolden *et al.*, 2002). Pour la plupart, les études concernant de tels caractères montrent juste l'existence de variabilité génétique, parfois suivie par la mise en place d'une sélection expérimentale, mais aucun de ces caractères d'adaptation ou comportements ne fait ou n'a fait l'objet de sélection à but commercial. Ces caractères, sans impact économique directement mesurable dans la plupart des cas, pourraient cependant très certainement faciliter l'élevage et améliorer le bien-être des animaux élevés.



## 2. Bien-être animal

### 2.1. Définition et historique

La notion de bien-être, a pour origine l'utilitarisme, théorie morale qui s'est construite à la charnière des XVIII<sup>ème</sup> et XIX<sup>ème</sup> siècles et qui a été largement adoptée, surtout dans les pays de langue anglaise.

L'utilitarisme se définit par trois concepts fondamentaux (Audard, 2004) :

- 1) Il propose un critère du bien et du mal : la souffrance est un mal et le bonheur (bien-être) un bien.
- 2) Il comporte un impératif moral : celui de maximiser le bien-être et procède du principe de Bentham (1776) : «le principe du plus grand bonheur pour le plus grand nombre et la mesure du juste et de l'injuste». Cette notion sous-entend que certains individus peuvent être « sacrifiés » si cela doit apporter un bénéfice pour la majorité de la population.
- 3) Il suit une règle: il faut évaluer les actes à la somme de bien-être qui en découle. Cela signifie que ce n'est pas le respect de principes ou de droits qui qualifie le caractère moral d'une action. Un acte peut donc paraître injuste ou condamnable, mais être considéré comme justifié si ses conséquences sont bénéfiques.

Cette vision du bien-être fut tout d'abord réservée à l'espèce humaine, mais fut ensuite élargie aux animaux. Selon Larrère (2007), dès que l'on considère que le plaisir est un bien et la souffrance un mal, le champ de la considération morale doit être étendu à tout les êtres sensibles. Ce fut d'ailleurs le point de vue du fondateur de l'utilitarisme. Bentham (1789), affirmait ainsi que «La question n'est pas : peuvent-ils raisonner, ni peuvent-ils parler, mais bien : peuvent-ils souffrir ?». Il a fallu cependant attendre la fin du XX<sup>ème</sup> siècle pour que la théorie morale de l'utilitarisme soit élargie explicitement aux animaux.

Pour l'utilitariste, il en est de l'élevage, comme du dressage ou de l'expérimentation : tout traitement des animaux est en principe légitime, mais pour qu'il soit moralement défendable, il faut que l'augmentation totale de bien-être qui en résulte excède la quantité de souffrances qu'il inflige. Ainsi, entre deux façons d'utiliser des animaux, sera retenue celle qui maximise le bien-être, les animaux concernés rentrant simplement dans le calcul du «plus grand bonheur pour le plus grand nombre».

Cette éthique demande, en premier lieu de cerner la sensibilité d'un être. Quelle souffrance animale faut-il prendre en considération ? Se souciera-t-on uniquement du bien-être et de la douleur des mammifères et des oiseaux ? Doit-on aussi se préoccuper des poissons et des escargots ? Pour placer cette limite, il faudrait être capable d'appréhender l'univers émotionnel et mental des différentes espèces, ce qui est encore loin d'être le cas car l'étude des émotions chez les animaux d'élevage n'est guère plus développée que celle de leurs capacités cognitives (Dantzer 2001, Duncan et Peterich 1991, Boissy *et al* 2007).

Pour Singer (1983), la capacité de souffrir est une condition nécessaire et suffisante pour avoir des intérêts. Or, le principe utilitariste veut que nous accordions dans nos délibérations morales, un poids égal aux intérêts de tous ceux qui sont affectés par nos actions : «le principe de la considération égale des intérêts fonctionne comme une balance, pesant les intérêts de façon impartiale» (Singer 1983). Seuls des préjugés ont ainsi pu conduire les sociétés à

accorder plus de poids aux intérêts d'un être qu'à ceux d'un autre. Pour Singer (1993), l'heure serait donc venue, après la libération des esclaves au nom de l'antiracisme, celle des femmes au nom de l'antisexisme, de libérer les animaux au nom de l'antispécisme. Concrètement, cela conduit Singer à condamner tout traitement des animaux que l'on estimerait inadmissible s'il était appliqué à des hommes.

Actuellement, les préoccupations qui concernent le bien-être des animaux dérivent incontestablement de l'utilitarisme, mais dans une interprétation moins radicale que celle de Singer. Il ne s'agit plus de mettre tous les êtres sensibles sur un pied d'égalité mais, tout en accordant la primauté aux intérêts humains, de se préoccuper de la façon dont les contraintes que l'on impose aux animaux sont susceptibles de les affecter et de les protéger des souffrances excessives et inutiles (Larrère, 2007). C'est dans cet esprit et le contexte d'une critique éthique des formes industrielles de l'élevage contemporain, qu'une communauté scientifique s'est structurée sous la rubrique de l'Animal Welfare (Larrère 2003, Bourdon 2003). Cette communauté scientifique rassemble des éthologues, des spécialistes de l'univers émotionnel et des aptitudes cognitives des animaux, des neurophysiologistes, des physiologistes de l'adaptation, mais aussi des philosophes, des théologiens et des spécialistes d'éthique animale. C'est cette communauté qui a traduit les contestations des défenseurs de la cause animale en termes de «bien-être». Elle est parvenue à faire valoir son expertise, tant pour évaluer la réaction des animaux aux contraintes de l'élevage, que pour contribuer à définir des normes de production.

Le bien-être est généralement conçu comme un état mental individuel qui procède de trois définitions (Burgat 2001, Dantzer 2001) correspondant en partie aux « 5 degrés de liberté » (Brambell, 1965) qui, selon le FAWC (Farm Animal Welfare Council, 1992), doivent servir de règles à l'évaluation du traitement des animaux : absence de maladie, de blessure et de douleur, de faim et de soif, de stress et de peur et possibilité d'exprimer les comportements naturels de l'espèce. Ces trois définitions sont les suivantes :

- 1) D'un point de vue productiviste, le bien-être se réduirait à l'absence de blessure, de maladie, de douleur manifeste. Il s'agit donc de savoir si une contrainte imposée aux animaux se traduit (ou non) par une augmentation de la mortalité, de la morbidité ou des traumatismes. En l'absence de tels signes, on considèrera que le bien-être des animaux est respecté. L'application de ce principe souffre d'une faible disponibilité de données épidémiologiques indispensables pour rendre opérationnelle cette définition minimaliste du bien-être (Dantzer, 2001).
- 2) Du point de vue des instituts de recherche, le bien-être se définirait également comme l'absence de souffrance, mais serait aussi considéré comme altéré dès que l'animal ne parvient plus à mobiliser ses ressources physiologiques et/ou mentales pour faire face aux contraintes qui lui sont imposées. De nombreuses études ont donc été engagées sur **la recherche d'indicateurs physiologiques et/ou comportementaux du stress** associés aux difficultés qu'éprouvent les animaux à s'adapter à leur environnement, mais ces travaux visent à protéger l'animal de la souffrance, sans remettre en cause les contraintes qui lui sont imposées, ni le modèle de production contraignant auquel il est soumis.
- 3) Du point de vue des éthologues, le bien-être serait l'état dans lequel se trouve un animal quand il peut exprimer les comportements naturels de son espèce. Il ne s'agit donc plus ici de s'interroger sur l'adaptation des animaux aux contraintes de l'environnement qu'on leur impose, mais d'adapter cet environnement à leur comportement «naturel». Cela

conduit à s'interroger sur des dispositifs d'élevage qui assureraient à tout animal «la liberté de mouvement, la possibilité d'explorer le milieu, d'exprimer les comportements propres à l'espèce, d'avoir des relations avec leurs congénères » (Burgat 2001), sans exclure les soins de l'éleveur et en tenant compte de ses conditions de travail. Ce concept pose le problème du respect ou non de tous les comportements naturels d'une espèce. Par exemple, la fuite devant un prédateur fait partie des stratégies de survie propre à l'espèce, mais elle s'accompagne généralement de stress. La question des interactions agonistiques entre animaux est, de ce point de vue, particulièrement délicate car ces agressions font partie du registre des comportements naturels de l'espèce, mais elles infligent des douleurs aux animaux qui s'affrontent.

A la différence des approches inspirées par la tradition utilitariste, la définition éthologique du bien-être animal, tient compte des réseaux de sociabilité. Dans l'élevage industrialisé, où il est traité comme une unité numérique ou regroupé en lots homogènes, l'animal est coupé de son environnement social, des relations avec ses congénères, ou avec l'éleveur. Cela conduit à entraver les comportements sociaux «naturels» de l'espèce (relations des mères et de leurs petits, relations hiérarchiques du troupeau...) et à appauvrir les relations entre les éleveurs et leurs animaux. Si l'on adopte la troisième définition du «bien-être» animal, on est conduit à prendre en considération les interactions sociales entre animaux (y compris celles qui impliquent des affrontements susceptibles de blesser des individus), mais aussi à se préoccuper des rapports individualisés, subjectifs et personnalisés que les éleveurs peuvent avoir avec leurs animaux (Larrère, 2007).

C'est de ces définitions et de la reconnaissance de la sensibilité des animaux que découlent les lois de protection de l'animal. La loi dite «nature» du 10 juillet 1976, stipule que «tout animal étant un être sensible, doit être placé par son propriétaire dans des conditions compatibles avec les impératifs biologiques de son espèce». Elle interdit donc d'exercer des «mauvais traitements envers les animaux domestiques ainsi qu'envers les animaux sauvages apprivoisés ou tenus en captivité» et rend nécessaire de «leur éviter des souffrances lors des manipulations inhérentes aux diverses techniques d'élevage, de parcage, de transport et d'abattage» (articles 214-1 et 214-3 du Code Rural). Le traité d'Amsterdam (Union Européenne, 1999) quant à lui, a fait passer les animaux d'un statut de biens marchands à celui d'êtres sensibles.

Cette prise en compte de la protection animale par les institutions répond aux attentes de nos sociétés, exprimées plus particulièrement par les associations de protection animale, mais les filières de production ont aussi commencé à répondre à ces attentes. Leurs initiatives visent, d'une part, à revaloriser l'image des élevages et, d'autre part, à mobiliser les éleveurs sur le concept de bien-être animal. Au Royaume-Uni par exemple, les éleveurs sont quasiment tous affiliés à un programme de certification (Veissier *et al.*, 2007). La question sociétale de la protection des animaux vivant sous la dépendance de l'homme a également trouvé son écho dans les milieux scientifiques où le problème de l'évaluation du bien-être des animaux en élevage a été traduit et abordé de façon multidisciplinaire. Actuellement, un consensus général définit le bien-être d'un animal comme étant un état mental qui dépend de la façon dont il perçoit son environnement (Fig. 6). S'il s'avère que l'environnement satisfait tout ses besoins, alors l'état mental sera le bien-être. Si l'environnement n'est pas idéal mais que l'animal peut s'y adapter, alors l'état mental correspondra à un sentiment de «coping» («je fais avec»). Si au contraire, l'animal ressent des difficultés à s'adapter, alors la souffrance peut s'installer et les fonctions biologiques pourront être perturbées, *e.g.* modification de l'organisation des comportements et du fonctionnement des systèmes physiologiques

impliqués dans le stress, diminution de l'état général de santé pouvant aller jusqu'à l'apparition de pathologies ; Veissier *et al.*, 2007).

Une grande partie des recherches conduites dans le domaine du bien-être vise à développer des indicateurs de bien-être (ou au contraire de mal-être) et à évaluer le niveau de bien-être permis par les conditions de vie des animaux. Ces travaux incluent :

- Des indicateurs comportementaux et en particulier l'expression d'activités anormales liées à l'impossibilité d'exprimer un comportement pour lequel l'animal est fortement motivé, telle qu'une réactivité émotionnelle exacerbée ou diminuée sous l'effet d'un stress aigu ou chronique.
- Des indicateurs physiologiques, comme la modification du fonctionnement de l'axe corticotrope sous l'effet d'un stress aigu ou chronique.
- Des indicateurs zootechniques, comme le gain de poids, la production de lait ou d'œufs qui peuvent varier, entre autres, si les animaux subissent un stress aigu ou chronique.
- Des indicateurs sanitaires qui rendent compte de la présence de maladies et/ou de blessures lesquelles peuvent entraîner un malaise ou des douleurs pour l'animal.
- Des indicateurs de préférence qui permettent d'évaluer les préférences en posant directement la «question» à l'animal au travers de tests de choix multiples (Veissier *et al* 1999).

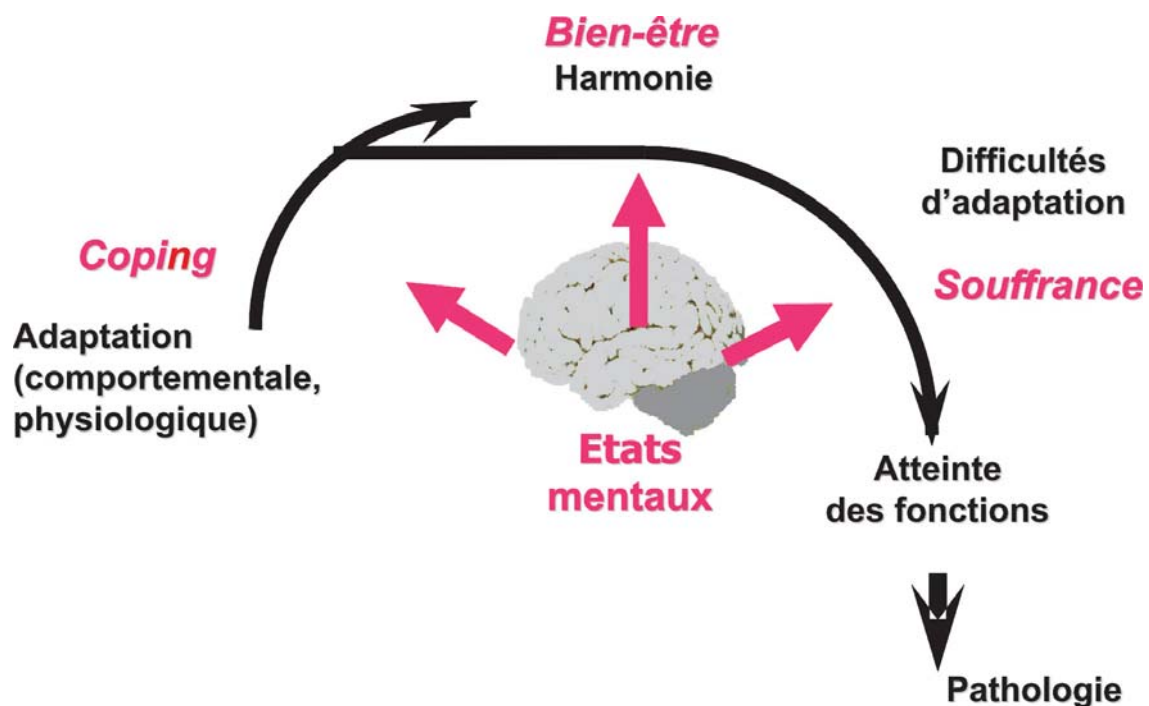


Figure 6 : Perception de l'environnement par l'animal et bien-être (Veissier *et al.*, 2007)

L'appréciation des conditions d'élevage au regard du bien-être animal suit généralement la démarche suivante :

- 1) Les systèmes sont d'abord décrits puis les points critiques sont identifiés au regard des connaissances préalables dont on dispose sur la biologie de l'espèce (besoins des animaux, éléments susceptibles d'être perçus négativement par l'animal).
- 2) Des expérimentations ou des enquêtes en fermes (suivant une approche épidémiologique) sont réalisées afin d'identifier les causes ou facteurs de risque.
- 3) Des améliorations sont proposées et testées.

## 2.2. Spécificités du bien-être chez les poissons

Compte tenu des définitions précédentes et parce que la notion de bien-être animal est directement associée à la capacité des animaux à ressentir la douleur et d'autres formes de souffrance, il s'agit maintenant de savoir si une situation peut générer un état mental de souffrance chez les poissons en répondant aux questions suivantes : Qu'est ce qu'un animal sensible ? Comment appréhender l'univers émotionnel et mental de l'individu ?

Cette notion d'animal sensible est déjà difficile à déterminer chez les espèces terrestres alors que nous partageons le même environnement et exprimons nos sentiments souvent de la même manière ; elle l'est encore plus lorsqu'il s'agit d'appréhender cette notion chez une espèce qui ne vit pas dans le même milieu que nous, avec qui nous avons peu de contacts et qui ne partage pas les mêmes modes de communication. C'est la raison pour laquelle, pendant longtemps et parfois encore actuellement, les poissons ont fait l'objet d'antispécisme et la prise en compte de leur bien-être ne s'est faite que très récemment.

A l'heure actuelle, un consensus suggère que les poissons éprouvent certains des états physiques et émotionnels qui sont associés chez l'homme à la douleur, sans pour autant avoir la même conscience de la souffrance que les humains (Huntingford *et al.*, 2006, Chandroo *et al.*, 2004, Braithwaite & Huntingford, 2004). Ce point de vue est étayé par les éléments suivants :

- Les poissons possèdent un répertoire de comportements complexes sous-tendus par des processus mentaux élaborés, identiques à ceux générés par le ressenti conscient de la douleur chez l'homme (Prunet & Auperin, 2007).
- Certaines espèces de poissons sont capables de former des représentations mentales de leur environnement ce qui leur permet de développer des capacités de navigation exceptionnelles (Reese, 1989, Rodriguez *et al.*, 1994).
- Beaucoup de poissons vivant en groupe social sont capables de reconnaître leurs congénères de proximité (Swaney *et al.*, 2001).
- Différents types d'informations comme le ressenti d'un stimulus nocif sont intégrés au niveau de différentes parties du cerveau du poisson, ce qui permet à l'animal d'exprimer des réponses d'évitement adaptées (Portavella *et al.*, 2004, Yue *et al.*, 2004).

Ce consensus est renforcé par la connaissance de l'existence chez les poissons de systèmes de perception de la douleur comme chez la truite où deux types de nocirécepteurs (les fibres A-delta et C) ont été identifiés au niveau du nerf trigeminal (Sneddon *et al.*, 2003). Les poissons téléostéens sont d'ailleurs connus pour produire les mêmes messagers, des opiacés naturels, connus chez les mammifères pour moduler la nociception (Balm & Pottinger, 1995). Enfin, des travaux récents d'analyse du comportement chez la truite ayant subi un traitement nocif au niveau de la bouche, indiquent des perturbations fortes de différentes variables comportementales (Sneddon, 2003). L'ensemble de ces données suggère donc que les poissons sont capables de percevoir un stimulus nocif, non seulement au niveau périphérique par l'intermédiaire d'un système sensitif mais aussi au niveau central et d'avoir une certaine perception de la douleur (Huntingford *et al.*, 2006).

A partir de ce constat, la FSBI (Fisheries Society of the British Isles) a redéfini les cinq degrés de liberté édités par Brambell (1965) en les adaptant aux conditions spécifiques de l'élevage piscicole :

1. Les poissons doivent être nourris avec une alimentation complète, en adéquation avec les exigences de leur espèce et de leur âge.
2. Ils doivent vivre dans une eau de bonne qualité avec un débit suffisant et avec une température et une luminosité adéquates.
3. Ils doivent faire l'objet d'une attention particulière afin de prévenir l'apparition d'infections et de maladies.
4. Ils doivent vivre dans un espace suffisamment grand pour leur espèce afin d'exprimer leurs comportements naturels. Ils doivent également être en contact avec des congénères dans le but d'entretenir des liens sociaux s'il s'agit d'une espèce vivant en banc. Le milieu d'élevage doit être enrichi et adapté selon l'espèce.
5. Les conditions entraînant un niveau d'anxiété très élevé comme la peur, la douleur, la faim ou des manipulations excessives doivent être minimisées le plus possible.

### 2.2.1. Comment évaluer le bien-être chez les poissons ?

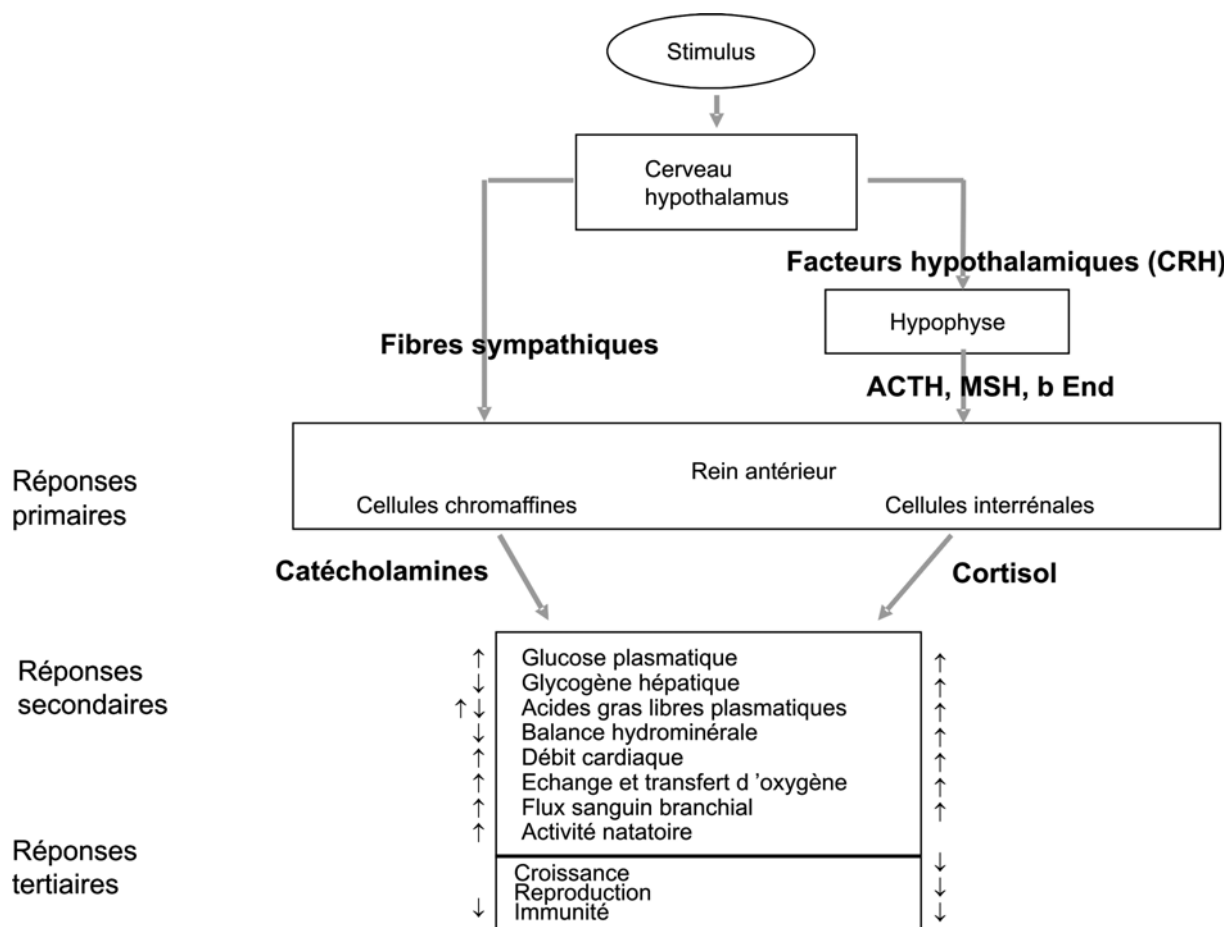
Compte tenu de la multiplicité des facteurs biologiques qui sont associés au bien-être des poissons, la stratégie actuelle (la plus fiable pour l'évaluer) reste la mesure simultanée de plusieurs indicateurs comportementaux et physiologiques associés aux différents volets biologiques du bien-être. C'est à partir des informations acquises sur les réponses biologiques aux situations de stress qu'ont été élaborés les indicateurs de perturbations du bien-être chez les poissons. Les travaux menés à ce jour, montrent clairement que, pour réagir aux facteurs de stress, les poissons possèdent globalement les mêmes stratégies physiologiques et comportementales que les vertébrés terrestres (Barton, 1997 ; Wendelaar Bonga, 1997 ; Huntingford & Adams, 2005). Les poissons sont également capables, dans certains, cas de mettre en place des réponses comportementales et physiologiques intégrées qui recouvrent des stratégies d'opportunisme décrites chez les mammifères (Koolhass *et al.*, 1999 ; Wingfield, 2003 ; Huntingford & Adams, 2005).

Les études comportementales constituent une approche importante pour l'évaluation du bien-être chez les poissons, car elles permettent d'identifier précocement une perturbation du bien-être et permettent également de « questionner » l'animal sur ses préférences. En effet, les réponses comportementales constituent la première ligne de défense du poisson face à des facteurs de stress environnementaux, sociaux, ou liés aux prédateurs. La gamme de réponses comportementales que le poisson peut exprimer en élevage est très large, comme par exemple les modifications du comportement de nage (Juell & Fosseidengen, 2004 ; Pitcher & Parrish, 1993, Goodey & Liley, 1985 ; Kuwada *et al.*, 2000), de posture (O'Connor *et al.*, 2000 ; Sutor & Huntingford, 2002), de couleur (Endler, 1986, Green & Baker, 1990), du comportement alimentaire (Hart, 1993 ; Liebert & Schreck, 2006) ou le développement de phases comportementales spécifiques en réponse à une maladie parasitaire (Furevik *et al.*, 1993) ou à une blessure (Verheijen & Buwalde, 1988 ; Sneddon *et al.*, 2003). L'apparition d'une contrainte (*i.e.* densité, rythme d'alimentation imposé...) peut aussi provoquer une réponse de stress. La connaissance du comportement normal de l'espèce élevée constitue donc un préalable indispensable pour l'analyse du bien-être et les modifications comportementales constitueront des indicateurs de la manière dont le poisson réagit au stress (Schreck *et al.*, 1997). Une autre approche comportementale, largement utilisée chez les oiseaux et les mammifères, est l'utilisation de tests de choix face à différents facteurs environnementaux ou sociaux pour définir les conditions favorables à son bien-être (Huntingford *et al.*, 2006), *e.g.* différentes températures (Bevelhimer, 1996), concentrations de polluants (Giattina & Garton, 1983) ou bancs de composition différente (Metcalf & Thomson, 1995).

L'étude des réponses physiologiques est également importante pour l'évaluation du bien-être chez les poissons qui, comme les mammifères, présentent une activation du système cathécholaminergique et de l'axe hypothalamo-hypophyse-interrénale (HPI) en réponse primaire à un stress (Wendelaar Bonga, 1997). Le stress induit une libération rapide de catécholamines par le tissu chromafin situé au niveau du rein antérieur (Perry & Bernier, 1999). L'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-interrénale conduit à la libération, au niveau du système nerveux central (hypothalamus), de CRH (Cortico-Releasing Hormone), neuropeptide qui stimule la libération d'ACTH hypophysaire, laquelle va stimuler la synthèse et la sécrétion de cortisol par l'interrénale (glande homologue du cortex adrénal des mammifères) en association avec d'autres hormones hypophysaires telles que MSH et  $\beta$ -endorphine (Fig. 7 ; Weld *et al.*, 1987 ; Okawara *et al.*, 1992 ; Sumper, 1977). L'activation de ces deux systèmes permet des réponses coordonnées, à court terme, activées par les catécholamines, puis à plus long terme par le cortisol. Ces réponses touchent, dans un premier temps, les grandes fonctions physiologiques impliquées dans l'acclimatation, la respiration, le métabolisme énergétique, l'osmorégulation et la fonction cardio-vasculaire. Lorsque la situation de stress se prolonge et que l'animal ne peut s'adapter, les modifications de ces fonctions peuvent entraîner la perte d'appétit, la réduction de la croissance, le blocage de la reproduction ou la chute de la réponse immunitaire (Pickering *et al.*, 1991 ; Farbridge & Leatherland, 1992 ; Thorpe *et al.*, 1998). Les défenses contre les agents pathogènes s'appuient, quant à elles, principalement sur le système immunitaire non spécifique car leur système immunitaire spécifique, qui comprend les lymphocytes responsables de la production d'anticorps et les cellules phagocytaires, est moins développé (Press, 1998). L'immunosuppression associée au stress chronique et en partie médiée par le cortisol (Weyts *et al.*, 1999) conduit fréquemment à des mortalités dues à des pathologies bactériennes ou fongiques chez ces espèces (Pickering & Pottinger, 1989 ; Plumb, 1994). Si l'étude de la réponse physiologique au stress reste très importante pour évaluer le bien-être des poissons il ne faut cependant pas oublier qu'elle n'est pas toujours synonyme de souffrance (Dawkins, 1998) et que l'utilisation de ce seul critère ne suffit pas (Huntingford *et al.*, 2006).

## 2.2.2. Quelles pratiques aquacoles peuvent affecter le bien-être des poissons ?

Quel que soit le système de production utilisé, l'élevage des poissons est étroitement dépendant de la quantité d'eau disponible et de sa composition physico-chimique (Conte, 2004). L'eau véhicule principalement les déchets azotés sous forme non toxique pour les poissons (sous la dépendance de la température et du pH), l'oxygène (sous la dépendance de la température et de la salinité) et les produits du métabolisme tels que le gaz carbonique. Toute variation de ces paramètres en dehors des valeurs acceptables, pour une espèce considérée, pourra donc conduire à des réactions de stress qui, lorsqu'elles se prolongent dans le temps, induisent pathologie et mortalité (Conte 1992, Schreck & Li, 1991).



**Figure 7 :** Principales voies neuroendocriniennes d'intégration de la réponse au stress chez les poissons. ACTH : adrenocorticotropine, MSH : hormone stimulant les mélanophores, beta end :  $\beta$ -endorphine. (d'après Wendelaar Bonga, 1997 ; Prunet & Auperin, 2007)

La densité d'élevage est une autre variable importante qui intègre le nombre de poissons par unité de volume et la biomasse par unité de volume statique (eau non circulante). Les densités d'élevage spécifiques à chaque site de production et à chaque espèce doivent être définies selon la capacité d'accueil du milieu (mesurée par la qualité physico-chimique de l'eau) et le



seuil de confinement tolérable (par rapport aux besoins comportementaux de l'espèce considérée ; Ellis *et al.*, 2001 ; Wedemeyer, 1996). Un important débat est mené aujourd'hui sur la densité d'élevage, pour savoir si la cause principale de la perturbation du bien-être à forte densité est liée à une diminution de la qualité de l'eau ou bien à la mise en place d'interactions sociales défavorables (Ewing & Ewing, 1995 ; Scott *et al.*, 2001 ; Ellis *et al.*, 2002). Les résultats diffèrent selon les espèces : le bien-être étant altéré par des fortes densités chez la truite, le saumon (Ewing & Ewing, 1995), le pagre rouge (Rotllant & Tort, 1997) et la daurade (Montero *et al.*, 1999) et par des faibles densités chez l'omble chevalier (Jergensen *et al.*, 1993) ; les résultats chez le bar sont, quant à eux, contradictoires (Papoutsoglou *et al.*, 1998 ; Vazzana *et al.*, 2002)

La manipulation des poissons constitue aussi une source de stress importante car elle conduit souvent à une exondation momentanée des animaux. Elle est pratique courante lorsque les éleveurs trient les animaux par classe de taille afin d'optimiser la prise alimentaire et suivre les performances de croissance de l'élevage (Barton & Iwama, 1991). Lorsque la manipulation ne se fait pas correctement, la couche de mucus protectrice et les écailles peuvent être abîmées, augmentant la possibilité d'une attaque parasitaire ou de tout autre pathogène (Post, 1987). Les poissons pêchés en trop grande quantité dans une épuisette ou un filet, peuvent aussi se blesser par compression ou par les épines dorsales de leurs congénères (Conte, 2004). Le transfert des poissons d'une structure d'élevage à une autre, constitue également un stress si la température ou la qualité de l'eau change brutalement, même si ces valeurs restent dans la gamme de tolérance de l'espèce (Wedemeyer, 1997).

Le transport des poissons est également une source de stress importante. Il est décomposé en trois phases dont les stress engendrés sont généralement additifs ou synergiques : (1) le regroupement des animaux avant le chargement dans les cuves de transport, (2) le chargement et (3) le transport à proprement parler. Le chargement est rapporté comme étant la phase la plus stressante pour de nombreuses espèces (Miles *et al.*, 1974, Specker & Schreck, 1980) probablement à cause des traumatismes (lésions cutanées) associés aux méthodes de transfert en particulier avec l'usage d'épuisettes (Barcellos *et al.*, 2001).

Enfin, certaines méthodes d'abattage peuvent être stressantes pour les poissons, comme l'anesthésie au CO<sub>2</sub>, la saignée et l'asphyxie à l'air, l'électronarcose (selon les espèces), la balnéation dans une eau à 0°C (selon les espèces).

### 2.2.3. Quelles sont les conséquences de ces pratiques sur le bien-être des poissons et comment les reconnaître?

D'une façon générale, un changement dans le statut physiologique et/ou le comportement (alimentaire et/ou natatoire) est le signe de conditions non favorables, de stress, de souffrance ou de maladie (Morton, 1990 ; Etscheidt & Manz, 1992 ; Holm *et al.*, 1998 ; Kristiansen *et al.*, 2004 ; Conte, 2004).

La dégradation des conditions environnementales est la cause qui a été la plus étudiée. Un déséquilibre physico-chimique de l'eau affecte directement la physiologie de la respiration et de l'osmorégulation et peut aussi aboutir à une destruction de la couche externe de mucus qui constitue une barrière importante contre les agents pathogènes et les parasites (Post 1987 ; Klontz, 1993). Une température ou un éclairage non approprié aux exigences de l'espèce diminue ou supprime les performances de reproduction chez de nombreuses espèces

(Donaldson, 1990 ; Pankhurst & Van Der Kraak, 1997). Un faible niveau d'oxygène dissous dans l'eau entraîne une baisse du niveau d'immunoglobuline (Scapigliati *et al.*, 1999), influence le comportement natatoire des poissons (nage et respiration à la surface de l'eau) et augmente le rythme de ventilation (Huntingford *et al.*, 2006). Une infestation parasitaire ou une infection des branchies affecte le comportement des poissons et entraîne une sécrétion excessive de mucus : ils se frottent contre les parois du bassin, les opercules sont grands ouverts (Post 1987), l'activité générale augmente avec des sauts à la surface de l'eau et finalement une baisse d'activité suivie d'une léthargie apparaissent (Warren, 1991 ; Thoesen, 1994 ; Furevik *et al.*, 1993). Des conditions de vie défavorables et/ou une alimentation non adaptée aux besoins dès le stade larvaire peuvent conduire à des malformations squelettiques (Chatain, 1994 ; Boglione *et al.*, 2001; Cahu *et al.*, 2003 ) et à un développement anormal des réponses comportementales adaptatives (Fletcher 1997; Davis & Olla 1992).

Les effets de la densité d'élevage ont également fait l'objet de nombreuses études. Une forte densité peut provoquer une nage anormale (Kristiansen & Juell, 2002 ; Kristiansen *et al.*, 2004), renforcer l'agressivité, la hiérarchie sociale et les contacts physiques provoquant des blessures (Turnbull *et al.*, 1998) surtout lorsqu'il y a une forte compétition vis-à-vis de l'aliment (Greaves & Tuene, 2001). Un stress social et le statut subordonné provoque un changement de couleur des yeux chez les salmonidés (O'Connor *et al.*, 2000 ; Sutor & Huntingford, 2002)

Les conséquences des manipulations, du transport et de l'abattage des poissons ont été également relativement bien caractérisées. La pêche provoque des perturbations neuroendocriniennes (Pickering, 1998) et réduit la résistance aux maladies (Strageland *et al.*, 1996). Le confinement, quant à lui, augmente les niveaux de cortisol et de glucose sanguin et altère l'activité immunologique (Garcia-Garbi, 1998). La saignée et l'asphyxie à l'air sont, de manière générale, des méthodes de mort lente et douloureuse (Robb & Kestin, 2002). L'anesthésie au CO<sub>2</sub> provoque chez les poissons une très forte activité musculaire pendant les premières minutes (Robb *et al.*, 2000) et un changement des taux d'hématocrite, de glucose et de cortisol plasmatiques (Marx *et al.*, 1999). L'électronarcose provoque chez certaines espèces comme le turbot une forte production de mucus qui peut être interprétée comme un signe de stress (Morzel *et al.*, 2003).

Enfin, les effets du jeûne et du contact avec un prédateur ont été étudiés chez quelques espèces. La privation d'aliment peut provoquer une érosion de la nageoire dorsale (Winfrey *et al.*, 1998), une perte de poids et une diminution de l'indice de condition corporel (Einen *et al.*, 1998 ; Etscheidt & Manz, 1992). Une exposition même brève à un prédateur peut entraîner une augmentation du niveau de cortisol, du rythme respiratoire et diminue ou stoppe l'alimentation (Metcalfe *et al.*, 1987).

#### 2.2.4. Quelles sont les solutions pour améliorer le bien-être des poissons ? Compatibilité avec les objectifs de production

Différentes solutions existent pour améliorer le bien-être des poissons en élevage qui sont généralement d'ordre techniques mais peuvent aussi être apportées par une amélioration génétique de l'espèce. Le protocole de gestion du stress et d'amélioration du bien-être des poissons passe par le respect de la qualité du milieu de vie et de la densité d'élevage répondant aux exigences de l'espèce, par la limitation des manipulations et par l'attention

portée aux changements comportementaux des animaux et à l'apparition de maladies (Conte, 2004).

Le maintien d'une qualité d'eau optimale dans les limites tolérables pour une espèce élevée, s'effectue différemment selon les systèmes d'élevage : en milieu naturel (cages en mer, eau saumâtre ou eau douce) par un choix judicieux de l'emplacement de l'élevage (Conte, 2004) ; dans les systèmes d'élevage en eau recyclée, par le contrôle de la concentration en oxygène, de la température, du CO<sub>2</sub>, des niveaux d'ammoniac et d'azote (Masser *et al.*, 1999).

Les technologies actuelles permettent d'augmenter les densités d'élevage à volume d'eau entrant constant en traitant l'eau par divers procédés d'oxygénation (tubes en U, plateformes à jet, bicônes) et en éliminant les matières en suspension (filtration mécanique). L'amélioration de la qualité des aliments (digestibilité, tenue) contribue également au maintien de la qualité d'eau et permet d'accroître les densités d'élevage. Toutes ces solutions n'excluent cependant pas le problème lié à l'agressivité et aux interactions sociales.

L'amélioration des pratiques liées à la manipulation et au transport des poissons, quant à elle, passe par la surveillance de la qualité de l'eau lors du regroupement des poissons en vue de leur pêche et par l'utilisation de goulottes ou de vis sans fin pour leur transfert afin de réduire au maximum le temps d'exondation et de manipulation. Ces systèmes et l'utilisation de filets adaptés permettent de réduire l'élimination de la couche de mucus externe. Pour diminuer les risques de blessures, l'utilisation d'anesthésique est recommandable pour certaines manipulations (tri, collecte de gamètes...) en particulier pour les espèces de poissons présentant des mouvements brusques ou des épines (bar, tilapia...). Les caractéristiques du milieu dans lequel les poissons sont transférés doivent être proches de celles du milieu de départ (Wedemeyer, 1997) ; un transfert progressif, par pallier, est recommandé en cas de milieux trop différents. Lors du transport, il est particulièrement important de surveiller les teneurs en oxygène de l'eau (qu'il est relativement aisé d'ajuster), mais également la température et l'accumulation des produits du métabolisme (CO<sub>2</sub>, ammoniac) et des matières en suspension si le transport est long. Une réduction progressive de la température de l'eau ou une légère sédation (Wedemeyer, 1972, Robertson *et al.*, 1988) permettront de réduire considérablement le stress. Enfin, même si le transport se fait dans de bonnes conditions, les poissons doivent récupérer avant l'exposition à tout autre stress afin de ne pas cumuler l'effet de plusieurs agents stressants successifs (Conte, 2004).

Enfin, la méthode d'abattage doit être adaptée à l'espèce. La méthode du « live chilling » par exemple, associant une anesthésie au froid (1°C), une asphyxie au CO<sub>2</sub> à 1°C puis une saignée, a été développée pour les saumons et présente des avantages indéniables en terme de stress (Skjervold *et al.*, 2001).

En dehors des solutions techniques, il est possible d'envisager la mise en place d'une sélection des caractères physiologiques ou comportementaux favorisant une meilleure adaptation des poissons à l'environnement d'élevage et une tolérance au stress plus importante.

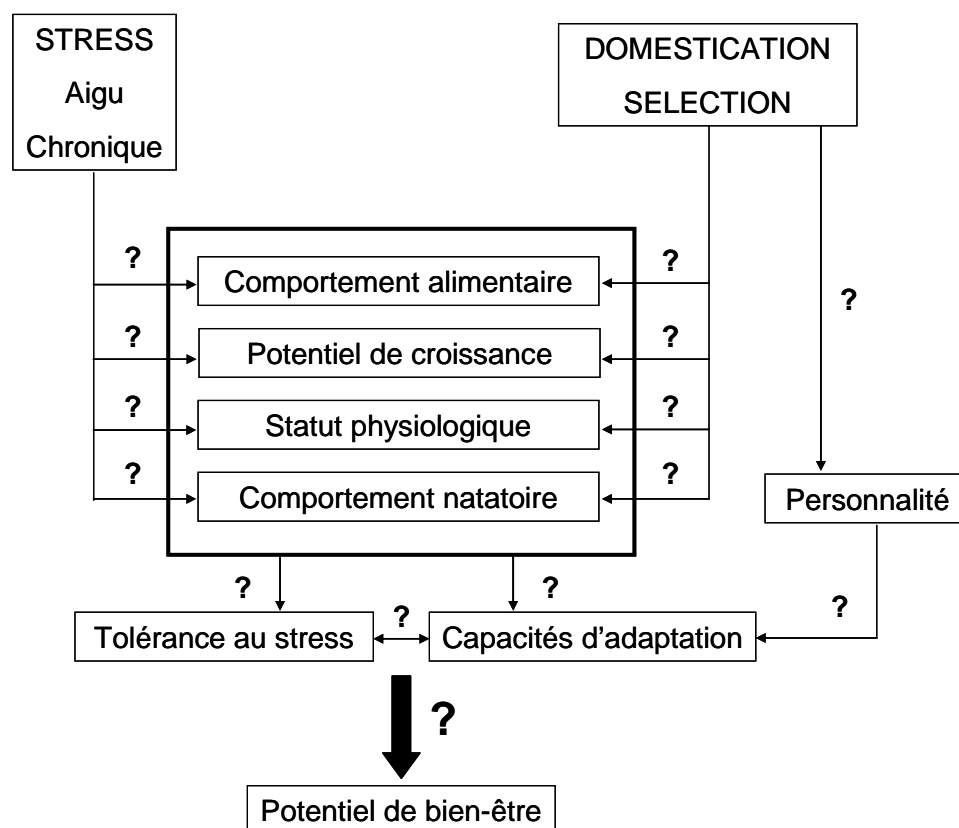
Le seul caractère de bien-être sélectionné aujourd'hui à l'échelle industrielle concerne la résistance aux maladies (Chevassus & Dorson, 1990 ; Gjedrem *et al.*, 1991 ; Gjedrem & Gjören, 1995, Nilsson, 1992). La faible réponse au stress, basée sur la concentration sanguine de cortisol (Fevolden *et al.*, 1991, 1993, 1999, 2002 ; Pottinger & Carrick, 1999 ; Tanck *et al.*, 2001) et de lysozyme (Fevolden *et al.*, 1999, 2002) paraît, quant à elle, prometteuse.

Mais le problème majeur pour sélectionner ces caractères réside dans la mise au point de challenges reproductibles et réalisables à coût abordable sur un grand nombre de poissons.

Il faut également garder à l'esprit que la sélection de caractères liés au bien-être n'est pas incompatible avec les gains de productivité comme le démontre la sélection expérimentale basée sur la faible réponse au stress chez la truite où les poissons répondant peu au stress sont les plus gros et présentent une reprise de l'alimentation plus rapide que les individus répondant fortement au stress (Overli *et al.*, 2002). Cette sélection semble par ailleurs sans effet sur les performances de reproduction (Pottinger & Carrick, 2000) et les poissons les moins répondant présentent une meilleure résistance aux maladies (Fevolden *et al.*, 1992, 1993).

### 3. Présentation de la thèse

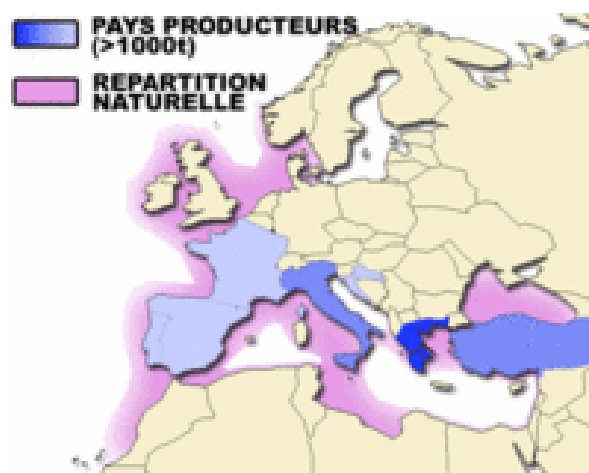
Les objectifs principaux de cette thèse sont : 1) de déterminer les grandes caractéristiques comportementales du bar européen (*Dicentrarchus labrax*) en condition d'élevage, 2) de déterminer les perturbations du comportement induites par le stress aigu et chronique sur des animaux d'origine génétique connue afin d'évaluer l'influence de la domestication et de la sélection sur les capacités d'adaptation et de tolérance au stress. Cette analyse est réalisée à travers une approche multicritère incluant des indicateurs comportementaux et physiologiques dont l'utilisation dans la mesure du potentiel de bien-être des bars en milieu d'élevage, est à valider. Ces objectifs sont schématisés dans la Figure 8.



**Figure 8 :** Objectifs de l'étude de l'influence de la domestication et de la sélection sur les capacités d'adaptation et de tolérance au stress dans le but d'évaluer le potentiel de bien-être des bars en élevage

### 3.1. Modèle biologique

Notre modèle d'étude est le bar européen *Dicentrarchus labrax* (Linnée, 1758), poisson téléostéen appartenant à l'ordre des perciformes et à la famille des Moronidés. Il est caractérisé par la présence d'un rayon épineux sur la première nageoire dorsale et par des écailles rigides. Les bars sont relativement grégaires et les plus gros individus peuvent atteindre une taille de 100 cm pour un poids de 10 à 12 kg. C'est une espèce pélagique, eurytherme (5 à 28 °C) et euryhaline (3 à 35 ‰) qui vit dans les eaux littorales et particulièrement dans les habitats rocheux, mais que l'on trouve aussi dans les estuaires et les étangs saumâtres. Son aire de répartition naturelle s'étend le long des côtes Atlantiques (de la Norvège au Maroc) de la Méditerranée et de la mer Noire (Fig.9).



**Figure 9 :** Aire de répartition géographique naturelle et pays producteurs de bar en 2002. (source Ifremer)

Le choix de cette espèce pour réaliser cette thèse se justifie par son intérêt commercial. Le bar fait partie des quelques espèces « pionnières » de l'aquaculture marine dont les essais d'élevage larvaire ont débuté en France dans les années 70 et dont la production a connu récemment un développement très rapide en France et en Europe (Fig. 9). La production inexistante en 1980, a atteint le seuil des 50 000 tonnes en 2000 (FAO, 2006) et sa consommation a doublé entre 1995 et 2000 ; plus d'un bar consommé sur deux provient aujourd'hui de l'aquaculture.

Nous avons utilisé 7 groupes de poissons pour réaliser notre travail : 6 souches expérimentales pour évaluer l'influence des processus de domestication et de sélection et un lot de poissons « tout venant » issus de l'écloserie Aquanord (France) et élevés à la FMB-Aquapole (France) dont l'origine génétique n'est pas réellement connue (probablement issus d'une troisième génération de domestication et de sélection sur la longueur) et qui sera utilisé comme standard industriel.

Toutes les souches expérimentales sont issues de 23 femelles et 33 mâles sauvages d'origine Atlantique qui croisés selon un factoriel complet (chaque femelle croisée avec chaque mâle)

ont permis de produire un pool de 253 familles en février 2002 (projet EU *Heritabolum*). Les bars issus de ce croisement ont été divisés en deux groupes. Le premier a été élevé dans une ferme piscicole en Italie (Panittica Puliese S.A.) et soumis à la procédure de sélection individuelle améliorée PROSPER (PRocédure Optimisée de Sélection individuelle Par Epreuves Répétées) mise au point par l'INRA pour la truite (Chevassus *et al.*, 2004). Le second a été élevé à la station de recherche expérimentale Ifremer de Palavas-les flots dans des conditions standard. Lorsque les deux lots ont atteint le poids de 400 g (octobre 2004), le lot « Ifremer » a été divisé en deux groupes triés pour constituer un groupe d'individus « moyens » (qui sera appelé *Domestique*) et un autre groupe constitué des 5% d'individus les plus longs selon la sélection individuelle Massale (qui sera appelé *Massal*). Sur le lot italien, la procédure PROSPER s'est achevée par la constitution d'un troisième groupe de poissons regroupant également les 5% d'individus les plus longs (qui sera appelé *Prosper*).

En février 2005, un croisement factoriel a été réalisé à partir de 13 femelles sauvages d'origine Ouest-Méditerranée et de mâles provenant de ces trois groupes (respectivement 20 *Domestique*, 19 *Massal* et 17 *Prosper*) et du lot de poissons sauvages d'origine Atlantique (parents des trois autres groupes de mâles). Ce croisement a permis d'obtenir 988 familles (projet EU *Competus*) qui ont fourni 4 des 6 souches étudiées dans cette thèse, toute de parents issus d'une génération de domestication (sauf la souche issue de parents sauvages, qui sera appelée *Sauvage*) et d'une génération de sélection pour les *Massal* et *Prosper*. Ces souches ont été élevées ensemble dans les mêmes conditions selon les standards d'élevage définis par Chatain (1994) avant d'arriver au laboratoire Ifremer à L'Hourmeau en février 2006.

En février 2007, un troisième factoriel a été réalisé en croisant 6 femelles du groupe *Domestique* avec 6 mâles du même groupe et 14 mâles du groupe *Massal*, ce qui a permis de produire à nouveau 36 familles *Domestique* et 84 familles *Massal*. Ces animaux, élevés selon les mêmes standards que les souches précédentes, ont fourni les deux autres groupes testés dans cette thèse : *C0* et *C+*. Ils présentent tous les deux, deux générations de domestication et, pour les *C+*, une génération de sélection.

Pour simplifier l'écriture, dans cette thèse, la sélection induite par l'environnement de captivité et le relâchement de la sélection naturelle seront regroupés sous le terme « **domestication** » et la sélection artificielle sur la longueur sera nommée « **sélection** ». La Figure 10 récapitule les différentes étapes de la production des souches testées. Le Tableau 1, quant à lui, récapitule les différents niveaux de domestication et de sélection des souches.

**Tableau 1** : Récapitulatif des différents niveaux de domestication et de sélection des souches étudiées

Niveau de domestication	Niveau de sélection
Sauvage < Domestique = Massal = Prosper	Sauvage = Domestique < Massal = Prosper
C0 = C+	C0 < C+
Sauvage < Domestique = Massal = Prosper < C0 = C+	Sauvage = Domestique = C0 < Massal = Prosper = C+

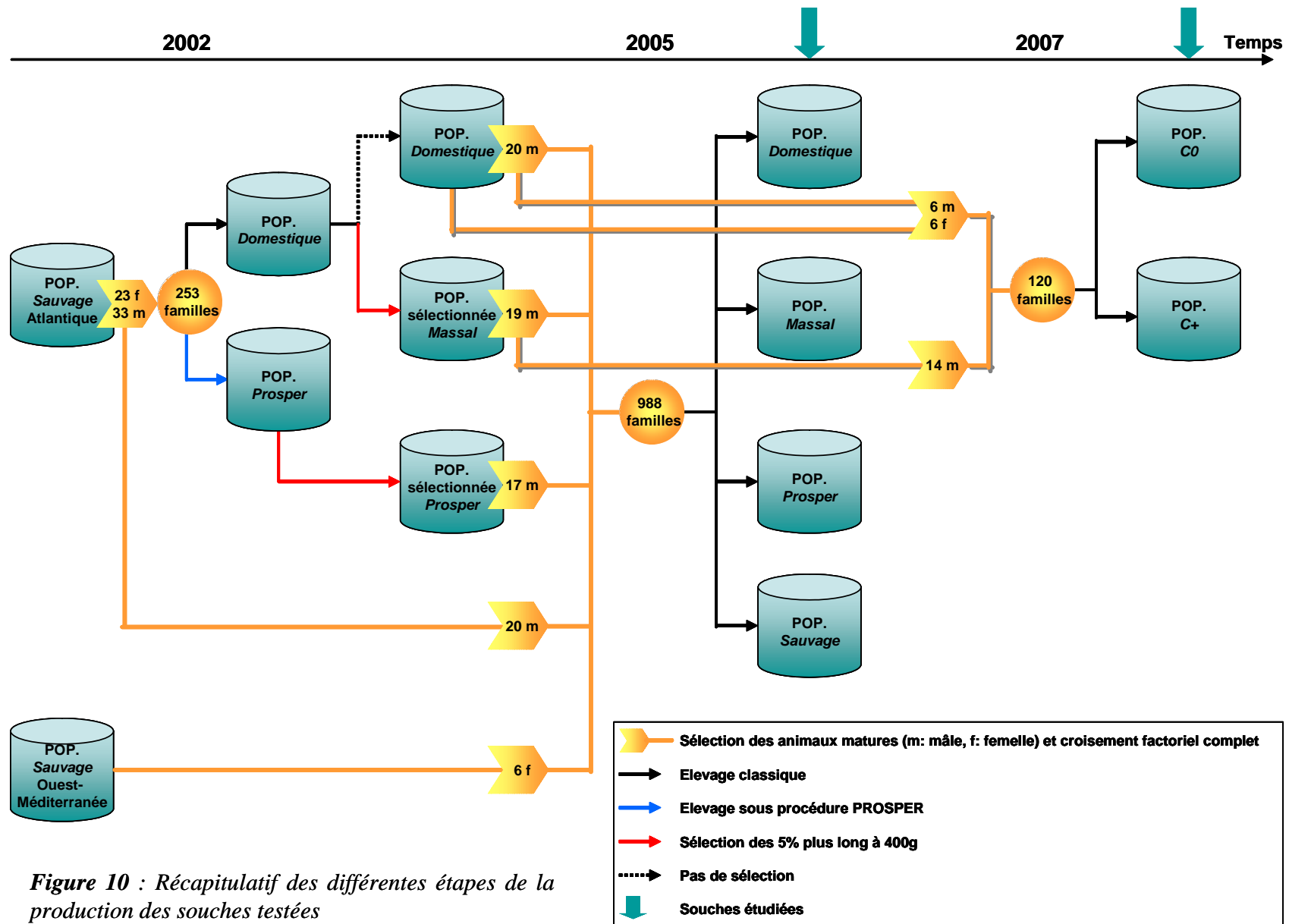


Figure 10 : Récapitulatif des différentes étapes de la production des souches testées

### 3.2. Etudes réalisées dans cette thèse

Plusieurs variables comportementales et physiologiques ont été étudiées pour répondre aux différents objectifs de cette thèse : le comportement alimentaire et natatoire, le potentiel de croissance, l'état physiologique et la personnalité des poissons. Les protocoles, les techniques et les méthodes qui ont été utilisés sont les suivants (Tableau 2) :

Dans les **Chapitres 2 et 3**, une étude préliminaire à long terme (219 jours) a été réalisée sur les bars « industriels » élevés dans des conditions standard pour évaluer de façon individuelle (grâce à l'utilisation de PIT tag, Passive Integrated Transponders) : le comportement alimentaire (quantité d'aliment demandée, ingérée et gaspillée, rythme alimentaire spontané) sous self-feeder (distributeur d'aliment à la demande), le potentiel de croissance (évolution du poids corporel, du taux de croissance et de l'indice de condition corporel), l'état physiologique (analyse de différentes variables sanguines et composition corporelle) et la structure sociale type (rôle de chaque individu au sein du groupe) de l'espèce.

Le **Chapitre 4** traite ensuite de l'influence combinée d'un traitement induisant un stress aigu (exondation durant une minute) et du niveau de domestication et de sélection sur le comportement alimentaire sous self-feeder, le potentiel de croissance et le statut physiologique (niveaux du glucose sanguin, du glycogène hépatique et de la sérotonine cérébrale). Cette étude vise à comparer deux souches qui diffèrent par un niveau de domestication et un niveau de sélection (*Sauvage* et *Massal*).

Dans le **Chapitre 5**, une expérience similaire a été réalisée sur deux autres souches présentant un cycle d'élevage supplémentaire et différant par un niveau de sélection (*C0* et *C+*). La comparaison des résultats des Chapitres 4 et 5, nous informe sur l'effet d'une génération de domestication supplémentaire.

Le **Chapitre 6** a permis d'évaluer l'influence combinée des traitements induisant un stress chronique (flash lumineux, silhouette de prédateur, poursuite à l'épuisette) et du niveau de domestication et de sélection sur le comportement alimentaire sous self-feeder, le potentiel de croissance et le statut physiologique (niveaux du glucose, sodium et lactate sanguin et du glycogène hépatique). Cette étude a permis de comparer 4 souches présentant différents niveaux de domestication et de sélection (*Sauvage*, *Domestique*, *Massal* et *Prosper*).

Dans le **Chapitre 7**, l'influence du facteur de stress aigu étudiée dans les Chapitres 4 et 5 et du niveau de domestication et de sélection a été évaluée sur le comportement natatoire à partir d'enregistrements vidéo. Cette étude s'est basée sur l'analyse de la distribution spatiale des poissons dans le bassin par rapport à la zone d'alimentation (emplacement du self-feeder) et sur la vitesse de nage d'individus spécifiques au sein du groupe (identifiés par une marque externe). Elle a permis de comparer deux souches différant par un niveau de domestication et un niveau de sélection (*Sauvage* et *Massal*) et de comparer deux autres souches différant uniquement par un niveau de sélection (*C0* et *C+*). La comparaison de ces deux groupes nous informe sur l'effet d'un cycle de domestication supplémentaire

L'étude du **Chapitre 8** a permis de tester les aptitudes à prendre des risques au sein du groupe, grâce à un test de choix entre une zone « sécurisante » (couverte et avec l'ensemble des congénères) et une zone « à risque » (éclairée et vide, mais contenant la zone



d'alimentation). Cette étude vise à comparer deux souches qui diffèrent par un niveau de domestication et un niveau de sélection (*Sauvage* et *Massal*).

Le **Chapitre 9**, quant à lui, a permis d'évaluer les capacités d'exploration d'un nouveau territoire et l'influence d'un facteur de stress aigu (lâché d'un stimulus dans l'eau) sur ces capacités grâce à l'analyse d'enregistrements vidéo. Cette expérience a permis de comparer trois souches différant par leur niveau de domestication et de sélection (*Sauvage*, *Domestique* et *Massal*).

Les résultats des études du Chapitre 8 et 9 ont été analysés en tentant de déterminer si la personnalité (timide ou audacieux) des bars jouait un rôle dans leurs capacités à s'adapter au milieu d'élevage.

Enfin, le **Chapitre 10** présente les conclusions générales issues de l'ensemble de ces travaux ainsi que les perspectives données à ce travail.

**Tableau 2 : Récapitulatif des différents chapitres de cette thèse, des souches, des facteurs de stress, des variables et des techniques ou méthodes utilisées.**

Chapitre	Souches étudiées	Facteur de stress	Variables étudiées	Techniques ou méthodes utilisées
2 & 3	Industrielle		Comportement alimentaire Potentiel de croissance Statut physiologique Structure sociale	PIT tag Self-feeder Analyses biochimiques
4	Sauvage & Massal	Aigu	Comportement alimentaire Potentiel de croissance Statut physiologique	PIT tag Self-feeder Analyses biochimiques
5	C0 & C+			
6	Sauvage, Domestique, Massal, Prosper	Chronique	Comportement alimentaire Potentiel de croissance Statut physiologique	PIT tag Self-feeder Analyses biochimiques
7	Sauvage & Massal C0 & C+	Aigu	Comportement natatoire	Marquage externe Enregistrements et analyses vidéo
8	Sauvage & Massal		Personnalité	Prise de risque PIT tag Test de choix
9	Sauvage, Massal & Domestique	Aigu	Personnalité	Exploration du territoire Enregistrements et analyses vidéo



Feed demand behavior in sea bass juveniles :  
effects on individual specific growth rate variation  
and health (inter-individual and inter-group variation)

Chapitre

2



Millot S.  
Bégout M.-L.  
Person-Le Ruyet J.  
Breuil G.  
Di-Poi C.  
Fievet J.  
Pineau P.  
Roué M.  
Sévère A.

*Aquaculture, 2008, 274, 87-95*

## Résumé

Actuellement, l'élevage des espèces aquatiques connaît une expansion beaucoup plus rapide que celui des espèces terrestres. En parallèle, le problème du bien-être des animaux d'élevage en général et en pisciculture en particulier est une préoccupation de plus en plus importante pour nos sociétés depuis ces dernières années. Cependant, contrairement aux animaux terrestres, très peu de données scientifiques sont disponibles concernant le bien-être des poissons. En pisciculture, il y a donc un besoin indéniable d'identifier des indicateurs opérationnels du bien-être afin de minimiser les conséquences du stress induit par les pratiques aquacoles : diminution de l'alimentation, de la croissance, de la résistance immunitaire, des capacités reproductrices, augmentation des maladies et de la mortalité. La motivation à s'alimenter, connue pour être fluctuante en fonction des conditions environnementales, paraît être un indicateur de bien-être accessible pour les pisciculteurs. De plus, comprendre les causes majeures de la fluctuation de la motivation à s'alimenter et leurs associations avec les variations de croissance individuelle et du groupe sont des éléments décisifs dans le succès d'un élevage.

L'objectif de ce travail réalisé sur le bar européen (*Dicentrarchus labrax*), est donc d'observer sur une longue période et en conditions d'élevage, les variations de la motivation à s'alimenter au cours du temps grâce à l'utilisation d'un système d'alimentation « à la demande » (self-feeder) et d'évaluer comment les différences de comportement individuel vis-à-vis de l'utilisation du self-feeder influencent le taux de croissance individuel, mais également la consommation alimentaire et l'état physiologiques du groupe. Dans ce but, 150 bars provenant d'une ferme aquacole, d'un poids moyen initial de 132 g, sont marqués individuellement avec des PIT tag, répartis et élevés dans 3 bassins de 400l d'eau de mer à 22°C et sous une photopériode de 16 heures de jour et 8 heures de nuit. Chaque bassin est équipé d'un self-feeder muni d'une antenne détectrice de PIT tag à son entrée. Ce dispositif relié à un système informatique permet d'enregistrer l'identité des poissons ainsi que le nombre et l'heure de leurs demandes alimentaires. Les granulés non ingérés sont récupérés et comptés quotidiennement. Dans chaque bassin, la quantité d'aliment demandée et ingérée par le groupe ainsi que le comportement individuel de chaque poisson vis-à-vis du self-feeder sont suivis durant 219 jours. Les bars sont pesés 25 (J25), 80 (J80), 148 (J148), 197 (J197) et 219 (J219) jours après le début de l'expérience afin de suivre l'évolution de leur poids corporel et leur taux de croissance spécifique (Specific Growth Rate, SGR). A J25, J106 et J219, des poissons sont prélevés pour l'évaluation de leur statut physiologique : prélèvement de sang, branchies, foie, muscle et cerveau (pour le dosage de l'activité sérotoninergique).

Dans l'ensemble des bassins, 89% des bars actionnent le self-feeder, mais seulement deux ou trois d'entre eux sont à l'origine de 45% des distributions alimentaires totales ; trois catégories de bars sont alors définies : les manipulateurs principaux (représentant 5% du groupe), les manipulateurs occasionnels (83%) et les non manipulateurs (n'ayant jamais activé le self-feeder, 11%). Les manipulateurs principaux présentent transitoirement (uniquement lors de leur période de forte activité) un SGR supérieur à celui des autres poissons du bassin, mais ne diffèrent ni par leur poids final, ni par leur SGR moyen sur toute la durée de l'étude. Aucune différence significative des variables physiologiques (composition musculaire ou biochimie du sang et des tissus, concentration cérébrale en sérotonine) n'est observée entre les trois catégories de manipulateur. Cette étude révèle aussi que lorsqu'il existe dans un bassin, un déséquilibre entre la quantité quotidienne d'aliment demandée et ingérée, se traduisant par un gaspillage plus important, cela est plutôt dû à un accroissement de la demande qu'à une baisse de la consommation. L'augmentation d'aliment gaspillé apparaît généralement après un événement stressant tel qu'une biométrie, un prélèvement

d'individus ou l'apparition d'interactions sociales plus importantes au sein du groupe (changement d'identité du manipulateur principal).

En conclusion, il semble que le suivi à long terme du comportement alimentaire des bars grâce à un self-feeder permet de mettre en évidence des différences inter-individuelles que l'on ne retrouve pas à travers les analyses physiologiques, et de lier l'activité de demande alimentaire du poisson avec ses variations de croissance. Cette étude révèle également que, plus que l'identité du poisson manipulateur, c'est son rôle qui est important et qui conditionne le comportement alimentaire du groupe. Enfin, une augmentation du gaspillage alimentaire semble être un indicateur pertinent de l'apparition d'un événement stressant au sein du groupe et pourrait être utilisé pour évaluer l'altération du bien-être des bars en élevage.



# Feed demand behavior in sea bass juveniles: Effects on individual specific growth rate variation and health (inter-individual and inter-group variation)

S. Millot <sup>a</sup>, M.-L. Bégout <sup>a,\*</sup>, J. Person-Le Ruyet <sup>b</sup>, G. Breuil <sup>c</sup>, C. Di-Poï <sup>d</sup>, J. Fievet <sup>c</sup>, P. Pineau <sup>a</sup>,  
M. Roué <sup>a</sup>, A. Sévère <sup>b</sup>

<sup>a</sup> UMR 6217 CRELA CNRS-IFREMER-Univ. de La Rochelle, Ifremer, place du séminaire, BP 5, F-17137 L'HOUMEAU, France

<sup>b</sup> UMR 1067 NUAGE Inra- Ifremer- Univ. de Bordeaux 1, Ifremer, Centre de Brest, BP 70, F-29280 PLOUZANE, France

<sup>c</sup> Station Expérimentale d'Aquaculture Ifremer: Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée. Chemin de Maguelone.  
F-34250 PALAVAS-LES-FLOTS, France

<sup>d</sup> Laboratoire d'Ecologie et de Neuro-Ethologie Sensorielles (EA3988), Université Jean Monnet, 23 rue du Dr. Paul Michelon,  
F-42023 SAINT-ETIENNE Cedex 02, France

Received 30 March 2007; received in revised form 30 October 2007; accepted 2 November 2007

## Abstract

Feeding motivation is one major indicator of fish welfare and an investigation on the link between feed demand, growth and physiological variables in sea bass juveniles was developed. A computerized on-demand feeding system coupled with a PIT tag monitoring device was used to continuously record for 219 days the triggering activity of 150 individuals (initial average body weight  $131.6 \pm 1.80$  g and coefficient of variation 16.8%). Each group was held in 400 l tanks at  $22.2 \pm 1.5$  °C and light regime was 16:8 LD. In all the tanks, 89% of the fish actuated the trigger, but only two or three fish accounted for 45% of the total triggering activity. These few high-triggering individuals had a transient higher growth i.e. at the time an individual was the high-triggering fish in the tank, its Specific Growth Rate (SGR) increased and was higher than that of the other fish. However, high-triggering fish did not exhibit a higher initial and final body weight nor a higher average SGR than low- and zero-triggering fish. Fish of different triggering categories did not show differences in physiological variables (muscle composition, blood and tissues biochemistry). This study also revealed that when an imbalance between apparent daily feed tank consumption and feed demand was observed (i.e. wastage), it was mostly due to an increasing demand rather than a decreasing consumption; such wastage could often be linked to particular stressors (measuring day, population sampling or social interactions) and therefore, feeding motivation disturbances could be a relevant operational fish welfare indicator.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Feeding activity; Growth; Social interaction; Welfare

## 1. Introduction

Aquaculture is growing more rapidly than all other animal food production sectors (F.A.O., 2002). In parallel, an increasing concern for fish welfare in general and under aquaculture conditions in particular can be noticed in recent years (Ellis et al., 2002). However, unlike other major forms of

livestock production, there is a lack of scientific information on the welfare of fish raised under intensive aquacultural conditions (F.S.B.I., 2002; Chandroo et al., 2004; Huntingford et al., 2006). As for now, fish welfare definition raises two main challenges related to the lack of basic knowledge about emotional expressions in fish, the difficulty to observe individual fish in its farm environment (Wolffrom, 2004; Huntingford and Adams, 2005; Dåmsgard et al., 2006; Huntingford et al., 2006) and the physiological basis themselves of welfare concept (Korte et al., 2007). The current attempts are mainly to control welfare in farmed fish through regulation of

\* Corresponding author. Tel.: +33 5 46 509 440; fax: +33 5 46 500 600.  
E-mail address: [mlbegout@ifremer.fr](mailto:mlbegout@ifremer.fr) (M.-L. Bégout).

management practices in order to minimize stress and its consequences: reduced appetite and growth, decreased general immune competence, reproductive changes, diseases, and mortality (Turnbull et al., 2005).

Hence, in aquaculture there is a need to identify welfare indicators, species specific and operational. Feeding motivation is one candidate since farmers can access such indicator and it is well known that fish appetite can fluctuate between days or at a bigger scale in weeks or months (Madrid, 1994), and with environmental conditions (Alanärä, 1992; Anthouard et al., 1993; Rubio et al., 2003b). Therefore, understanding the major causes of feeding motivation and associated growth variation and how the group and individual Specific Growth Rate (SGR) evolve is crucial for the success of fish farming (Martins et al., 2005). The minimization of individual variation in food consumption and growth contributes to maximizing production efficiency, reducing food waste and improving water quality (Jobling and Baardvik, 1994).

To investigate feeding activity, there is a wide choice of methods from direct or video observations, dyestuffs and markers, the quantitative determination of gastrointestinal content and the recording of feeding activity using on-demand feeders with feed waste monitor to X-ray methods (Jobling et al., 2001). Among all existing techniques to investigate feeding behavior, the study with a self-feeder coupled with a PIT tag detection antenna, gives the possibility to reveal individual and group feed demand behavior. Such combination of techniques was successfully used in sea bass (Covès et al., 1998; Rubio et al., 2004; Covès et al., 2006). The potential for synergy between that method and a long study period provide opportunities to increase our knowledge on the influences of various facets of fish behavior and physiology. Indeed, that approach, allows to study fish demand feeding behavior and motivation (levels, rhythms, alteration) and to correlate it with physiological variables, individual growth and SGR in a marine cultured species like sea bass.

The aim of this study was to determine how individual demand feeding activity influence individual growth rate, group feed consumption and physiological variables. The influence of common stresses in aquaculture such as handling for measurement and sampling (fish removal) were taken into account in order to understand better sea bass feed demand behaviour variation in relation to management practices.

## 2. Materials and method

### 2.1. Apparatus

The device to operate the feeders comprised a screened type sensor (a metal rod protected in a PVC cylinder surrounded by the PIT tag detection antenna; Covès et al., 2006) and a control box. After each actuation, fish were rewarded with pellets and feed dispensers were regulated to distribute between  $0.5 \text{ g kg}^{-1}$  of fish at the beginning and  $0.4 \text{ g kg}^{-1}$  at the end of the experiment. The reward level (about 50 pellets each time, one per individual) was a compromise between minimizing wastage and optimizing feed allocation to the group. Such a set up allowed us to monitor two variables of interest on a daily basis: the individual feed demand behavior and the group (i.e. tank) apparent feed consumption (uneaten pellets were counted). Each individual fish was horizontally PIT-tagged by inserting a tag just behind the head to prevent any change of position subsequent to implantation.

### 2.2. Experimental set up

The experiment was carried out with sea bass using one condition in triplicate. Three 400 l seawater tanks were supplied with sand filtered water in a recirculated system (flow rate of  $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  in each tank and 10% water renewal per day). Water temperature was maintained at  $22.2 \pm 1.5 \text{ }^\circ\text{C}$ , the oxygenation above 70% saturation in the outlet and salinity was  $28.6 \pm 3.3$ . Tanks were surrounded by black curtains and for each a 120 W lamp was located about 90 cm above the water surface. Light regime was 16:8 LD (light onset at 06:00 U.T. + 1) with twilight transition periods of 30 min. Fish were fed by a commercial sea bass diet (Neo Grower Extra Marin 4.0, France: 45% crude protein, 20% lipid according to the manufacturer, 4 mm). The experiment was realized over 219 days, with 150 fish in 3 tanks (50 sea bass in each tank). Sea bass were hatched in Aquanord (France) and grown at FMB-Aquapole (France). At the beginning of the study, fish were 13 months old with an average initial body weight (BW<sub>i</sub>) of  $131.6 \pm 1.80 \text{ g}$  (coefficient of variation (CV) = 16.8%,  $N = 150$  fish). Fish were again weighed (to the nearest mg and measured for length to the nearest mm) after 25 (D25), 80 (D80), 148 (D148), 197 (D197) days and at the end of the experiment 219 days (D219, Measuring day, Fig. 1). Fish were placed under self-feeding conditions at D0 (after one week of acclimation) and food access was possible all day (24 h) even during rearing unit cleaning and waste counts from 10:00 to 11:00 (U.T. + 1). Apparent feed tank consumption (food quantity dispensed minus waste counted on the bottom of the tank and in the sediment trap) was monitored daily. Triggering activity recordings were done continuously for 219 days and were only stopped before (48 h in advance, with no recordings and fasting of fish) and during fish manipulation (20 days off in total).

### 2.3. Analytical methods

In order to evaluate physiological status (i.e. muscle composition, plasma and tissues biochemistry), fish were sampled on 3 occasions after 48 h of fasting (Population sampling, Fig. 1). At day 25, day 106 and day 219, respectively 27 fish, 32 fish and 31 fish were rapidly taken and immediately euthanized with a lethal dose of ethylene-glycol-monophenyl-ether (2%). The D25 fish sampling was carried out randomly, but only the high-triggering fish were reanimated by intensive oxygenation in order to prevent a disruption in the recently established social structure. This sampling was composed of 8 zero-triggering fish and 19 low-triggering fish. The two other samplings were made randomly and were composed of 5 zero-, 26 low- and 1 high-triggering fish for D106 and 2 zero-, 25 low- and 4 high-triggering fish for D219. In each fish a blood sample (c. 1 ml) taken within 1 min from caudal vessels was separated in two aliquots. One was centrifuged immediately (3500 rpm, 5 min) and plasma samples were stored at  $-16 \text{ }^\circ\text{C}$  until analysis. The second aliquot was kept at room temperature to isolate serum and was thereafter stored at  $-16 \text{ }^\circ\text{C}$  until analysis. In the same fish, different tissues were taken as follows: gill arch immediately washed in 0.25 M sucrose and then frozen and stored in liquid nitrogen; whole liver and about  $8 \text{ cm}^2$  of dorsal muscle (taken under the first dorsal fin and skin was removed) weighed and immediately frozen in liquid nitrogen and stored at  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  until analysis. Muscle samples were ground and moisture content was determined on homogenated samples (24 h at  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ ) and subsequently freeze-dried and ground before further analysis. Chemical analyses were performed in triplicate for each sample according to AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1984) methods: ash (7 h at  $550 \text{ }^\circ\text{C}$ ), crude fat (Folch et al., 1957), crude protein (Dumas method with an Elementary NA 2000®,  $N \times 6.25$ ). Fish brain was dissected and immediately frozen at  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  until dosing of 5-HIAA/5-HT ratio to evaluate serotonergic activity. Indeed, brain serotonergic activity is estimated using brain 5-HIAA/5-HT ratio, where 5-HIAA (5-hydroxyindoleacetic acid) is the major metabolite of 5-HT (5-hydroxytryptamine, serotonin) (Di-Poi et al., 2007).

Blood plasma analyses were performed as follows: osmolarity using an Advanced Instrument Osmometer® and chloride, sodium and potassium using an Electrolyte Beckman Analyser®. Total IgM were measured in serum using an ELISA test (Coourdacier et al., 1997). Gill ( $\text{Na}^+\text{-K}^+$ )-ATPase activity was determined according to the method described in Boeuf et al. (1989). Frozen whole liver was ground and glycogen content was determined on homogenated samples according to Carr and Neff (1984) method using a Diagnostic Enzymatic Kit. (Biomérieux ref 61269). Dosing of 5-HIAA/5-HT ratio in all brain tissue was achieved using ELISA kits (IBL Hamburg, Germany) following the method described in Di-Poi et al. (2007).



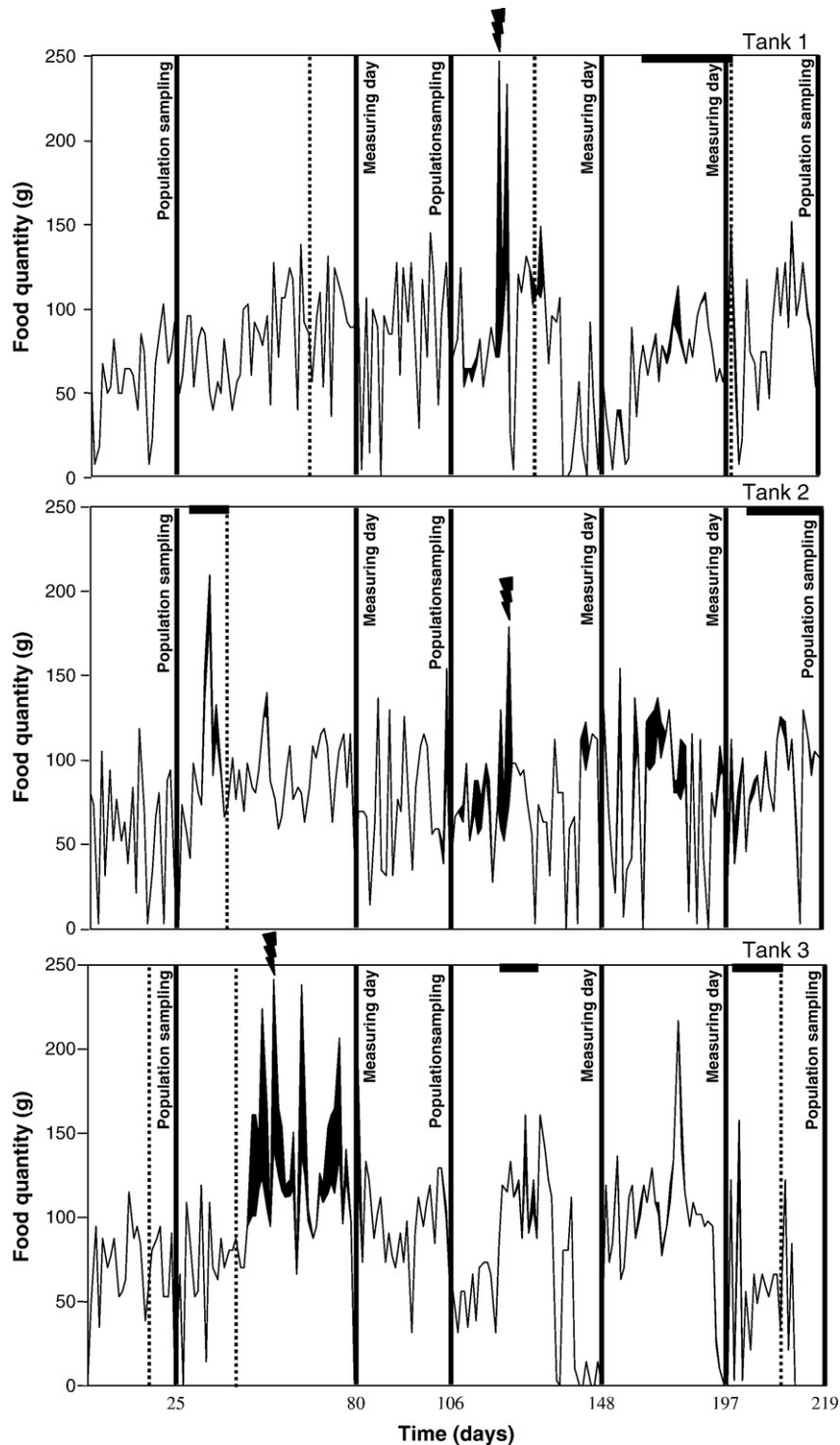


Fig. 1. Apparent daily feed tank consumption (DFtC, g per day) for each tank. The difference between tank consumption and food quantity delivered in tank is represented by the black area which represents food wastage. The vertical black line represents the stress events and the dotted vertical straight line represents a change of high-triggering fish in the tank. The horizontal black bar on the top represents the period when there were two high-triggering fish at the same time in the tank. ⚡ represents high pellets wastage events (more than 70% of the quantity distributed in the tank).

#### 2.4. Data analysis

Primarily, the individual and group feeding behavior were studied, by determining fish individual triggering level and the resulting population composition in different categories of triggering activity. Individual feed demand

behavior (i.e. their proportional contribution to the total number of trigger actuations within a group) was calculated and used to distinguish between high-triggering (>25% actuations), low-triggering (< 25%) and zero-triggering (0%) individuals (Covès et al., 2006). Average and standard error ( $\pm$  SE) were calculated.

Table 1  
Occurrence of the different feed-demand behaviour categories per tank and for the total experimental duration

Tank	High-triggering (%)	Low-triggering (%)	Zero-triggering (%)
1	6	82	12
2	4	80	16
3	6	88	6

Then, the daily apparent feed tank consumption (DFtC) and feed conversion ratio (ratio between the DFtC and the biomass difference in time) were evaluated for each tank.

Finally, fish growth, group and individual Specific Growth Rate (SGR) were calculated using the following formula:  $SGR (\% \text{ body weight per day}) = 100 (\ln BW_f - \ln BW_i) / t$ , where  $BW_f$  and  $BW_i$  are the final and the initial body weight (g) respectively and  $t$  the total number of days. Reduction in sample size was taken into account for each analysis (Table 2).

Weight coefficient of variation ( $CV_w$ ) was calculated as:  $100 * SD * BW^{-1}$ , where  $SD$  is standard deviation of the individual weight and  $BW$  is average weight. Fulton index ( $K$ ) was calculated as:  $100 * BW * (L^2)^{-1}$ , where  $L$  is standard length and its coefficient of variation ( $CV_K$ ) as:  $100 * SD * K^{-1}$ , where  $SD$  is standard deviation of the individual Fulton index and  $K$  is average Fulton index.

Parametric statistical test (Tukey HSD) was used to compare average weights between tank and non-parametric statistical tests (Kruskal–Wallis, KW) were used to analyze differences in  $BW_i$ ,  $BW_f$  and SGR for the 3 classes (low, high and zero-triggering fish). For all the tests, the significant threshold was  $p < 0.05$ .

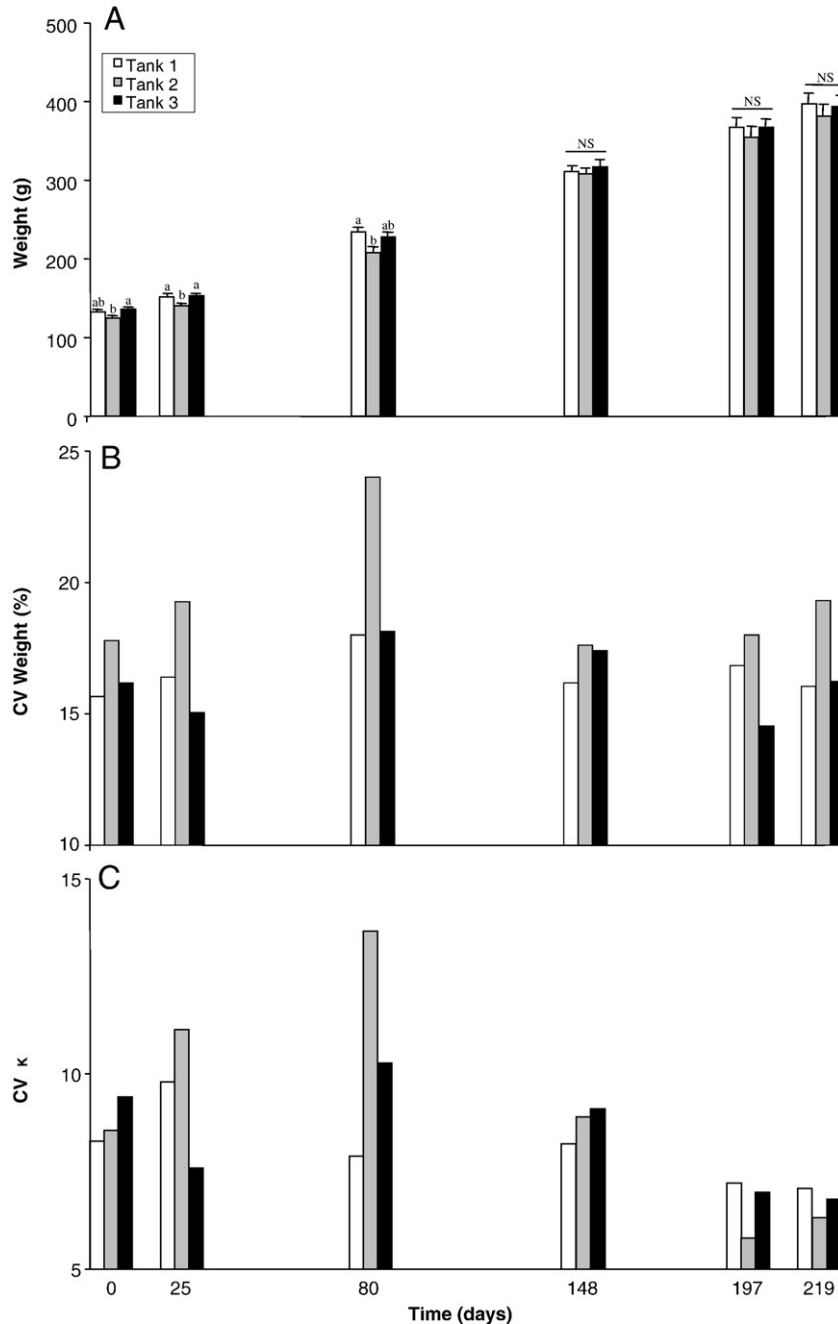


Fig. 2. (A) Average weight in relation to time for each tank ( $\pm$ SE, g). Letters indicate significant differences between tanks (Tukey HSD test,  $p < 0.05$ ). (B) Coefficient of variation of weight ( $CV_w$ ) in relation to time for each tank. (C) Coefficient of variation of the Fulton condition index ( $CV_K$ ) in relation to time for each tank.

All physiological results were expressed as average  $\pm$  SE. Statistical analysis were conducted using Statistica® for Windows, data in percent were arc-sin square-root transformed. For D25, D106 and D109, the effects of the factor “tank” on physiological variables were checked. For D106 and D219 the effects of the factor “triggering categories” were checked. Since no effects of these factors were distinguished, changes in muscle composition and physiological variables were tested versus time only by an ANOVA. Significant ANOVA were followed by a post-hoc multiple comparison test (Newman–Keuls test). Differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

### 3. Results

#### 3.1. Categories of triggering activity

The first actuation occurred on average 10 days after the experiment started, for all high and low triggering fish. The composition of each population of 50 sea bass was compared and no tank effects were seen ( $KW = 2.24$ ;  $p = 0.33$ ;  $df = 2$ ;  $N = 150$ ) which allowed data pooling. Indeed, the populations were composed of  $11.3 \pm 0.86\%$  of zero-triggering fish,  $83.3 \pm 0.26\%$  of low-triggering fish and  $5.3 \pm 0.29\%$  of high-triggering fish (Table 1). Each triggering category took part differently in the group feed demand:  $45.6 \pm 7.5\%$  of total fish actuation activity was realised by the high-triggering fish (8 in total). The remaining  $54.4 \pm 3.8\%$  of total actuation was attributed to the low-triggering fish, since zero-triggering fish did not make any feed demand. During the experiment, there were 2 to 3 high-triggering fish per tank, generally only one high-triggering fish at one time and that structure was stable in time.

#### 3.2. Apparent feed tank consumption

The apparent daily feed tank consumption (DFtC) was unsettled from one day to another (Fig. 1). The stressful events (i.e. measuring day and population sampling), did not have pronounced effects on the DFtC but sometimes showed an effect on food wastage (Fig. 1). Immediately or some days after a stressful event (D106, population sampling), the quantity of uneaten pellets could represent up to 70% of the quantity distributed in tank 1 and 2. Wastage appeared in some cases during a change from one high-triggering individual to another in the tank. Such change in individual function was observed seven times: Two of these changes could be related to a measuring day, two others to a population sampling but 3 changes appeared spontaneously. When there were two high-triggering fish in the same tank, that transient period was often accompanied by a significant pellet's wastage (e.g. Day 55, Tank 3, Fig. 1). In general such period was concluded by a change of high-triggering individual which ended the food wastage.

#### 3.3. Fish growth

Initial average weight were not homogeneous between the 3 tanks (Tukey HSD,  $p < 0.05$ ,  $N = 150$ ) but presented an average  $CV_w$  of  $16.54 \pm 0.78\%$ . That difference in initial average weight between groups was due to fish distribution in the tank aiming at a low  $CV_w$  of each group and not at an initial homogeneous average. However, that initial difference was levelled off beyond D148 and average weight in the 3 tanks became homogeneous (Tukey HSD,  $p > 0.05$ ,  $N = 63$ ; Fig. 2A).

$CV_w$  increased during the first part of the experiment: for tank 2,  $CV_w$  increased from 17.78% to 24.01%. After this time, the coefficient decreased, and returned to a level equivalent to that of other tanks (Fig. 2B).

Fulton index ( $K$ ) was not significantly different for all tanks (Tukey HSD,  $p > 0.05$ ,  $N = 150$ ) and it increased in time (D0:  $1.17 \pm 0.01$ ,

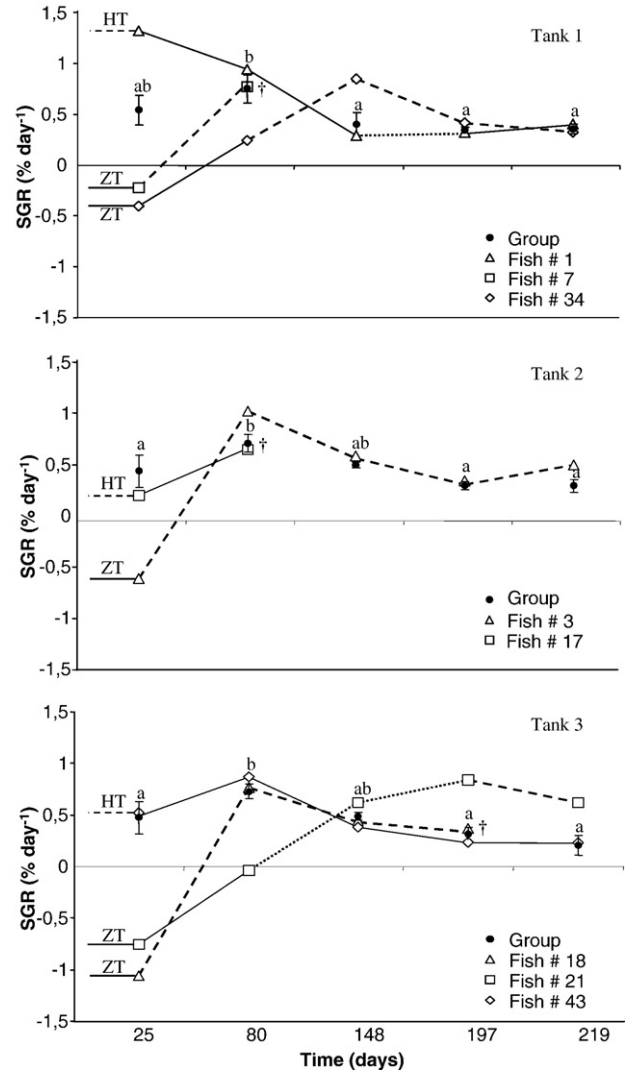


Fig. 3. Evolution of the group average  $\pm$  SE and the high-triggering fish SGR ( $\% \text{ day}^{-1}$ ) per period and for each tank. Averages with a different letter were significantly different (Tukey HSD test,  $p < 0.05$ , average  $\pm$  SE). The full straight line represents the zero-triggering period, the dotted line represents the low-triggering period, and the discontinuous straight line represents the high-triggering period for each of the high-triggering fish identified. The initial triggering activity of fish is defined with HT for high-triggering and ZT for zero-triggering. † represents fish sampled.

D25:  $1.21 \pm 0.01$ , D80:  $1.36 \pm 0.01$ , D148:  $1.36 \pm 0.01$ , D197:  $1.39 \pm 0.01$  and D219:  $1.40 \pm 0.01$ ).  $CV$  for Fulton index ( $CV_K$ ) was initially of  $8.75 \pm 0.43$ . During the first 100 days and for tank 2,  $CV_K$  increased from 8.57% to 13.65%. Thereafter,  $CV_K$  decreased, and returned to a level equivalent to that of other tanks (Fig. 2C).

Average feed conversion ratio for tanks 1, 2 and 3 were respectively  $1.97 \pm 0.35$ ,  $2.32 \pm 0.31$  and  $2.36 \pm 0.31$ . These values were not significantly different ( $KW = 1.14$ ,  $p = 0.56$ ,  $df = 2$ ,  $N = 15$ ) giving an overall average feed conversion ratio of  $2.22 \pm 0.17$ . Concerning mortality, there were 30 sampled fish and 11 death of different origins (e.g. jumps, death following anaesthesia).

##### 3.3.1. Group specific growth rate

Tanks 1, 2 and 3 showed the same group SGR evolution in time: SGR increased significantly from D25 to D80 in each tank (Tukey

Table 2  
Muscle composition of sea bass in relation to time

	Day 25	Day 106	Day 219	
Water content (% ww)	76.0±0.2 <sup>c</sup> (1.3)	74.6±0.2 <sup>b</sup> (1.8)	73.1±0.2 <sup>a</sup> (1.5)	***
Protein content (% ww)	19.9±0.1 <sup>a</sup> (3.2)	21.5±0.2 <sup>b</sup> (4.5)	21.5±0.1 <sup>b</sup> (3.2)	***
Lipid content (% ww)	1.6±0.2 <sup>a</sup> (53.1)	1.8±0.2 <sup>a</sup> (24.1)	2.9±0.2 <sup>b</sup> (47.8)	***
Ash content (% ww)	1.4±0.1 (8.7)	1.4±0.1 (4.5)	1.4±0.1 (2.2)	NS
N	27	32	31	

Data are averages±SE and coefficient of variation (%) inside brackets. Letters following averages indicate statistical differences between dates, averages not sharing a common letter are significantly different and no letter means no significant differences. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  and \*\*\*  $p < 0.001$ .

HSD,  $p < 0.05$   $N = 150$ ; Fig. 3), but group SGR was not significantly different between tanks at the same period (Tukey HSD,  $p > 0.05$ ; Fig. 3).

### 3.3.2. Individual specific growth rate

Generally, at the time when a fish became a high-triggering individual, its SGR increased or was higher than the average SGR for the tank at the same period. This phenomenon was observed in all tanks. Among the fish which were soon to become high-triggering fish, the forthcoming one was characterized by a markedly negative SGR (Fig. 3). In tank 1, when a fish toggled to become high-triggering, its SGR increased whereas the SGR of the current high-triggering fish decreased (Fig. 3). The same was observed for fish number 43 in tank 3, but its SGR decrease appeared only 55 days after it had lost its high-triggering status.

For individual SGR calculated over the total duration of the experiment, the differences between triggering fish categories disappeared within each tank (T1, T2 and T3) ( $KW_{T1} = 2.68$ ,  $p = 0.26$ ,  $df = 2$ ,  $N = 42$ ;  $KW_{T2} = 4.48$ ,  $p = 0.11$ ,  $df = 2$ ,  $N = 40$ ;  $KW_{T3} = 4.01$ ,  $p = 0.14$ ,  $df = 2$ ,  $N = 41$ ). Similarly for  $CV_{SGR}$ , differences could not be seen between categories ( $KW_{T1} = 8.16$ ,  $p = 0.02$ ,  $df = 2$ ,  $N = 42$ ;  $KW_{T2} = 5.08$ ,  $p = 0.08$ ,  $df = 2$ ,  $N = 40$ ;  $KW_{T3} = 3.98$ ,  $p = 0.10$ ,  $df = 2$ ,  $N = 41$ ).

These observations were confirmed by the fact that the high-triggering fish were not characterized by a final weight significantly higher than that of other fish ( $KW_{T1} = 0.52$ ,  $p = 0.77$ ,  $df = 2$ ,  $N = 22$ ;

$KW_{T2} = 0.25$ ,  $p = 0.88$ ,  $df = 2$ ,  $N = 21$ ;  $KW_{T3} = 1.06$ ,  $p = 0.59$ ,  $df = 2$ ,  $N = 19$ ).

There was also no relation between the initial weight of fish and their capacity to become a high-triggering fish ( $KW_{T1} = 2.73$ ,  $p = 0.25$ ,  $df = 2$ ,  $N = 42$ ;  $KW_{T2} = 2.94$ ,  $p = 0.23$ ,  $df = 2$ ,  $N = 40$ ;  $KW_{T3} = 3.80$ ,  $p = 0.15$ ,  $df = 2$ ,  $N = 41$ ). Nevertheless, the initially largest fish have a slightly higher SGR than that of other fish (however not always significant,  $KW_{T1} = 12.26$ ,  $p = 0.02$ ,  $df = 4$ ,  $N = 42$ ;  $KW_{T2} = 2.86$ ,  $p = 0.41$ ,  $df = 3$ ,  $N = 40$ ;  $KW_{T3} = 8.71$ ,  $p = 0.07$ ,  $df = 4$ ,  $N = 41$ ).

### 3.4. Muscle composition and fish physiology

Some changes in muscle composition occurred during the course of the experiment: statistically significant differences were observed in water, protein and lipid content between D25, D106 and D219 while ash content remained stable (Table 2).

For plasma and tissues biochemistry, values were measured within the usual range of variation (Pichavant et al., 2001; Person Le Ruyet et al., 2002, 2003; Dosdat et al., 2003; Table 3). CV was low for all blood plasma variables except potassium, IgM and for 5-HIAA/5-HT ratio. Significant differences in the osmolarity and hydromineral balance (mainly in sodium and calcium content) were observed between D25, D106 and D219; they were concomitant to a decrease in liver glycogen content and to a transient increase in gill ( $Na^+ - K^+$ )-ATPase activity (Table 3). For IgM values no significant changes occurred in time. For 5-HIAA/5-HT ratio, a significant change could be seen over the duration of the experiment with a 2.5 fold decrease between the first and the two subsequent sampling dates (Table 3).

## 4. Discussion

In the present study, sea bass feeding behavior complexity was revealed by the simultaneous analysis of a set of variables (feed-demand, apparent daily feed tank consumption and wastage, fish growth) in relation to aquaculture practices prone to be source of stressors. Analysis of physiological variables was added to document fish health.

### 4.1. Feed demand activity

Sea bass used in the experiment were naive to the self-feeding apparatus, and triggering activity started 9–10 days

Table 3  
Blood plasma and tissues biochemistry in sea bass juveniles

	Day 25	Day 106	Day 219	
Osmolarity (mmol $\Gamma^{-1}$ )	352±1 <sup>a</sup> (1.4)	362±1 <sup>b</sup> (1.7)	361±1 <sup>b</sup> (2.0)	***
Chloride (mmol $\Gamma^{-1}$ )	146.8±0.6 <sup>b</sup> (1.9)	142.5±0.7 <sup>a</sup> (2.9)	147.6±1.1 <sup>b</sup> (3.9)	***
Sodium (mmol $\Gamma^{-1}$ )	180.1±1.3 <sup>b</sup> (3.6)	173.8±1.0 <sup>a</sup> (3.2)	175.3±0.8 <sup>a</sup> (2.2)	***
Potassium (mmol $\Gamma^{-1}$ )	5.1±0.3 (32)	5.2±0.4 (37)	5.5±0.3 (26)	NS
Calcium (mmol $\Gamma^{-1}$ )	3.1±0.1 <sup>a</sup> (7)	3.5±0.1 <sup>b</sup> (11)	3.4±0.1 <sup>b</sup> (7)	***
Liver glycogen ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	79.1±3.7 <sup>b</sup> (23)	55.4±3.0 <sup>a</sup> (30)	61.6±2.8 <sup>a</sup> (25)	***
Gill ( $Na^+ - K^+$ )-ATPase ( $\mu\text{mol iP mgP}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	12.3±1.4 <sup>a</sup> (59)	16.5±1.0 <sup>b</sup> (32)	14.4±0.8 <sup>ab</sup> (32)	*
IgM (mg $\text{ml}^{-1}$ )		13.2±6.0 (45.5)	15.9±6.8 (42.5)	NS
5-HIAA/5-HT	0.115±0.068 <sup>a</sup> (59)	0.044±0.008 <sup>b</sup> (19)	0.045±0.010 <sup>b</sup> (23)	***
Average weight of sampled fish (g)	149.25±4.45 <sup>a</sup> (16)	244.68±9.80 <sup>b</sup> (23)	396.10±11.88 <sup>c</sup> (17)	***
N	27	32	31	

Data are averages±SE and coefficient of variation (%) inside brackets. Letters following averages indicate statistical differences between dates, averages not sharing a common letter are significantly different and no letter means no significant differences. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  and \*\*\*  $p < 0.001$ .

after the beginning of the experiment which is in accordance with previous results (Rubio et al., 2003a, 2004; Covès et al., 2006).

Our results confirmed that within a group of 50 sea bass, only two or three fish (“high-triggering”) were responsible for around 45% of the triggering activity under a reward regime equivalent to 1 pellet per individual given after each actuation. The rest of the population could be divided in two groups: individuals that seldom actuated the trigger and fish that never actuated the device (respectively “low-triggering” and “zero-triggering” fish, Covès et al., 2006). We demonstrated that this population composition in 3 categories was homogeneous and stable in time over 200 days which was three times longer than in earlier surveys (Covès et al., 2006). Further, we observed changes in fish individual role in the population at the time of stressful events (measuring day, population sampling) or in a spontaneous way, keeping the overall same composition only assumed by a different fish. That observation follows earlier works of Alanärä and Brännäs (1993) and Brännäs and Alanärä (1993) in salmonids.

In general, feed intake patterns vary mostly in relation to photoperiod and temperature (Madrid et al., 2001). In our study under controlled conditions, we could observe that tank feed consumption was relatively constant in time with some day to day variations and steadily accounted for approximately 2% of the biomass present in the tank. Generally, all distributed feed was ingested by the group, and it is interesting to note that feed distribution and thus, high-triggering fish activity, seemed to be adjusted to the group needs (evolving biomass) rather than to the high- or low-triggering individual needs.

At the time of stressful events, apparent feed tank consumption did not vary, as opposed to feed demand and food wastage could represent up to 70% of the delivered quantity and could be related to an increase in triggering activity more than to a decrease in feed consumption. The latter was also seen during a spontaneous change of high-triggering fish that could involve a transition over a period of variable length (5 to 20 d). In general, a high-triggering fish kept its status during approximately 20 d, but it happens that this duration was longer (e.g. fish # 3 in tank 2, 186 days). Once the high-triggering fish lost its status it became again a low-triggering fish, but it could sometimes recover its high-triggering status (alike individual # 1 in tank 1 at day 142). Thus, the frequent change of high-triggering fish in the tank could be regarded as the consequence of an imbalance group social structure. The excessive triggering activity during a stress period could also be explained by that imbalance or by the fact that, when two fish were active at the same time, a competition could appear. Alike in salmonids, where social rank is directly correlated with self-feeder device triggering, the “dominant” fish had the higher actuation level (Alanärä and Brännäs, 1993; Brännäs and Alanärä, 1993).

Thus, the monitoring of self-feeding activity, its variation from expected levels, and monitoring of uneaten food quantity in the tank could enable the detection of either a change of the group social structure or the appearance of an environmental stress within the rearing units.

#### 4.2. Triggering activity, fish growth and physiology

Average apparent feed conversion ratio was  $2.22 \pm 0.17$ , which corresponded to the value already observed by Azzaydi et al. (2000) when sea bass have a free access to a demand-feeder. Thus, fish feeding activity was likely in phase with their natural rhythm and prone to optimise their growth performance (Boujard and Leartherland, 1992; Jobling et al., 1995; Thorpe and Cho, 1995).

Average fish weight increased regularly in time with a significant difference appearing between tanks during the first part of the experiment only. During that period, Fulton condition index increased for all the tanks, which indicated a general improvement in fish condition. However, at the same time, tank 2 presented a particular increase in  $CV_W$  and  $CV_K$  meaning that some individuals grew quicker and realized a better condition than others, despite the fact that the biggest fish in the tank were not always those which had the best condition. For tank 2,  $CV_W$  and  $CV_K$  increase was accompanied by a catch of weight rate significantly less important than that of the two other tanks. As such, an increased CV in time and consequently, differences in fish growth, is likely to indicate individual competition within fish group as shown for salmonids (Jobling, 1995). After 100 days, average weight,  $CV_W$  and  $CV_K$  became homogeneous in all the tanks. According to Jobling (1995) when the fish achieve rapid and homogenous growth rates, and uniform body weight, it would be reasonable to conclude that the social environment is favorable and that the food is evenly distributed among the fish in the group.

SGR values (min:  $0.30 \pm 0.02$ , max:  $0.73 \pm 0.03$ ) observed during the experiment corresponded to the values already published for sea bass (same size and under similar conditions, Muller-Feuga, 1990). At the beginning of the experiment  $16 \pm 2\%$  of the population presented a negative SGR, then the percentage decreased in time to reach 0% of the population (except 1 fish out of 19 for tank 3). That differential SGR in time could be related to the process of self-feeder learning. According to different authors (McCarthy et al., 1992; Jobling, 1995; Alanärä et al., 1998) individual SGR and  $CV_{SGR}$  can be considered as a significant indicator of social ranking within a group: “dominant” or in our case high-triggering fish display high and constant SGR (i.e. low  $CV_{SGR}$ ), and “dominated” or other triggering categories fish display low and variable SGR (i.e. high  $CV_{SGR}$ ). In salmonids, fish with the highest bite counts has the highest growth rate, indicating that the competitive ability to release food is beneficial for food intake (Abbott and Dill, 1989; Alanärä and Brännäs, 1993; Brännäs and Alanärä, 1993). A preferential access to the feed zone, as well as a better preparation for the meal (anticipation of pellets delivery and/or better assimilation through early secretion of digestive enzymes) would explain that when a fish becomes a high-triggering individual, its SGR increases or is higher than the average group SGR. Such differential SGR was not visible on the long term but was hereby linked to a triggering time window. Indeed, the high-triggering sea bass were not characterized by an overall higher SGR (already observed by Landless, 1976; Alanärä and Brännäs, 1993; Chen et al., 2002

and Covès et al., 2006) and by a lower  $CV_{SGR}$  than the other individuals in the group. When the high-triggering fish lost its status, its SGR became again equivalent to the average SGR, which in turn tended to homogenize all the SGRs in time. It is interesting to note that at the beginning of the experiment, when all the individuals were naïve, the future high-triggering individuals had a negative SGR. We could hypothesize that the individual variations in learning could be linked to the initial fish growth. Thus, fish with a negative growth might be searching more for pellets and/or might spend more time in the feeding zone which in turn may enhance the self-feeder learning process. That hypothesis remains to be tested in the future by a thorough study of individual feed intake as well as fish space partitioning in the various zones of the tank. The fact that there were both i) no relation between initial body weight and fish capacity to become a high-triggering fish and ii) no significant difference in growth between the three triggering categories, leads to hypothesize that fish can employ different strategies to achieve the same end (Magurran, 1993). Indeed, despite the fact that short-term benefits may be unequal (i.e. an SGR increase) different behavioral patterns could appear in the rest of the group in order to compensate.

All measured physiological variables including IgM levels (Coeurdacier et al., 1997) were within the usual values for marine fish (sea bass and turbot) measured over 3–6 months using the same sampling procedures (Pichavant et al., 2001; Person Le Ruyet et al., 2002, 2003; Dosdat et al., 2003). No major disturbances in fish physiological variables occurred during the course of the experiment only time related changes were observed in some blood plasma and tissues biochemistry and they could be related to fish growth and aging. Indeed, the observed differences between initial and final sampling could be related to i) fish status at the onset of the experiment related to initial conditioning and ii) to changes that may have occurred during the course of the 7 months experiment with regards to environmental conditions and/or to fish status (e.g. hormonal changes related to maturation process). The moderate changes in osmolarity and to some extent in ions concentrations were concomitant with the decrease in liver glycogen content, which was at its highest at the onset of the experiment. Muscle composition changes with time and consequently with fish size may be related to fish feeding behavior. It is well known that feeding behavior and feed intake determine fish growth rate but also flesh composition in particular the lipid content which may be quantitatively and qualitatively modified; in comparison flesh protein content is less influenced by external feeding conditions since it is mainly dependent on intrinsic factors such as the fish species variety and size (Borresen 1992, Shearer 1994). Information concerning the biochemical composition of sea bass flesh prior to commercial size is scarce and incomplete in comparison with whole body composition (Person Le Ruyet et al., 2004a,b; Montero et al., 2005, Skalli et al., 2006). The wide heterogeneity of lipid distribution in fish flesh with wide gradients from the anteroposterior to ventral regions made comparison difficult (Toussaint et al., 2005). The relative low fat muscle content observed in this study may result from a moderate feed intake over all the experiment, only at the end was total lipid content within the usual range for sea bass juveniles fed a similar

diet (Skalli et al., 2006). Concerning brain serotonergic activity, 5-HIAA/5-HT values observed in the present survey were within the same range as those measured by Di-Poï et al. (2007) (0.072–0.142 of wet weight). However, our long term survey protocol did not allow us to underline differences between triggering categories but initial i.e. learning phase values (with an average of  $0.115 \pm 0.068$  of wet weight and a large CV) were similar to values measured for low- or zero-triggering fish (Di-Poï et al., 2007). Therefore, we could hypothesized that the establishment of a stable population composition after 100 days also induced a general reduction of stress levels as confirmed by the homogeneous growth rate achieved. Further work should be pursued in the direction of linking such neurophysiological indicator with behavioral flexibility in sea bass in order to select for fish better adapted to aquaculture.

According to the present results, feed-demand behavior more clearly highlights the inter-individual differences than physiological variables. A long-term study is also important to underline fish group demand-feeding behavior and makes it possible to reveal individual characteristics, like SGR evolving with individual triggering-activity period. Further, it illustrates that more than the high-triggering fish identity itself, it is the role, indeed the function, that a fish assumes which is important and conditions the group feeding behavior. Finally, the measurement of the difference between tank feed consumption and feed demand in each group seems to be a relevant indicator in order to access the occurrence of a stressing event in the rearing environment. The monitoring of that variable in aquaculture should make it possible to rapidly pinpoint a fish welfare alteration and to remedy for it.

## Acknowledgements

We wish to thank D. Leguay, N. Lachaussée and M. Prineau (CRELA) for their technical help. We also thank A. François for his work on the sediment trap. This work was performed within the Integrated Research Project SEAFOODplus, contract no. FOOD-CT-2004-506359. The financing of this work by the European Union is gratefully acknowledged.

## References

- Abbott, J.C., Dill, L.M., 1989. The relative growth of dominant and subordinate juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) fed equal rations. *Behaviour* 108, 104–113.
- Alanärä, A., 1992. The effect of time-restricted demand feeding on feeding activity, growth and feed conversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 108, 357–368.
- Alanärä, A., Brännäs, E., 1993. A test of the individual feeding activity and food size preference in rainbow trout. *Aquacult. Int.* 1, 47–54.
- Alanärä, A., Winberg, S., Brännäs, E., Kiessling, K., Höglund, A., Elofsson, U., 1998. Feeding behaviour, brain serotonergic activity and energy reserves of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) within a dominance hierarchy. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 76, 212–220.
- Anthouard, M., Kentouri, M., Divanach, P., 1993. An analysis of feeding activities of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Moronidae), raised under different lighting conditions. *Ichthyophysiol. Acta.* 16, 59–73.
- Association of Official Analytical Chemists, 1984. In: Williams, S. (Ed.), *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists*. AOAC International, Arlington, VA.

- Azzaydi, M., Martinez, F.J., Zamora, S., Sanchez-Vazquez, F.J., Madrid, J.A., 2000. The influence of nocturnal vs diurnal feeding under winter conditions on growth and feed conversion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 182, 329–338.
- Bœuf, G., Le Bail, P.Y., Prunet, P., 1989. Growth hormone and thyroid hormones during Atlantic salmon, *Salmo salar* L., smolting and after transfer to seawater. *Aquaculture* 82, 257–268.
- Borresen, T., 1992. Quality aspects of wild and reared fish. In: Huss, H.H., et al. (Ed.), *Quality assurance in the fish industry*. 7 pp.
- Boujard, T., Leartherland, J.F., 1992. Circadian rhythms and feeding time in fishes. *Environ. Biol. Fish* 35, 109–131.
- Brännäs, E., Alanärä, A., 1993. Monitoring the feeding activity of individual fish with a demand feeding system. *J. Fish Biol.* 42, 209–215.
- Carr, R.S., Neff, J.M., 1984. Quantitative semi-automated assay for tissue glycogen. *Comp. Biochem. Phys.* 77, 447–449.
- Chandoo, K.P., Duncan, I.J.H., Moccia, R.D., 2004. Can fish suffer?: perspectives on sentience, pain, fear and stress. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 86, 225–250.
- Chen, W.M., Mayumi, N., Mitsuo, T., 2002. Circadian rhythms and individual variability of self-feeding activity in groups of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 33, 491–500.
- Coeuradacier, J.L., Pépin, J.F., Fauvel, C., Legall, P., Bourmaud, A.F., Romestand, B., 1997. Alterations in total protein, IgM and specific antibody activity of male and female sea bass (*Dicentrarchus labrax*) sear following injection with killed *Vibrio anguillarum*. *Fish Shellfish Immun.* 7, 151–160.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G., 1998. A simple way of avoiding feed wastage in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquat. Living Resour.* 6, 395–401.
- Covès, D., Beauchaud, M., Attia, J., Dutto, G., Bouchut, C., Bégout Anras, M.L., 2006. Long-term monitoring of individual fish triggering activity on a self-feeding system: an example using European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 253, 385–392.
- Dåmsgard, B., Juell, J.E., Braastad, B.O., 2006. Welfare in farmed fish. *Fiskeriforskning*, p. 103.
- Di-Poï, C., Attia, J., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Beauchaud, M., 2007. Behavioural and neurophysiological responses of European sea bass groups reared under food constraint. *Physiology and behaviour* 90, 559–566.
- Dosdat, A., Person-Le Ruyet, J., Covès, D., Dutto, G., Gasset, E., Le Roux, A., Lemarié, G., 2003. Effect of chronic ammonia exposure on growth, food utilization and metabolism of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.* 16, 509–520.
- Ellis, T., North, B.P., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M.J., Gadd, D., 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J. Fish Biol.* 61, 493–531.
- F.S.B.I., 2002. *Fish Welfare*, Briefing Paper 2, Granta Information Systems., Sawston, Cambridge CB 4H, p. 25.
- F.A.O., 2002. *The State of World Fisheries And Aquaculture*. Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1957. A simple methods for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509.
- Huntingford, F.A., Adams, C., 2005. Behavioural syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behaviour* 142, 1207–1221.
- Huntingford, F.A., Adams, C.E., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T.G., Sandoe, P., Turnbull, J.F., 2006. Current issues in fish welfare. *J. Fish Biol.* 68, 332–372.
- Jobling, M., Baardvik, B.M., 1994. The influence of environmental manipulations on inter- and intra-individual variation in food acquisition and growth performance of Arctic charr, *Salvalinus alpinus*. *J. Fish Biol.* 44, 1069–1087.
- Jobling, M., 1995. Simple indices for the assessment of the influences of social environment on growth performance, exemplified by studies on Arctic Charr. *Aquacult. Int.* 3, 60–65.
- Jobling, M., Arnesen, A.M., Baardvik, B.M., Christiansen, J.S., Jorgensen, E.H., 1995. Monitoring feeding behaviour and food intake: methods and applications. *Aquacult. Nutr.* 1, 131–143.
- Jobling, M., Covès, D., Dåmsgard, B., Kristiansen, H.R., Koskela, J., Petursdottir, E., Kadri, S., Gudmundson, O., 2001. Techniques for measuring feed intake. In: Houlihan, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), *Food Intake in Fish*. Blackwell Science, London, pp. 49–87.
- Korte, S.M., Olivier, B., Koolhaas, J.M., 2007. A new animal welfare concept based on allostasis. *Physiology and Behavior* 92, 422–428.
- Landless, P.J., 1976. Demand-feeding behaviour of rainbow trout. *Aquaculture* 7, 11–15.
- Madrid, J.A., 1994. Question de swing L'alimentation à la demande et les rythmes endogènes. *Aqua. Revue* 52, 33.
- Madrid, J.A., Boujard, T., Sanchez-Vazquez, F.J., 2001. Feeding rhythms. In: Houlihan, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), *Food Intake in Fish*. Blackwell Science, London, pp. 189–215.
- Magurran, A.E., 1993. Individual differences and alternative behaviours. In: Pitcher, T.J. (Ed.), *Behaviour of Teleost Fishes*. Chapman & Hall, pp. 441–477.
- Martins, C.I.M., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2005. Inherent variation in growth efficiency of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) juveniles. *Aquac. Res.* 36, 868–875.
- McCarthy, I.D., Carter, C.G., Houlihan, D.F., 1992. The effect of feeding hierarchy on individual variability in daily feeding of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Fish Biol.* 41, 257–263.
- Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Gines, R., Izquierdo, M.S., 2005. Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* 248, 121–134.
- Muller-Feuga, 1990. Modélisation de la croissance des poissons en élevage. *Rapports scientifiques et techniques de l'IFREMER*, vol. 21, p. 58.
- Person-Le Ruyet, J., Pichavant, K., Vacher, C., Le Bayon, N., Sévère, A., Bœuf, G., 2002. Effects of oxygen supersaturation on growth and metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 205 (3–4), 373–383.
- Person-Le Ruyet, J., Lambers, A., Le Roux, A., Sévère, A., Bœuf, G., Mayer Gostan, N., 2003. Long-term ammonia exposure of turbot: effects on plasma parameters. *J. Fish Biol.*, 62, 879–894.
- Person-Le Ruyet, J., Skalli, A., Dulau, B., Le Bayon, N., Le Delliou, H., Robin, J., 2004a. Does dietary n-3 highly unsaturated fatty acids level influence the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) capacity to adapt to high temperature. *Aquaculture* 242, 571–588.
- Person-Le Ruyet, J., Mahé, K., Le Bayon, N., Le Delliou, H., Quémener, L., 2004b. Effects of temperature on somatic growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 237, 269–280.
- Pichavant, K., Person-Le Ruyet, J., Le Bayon, N., Sévère, A., Le Roux, A., Bœuf, G., 2001. Comparative effects of long-term hypoxia on growth, feeding and oxygen consumption in juvenile turbot and European seabass. *J. Fish Biol.* 59 (4), 875–883.
- Rubio, V.C., Sanchez-Vazquez, F.J., Madrid, J.A., 2003a. Macronutrients selection through post ingestive signals in sea bass fed on gelatine capsules. *Physiol. Behav.* 78, 795–803.
- Rubio, V.C., Sanchez-Vazquez, F.J., Madrid, J.A., 2003b. Nocturnal feeding reduces sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) pellet-catching ability. *Aquaculture* 220, 697–705.
- Rubio, V.C., Vivas, M., Sanchez-Mut, A., Sanchez-Vazquez, F.J., Covès, D., Dutto, G., Madrid, J.A., 2004. Self-feeding of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under laboratory and farming conditions using a string sensor. *Aquaculture* 233, 393–403.
- Shearer, K.D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fish with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119, 63–88.
- Skalli, A., Robin, J.H., Le Bayon, N., Le Delliou, H., Person-Le Ruyet, J., 2006. Impact of essential fatty acid deficiency on tissue's fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 255, 223–232.
- Thorpe, J.E., Cho, Y., 1995. Minimising waste through bioenergetically and behaviourally based feeding strategies. *Water Sci. Technol.* 31, 29–40.
- Toussaint, C., Fauconneau, B., Médale, F., Collewet, G., Akoka, S., Haffray, P., Davenel, A., 2005. Description of the heterogeneity of lipid distribution in the flesh of brown trout (*Salmo trutta*) by MR imaging. *Aquaculture* 243, 255–267.
- Turnbull, J.F., Bell, A., Adams, C.E., Bron, J., Huntingford, F.A., 2005. Stocking density and welfare of cage farmed Atlantic salmon: application of a multivariate analysis. *Aquaculture* 243, 121–132.
- Wolffrom, T., 2004. *Farmed fish and welfare*. European commission, pp. 1–39.

**Individual fish rhythm directs group feeding:  
a case study with sea bass juveniles under  
self-demand feeding conditions**

Chapitre

**3**

Millot S.  
Bégout M.-L.

*Journal of Fish Biology, soumis*





## Résumé

Le bar européen est une espèce connue pour exprimer des fluctuations saisonnières voire journalières dans son rythme d'alimentation que ce soit en milieu naturel ou en milieu d'élevage : principalement nocturne durant l'hiver et au contraire majoritairement diurne durant l'été. Cette dualité entre le rythme nocturne et diurne peut être mise en relation avec les variations saisonnières de la photopériode, de la température de l'eau, mais également avec des changements brutaux de l'environnement et avec des stimuli visuels ou sociaux. La connaissance des besoins alimentaires des poissons en élevage est essentielle, car le régime et le rythme alimentaire peuvent avoir des répercussions très importantes sur leur croissance et le taux d'aliment gaspillé. La façon la plus adéquate de réduire le gaspillage est donc de présenter l'aliment lorsque les poissons sont les plus enclins à se nourrir. Cependant, dans le contexte aquacole, les périodes d'alimentation sont souvent imposées par les éleveurs et sont rarement en accord avec le rythme endogène des poissons.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la stabilité du rythme alimentaire des bars à long terme dans des conditions standard d'élevage, caractériser le rythme alimentaire individuel en fonction de l'appartenance à une catégorie manipulatrice et déterminer si le rythme de l'individu manipulateur influence celui des autres membres du groupe. A cette fin, le comportement de demande alimentaire de 4 groupes de 40 à 50 bars est suivi continuellement durant 219 jours, grâce à l'utilisation d'un self-feeder et d'une antenne détectrice de PIT tag installée à son entrée, le tout relié à un système informatique permettant d'enregistrer l'identité des poissons ainsi que le nombre et l'heure de leurs demandes alimentaires. Chaque groupe est élevé dans un bassin de 400l d'eau de mer, en conditions stables et contrôlées (22°C et une salinité de 28) et sous une photopériode constante (16 heures de jour et 8 heures de nuit). Le nombre de demande alimentaire réalisée par chaque membre du groupe est comptabilisé quotidiennement puis, la population est divisée en trois catégories manipulatrices en fonction de son pourcentage d'activation [manipulateur principaux (> 25% des demandes alimentaires totales), manipulateur occasionnel (< 25%) et non manipulateur (0%)]. Pour l'ensemble des groupes, la population se compose de 6% de manipulateur principaux, 84% de manipulateurs occasionnels et 10% de non manipulateur. Il apparaît que l'identité des manipulateurs principaux n'est pas stable dans le temps et que le changement entre deux individus se produit de façon spontanée. La durée d'activité d'un manipulateur principal peut être variable mais est en général de 63 jours et la période de transition entre deux manipulateurs est relativement courte (4 jours). Le manipulateur principal est généralement caractérisé par un taux de croissance faible au début de sa période d'activité et regagne progressivement un taux de croissance équivalent à celui des autres membres du groupe à la fin de cette même période. Il est alors remplacé dans sa fonction par un autre bar présentant un taux de croissance faible. Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait que l'identité du manipulateur principal est définie par sa motivation à s'alimenter et que la durée de sa période d'activité est, quant à elle, dépendante du temps nécessaire pour retrouver un taux de croissance convenable.

Il apparaît, au vu des résultats de cette étude, que le rythme d'alimentation du groupe suit majoritairement celui du manipulateur principal. Lorsque ce dernier est nocturne, l'ensemble des poissons du groupe réalisent leurs demandes alimentaires durant la nuit avec un pic d'activité à 22:00 correspondant au crépuscule. Lorsque le manipulateur principal est diurne, la majorité des demandes alimentaires est alors réalisée durant le jour avec un pic d'activité à 06:00, correspondant à l'aube, et/ou à 12:00. Cependant lorsque deux bars se partagent le rôle de manipulateur principal au sein du groupe, leur influence sur le rythme alimentaire des autres poissons est moins marquée, et cette période est souvent accompagnée d'un gaspillage

plus important. La présence de deux manipulateurs principaux peut donc entraîner une déstructuration sociale du groupe et être considérée comme un facteur de stress.

Cette étude met donc en évidence que le comportement alimentaire du groupe ne peut se résumer à la somme des demandes alimentaires réalisées par chaque individu, mais qu'il est fortement dirigé par le rythme et le comportement du manipulateur principal. Les changements réguliers de manipulateur au sein du groupe prouvent que ce n'est pas l'identité du poisson qui est importante, mais son rôle en tant que leader alimentaire. Les conséquences de telles particularités pour l'élevage des bars est qu'en plus de contrôler les conditions environnementales d'élevage, il est également important de limiter les pratiques aquacoles telles que les prélèvements et les tris (pour former des groupes homogènes) qui peuvent entraîner une déstructuration sociale du groupe et un gaspillage alimentaire important.

# 1. Introduction

Feeding behaviour is the basis of one of the most important vital functions for fish, their nutrition (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994). Under natural conditions, food availability is one of the most important environmental factors that affect an animal's survival. To improve food acquisition, animals have developed several systems that synchronize them to feeding times in terms of their behavioural activities, hormonal levels and many other physiological variables (Boulos & Terman, 1980). Therefore, in relation to natural diel and seasonal variation of food availability in the wild, feeding activity in fish shows a diel pattern even under controlled conditions (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994).

Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) displays flexibility in its feeding rhythms (Anthouard *et al.*, 1993; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994, 1995a; Boujard *et al.*, 1996). Many daily and seasonal rhythms are endogenously driven by the circadian system and synchronized by external cyclical cues with a stable periodicity, called zeitgebers (Falcon *et al.*, 1992; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a; Madrid *et al.*, 2001). Under natural conditions (Bégout Anras, 1995) as well as under controlled laboratory conditions (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b; Aranda *et al.*, 1999), sea bass display a dual phasing behaviour in their circadian feeding pattern. Sea bass exhibit both nocturnal and diurnal feeding behaviour: they are predominantly diurnal in summer, nocturnal in winter and then return to diurnal behaviour in spring (Madrid, 1994; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998). This diurnal/nocturnal behaviour of sea bass has been described in relation to seasonal variations in photoperiod and water temperature (Bégout Anras, 1995), sudden changes in environmental conditions (Anthouard *et al.*, 1993; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b) and several intrinsic factors such as motivational level, and visual (Bardach & Todd, 1970) and social stimuli (Kentouri *et al.*, 1986). Among the studies cited above, many used on-demand feeding systems but the relative individual contribution to feed demand was seldom investigated (Covès *et al.*, 2006, Di-Poi *et al.*, 2008, Millot *et al.*, 2008). It was however been pointed out that individual roles could direct group feeding under environmentally constant and controlled conditions (Millot *et al.*, 2008).

With the aim of determining the stability of biological feeding rhythms in individual sea bass and the relative role of an individual in the group over time, we designed a long term controlled experiment (219 days) with no intervention except measurements of weight and length. The data set was first presented in Millot *et al.* (2008) with a focus on individual specific growth rate variation and health. The present paper offers another analysis with a focus on i) the rhythm of role changes between individuals of the group, and ii) daily demand-feeding rhythms of individual fish and the way in which these direct the timing of feeding in the whole group.

## 2. Material and methods

### 2.1. Apparatus

The feeding device used was exactly the same as that presented in Millot *et al.* (2008). After each actuation, fish were rewarded with feed pellets; the feed dispensers were regulated to distribute between 0.5 g kg<sup>-1</sup> of fish live weight at the beginning and 0.4 g kg<sup>-1</sup> at the end of the experiment, which represented around 50 pellets per actuation. Each individual had been

horizontally PIT-tagged by inserting a tag just behind the head, allowing individual identification when fish activated the feeder rod. With this set up, we were able to record the number of feed demand acts by all individuals and thus monitor both individual and group feeding behaviour on an hourly and daily basis.

## 2.2. Experimental set up

Sea bass were hatched in Aquanord (France) and grown at Ferme Marine des Baleines - Aquapole (France). At the beginning of the study, the fish were 13 months old. In one single experimental room, four 400 l seawater tanks were supplied with the same sand-filtered water in a recirculated system (flow rate of  $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  and 10 % water renewal per day). Water temperature was maintained at  $22.2 \pm 1.5^\circ\text{C}$  ( $\pm$  SE), the oxygenation was above 70 % saturation in the outlet and salinity was  $28.6 \pm 3.3$ . Ammonia and nitrite levels in the water were measured each experimental day and never exceeded recommended levels for sea bass. Tanks were surrounded by black curtains and each was equipped with a 120 W lamp (240 V, PAR 38 FLOOD, OSRAM<sup>®</sup>), placed at 90 cm above the water surface (900 Lux measured 20 cm above the water surface). Light regime was 16:8 LD, with light onset at 06:00 U.T. +1 (Universal Time +1 corresponding to European winter time) with twilight transition periods of 30 min. Fish were fed with a commercial sea bass diet (Neo Grower Extra Marin 4.0, France: 45 % crude protein, 20 % lipid according to the manufacturer, 4 mm).

The experiment was realized over 219 days, with  $n = 190$  fish in 4 tanks: 50 fish per tank in three tanks and 40 larger fish in the fourth in order to minimize fish size variation and to reach the same initial biomass. Fish were placed under self-feeding conditions from the first day of the experiment (following one week of acclimation) with 24 h food access, even during the cleaning of the rearing unit and waste counting from 10:00 to 11:00 U.T.+1. (uneaten pellets were counted on the bottom of each tank and in the sediment traps). Triggering activity recordings were made continuously for 219 days except during the periods before and during fish measurement which required 48 h of fasting in advance and therefore no feeding data during this time (15 days off in total). There were also 11 days when triggering activity was not recorded due to a software problem. We therefore obtained a total of 193 days of feeding activity recordings. On the measurement days, days 25, 80, 148, 197 and 219, fish were manipulated under light anaesthesia with 0.08% clove oil. Fish mass was measured to the nearest mg and fish length to the nearest mm.

## 2.3. Data analysis

Individual and group feeding behaviour were first examined by determining triggering activity of the individual fish (*i.e.* number of feed demand acts by each individual fish) and the resulting group composition based on numbers of fish with different levels of triggering activity, classed into three categories. The number of feed demand acts per individual was used to calculate the proportional contribution of an individual fish to the total number of trigger actuations within its group over the entire experimental period and to assign the individual to one of the categories: high-triggering ( $> 25\%$  actuations), low-triggering ( $< 25\%$ ) and zero-triggering (0%) individuals (Covès *et al.*, 2006; Di poi *et al.* 2008; Millot *et al.*, 2008). The duration of the high-triggering activity of each individual was calculated in days.

To evaluate the high-triggering fish feeding rhythm in each tank, the number of feed demand acts were summed per hour and the resulting variable analyzed using an actogram. To

establish the individual and group feeding rhythm, hourly number of feed demand acts were averaged over the 24 hour cycle.

Additionally, total daily feed demand acts for each group and for each high-triggering fish were converted into feed quantity and expressed relative to fish biomass present in the tank. It was calculated as:  $[(\text{total daily feed demand acts} \times \text{feed quantity distributed per actuation} \times 100) \times (\text{biomass present in the tank for the period considered})^{-1}]$ .

All mean values were expressed with the standard error (SE).

All data were first tested for normality with a Shapiro-Wilk test and for homoscedacity of variance with a Bartlett's test, which showed that they complied with the rules for parametric statistics. One-way ANOVA was then used to compare all variables between tanks or between high-triggering fish. Homogeneous groups were determined with the *a posteriori* Newman and Keuls test (Dagnélie, 1975). For all tests, the significance threshold was  $p < 0.05$  and analyses were performed using Statistica software.

### 3. Results

At the beginning of the study the sea bass had a mean body mass of  $139 \pm 1$  g (coefficient of variation (CV) = 11 %,  $n = 150$ ) for tanks 1, 2 and 3 and of  $183 \pm 3$  g (CV = 10 %,  $n = 40$ ) for tank 4, biomass was in the range 6.9 - 7.3 kg.

During the 219 days of the experiment, 11 fish died (some jumped out of the tank and others died of unknown causes). These changes in number of individuals were taken into account for all variables measured.

#### 3.1. Categories of triggering activity and daily feed demand

As there was a learning period, the first actuation occurred about 10 days after the experiment started, for all high and low triggering fish in tanks 1, 2 and 3. Tank 4 only showed real self-feeder activation only from the 50th day.

The partitioning of the groups of fish in each tank into the three triggering categories was compared and no tank effects was observed ( $F_{3,186} = 1.25$ ,  $p > 0.05$ ), which allowed data to be pooled among tanks. Indeed, the 4 groups were composed of  $10 \pm 3$  % zero-triggering fish,  $84 \pm 2$  % low-triggering fish and  $6 \pm 1$  % high-triggering fish. When all tanks were considered together, each triggering category accounted for a different proportion of the group feed demand:  $64 \pm 2$  % of total actuation activity was realized by the high-triggering fish (11 fish in total) and the remaining  $36 \pm 2$  % of total actuation activity was attributed to the low-triggering fish, since zero-triggering fish did not make any feed demand. During the experiment, there were 2 to 3 high-triggering fish per tank, generally only one individual was in this category at a time and partitioning among categories remained stable over time (Millot *et al.*, 2008). We observed changes in the identity of the fish that took the high-triggering role in a tank. These changes could be related to a measuring day on four occasions, but in 5 other cases the changes appeared spontaneously (Fig.1). Mean duration of individual high-triggering activity was  $63 \pm 16$  days, but varied from 12 to 186 days (Table I) and was not significantly different between tanks ( $F_{3,7} = 0.27$ ,  $p > 0.05$ ). After a high-triggering period, an individual became low- or a zero-triggering. Such an individual could however become high-triggering once again some time later (Fig.1, tank 1, fish # 1). The transition period between two high-triggering fish in a tank was on average  $4 \pm 4$  days.

**Table 1:** Number of active days, mean number of daily feed demand acts and values converted into feed quantity expressed in % of the fish biomass present in the group for each high-triggering fish in each tank.

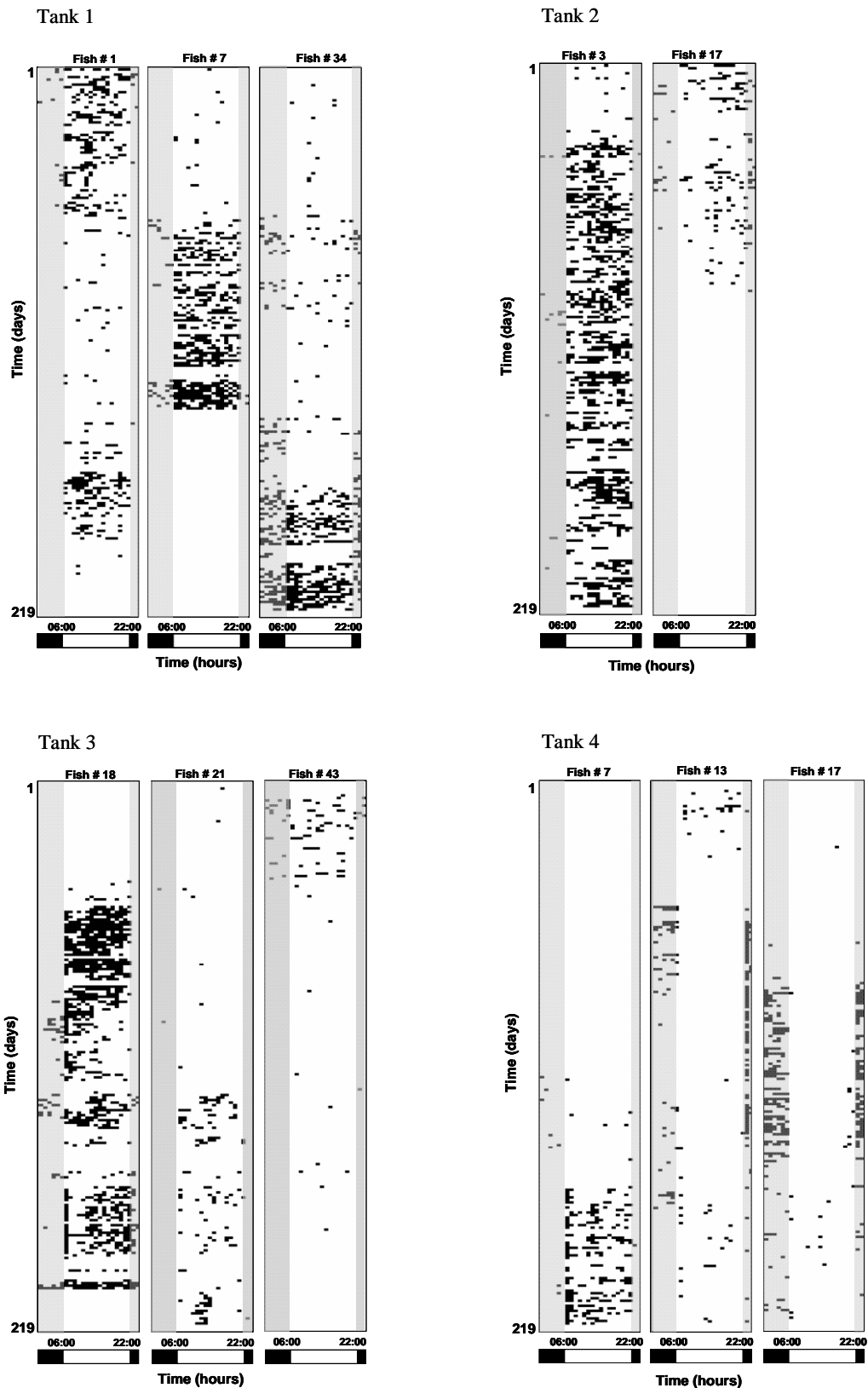
Tank	Fish #	N active days	Mean number of daily feed demand acts	% of the fish biomass	
1	1	54 & 32	7.4 ± 0.5 & 7.3 ± 0.7	0.4 ± 0.02 & 0.4 ± 0.04	a
	7	66	17.4 ± 1.4	0.7 ± 0.05	b
	34	44	16.5 ± 1.4	0.8 ± 0.06	b
2	3	186	16.5 ± 0.7	0.7 ± 0.03	b
	17	18	6.3 ± 1.0	0.3 ± 0.06	a
3	18	155	23.0 ± 1.5	1.0 ± 0.07	b
	21	12	6.5 ± 1.9	0.3 ± 0.08	a
	43	32	5.0 ± 0.6	0.2 ± 0.03	a
4	7	53	14.1 ± 1.1	0.6 ± 0.05	c
	13	35	3.8 ± 0.4	0.2 ± 0.02	a
	17	67	7.5 ± 0.8	0.3 ± 0.04	b

Data on the number of daily feed demand acts and % of the biomass are means ± SE. Letters indicate statistical differences between high-triggering fish for the mean number of daily feed demand acts and values expressed in % of fish biomass ( $p < 0.05$ ).

The number of daily feed demand acts per group was different between tanks ( $F_{3,769} = 22.90$ ,  $p < 0.05$ ). Means for the entire experimental period came to  $22 \pm 1$  acts per day in tanks 1 and 2,  $27 \pm 1$  in tank 3 and  $15 \pm 1$  in tank 4 (Fig.2). In terms of fish biomass this represented  $0.9 \pm 0.03$  for tank 1,  $1.1 \pm 0.04$  for tanks 2 and 3 and  $0.7 \pm 0.04$  % for tank 4 ( $F_{3,769} = 19.59$ ,  $p < 0.05$ ).

Generally, during its active triggering period, a high-triggering fish made on average  $4 \pm 1$  to  $23 \pm 2$  daily feed demand acts, which represented  $0.2 \pm 0.02$  to  $1.0 \pm 0.07$  % of the fish biomass present in the tank (Table I). The mean number of daily feed demands could be significantly different among successive high-triggering fish in the same tank (Table I). There was also a significant difference between tanks for the mean daily number of feed demands by high-triggering fish ( $F_{3,787} = 44.51$ ,  $p < 0.001$ ) and for the data converted into percentage of fish biomass present in the tank ( $F_{3,787} = 39.60$ ,  $p < 0.001$ ). Indeed, when all high-triggering fish in tank 4 were considered together, they realized  $7 \pm 1$  daily feed demand acts, which was significantly less than the mean daily feed demand acts by high-triggering fish in tank 1 ( $13 \pm 1$ ), tank 2 ( $15 \pm 1$ ) or tank 3 ( $19 \pm 1$ ). The same differences were observed with data converted into percentage of fish biomass present in the tanks ( $0.3 \pm 0.02$  % for tank 4;  $0.6 \pm 0.03$  % for tank 1;  $0.7 \pm 0.03$  % for tank 2 and  $0.8 \pm 0.06$  % for tank 3).

When two high-triggering fish occurred in the same tank during the same period of time, the daily feed demand act number could increase by  $18 \pm 3$  %. During these periods, or after a measuring day, the number of feed demand acts realized by high-triggering fish could be very large, and was sometimes above 60 acts per day. These periods were often accompanied by pellet wastage (up to 70 % of the quantity distributed, Millot *et al.*, 2008). In general, such a period was concluded by a change in the highest-triggering individual, with which the food wastage ended.



**Figure 1:** Actogram showing feed demand activity of high-triggering fish in each tank. Feed demand acts was summed per hour and represented by black squares. The X-axis represents time of the day (hours), and Y-axis represents experimental days. The white and black bars on the bottom indicate the spans of light and darkness, respectively.

### 3.2. Group and individual feed demand rhythm

Group feed demand was characterized by 2 or 3 activity peaks per day (Fig.2, black line). When fish in the tank were nocturnal, the activity peak was at 22:00, and when fish were diurnal, the activity peak was at 06:00 and/or at 12:00 (Fig.2). For each feed demand activity peak, high-triggering fish realized an average  $67 \pm 3 \%$  (min = 59 %, max = 80 %) of the total feed demand acts number in the tank (Fig.2).

The feed demand of low-triggering fish (Fig.2, dotted line) followed the rhythm of the highest-triggering fish, with the same activity peaks. When this high-triggering fish was nocturnal, the rhythm of the other fish in the tank was also nocturnal (Fig.2, tank 4), and when it was diurnal, all the fish in the tank were diurnal (Fig.2, tanks 1, 2 and 3). The more this high-triggering fish had a long and intensive feed demand activity period, the more it had a directing influence on the rhythm of the other fish (Table I and Fig.2, fish # 3 tank 2 and Fig.2 fish # 18 tank 3).

Most of the high-triggering fish were characterized by a well defined circadian rhythm: 9 high-triggering fish were diurnal and 2 were nocturnal (Fig.1).

When there were two high-triggering fish in the same tank during the same period of time, they presented different feed demand activity rhythms. Therefore, when one high-triggering fish made most of its feed demand during a specific period, the second high-triggering fish made its majority of feed demand in another period (*e.g.* fish # 13 and fish # 17 in tank 4, Fig.1). The first high-triggering fish in tank 4 (fish # 13) made most of its feed demand between 00:00 and 06:00 but when a second individual (fish # 17) also became a high-triggering fish in the same tank, and made the majority of its feed demand during this same period (00:00 to 06:00), then fish # 13 changed its feed demand period and concentrated it at 22:00 instead. The same phenomenon was seen between fish # 1 and fish # 34 in tank 1 at the end of the experimentation period (Fig.1).

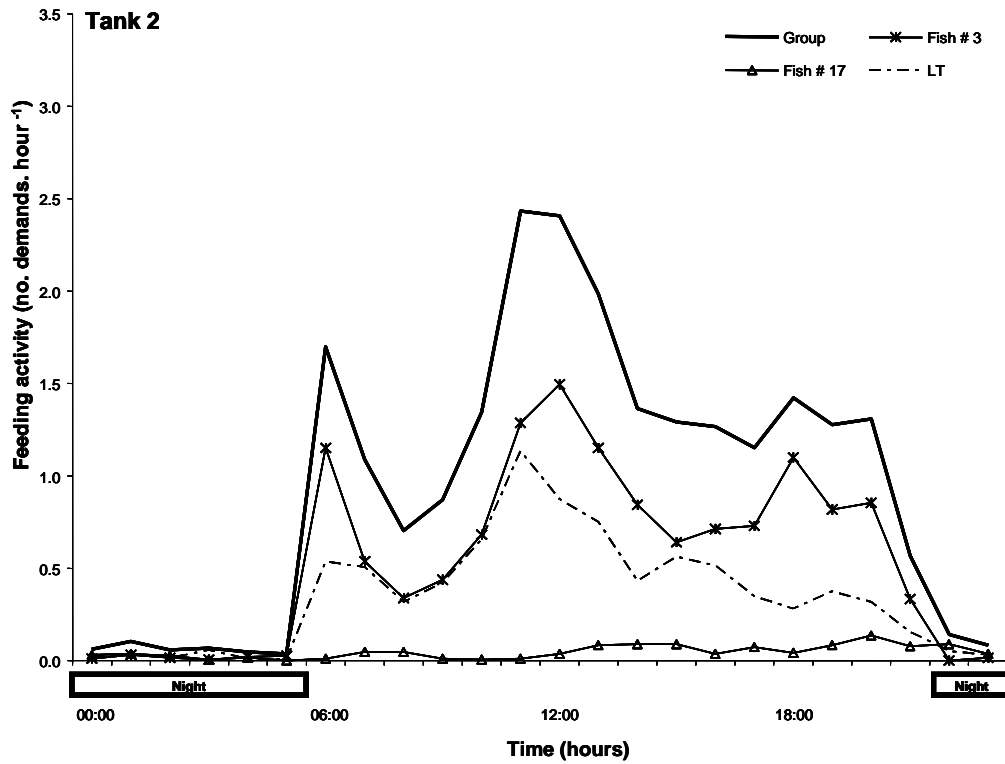
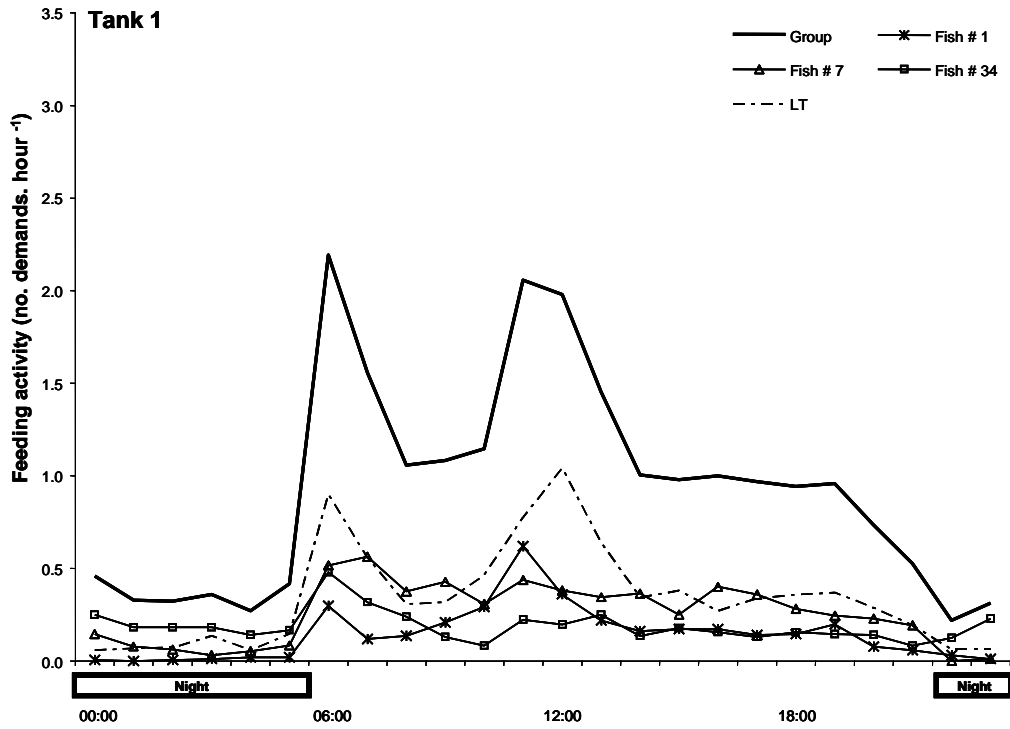
Fish manipulation for the measurement days did not seem to have any effects on feed demand rhythms of high-triggering which remained either nocturnal or diurnal.

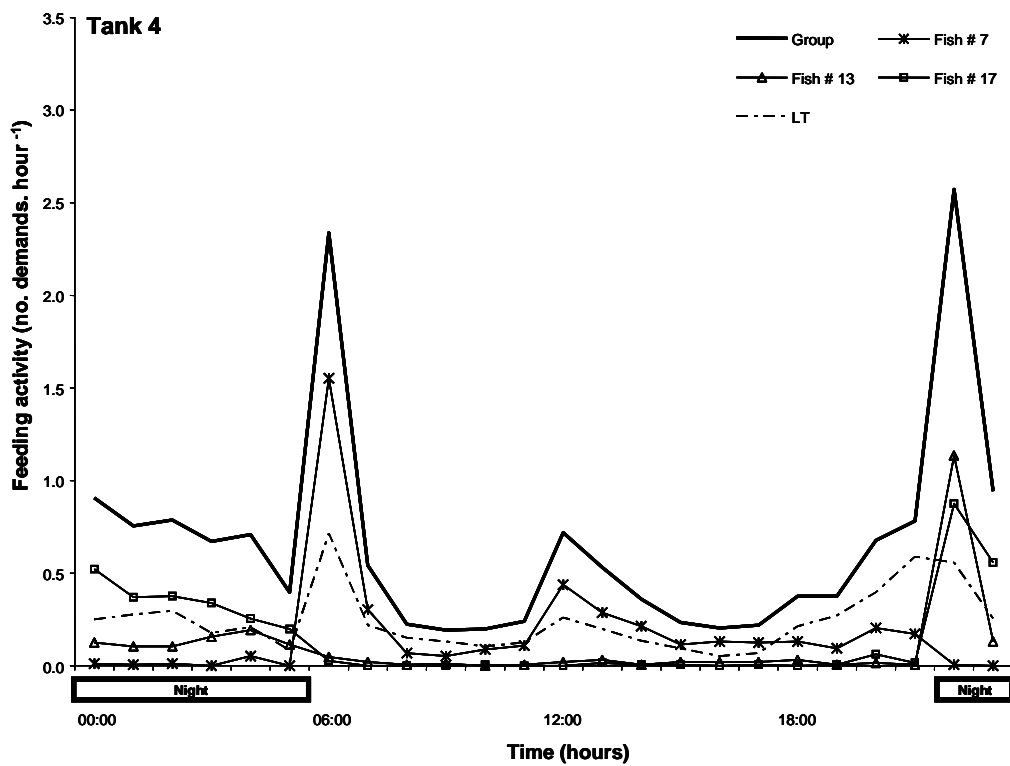
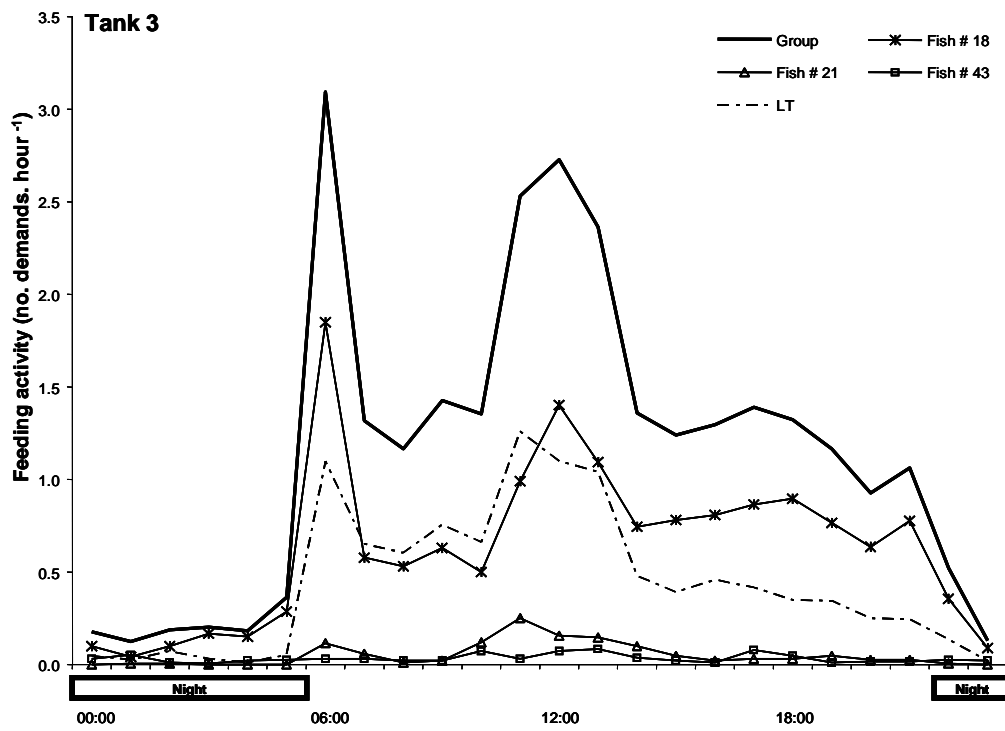
## 4 Discussion

### 4.1. Feed demand activity

The sea bass used in this experiment were naive with respect to the self-feeding apparatus, and triggering activity only began around 10 days after the experiment started. These results presented in Millot *et al.* (2008), were equivalent to observations by Kentouri *et al.* (1992), Covès *et al.* (2006) and Di Poi *et al.* (2008). Tank 4 showed a delay in self-feeder activation however, highlighting that the time needed for learning could differ not only between species, but also between groups of the same species (Kentouri *et al.*, 1992).







*Figure 2: Mean hourly feed demand (number of feed demand acts) for total group, low-triggering (LT) and high-triggering fish over the 24 hour cycle for each tank. The X-axis represents time of the day (hours), and Y-axis represents mean number of feed demand acts over 219 days.*

This difference in learning ability could be explained by the particular group composition in each tank and the fact that tank 4 contained less fish than the other three tanks. Brown *et al.* (1992) reported that a lower density could lead to increased social interactions within a group in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) and Kentouri *et al.* (1992) showed that “dominance” behaviour of sea bass, up to territoriality, could induce learning delays. In our experiment, however, there was no difference in density between tanks and no visible external signs of aggressive interactions between fish (no bites, damaged fins or missing scales were noticed). Thus, we might hypothesize that the number of fish present in the tank had a higher effect on fish learning ability than density had. Additionally, Anthouard *et al.* (1986) showed that the difference in behaviour towards the feeder trigger could be explained by large variation in individual behaviour within a species, suggesting that the efficiency with which fish used the trigger as a tool depended on the particular skills of each individual. Furthermore, the fact that low-triggering fish realized less and less feed demand over time seemed to show an establishment of fish specialization among the fish within the group.

The duration of high-triggering activity in individual fish was variable and lasted about two months. The highest-triggering fish would then be replaced by another fish after a transition period of about 4 days. When the transition period between two high-triggering fish was longer, self-feeder activation and food wastage significantly increased (Millot *et al.*, 2008). Chen *et al.* (2002) showed that rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) social status was determined by their capacity to use the self-feeder, and this capacity could also determine the individual social status within the group in sea bass (Di-Poi *et al.*, 2007). However, changes in the high-triggering fish of a group in our experiment could appear either after fish manipulation (measuring days), which were a potential source of stress, or spontaneously. This observation of spontaneous change suggests that the phenomenon might be natural, as seen in roach (*Rutilus rutilus*, L.) schools (Krause *et al.*, 1992). Indeed, in natural environments, it is known that one of the major parameters influencing the degree of social interaction is the spatial and temporal predictability of food availability (Johnsson *et al.*, 2006). A spatially and temporally predictable food source is easy to defend and monopolize by a dominant fish (Johnsson *et al.*, 2006). The same authors also reported that if such a food source decreases or disappears and a different fish in the school finds another food source, then this second fish can become the new dominant one. Thus, according to our results and the observations reported by Johnsson *et al.* (2006), we might hypothesize that the regular and spontaneous changes in high-triggering fish in the tank could be due to the conservation of this natural behaviour, even though these sea bass were born in captivity and reared under constant conditions without any food restriction.

Although, as shown by Millot *et al.* (2008), high-triggering fish did not have higher initial length or mass than other fish, nor did they differ in physiological status (*i.e.* muscle composition, plasma and tissues biochemistry), they did have a different specific growth rate during their activity period. Indeed, fish which became high-triggering were also characterised by a lower initial growth rate and would thus be expected to have a higher feeding motivation (Millot *et al.*, 2008). Moreover, when a high-triggering fish lost this status, its growth rate generally return to a level equivalent to that of other fish. Thus, we hypothesise will be that this fish kept its high-triggering status as long as was necessary to recover a sufficient growth rate, and that consequently its feeding motivation decreased. This idea seems to be supported by the observations of Krause *et al.* (1992), who showed that positions of individuals in roach schools are dependent on their nutritional needs, with hungry fish occupying front positions only as long as is necessary for them to regain their nutritional balance. Together, our results and those of Krause *et al.* (1992) suggest that group members effectively take turns at being the feed demand leader.

## 4.2. Group feeding directed by individual biological rhythm

Besides highlighting the important influence of high-triggering fish on the quantitative aspects of group feeding (*i.e.* total amount of food consumed), this study also revealed that these fish had a high directing effect on the qualitative aspects of group feeding (*i.e.* rhythm). Indeed, the highest-triggering fish seemed to be the initiator of feed demand acts by the low-triggering fish, thereby directing the group feeding activity pattern. Sea bass feeding behaviour is characterized by the capacity to alternate daytime and night-time feeding patterns (Bégout Anras, 1995; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a, b) according to seasonal variations in photoperiod, light intensity and temperature variation. In this experiment, the four tanks offered identical and constant conditions (light-dark phase, temperature and water quality) over a long period. Nevertheless, three tanks out of four displayed a diurnal feeding with a peak at dawn, as already observed by Anthouard *et al.* (1993) and Covès *et al.* (2006), while the other tank was nocturnal and its occupants started their daily feed demand at dusk. This nocturnal feed demand activity could not be unintentional self-feeder activation, since no uneaten pellets were recorded. A previous study described sea bass in different groups, held under similar conditions, displaying nocturnal and diurnal feeding patterns simultaneously (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b). In the present study, fish of the four groups showed spontaneous and complete inversion of their feeding pattern within a few days. These rhythm changes were initiated by the group feed demand leader, which presented a well defined circadian rhythm based on 24 hours. Indeed, the group feed demand rhythm followed the high-triggering fish demand feeding rhythm exactly. When the highest-triggering fish was nocturnal, the totality of feed demand in the tank was realized at night. In contrast, when the highest-triggering fish was diurnal, the majority of feed demand in the tank was realized during the light and twilight periods. These differences in demand feeding rhythm between high-triggering fish could be explained by the fact that sea bass shows a high degree of dependence on light conditions (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994), although feeding rhythm could also be conditioned by individual's own clock (Madrid *et al.*, 2001). Variability is one of the characteristics of circadian rhythms in fish. The appearance of circadian rhythms varies within a species and even within a single individual (Madrid *et al.*, 2001). High inter-individual variability in feeding patterns was observed in sea bass and goldfish (*Carassius auratus*, L.) housed individually and under group-housing conditions (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a, b; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1996). Three mechanisms have been proposed to account for individual differences in fish behaviour: environment variables, phenotypic differences and behaviour of other individuals (Krebs & Davies, 1981; Partridge & Green, 1985). In the present study, the most relevant mechanism to explain this difference seems to be the individual biological rhythm of the feed demand leader within the group. However, the prominent role of this high-triggering fish in directing group feeding could be decreased by the appearance of a second feed demand leader in the tank. Indeed, when two high-triggering fish were present in the same tank during the same period of time, they seldom activated the self-feeder with the same hourly rhythm, as also shown by Covès *et al.* (2006). In our study, such shared periods were short and were always followed by a change in high-triggering fish within the group. Thus, this temporal partitioning might be explained by a transitory imbalance in the group social structure or by social interactions between these two high-triggering fish.

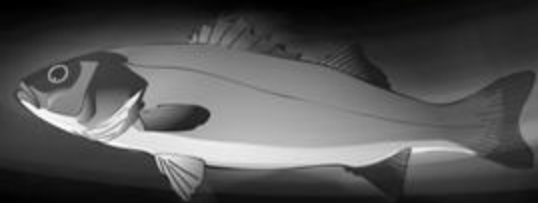
There is increasing evidence that the properties of fish feeding rhythms have similarities with those of other vertebrates (Boujard & Leartherland, 1992; Madrid *et al.*, 2001). According to their feeding preferences, population of sea bass were originally classified as being diurnal, nocturnal or crepuscular and with the faculty to modify their feeding rhythm in a fast and

complete way (Anthouard *et al.*, 1993; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b). The present study has further highlighted that sea bass group demand feeding behaviour is not the sum of the feed demand behaviour of individuals, but is directed by the rhythm and behaviour of a single high-triggering fish. The regular changes in the individual fulfilling the role of highest-triggering fish in the tanks proved that it is not the identity of this fish that is the most important for the group, but its role as a feed demand leader.

Acute stress effects on the self-feeding behavior,  
growth performance and physiological status  
of two sea bass strains

Chapitre

4



## Résumé

L'environnement aquacole est connu pour exposer les poissons de façon répétée à des facteurs de stress aigu tels que les manipulations, le transport ou bien encore les tris par classe de taille. L'ensemble de ces stress peut avoir des répercussions diverses sur l'état de santé des poissons (*i.e.* diminution de leur compétence immunitaire, de leur résistance aux maladies), sur leur performance de croissance et de reproduction mais également sur leur comportement alimentaire (diminution de la quantité d'aliment ingérée). Si les réponses des poissons face à un stress ne permettent pas de mettre en évidence toutes les perturbations de leur état de bien-être, il est généralement admis qu'elles indiquent de façon pertinente un état de bien-être altéré. Ces observations ont conduit depuis quelques années à rechercher des moyens permettant de réduire la réponse au stress des poissons en milieu d'élevage ; parmi ceux-ci, la domestication et la sélection semblent être privilégiées. En aquaculture, la sélection est généralement utilisée pour améliorer certains traits fortement associés à la productivité (*i.e.* taux de croissance, résistance aux maladies, âge de la maturité sexuelle ou bien encore qualité de la chair), mais peu d'études ont été menées sur les capacités d'adaptation et de tolérance au stress de ces poissons domestiqués et/ou sélectionnés.

L'objectif de cette étude est donc d'évaluer l'influence des processus de domestication et de sélection sur la tolérance au stress aigu chez le bar en milieu d'élevage. Pour ce faire, deux souches sont utilisées : la première, issue de parents sauvages (*Sauvage*) et la seconde, issue de parents sélectionnées sur la croissance (*Massal*). Les représentants de chacune de ces souches sont répartis en deux groupes (60 individus par groupe, 120 bars par souche) puis élevés dans des bassins de 450l d'eau de mer, en conditions stables et contrôlées (20°C et une salinité de 22) et sous une photopériode constante (16 heures de jour et 8 heures de nuit). Après une période contrôle de 53 jours, les effets d'un facteur de stress aigu standardisé (bassin entièrement vidé et bars laissés une minute hors de l'eau) appliqué deux fois en 112 jours (J112) d'expérimentation (à 3 semaines d'intervalle) sont évalués grâce à 1) l'analyse en continu de différentes variables du comportement alimentaire sous self-feeder (quantité d'aliment demandée, ingérée et gaspillée, rythme des demandes alimentaires) et à 2) la mesure de l'évolution individuelle du poids corporel, de l'indice de condition corporel et du taux de croissance spécifique (biométries réalisées à J1, J27, J53, J77 et J112). L'état de stress physiologique des bars à la fin de l'expérience (J112) est établi grâce à l'analyse des concentrations en glycogène hépatique, en glucose sanguin et en sérotonine cérébrale. Les résultats de cette étude montrent qu'après le premier facteur de stress, les bars issus des deux souches présentent un rythme d'alimentation modifié (déplacement du pic alimentaire de 16:00 à 12:00), une augmentation de la quantité d'aliment demandée et ingérée (+ 21% pour les *Sauvage* et + 32% pour les *Massal*) et un taux de croissance spécifique augmenté (+ 51% pour les *Sauvage* et + 34% pour les *Massal*). Ce phénomène peut être interprété par une adaptation rapide du comportement alimentaire pour compenser les dépenses énergétiques accrues dues au stress et maintenir une quantité d'énergie allouée à la croissance suffisante. Après le deuxième stress, la quantité d'aliment demandée et ingérée n'évolue pas, le pic d'alimentation de 12:00 devient de plus en plus marqué et cette période est accompagnée d'une diminution du taux de croissance spécifique, en particulier pour les individus de la souche *Massal* (- 55%). Ce ralentissement de croissance pourrait être expliqué d'une part, par le fait que le stress augmente encore les coûts métaboliques des poissons et d'autre part, par le fait que ces coûts ne sont plus compensés par l'alimentation, mettant ainsi en évidence les difficultés d'adaptation des poissons après ce deuxième stress. Ces résultats sont confirmés par les analyses biochimiques réalisées à la fin de l'expérience : les bars issus des deux souches et plus particulièrement les *Massal*, présentent un statut physiologique révélateur

d'un état de stress important (faible concentration en glycogène hépatique, haut niveau de glucose plasmatique et de sérotonine cérébrale).

Ces résultats mettent en évidence, que l'application de deux stress aigus à 3 semaines d'intervalle, perturbe fortement le comportement alimentaire, le potentiel de croissance et le statut physiologique des bars. De plus, il apparaît que les bars issus de parents sauvages et de parents sélectionnés sur la croissance, ne présentent pas les mêmes aptitudes comportementales et physiologiques d'adaptation face à ce type de stress. Contrairement à ce qui a pu être montré chez d'autres espèces de téléostéens, les individus sélectionnés ne semblent pas les mieux adaptés aux conditions d'élevage et pourraient, dans notre étude, être caractérisés par un potentiel de bien-être inférieur. Cependant pour avoir une vision complète de l'influence des processus de domestication et de sélection sur la tolérance au stress et sur le potentiel de bien-être des bars en élevage, il est souhaitable de réaliser des études similaires sur des poissons issus d'au moins une deuxième génération de domestication et de sélection.



## 1. Introduction

Aquaculture has showed a worldwide expansion over the past 20 years that is expected to continue (Naylor *et al.*, 2000). The world total demand for fish products is projected to expand to 183 million tons in 2015, and it is foreseen that out of this increase, 73% will come from aquaculture, accounting for 39% of the global fish production (FAO, 2006). Alongside, and perhaps partly due to this rapid expansion, the welfare of farmed fish has received an increasing attention. Fish welfare is an important issue for the industry, not just for public perception, marketing and production acceptance, but also often in terms of production efficiency, quality and quantity (Broom, 1998; Southgate & Wall, 2001; FSBI, 2002). The concept of welfare is complex and difficult to define but it is commonly admitted that it responds to one of the three following conditions: (1) the animal can adapt to its environment and is in good health, with all its biological systems working appropriately; (2) the animal is able to express the same kinds of behavior as it would in the wild, and is able to meet what are often called its 'behavioral needs', and (3) the animal is free of negative experiences such as pain, fear and hunger and has access to positive experiences, such as social companionship (Huntingford & Kadri, 2008). When cultured, fish are commonly exposed to repeated acute stress (*e.g.* handling, grading, transport, prophylactic treatment) and, in some instances, to chronic stress (*e.g.* deterioration of water quality, overcrowding; Pottinger & Pickering, 1997). Fish reaction to stress is generally divided into primary and secondary responses (Mazeaud *et al.*, 1977) and even tertiary level according to Wedemeyer & McLeay (1981). In aquaculture, this tertiary level (Barton, 2002; FSBI, 2002; Conte, 2004) includes both direct and indirect maladaptive effects such as growth reduction (Barton *et al.*, 1987; Pickering *et al.*, 1991; Pankhurst & Van der Kraak, 1997), suppressed reproductive function (Contreras-Sanchez *et al.*, 1998; McCormick, 1998, 1999; Schreck *et al.*, 2001), diminished immune capacities (Einarsdottir *et al.*, 2000) and disease resistance (Pickering, 1992; Balm, 1997). Therefore, even if stress responses do not highlight all welfare disturbances, it is generally admitted that they strongly indicate a poor welfare (Broom, 1988; FSBI, 2002). Such evidences led to an active research on potential methods to reduce stress responses in aquaculture species (Ashley, 2007). Among them, domestication and selective breeding to minimize fish responsiveness to stressors is a major axis of research in the last few years (Pottinger, 2003). Fish domestication can be defined as "the process by which a population of animals becomes adapted to humans and to the captive environment by some combination of genetic changes occurring over generations and environmentally induced developmental events re-occurring during each generation" (Price, 1984). Selection is usually applied to improve traits strongly associated to production cost (*e.g.* growth rate, disease resistance, age at maturity, flesh quality) and very little is known on selected fish capacities to tolerate stress. Nevertheless, fish responsiveness to stress was shown to have a distinct genetic component and may therefore be modified by selective breeding (Pottinger & Pickering, 1997). Indeed, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) strains displaying a low cortisol level, and therefore a high stress tolerance, have been selected and showed better growth rate and feed efficiency (Pottinger, 2003). According to these results it may be feasible to generate strains displaying a high stress tolerance and thus an improved performance within aquaculture, across a number of traits (*e.g.* improvement of feed conversion efficiency, growth, fecundity, egg quality, post-slaughter flesh quality and also reduction in the incidence of disease), and in addition an improvement of their welfare (Pottinger & Pickering, 1997).

The sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) is an important species in Mediterranean and Atlantic aquaculture that was recently domesticated and therefore very little is known on the effects of domestication and selection on feeding behavior, stress tolerance and welfare potential. The

present study thus proposes to elucidate how an acute standardized stress alters feeding behavior, growth performance and physiological status of wild or selected fish. For this purpose, juveniles were submitted to repeated acute stressors, which effects on self-feeding behavior (*i.e.* feed demand rhythm, distribution, waste and intake), body weight, body condition factor, specific growth rate and physiological status (*i.e.* hepatic glycogen, plasmatic glucose and brain serotonin levels) were monitored.

## 2. Material and methods

### 2.1. Apparatus

The device to operate the feeders comprised a screened type sensor (a metal rod protected by a PVC cylinder surrounded by the PIT tag detection antenna; Covès *et al.*, 2006; Millot *et al.*, 2008) and a control box. After each activation, fish were rewarded with 50 pellets and feed dispensers were regulated to distribute a mean of  $0.5 \text{ g kg}^{-1}$  and  $0.3 \text{ g kg}^{-1}$  of fish at the beginning and at the end of the experiment respectively. Each fish was implanted with a PIT-tag horizontally just behind the head to prevent any change of position subsequent to implantation. Such a set up allowed us to monitor the number, the date and the hour of feed demand for each fish in each tank.

### 2.2. Experimental set up

The two tested populations have been hatched and reared at the experimental research station of Ifremer in Palavas-les-Flots (France). They issued from a full factorial crossing (each dam is crossed with each sire) of 13 wild Mediterranean dams with 20 Atlantic wild sires (*Wild* strain) and 19 Atlantic selected sires (*Massal* strain) respectively. The last sires have been obtained by selecting the 5% longer fish (at 400 g) in a pure Atlantic wild progeny. Both strains were reared under identical conditions until the beginning of the present experiment and according to sea bass rearing standards (Chatain, 1994).

The experiment was carried out testing each condition with a duplicate per strain. The 4 tanks (450 l each) were supplied with recirculated seawater. For each tank, flow rate was  $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  and water renewal, 10 % per day. Water temperature was maintained at  $20.2 \pm 1.5^\circ\text{C}$ , oxygenation above 80 % of saturation in the water-outlet, and salinity was  $22.3 \pm 3.3 \text{ g l}^{-1}$ . The water ammonia and nitrite compounds were measured each experimental day and were never above recommended levels for sea bass. Tanks were sheltered by black curtains and individually lighted by a 120 W lamp hanged 90 cm above the water surface. Light regime was 16:8 LD (light onset at 06:00) with twilight transition periods of 30 min. Fish were fed a commercial diet for sea bass (Neo Grower Extra Marin 4.0, France) containing 45 % of crude protein and 20 % of lipid according to the manufacturer. The experiment was realized over 112 days with 240 fish (60 fish per tank, 120 fish per strain).

At the beginning of the study, fish were 14 months-old, *Wild* fish weighted an average of  $106 \pm 3 \text{ g}$  (coefficient of variation (CV) = 32%,  $n = 120$  fish) and *Massal* fish an average of  $129 \pm 4 \text{ g}$  (CV = 34%,  $n = 120$  fish). Fish were anesthetised with clover oil (0.08‰) and weighted (to the nearest mg and measured for length to the nearest mm) after 27 days (D 27), 53 (D 53), 77 (D 77) and 112 days (D 112) following the beginning of the experiment.

Experimental periods were defined as the period between two measuring day: P1 from D1 to D27; P2 from D28 to D53; P3 from D54 to D77 and P4 from D78 to D112.

Fish were placed under self-feeding conditions at D1 and food access was possible all day (24 h) even during rearing unit cleaning and waste counts from 10:00 to 11:00. Apparent feed tank consumption (feed amount dispensed minus wasted pellets counted on the bottom of the tank and in the sediment trap) was monitored daily. Triggering activity recordings were done continuously for 112 days except before (24 h) and during fish handling (8 days off in total).

## Acute stress

After a first phase of rearing (P1 + P2), which represented the control phase of the experiment, acute stress events were applied twice at D53 and D77; P3 + P4 therefore represented the phase of acute stress treatment. The acute stress consisted in draining the tank and leaving the fish out of water during 1 min, before being caught and anaesthetised for weight and length measurement.

## 2.3. Analytical methods

In order to evaluate fish physiological status, 20 *Massal* fish and 23 *Wild* fish were blood sampled at D 112. They were rapidly netted, immediately euthanized with a lethal dose of clover oil (0.4 ‰) and 1ml of blood sampled from the caudal vessels within a minute. The blood was immediately centrifuged (3500 rpm, 5 min) and plasma samples were stored at -16°C until analysis of plasmatic glucose level by the oxidase/peroxidase method with Enzymatic Kit GAGO-20 (Sigma; Roehrig & Allred, 1974; Burton *et al.*, 1997). Different tissues of the same fish were also taken: the whole liver was weighed and immediately frozen at -80°C for analysis of hepatic glycogen level (with the same method than plasmatic glucose) and fish brain dissected and immediately frozen at -80°C until dosing of 5-HIAA/5-HT ratio to evaluate serotonergic activity as previously described in Di-Poï *et al.* (2007). Three brain areas were obtained for analysis: the telencephalon, the diencephalon and the cerebellum. Tissue concentrations of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) and its main metabolite (5-hydroxyindolacetic acid, 5-HIAA) were quantified by High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC) with electrochemical detection. Tissues were homogenised in cold 0.4M perchloric acid (10 ml/g of tissue) with a Potter-Elvehjem homogeniser (Ultra-turrax®) and sonicated with a MSE ultrasonic disintegrator (BANDELINelectronic, UW 2070). An alkaline solution of 10M potassium formate was added in the homogenate (80µl/ml 0.4M acid perchloric) which was then centrifuged at 9000g for 10 min at 4°C and supernatant injected into the HPLC system. The HPLC system consisted of an automatic injector leading to a reversed phase column (250×3 mm ID, 5 µm particle size, Lichrospher RP-100 18ec columns, Merck) and an electrochemical detector (ESA Coulochem III) with analytical cells set at +100 mV (first, screening) and +450 mV (second, analytical). The mobile phase (flow rate=0.55 ml/min) consisted of an acetate buffer (30 mM citric acid and 50 mM sodium acetate) containing 1mM EDTA, 416 mM acetic acid, 2.4 mM heptanesulfonic acid sodium and 7.5% methanol as solvent. 5-HIAA and 5-HT contents in the samples were calculated as the area under the peaks and expressed as ng/g of tissue and then, the 5-HIAA/5-HT ratios were calculated.

## 2.4. Data analysis

The variables chosen to measure the different traits of interest were the following:

- The amounts of feed demanded and distributed, feed intake and wasted (g per kg of biomass present in the tank and per day) were used to evaluate the feeding behavior changes. Feed amounts were weighted by the biomass of fish present in the tank to standardize feeding behavior between tank and strain.
- The evolution over time of fish body weight (g), body condition factor (K in  $\text{g cm}^{-3}$ ), Specific Growth Rate (SGR in  $\% \text{ day}^{-1}$ ) and Feed Efficiency Ratio (FER) allowed to appreciate the growth pattern modifications, and using the feed intake, to hypothesize the change in fish metabolic rate.
- The feed demand per blocks of 4 hours (g per kg of fish biomass, 6 blocks per day) was chosen to follow group feed demand rhythm and changes per day.
- Physiological values were used to determine the fish physiological status at the end of the experiment *i.e.* hepatic glycogen ( $\text{mg g}^{-1}$  of dry liver), plasmatic glucose ( $\text{mg ml}^{-1}$  of plasma) and brain 5-HIAA/5-HT ratio.

The specific growth rate was calculated as:

$\text{SGR (\% body weight per day)} = 100 (\text{Ln } W_f - \text{Ln } W_i) \times t^{-1}$ , where  $W_f$  and  $W_i$  are the final and the initial body weight (g) respectively, and  $t$  the total number of days.

The body condition factor was calculated as:

$K (\text{g cm}^{-3}) = 100 \times W \times L^{-3}$  where  $W$  is weight (g) and  $L$  is the standard body length (cm).

The feed efficiency ratio (FER) was calculated from biomass and feed consumption:

$\text{FER} = (\text{final biomass (kg)} - \text{initial biomass (kg)} + \text{dead fish (kg)}) \times (\text{feed intake (kg)})^{-1}$ .

All mean values were expressed with the standard error (SE).

Data were checked for normality with a Kolmogorov-Smirnov test and Shapiro-Wilk tests and for homoscedacity with Bartlett's test; they all complied for parametric tests. Then, for all variables except feed demand rhythm, a 3 factors ANOVA was used to compare the differences between strains (fixed factor), periods (fixed factor), and tanks (random factor nested to strain). The different periods considered here were: before acute stress (P1 + P2), after acute stress 1 (P3) and 2 (P4). For feed demand rhythm, a 4 factors ANOVA was used to compare the differences between strains (fixed factor), periods (fixed factor), hour blocks (fixed factor) and tanks (random factor nested to strain). Number of data for this variable corresponded to the number of recorded feeding day (104) x 24 hours x number of tank (4). Homogeneous groups were determined with *a posteriori* Newman and Keuls test (Dagnélie, 1975). For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$  and analyses were performed using Statistica software.

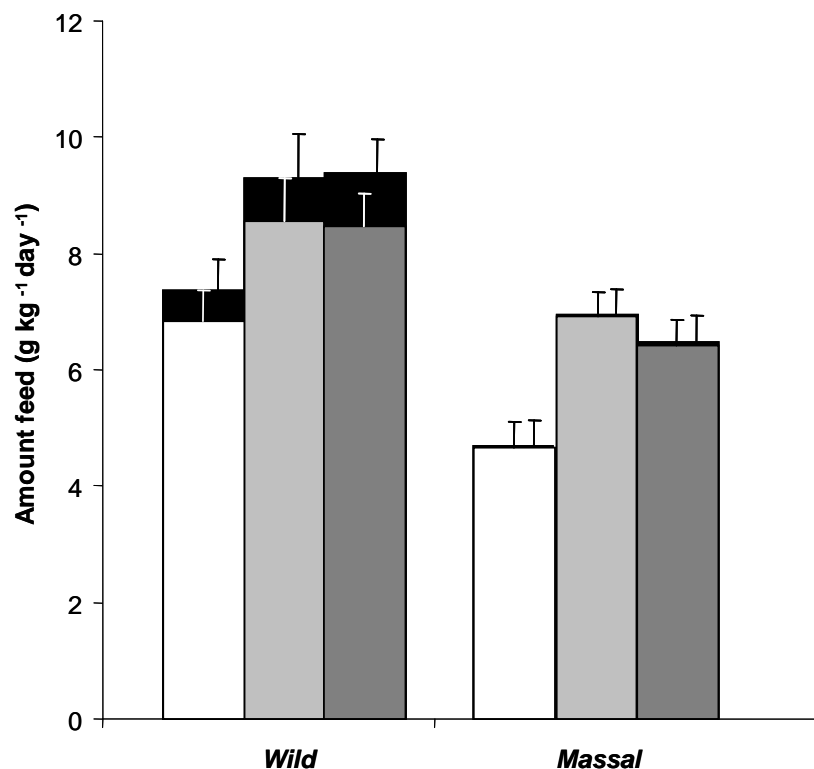
## 3. Results

During the course of the experiment, one *Wild* and two *Massal* fish during P1, one *Massal* fish during P3 and two *Massal* fish during P4 died (*i.e.* some jumped out of the tank or other natural causes...); however none occurred following acute stress and anesthesia. These changes in number of individuals were taken into account for all measured variables.

### 3.1. Amount of feed demanded, intake and wasted

Wasted food quantity were homogeneous among duplicate and thereafter pooled (Table 1). Feed demanded and intake quantities albeit heterogeneous among duplicate were pooled for strains comparison.

Both strains showed the same feeding behavior variations within time: *Wild* fish systematically demanded, ate but also wasted more food than *Massal* fish over the whole experimental phases (Fig.1, Table 1). During the control period (P1 + P2), *Wild* fish demanded and ate an average of  $7.4 \pm 0.6$  and  $6.8 \pm 0.5$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  respectively while *Massal* demanded  $4.7 \pm 0.4$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  that was entirely intaken (no waste). After the first acute stress (P3), demanded and intaken food increased significantly in both strains being  $9.3 \pm 0.9$  and  $8.6 \pm 0.7$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  respectively for *Wild* and  $6.9 \pm 0.4$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  (no waste) for *Massal*; *Wild* wasted the same amount of food before and after this first stress ( $0.6 \pm 0.2$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  that represented about 8% of the amount demanded food). These amounts of demanded, intaken and wasted food did not change after the second acute stress (P4) being  $9.4 \pm 0.7$ ,  $8.5 \pm 0.6$  and  $0.9 \pm 0.3$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  respectively for *Wild* fish and  $6.5 \pm 0.5$  and  $6.4 \pm 0.5$  and  $0.1 \pm 0.1$   $\text{g kg}^{-1} \text{day}^{-1}$  respectively for *Massal* fish.



**Figure 1.** Mean ( $\pm$  SE) demanded and intake (demanded – wasted) food amounts for two strains of sea bass: Wild and selected for growth (Massal). In white: during a control period (period 1 + 2; 52 days), in light grey: after a first acute stress (period 3; 23 days), in dark grey: after a second acute stress (period 4; 34 days), in black: demanded feed quantity.

**Table 1.** Results of ANOVAs and Newman and Keuls tests used to analyse the mean differences between strains (fixed factor), experimental periods (fixed factor), and tanks (random factor nested to strain) for each variable. W: Wild; M: Massal; P1+ P2: Period 1+ Period 2 (before acute stress); P3: Period 3 (after acute stress 1); P4: Period 4 (after acute stress 2).

Source	Demanded food				Wasted food				Feed intake			
	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls
Strain	1 & 404	26.5	<0.0001	W>M	1 & 404	22.7	<0.0001	W>M	1 & 404	19.3	<0.0001	W>M
Period	2 & 404	9.5	<0.0009	P1 + P2 < P3 = P4	2 & 404	0.8	0.4	ns	2 & 404	11.1	<0.0001	P1 + P2 < P3 = P4
Tank (strain)	1 & 404	11.5	0.0007	Tank differences	1 & 404	1.8	0.2	ns	1 & 404	12.2	0.0005	Tank differences
Strain x Period	2 & 404	0.05	0.9	ns	2 & 404	0.5	0.6	ns	2 & 404	0.1	0.9	ns

For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$ .

### 3.2. Variations over time and effects of acute stress on fish growth and feed efficiency ratio

Fish weight and specific growth rate were homogeneous among duplicate and thereafter pooled (Table 2). Fish body condition factor albeit heterogeneous among duplicate were pooled for strains comparison.

*Massal* were 18% heavier than *Wild* from the beginning of the experiment and maintained more or less this difference (12% at the end) the whole experiment along (Fig.2 A, Table 2). At the beginning of the study, *Wild* and *Massal* fish weighted a mean of  $106 \pm 3$  and  $129 \pm 4$  g respectively. These weights did not significantly change during P1 being  $110 \pm 3$  and  $127 \pm 4$ g for *Wild* and *Massal* fish respectively at D27. At D53, D77 and D112, both strains grew significantly reaching respectively of  $118 \pm 3$ ,  $135 \pm 3$  and  $159 \pm 4$ g in *Wild* strain and  $140 \pm 4$ ,  $161 \pm 5$  and  $180 \pm 5$  in *Massal* strain.

Fish specific growth rate was slower in the *Massal* group than in the *Wild* group during the first control period P1 ( $-0.03 \pm 0.02$  and  $0.16 \pm 0.07$  % day<sup>-1</sup> respectively), and after the second stress during period P4 ( $0.26 \pm 0.06$  and  $0.47 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup> respectively; Fig.2 B, Table 2). Both strains SGR were particularly boosted after the first stress (*i.e.* during P3), but *Massal* SGR returned to its level before stress even after the application of the second stress (P4 = P2) while *Wild* SGR remained at the level induced by the first stress (P4 = P3).

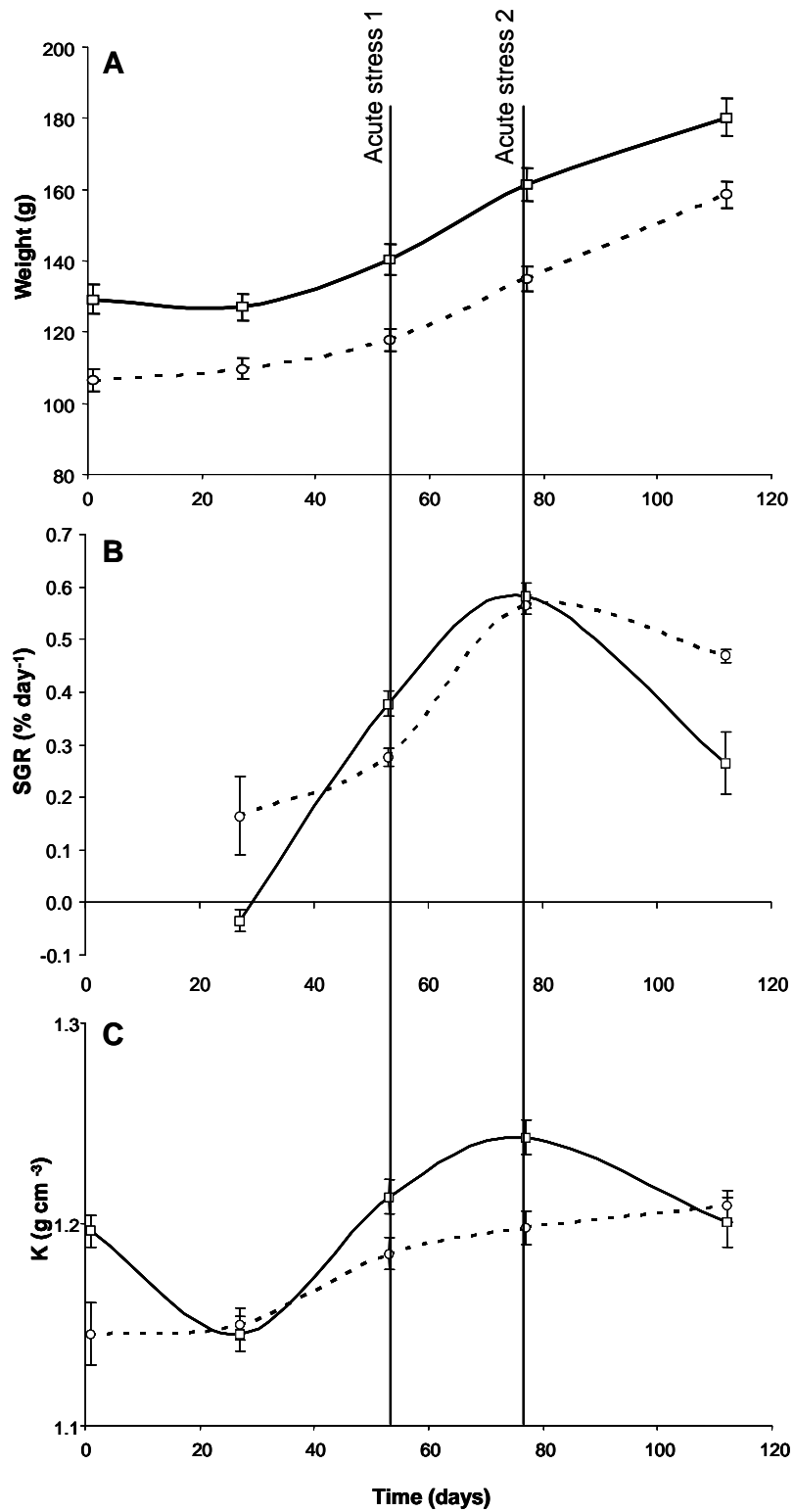
At D1 and D77, the body condition factor (K) of *Massal* fish (respectively  $1.20 \pm 0.01$  and  $1.24 \pm 0.01$ g cm<sup>-3</sup>) were higher than those of *Wild* fish (respectively  $1.15 \pm 0.02$  and  $1.20 \pm 0.01$ g cm<sup>-3</sup>; Fig.2 C, Table 2). Nevertheless, such differences were no observed on other measuring days, the K index being for both strains,  $1.15 \pm 0.01$ ,  $1.20 \pm 0.01$  and  $1.21 \pm 0.01$ g cm<sup>-3</sup> at D27, D53 and D112 respectively. The K index of *Massal* fish significantly decreased during P1 and P4 and increased during P2 and P3 while K index of *Wild* fish only increased during P2.

Both strains had similar feed efficiency ratio (FER) during the whole experiment ( $-0.33 \pm 0.46$ ,  $0.52 \pm 0.07$ ,  $0.82 \pm 0.18$  and  $0.51 \pm 0.04$  during P1, P2, P3 and P4 respectively;  $F_{1,8} = 0.7$ ,  $p = 0.4$ ) with lower values during P1 than during P3 ( $F_{3,8} = 5.3$ ,  $p = 0.03$ ).

### 3.3. Group feed demand rhythm

As a general feature, *Massal* fish always realized less feed demand than *Wild* fish except between 10:00 and 14:00 where the demand was similar for both strains ( $F_{10,10008} = 2.9$ ,  $p = 0.02$ ; Fig.3). Acute stress mostly altered feeding rhythm of both strains during night time and the period from 10:00 to 14:00 ( $F_{10,10008} = 16.4$ ,  $p < 0.0001$ ).

During the control phase without stressors (P1 + P2), *Massal* and *Wild* fish did not display the same feeding rhythm ( $F_{5,4776} = 2.8$ ,  $p = 0.02$ ): *Massal* demanded less food during the night than during the day ( $0.09 \pm 0.01$  versus  $0.25 \pm 0.1$ g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) when their demand was quite stable, while *Wild* fish presented a peak of feeding between 14:00 and 18:00 ( $0.42 \pm 0.05$  versus  $0.28 \pm 0.1$ g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> for the rest of the day). After the first acute stress (P3), *Massal* and *Wild* fish presented the same feeding rhythm ( $F_{5,2088} = 1.4$ ,  $p = 0.2$ ) with a lower feeding activity between 02:00 and 06:00 ( $0.19 \pm 0.02$ g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) and a peak of feed demand between 10:00 and 14:00 ( $0.52 \pm 0.04$ g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>;  $F_{5,2088} = 10.5$ ,  $p < 0.0001$ ). After the second acute stress (P4), a higher peak of demand was observed in the same block of hours for both strains with a slight differences in their rhythms ( $F_{5,3144} = 5.4$ ,  $p < 0.0001$ ).



**Figure 2.** Variations over time of mean ( $\pm$  SE) body weight (A), specific growth rate (B) and body condition factor (C) in Wild (dotted line) and Massal (full line) sea bass strains.



**Table 2.** Results of ANOVAs and Newman and Keuls tests used to analyse the mean differences between strains (fixed factor), experimental periods (fixed factor), and tanks (random factor nested to strain) for each variable. W: Wild; M: Massal; w or k 1, 27, 53, 77, 112: weight and body condition factor measured at Day 1, 27, 53, 77, 112 respectively; P1: Period 1 (before acute stress); P2: Period 2 (before acute stress); P3: Period 3 (after acute stress 1); P4: Period 4 (after acute stress 2).

Source	Fish weight				Body condition factor (K)				SGR			
	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls
Strain	1 & 1163	80.8	<0.0001	W<M	1 & 1163	13.3	0.0003	*	1 & 933	7.2	0.007	*
Period	4 & 1163	63.8	<0.0001	w1 = w27 < w53 < w77 < w112	4 & 1163	18.4	<0.0001	*	3 & 933	64.5	<0.0001	*
Tank (strain)	1 & 1163	2.3	0.1	ns	1 & 1163	7.5	0.006	Tank differences W<M at D1 & D77	1 & 933	0.2	0.7	ns
Strain x Period	4 & 1163	0.4	0.8	ns	4 & 1163	4.2	0.002	W=M at D27, D53 & D112 k27<k1=k53=k112<k77 for M k1=k27<k53=k77=k112 for W	3 & 933	8.9	<0.0001	M < W at P1 & P4 M = W at P2 & P3 P1 < P2 = P4 < P3 for M P1 = P2 < P3 = P4 for W

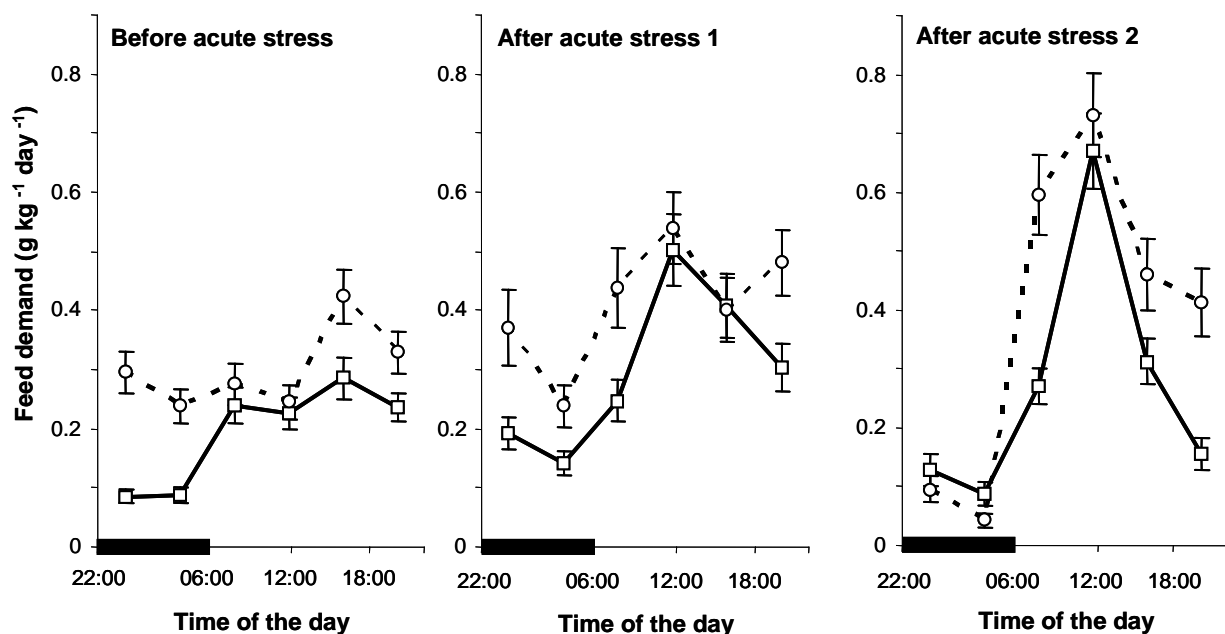
\* These tests are not valid as interaction are significant.

For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$ .

Both strains had a low feeding activity during the night period ( $0.09 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) but *Massal* increased by 3 fold their feed demand between 06:00 and 10:00 ( $0.27 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) then by almost 3 fold between 10:00 and 14:00 ( $0.67 \pm 0.06 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), while *Wild* fish increased their demand by 8 fold between 06:00 and 14:00 ( $0.73 \pm 0.07 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ). Then *Wild* demand decreased drastically between 14:00 and 16:00 ( $0.46 \pm 0.06 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) and slower between 16:00 and 22:00 ( $0.41 \pm 0.06 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) while it decreased continuously between 14:00 and 22:00 ( $0.16 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) for *Massal*.

### 3.4. Fish physiological status

Overall the physiological variables analyzed, only two differed significantly between strains, *e.g.* the 5HIAA/5HT ratio in diencephalon ( $F_{1,34} = 16.2$ ,  $p = 0.0003$ ) and in telencephalon ( $F_{1,32} = 5.9$ ,  $p = 0.02$ ) that were higher for *Massal* ( $0.237 \pm 0.011$  and  $0.304 \pm 0.019$  respectively) than for *Wild* ( $0.181 \pm 0.012$  and  $0.249 \pm 0.020$  respectively). Other variables were not significantly different for both strains, the mean concentration of hepatic glycogen being  $77.8 \pm 5.4 \text{ mg g}^{-1}$  of dry liver, plasmatic glucose  $2.0 \pm 0.1 \text{ mg ml}^{-1}$  of plasma and 5HIAA/5HT ratio in cerebellum  $0.292 \pm 0.031$ .



**Figure 3.** Variations over time of mean ( $\pm$  SE) food demand (per group of fish and per block of 4 hours) during a control period (period 1 + 2; 52 days), after a first acute stress (period 3; 23 days) and after a second stress (period 4; 34 days) in Wild (dotted line) and *Massal* (full line) sea bass strains. The black mark on the X-axis represents the night period.

## 4. Discussion

In the present study, feeding behavior complexity (feed demand, intake and waste) of two sea bass strains was revealed by the analysis of its variation in response to acute stress, and the evaluation of fish growth pattern and physiological status.

### Fish feeding behavior and growth during the control phase

Under classical rearing conditions (without acute stress), the two studied strains presented different feeding behavior and growth pattern with *Wild* fish demanding 36% more feed, eating 31% more but still wasting more pellets than *Massal* fish. *Wild* fish were globally active on the self-feeder round-the-clock while *Massal* fish chiefly presented a diurnal feeding rhythm. The whole experiment along, *Massal* weighted more than *Wild* fish, but also showed larger fluctuations in their body condition factor (K) and specific growth rate (SGR). During the first period (P1), *Massal* fish presented a negative SGR together with a decrease of K (- 4%) and a negative feed efficiency ratio (FER). These results were not in accordance with those of Thodesen *et al.* (1999) who found significantly higher feed consumption, growth and feed utilisation in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) offspring selected for growth compared to wild non-selected ones. It is therefore important to mention that the differences that our work pointed out between wild and selected fish could be explained by difficulties encountered by *Massal* fish to learn the self-feeder manipulation and/or to adapt to their rearing environment. Indeed, fish used in this experiment, were naive facing the self-feeder and the triggering activity, and *Massal* fish only began to correctly manipulate the self-feeder 14 days after the experiment started while *Wild* fish learned it in only 2 days. Moreover, Millot *et al.* (2008) already showed that a negative SGR could be related to the process of self-feeder learning and Thodesen *et al.* (2001) that a low growth rate could be a consequence of partial fish adaptation to rearing conditions. These observations are confirmed by the fact that, after a month, *Massal* fish showed a higher increase of SGR (+97 %), K (+5 %) and FER (+1.34) compared to *Wild* fish that could be explained by a rapid compensatory feeding behavior. On the contrary, the less defined feeding rhythm and the higher feed wastage of *Wild* fish could be seen as indicators of stress level as already shown by Millot *et al.* (2008).

### What were the effects of acute stress on fish feeding behavior and growth?

Fish handling associated with capture and confinement is generally admitted to induce stress level altering behavior (Pickering *et al.*, 1982; Mesa, 1994; Olla *et al.*, 1995). The most common behavioral change is a refusal of feeding during the first three days post-handling (Pickering *et al.*, 1982) and a reduction of feeding activity after stress (Pickering *et al.*, 1982; Wendelaar Bonga, 1997; Liebert & Schreck, 2006) accompanied by a reduction in growth rate (Pickering & Stewart, 1984; McCormick *et al.*, 1998; Liebert & Schreck, 2006). According to Barton & Schreck (1987) and Wendelaar Bonga (1997), stress also induce an increase in fish metabolic rate. In our study, none of the sea bass strains presented a reduction of feeding activity (even during the first 2-3 days post-stress) but, on the contrary, a significant increase in feed demand and intake after the first acute stress (+21 % for *Wild* strain and + 32 % for *Massal* strain) that led to a SGR increase (+51 % for *Wild* fish and +34

% for *Massal* fish over 23 days), correlated with a slight FER increase (+0.3). According to McCarthy & Siegel (1983), such phenomenon could result from an increasing amount of energy allocated to growth *versus* maintenance cost that encouraged us to interpret such responses as being a fish rapid adaptation to the first acute stress.

Considering now the response to the second acute stress, no change in feed demand or intake could be noticed (compared to the level after the first stress) whatever the strain, but both showed a decrease of growth (*Massal* SGR: -55%, *Wild* SGR: -17%) and, of body condition (-3%) for *Massal* fish. If we infer from the results obtained by Rice (1990) on the largemouth bass (*Micropterus salmoides*, Lacepède) showing that a 20% increase in metabolic cost reduced growth rate by 42%, we could hypothesised that the second acute stress involved a metabolic cost rise of 8% in *Wild* fish and of 26% in *Massal* fish that were probably too important to be overcome by fish specially if we consider that the stress effects were cumulative.

Concerning the feeding rhythms, it was already shown that sea bass displays a large flexibility resulting either from fluctuations in abiotic factors (*e.g.* light, temperature and oxygen concentration; Anthouard *et al.*, 1993; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995 b), in biotic factors (*e.g.* the relative abundance of prey and interactions with conspecifics and heterospecifics; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994, 1995 a) and in endogenous influences (*e.g.* pacemakers or hourglass processes; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995 b; Boujard *et al.*, 1996). Feeding rhythms periodicity ranged from hours to days and seasons according to the output of such factors interactions (Madrid *et al.*, 2001). In our study, the environmental conditions were controlled and stable which lets suppose that they were not involved in the feeding rhythm variations observed after the acute stress application. The main rhythm modifications observed were of two orders: 1) the emergence of a peak of feeding becoming sharper as stresses cumulate, and 2) the shift of this peak within time. Indeed, before stress, the maximal feed demand of both strains was around 16:00 while it moved to 12:00 after the first stress, and remained in these hours after the second stress. Meanwhile the minimal food demand was always during night time (22:00-06:00) for both strains with fish becoming almost inactive after the second stress. Besides this feeding peak shift, the amount of food demanded was the major variable affected by acute stress, and in the same way in both strains: before and after the first stress, the demand activity increased by a maximum of 2-3 fold between the night and the peak of feeding while it increased by 14 fold after the second stress. It is also remarkable to see that as stresses cumulate, the minimal and maximal activity levels of both strains got closer, removing the differences characterising the strain at the beginning of the experiment (*i.e.* a diurnal rhythm more apparent in *Massal* fish than in *Wild* fish). To our knowledge, no study has ever highlighted the effects of acute stress on sea bass feeding rhythm, but according to the results of Spieler (1977) and Parker (1984) who have shown, as for mammals, that meal timing can interact with food utilization and assimilation, all our results plead in favour of a modification of the feeding rhythm in order to adjust meal timing to metabolism rate variations imposed by the stress, and finally leading (when possible) to growth improvement.

## **Fish physiological status**

Fish stress exposure is known to induce changes in physiological parameters, selected as indicators, such as, in our experiment, blood glucose, hepatic glycogen levels and 5-HIAA/5-HT ratio in different brain parts.

Blood hyperglycaemia is probably the most commonly measured indicator to estimate the variation that occurs during the stress response in fish (Wedemeyer *et al.*, 1990; Hardy & Audet, 1990; Tores *et al.*, 1991; Cech *et al.*, 1996). Others studies have shown that blood

glucose increases with the outset of a stress response to provide energy to the animal for an appropriate reaction, but its magnitude and duration were however shown to be strongly dependent upon the strain and the fish nutritional status (Nakano & Tomlinson, 1967; Wendt & Saunders, 1973; Wydoski *et al.*, 1976). Woodward & Strange (1987) and Lepage *et al.* (2000), for example, pointed out that wild trout displayed significantly higher post-stress plasma glucose levels than domesticated fish. In our study, no difference in plasmatic glucose concentration was seen between the two strains, however, the value measured was twice that found in others studies under standard unstressed conditions (Echevarria *et al.*, 1997; Peres & Oliva-Teles, 1999; Pichavant *et al.*, 2001; Roncarati *et al.*, 2006; Di Marco *et al.*, 2008). These results highlighted physiological stress and were confirmed by the hepatic glycogen level which was lower than that found under standard conditions (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). In many fish species, glycaemia maintenance is directly related to the capacity to mobilize liver glycogen generally considered as the first substrate used as an energy source. The low value found could therefore explained the fact that stress accelerated metabolism and increased energy demand, consequently resulting in a mobilization or synthesis of glucose from stored glycogen as already shown by Barton and Schreck (1987), Pankhurst & Van Der Kraak (1997) and Wendelaar Bonga (1997).

Moreover, a high brain serotonin concentration was found. Many vertebrates exhibit central serotonergic changes following stressful events (Chaouloff, 1993; Winberg *et al.*, 1997; Dinan, 1996; Summers, 2001; Di-Poï *et al.*, 2007). Stress is known to result in an activation of brain monoaminergic systems in fish (Winberg & Nilson, 1993) and serotonin is involved in the regulation of a series of hormonal pathways related to stress (Lepage *et al.*, 2000). Lepage *et al.* (2000) and Gesto *et al.* (2008) found that exposure to stressors resulted in elevated brain levels of 5-HT and 5-HIAA, as well as elevated brain 5-HIAA/5-HT ratio. In this study, the ratios were, in all brain parts of both strains, two or three fold higher than those found in the studies of Di-Poï *et al.* (2007) and Millot *et al.* (2008) under standard rearing conditions. These results illustrated one more time the high physiological stress level reached after two acute stress applications. *Massal* fish were even found more stressed than *Wild* fish having a higher 5-HIAA/5-HT ratio in both diencephalon and telencephalon which is not in accordance with the observations of Lepage *et al.* (2000) who demonstrated that brain 5-HIAA/5-HT ratio was significantly higher in wild than in domesticated sea trout.

Thus, the high blood glucose and the low liver glycogen levels, as well as the high 5-HIAA/5-HT ratio could indicate that fish of both strains we have tested, stayed under high physiological stress at least for 3 weeks after the last acute stress and further, that *Massal* fish seemed more stressed than *Wild* fish.

## 5. Conclusion

According to the present study, application of two acute stress at three weeks interval altered fish feeding behavior, growth performance and physiological status. Fish adaptation as reflected in feeding and growth seemed more efficient after the first acute stress than after the second one. Fish from the two strains presented a clear difference in adaptation capacities, and contrary to previous studies realized on other species, selected fish seemed less adapted to such acute handling stress than wild fish and consequently may be characterised by a lower welfare potential. In order to have a complete view of sea bass strains stress tolerance potential, a study on the effects of chronic stress on feeding behavior and growth pattern should be conducted. Further, to better understand the effects of domestication and selection on fish welfare potential, following experiments should be carried out on fish from following generation of the breeding program.

Effets d'un facteur de stress aigu sur le comportement d'auto-nourrissage, les performances de croissance et le statut physiologique de bars issus d'une deuxième génération de domestication et de sélection

# Chapitre

Chapitre

5



## Résumé

Le bar est une espèce récemment domestiquée et très peu d'études ont été réalisées à ce jour, sur les effets de la domestication et de la sélection sur leur tolérance aux stress en conditions d'élevage. L'étude présentée en Chapitre 4 a mis en évidence les effets d'un facteur de stress aigu sur le comportement alimentaire, les performances de croissance et le statut physiologique de bars issus d'une première génération de domestication et de sélection. Mais, une partie des résultats semblent contredire les observations déjà réalisées sur d'autres téléostéens *i.e.* le stress ne diminue pas l'activité alimentaire et les bars issus de la sélection semblent les moins bien adaptés à ces conditions expérimentales. Cependant, peu d'informations sont encore à notre disposition pour savoir si ces différences sont dues à l'espèce ou au fait que les bars étudiés ne soient issus que d'une seule génération de domestication et de sélection. Pour répondre à cette question, une étude complémentaire est réalisée sur des bars issus d'une deuxième génération de domestication (souche *C0* et souche *C+* sélectionnée sur la croissance) et les effets d'un facteur de stress aigu standardisé sont analysés sur leur comportement alimentaire sous self-feeder, leurs performances de croissance et leur statut physiologique. Les résultats sont comparés avec ceux de l'étude faite sur les bars de première génération. Cette démarche a permis d'évaluer indépendamment les effets des processus de domestication et de sélection sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être du bar en élevage.

Les représentants de chacune des deux souches sont répartis en deux groupes (50 individus par groupe, 100 bars par souche) puis élevés dans des bassins de 450l d'eau de mer, en conditions stables et contrôlées (20°C et une salinité de 22‰) et sous une photopériode constante (16 heures de jour et 8 heures de nuit). Après une période contrôle de 42 jours, les effets d'un facteur de stress aigu standardisé (identique à celui utilisé dans le Chapitre 4) appliqué deux fois en 84 jours (J84) d'expérimentation (à 3 semaines d'intervalle) sont évalués grâce à 1) l'analyse en continu de différentes variables du comportement alimentaire sous self-feeder (quantité d'aliment demandée, ingérée et gaspillée, rythme des demandes alimentaires) et à 2) la mesure de l'évolution individuelle du poids corporel, de l'indice de condition corporel et du taux de croissance spécifique (biométries réalisées à J1, J21, J42, J63 et J84). L'état de stress physiologique des poissons au cours du temps est établi grâce à l'analyse des concentrations en glucose et lactate sanguin à J1, J42, J63 et J84.

Les résultats de cette étude montrent que l'application des facteurs de stress aigu modifie fortement le comportement alimentaire, les performances de croissance ainsi que le statut physiologique des bars. Après le premier facteur de stress, les bars issus de la domestication seule (*C0*) présentent une diminution importante de la quantité d'aliment demandée et ingérée (- 40% et - 45% respectivement), et aucune évolution de leur taux de croissance, alors que ceux de la souche sélectionnée sur la croissance (*C+*) présentent une augmentation de la quantité d'aliment demandée et ingérée (+ 34% et + 26% respectivement) et un doublement de la quantité d'aliment non ingérée accompagnée d'une diminution de 24% du taux de croissance spécifique. Il semble donc que le premier facteur de stress imposé aux bars induit une forte augmentation du métabolisme chez les individus sélectionnés, ne pouvant être compensé par l'augmentation de la quantité d'aliment ingérée et qu'au contraire, il ne semble pas affecter le métabolisme des individus de la souche *C0*. L'application d'un deuxième stress aigu, entraîne chez les bars issus des deux souches, un retour à une activité alimentaire similaire à celle observée pendant la période contrôle, cependant la quantité d'aliment non ingérée reste encore supérieure pour les individus sélectionnés sur la croissance. Ces derniers ne présentent aucune évolution de leur taux de croissance durant cette période alors que ceux issus de la domestication seule augmentent leur taux de croissance spécifique de 26%. Le

retour à une alimentation proche de celle observée avant les stress, tend à faire penser que le deuxième facteur de stress aigu a un effet moins important et met en évidence les capacités de compensation et/ou d'adaptation des bars. En ce qui concerne le rythme d'alimentation des poissons, il semble que là encore les facteurs de stress induisent des modifications différentes en fonction des souches. Les bars issus de la sélection sur la croissance présentent principalement des variations de leur activité alimentaire pendant deux plages horaires spécifiques, alors que les bars issus de la domestication seule présentent un pic d'alimentation en milieu de journée de plus en plus marqué au cours du temps. Aucune différence dans le statut physiologique des bars issus des deux souches n'est observée, cependant la diminution de la concentration en glucose sanguin au cours du temps, permet de mettre en évidence les capacités d'adaptation des bars face aux facteurs de stress aigu. Il apparaît ainsi, au regard de ces résultats et de ceux du Chapitre 4, que les vitesses d'apprentissage et d'adaptation aux conditions d'élevage, et donc aux stress, seraient positivement corrélées avec le niveau de domestication, alors que la sélection favoriserait des individus présentant une dynamique de croissance plus variable au cours du temps et plus sensible au stress. Cependant, nous ne pouvons pas conclure que les bars issus de la sélection présentent un potentiel de bien-être inférieur car leur statut physiologique est identique à celui des autres souches et leur poids corporel et leur taux de croissance globalement supérieurs.

Afin, d'avoir une vision complète de l'influence de la domestication et de la sélection sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être des bars en élevage, il demeure cependant indispensable d'étudier l'effet du stress chronique sur leur comportement alimentaire, leur croissance et leur statut physiologique.



## 1. Introduction

Comme nous venons de le voir dans le Chapitre 4, les poissons élevés sont fréquemment soumis à des facteurs de stress aigus répétés (*e.g.* manipulation, tri, transport...) et parfois également à des facteurs de stress chroniques (*e.g.* détérioration de la qualité de l'eau, oxygénation insuffisante, forte densité... ; Pottinger & Pickering, 1997). En aquaculture, le stress peut-être responsable d'une sensibilité accrue aux maladies, d'une augmentation du taux métabolique et de l'énergie utilisée, d'une diminution du taux de croissance, d'une suppression des réponses immunitaires ou d'une inhibition de la maturation gonadique ou de l'ovulation (Wendelaar Bonga, 1997). Lorsque les poissons sont confrontés à un stress, le premier axe de réponse est généralement comportemental (Schreck *et al.*, 1997) et Huntingford *et al.* (2006) précisent que, dans des conditions d'élevage, un facteur de stress tel que la densité et l'agressivité entre individus peut restreindre l'accès à la nourriture et modifier le comportement alimentaire. D'autres facteurs stressants peuvent également altérer ce comportement comme la capture des poissons, leur manipulation et leur confinement (Schreck *et al.*, 1997) ou encore l'irrégularité du nourrissage ou les variations de photopériode (Bégout-Anras, 1995; Azzaydi *et al.*, 2000; Davis & McEntire, 2006; Huntingford *et al.*, 2006; Rad *et al.*, 2006). L'ensemble de ces facteurs de stress (souvent inévitables en aquaculture) peuvent donc altérer fortement les conditions de bien-être des poissons en élevage et Pottinger (2003) suggère que pour minimiser la réponse aux facteurs de stress, la domestication ou la sélection de souches mieux adaptées à l'élevage, seraient des voies privilégiées. En effet, Pottinger & Pickering (1997) ont déjà mis en évidence que la réponse des poissons face au stress était étroitement liée à leur patrimoine génétique et pouvait donc être modifiée par un processus de sélection.

Le bar est une espèce récemment domestiquée et très peu d'études ont été réalisées à ce jour, sur les effets de la domestication et de la sélection sur leur tolérance aux stress en conditions d'élevage. L'étude présentée en Chapitre 4 a mis en évidence les effets d'un facteur de stress aigu sur le comportement alimentaire, les performances de croissance et le statut physiologique de bars issus d'une première génération de domestication et de sélection. Mais, ces résultats semblent contredirent en partie les observations réalisées sur d'autres espèces (Pottinger & Pickering, 1997 ; Thodesen *et al.*, 1999 ; Pickering *et al.*, 1982 ; Wendelaar Bonga, 1997 ; Liebert & Schreck, 2006) car le stress ne diminuait pas l'activité alimentaire et les bars issus de la sélection semblaient les moins bien adaptés à ces conditions expérimentales. Cependant, peu d'informations sont encore à notre disposition pour savoir si ces différences sont dues à l'espèce ou au fait que les bars étudiés ne soient issus que d'une seule génération de domestication et de sélection. Pour répondre à cette question, l'étude qui suit est réalisée sur des bars issus d'une deuxième génération de domestication et les effets d'un facteur de stress aigu standardisé (identique à celui utilisé dans le Chapitre 4) sont analysés sur leur comportement alimentaire sous self-feeder (*i.e.* rythme alimentaire, quantité d'aliment demandée, ingérée et gaspillée), leurs performances de croissance (*i.e.* poids corporel, indice de condition corporel, taux de croissance) et leur statut physiologique (*i.e.* concentrations plasmatiques du glucose et lactate). Les résultats sont comparés avec ceux de l'étude faite sur les bars de première génération. Cette démarche a permis d'évaluer indépendamment les effets des processus de domestication et de sélection sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être du bar en élevage.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel biologique

Les deux souches étudiées ont été produites et élevées à la station de recherche expérimentale Ifremer de Palavas-les Flots. Ces poissons sont issus des souches *Domestique* et *Massal* de première génération (Fig. 10, Chapitre 1).

La souche *C0* est issue du croisement factoriel (chaque femelle est croisée avec chaque mâle) de 6 femelles *Domestique* avec 6 mâles *Domestique*. Cette souche représente donc la deuxième génération de domestication. La souche *C+* est, quant à elle, issue du croisement factoriel de 6 femelles *Domestique* et de 14 mâles *Massal*. Cette souche est donc caractérisée par deux générations de domestication et une génération de sélection. L'ensemble des souches ont été élevées dans les mêmes conditions avant l'expérience selon les standards d'élevage du bar définis par Chatain (1994).

### 2.2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est strictement identique à celui qui a été utilisé dans le paragraphe 2.2. du Chapitre 4. La température de l'eau est maintenue à 20°C, le taux d'oxygène dissous à plus de 80% et la salinité à 22 ‰. La photopériode est de 16 heures de jour et 8 heures de nuit, avec une incrémentation progressive des périodes d'aube et de crépuscule de 30 min. Les poissons sont alimentés grâce à des granulés spécifiques pour le bar (Neo Grower Extra Marin, 3.0, France) contenant 45 % de protéines brutes et 20 % de lipides selon le fournisseur. A chaque activation du self-feeder, 3.1 g de granulés sont distribués, soit une distribution respective moyenne de 0.8 et 0.6 g kg<sup>-1</sup> au début et à la fin de l'expérience.

### 2.3. Protocole expérimental

L'expérience est réalisée pendant 84 jours et chaque souche est testée en duplicat (50 poissons par bassin). Au début de l'expérience, les poissons de la souche *C+* présentent un poids moyen de 89 ± 4 g (coefficient de variation, CV = 29%, n = 100) et ceux de la souche *C0*, de 72 ± 3 g (CV = 30%, n = 100). Les poissons sont à nouveau anesthésiés avec de l'huile essentielle de clou de girofle (0.08 ‰) et pesés et mesurés (au mg et au mm près) 21 (J21), 42 (J42), 63 (J63) et 84 (J84) jours après le début de l'expérience. Le temps entre chaque biométrie définit une période expérimentale : P1 de J1 à J21 ; P2 de J22 à J42; P3 de J43 à J63 et P4 de J64 à J84.

Les poissons sont placés sous self-feeder dès J1 et l'accès à la nourriture est possible toute la journée (24h) même durant l'heure quotidienne de nettoyage des bassins et de comptage des granulés non ingérés dans les collecteurs de fèces. La consommation alimentaire apparente du groupe (quantité d'aliment distribuée moins quantité d'aliment non ingérée) est évaluée quotidiennement. L'enregistrement des demandes alimentaires est continu durant les 84 jours de l'expérience excepté durant les 24h précédant et pendant les jours de manipulation des poissons (soit 8 jours au total).

## Stress aigu

Après la première phase d'élevage (P1 + P2), qui représente la phase control (C) de l'expérience, des traitements induisant un stress aigu (TS) sont appliqués à J42 (TS1) et J63 (TS2); les périodes P3 + P4 représentent donc la phase d'application des TS. Le traitement consiste à vider totalement l'eau puis à laisser les poissons se débattre pendant une minute au fond du bassin. Après ce délai, les bars sont capturés à l'épuisette et transférés dans un bain d'anesthésique pour passer en biométrie.

## 2.4. Méthodes analytiques

Afin d'évaluer le statut physiologique des poissons au cours du temps, des prises de sang sont réalisées à différents stades de l'expérience. Pour réaliser des prises de sang dans les meilleures conditions possibles, les bars sont pêchés rapidement et immédiatement anesthésiés dans une solution de clou de girofle à 0.08‰ à J1, J42, J63 et euthanasiés dans une solution létale à 0.4‰ à la fin de l'expérience (J84). Le sang est prélevé dans le sinus veineux au niveau de la queue du poisson dans les quelques minutes suivant l'anesthésie puis immédiatement analysé grâce à un appareil d'analyse portatif I-Stat (Abbott ; cartouches CG8+ et CG4+ ; Heska Corporation, Fort Collins, CO, USA; Harrenstien *et al.*, 2005). Les taux plasmatiques de glucose sont mesurés sur 8 poissons par souche à J1, J42 et J63, puis sur 20 poissons de chaque souche à J84. Le taux plasmatique de lactate, est, quant à lui, mesuré sur 8 poissons de chaque souche, 24h avant et 15 min après chaque TS à J42 et J63.

## 2.5. Analyses des données

Les variables d'intérêt choisies dans cette étude sont :

- Les quantités d'aliment demandée, ingérée et non ingérée (g par kg de biomasse présente dans le bassin et par jour). Elles sont utilisées pour évaluer le changement de comportement alimentaire au cours du temps.
- Le poids moyen, l'indice de condition corporel, le taux de croissance spécifique individuels et le taux d'efficacité alimentaire de chaque bassin sont analysés par période. Ces variables permettent d'évaluer les variations de croissance, et associées à la quantité d'aliment ingérée, d'émettre des hypothèses sur la modification du taux métabolique des poissons.
- La quantité d'aliment demandée, regroupée par classe de 4 heures (g par kg de biomasse, 6 classes par jour) est utilisé pour analyser le rythme alimentaire des poissons et son changement au cours du temps.
- Les analyses biochimiques (*i.e.* concentrations plasmatiques du glucose et du lactate) qui permettent de déterminer le statut physiologique des poissons et de valider l'effet stressant des TS au cours du temps.

Le taux de croissance spécifique ou specific growth rate (SGR) permet de connaître l'évolution journalière du poids individuel. Il correspond au différentiel des logarithmes des

poids ( $W$  en g) finaux ( $f$ ) et initiaux ( $i$ ), divisé par la durée ( $t$  en jours) entre deux pesées et multiplié par 100 soit :  $SGR$  (% de poids corporel par jour) =  $100 (\ln W_f - \ln W_i) \times t^{-1}$ .

L'indice de condition corporel ( $K$ ) prend en compte le poids ( $W$  en g) et la longueur standard du corps de l'animal ( $L$  en cm). Il se calcule selon la formule :  $K$  ( $\text{g cm}^{-3}$ ) =  $100 \times W \times L^{-3}$ .

Le taux d'efficacité alimentaire ou feed efficiency ratio ( $FER$ ) permet, quant à lui, de corrélérer l'évolution de la biomasse ( $B$  en kg) en fonction de la quantité d'aliment ingérée ( $Q$  en kg) au cours de la même période. Sa formule est :  $FER = (B_{\text{final}} - B_{\text{initial}}) \times Q^{-1}$ .

Toutes les valeurs moyennes sont exprimées avec leur erreur standard ( $SE$ ).

Pour l'ensemble des données, la normalité est testée par un test de Kolmogorov-Smirnov, Lielliefors ou Shapiro-Wilk et pour l'homogénéité des variances par un test de Bartlett ; les résultats obtenus permettent d'utiliser des ANOVA multifactorielles pour analyser chaque variable. L'homogénéité des groupes est déterminée *a posteriori* grâce au test de Newman-Keuls (Dagnélie, 1975). Les facteurs testés pour la majorité des variables sont : Souche, Bassin, Période (Contrôle (P1+P2), après TS1 (P3) et après TS2 (P4) et le jour des biométries). Le facteur « Bassin » est traité en facteur aléatoire, les deux autres en facteurs fixes. Pour la variable « rythme alimentaire » le facteur 'classe de 4 heures' est ajouté dans l'analyse statistique en tant que facteur fixe.

Pour l'ensemble des tests, le niveau de significativité est  $p < 0.05$  et les analyses sont réalisées avec le logiciel Statistica (StatSoft, Inc).

### 3. Résultats

Aucun poisson n'est mort pendant l'expérience.

#### 3.1. Quantité d'aliment demandée, ingérée et non ingérée

Les analyses statistiques sont résumées dans le Tableau 1. Elles montrent tout d'abord que les réponses sont homogènes dans les réplicats : il n'y a pas d'effet bassin.

Pendant la période contrôle (P1 + P2) les bars issus de deux souches demandent, ingèrent et gaspillent la même quantité d'aliment ( $9.7 \pm 0.5$ ,  $8.5 \pm 0.4$  et  $1.2 \pm 0.1 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  respectivement ; Fig. 1, Tableau 1).

Après TS1 (P3), les C+ augmentent significativement la quantité d'aliment demandée ( $14.6 \pm 1.9 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), ingérée ( $11.3 \pm 1.4 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), mais aussi gaspillée ( $3.3 \pm 0.8 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) tandis que les C0, au contraire, demandent et ingèrent moins de granulés ( $5.8 \pm 0.8$  et  $4.7 \pm 0.7 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  respectivement); le taux de gaspillage alimentaire restant équivalent à celui observé lors de la période précédente ( $1.1 \pm 0.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ).

Après TS2 (P4), les bars des deux souches demandent et ingèrent à nouveau la même quantité d'aliment que durant la période contrôle ( $10.5 \pm 0.8$  et  $8.9 \pm 0.7 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  respectivement), la quantité d'aliment gaspillée, cependant, reste significativement supérieure pour les C+ ( $2.8 \pm 0.6 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ).

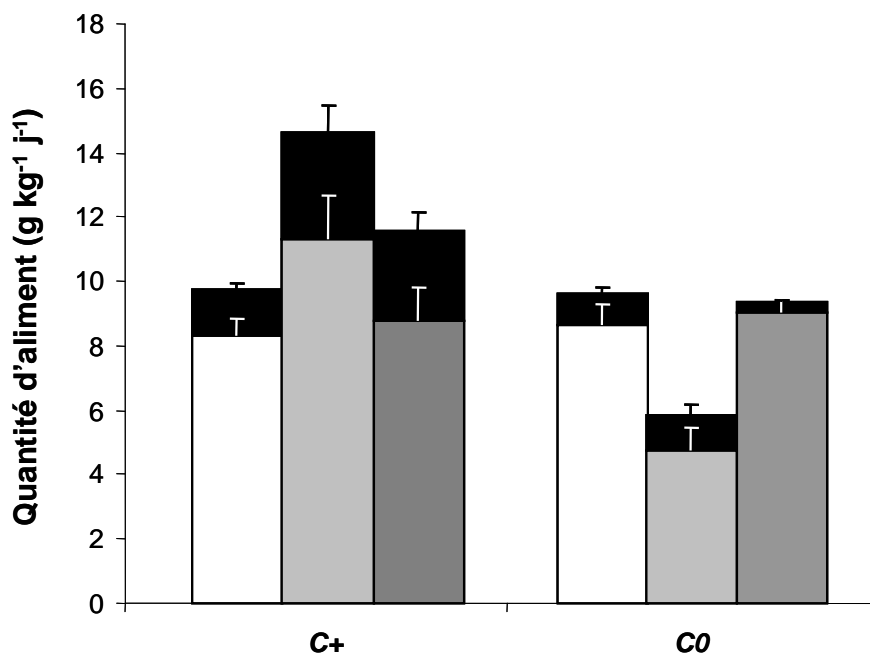
**Tableau 1.** Résultats des ANOVA et des tests de Newman-Keuls utilisés pour tester les différences des moyennes de chaque variable entre les souches, les bassins et les périodes expérimentales. C0 : souche C0 ; C+ : souche C+ ; C : période contrôle, TS1 : après le premier facteur de stress aigu, TS2 : après le deuxième facteur de stress aigu.

Source	Aliments demandés				Aliments non ingérés				Aliments ingérés			
	df	F	P > F	Newman Keuls	df	F	P > F	Newman Keuls	df	F	P > F	Newman Keuls
Souche	1 & 280	23.334	<0.001	*	1 & 280	31.713	<0.001	*	1 & 280	7.872	<0.01	*
Bassin	1 & 280	0.561	0.454	ns	1 & 280	3.864	0.06	ns	1 & 280	0.018	0.966	ns
Période	2 & 280	0.462	0.63	ns	2 & 280	4.094	<0.05	*	2 & 280	0.488	0.614	ns
Souche x Période	2 & 280	12.487	<0.001	C0 = C+ pour C et TS2 C0 < C+ pour TS1  C+ : S1 > C = TS2 C0 : S1 < C = TS2	2 & 280	5.818	<0.01	C0 = C+ pour C C0 < C+ pour TS1 et TS2  C+ : C < TS2 < TS1 C0 : C = TS1 = TS2	2 & 280	10.390	<0.001	C0 = C+ pour C et TS2 C0 < C+ pour TS1  C+ : TS1 > C = TS2 C0 : TS1 < C = TS2

\* test statistique non valide car l'interaction est significative

ns = non significatif

Pour tous les tests le seuil de significativité est  $p < 0.05$



**Figure 1.** *Quantité moyenne ( $\pm$  SE) d'aliment demandée et ingérée (demandée – gaspillée) pour les deux souches de bar C+ et C0. En blanc : pendant la période contrôle (périodes 1 + 2 ; 42 jours), en gris clair : après le premier facteur de stress aigu (période 3 ; 21 jours), en gris foncé : après le deuxième facteur de stress aigu (période 4 ; 21 jours), en noir : quantité d'aliment demandée*

### 3.2. Variations au cours du temps et effets des facteurs de stress aigu sur la croissance et le taux de conversion alimentaire

Les analyses statistiques sont résumées dans le Tableau 2. Elles montrent que les réponses pour le SGR sont homogènes dans les réplicats : il n'y a pas d'effet bassin. Pour le poids corporel et l'indice de condition corporel, malheureusement, un effet bassin existe, mais des différences inter-souches sont globalement visibles.

Les C+ sont 19% plus lourd que les C0 au début de l'expérience et maintiennent plus ou moins cette différence (22% à la fin) tout au long de l'expérience (Fig.2 A, Tableau 2). Le poids augmente tout au long de l'expérience : A J21, J42, J63 et J84 ils sont respectivement de  $94 \pm 3$ ,  $106 \pm 3$ ,  $116 \pm 3$  et  $128 \pm 4$  g pour la souche C+ et  $78 \pm 2$ ,  $85 \pm 2$ ,  $91 \pm 2$  et  $100 \pm 3$  g pour la souche C0.

Le taux croissance spécifique est plus faible pour les poissons C+ que pour les C0 durant P1 ( $0.27 \pm 0.03$  et  $0.45 \pm 0.02$  % day<sup>-1</sup> respectivement ; Fig.2 B, Tableau 2). Pendant P2 et après TS1 (P3), les C0 présentent, au contraire, une croissance inférieure à celle des C+. En effet, pendant P2, le SGR des C+ augmente pour atteindre une valeur de  $0.58 \pm 0.02$  % day<sup>-1</sup> alors que celui des C0 diminue à  $0.38 \pm 0.02$  % day<sup>-1</sup>.

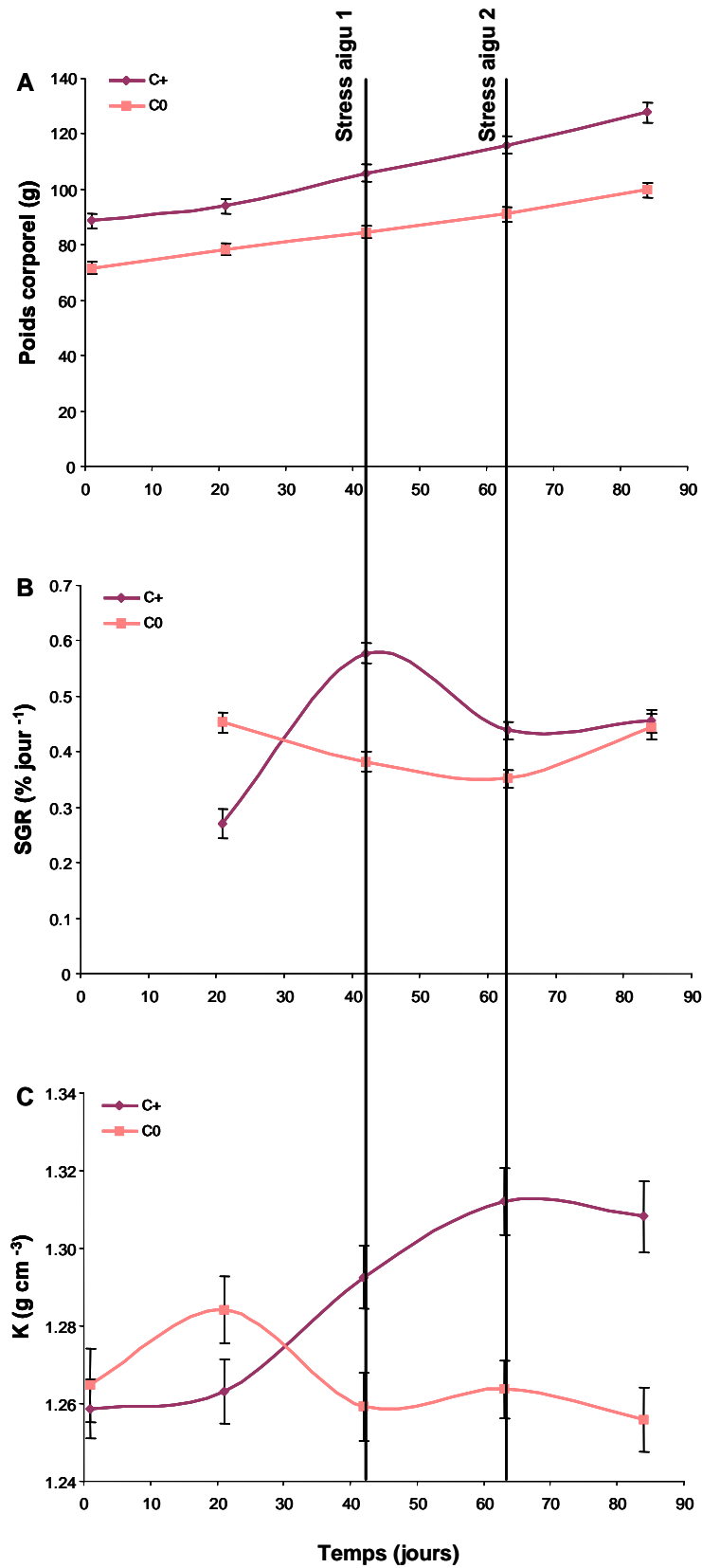
**Tableau 2.** Résultats des ANOVA et des tests de Newman-Keuls utilisés pour tester les différences des moyennes de chaque variable entre les souches, les bassins et les périodes expérimentales. C0 : souche C0 ; C+ : souche C+ ; w ou k 1, 21, 42, 63, 84: poids et indice de condition corporel mesurés à Jour 1, 21, 42, 63 et 84 respectivement ; P1 : Période 1 (période contrôle); P2 : Période 2 (période contrôle); P3 : Période 3 (après le premier facteur de stress aigu); P4 : Période 4 (après le deuxième facteur de stress aigu).

Source	Poids corporel				Indice de condition corporel (K)				SGR			
	df	F	P > F	Newman Keuls	df	F	P > F	Newman Keuls	df	F	P > F	Newman Keuls
Souche	1 & 980	151.480	<0.001	C0 < C+	1 & 980	16.569	<0.001	*	1 & 784	5.094	<0.05	*
Bassin	1 & 980	7.644	<.01	bassins différents	1 & 980	23.845	<0.001	bassins différents	1 & 784	2.380	0.123	ns
Période	4 & 980	47.672	<0.001	w1 < w21 < w42 < w63 < w84	4 & 980	2.804	<0.05	*	3 & 784	18.763	<0.001	*
Souche x Période	4 & 980	1.785	0.130	ns	4 & 980	7.941	<0.001	C+ = C0 à J1, J21 et J42 C0 < C+ à J63 et J84	3 & 784	42.194	<0.001	C+ < C0 pour P1 C0 < C+ pour P2 et P3 C0 = C+ pour P4
								C+ : k1 = k21 ≤ k42 ≤ k63 = k84 C0 : k1 = k21 = k42 = k63 = k84				C+ : P1 < P3 = P4 < P2 C0 : P3 = P2 < P4 = P1

\* test statistique non valide car l'interaction est significative

ns = non significatif

Pour tous les tests le seuil de significativité est p<0.05



**Figure 2.** Variations au cours du temps des valeurs moyennes ( $\pm$  SE) du poids corporel (A), du taux de croissance spécifique (B) et de l'indice de condition corporel (C) pour les poissons issus des souches C+ (violet) et C0 (rose)



Durant P3, les *C0* conservent la même valeur de SGR alors que les *C+* présentent une diminution de leur taux de croissance ( $0.44 \pm 0.02 \text{ \% day}^{-1}$ ). Après TS2 (P4), le SGR des *C+* n'évolue pas alors que celui de *C0* augmente, aboutissant à un taux de croissance spécifique équivalent pour les deux souches ( $0.45 \pm 0.02 \text{ \% day}^{-1}$ ).

A J1, J21 et J42 les poissons issus des deux souches présentent un indice de condition corporel (K) identique (Fig.2 C, Tableau 2). Cependant, à partir de J63 et jusqu'à la fin de l'expérience les poissons *C0* présentent un K inférieur à celui des poissons *C+*. Les poissons de la souche *C+* sont caractérisés par un indice K de  $1.26 \pm 0.01 \text{ g cm}^{-3}$  à J1 et J21, puis de  $1.29 \pm 0.01 \text{ g cm}^{-3}$  à J42 et de  $1.31 \pm 0.01 \text{ g cm}^{-3}$  à J63 et J84. Les poissons de la souche *C0*, quant à eux, sont caractérisés par un indice K de  $1.27 \pm 0.01 \text{ g cm}^{-3}$  tout au long de l'expérience.

Les poissons des deux souches présentent un taux d'efficacité alimentaire similaire tout au long de l'expérience ( $0.59 \pm 0.06$ ;  $F_{3,8} = 1.475$ ,  $p = 0.293$ ).

### 3.3. Rythme journalier des demandes alimentaires du groupe

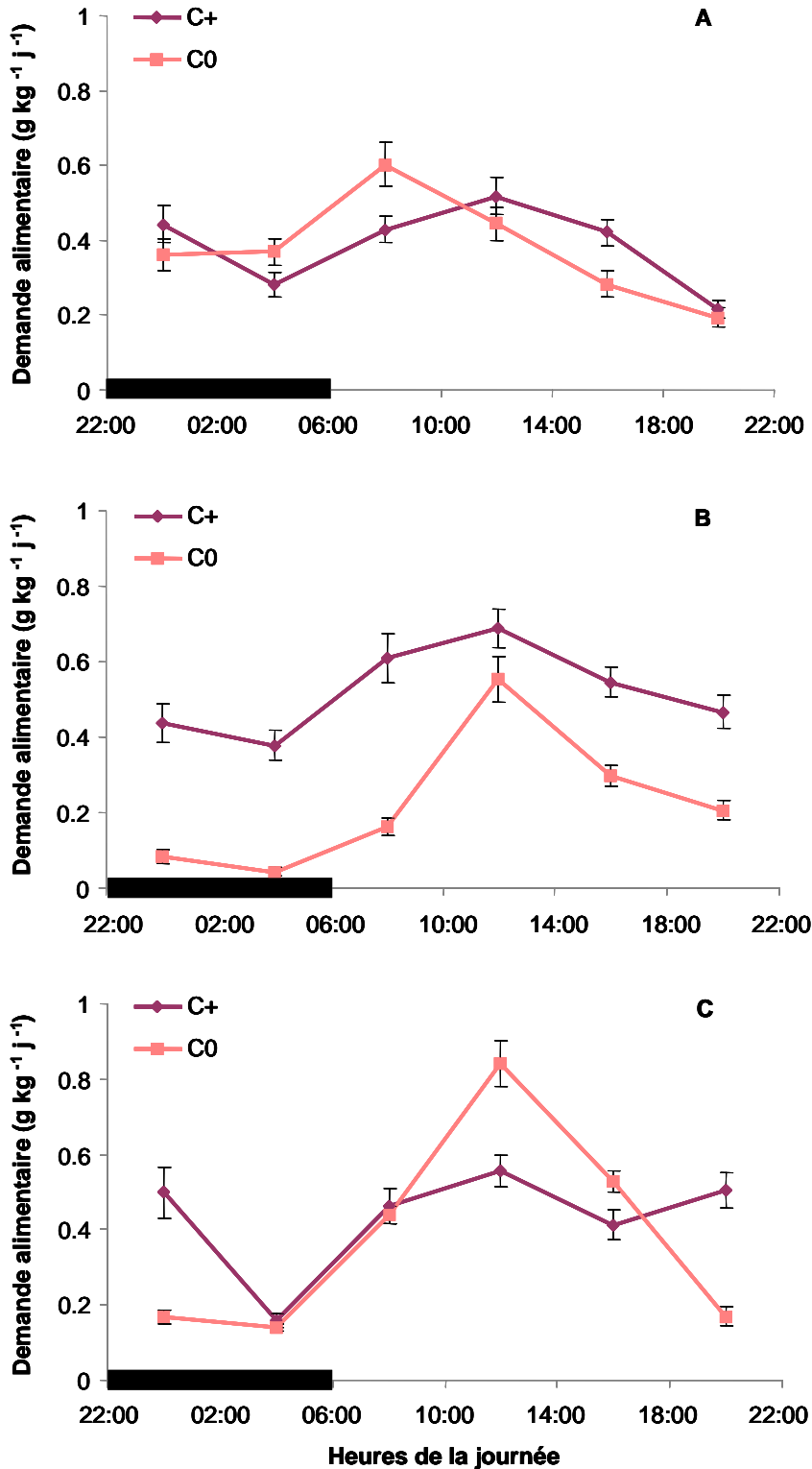
Les analyses statistiques montrent que les réponses sont homogènes dans les réplicats : il n'y a pas d'effet bassin ( $F_{3,7356} = 0.021$ ,  $p=0.980$ ).

Pendant la période contrôle (P1 + P2), les *C+* et les *C0* ne présentent pas le même rythme alimentaire ( $F_{5,3828} = 4.061$ ;  $p=0.001$ ) : les *C+* demandent moins d'aliment dans les plages horaires de 02:00 à 06:00 ( $0.28 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) et de 18:00 à 22:00 ( $0.21 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) que pendant le reste de la journée ( $0.45 \pm 0.04 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), alors que les *C0* demandent moins d'aliment de 14:00 à 22:00 ( $0.23 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) et présentent un pic d'alimentation durant la plage horaire de 06:00 à 10:00 ( $0.60 \pm 0.06 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , Fig.3 A).

Après TS1 (P3), les poissons *C+* et *C0* présentent le même rythme alimentaire ( $F_{5,1908} = 1.663$ ;  $p=0.140$ ) avec la plus faible activité de demande alimentaire pendant la période nocturne ( $0.23 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) et un pic d'alimentation de 10:00 à 14:00 ( $0.61 \pm 0.05 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ; Fig.3 B).

Après TS2 (P4), le rythme alimentaire redevient différent entre les deux souches ( $F_{5,1620} = 5.297$ ;  $p < 0.001$ ). Les *C+* présentent une faible activité alimentaire de 02:00 à 06:00 ( $0.16 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) puis une activité relativement constante pendant tout le reste de la journée ( $0.48 \pm 0.04 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ). Les *C0*, quant à eux, réalisent très peu de demandes alimentaires pendant la nuit et de 18:00 à 22:00 ( $0.16 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), mais sont caractérisés par un pic d'alimentation de 10:00 à 14:00 ( $0.84 \pm 0.08 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ; Fig.3 C).

Pour les poissons *C+*, les deux plages horaires les plus modifiées par les TS sont celle de 02:00 à 06:00 et celle de 18:00 à 22:00 ( $F_{10,3678} = 1.918$ ;  $p = 0.038$ ). Les *C0*, quant à eux, présentent une diminution de leur activité alimentaire nocturne et un décalage de leur pic d'alimentation de la plage horaire 06:00 - 10:00 à la plage horaire 10:00 - 14:00 ( $F_{10,3678} = 8.272$ ;  $p < 0.001$ ).



**Figure 3.** Variations au cours du temps des demandes alimentaires journalières moyennes ( $\pm$  SE ; par groupe de poisson et par classe de 4 heures), pendant la période contrôle (A ; 42 jours), après le premier facteur de stress (B ; 21 jours) et après le deuxième facteur de stress (C ; 21 jours), pour les souches de bar C+ (violet) et les C0 (rose). La barre noire sur l'axe des abscisses représente la période de nuit (22:00 à 06:00)

### 3.4. Statut physiologique

Le taux de glucose sanguin n'est pas significativement différent entre les deux souches de bar ( $F_{1,49} = 0.536$ ,  $p = 0.818$ ), mais il évolue dans le temps ( $F_{3,49} = 6.922$ ,  $p < 0.001$ ): la concentration de glucose plasmatique augmente significativement entre J1 (période contrôle;  $142.9 \pm 19.1$  mg dl<sup>-1</sup>) et J42 (après TS1;  $213.9 \pm 11.1$  mg dl<sup>-1</sup>) puis, à J63 et J84, cette concentration diminue et retourne à un niveau équivalent à celui observé à J1 ( $152.9 \pm 11.7$  mg dl<sup>-1</sup>).

En ce qui concerne le taux de lactate sanguin, aucune différence n'est visible entre les souches ( $F_{1,84} = 0.052$ ,  $p = 0.820$ ), ni au cours du temps ( $F_{2,84} = 1.283$ ,  $p = 0.282$ ). Cependant, le taux de lactate mesuré avant les TS ( $2.8 \pm 0.1$  mmol l<sup>-1</sup>) est significativement inférieur à celui mesuré après les TS ( $5.9 \pm 0.2$  mmol l<sup>-1</sup>;  $F_{1,84} = 145.80$ ,  $p < 0.001$ ).

## 4. Discussion

Dans cette étude, la complexité du comportement alimentaire (quantité d'aliment demandée, ingérée, gaspillée et rythme) de deux souches de bar a été révélée par l'analyse de l'évolution de ce comportement en réponse à des traitements induisant un stress aigu. Les modalités de réponses en croissance des animaux ont été examinées et des analyses sanguines (*i.e.* glucose et lactate) ont caractérisé l'effet du stress sur le statut physiologique des poissons.

### Comportement alimentaire et croissance hors stress

Les poissons *C+* et *CO* sont naïfs vis-à-vis du self feeder au début de l'expérience mais n'ont mis que 1 à 3 jours pour apprendre à utiliser le système. Ce temps apprentissage est beaucoup plus court que ceux observés lors des expériences précédentes (Chapitres 2, 3 et 4) et que ceux des études réalisées sur la même espèce (10 à 15 jours; Rubio *et al.*, 2003a, 2004; Covès *et al.*, 2006). Pendant cette première période d'expérimentation, les poissons issus des deux souches demandent, ingèrent et gaspillent la même quantité d'aliment et présentent, contrairement aux poissons précédemment testés (première génération de domestication et de sélection, Chapitre 4), un taux de croissance spécifique positif. Cette faculté à utiliser le self-feeder rapidement permettant une croissance importante dès le début de l'expérience, pourrait souligner des capacités accrues d'adaptation aux conditions d'élevage des poissons issus d'une deuxième génération de domestication.

Les poissons issus de la souche *C+* présentent une activité alimentaire relativement constante pendant les 24 heures de la journée alors que ceux de la souche *CO* présentent une demande alimentaire plus importante de 06:00 à 10:00 correspondant aux premières heures d'éclairage des bassins. Au cours de l'expérience sur les poissons de première génération de domestication et de sélection (Chapitre 4), les bars *Sauvage* présentaient également un pic de demande alimentaire plus marqué (14:00 – 18:00) que les *Massal*, qui étaient caractérisés par une alimentation principalement diurne. Il semblerait donc que les poissons qui n'ont pas subi de sélection sur la croissance présentent un pic d'alimentation au cours de la journée plus marqué que les souches sélectionnées pour ce caractère.

## Quels sont les effets du stress aigu sur le comportement alimentaire et la croissance des bars ?

Pickering *et al.* (1982), Pickering & Stewart (1984), Mesa (1994), Olla *et al.* (1995), Wendelaar Bonga (1997), McCormick *et al.* (1998) et Liebert & Schreck (2006), démontrent qu'un stress aigu peut altérer le comportement alimentaire, réduire l'ingestion d'aliment et par conséquent avoir des répercussions sur la croissance des poissons. Dans notre étude, les poissons issus de la souche *C0* présentent effectivement une diminution de la quantité d'aliment demandée et ingérée (-40 et -45% respectivement), le gaspillage alimentaire n'évoluant pas. Cette diminution de l'alimentation ne semble pas avoir d'effet sur le taux de croissance ni sur l'indice de condition corporel de ces individus. Au contraire, chez les poissons issus de la souche *C+*, la quantité d'aliment demandée et ingérée augmente fortement (+34 et +26 % respectivement) ainsi que le gaspillage alimentaire qui double durant cette période (indicateur de l'état de stress des poissons ; Chapitres 2 et 4). Cette augmentation s'accompagne d'une diminution de 24% du taux de croissance spécifique et d'une augmentation de l'indice de condition corporel ne représentant cependant que + 0.02 g cm<sup>-3</sup>. Selon Barton & Schreck (1987) et Wendelaar Bonga (1997), le stress induit une augmentation du taux métabolique due à une augmentation des besoins énergétiques des poissons. Si on se réfère aux résultats obtenus par Rice (1990) sur *Micropterus salmoides* (Lacepède) qui montrent qu'une augmentation du taux métabolique de 20% induit une diminution du taux de croissance de 42%, nous pouvons alors estimer que le premier stress aigu a induit chez les *C+* une augmentation de 11% de leur taux métabolique. L'augmentation de la quantité d'aliment ingérée pendant cette période n'aurait donc pas suffi à compenser leurs besoins énergétiques accrus. Au contraire, pour les *C0*, même si le stress entraîne une diminution de leur activité alimentaire, il ne provoque pas d'augmentation de leur taux métabolique, voire même au contraire, tendrait à le diminuer puisque les poissons conservent un taux de croissance équivalent à celui de la période contrôle.

Après un deuxième stress aigu, l'activité alimentaire des poissons issus des deux souches retourne à un niveau équivalent à celui observé durant la période contrôle. Les *C0* augmentent leur quantité d'aliment demandée et ingérée de +38 et +48 % respectivement (la quantité d'aliment gaspillée restant stable) et ceux de la souche *C+* diminuent au contraire leurs demandes alimentaires, leur ingestion et leur gaspillage de -21, -23 et -16% respectivement. Cependant, le taux d'aliment gaspillé reste supérieur à celui observé durant la période contrôle révélant l'état de stress encore important des bars *C+*. Aucune évolution du taux de croissance et de l'indice de condition corporel n'est visible pour ces individus, alors que les bars *C0* présentent une augmentation de leur SGR (+20%). Le retour à une alimentation et à un taux de croissance relativement identiques à ceux observés avant les stress, tend à faire penser que le deuxième stress aigu a un effet moins important sur les deux souches mettant en évidence les capacités de compensation et/ou d'adaptation rapides de ces dernières.

La comparaison des résultats de cette étude avec ceux obtenus sur les souches de première génération de domestication (Chapitre 4), montre qu'il existe peu de points communs dans l'évolution de leur comportement alimentaire et de leur croissance au cours du temps. Cependant, il est intéressant de remarquer que dans ces deux études, les poissons issus de la sélection (souches *Massal* et *C+*) présentent tout au long de l'expérience des fluctuations de leur taux de croissance et de leurs indices de condition corporel beaucoup plus importants que ceux des poissons issus de la domestication seule (souche *C0*) ou non domestiqués (souche *Sauvage*). Cette caractéristique pourrait donc être le premier effet induit par la sélection sur la croissance.

En ce qui concerne le rythme alimentaire, les stress induisent des modifications différentes selon les souches. Pour les C+, deux plages horaires semblent spécialement affectées par les traitements: celle de 02:00 à 06:00, pendant laquelle les poissons augmentent de 36% leurs demandes alimentaires après le premier stress et, au contraire, les diminuent de 58% après le deuxième stress; et celle de 18:00 à 22:00 pendant laquelle les demandes alimentaires ne cessent d'augmenter au cours du temps. Les poissons issus de la souche C0, quant à eux, présentent une diminution constante de leur alimentation nocturne au cours du temps et un décalage de leur pic alimentaire de 06:00 - 10:00 avant les stress à 10:00 - 14:00 après les stress.

Si l'on compare ces données avec celles observées lors de l'expérience sur la première génération de bar (Chapitre 4), on constate que, pendant la période contrôle, les souches présentaient des rythmes alimentaires différents. Puis après le premier stress aigu, les rythmes alimentaires devenaient identiques avec une diminution de l'alimentation nocturne et l'émergence d'un pic alimentaire de 10:00 à 14:00. Enfin, après le deuxième stress aigu les rythmes alimentaires redevenaient différents entre les souches et le pic d'alimentation 10:00 - 14:00 devenait de plus en plus marqué. Il semblerait donc que l'effet du stress aigu sur le rythme alimentaire des différentes souches soit relativement constant au cours des générations et que ni le niveau de domestication ni la sélection n'aient d'effet sur cette variable comportementale.

## Statut physiologique

Chez les poissons, les situations de stress en milieu naturel ou d'élevage induisent généralement d'importantes modifications physiologiques (Pickering *et al.*, 1982; Conte, 2004; Huntingford *et al.*, 2006). Le lactate et le glucose sanguin sont des variables communément utilisées comme indicateurs physiologiques du stress (Pickering *et al.*, 1982; Pottinger & Carrick, 1999; Fanouraki *et al.*, 2007). Chez de nombreuses espèces, y compris le bar, le stress augmente en effet le métabolisme et les demandes énergétiques de l'individu, ce qui provoque une mobilisation et une synthèse du glucose à partir des réserves disponibles telles que le glycogène hépatique (Barton & Schreck, 1987) ceci entraînant une hyperglycémie sanguine. Dans notre étude, les poissons issus des deux souches présentent la même variation de leur taux de glucose sanguin au cours du temps. Au début de l'expérience, la concentration en glucose est légèrement supérieure à celle communément mesurées chez cette espèce dans des conditions standards (Echevarria *et al.*, 1997; Peres & Oliva-Teles, 1999; Pichavant *et al.*, 2001; Roncarati *et al.*, 2006; Di Marco *et al.*, 2008). Cette concentration double quasiment après le premier facteur de stress aigu, confirmant l'effet du stress sur le métabolisme et les besoins énergétiques des poissons, mais elle revient au niveau initial pendant la période contrôle après le deuxième facteur de stress. Ceci met en évidence là aussi des capacités d'adaptation rapides face au stress.

Si l'on compare ces valeurs avec celles mesurées sur les poissons de première génération de domestication et de sélection, on constate que là aussi il n'y avait pas de différence entre les deux souches, cependant trois semaines après avoir subi deux stress aigus, le taux de glucose des poissons de première génération était encore deux fois supérieur à celui des animaux de deuxième génération placés dans les mêmes conditions. Au vu de ces résultats, il semblerait donc que le degré de domestication joue un rôle dans la vitesse d'adaptation des poissons face au stress, les bars de seconde génération apparaissant moins sensibles au stress.

En ce qui concerne le lactate, chez les téléostéens, il est produit par le métabolisme anaérobie des muscles blanc lorsque ces derniers sont sous conditions hypoxiques ou sous l'influence d'un exercice intense (Black, 1957 a, b; Joshi, 1978 ; Wardle, 1978). Dans notre étude, lors du traitement induisant un stress aigu, les poissons sont effectivement soumis à ces deux conditions: l'hypoxie est associée au fait que les poissons soient laissés une minute hors de l'eau et l'exercice intense au fait que durant cette même minute ils se débattent frénétiquement dans le fond du bassin. Il n'est donc pas surprenant que le taux de lactate sanguin double après chaque traitement. Cependant, aucune différence n'est visible entre les souches, ni au cours du temps, ce qui suggère que cette réaction physiologique n'est pas influencée par le niveau de domestication et qu'il n'y a pas de phénomène d'habituation au stress aigu.

## 5. Conclusion

Selon les résultats obtenus dans cette étude, l'application de deux stress aigus à trois semaines d'intervalle modifie le comportement alimentaire, les performances de croissance et le statut physiologique des bars; le premier facteur de stress aigu ayant un effet plus important sur ces variables que le deuxième. Les bars issus des deux souches présentent des capacités d'adaptation différentes et, comme dans le Chapitre 4, les sélectionnés semblent les plus sensibles à ce type de stress. Il apparaît aussi, au regard de ces résultats et de ceux du Chapitre 4, que les vitesses d'apprentissage et d'adaptation aux conditions d'élevage, et donc aux stress, seraient positivement corrélées avec le niveau de domestication, alors que la sélection favoriserait des individus présentant une dynamique de croissance plus variable au cours du temps et plus sensible au stress. Cependant, nous ne pouvons pas conclure que les bars issus de la sélection présentent un potentiel de bien-être inférieur car leur statut physiologique est identique à celui des autres souches et leur poids corporel et leur taux de croissance globalement supérieurs. Considérant l'intérêt prépondérant des entreprises aquacoles pour une croissance rapide, il est donc important de souligner que le processus de domestication allié à la sélection sur la croissance semble compatible avec le respect du bien-être des poissons en élevage.

Afin, d'avoir une vision complète de l'influence de la domestication et de la sélection sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être des bars en élevage, il demeure cependant indispensable d'étudier l'effet du stress chronique sur leur comportement alimentaire, leur croissance et leur statut physiologique.

*Cette étude a été co-réalisée par Samuel Péan (M2 recherche) que j'ai co-encadrée à cette occasion avec Marie-Laure Bégout.*

Péan, S. (2008) Effets du stress aigu sur le comportement alimentaire de deux souches sélectionnées de bar (*Dicentrarchus labrax*). Rapport Master II Exploitation Durable Des Ecosystèmes Littoraux, Université de La Rochelle.



Chronic stress effects on the self-feeding  
behavior, growth performance and physiological  
status of four sea bass strains

Chapitre

6





## Résumé

Après avoir étudié l'influence du niveau de domestication et de sélection sur la tolérance au stress aigu des bars en milieu d'élevage, nous nous sommes intéressés aux effets induits par le stress chronique. Dans ce but, des juvéniles de bars européens issus de 4 souches présentant différents niveaux de domestication et de sélection sur la croissance (*Sauvage*, *Domestique*, *Massal* et *Prosper*) sont utilisés. L'objectif de cette étude est d'évaluer la tolérance au stress chronique de ces différentes souches en se basant sur l'évolution de leur comportement alimentaire sous self-feeder, de leur croissance et de leur statut physiologique et ainsi tenter de déterminer la souche la mieux adaptée aux conditions d'élevage et présentant le plus grand potentiel de bien-être. L'expérience est réalisée pendant 91 jours avec 150 poissons par souche en triplicat. Après une première période contrôle de 35 jours, les poissons sont soumis à un traitement composé de 4 types de stress (poursuite des poissons durant 1 min avec une épuisette, flash lumineux de 2s pendant la nuit ou au contraire arrêt de l'éclairage durant 2s pendant la période de jour et survol d'une silhouette de prédateur au dessus des bassins pendant 30s) induisant un stress chronique de 56 jours. Le comportement alimentaire des bars issus de chaque souche est suivi en continu pendant la totalité de l'expérience, l'évolution de la croissance est évaluée grâce à des biométries régulières aux jours (J) 1, 14, 35, 63 et 91 et le statut physiologique est établi à J91. Les résultats montrent que pendant la première période de stress chronique (de J35 à J63), toutes les souches modifient leur rythme alimentaire (augmentation de l'activité alimentaire au moment où la lumière s'allume) et augmentent leur quantité d'aliment demandée et ingérée (+ 22 % pour les *Domestique*, *Massal* et *Prosper* et +33 % pour les *Sauvage*). Pendant cette même période, le taux de croissance diminue de 32% pour les poissons domestiqués ou sélectionnés sur la croissance, alors qu'il reste constant pour les bars *Sauvage*. La diminution du taux de croissance semble être le reflet d'une augmentation du coût métabolique due au stress ne pouvant être compensée par l'augmentation de la quantité d'aliment ingérée pour la majorité des souches, excepté les *Sauvage*. La seconde période de stress chronique (de J64 à J91) entraîne quelque soit la souche, une importante modification du rythme alimentaire (alimentation de plus en plus diurne et pic alimentaire à 06:00), une augmentation de la quantité d'aliment demandée et ingérée (+ 16%) et une augmentation du taux de croissance de 53%. Ces résultats illustrent que les bars issus des 4 souches sont capables de s'adapter à ces facteurs de stress chronique : adaptation qui peut s'expliquer par une habitude progressive aux différents facteurs de stress et/ou par une augmentation de la quantité d'aliment ingérée suffisamment importante pour compenser le coût métabolique supérieur induit par le stress. A la fin de l'expérience, la plupart des variables physiologiques analysées (concentrations du sodium et du lactate sanguin ainsi que le niveau de glycogène hépatique) ne révèlent aucun effet du stress chronique à l'exception près de la concentration en glucose plasmatique qui est légèrement supérieure à la normale pour les bars issus des souches *Domestique* et *Massal*. Ces résultats peuvent s'expliquer soit par le fait que le stress chronique réduit généralement les réponses physiologiques, soit parce qu'à la fin de l'expérience, tous les poissons sont adaptés aux facteurs de stress imposés.

Au vu des résultats de cette étude, il apparaît donc que l'application d'un stress chronique modifie le comportement alimentaire des bars, leur croissance et dans une moindre mesure leur statut physiologique, mais qu'une seule génération de domestication ou de sélection pour la croissance ne modifie pas leurs capacités d'adaptation et donc le potentiel de bien-être de cette espèce.

## 1. Introduction

Stress is an unavoidable component of finfish aquaculture environment (Pottinger & Pickering 1997). When cultured, fish are commonly exposed to repeated acute stress (*e.g.* handling, grading, transport, prophylactic treatment) and, in some instances, to chronic stress (*e.g.* deterioration of water quality, overcrowding; Pottinger & Pickering, 1997) that are responsible for many problems, such as increased susceptibility to disease, increased metabolic rate and energy utilization, reduced growth rates, suppression of immune responses and inhibition of gonad maturation or ovulation (Wendelaar Bonga, 1997). Stress is also largely associated with fish welfare, which is an important issue for the industry, not just for public perception, marketing and production acceptance, but also often in terms of production efficiency, quality and quantity (Broom, 1998; Southgate & Wall, 2001; FSBI, 2002). Therefore, even if stress responses do not highlight all welfare disturbances, it is generally admitted that they strongly indicate a poor welfare (Broom, 1988; FSBI, 2002). Fish presenting a high welfare potential should also be able to adapt their physiological and behavioral responses to cope with the stressful situation and to promote its best chance of survival (Barton, 1997). Such evidences led to an active research on potential methods to reduce stress responses in aquaculture species (Ashley, 2007). Among them, domestication and selective breeding to minimize fish responsiveness to stressors, is a major axis of research of the last few years (Pottinger, 2003).

Fish domestication can be defined as “the process by which a population of animals becomes adapted to humans and to the captive environment by some combination of genetic changes occurring over generations and environmentally induced developmental events re-occurring during each generation” (Price, 1984). Selection is usually used to improve traits strongly associated to production cost (*e.g.* growth rate, disease resistance, age at maturity, flesh quality), but very little is known on selected fish capacities to tolerate stress *per se*. It was, nevertheless, shown that fish responsiveness to stress has a genetic component that could be, therefore, modified by selective breeding (Pottinger & Pickering, 1997). Indeed, Pottinger & Carrick (1999) and Pottinger (2003) have shown that it was possible to select rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) strains presenting a high or low cortisol response to confinement stress. These strains have also shown other clear behavioral and physiological differences so as a quicker resumption of feeding, when placed in a novel environment, for the low cortisol responding strain (Overli *et al.*, 2002, 2004) and a lower brain serotonin concentration (Overli *et al.*, 2005). According to these results, it seems feasible to generate strains displaying a high stress tolerance, and thus, improved performances in aquaculture, across a number of traits (*e.g.* improvement of feed conversion efficiency, growth, fecundity, egg quality, post-slaughter flesh quality and also reduction in the incidence of disease), and in addition an improvement of their welfare (Pottinger & Pickering, 1997).

The sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) is an important species in Mediterranean and Atlantic aquaculture that was recently domesticated. Therefore, very little is known on the effects of domestication and selection on feeding behavior, stress tolerance and welfare potential. The present study thus proposes to elucidate how chronic stress alters self-feeding behavior (feed demand rhythm, distribution, waste and intake), growth performance (body weight, body condition factor, specific growth rate) and physiological status (plasmatic sodium, lactate, glucose and hepatic glycogen concentrations) in 4 populations of fish presenting different levels of domestication and/or selection.

## 2. Material and methods

### 2.1. Apparatus

The feeder device comprised a screened type sensor (a metal rod protected by a PVC cylinder; Covès *et al.*, 2006; Millot *et al.*, 2008) and a control box. After each activation, fish were rewarded with 25 pellets, feed dispensers regulating a mean distribution of  $0.1 \text{ g kg}^{-1}$  and  $0.08 \text{ g kg}^{-1}$  of fish at the beginning and at the end of the experiment respectively. Such a set up allowed to monitor the number, the date and the hour of feed demand in each tank.

Each fish was implanted with a PIT-tag to follow individual weight and length over time.

### 2.2. Experimental set up

The 4 tested populations have been hatched and reared at the experimental research station of Ifremer in Palavas-les-Flots (France). They issued from a full factorial crossing (each dam is crossed with each sire) of 13 wild Mediterranean dams with 20 Atlantic wild sires (*Wild* strain), 20 Atlantic domesticated sires (*Domestic* strain), 19 Atlantic selected sires (*Massal* strain) and 17 Atlantic selected sires (*Prosper* strain) respectively. The wild sires were chosen among a captive Atlantic population of breeders, and all other sires used in this experiment, are the direct descendants of these fish. The domesticated sires have been selected at random among these descendants after two years of rearing according to the sea bass standards (Chatain, 1994) while the *Massal* sires were selected among the 5% longest fish (at 400 g) of this population. The *Prosper* sires were also selected among the 5% longest fish of this population but in a group that had undergone the PROSPER (Chevassus *et al.*, 2004) selective procedure (fish graded at the age of 200, 444 and 685 days to be reared in homogeneous weight class).

The experiment was carried out with a triplicate per strain. The 12 tanks ( $1\text{m}^3$  each) were supplied with semi-recirculated seawater. For each tank, the flow rate was  $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  and the water renewal, 30 % per day. Water temperature was maintained at  $20.3 \pm 1.1^\circ\text{C}$ , oxygenation above 90 % of saturation in the water-outlet, and salinity was  $36.3 \pm 1.5$ . Water ammonia and nitrite compounds were measured every day and were never above recommended levels for sea bass. Tanks were lighted by a neon lamps hanged 1.5 m above the water surface. Light regime was 16:8 LD (light onset at 06:00) with twilight transition periods of 30 min. Fish were fed a commercial diet for sea bass (Neo Grower Extra Marin 5.0, France) containing 45 % of crude protein and 20 % of lipid according to the manufacturer. The experiment was realized over 91 days with 600 fish (50 fish per tank, 150 fish per strain). One tank of *Prosper* fish has never learned to use the self-feeder and was therefore removed from our analysis.

At the beginning of the study, fish were 24 months-old, *Wild* fish weighted an average of  $468 \pm 7 \text{ g}$  (coefficient of variation (CV) = 17%, n = 150 fish), *Domestic* fish an average of  $443 \pm 6 \text{ g}$  (CV = 18%, n = 150 fish), *Massal* fish an average of  $530 \pm 8 \text{ g}$  (CV = 19%, n = 150 fish) and *Prosper* fish an average of  $523 \pm 10 \text{ g}$  (CV = 20%, n = 100 fish). Fish were again weighted (to the nearest mg and measured for length to the nearest mm) 14 (D14), 35 (D35), 63 (D63) and 91 (D91) days after the beginning of the experiment. Experimental periods were defined as the period between two measuring day: P1 from D1 to D14; P2 from D15 to D35;

P3 from D36 to D63 and P4 from D64 to D91. All measuring days were done under anesthesia using clover oil (0.08 ‰).

Fish were placed under self-feeding conditions at D1 and food access was possible the whole day along (24 h) even during waste counts from 10:00 to 11:00. Apparent feed consumption within each tank (feed amount dispensed minus wasted pellets in the sediment trap) was monitored daily. Triggering activity recordings were done continuously for 77 days except 24 hrs before and during fish handling (8 days off in total).

## Chronic stress

After a first phase of rearing (P1 + P2), which represented the control phase of the experiment, chronic stress events were applied; P3 + P4 therefore represented the phase of chronic stress treatment. The stressors consisted in: pursuing fish with a net during 1 min, switching off the light for 2s during the day or, in contrary, switching on the light for 2 s during the night, and overflying a bird predator silhouette above the tank during 30 s. To prevent any fish habituation, each stressor was applied randomly over time, fish being not disturbed at all during some days, or, on the contrary, submitted to one, two or three stress per day (with the same or with different stressors).

## 2.3. Analytical methods

To evaluate fish physiological status, 26 *Wild*, 26 *Domestic*, 30 *Massal* and 15 *Prosper* fish were blood-sampled at D 91. They were rapidly netted, immediately euthanized with a lethal dose of clover oil (0.4 ‰), and sampled of 1 ml of blood from the caudal vessels within a minute. The blood was immediately analysed by the I-Stat analyser (Abbott) equipped with CG8+ and CG4+ cartridges (Heska Corporation, Fort Collins, CO, USA; Harrenstien *et al.*, 2005). Blood sodium ( $\text{mmol l}^{-1}$ ), glucose ( $\text{mg dl}^{-1}$ ) and lactate ( $\text{mmol l}^{-1}$ ) could thus be measured. The whole liver was also taken, weighed and immediately frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  for analysis of hepatic glycogen level ( $\text{mg g}^{-1}$ ) by the oxidase/peroxidase method with Enzymatic Kit GAGO-20 (Sigma; Roehrig & Allred, 1974; Burton *et al.*, 1997).

## 2.4. Data analysis

The variables chosen to measure the different traits of interest were the following:

- The amounts of feed demanded and distributed, intaken and wasted (g per kg of biomass present in the tank and per day). These variables were used to evaluate feeding behavior changes. Feed amounts were weighted by the biomass of fish present in the tank to standardize feeding behavior appraisal between tank and strain.
- The evolution over time of fish body weight (g), body condition factor ( $K$  in  $\text{g cm}^{-3}$ ), Specific Growth Rate (SGR in  $\% \text{ day}^{-1}$ ) and Feed Efficiency Ratio (FER) allowed to appreciate growth pattern modifications, and using feed intake, to hypothesize changes in fish metabolic rate.
- The feed demand per blocks of 4 hours (g per kg of fish biomass, 6 blocks per day) was chosen to follow the group feed demand rhythm and changes per day.

- Physiological values were used to determine fish physiological status at the end of the experiment *i.e.* hepatic glycogen (mg g<sup>-1</sup> of dry liver), blood Na<sup>+</sup> (mmol l<sup>-1</sup>), glucose (mg dl<sup>-1</sup>) and lactate (mmol l<sup>-1</sup>).

The specific growth rate was calculated as:

SGR (% body weight per day) =  $100 (\ln W_f - \ln W_i) \times t^{-1}$ , where  $W_f$  and  $W_i$  are the final and the initial body weight (g) respectively, and  $t$  the total number of days.

The body condition factor was calculated as:  $K (\text{g cm}^{-3}) = 100 \times W \times L^{-3}$  where  $W$  is weight (g) and  $L$  is the standard body length (cm).

The feed efficiency ratio (FER) was calculated from biomass and feed consumption:

FER =  $(\text{final biomass (kg)} - \text{initial biomass (kg)} + \text{dead fish (kg)}) \times (\text{feed intake (kg)})^{-1}$ .

All mean values were expressed with the standard error (SE).

Data were checked for normality with a Kolmogorov-Smirnov test and Shapiro-Wilk tests and for homogeneity of variances with the Bartlett's test; they all complied for parametric tests to be used. For fish weight, body condition factor and specific growth rate variables, a 3 factor-ANOVA was used to compare the differences between strains (fixed factor), periods (fixed factor), and tanks (random factor nested to strain). The different periods considered here were: during the control phase; P1 and P2, and during the chronic stress phase; P3 and P4. For the variables related to feeding behavior, P1 was not included on the statistical analysis because for each strain, feed demand activity only began 14 days after the study started. Therefore, for the amount of feed demanded, wasted or intaken, the same type of ANOVA describes above, was used but the periods considered here were only P2, P3 and P4. For the feed demand rhythm, a 4 factor-ANOVA was used to compare the differences between strains (fixed factor), periods (fixed factor), hour blocks (fixed factor) and tanks (random factor nested to strain). The number of data for this variable corresponded to the number of recorded feeding day (68) x 24 hours x number of tank (11). Homogeneous groups were determined with *a posteriori* Newman and Keuls test (Dagnélie, 1975). For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$  and analyses were performed using the Statistica software.

### 3. Results

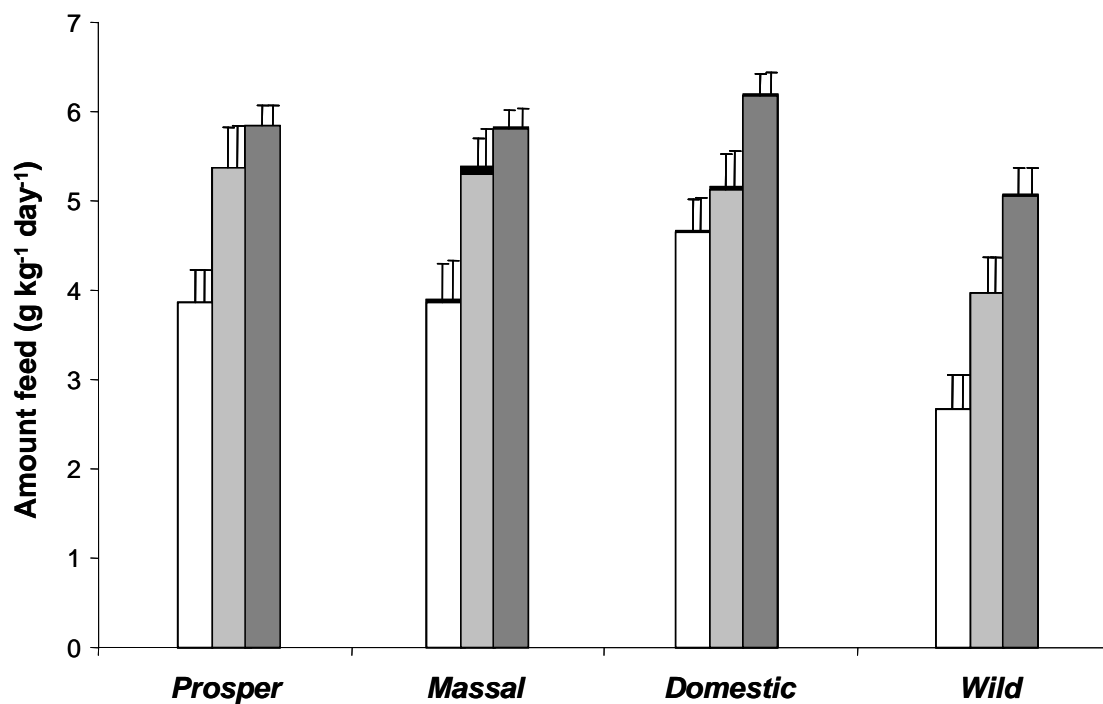
A few fish died during the experiment: one *Wild* fish during P1, one *Wild* and one *Domestic* fish during P3; two *Domestic* and two *Prosper* fish during P4. Some of them have jumped out of the tank others died while any cause could be identified, however, no mortality could be allocated to stress or anesthesia. These changes in the number of individuals were taken into account in all measured variables.

#### 3.1. Amount of feed demanded, intake and wasted

Mean amounts of feed demanded and intaken were homogeneous among triplicate but not wasted food (Table 1).

*Wild* fish systematically demanded and ate less than *Prosper*, *Massal* and *Domestic* strains (Fig.1, Table 1). During the second period of the control phase (P2), *Wild* fish demanded, and entirely ate, an average of  $2.66 \pm 0.39 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  while *Prosper*, *Massal* and *Domestic* fish demanded, ate and wasted  $4.17 \pm 0.24$ ,  $4.15 \pm 0.24$  and  $0.02 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  respectively. During the first period of the chronic stress phase (P3), demanded and intaken food increased

significantly for all strains, being  $3.97 \pm 0.41 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  (no waste) for *Wild* fish and  $5.30 \pm 0.24$  and  $5.25 \pm 0.24 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  respectively for the three other strains. During P3, wasted food did not change for *Prosper* and *Domestic* fish ( $0.02 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) while it increased by 3 fold for *Massal* fish ( $0.09 \pm 0.04 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , which represented about 2% of the demanded amount). During the second period of the chronic stress (P4), these amounts of demanded and intaken food increased again being  $5.06 \pm 0.30 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  (no waste) for *Wild* fish, and  $5.97 \pm 0.14$  and  $5.95 \pm 0.14 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$  for the three other strains respectively; their wasted food being  $0.01 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ .



**Figure 1.** Mean ( $\pm$  SE) demanded and intaken (demanded – wasted) food amounts for 4 strains of sea bass: *Wild*, *Domestic* and selected for growth (*Prosper* and *Massal*). In white: during a control period (period 2; 21 days), in light grey: during the first period of chronic stress (period 3; 28 days), in dark grey during the second period of chronic stress (period 4; 28 days), in black: demanded feed quantity.

**Table 1.** Results of ANOVAs and Newman and Keuls tests used to analyse the mean differences between strains (fixed factor), experimental periods (fixed factor), and tanks (random factor nested to strain) for each variable. P: Prosper; M: Massal; D: Domestic; W: Wild; 2: Period 2 (before chronic stress); 3: Period 3 (during chronic stress); 4: Period 4 (during chronic stress).

Source	Demanded food				Wasted food				Feed intake			
	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls
Strain	3 & 703	9.9	<0.0001	W < P = M = D	3 & 703	6.6	0.0002	*	3 & 703	9.7	<0.0001	W < P = M = D
Period	2 & 703	27.8	<0.0001	2 < 3 < 4	2 & 703	3.4	0.03	*	2 & 703	28.1	<0.0001	2 < 3 < 4
Tank (strain)	2 & 703	1.9	0.1	ns	2 & 703	5.2	0.006	Tank differences	2 & 703	1.7	0.2	ns
Strain x Period	6 & 703	0.6	0.7	ns	6 & 703	2.2	0.04	P = M = D = W at 2 & 4 M > P = D = W at 3 2 = 3 = 4 for D, W & P 2 = 4 < 3 for M	6 & 703	0.6	0.7	ns

\* means these tests are not valid as interaction are significant.

For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$ .

### 3.2. Variations over time and effects of chronic stress on fish growth and feed efficiency ratio

Fish weights were homogeneous among triplicate but not fish body condition factor and specific growth rate (Table 2).

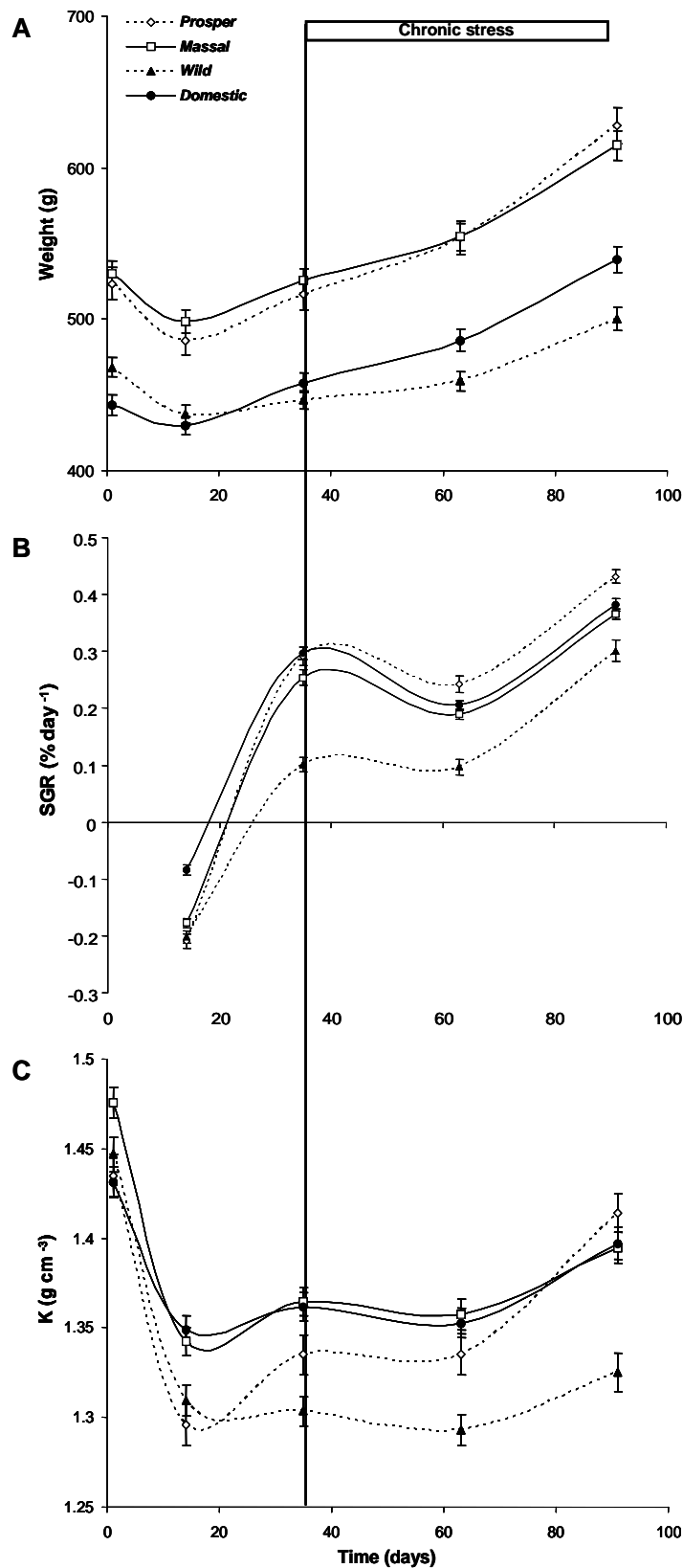
*Massal* and *Prosper* were 14% heavier than *Wild* or *Domestic* at the beginning of the experiment and maintained more or less this difference during the whole experiment (15% at D63; 13% with *Domestic* fish and 19% with *Wild* fish at D91; Fig.2 A, Table 2). At the beginning of the study, selected and non selected fish weighted a mean of  $528 \pm 6$  and  $456 \pm 5$  g respectively. Weights did not significantly change during P1 except for *Prosper* fish, which showed a significant decrease. At D14, weights were  $434 \pm 4$  and  $493 \pm 6$  g for non selected and selected fish respectively. At D35, fish weights did not significantly change, being  $522 \pm 6$  g for selected fish and  $452 \pm 4$  g for non selected fish. At D63, fish weights did not significantly change for non selected fish ( $473 \pm 5$  g) and for *Massal* fish, but increase significantly for *Prosper* fish; the weight of selected fish being  $554 \pm 7$  g. At D91, all strains grew significantly reaching of  $500 \pm 7$  g for *Wild* strain,  $539 \pm 8$  g for *Domestic* strain and  $620 \pm 8$  g for selected strain.

Fish specific growth rate was slower in the selected and *Wild* populations than in the *Domestic* population during P1 ( $-0.19 \pm 0.01$  and  $-0.08 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup> respectively; Fig.2 B, Table 2). During P2, *Wild* fish ( $0.10 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup>) were characterized by a significantly lower SGR than that of *Massal* ( $0.25 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup>) itself lower than that of *Domestic* and *Prosper* populations ( $0.29 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup>). During the chronic stress periods P3 and P4, the SGR of *Wild* fish were lower ( $0.10 \pm 0.01$  and  $0.30 \pm 0.02$  % day<sup>-1</sup> respectively) than that of *Massal* and *Domestic* fish ( $0.20 \pm 0.01$  and  $0.37 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup> respectively) themselves lower than *Prosper* fish ( $0.24 \pm 0.01$  and  $0.43 \pm 0.01$  % day<sup>-1</sup> respectively). For all strains, SGR was particularly boosted during P2. On the contrary, the selected and *Domestic* fish SGR decreased significantly during P3 while *Wild* SGR did not change. Finally, during P4, the SGR of all strains increased significantly.

At D1, body condition factor (K) of *Massal* fish ( $1.48 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>) was higher than those of other strains ( $1.44 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>; Fig.2 C, Table 2). At D14, *Domestic* and *Massal* K ( $1.35 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>) were higher than those of *Prosper* ( $1.30 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>), *Wild* fish being not different from the other strains ( $1.31 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>). At D35, *Domestic* and *Massal* K ( $1.36 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>) were higher than those of *Wild* ( $1.30 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>), *Prosper* fish being again not different from the other strains ( $1.33 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup>). At D63 and D91, *Wild* K were significantly lower ( $1.29 \pm 0.01$  and  $1.33 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup> respectively) than those of selected and *Domestic* fish ( $1.35 \pm 0.01$  and  $1.40 \pm 0.01$  g cm<sup>-3</sup> respectively). The K index of all strains significantly decreased during P1 but did not change during P2 except for *Prosper* fish for which it increased. Thereafter, K index was still stable for each strain during P3 and it increased significantly during P4 except for *Wild* fish for which it stayed at the same level.

All strains had similar feed efficiency ration (FER) during the whole experiment ( $0.53 \pm 0.06$ ,  $F_{6,21} = 0.5$ ,  $p = 0.8$ )





**Figure 2.** Variations over time of mean ( $\pm$  SE) body weight (A), specific growth rate (B) and body condition factor (C) in Prosper (empty symbol and dotted line), Massal (empty symbol and full line), Wild (full symbol and dotted line) and Domestic (full symbol and full line) sea bass strains.

**Table 2.** Results of ANOVAs and Newman and Keuls tests used to analyse the mean differences between strains (fixed factor), experimental periods (fixed factor), and tanks (random factor nested to strain) for each variable. P: Prosper; M: Massal; D: Domestic; W: Wild; w or k 1, 14, 35, 63, 91: weight and body condition factor measured at Day 1, 14, 35, 63, 91 respectively; 1: Period 1 (before chronic stress); 2: Period 2 (before chronic stress); 3: Period 3 (during chronic stress); 4: Period 4 (during chronic stress).

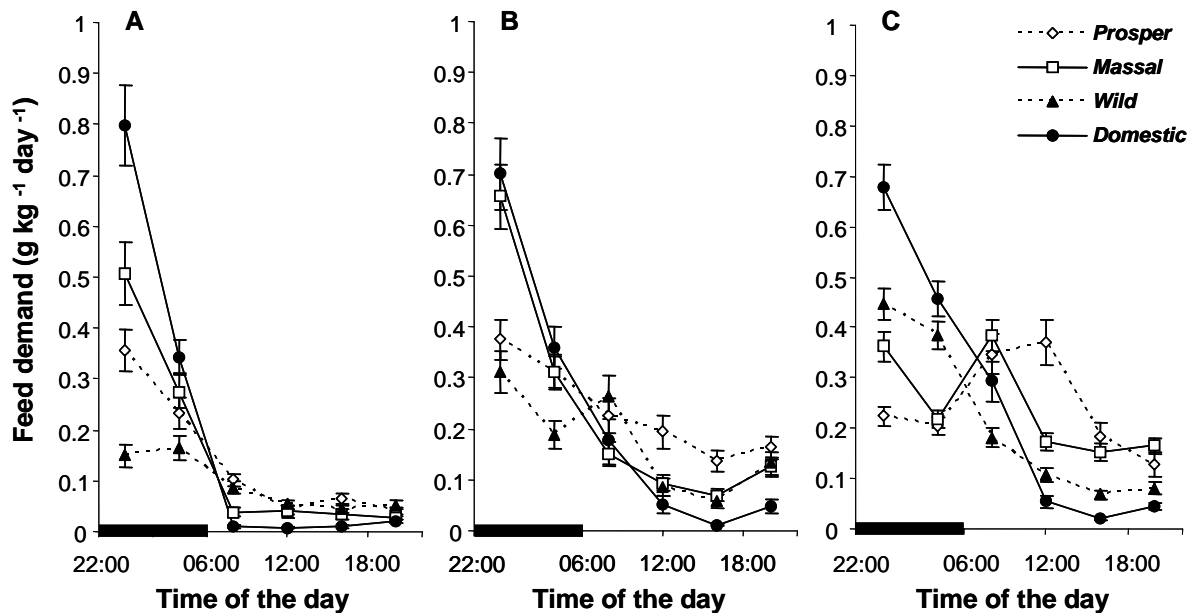
Source	Fish weight				Body condition factor (K)				SGR			
	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls
Strain	3 & 2718	152.2	<0.0001	*	3 & 2718	33.3	<0.0001	*	3 & 2172	95.8	<0.0001	*
Period	4 & 2718	100.3	<0.0001	*	4 & 2718	120.5	<0.0001	*	3 & 2172	1453.8	<0.0001	*
Tank (strain)	2 & 2718	1.3	0.3	ns	2 & 2718	5.3	0.005	Tank differences	2 & 2172	57.9	<0.0001	Tank differences
Strain x Period	12 & 2718	3.3	<0.0001	D = W < M = P at D1, D14, D35 & D63 W < D < M = P at D91 w91 > w63 ≥ w1 ≥ w35 ≥ w14 for P w91 > w63 ≥ w1 = w35 ≥ w14 for M w91 > w1 = w14 = w35 = w63 for W w91 > w63 ≥ w35 ≥ w1 = w14 for D	12 & 2718	4.9	<0.0001	D = P = W < M at D1 D = M ≥ W ≥ P at D14 D = M ≥ P ≥ W at D35 D = M = P > W at D63 & D91 k1 = k91 > k63 = k35 > k14 for P k1 > k91 > k14 = k35 = k63 for M & D k1 > k14 = k35 = k63 = k91 for W	9 & 2172	11.9	<0.0001	D > M = P = W at 1 W < M < D = P at 2 W < M = D < P at 3 & 4 1 < 3 < 2 < 4 for P, M & D 1 < 2 = 3 < 4 for W

\* means these tests are not valid as interaction are significant.

For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$ .

### 3.3. Group feed demand rhythm

As a general feature, all strains realized more feed demand during the night than during the day period ( $F_{30,17880} = 8.2$ ,  $p < 0.001$ ; Fig.3). They relatively displayed the same feeding rhythm during P2, however, some differences existed between strains ( $F_{15,5256} = 20.1$ ,  $p < 0.001$ ). The most important difference was the appearance of a night feeding peak between 22:00 and 02:00: *Wild*, *Prosper*, *Massal* and *Domestic* fish demanded  $0.15 \pm 0.02$ ,  $0.36 \pm 0.04$ ,  $0.51 \pm 0.02$  and  $0.80 \pm 0.08$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> respectively. During the following 4 hours, the difference between strains reduced and *Wild*, *Prosper*, *Massal* and *Domestic* fish demanded  $0.16 \pm 0.02$ ,  $0.23 \pm 0.03$ ,  $0.27 \pm 0.03$  and  $0.34 \pm 0.03$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> respectively. During the rest of the day, the 4 strains demanded the same amount of food ( $0.04 \pm 0.01$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>).



**Figure 3.** Daily variations of mean ( $\pm$  SE) food demand (per group of fish and per block of 4 hours) during a control period (period 2; 21 days; A), during the first period of the chronic stress (period 3; 28 days; B) and during the second period of the chronic stress (period 4; 28 days; C) in *Prosper* (empty symbol and dotted line), *Massal* (empty symbol and full line), *Wild* (full symbol and dotted line) and *Domestic* (full symbol and full line) sea bass strains. The black mark on the X-axis represents the night period.

During P3, all strains demanded more food during the night and their rhythm were quite similar. The major difference between strains appeared during the feeding peak between 22:00 and 02:00 ( $F_{15,5520} = 8.8$ ,  $p < 0.001$ ): *Wild* and *Prosper* fish demanded  $0.34 \pm 0.05$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> and *Massal* and *Domestic* fish demanded  $0.68 \pm 0.03$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. Between 02:00 and 06:00 only, *Wild* and *Domestic* fish demanded a significant different amount of food ( $0.19 \pm 0.03$  and  $0.36 \pm 0.04$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> respectively) while selected fish demanded  $0.31 \pm 0.03$  g kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. During this period all strains increased of their feed demand between

06:00 and 10:00 ( $0.20 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ). The demand slightly increased during the rest of the day, especially for *Prosper* fish reaching  $0.10 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ .

During P4, the feeding rhythm was different among strains ( $F_{15,7104} = 24.7$ ,  $p < 0.001$ ): *Prosper* fish decreased their demand between 22:00 and 02:00 ( $0.22 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), and showed a feeding peak between 06:00 and 14:00 ( $0.36 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ); *Massal* fish, as for them, decreased their feed demand during night and showed two feeding peaks: between 22:00 and 02:00 ( $0.36 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) and between 06:00 and 10:00 ( $0.38 \pm 0.03 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ); *Wild* fish increased their feed demand during the night period ( $0.41 \pm 0.04 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) and on contrary, decreased it between 06:00 and 10:00 ( $0.18 \pm 0.02 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ); finally, *Domestic* fish were still nocturnal and kept a feeding peak between 22:00 and 02:00 ( $0.68 \pm 0.04 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), however, the amount of food demanded between 06:00 and 10:00 was higher than that observed during P3 ( $0.29 \pm 0.04 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ).

### 3.4. Fish physiological status

Mean values ( $\pm$  SE) of each physiological variable for each strain are reported in Table 3. *Domestic* fish showed a higher blood concentration of sodium than *Massal* fish, of lactate than the three other strains and of glucose than *Prosper* and *Wild* fish. The concentration of hepatic glycogen was lower for *Massal* than for *Prosper* and *Wild* fish.

## 4. Discussion

In the present study, the feeding behavior complexity (feed demand, intake and waste) of 4 sea bass strains was revealed through the response to chronic stress, and the evaluation of fish growth pattern and physiological status.

### Fish feeding behavior and growth during the control phase (without stress)

During the first control period, all fish strains presented a negative growth rate and a decrease of their condition index that could easily be explained by the difficulties encountered in learning the self-feeder manipulation and/or adapting to the rearing environment. Indeed, all these fish were naive facing the self-feeder, and whatever the strain, really began to correctly manipulate it after 14 days. This feature was already showed by Millot *et al.* (2008) and Thodesen *et al.* (2001). It is also supported by the fact that during the second part of the adaptation period (without chronic stress), all fish showed an SGR increase: +98% for selected and *Domestic* fish and +96% for *Wild* fish. Such difference between these strains is directly correlated to feeding behavior differences: selected and *Domestic* fish demanded 36% and ate 35% more feed than *Wild* fish. These results are relatively in accordance with those of Thodesen *et al.* (1999) who found significantly higher feed consumption and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) offsprings selected for growth compared to wild non-selected ones. Nevertheless, the same authors found that selection also improved feed utilisation, while, in our study, all strains were characterised by the same feed efficiency ratio.

**Table 3.** Mean ( $\pm$  SE) blood and liver variables for each strain at the end of the experiment (D91) and results of ANOVA one way and Newman and Keuls tests used to analyse the mean differences between strains. P: Prosper; M: Massal; D: Domestic; W: Wild.

Variables	<i>Prosper</i>	<i>Massal</i>	<i>Wild</i>	<i>Domestic</i>	df	F	P > F	Newman and Keuls
<b>Blood</b>								
Na <sup>+</sup> (mmol l <sup>-1</sup> )	170.87 $\pm$ 1.73	166.03 $\pm$ 2.10	167.50 $\pm$ 1.59	172.88 $\pm$ 0.95	3 & 93	3.6	0.01	M $\leq$ W = P $\leq$ D
Lactate (mmol l <sup>-1</sup> )	2.19 $\pm$ 0.35	2.09 $\pm$ 0.23	2.23 $\pm$ 0.30	3.44 $\pm$ 0.38	3 & 106	4.5	0.005	M = P = W < D
Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	106.33 $\pm$ 10.65	167.60 $\pm$ 10.78	136.00 $\pm$ 12.37	188.88 $\pm$ 11.33	3 & 93	8.2	0.0006	P $\leq$ W $\leq$ M $\leq$ D
<b>Liver</b>								
Glycogen (mg g <sup>-1</sup> )	109.55 $\pm$ 8.14	80.27 $\pm$ 7.03	117.16 $\pm$ 7.99	90.86 $\pm$ 7.22	3 & 110	5.1	0.002	M $\leq$ D $\leq$ P $\leq$ W

For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$ . NS: non significant

Concerning the feed demand daily rhythm, it was clearly demonstrated to be synchronized with the light/dark cycle, animals displaying day-active (diurnal), night-active (nocturnal), or twilight-active (crepuscular) behavior patterns (Aschoff, 1981; Boujard & Leatherland 1992; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998), but also dependant of the water temperature (Anthouard *et al.*, 1993; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995 b). The sea bass was indexed as a nocturnal and diurnal specie, predominantly diurnal in the summer, nocturnal in winter, and returning to diurnal in spring by Madrid (1994), Sánchez-Vázquez *et al.* (1995a), Sánchez-Vázquez & Tabata (1998), but our results belies this classification. Indeed, the photoperiod and water temperature used in our study, corresponded to those existing during summer time, while all fish displayed a nocturnal feeding rhythm, with a feeding peak between 22:00 and 02:00. Such an unappropriate feeding rhythm could not be explained but was already observed by Sánchez-Vázquez *et al.* (1995a) who described that in different groups and hold under similar conditions, the sea bass can simultaneously display nocturnal and diurnal feeding patterns.

### **What were the effects of chronic stress on fish feeding behavior and growth?**

Chronic stressors, or repeated intermittent acute stressors, are generally admitted to alter behavior (Pickering & Pottinger, 1989; Pankhurst & Van der Kraak, 1997), the most common change in fish, being a reduction of the feeding activity during the stress period (Pickering *et al.*, 1991; Farbride & Leatherland, 1992, Pankhurst & Van der Kraak, 1997) coming with a growth rate reduction (Pickering & Stewart, 1984; McCormick *et al.*, 1998; Liebert & Schreck, 2006). However, in our study, none of the sea bass strains presented a reduction in feeding activity but, on the contrary, a significant increase of food demand and intake during the first chronic stress period (+33% for *Wild* strain and +22% for selected and *Domestic* strains) leading, for some groups (*Massal*) to a wastage, that was already construed as an indicator of stress level by Millot *et al.* (2008). Moreover, the SGR of selected and *Domestic* fish decreased (-32% over 28 days), which speaks in favour of an increase of energy demand, and thus of metabolic rate, as shown by Barton & Schreck (1987), Wendelaar Bonga (1997) and Pankhurst & Van Der Kraak (1997). If we infer the results of Rice (1990) pointing on largemouth bass (*Micropterus salmoides*, Lacepède) that a 20% increase of metabolic cost reduced the growth rate of 42%, we could hypothesise that the first chronic stress period has induced a metabolic cost rise of 7% in the selected and *Domestic* fish. In the same way, we might also hypothesise that if *Wild* fish were not affected in their growth rate, it was probably because of a higher increase in feed intake and a constant feed efficiency ratio, which allowed them to compensate a higher energy demand.

The effect of a second period of chronic stress was again an increase of feed demand for all groups (+22% for *Wild* strain and +11% for selected or *Domestic* strains) coming with: (i) a wastage for the *Massal* returning to a level observed before any stress application, (ii) an increase of SGR (+68% for *Wild* fish, +47% for *Massal* and *Domestic* fish and +44% for *Prosper* fish) and body weight for all strains and (iii) an increase of the condition factor for the selected and *Domestic* fish (+3%).

These observations speak in favour of an adaptation to chronic stress which is, on contrary to acute stress, generally considered as a stress to which fish have no way to escape or to cope with (Barton, 1997; Pottinger, 2001). Such adaptation might be explained by two processes: 1) Habituation, which is characterized by a progressive decrease of the animal response to an unreinforced stimulus (stress) presented repeatedly or continuously (Humphrey, 1933;

Thorpe, 1963; Hinde, 1970; Peeke & Petrinovich, 1984), and/or 2) A compensation of the higher metabolic rate caused by stress, thanks an increase of feed intake.

Considering the feeding rhythm, it was already shown that sea bass displays a large flexibility resulting, either from fluctuations of abiotic factors (*e.g.* light, temperature and oxygen concentration; Anthouard *et al.*, 1993; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995 b), and biotic factors (*e.g.* the relative abundance of prey and interactions with conspecifics and other fishes; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994, 1995 a), or from endogenous factors (*e.g.* pacemakers or hourglass processes; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995 b; Boujard *et al.*, 1996). We can straightaway, eliminate the possible influence of the environment variations to explain the feeding rhythm changes because, in our study, they were controlled and stable. Our results rather plead in favour of a modification of the feeding rhythm to adjust meal timing to the metabolic rate variations imposed by the stress. Such hypothesis, put forward by Spieler (1977) and Parker (1984) for mammals where meal timing interact with food utilization and assimilation, is supported by the shift that our fish proceed from nocturnal feeding pattern (with a peak at 22:00 and 02:00) when they are not stressed to a diurnal pattern (with a peak at 06:00) when they are stressed. Nevertheless, the main tendency of the non selected fish to maintain a nocturnal feeding activity under stress tends to prove that such a rhythm is more favourable for their growth, on the contrary of selected fish.

## Fish physiological status

Fish stress exposure is known to induce changes in physiological variables such as blood concentration of sodium, lactate and glucose and hepatic glycogen level. A sodium level decrease is generally caused by increased levels of adrenaline (Mazeaud & Mazeaud, 1981). A plasma lactate level increase, is commonly elicited by both acute and chronic stressors, and primarily due to physical disturbance coming with stressful condition (Huber *et al.*, 1989; Rotland *et al.*, 2001), so as blood glucose levels elevation (Wedemeyer *et al.*, 1990; Hardy & Audet, 1990; Tores *et al.*, 1991; Cech *et al.*, 1996; Pottinger & Carrick, 1999). Hepatic glycogen reserves generally contribute to stressor-induced hyperglycaemia (Bourne, 1986; De Boeck *et al.*, 2000), the blood glucose increasing to provide energy to the animal for an appropriate reaction (Nakano & Tomlinson, 1967; Wendt & Saunders, 1973; Wydoski *et al.*, 1976).

In our experiment, all these indicators showed that the tested strains were characterized by a moderate stress level, *the Massal* and *Domestic* fish being more affected but with no repercussion on their growth performance. *i.e.*:

- All blood sodium concentrations were within the usual values observed for sea bass (165-180 mmol l<sup>-1</sup>; Pichavant *et al.*, 2001; Dosdat *et al.*, 2003; Millot *et al.*, 2008).
- All blood lactate levels were also within the basal value for teleost fish (2-4 mmol l<sup>-1</sup>; Gesto *et al.*, 2008; Pottinger, 1998; Simontacchi *et al.*, 2007), result easily explained by the fact that lactate is produced by anaerobic metabolism in the white muscles of teleost fish under conditions of hypoxia or strenuous exercise (Black, 1957 a, b; Joshi, 1978; Wardle, 1978), conditions that were not encountered in our experiment.
- The blood glucose values of *Prosper* and *Wild* fish were within the value found in other studies under standard conditions (60-110 mg dl<sup>-1</sup>; Echevarria *et al.*, 1997; Peres & Oliva-Teles, 1999; Pichavant *et al.*, 2001; Roncarati *et al.*, 2006; Di Marco *et al.*, 2008) while those of *Massal* and *Domestic* fish were more or less twice these values.

- The hepatic glycogen levels of *Prosper* and *Wild* fish were one more time within the basal values while those of *Massal* and *Domestic* fish were lower than those found under standard conditions (110-130 mg g<sup>-1</sup>; Pérez-Jiménez *et al.*, 2007).

These results could be explained either by the fact that chronic stress generally reduce or inhibit physiological stress responses (Hontela *et al.*, 1992) or because at the end of the experiment, all fish were fully adapted to chronic stress as shown by the important increase of their specific growth rate and body condition factor.

## 5. Conclusion

According to the present study, the application of chronic stress altered fish feeding behavior, growth performance and to a lesser extend, physiological status. Fish adaptation (reflected by feeding behavior and growth performance) seemed more efficient during the last period of chronic stress treatment, which highlighted fish habituation to stress. The behavior analysis also show that fish issued from all strains presented the same adaptation abilities, and thus, the same welfare potential in such rearing environment. However, considering the lower body weight, specific growth rate and body condition factor of *Wild* fish, it seems preferable to breed fish issued from domestication or selection for growth. But, to better understand the effects of domestication and selection on fish welfare potential, we recommend further experiments to be carried out on fish issued from further generations.





Analyse comparative des effets du stress aigu sur le comportement natatoire de deux souches de bar de première et deuxième génération de domestication et de sélection

# Chapitre

# 7



## Résumé

Le comportement et les performances de nage des poissons en milieu naturel sont très importants que ce soit pour trouver de la nourriture, réaliser des migrations ou échapper aux prédateurs. Ils sont également déterminants en milieu d'élevage, pour que les poissons se nourrissent correctement, s'adaptent au courant et se positionnent de façon adéquate dans un groupe ou dans un banc. Il est admis que les stress réduisent les performances de nage, mais peu d'études ont été réalisées sur l'effet combiné du stress, de la domestication et de la sélection sur la répartition spatiale et la vitesse de nage des poissons en milieu d'élevage. C'est dans ce contexte que cette étude vise à déterminer les effets de facteurs de stress aigus répétés sur le comportement natatoire de 4 souches de bars de niveau de domestication et de sélection différents (souches de première génération de domestication ; *Sauvage* : issus de parents sauvages et *Massal* : issus de parents sélectionnés sur la croissance ; souches de deuxième génération de domestication ; *C0* : issus de parents non sélectionnés et *C+* : issus de parents sélectionnés sur la croissance). L'étude caractérise, en réponse à des facteurs de stress, la répartition spatiale dans le bassin au cours du temps, des individus manipulateurs (poissons réalisant la majorité des demandes alimentaires) et du groupe. Elle détaille aussi la vitesse de nage des manipulateurs. Les objectifs finaux sont i) de valider un indicateur comportemental de l'état de stress basé sur l'activité natatoire et ii) de déterminer si la sélection sur la croissance conduit à l'obtention de souches plus adaptées aux conditions d'élevage et présentant un meilleur potentiel de bien-être.

Pour ce faire, 60 (*Sauvage* et *Massal*) et 50 (*C0* et *C+*) bars issus de chaque souche sont élevés en triplicat dans des bassins de 450l d'eau de mer, en conditions stables et contrôlées et sous une photopériode constante (16 heures de jour et 8 heures de nuit). Le comportement alimentaire des bars est suivi en continu grâce à l'utilisation d'un self-feeder (Chapitres 4 et 5). Les effets d'un facteur de stress aigu standardisé (bassin entièrement vidé et bars laissés une minute hors de l'eau) appliqué deux fois au cours de l'expérience et à 3 semaines d'intervalle sont évalués grâce à l'enregistrement et l'analyse vidéo du comportement de nage du groupe et celui du manipulateur (identifié à l'aide d'une perle blanche fixée en avant de la dorsale) pendant les trois jours qui suivent chaque imposition de stress. Pour analyser la répartition spatiale des bars dans le bassin, ce dernier est divisé en 4 zones de surface équivalente s'éloignant progressivement de la zone d'alimentation (la zone 1 étant la plus proche et la zone 4 la plus éloignée).

Les résultats montrent d'une part, que le premier traitement induisant un stress aigu a un effet plus important que le second sur les variables mesurées quelque soit la souche concernée. Après le premier facteur de stress, la zone d'alimentation semble privilégiée par les poissons manipulateurs, alors que les autres membres du groupe se répartissent de façon équivalente dans la zone 1 et 4. Le deuxième stress, quant à lui, ne semble pas avoir d'effets marqués sur la répartition spatiale des manipulateurs (principalement répartis dans la zone 1), alors que le groupe retrouve une occupation spatiale homogène dans le bassin. Ces changements semblent étroitement liés à l'évolution du comportement alimentaire des bars suite à l'application du stress. En effet, le premier stress aigu entraîne une forte augmentation des demandes alimentaires expliquant ainsi l'occupation accrue de la zone d'alimentation par les manipulateurs suivi des autres membres du groupe, le deuxième stress, quant à lui, a un effet beaucoup moins marqué sur le comportement alimentaire et n'influence donc pas la répartition spatiale des poissons dans le bassin. Cette étude révèle également que le comportement natatoire du groupe est fortement conditionné par celui du manipulateur principal et que la diminution de la vitesse de nage de ce dernier est principalement due à l'occupation accrue de la zone d'alimentation (*i.e.* restriction des mouvements).

En résumé, cette étude a mis en évidence qu'en plus d'un rôle déterminant dans la distribution alimentaire, l'individu manipulateur a un rôle directeur dans la répartition spatiale du groupe. De plus, la répartition spatiale et la vitesse de nage peuvent être considérées comme des indicateurs secondaires des effets du stress alors que la motivation à s'alimenter semble en être un indicateur primaire. Cependant, le comportement natatoire reste un critère à forte variabilité individuelle et encore trop complexe pour permettre d'évaluer clairement l'influence de la domestication et de la sélection sur la capacité de tolérance au stress et le potentiel de bien-être des bars en élevage.

## 1. Introduction

La stratégie actuelle la plus fiable pour étudier les réactions des poissons face aux facteurs de stress et ainsi évaluer leur potentiel de bien-être, reste la mesure simultanée de plusieurs comportements associés tels que l'alimentation et la nage mais également l'état de santé (Prunet & Auperin, 2007). Après avoir étudié les effets du stress aigu et l'influence du niveau de domestication et de sélection sur le comportement alimentaire, le potentiel de croissance et le statut physiologique des bars en élevage (Chapitres 4 et 5), nous nous sommes donc intéressés aux effets de ce type de stress sur le comportement natatoire des mêmes poissons.

Le comportement et les performances de nage des poissons en milieu naturel sont très importants pour trouver de la nourriture, réaliser des migrations et échapper aux prédateurs (Wardle, 1993). Ils sont également déterminants en milieu d'élevage, pour que les poissons puissent se nourrir correctement, s'adapter au courant dans les bassins et se positionner de façon adéquate dans un groupe ou dans un banc. S'il est admis que le stress réduit les performances de nage (Wardle, 1975, Kuwada *et al.*, 2000; Hyvärinen & Venhanen, 2004; Oppedal *et al.*, 2007), relativement peu de choses sont connues sur les effets de la domestication et de la sélection sur ces performances en milieu d'élevage.

L'originalité de ce travail réside dans l'étude combinée des effets du stress et de la domestication et de la sélection sur le comportement natatoire. Ce comportement est appréhendé par l'analyse de la répartition spatiale dans le bassin, de l'ensemble des poissons et d'un individu particulier (le leader alimentaire) au cours du temps. Nous avons montré (Chapitres 2 et 3) que le leader était à l'origine de la majeure partie des demandes alimentaires du groupe. Ce poisson étant l'initiateur du comportement alimentaire du groupe, on pouvait se demander s'il était également le leader de l'activité natatoire et en particulier responsable de la répartition spatiale de ses congénères. Dans le milieu naturel, des études sur le comportement de nage en banc montrent que le positionnement des poissons est généralement lié à un rôle particulier au sein du groupe : les individus en position frontale dans le banc ont une influence prépondérante sur le déplacement et l'orientation de l'ensemble des membres du groupe, les guidant généralement vers de nouvelles sources de nourriture (Brumann & Krause, 1993 ; Leblond & Reeb, 2006). Ce phénomène est défini sous le terme de « leadership » (initiation de nouvelles directions de nage par un ou plusieurs individus suivis par les autres membres du groupe ; Krause *et al.*, 2000) et ne sous-entend pas forcément l'existence de dominance sociale au sein du groupe (compétition hiérarchique et agressive entre les individus ; Krause *et al.*, 2000). Le statut de leader peut, en effet, aussi être déterminé par l'état nutritionnel, la taille ou les performances de nage. Krause *et al.* (2000) ont d'ailleurs pu mettre en évidence que les membres du banc pouvaient, tour à tour, devenir leader. Ces observations réalisées sur des bancs de poisson en milieu naturel, corroborent les résultats de nos Chapitres 2 et 3, qui démontrent que l'identité du leader alimentaire peut changer au cours du temps et que ce changement peut être lié au statut nutritionnel de l'individu. Cependant, en élevage, la présence d'un leader natatoire initiant le déplacement du groupe n'a pas été encore démontrée.

Fort de ce contexte nous proposons ici :

- Déterminer si le stress aigu a un effet sur la répartition spatiale du groupe et sur celle du leader ainsi que sur la vitesse de nage de ce dernier.
- Comparer le comportement natatoire du manipulateur à celui du groupe afin de déterminer si leurs répartitions sont identiques et si le leader alimentaire est aussi le leader natatoire.

- Déterminer l'influence du niveau de domestication et de sélection sur la répartition spatiale des poissons.

Nous essaierons ainsi de valider un indicateur comportemental de stress basé sur l'activité natatoire et de déterminer si la domestication et la sélection influent sur la tolérance au stress et augmente le potentiel de bien être des poissons en élevage.

## 2. Matériels et méthodes

Cette étude est réalisée en même temps que l'analyse du comportement alimentaire sur les souches de première (*Sauvage* et *Massal* ; Chapitre 4) et de deuxième (*C+* et *C0* ; Chapitre 5) génération de domestication et de sélection. Le matériel biologique et le dispositif expérimental (bassins, photopériode, constantes physicochimique, self-feeder, alimentation....) sont donc décrits dans les paragraphes 2.1 et 2.2 du Chapitre 4 et 2.1, 2.2 et 2.3 du Chapitre 5.

### 2.1. Protocole expérimental

L'étude est réalisée sur des triplicats : 3 bassins de 60 bars *Sauvage* (n= 180) et 3 bassins de 60 bars *Massal* (n= 180) en 2007; 3 bassins de 50 bars *C+* (n= 150) et 3 bassins de 50 bars *C0* (n= 150) en 2008. L'activité de demande alimentaire de chaque poisson est analysée et le poisson ayant le plus déclenché le self-feeder dans chaque bassin est identifié comme le manipulateur principal du groupe (poisson réalisant plus de 25% des demandes alimentaires du groupe ; Chapitres 2 et 3). Dans chaque bassin, le manipulateur principal est marqué d'une perle blanche fixée à l'aide d'une suture à l'avant de la nageoire dorsale (Fig.1) avant chaque biométrie (J27, J53 et J77 pour les souches *Sauvage* et *Massal* et J21, J42 et J63 pour les souches *C+* et *C0*). Le manipulateur est ainsi identifiable sur les vidéos afin de déterminer sa répartition spatiale dans le bassin et sa vitesse de nage. Les enregistrements vidéos sont réalisées pendant les 3 jours qui suivent chaque biométrie : le matin (9h), le midi (14h) et le soir (18h). Chaque enregistrement dure 10 min au rythme d'une image par seconde (soit 600 images). L'enregistrement du comportement natatoire a été possible grâce à trois caméras Sony Noir & Blanc numérique XCDX700 placées au dessus des bassins. Les vidéos ont été acquises grâce au logiciel Visilog 6.2 Noesis (France).



**Figure 1.** Identification du poisson manipulateur grâce à une perle blanche

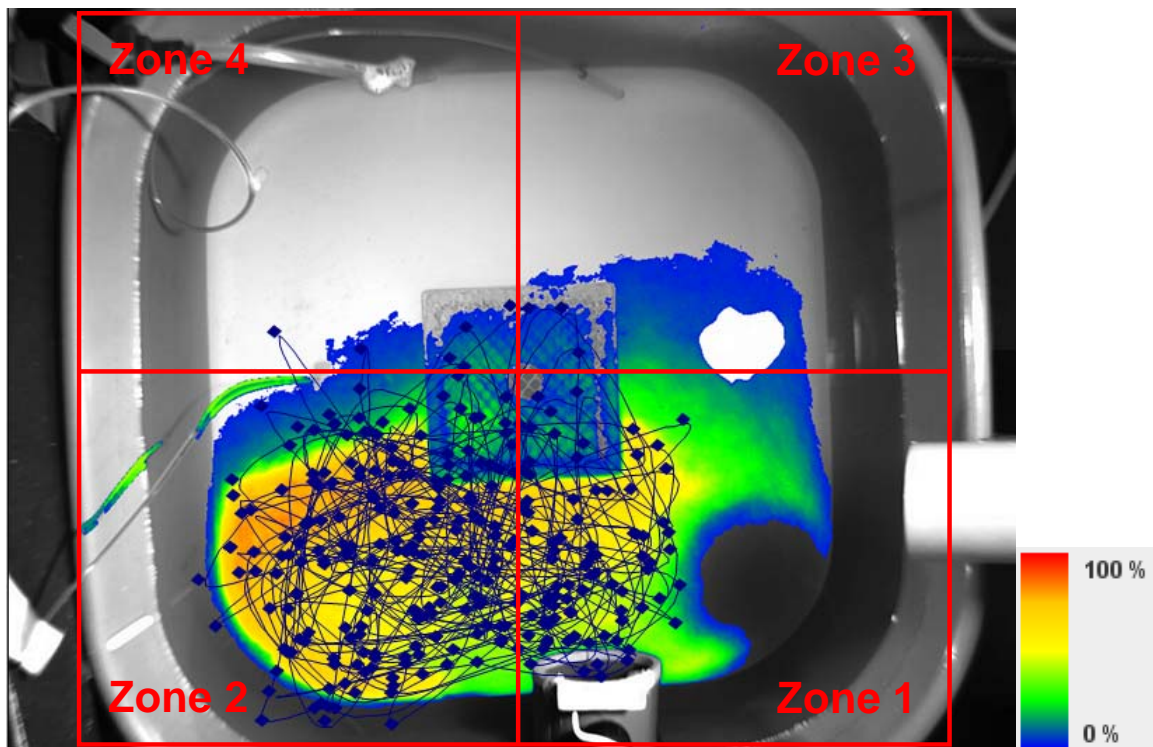
### Stress aigu

Après la première phase d'élevage (P1 + P2) qui représente la phase contrôle (C) de l'expérience, un traitement induisant un stress aigu (TS) est appliqué à J53 (TS1) et J77 (TS2) pour les *Massal* et *Sauvage* et J42 (TS1) et J63 (TS2) pour les *C+* et *C0*; les périodes P3 + P4

représentent donc la phase d'application des TS. Le traitement consiste à vider totalement l'eau du bassin puis à laisser les poissons se débattre pendant une minute au fond du bassin. Après ce délai, les bars sont capturés à l'épuisette et transférés dans un bain d'anesthésique pour passer en biométrie.

## 2.2. Analyses des vidéos

Les enregistrements vidéo sont analysés grâce à deux logiciels : SEE\_FISH (conception Ifremer) et Visilog 6.2. Pour ce faire, le bassin est divisé en 4 zones de surface équivalente (Fig.2) s'éloignant de plus en plus de la zone d'alimentation : la zone 1 (zone d'alimentation) est celle où se trouve le self-feeder et le distributeur de granulés et la zone 4 est la plus éloignée du self-feeder. Le logiciel Visilog 6.2 permet de suivre la trajectoire de nage du poisson manipulateur dans les 4 zones et de déterminer le taux de résidence dans chaque zone. Le logiciel SEE\_FISH quant à lui, permet d'analyser la densité de résidence du groupe dans chaque zone (Fig.2).



**Figure 2.** Exemple de la trajectoire de nage d'un manipulateur obtenue avec le logiciel Visilog 6.2 Noesis (trait bleu) et de la densité d'un groupe obtenue grâce au logiciel SEE\_FISH dans les quatre zones du bassin (dégradé de couleur).

## 2.3. Analyses des données

Les variables d'intérêt choisies dans cette étude sont :

- La répartition spatiale des poissons : la proportion de temps passée par les manipulateurs et le groupe dans les 4 zones du bassin (en %) est analysée pour identifier la zone de

résidence principale au cours du temps et l'effet du niveau de domestication et de sélection sur cette variable.

- La vitesse de nage des manipulateurs (en  $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) est calculée pour analyser le changement d'activité natatoire au cours du temps et évaluer l'effet du niveau de domestication et de sélection sur cette variable.

Toutes les valeurs moyennes sont exprimées avec leur erreur standard (SE).

Plusieurs poissons se succèdent dans le rôle du manipulateur au cours de l'expérience dans chaque bassin, mais nous pouvons regrouper les données par lignée car une analyse statistique (Kruskal-Wallis et Mann Whitney) préliminaire révèle qu'il n'existe pas de différence entre les manipulateurs d'une même souche ni d'ailleurs entre les différents moments de la journée (matin, midi et soir). Des tests similaires révèlent qu'il n'existe pas non plus de différence dans la répartition du groupe entre les différents moments de la journée (matin, midi et soir), ce qui nous permet de regrouper aussi ces données par souche. Pour l'ensemble des données, la normalité est testée avec un test de Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk et pour l'homogénéité des variances avec un test de Bartlett ; les résultats nous permettent d'utiliser des ANOVA multifactorielles pour analyser chaque variable. L'homogénéité des groupes est déterminée *a posteriori* grâce au test de Newman-Keuls (Dagnélie, 1975). Pour les analyses intra- ou inter-souche de la répartition spatiale du manipulateur et du groupe, les facteurs pour chaque variable sont : Bassin, Zone et Période [durant la période contrôle (C), après le premier facteur de stress (TS1) et après le deuxième facteur de stress (TS2)]. Le facteur « Bassin » est traité en facteur aléatoire, les deux autres en facteurs fixes. Pour les analyses de la vitesse de nage des poissons manipulateurs, les facteurs testés sont : Souche et Période [durant la période contrôle (C), après le premier facteur de stress (TS1) et après le deuxième facteur de stress (TS2)] comme facteurs fixes.

Pour l'ensemble des tests, le niveau de significativité est  $p < 0.05$  et les analyses sont réalisées avec le logiciel Statistica (StatSoft, Inc).

### 3. Résultats

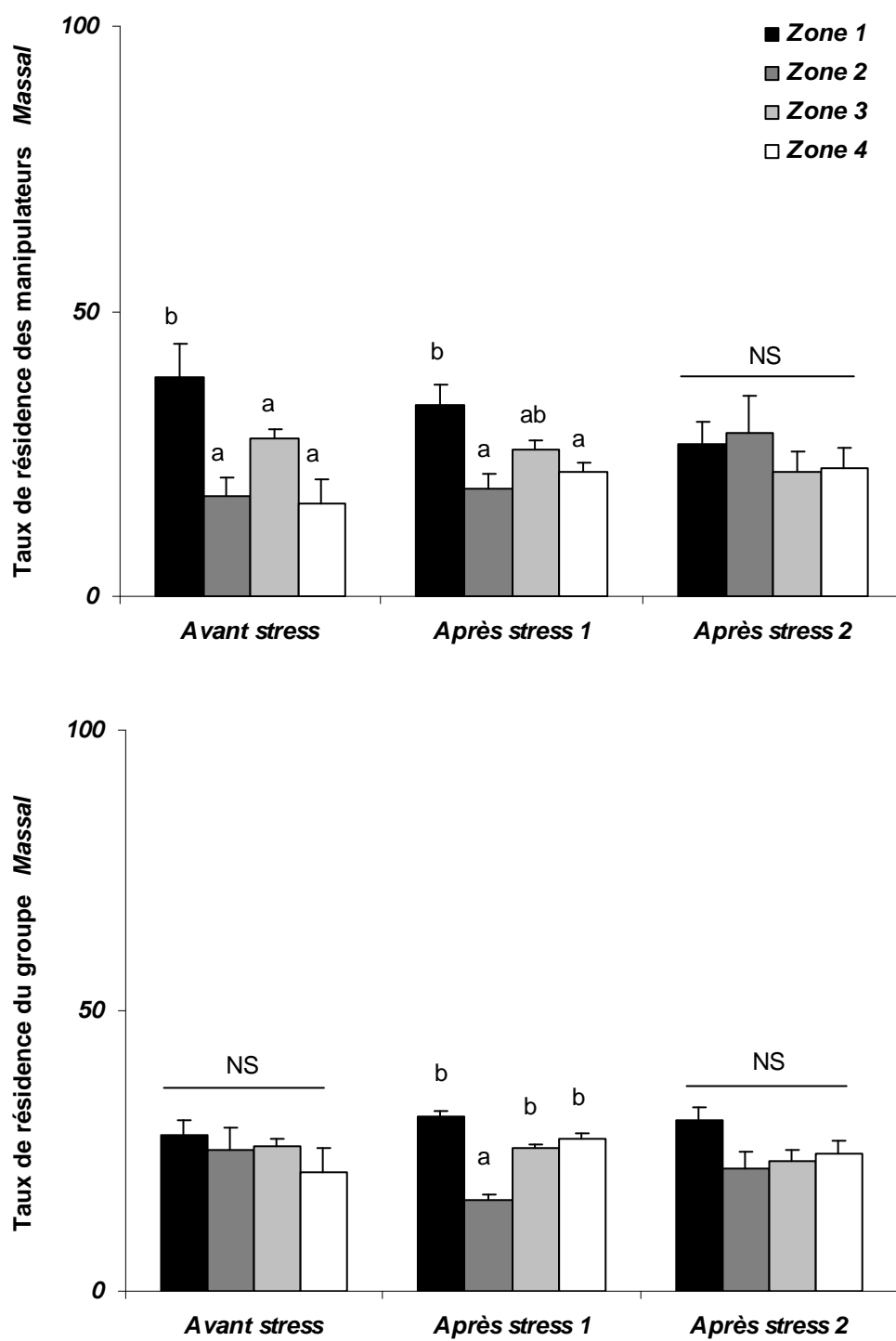
#### 3.1. Répartition spatiale des poissons manipulateurs et de l'ensemble du groupe

##### 3.1.1. Souches *Sauvage* et *Massal*

Au cours de l'expérience, trois changements de manipulateur sont observés pour la souche *Massal*; le 1<sup>er</sup> entre J27 et J53 et les deux autres entre J53 et J77 et ces individus ont une répartition spatiale dans le bassin différente au cours du temps (Tableau 1). Pendant la période contrôle, ils occupent principalement la zone 1 du bassin avec un taux de résidence moyen de  $38 \pm 6\%$  (Fig.3). Après TS1, ils occupent encore préférentiellement la zone 1 ( $34 \pm 3\%$ ), mais de façon moins marquée que lors de la période précédente. Après TS2, leur répartition spatiale devient plus homogène dans le bassin, et aucune zone ne semble privilégiée ; le taux de résidence dans la zone 1 ne représente plus que  $27 \pm 4\%$ .

Le groupe, quant à lui, ne privilégie aucune zone pendant la période contrôle, se répartit principalement dans les zones 1, 3 et 4 après TS1, puis de nouveau dans toutes les zones après TS2.





**Figure 3.** Taux de résidence (moyenne  $\pm$  SE, en %) des manipulateurs et du groupe dans chaque zone du bassin pour la souche Massal. Les lettres indiquent les différences significatives entre les moyennes.

**Tableau 1.** Résultats des ANOVA et des tests de Newman-Keuls utilisés pour tester les différences des taux de résidence des manipulateurs et du groupe de bars issus de la première génération de domestication et de sélection entre les périodes de l'expérience et les zones du bassin. Z1 : zone 1, Z2 : zone 2, Z3 : zone 3, Z4 : zone 4 ; C : durant la période contrôle, TS1 : après le premier facteur de stress, TS2 : après le deuxième facteur de stress.

<b>MASSAL</b>								
Source	Manipulateurs				Groupe			
	df	F	p	Newman and Keuls	df	F	p	Newman and Keuls
Période	2 & 72	0	1	ns	2 & 72	0	1	ns
Bassin	2 & 72	0	1	ns	2 & 72	0	1	ns
Zone	3 & 72	14,029	< 0,0001	*	3 & 72	8,714	< 0,0001	*
Période x Zone	6 & 72	4,196	0,001	Z1 > Z2 = Z3 = Z4 pour C Z1 ≥ Z3 ≥ Z2 = Z4 pour TS1 Z1 = Z2 = Z3 = Z4 pour TS2  C ≥ TS1 ≥ TS2 pour Z1 C = TS1 = TS2 pour Z2, Z3 et Z4	6 & 72	2,448	0,033	Z2 < Z1 = Z3 = Z4 pour TS1 Z1 = Z2 = Z3 = Z4 pour C et TS2  C = TS1 = TS2 pour Z1, Z2, Z3 et Z4
<b>SAUVAGE</b>								
Source	Manipulateurs				Groupe			
	df	F	p	Newman and Keuls	df	F	p	Newman and Keuls
Période	2 & 48	0	1	ns	2 & 48	0	1	ns
Bassin	1 & 48	0	1	ns	1 & 48	0	1	ns
Zone	3 & 48	47,842	< 0,0001	*	3 & 48	4,408	0,008	*
Période x Zone	6 & 48	2,87	0,018	Z1 ≥ Z2 = Z3 ≥ Z4 pour C Z1 > Z2 = Z3 = Z4 pour TS1 et TS2  C ≥ TS1 ≥ TS2 pour Z1 C = TS1 = TS2 pour Z2, Z3 et Z4	6 & 48	3,55	0,005	Z4 < Z1 = Z2 = Z3 pour C Z1 = Z2 = Z3 = Z4 pour TS1 et TS2  C < TS1 = TS2 pour Z4 C = TS1 = TS2 pour Z1, Z2 et Z3

\* test statistique non valide car l'interaction est significative

ns = non significatif

Pour tous les tests le seuil de significativité est  $p < 0,05$

Les répartitions spatiales des manipulateurs et du groupe se révèlent identiques pour chaque zone et pour chaque période ( $F_{1,192} = 0,001$  ;  $p > 0,05$ ).

Pour la souche *Sauvage*, seul un changement de manipulateur est observé entre J53 et J77.

Ces manipulateurs occupent davantage la zone 1, que ce soit pendant la période contrôle ou après TS1 et TS2 (Fig.4, Tableau 1). Le taux de résidence des manipulateurs dans cette zone augmente significativement au cours du temps passant de  $35 \pm 4$  % durant la période contrôle à respectivement  $44 \pm 10$  et  $49 \pm 8$  % après TS1 et TS2. Aucune évolution du taux de résidence des manipulateurs dans les 3 autres zones n'est observée au cours du temps.

La répartition spatiale du groupe est relativement homogène tout au long de l'expérience. Seule une évolution temporelle du taux de résidence des poissons dans la zone 4 est observée ; moins occupée pendant la période contrôle ( $17 \pm 5$  %) qu'après TS1 ( $25 \pm 1$  %) et TS2 ( $24 \pm 3$  %).

Groupe et manipulateurs occupent l'espace différemment ( $F_{3,118} = 14,620$  ;  $p < 0,001$ ) ; dans la zone 1, le taux de résidence des manipulateurs est supérieur à celui du groupe alors que c'est l'inverse pour la zone 4. Les deux autres zones sont occupées dans les mêmes proportions par les deux catégories de poissons.

La répartition spatiale des manipulateurs et du groupe de la souche *Massal* sont différentes de celles de la souche *Sauvage* tout au long de l'expérimentation ( $F_{1,39} = 5,946$  ;  $p = 0,019$  ;  $F_{1,39} = 6,526$  ;  $p = 0,015$ ).

### 3.1.2. Souches *C+* et *C0*

Au cours de cette expérience, trois changements de manipulateur sont observés pour la souche *C+* ; les deux premiers entre J21 et J42 et le troisième entre J42 et J63.

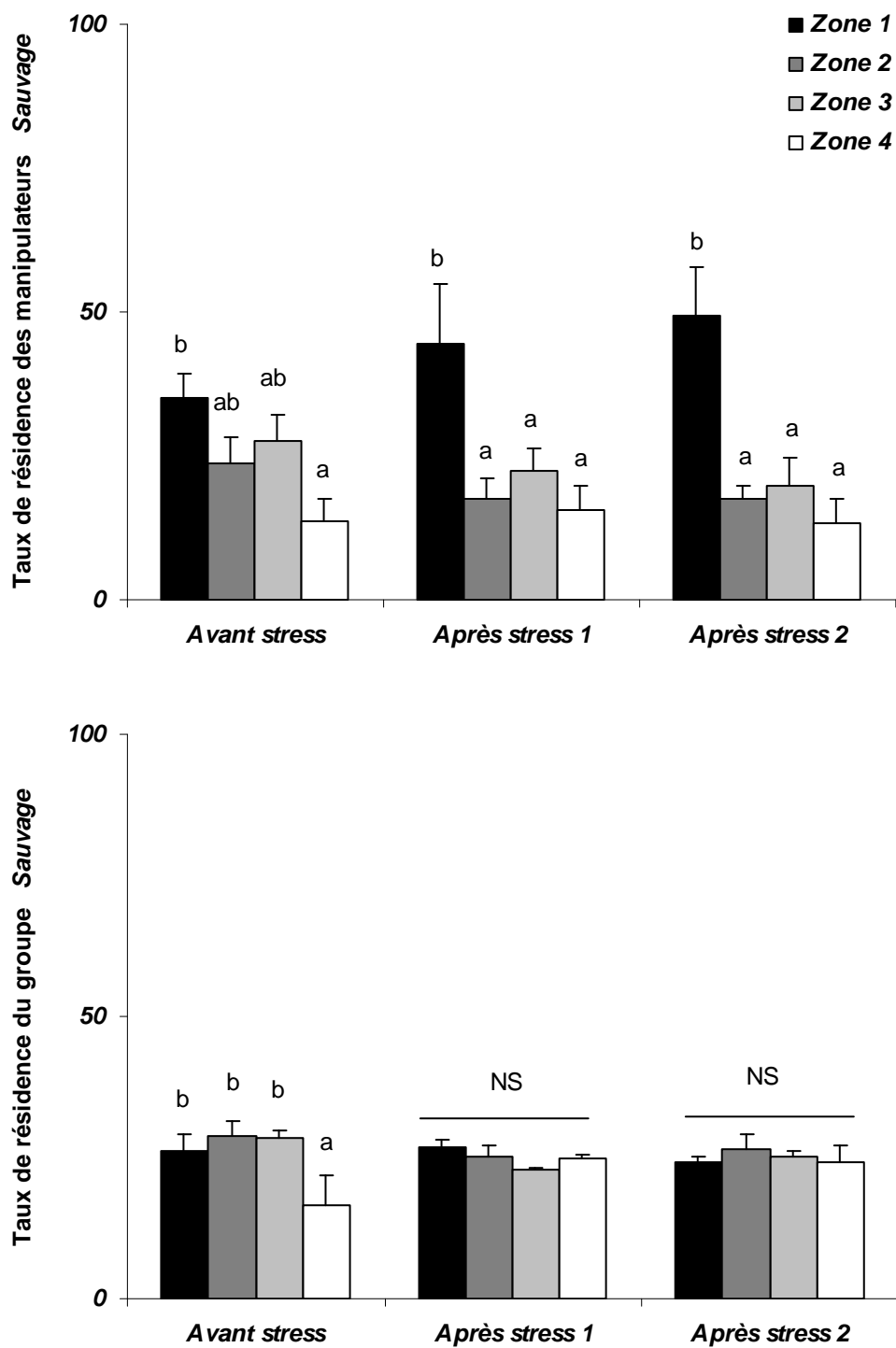
Ceux de la souche *C+* présentent une occupation du bassin différente avant et après les TS (Tableau 2). Pendant la période contrôle, aucune zone du bassin n'est privilégiée, alors qu'après TS1 et TS2, le taux de résidence dans la zone 1 est plus important que dans les autres zones du bassin (Fig.5) :  $26 \pm 4$  % pendant la période contrôle,  $46 \pm 3$  % après TS1 et  $44 \pm 7$  % après TS2. Aucune évolution n'est observée au cours du temps pour les 3 autres zones (Tableau 2).

Le groupe, quant à lui, présente une répartition spatiale homogène dans tout le bassin pendant la période contrôle et après TS2 alors qu'après TS1, les poissons du groupe occupent principalement la zone 1 ( $31 \pm 1$  %).

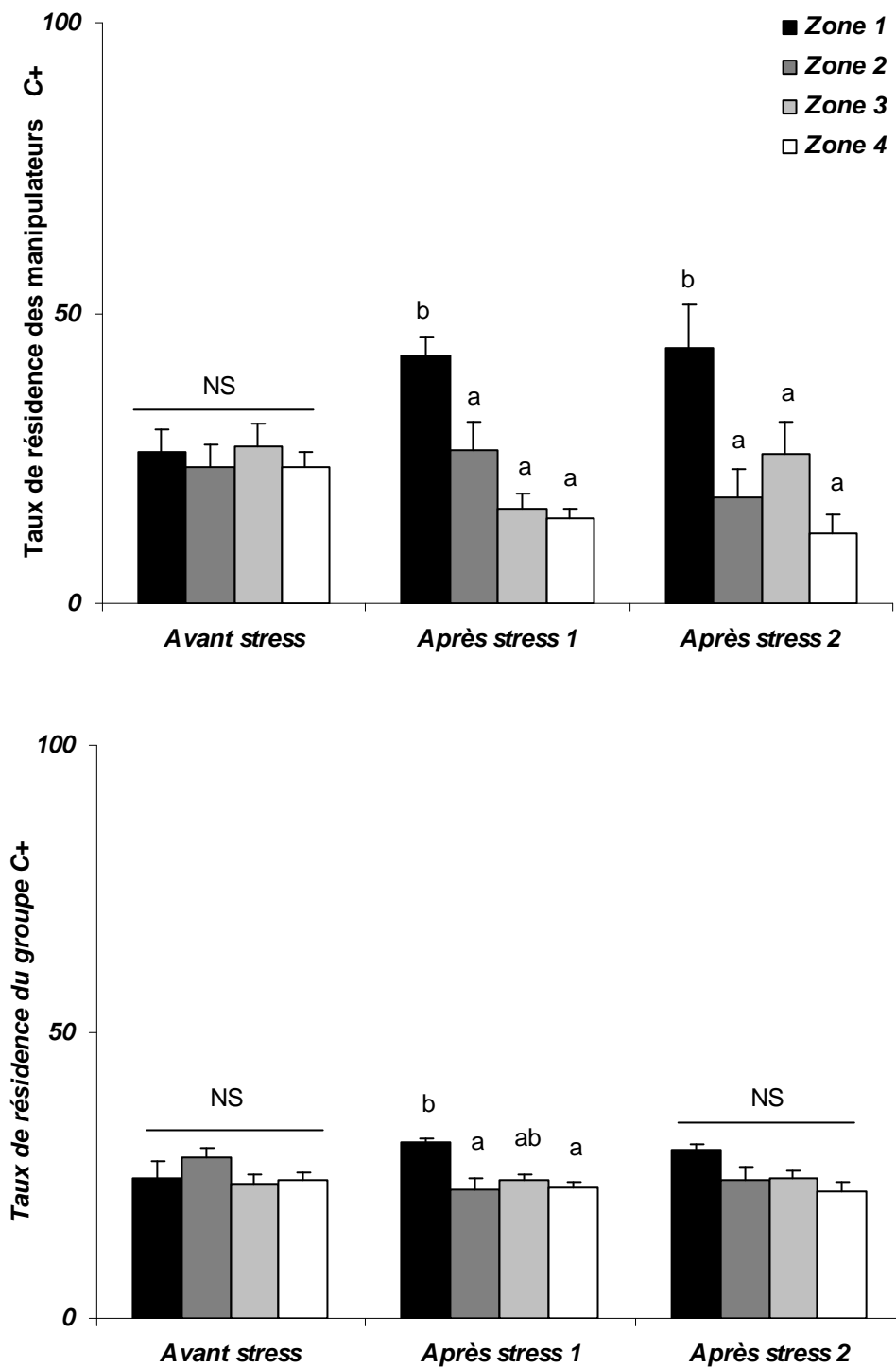
Groupe et manipulateurs utilisent l'espace différemment ( $F_{3,168} = 6,352$  ;  $p < 0,001$ ), les manipulateurs étant davantage dans la zone 1 que le groupe, mais l'occupation des trois autres zones est identique pour les deux catégories de poissons.

Pour la souche *C0*, seul un changement de manipulateur est observé pour un des bassins entre J42 et J 63.

Leur répartition dans le bassin évolue au cours de l'expérience : pendant la période contrôle, ils occupent de façon homogène les 4 zones (Fig.6, Tableau 2), puis, après TS1 et TS2, occupent de façon préférentielle la zone 1 au détriment des autres zones du bassin. Le taux de résidence dans la zone 1 passe de  $26 \pm 4$  % durant la période contrôle à  $46 \pm 2$  % après les TS. Aucune évolution du taux de résidence dans les zones 2, 3 et 4 n'est observée au cours de l'étude.



**Figure 4.** Taux de résidence (moyenne  $\pm$  SE, en %) des manipulateurs et du groupe dans chaque zone du bassin pour la souche Sauvage. Les lettres indiquent les différences significatives entre les moyennes.



**Figure 5.** Taux de résidence (moyenne  $\pm$  SE, en %) des manipulateurs et du groupe dans chaque zone du bassin pour la souche C+. Les lettres indiquent les différences significatives entre les moyennes.

**Table 2.** Résultats des ANOVA et des tests de Newman-Keuls utilisés pour tester les différences des taux de résidence des manipulateurs et du groupe de bars issus de la deuxième génération de domestication et de sélection entre les périodes de l'expérience et les zones du bassin. Z1 : zone 1, Z2 : zone 2, Z3 : zone 3, Z4 : zone 4 ; C : durant la période contrôle, TS1 : après le premier facteur de stress, TS2 : après le deuxième facteur de stress.

<b>C+</b>								
Source	Manipulateurs				Groupe			
	df	F	p	Newman and Keuls	df	F	p	Newman and Keuls
Période	2 & 84	0	1	ns	2 & 84	0	1	ns
Bassin	2 & 84	0	1	ns	2 & 84	0	1	ns
Zone	3 & 84	12,730	< 0,0001	*	3 & 84	5,530	0,002	*
Période x Zone	6 & 84	9,231	< 0,0001	Z1 = Z2 = Z3 = Z4 pour C Z1 > Z2 = Z3 = Z4 pour TS1 et TS2  C < TS1 = TS2 pour Z1 C = TS1 = TS2 pour Z2, Z3 et Z4	6 & 84	2,615	0,022	Z1 ≥ Z3 ≥ Z2 = Z4 pour TS1 Z1 = Z2 = Z3 = Z4 pour C et TS2  C = TS1 = TS2 pour Z1, Z2, Z3 et Z4
<b>C0</b>								
Source	Manipulateurs				Groupe			
	df	F	p	Newman and Keuls	df	F	p	Newman and Keuls
Période	2 & 72	0	1	ns	2 & 72	0	1	ns
Bassin	2 & 72	0	1	ns	2 & 72	0	1	ns
Zone	3 & 72	22,802	< 0,0001	*	3 & 72	15,179	< 0,0001	*
Période x Zone	6 & 72	5,516	0,0001	Z1 = Z2 = Z3 = Z4 pour C Z1 > Z2 = Z3 = Z4 pour TS1 et TS2  C < TS1 = TS2 pour Z1 C = TS1 = TS2 pour Z2, Z3 et Z4	6 & 72	2,540	0,027	Z2 ≤ Z1 = Z3 ≤ Z4 pour C Z2 ≤ Z3 ≤ Z4 ≤ Z1 pour TS1 Z1 > Z2 = Z3 = Z4 pour TS2  C = TS1 = TS2 pour Z1, Z2, Z3 et Z4

\* test statistique non valide car l'interaction est significative

ns = non significatif

Pour tous les tests le seuil de significativité est p<0,05

Le groupe occupe également l'espace différemment avant et après les TS : pendant la période contrôle, ils sont moins dans la zone 2 et davantage dans la zone 4 (Fig.6, Tableau 2). Après TS1, ils privilégient les zones 1 et 4 et après TS2, seule la zone 1 reste préférentiellement occupée par l'ensemble des poissons du groupe.

Groupe et manipulateurs se répartissent différemment dans le bassin ( $F_{3,192} = 9,630$  ;  $p < 0,001$ ) : les manipulateurs étant plus en zone 1 et le groupe en zone 4. Les zones 2 et 3, quant à elles, sont occupées de la même manière par les deux catégories de poissons.

La répartition spatiale des manipulateurs et du groupe des deux souches ne sont pas significativement différentes au cours du temps.

### 3.1.3. Comparaison des deux générations

Aucune différence n'est mise en évidence entre les deux générations que ce soit pour les manipulateurs ( $F_{3,84} = 2,265$  ;  $p = 0,087$ ) ou pour le groupe ( $F_{3,84} = 1,800$ ,  $p = 0,153$ ). Seule la répartition spatiale des manipulateurs de la souche *Massal* diffère de celle des manipulateurs de la souche *C+* durant la période contrôle ( $F_{2,45} = 9,634$  ;  $p < 0,0001$ ).

## 3.2. Vitesse de nage des poissons manipulateurs

### 3.2.1. Souches *Sauvage* et *Massal*

La vitesse de nage des manipulateurs des deux souches est identique ( $F_{1,39} = 0,306$  ;  $p = 0,583$  ; Fig.7), mais elle diminue au cours du temps ( $F_{2,39} = 3,239$  ;  $p = 0,049$ ). Les manipulateurs des deux souches nagent à une vitesse moyenne de  $12 \pm 1 \text{ cm.s}^{-1}$  pendant la période contrôle, de  $11 \pm 1 \text{ cm.s}^{-1}$  après TS1 et de  $10 \pm 1 \text{ cm.s}^{-1}$  après TS2.

### 3.2.2. Souches *C+* et *CO*

La vitesse de nage des poissons manipulateurs est identique quelque soit la souche considérée ( $F_{1,45} = 0,842$  ;  $p = 0,364$ ) et aucune variation est observée après les TS ( $F_{2,45} = 1,961$ ,  $p = 0,152$  ; Fig.7). La vitesse de nage moyenne pour l'ensemble de ces poissons est de  $14 \pm 1 \text{ cm.s}^{-1}$  pendant toute l'expérience.

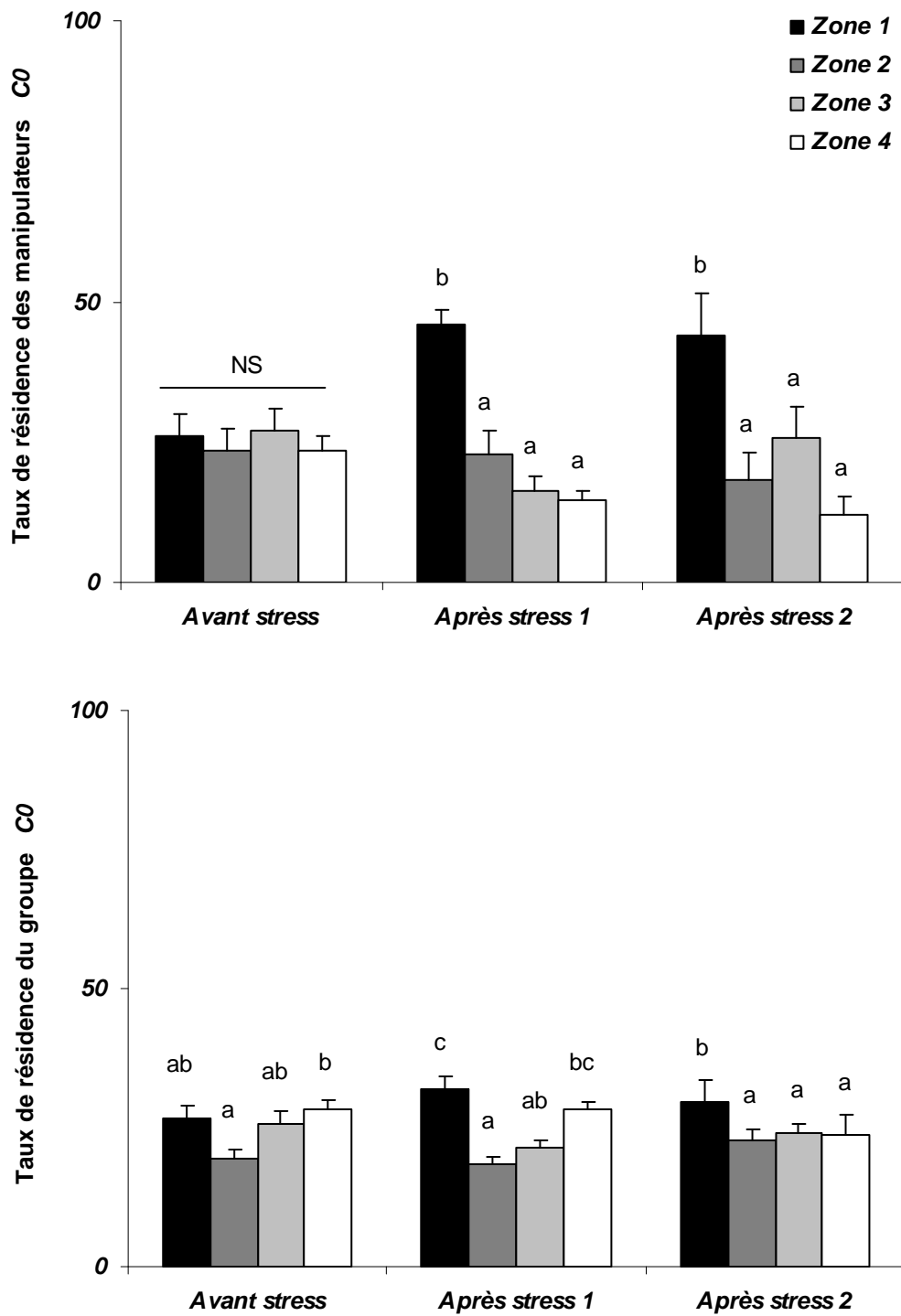
### 3.2.3. Comparaison des deux générations

La vitesse de nage des manipulateurs *Sauvage* et *Massal* est inférieure à celle des manipulateurs *C+* et *CO* tout au long de l'expérience ( $F_{3,84} = 0,883$ ,  $p < 0,0001$ ).

## 4. Discussion

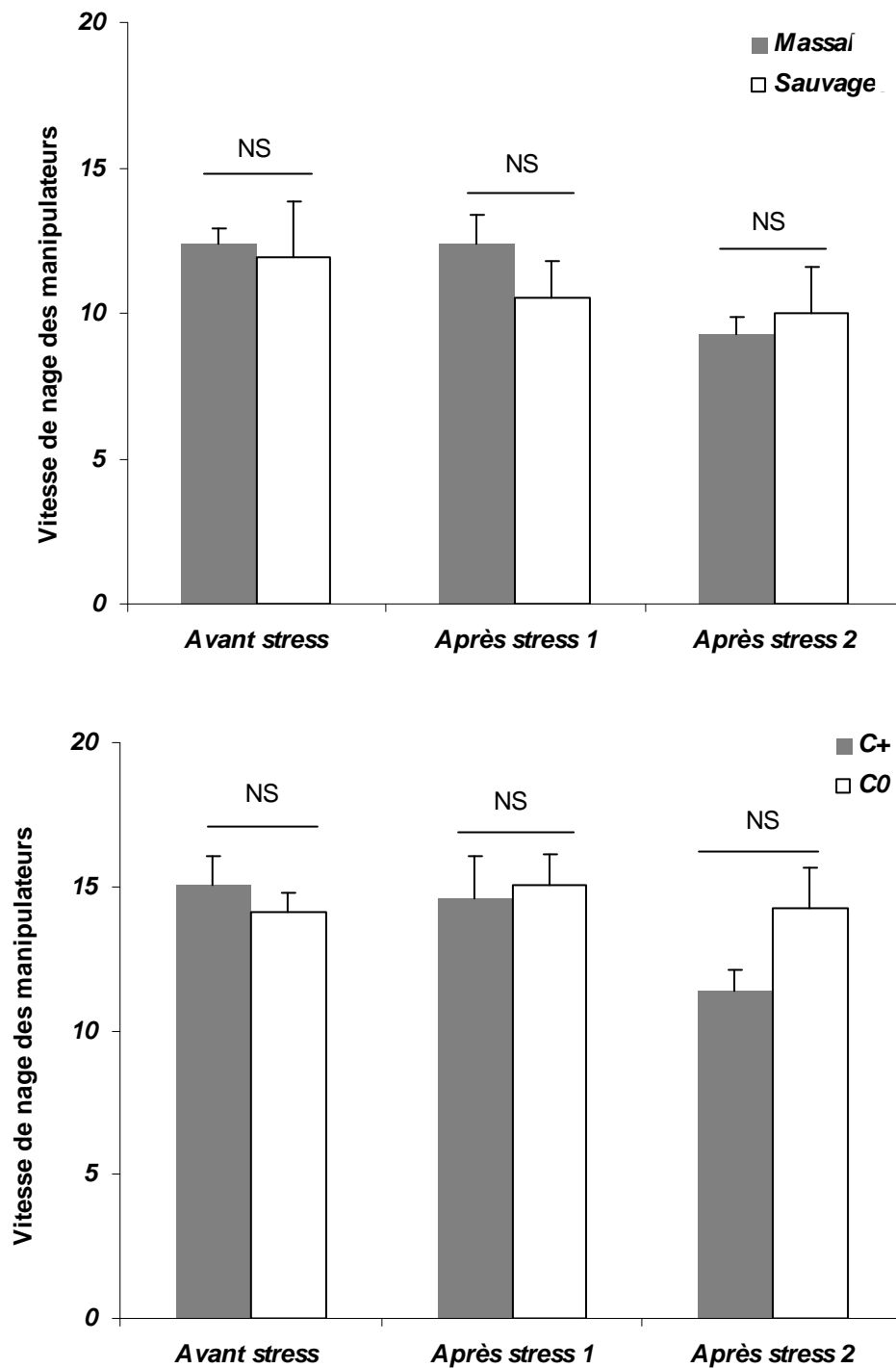
### Effets du stress aigu sur la répartition spatiale des individus manipulateurs et du groupe

Les analyses de la répartition spatiale dans le bassin des individus manipulateurs de chaque souche montrent une évolution de l'occupation des zones en réponse à un facteur de stress aigu.



**Figure 6.** Taux de résidence (moyenne  $\pm$  SE, en %) des manipulateurs et du groupe dans chaque zone du bassin pour la souche C0. Les lettres indiquent les différences significatives entre les moyennes.





**Figure 7.** Vitesse de nage (moyenne  $\pm$  SE, en  $\text{cm.s}^{-1}$ ) des poissons manipulateurs issus de la première (Massal et Sauvage) et de la deuxième (C+ et C0) génération de domestication et de sélection.

Pendant la période contrôle, les poissons de première génération (*Massal* et *Sauvage*) occupent principalement la zone d'alimentation (zone 1) alors que ceux issus de la deuxième génération (*C+* et *CO*) se répartissent de façon relativement homogène dans le bassin. Les individus manipulateurs de première génération présentent donc dès le début de l'expérience un intérêt tout particulier pour la zone d'alimentation contrairement à ceux de deuxième génération. Ces observations nous permettent d'émettre l'hypothèse que la structure sociale des poissons de première génération de domestication serait moins bien établie et que les manipulateurs de ces souches pourraient confirmer leur statut social au sein du groupe en restant principalement près du self-feeder. En effet, Chen *et al.* (2002) ont montré, chez les truites arc-en-ciel, que le statut social des poissons était étroitement lié à leur capacité à utiliser le self-feeder et dans le même ordre d'idées Johnsson *et al.* (2006) ont montré que dans le milieu naturel les individus "dominants" monopolisaient spatialement et temporellement la source d'alimentation.

Après le premier facteur de stress aigu, la zone d'alimentation semble privilégiée par les poissons manipulateurs issus de toutes les souches. L'étude de leur comportement alimentaire pendant la même période, montre qu'ils augmentent de façon importante leur activité sur le self-feeder. L'occupation croissante de la zone 1 par ces poissons semblerait donc cette fois à mettre en relation avec leur motivation à s'alimenter. Le deuxième facteur de stress aigu quant à lui, ne semble pas avoir d'effet marqué sur la répartition spatiale des individus manipulateurs de chaque souche, même si la zone d'alimentation reste préférentiellement occupée par ces individus. Ce comportement confirme en partie les observations réalisées sur le comportement alimentaire (Chapitres 4 et 5) : les poissons issus des souches *Massal* et *Sauvage* ont une activité alimentaire toujours aussi importante après le deuxième facteur de stress et restent majoritairement près du self-feeder. Les manipulateurs des souches *C+* et *CO*, quant à eux, activent le self-feeder autant que pendant la période contrôle ; le fait que ces poissons occupent majoritairement la zone d'alimentation pourrait s'expliquer par la nécessité de maintenir leur statut social au sein du groupe.

La répartition des groupes dans les bassins semble beaucoup plus homogène que celle de leurs manipulateurs : pendant la période contrôle, les souches *Massal* et *C+* se répartissent de façon équivalente dans tout le bassin et seuls les bars *Sauvage* sont moins présents dans la zone 4 à l'inverse des *CO*. Après le premier facteur de stress, ils ont tendance à se répartir préférentiellement soit dans la zone 1 soit dans la zone 4, voire les deux, mais cette évolution du taux de résidence est en générale modérée. Après le deuxième facteur de stress aigu, tous les groupes ont tendance à nouveau, à se répartir de façon homogène dans tout le bassin. Les manipulateurs principaux étant à l'origine de la majeure partie des demandes alimentaires réalisées par le groupe (Chapitres 2 et 3), il se peut que ces individus soient également à l'origine de la répartition spatiale du groupe dans le bassin. La comparaison de la répartition spatiale des manipulateurs et du groupe montre qu'en général elles sont différentes ; la zone d'alimentation semblant privilégiée par le manipulateur, alors que le groupe reste principalement en zone 4. Cette répartition particulière pourrait s'expliquer par les observations réalisées par Krause *et al.* (1998) qui montrent qu'en général dans un banc de poisson, le leader se situe à sa tête et qu'il est caractérisé par un succès alimentaire plus élevé que les autres poissons. Ces résultats couplés à ceux de nos Chapitres 2 et 3 nous laisse penser que le manipulateur se place principalement en tête du groupe pour occuper la zone d'alimentation, laissant les autres membres du groupe en retrait (zone 4) et attendant l'activation du self-feeder par le manipulateur. Ceci nous permet de conclure que le comportement natatoire du manipulateur principal dirige en partie celui du groupe et que par conséquent le leader alimentaire serait également le leader natatoire.

## Effets du stress aigu sur la vitesse de nage des individus manipulateurs

Il est admis que des facteurs de stress, tels que des changements environnementaux, peuvent altérer la vitesse de nage des poissons (Olla & Studholme, 1971). Ces auteurs montrent chez le tassergal (*Pomatomus saltatrix*) qu'un faible changement de température de l'eau peut augmenter la vitesse de nage des poissons. Chez les flétans (*Hippoglossus hippoglossus*) le même phénomène peut être également induit par l'augmentation de la densité d'élevage (Kristiansen *et al.*, 2004).

Dans notre étude, les facteurs de stress testés semblent également modifier la vitesse de nage des manipulateurs principaux des souches *Massal* et *Sauvage* qui a tendance à diminuer au cours du temps. Cette baisse de l'activité natatoire pourrait s'expliquer, là encore, simplement par l'augmentation du nombre de demandes alimentaires, le manipulateur étant obligé de pénétrer dans le tube du self-feeder pour activer le levier et de rester ainsi quelques secondes voire quelques minutes immobile devant ou dans le tube.

Les poissons de deuxième génération, par contre, ne semblent pas affectés dans leur vitesse de nage alors qu'ils sont également caractérisés par une augmentation du taux de résidence en zone 1 et du nombre de demandes alimentaires après les traitements induisant un stress. Cette différence entre la première et la deuxième génération peut être simplement due au fait que les manipulateurs *C+* et *CO* soient globalement plus mobiles dans le bassin entre deux demandes alimentaires, mais cela reste à vérifier.

Ainsi dans notre étude, plus que la conséquence directe de l'effet du stress, la diminution de la vitesse de nage semble être un indicateur du changement de la répartition spatiale des poissons dans le bassin.

## 5. Conclusion

Cette étude a mis en évidence qu'en plus d'un rôle déterminant dans la distribution alimentaire, l'individu manipulateur a un rôle directeur dans la répartition spatiale du groupe. Cependant, le comportement natatoire est un critère à forte variabilité individuelle et encore trop complexe pour permettre d'évaluer l'influence de la domestication et de la sélection sur la capacité de tolérance au stress des bars. De plus, les effets du stress observés sur les deux variables étudiées, la répartition spatiale et la vitesse de nage, semblent être qu'une conséquence des changements intervenant sur la motivation à s'alimenter des poissons (Chapitres 4 et 5). A ce titre, ces deux variables peuvent être considérées comme des indicateurs secondaires des effets du stress alors que la motivation à s'alimenter semble en être un indicateur primaire. Il serait donc intéressant de poursuivre l'effort d'investigation pour inter-calibrer ces variables comportementales afin d'aboutir à l'identification d'indicateurs de stress utilisables par les pisciculteurs, adaptés aux systèmes d'élevage voire permettant d'évaluer plus clairement l'influence de la domestication et de la sélection sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être des bars en élevage.

*Cette étude a été co-réalisée par Emilie Durand (M2 recherche) que j'ai co-encadrée à cette occasion avec Marie-Laure Bégout.*

Durand, E. (2008) Effets des stress aigus sur le comportement natatoire de quatre souches génétiques de bar européen (*Dicentrarchus labrax*). Rapport de Master II Biodiversité et Ecologie Continentale et Marine, Université du littoral Côte d'Opale.

Risk-taking behaviour variation over time in sea bass  
(*Dicentrarchus labrax*, L.): effects of day-night alternation,  
fish phenotypic characteristics and selection for growth

# Chapitre

Chapitre

8

Millot S.  
Bégout M.-L.  
Chatain B.

*Journal of Fish Biology*, en  
révision



## Résumé

L'étude de la personnalité des poissons (audacieux ou timide) semble être un critère pertinent dans l'évaluation des capacités d'adaptation individuelle en milieu d'élevage. En effet, la personnalité des poissons est souvent en étroite relation avec d'autres traits de caractère leur permettant une plus grande adaptabilité en milieu d'élevage. Les poissons identifiés comme « audacieux » sont souvent caractérisés par une capacité de prise de risque plus importante, un statut leader ou dominant au sein du groupe, une capacité d'apprentissage accrue, ou un succès reproducteur plus important. Une des approches communément utilisée dans l'évaluation de l'influence de la domestication et de la sélection chez une espèce animale est de comparer une population sauvage avec une population domestiquée. C'est pour cette raison que dans cette étude, la caractérisation de la personnalité est réalisée chez des bars issus de parents sauvages (*Sauvage*) et chez des bars issus de parents domestiqués et sélectionnés sur la croissance (*Sélectionnés*). Durant la totalité de l'expérience (112 jours), les bars sont élevés dans des bassins de 450l d'eau de mer, en conditions stables et contrôlées (20°C et une salinité de 22) et sous une photopériode constante (16 heures de jour et 8 heures de nuit). Chaque bassin (trois par souche) est équipé de self-feeder afin de caractériser le comportement alimentaire individuel au cours du temps. Trois tests de prise de risque (T1, T2 et T3 de 24h chacun comprenant 16 heures de jour et 8 heures de nuit) sont réalisés à plus d'un mois d'intervalle sur 180 bars issus de chaque souche dans le but de caractériser leur comportement au cours du temps et en relation avec l'alternance des périodes de jour et de nuit. Le test de prise de risque consiste en un test de choix entre deux zones du bassin: une zone « sécurisante » (sombre et où tous les membres du groupe sont regroupés au début du test mais sans possibilité de s'alimenter) et une zone « à risque » (fortement éclairée mais où les poissons peuvent potentiellement s'alimenter) séparées par une plaque opaque avec en son milieu une ouverture munie d'une antenne détectrice de PIT tag. Le niveau de prise de risque est évalué *via* l'analyse du nombre de passages effectués entre les deux zones, du temps de latence avant le premier passage dans la zone à risque et du temps passé dans chaque zone pour chacun des poissons. Les résultats mettent en évidence que quelque soit la souche ou le test considérés, les bars passent plus de temps du côté « sécurisant » que du côté « à risque » et que les passages dans cette dernière zone se font préférentiellement durant la nuit, lorsque le facteur de stress « lumière » disparaît. Une évolution du comportement de prise de risque apparaît, cependant, au cours du temps : lors du test T1, le temps de latence avant le premier passage (généralement nocturne) d'un bar dans la zone « à risque » est très important, très peu de passages sont effectués entre les deux zones et lorsqu'un individu pénètre dans la zone « à risque » il semble extrêmement stressé (nage rapide et désorientation) puis fini par rester prostré dans un angle du bassin, parfois jusqu'à la fin du test. Au cours du test T2, les premières entrées dans la zone « à risque » apparaissent beaucoup plus rapidement, le nombre de passages d'une zone à l'autre augmente fortement et les poissons semblent nettement moins stressés (nage plus calme et passage fluide à travers l'ouverture de la plaque opaque). Ce phénomène se confirme lors du troisième test. Cette évolution dans le comportement des bars s'explique par leurs capacités d'apprentissage et d'adaptation importante face à une situation nouvelle dans leur environnement d'élevage. Cependant, certaines différences apparaissent entre les deux souches testées : les bars issus des parents sauvages semblent beaucoup plus audacieux que les bars issus des parents sélectionnés pendant T1 et T2 ; au contraire pendant T3, les individus *Sauvage* montrent une diminution de leur prise de risque alors que les bars *Sélectionnés* sont caractérisés par une évolution constante de leur de prise de risque. De plus, en analysant les caractéristiques phénotypiques des individus les plus audacieux dans chacune des souches, il apparaît que ce trait de personnalité est corrélé avec

un poids faible chez les *Sauvage* et au contraire avec un poids important chez les *Sélectionnés*, et que ces individus sont également caractérisés par une forte activité de demande alimentaire sur le self-feeder, laissant à penser que l'aptitude à prendre des risques est intimement liée à l'état de faim et à la motivation à s'alimenter du poisson.

La variabilité des résultats de cette toute première étude ne permet cependant pas de conclure sur l'influence de la domestication et de la sélection sur les capacités d'adaptation et la tolérance au stress des bars. Il serait donc souhaitable de réaliser une expérience similaire sur des bars issus d'au moins une deuxième génération de domestication et de sélection.

# 1. Introduction

The study of individual variation in animal behaviour has increased over the last decade (Wilson, 1998). The potential effect of consistent “personality” traits, such as the bold and shy behaviour or differences in coping strategies was shown to be central in the understanding of such variability (Benus *et al.*, 1991; Wilson *et al.*, 1994; Coleman & Wilson, 1998). The propensity to take risks has implications in survival, reproduction and many other life history and behavioural traits (Budaev, 1997 a, b). Among others, boldness is considered as a personality trait and is generally defined as the propensity to take risks (Wilson *et al.*, 1993, 1994; Fraser *et al.*, 2001). Previous studies in fish have relied on a variety of tests to score boldness (*e.g.* showing a new object: Wright *et al.*, 2003; showing a new type of food: Coleman & Wilson, 1998; showing a threatening stimulus: Magnhagen & Staffan, 2005; or placing fish in a totally new environment: Brown & Braithwaite, 2004). Some studies also showed a relationship between boldness and other traits. For example, Ward *et al.* (2004) found that bold threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*, L.) tended to be at the front of fish shoal, Sneddon (2003) showed that bold rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) were able to learn a task more rapidly than shy individuals, Godin & Dugatkin (1996) observed that bolder male guppies (*Poecilia reticulata*, Peters) were more attractive to females and Sundström *et al.* (2004) reported that bold brown trout (*Salmo trutta*, L.) tended to become dominant. The propensity to take risks and other behavioural traits are also known to be heavily influenced by hunger and demographic variables such as age and sex (Wilson *et al.*, 1994; Krause *et al.*, 1998 a). Yet no study was realized on Moronidae fish family such as *Dicentrarchus labrax*, L. which is an important species in Mediterranean and Atlantic aquaculture and was recently domesticated. Domestication is defined as a process by which an animal population becomes adapted to the captive environment by genetic changes occurring over generations and environmentally-induced developmental events reoccurring at each generation (Price, 1984). Thus, characterize fish personality in order to evaluate the potential abilities in learning, stress tolerance or adaptation, appears essential to evaluate if domesticated fish present high welfare potential in rearing environment. Further, selective breeding is an unavoidable practice in the whole animal production but in marine fish, selection has been applied only recently (one or two generations) and growth is the major trait of interest. One commonly used approach, in studying the effect of domestication, is to compare wild and domestic stocks of a given species (Desforges & Wood-Gush, 1976; Boice, 1980; Price, 1980). For that reason, our study investigated personality traits on fish issued from wild or from brood fish selected for growth.

The aims of this study were to characterize sea bass personality traits (bold *versus* shy) by offering them the choice between a safe zone (shadowed and without food) and a risky zone (bright open and potentially with food) and to measure how this behaviour changed over time and was influenced by day-night alternation. Therefore, we determined how the fish from the two strains differed in their responses and we characterized bolder individuals through the level of correlations existing between individual risk-taking behaviour and (i) individual phenotypic traits (weight, length, body condition factor, specific growth rate) or (ii) individual feed demand.

## 2. Material and methods

### 2.1. Experimental set up

The two tested strains have been hatched and reared at the experimental research station of Ifremer in Palavas-les-Flots (France). They are issued from a full factorial crossing (each female is crossed with each male) of 13 wild Mediterranean females with (i) 20 Atlantic wild males (*Wild* strain) and (ii) 19 Atlantic selected males (*Selected* strain) respectively. The *Wild* males were chosen among an Atlantic wild population kept in captivity for a least one year. The selected males have been obtained by selecting the 5% longest fish at the same age (20 months, 400 g) in a population reared for two years according to sea bass rearing standards (Chatain, 1994). Thus all fish tested in this experiment never experienced the natural environment, had the same life history except that their parents presented different levels of domestication and selection. To summarize, *Wild* strain was characterized by fish issued from wild parents with at least on year in captivity and *Selected* strain by parents with one generation of captivity (*i.e.* domestication) and one generation of selection for growth.

The experiment was carried out testing each condition with a triplicate per strain. The 6 tanks (400 l each, size: 1m long x 1m wide x 0.5 m deep) were supplied with recirculated seawater. For each tank, flow rate was  $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  and water renewal 10 % per day. Water temperature was maintained at  $20.2 \pm 1.5^\circ\text{C}$ , oxygenation above 80 % of saturation in the water-outlet, and salinity was  $22.3 \pm 3.3$ . Tanks were sheltered by black curtains and individually lighted by a 120 W lamp placed at 90 cm above the water surface. Light regime was 16:8 LD (light onset at 06:00) with twilight transition periods of 30 min. Fish were fed by self-feeders (Millot *et al.*, 2008) with a commercial diet for sea bass (Neo Grower Extra Marin 4.0, France) containing 45 % of crude protein and 20 % of lipid according to the manufacturer. The experiment was realized over 112 days, with 360 fish (60 fish per tank, 180 fish per strain) 14 months-old at the beginning of the study.

### 2.2. Test material and procedure

To monitor the risk taking behaviour, each tank was separated in two unequal zones by an opaque divider. The safe zone was shadowed, represented  $2/3$  of the space and gathered all fish at the beginning of the experiment. The other zone, the risky zone, was enlightened, represented  $1/3$  of the space and included the self-feeder and feeding area. The opaque divider had a circular (12 cm  $\varnothing$ ) opening in its center that was equipped with a PIT-tag detection antenna connected to a control device. Each fish carried a PIT-tag inserted horizontally just behind the head to prevent any position change subsequent to its implantation. Such a set up allowed to monitor the individual passages through the opaque divider, and the associated time stamp. The study was completed by visual observations and video recording (Mini color CMOS camera (Velleman) and hard disk recorder).

The three tests were done on the same fish groups, under stable environmental conditions, and according to the same procedure, each test lasting 24h. The divider was installed in each tank at 10:00 and the opening was blocked for 30 min before the test started. The tests were operated at Day 1, the beginning of experiment (D1, T1), at Day 48 (D48, T2) and at Day 85 (D85, T3).



The device to operate the feeders comprised a screened type sensor (a metal rod protected by a PVC cylinder surrounded by the PIT tag detection antenna; Covès *et al.*, 2006; Millot *et al.*, 2008) and a control box. During all the experiment, fish were placed under self-feeding conditions (Covès *et al.*, 2006; Millot *et al.*, 2008) and food access was possible 24 h a day, except during the risk-taking test. After each activation, fish were rewarded with 50 pellets and feed dispensers were regulated to distribute a mean of 0.5 g kg<sup>-1</sup> and 0.3 g kg<sup>-1</sup> of fish at the beginning and at the end of the experiment respectively. Triggering activity recordings were done continuously for 112 days. Such a set up allowed us to monitor the number, the date and the hour of feed demand in each tank.

### 2.3. Data analysis

The traits of interest and the variables chosen to measure them were the following:

- Group behaviour (proportion of the fish population entering in the risky zone) was calculated.
- Individual risk-taking behaviour was evaluated by analyzing the total time spent in the risky zone, the number of passages per hour through the opening, the time spent in the risky zone at each visit and the latency before the first entry in the risky zone. The comparison of the data between each test gave us an indication on the fish habituation and learning.
- The individual score emergence was also calculated as: [test duration (min) – emergence time (min)] / test duration (min), where total test duration was equal to 1440 min and emergence time corresponded to the time necessary to realize the first entry in the risky zone. Score emergence close to 0 therefore corresponded to a very late or no entry in the risky zone while close to 1, it corresponded to a very fast entry. Consistency between successive individual score emergence was evaluated (Pearson correlation between test n and n+1) as a proxy of leadership.
- Bold individuals were characterized by using the correlation level between individual score emergence or number of passages through the opening and phenotypic traits (weight, length, specific growth rate, body condition factor) and feed demand.

Fish individual weight was recorded at Day 1, 27, 53, 77, and 112 under light anesthesia with 0.08% of clove oil.

The specific growth rate was calculated as:

$SGR (\% \text{ body weight per day}) = 100 (\ln W_f - \ln W_i) / t$ , where  $W_f$  and  $W_i$  are the final and the initial body weight (g) respectively and  $t$  the total number of days.

The body condition factor was calculated as:  $K (\text{g cm}^{-3}) = 100 \times W \times L^{-3}$  where  $W$  is body weight (g) and  $L$  is the standard body length (cm).

The number of individual feed demand (FD) was recorded between each test:  $FD_{T1}$  (Day 1 to Day 48),  $FD_{T2}$  (Day 49 to Day 85) and  $FD_{T3}$  (Day 86 to Day 112).

The mean fish weight, length and body condition factor considered for the correlation with individual risk-taking behaviour were those measured at D1 for Test 1, at D53 for Test 2 and at D77 for Test 3 (Table I). Three periods of growth were considered for the same correlation:  $SGR_{T1}$  (Day 1 to Day 27),  $SGR_{T2}$  (Day 28 to Day 53) and  $SGR_{T3}$  (Day 77 to Day 112).

All mean values were expressed with the standard error (S.E.).

During the experiment, some fish died for different reasons (*i.e.* some jumped out of the tank or other natural causes...): it concerned 7 *Wild* and 9 *Selected* fish during all the experiment

duration. These fish were excluded from the data analysis from the beginning of the experiment to keep the same number and identity of fish studied during the three tests.

Data were analyzed for normality with a Shapiro-Wilk test and for homoscedacity with a Bartlett's test. The variable total time spent by a fish in the risky zone (%) has undergone an arcsine transformation to normalize data (Sokal & Rohlf, 1995).

Then, for all variables except latency, a repeated ANOVA was used to analyse the average differences between strain (fixed factor), day and night period (fixed factor repeated within test), tests (fixed factor) and tanks (random factor nested within strain). For latency, a repeated ANOVA was used to analyse the average differences between strains (fixed factor), tests (fixed factor) and tanks (random factor nested within strain). Homogeneous groups were determined with the *a posteriori* Newman and Keuls test (Dagnélie, 1975). Pearson correlations were calculated for each strain and each test separately, between the following variables: score emergence or number of individual passages per hour through the opening and fish individual weight, length, specific growth rate and feed demand. For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$  and analyses were performed using Minitab 15 and Statistica softwares.

**Table I.** Mean ( $\pm$  SE) fish weight (W), length (L), specific growth rate (SGR) and body condition factor (K) for each strain and for each test and results of one way ANOVA used to analyse the mean differences between strains for each test.

Variables	Test 1			Test 2			Test 3		
	Selected (n=171)	Wild (n=173)		Selected (n=171)	Wild (n=173)		Selected (n=171)	Wild (n=173)	
W (g)	126.83 $\pm$ 3.35	104.35 $\pm$ 2.45	***	135.84 $\pm$ 3.39	111.67 $\pm$ 2.44	***	153.38 $\pm$ 3.75	125.84 $\pm$ 2.80	***
L (cm)	21.71 $\pm$ 0.17	21.24 $\pm$ 0.59	ns	22.21 $\pm$ 0.17	21.13 $\pm$ 0.14	***	23.08 $\pm$ 0.17	21.94 $\pm$ 0.14	***
SGR (% day <sup>-1</sup> )	-0.07 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.05	*	0.34 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02	***	0.33 $\pm$ 0.04	0.43 $\pm$ 0.01	*
K (g cm <sup>-3</sup> )	1.19 $\pm$ 0.01	1.15 $\pm$ 0.01	***	1.20 $\pm$ 0.01	1.16 $\pm$ 0.01	***	1.21 $\pm$ 0.09	1.16 $\pm$ 0.01	***

Level of significance: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  and ns means no significant value.

### 3. Results

#### 3.1. Behavioural responses to the set up

During T1, the first fish entering in the risky zone appeared hyperactive. It swam very fast in all directions, banging into the tank divider and walls. After 30 s to 1 min of this type of behaviour, it stayed in a fix position in a tank corner. When a second fish was entering in the risky zone, its behaviour was the same than the first fish, which became again very active. On the contrary, during T2 and even more during T3, fish entries in the risky zone were slow, even for the first fish passage. During T2 and T3, a lot of fish remained in the risky zone, and were passing in and out of the risky zone continuously, slowly and slowly.

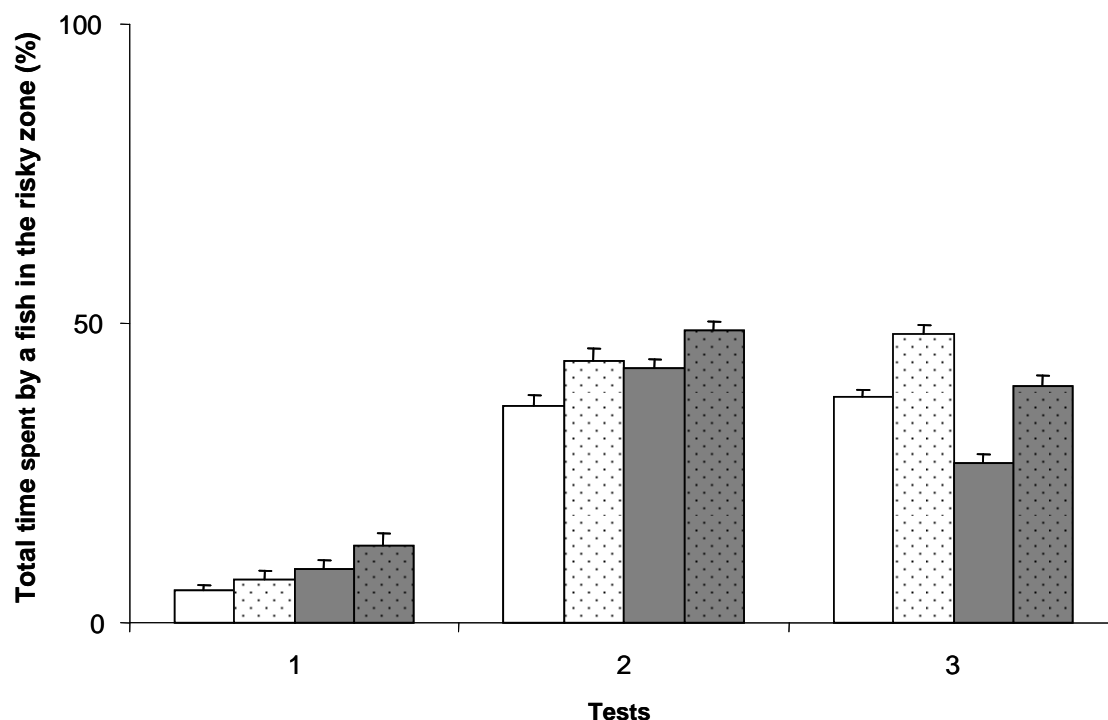
### 3.2. Proportion of the fish population entering in the risky zone

The proportion of *Wild* and *Selected* population entering in the risky zone was similar ( $F_{1,12}=0.03$ ,  $p>0.05$ ), but changed within time: it was much lower at T1 ( $23\pm 7\%$ ) than during T2 ( $89\pm 3\%$ ) and T3 ( $85\pm 8\%$ ;  $F_{2,12}=38.71$ ;  $p<0.001$ ). The proportion of fish entering in the risky zone during T1 and entering again during T2 was  $98\pm 2\%$  for *Wild* and *Selected* fish. Between T2 and T3, it was  $81\pm 21\%$  for *Wild* fish and  $98\pm 1\%$  for *Selected* fish.

### 3.3. Total time spent by a fish in the risky zone, influence of day-night alternation

As a general feature, both strains spent less time in the risky zone than in the safe zone (Fig. 1).

Whatever the strain, fish spent more time in the risky zone during the night period than during the day period (Table II). Strains behaviour only differed within time: *Wild* fish spent more time in the risky zone than *Selected* fish during T1 and T2, and less during T3. *Wild* fish showed a significant increase of time spent in the risky zone between T1 and T2, and a decrease between T2 and T3, while *Selected* strain showed a constant increase between T1 and T3.



**Figure 1.** Mean ( $\pm$  SE) total time spent by a fish in the risky zone (%) during day period (undotted) and night period (dotted) for each strain (*Selected* in white and *Wild* in grey) and for each test.

**Table II.** Results of repeated ANOVAs and Newman and Keuls tests used to analyse the average differences between strain (fixed factor), day and night period (fixed factor repeated within test), tests (fixed factor) and tanks (random factor nested within strain) for each variable. Abbreviations are as follows: W: Wild; S: Selected; T1: Test 1; T2: Test 2; T3: Test 3; N: Night; D: Day.

Source	Total time spent by a fish in the risk zone				Number of fish passages per hour through the opening			
	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls
Strain	1 & 2028	0.08	>0.05	*	1 & 2028	2.58	>0.05	*
Period (test)	3 & 2028	34.96	<0.001	N > D	3 & 2028	51.65	<0.001	N > D
Test	2 & 2028	676.5	<0.001	*	2 & 12028	427.31	<0.001	*
Tank (strain)	4 & 2028	15.93	<0.001	Tank differences	4 & 2028	71.03	<0.001	Tank differences
Strain x Period (test)	3 & 2028	0.22	>0.05	ns	3 & 2028	0.19	>0.05	ns
Strain x Test	2 & 2028	31.55	<0.01	W > S at T1 & T2 W < S at T3 T1 < T3 < T2 for W T1 < T2 < T3 for S	2 & 2028	49.12	<0.001	W = S at T1 W > S at T2 W < S at T3 T1 < T3 < T2 for W T1 < T2 < T3 for S

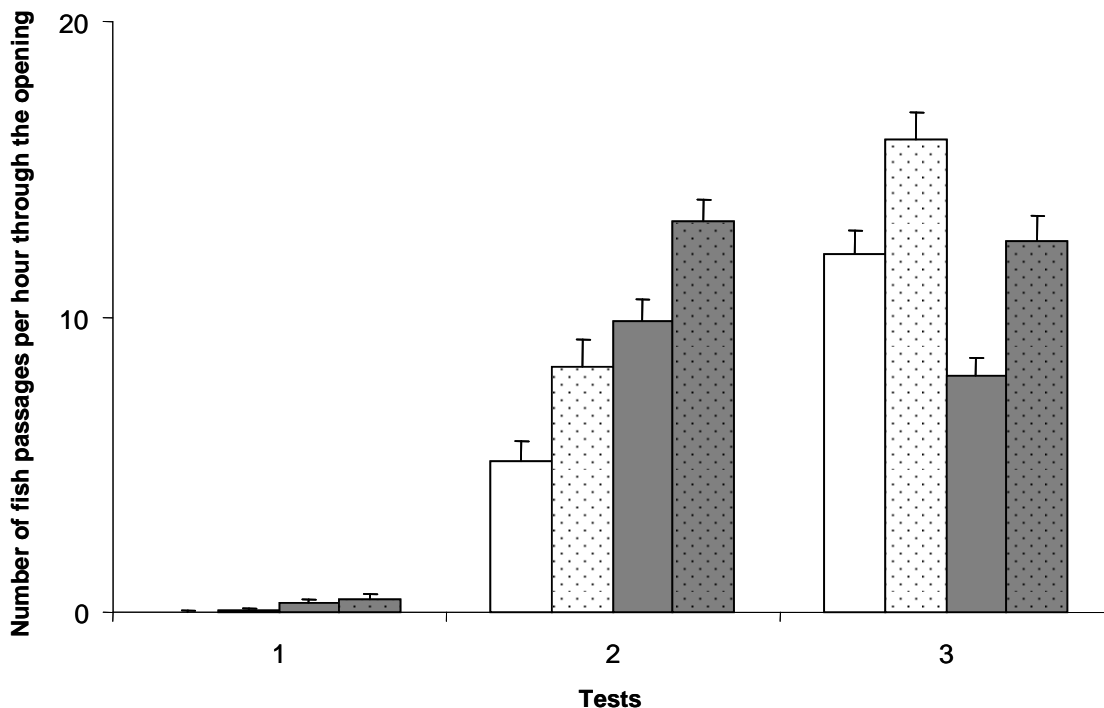
  

Source	Time spent by a fish in the risk zone at each visit				Latency before the first entry by a fish in the risk zone			
	df	F	P > F	Newman and Keuls	df	F	P > F	Newman and Keuls
Strain	1 & 1270	0.0002	>0.05	*	1 & 1014	0.23	>0.05	*
Period (test)	3 & 1270	10.27	<0.01	D > N	3 & 1014	822.34	<0.001	*
Test	2 & 1270	18.86	<0.001	*	2 & 1014	71.27	<0.001	Tank differences
Tank (strain)	4 & 1270	12.08	<0.001	Tank differences	4 & 1014	71.27	<0.001	Tank differences
Strain x Period (test)	3 & 1270	0.79	>0.05	ns	3 & 1014	31.56	<0.001	W = S at T1 W < S at T2 W > S at T3 T1 > T3 > T2 for W T1 > T2 > T3 for S
Strain x Test	2 & 1270	7.89	<0.01	W = S at T1 & T3 S > W at T2 T1 > T2 = T3 for W T1 > T2 > T3 for S	2 & 1014	31.56	<0.001	W = S at T1 W < S at T2 W > S at T3 T1 > T3 > T2 for W T1 > T2 > T3 for S

\* means these tests are not valid as interaction are significant.  
For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$ .

### 3.4. Number of fish passages per hour through the opening, influence of day-night alternation

Whatever the strain considered, the number of fish passages per hour through the opening was higher during the night period than during the day period (Fig.2, Table II). Both strain performed the same number of passage through the opening during the first test. The *Wild* fish performed more passages through the opening than *Selected* fish during the second test. During the third test, *Selected* fish performed more passages than *Wild* fish. The number of fish passages through the opening increased significantly between T1 and T2 for both strain, however it decreased for *Wild* strain at T3 while it increased significantly for *Selected* strain. For the *Wild* strain, this variable was positively correlated to individual feed demand (FD) at T1 and negatively correlated with fish specific growth rate (SGR) and body condition factor (K) at T3 (Table III). For the *Selected* strain, it was negatively correlated to K and positively correlated to fish SGR at T1 and to fish weight, length and feed demand at T2 and T3.



**Figure 2.** Mean ( $\pm$  SE) number of fish passages per hour through the opening during day period (undotted) and night period (dotted) for each strain (*Selected* in white and *Wild* in grey) and for each test.

**Table III.** Pearson correlation coefficient between the number of fish passages per hour through the opening (*Np*) and the individual score emergence (*SE*), fish weight (*W*), length (*L*), specific growth rate (*SGR*), body condition factor (*K*), and the number of individual feed demand (*FD*) for each strain and for each test.

Variables	Selected						Wild					
	Test 1 (n=171)		Test 2 (n= 171)		Test 3 (n=171)		Test 1 (n=173)		Test 2 (n= 173)		Test 3 (n=173)	
	Np	SE	Np	SE	Np	SE	Np	SE	Np	SE	Np	SE
W	-	-	0.240 **	-	0.267 ***	-	-	-	-	-0.221 **	-	-0.272 ***
L	-	-	0.228 **	-	0.269 ***	-	-	-	-	-0.211 **	-	-0.195 **
SGR	0.191 *	0.202 **	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.178 *	-
K	-0.176 *	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.283 ***	-0.293 ***
FD	-	-	0.190 *	0.152 *	0.222 **	0.207 **	0.393 ***	-	-	-	-	-

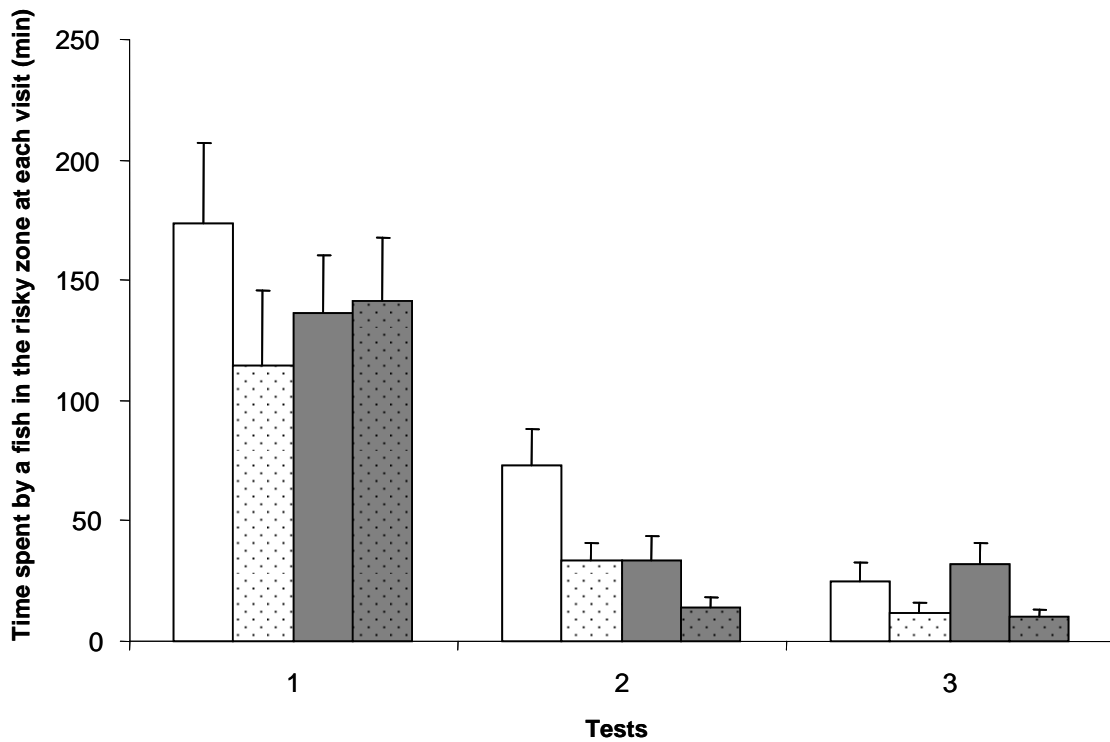
Pearson correlation coefficients (*r*) are given with p-value and the number of individuals (*n*).  
Level of significance: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  and – means no significant value.

### 3.5. Time spent by a fish in the risky zone at each visit, influence of day-night alternation

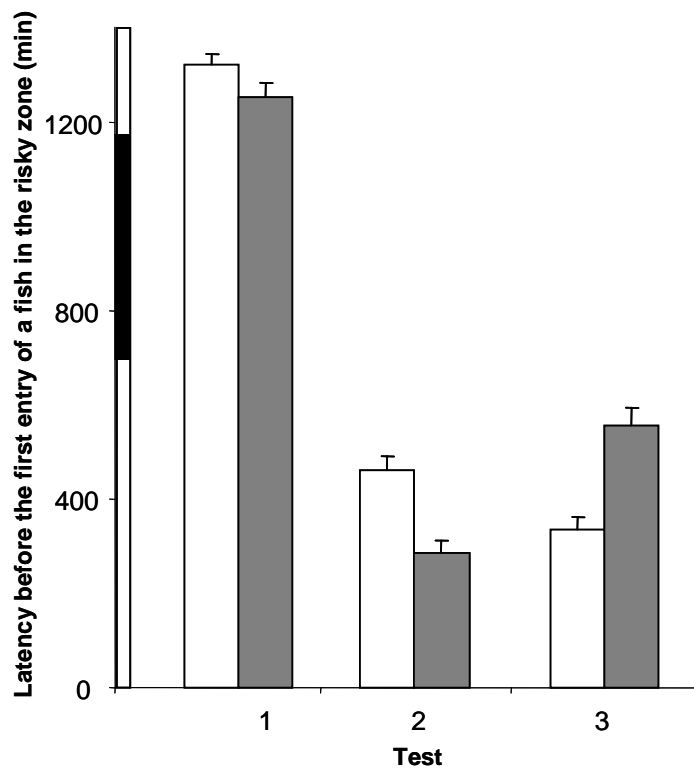
For both strains, the time spent by a fish in the risky zone at each visit was longer during the day than during the night (Fig.3, Table II). It was identical for the two strains during T1 and T3 but during T2, *Selected* fish spent almost twice the time in the risky zone than *Wild* fish did. The time spent by a fish in the risky zone at each passage decreased significantly between T1 and T2 for both strains, however it stayed at the same level at T3 for *Wild* strain, while it decreased significantly for *Selected* strain.

### 3.6. Latency before the first entry of a fish in the risky zone

During T1, both strains showed a strong latency before the first entry of a fish in the risky zone (Fig. 4, Table II) that occurred principally after the night period. During T2, the first entry was generally done before the night and *Wild* fish entered in the risky zone earlier than *Selected* fish. During T3, for both strains, the first entry was also generally done before the night period and *Selected* fish entered in the risky zone earlier than *Wild* fish. Both strains showed a significant decrease of the latency before the first entry between the two first tests, however, *Wild* fish were characterized by an increase of this latency during the third test while *Selected* fish presented a decrease.



**Figure 3.** Mean ( $\pm$  SE) time spent by a fish in the risky zone at each visit (min) during day period (undotted) and night period (dotted) for each strain (Selected in white and Wild in grey) and for each test.



**Figure 4.** Mean ( $\pm$  SE) latency before the first entry of a fish in the risky zone (min) for each strain (Selected in white and Wild in grey) and for each test. The white parts on the Y-axis represent day period and the black one represents night period.

### 3.7. Score emergence

For the *Wild* strain, individual score emergence was negatively correlated to fish weight and length during T2 and T3, and to body condition factor (K) during T3 (Table III). For the 3 tests, score emergence was positively correlated to the number of fish passages per hour through the opening (T1:  $r = 0.501$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 173$ ; T2:  $r = 0.446$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 173$ ; T3:  $r = 0.636$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 173$ ).

For the *Selected* strain, individual score emergence was positively correlated to fish SGR at T1 and to individual feed demand at T2 and T3 (Table III). This variable was also positively correlated to the number of fish passages per hour through the opening during the 3 tests (T1:  $r = 0.607$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 171$ ; T2:  $r = 0.374$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 171$ ; T3:  $r = 0.517$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 171$ ).

No relationship was found between individual score emergence during T1 and T2, while it occurred for both strain between T2 and T3 (Pearson correlation,  $r = 0.498$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 173$ ;  $r = 0.384$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 171$  for *Wild* and *Selected* fish respectively).

## 4. Discussion

In the present study, sea bass risk-taking behaviour changes over time were revealed by the simultaneous analysis of group and individual variables which highlighted for the first time how did this specie behaved in a choice set up and how the day-night alternation and fish domestication and selection levels influenced behavioural responses.

### How did sea bass behave in the set up?

During the first test only 23% of the population entered in the risky zone. They were very agitated, banging into the divider and holding position in a tank corner, sometime until the end of the test thus generating important stay duration by a fish in the risky zone at each visit. Moreover, during this test, very few passages through the opening were performed, and the first passage generally occurred a long time after the experiment started. These behaviour could be interpreted as an expression of fear or anxiety which generally generates a stress state in individuals (Yue *et al.*, 2004) and could be classified in two patterns: active avoidance reactions (flight, hiding, escape) and movement inhibition (immobility; Boissy, 1998).

Fish behaviour varied over time and indeed, during the second and even more during the third test, fish presented an entirely different behaviour. The percentage of the population entering in the risky zone increased considerably, and reached 80 to 98%. Fish swam in the risky zone very slowly, finding the opening in the divider without difficulty to pass from one zone to the other, as shown by the high increase in the number of passages and by the decrease in the time spent in the risky zone at each passage during these two tests. Other studies related to a variety of species, have also shown that intensity of fear decreases as the animal masters the correct response (Solomon & Wynne, 1953; Kamin *et al.*, 1963; Starr & Mineka, 1977) and might be relevant indicators of habituation which is a primitive kind of learning (Humphrey, 1933; Thorpe, 1963; Hinde, 1970; Peeke & Petrinovich, 1984). Generally, the learning term refers to a change in behaviour with experience (Dill, 1983), but different types of learning exist: i) the individual learning which involves only a direct interaction between the fish and the situation (*i.e.* stimulation or environment change) and subsequent acquisition of a novel behaviour (Giraldeau *et al.*, 1994); ii) the social learning which refers to learning that is influenced by observation of (or interaction with) other individuals (Galef & Giraldeau,



2001); and iii) the leadership which can be defined in animal groups as the initiation of a movement or a change of direction during a movement, made by one or some individual(s) and followed by the rest of the group (Krause *et al.*, 2000). In the present study, the majority of fish passed in the risky zone during test 1 passed again during test 2 and 3 and the fish that entered first in the risky zone were also the fish that performed the highest number of passages per hour through the opening. Thus, according to these results it is probable that fish learned individually how to cope with the environmental change, but as shown by the high increase in the percentage of the population entering in the risky zone during the second test, it is also likely that social learning played an important part in this change of behaviour.

There was however, no real leadership relation between fish under our experimental constraints. Indeed, correlation of individual score emergence appeared only between the second and the third test. Our results therefore suggest that the behavioural response changes to the tests could be related to habituation and both individual learning (with strengthening over time) and social learning (based on the congener's behaviour observation) rather than a responses initiated by some leader fish.

### **How did the day-night alternation influence risk taking behaviour?**

As a general feature, sea bass spent more time in the risky zone and performed the majority of passages through the opening during the night period which explained that the time spent by a fish in the risky zone at each visit was higher during the day than during the night period. Thus they were more actively moving during the night period. In natural environment, it has been shown that fish reduce their individual risk of predation by entering refuges wherein they are less susceptible to predation than in open habitat (Godin, 1997; Persson *et al.*, 1997). According to these observations and to our results, we could hypothesed that fish considered the safe zone as a refuge, and performed the majority of passages when the risk had decreased, such situation occurring during the night period, when there was no more light difference between risk and safe zone. However, the high decrease over time of the latency before the first entry of a fish in the risky zone seemed to show that the fish perception of the light difference between the two zones and the day-night alternation had less importance, and thus the dangerous character of the risky zone, had decreased over time. Such behavioural changes, could be, one more time, explained by habituation, but also by learning process.

### **What are the effects of fish domestication and selection levels on risk taking behaviour?**

General behaviour was quite similar for both sea bass strains, but some differences appeared during the successive tests. Indeed, during the first test, the *Wild* strain was characterized by a longer total time spent in the risky zone than the *Selected* strain and during the second test even if, both strains increased the number of passages through the opening and decreased the latency before the first entry and the time spent at each passage in the risky zone, these behavioural changes were more marked for *Wild* strain than for *Selected* strain. Indeed, *Selected* fish were characterized by a higher latency before the first entry in the risky zone, by a lower number of passages through the opening and by a longer stay duration in the risky zone at each visit, than *Wild* fish. This might indicate that *Selected* fish took less risk than *Wild* fish at this date. Finally, during the third test, while *Selected* strain showed either a decrease of time spent at each visit and of latency before the first entry in the risky zone, an increase of total time spent and of number of passages in the risky zone, *Wild* strain showed a

decrease of total time spent in the risky zone and an increase of 51% in latency before the first entry. Moreover, during this test, *Wild* fish were also characterized by a lower number of passages through the opening than *Selected* fish. In summary, even if *Selected* fish were characterized by a lower risk taking behaviour than *Wild* fish during the first two tests, they were also characterized by progressive adaptation to the environmental changes, while *Wild* fish seemed slightly more variable in their responses over time. This slight variability in risk taking and consequently in the group coping strategy might be therefore considered as the first consequence of fish domestication and selection.

More than by their behavioural responses, strains differed by their phenotypic characteristics associated to boldness. Indeed, *Selected* bold fish had a higher growth rate and a lower body condition factor during the first test and a higher weight, length and feed demand activity during the second and the third tests. Such correlations were already pointed out in salmonids selected for growth that showed an increased willingness to accept risk to access food (Johnsson & Abrahms, 1991; Johnsson *et al.*, 1996; Fernö & Järvi, 1998; Biro *et al.*, 2004; Huntingford & Adams, 2005). Thus, in *Selected* strain, increase boldness might be due to their higher food needs, since bold fish during the first test were thin and presented a high specific growth rate, and during the second and the third test fish were larger than the others. *Wild* bold fish, as for them, were characterized by an important feed demand activity during the period following the first test but by a smaller weight, length, body condition factor and growth rate during the following tests. These results seemed to be in opposition to the previous conclusions done on *Selected* fish, but Brown & Braithwaite (2004) have demonstrated that wild populations of *Brachyrhaphis episcopus* (Steindachner) showed a positive relation between body size and time to emerge from a shelter, with larger fish taking longer to emerge; Dowling & Godin (2002) found the same phenomenon in *Fundulus diaphanous* (Lesueur). In general, large wild individuals are predicted to favor lower risk behavioural options than small individuals, currently explained by their nutritional state (Krause *et al.*, 1998 b; Grand, 1999; Reinhardt & Healey, 1999; Brown *et al.*, 2005). Thus, if *Wild* bold fish were smaller in weight, length, body condition factor and growth rate, it is perhaps due to a depleted nutritional state and they might be more suited to take risk in order to compensate such depletion. The risk-taking behaviour is usually the result of a trade-off between risk aversion and other motivations such as hunger, curiosity or need to maintain inter-individual distances (Leblond & Reeb, 2006). In this study, fish hunger state seemed to be the highest motivation for sea bass risk-taking behaviour.

## 5. Conclusions

The present study has demonstrated that, in sea bass, i) the time spent in a risky zone (in total and at each visit), the number of passages through an opening and the score emergence compared over time and between day and night period, were relevant indicators of fish learning process and habituation and that ii) those indicators could be used as standardized measures of cultured fish “personality”. It also showed that risk-taking behaviour seemed to be correlated with fish weight: positively for *Selected* strain and negatively for *Wild* strain, which seemed to highlight the important effect of fish hunger state on this behaviour. According to the results, however, no real difference in coping strategy between strains could be observed at this first stage of domestication and selection. To better understand domestication and/or selection effects on sea bass behaviour and adaptability, it would be therefore necessary to perform measurement on fish issued from at least a second generation of domestication or selection.

*Ces résultats ont fait l'objet d'une communication orale au ECBB en Juillet 2008 :*

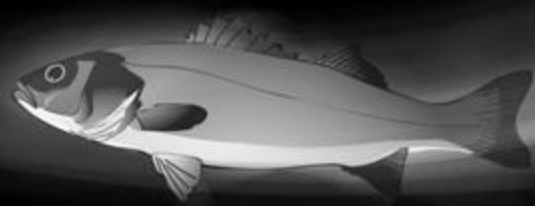
Millot S., Bégout M.L., Chatain, B., 2008. Risk-taking behaviour in a marine fish (*Dicentrarchus labrax*): influence of selection for growth on responses. *European Conference on Behavioural Biology*, Dijon, France, 18-20 July, 2008.

Exploration behavior and flight response toward  
a stimulus in three sea bass strains  
(*Dicentrarchus labrax* L.)

Chapitre  
9

Millot S.  
Bégout M.-L.  
Chatain B.

*Applied Animal Behaviour  
Science, in press*



## Résumé

L'activité de nage et le comportement exploratoire des poissons peuvent être considérés comme des indicateurs de leurs capacités cognitives (construction d'une représentation spatiale de leur environnement) et d'adaptation. Cependant, encore très peu d'informations sont disponibles sur ce comportement en condition d'élevage et encore moins sur les effets d'un facteur de stress aigu sur ce dernier. Dans cette étude, l'analyse du comportement exploratoire est utilisée pour évaluer l'influence des processus de domestication et de sélection sur les capacités d'adaptation et de tolérance au stress des bars. Les objectifs de cette étude sont donc d'évaluer les capacités d'exploration spatiale et l'activité de nage de bars issus de trois souches de niveau de domestication et de sélection différent (*Sauvage*, non domestiqués ; *Domestique*, domestiqués et *Sélectionné*, domestiqués et sélectionnés sur la croissance) et d'analyser les effets d'un facteur de stress aigu sur ces variables. Pour ce faire, le comportement exploratoire et l'activité de nage de 28 bars par souche sont enregistrés et les vidéos analysées sur des périodes de 20 min, avant, immédiatement et 40 min après l'application d'un stress aigu (lâché standardisé d'un stimulus dans une arène d'observation). Le bassin d'expérimentation est divisé virtuellement en 4 zones de surface équivalente s'éloignant de plus en plus de la zone de stimulation (la zone 1 incluant la zone de stimulation et la zone 4 étant la plus éloignée), puis le temps passé dans chaque zone et l'activité de nage sont évalués pour chaque période expérimentale. Les résultats montrent que les poissons sélectionnés présentent dès le début de l'expérience des capacités d'exploration et une mobilité dans le bassin plus importante que les bars issus des autres souches, indiquant que ces poissons semblent plus aptes à construire une représentation spatiale de leur environnement. La réaction de fuite face au stimulus, quant à elle, paraît équivalente chez tous les poissons quelque soit la souche considérée. En effet, les bars se dirigent immédiatement dans la zone 4, devenant une zone refuge, où ils expriment une faible activité de nage voire une immobilité totale. Ce résultat permet de supposer qu'une seule génération de domestication et de sélection n'est pas suffisante pour altérer la réaction de fuite des bars. Pendant la dernière période d'analyse de l'étude (40 min après la stimulation), les bars retrouvent une certaine mobilité dans le bassin et recommencent à explorer leur territoire. Cependant, cette reprise d'activité reste à un niveau inférieur à celle enregistrée avant la stimulation, excepté pour les *Sélectionné*. Il semble donc que même après un laps de temps relativement long, les bars non sélectionnés sont dans un état de stress important, restant majoritairement dans la zone 4 et évitant le plus possible les abords de la zone 1, alors que les *Sélectionné* semblent plus aptes à prendre des risques et s'approchent régulièrement de la zone de stimulation. Les *Selectionné* semblent ainsi caractérisés par une personnalité « audacieuse » plus marquée que les bars issus des deux autres souches. Ce trait de personnalité peut être un avantage en condition d'élevage : en effet les poissons identifiés comme « audacieux » sont souvent caractérisés par un statut leader ou dominant au sein du groupe et présentent une capacité d'apprentissage accrue ou un succès reproducteur plus important.

En résumé, cette étude met en évidence que les bars issus de la sélection sur la croissance présentent un comportement exploratoire plus développé et moins perturbé par un facteur de stress aigu que les bars issus des deux autres souches. Le processus de sélection sur la croissance aurait donc une influence plus marquée sur la personnalité des poissons que la domestication seule. Cependant, afin de mieux comprendre l'influence des processus de domestication et/ou de sélection sur le comportement exploratoire, la personnalité et l'adaptabilité des bars aux conditions d'élevage, il serait nécessaire de réaliser une étude similaire sur des bars issus d'au moins une deuxième génération de domestication et de sélection.

# 1. Introduction

In wild ecosystems, swimming behaviour of fish is very important for feeding, migrating or for escaping a predator (Wardle, 1993). That is also important in a captive environment where it influences access to food, adaptation to water flow rate and good positioning in the group. It is already established that chronic stress (*e.g.* change of water temperature, hypoxic conditions, photoperiod), or repeated acute stress (*e.g.* handling), modifies swimming velocity (Kristiansen et al., 2004; Olla and Studholme, 1971). Moreover, domestication and selection could have a rapid impact on fish behaviour, some time as soon as at the first generation of domestication (Bégout Anras and Lagardère, 2004; Huntingford, 2004; Vandeputte and Prunet, 2002). However, knowledge about how both processes impact on fish spatial exploration and swimming activity still is to be improved. Although, standardized stimulation has been mostly used to study the flight response in fish and particularly the “C-start” response in relation to different environmental constraints (group *versus* solitary response, Domenici and Batty, 1997; pollution, Faucher et al., 2006; water temperature, Johnson et al., 1996; hypoxia, Lefrançois and Domenici, 2006), few studies were focussed on the impact of domestication (Fernö and Järvi, 1998; Malavasi et al., 2004, 2008; Petersson and Järvi, 2006) and, to our knowledge, none targeted the impact of selection for growth on exploration behaviour. Main goal of the previous studies was to evaluate the domestication effect on juvenile fish survival and consequently their relevance for the enhancement of restocking programmes.

The present study had a different goal. It used the analysis of sea bass spatial exploration behaviour and swimming activity level to determine whether three strains of sea bass (issued from wild, domesticated and selected for growth parents) differed in their response to an acute stressor. Hereafter, we have evaluated the influence of domestication and selection process on risk taking behaviour and thus on fish personality (bold or shy; Fraser et al., 2001; Wilson et al., 1993, 1994). Accordingly, the purpose of this work was to measure the basic locomotory activity and the disorders induced by a standardized stressor. Sea bass spatial exploration behaviour and swimming activity level were thus monitored before, during and 40 min after a standardized stimulation. Fish were video-recorded and their spatial exploration behaviour (spatial distribution and time spent), their swimming activity level (distance travelled) and their swimming path complexity (angular velocity) were analyzed in each tank zone and during the three periods.

## 2. Material and methods

### 2.1. Animals

The experiment was conducted on 84 fish from three strains (28 fish per strain). The three tested strains have been hatched and reared at the experimental research station of Ifremer in Palavas-les-Flots (France). They are issued from a full factorial crossing (each dam is crossed with each sire) of 13 wild Mediterranean dams with 20 Atlantic wild sires (*Wild* strain), 20 Atlantic domesticated sires (*Domesticated* strain) and 19 Atlantic selected sires (*Selected* strain) respectively. The *Wild* sires were chosen among an Atlantic wild population kept in captivity for a least one year. The domesticated sires have been obtained by choosing fish at random in a population reared for two years according to sea bass rearing standards (Chatain,

1994) while the selected sires were the 5% longest fish at the same age (20 months, 400 g) in this same population. Thus all fish tested in this experiment never experienced the natural environment, had the same life history except that their parents presented different levels of domestication and selection. To summarize, *Wild* strain was characterized by fish issued from wild parents with at least one year in captivity, *Domesticated* strain by parents with one generation of captivity (*i.e.* domestication) and *Selected* strain by parents with one generation of domestication and one generation of selection for growth.

At the beginning of the study, fish were around 20 month-old with an average initial body weight of  $234.8 \pm 9.5$  g for *Wild* (coefficient of variation (CV) = 21%, n = 28 fish), of  $267.2 \pm 9.1$  g for *Domesticated* (CV = 17%, n = 28 fish) and of  $235.7 \pm 9.5$  g for *Selected* (CV = 21%, n = 28 fish). The fish weight were not statistically different ( $F_{2,80}=1.46$ ,  $p>0.05$ ).

## 2.2. Experimental set up

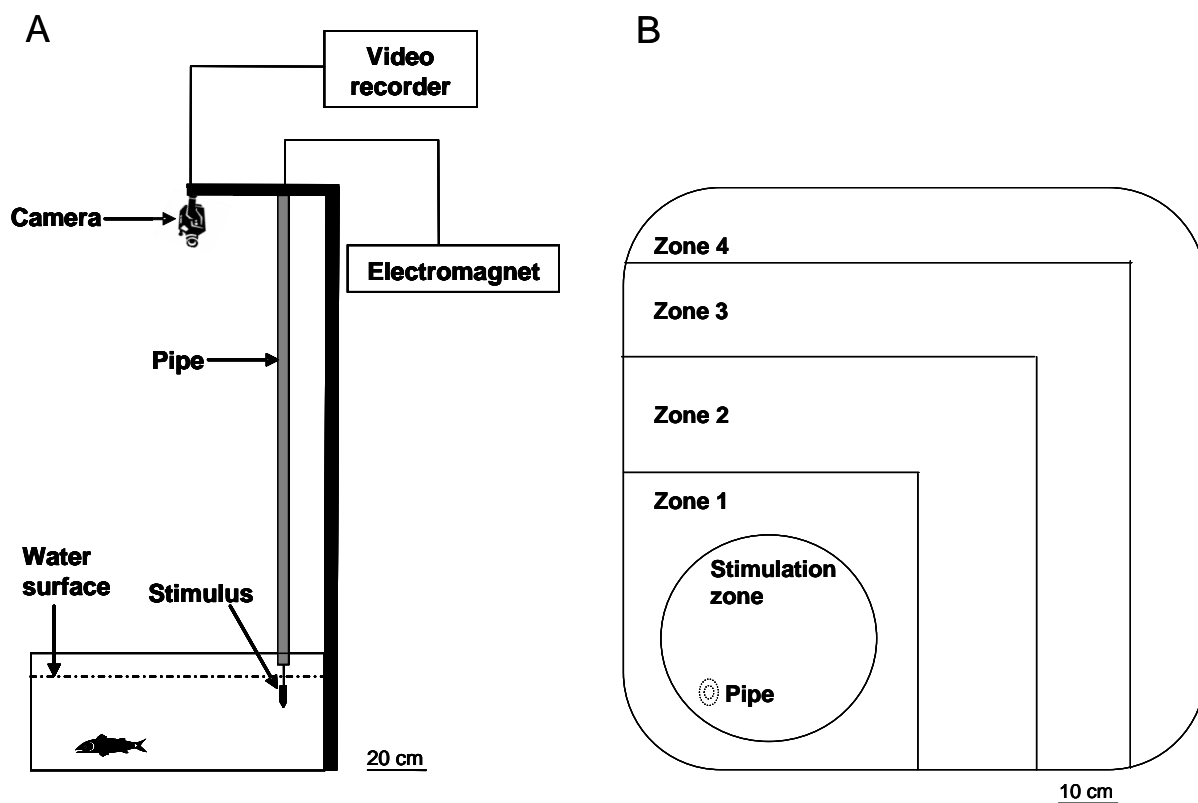
The experiment was carried out in a 400 l tank similar to the ones used to maintain the experimental fish. Water temperature was maintained at  $20.2 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ , oxygenation above 90 % saturation in the outlet and salinity  $21.2 \pm 1$ . Tank was sheltered by black curtains and highlighted by three spotlights located to minimise shadow. The stimulus was a tube full of sand of 67 g, 96 mm length and 25 mm diameter, which fall was driven by an electromagnet (Fig.1A). An opaque pipe (1.6 m length, 35 mm diameter) was fixed 2 cm above the water surface to hide the stimulus during its fall and to allow the recording of the fish reaction at the moment of impact (Fig. 1A). A Mini color CMOS camera (Velleman) was located at 1.6 m of the water surface and video were recorded on a hard disk recorder (Fig.1A).

## 2.3. Behavioral test

A single fish was quickly moved from its maintenance tank to the experimental tank two hours before the experiment started. According to Marino et al. (2001) a capture and handling procedure of short duration in two year old hatchery sea bass did not induce any significant variation in blood parameters, such as serum glucose or cortisol. Even if the procedure to place fish in the experimental tank involved stress, the procedure was standardized for each fish and thus allowed to evaluate the swimming responses for each individual in the same way.

Video recording begun 30 min before starting the test and fish homogeneous swimming in the entire tank was required before stimulation. The stimulus was dropped by releasing the electromagnet when the fish reached the stimulation zone (Fig.1B). Fish behaviour was recorded during one hour after the stimulation (Fig.2). Fish which never swam in the tank and which thus could not be stimulated were characterised as “shy” fish. Fish which presented a homogeneous swimming in the tank and which could be stimulated were characterised as more “bold” and their exploration behaviour was further analysed.

After the test, fish were removed from the experimental tank and placed in a separate tank to avoid alarm pheromone release within the fish group which remained to be tested.



**Figure 1.** (A) Representative scheme of the experimental set up to a scale of 1/20 and (B) the zones delimitation on the tank bottom to a scale of 1/10.

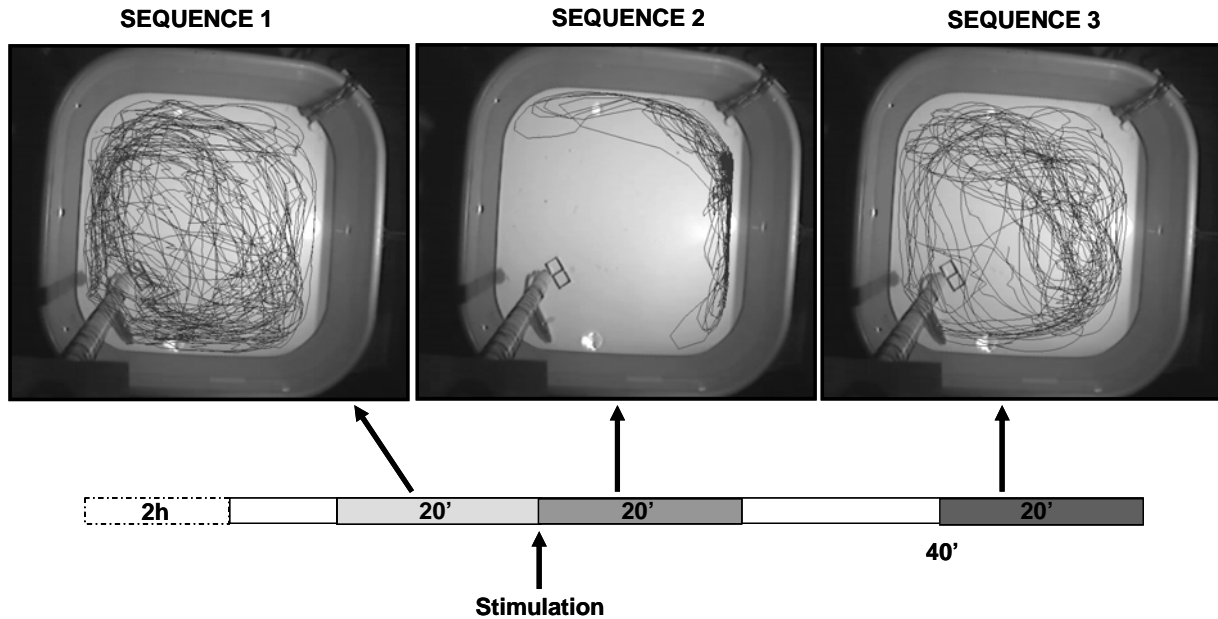
## 2.4. Video analyses

The video recordings were analysed using the software EthoVision Color Pro version 3.1.16 (Noldus, The Netherlands), which allowed to separate the tank in 4 virtual zones of the same surface (Z1, Z2, Z3 and Z4; Fig.1B) and to track the fish swimming behaviour (Fig.2).

Each video recording were analysed in 3 sequences of 20 min:

- sequence 1 (S1): before the stimulation
- sequence 2 (S2): just after the stimulation
- sequence 3 (S3): 40 min after the stimulation





**Figure 2.** Representative pictures of one fish swimming behavior for each of the 3 sequences in correspondence with the experimental time scale.

## 2.5. Statistics

Different variables of interest were chosen to analyze the fish behaviour:

- The time taken from the start of recordings to the moment of the stimulation. This variable allowed to measure individual latency before stimulation.
- The proportion of time spent by a fish in each zone (residence; in %). This variable allowed to identify the fish spatial distribution for each sequence.
- The distance travelled by each fish in the tank (in cm). This variable quantified the fish swimming activity level in the tank for each sequence.
- The fish angular velocity weighted by the time spent by the fish in each zone (in degrees.s<sup>-1</sup>). This variable was calculated for each fish as followed:  $[(T_{Z1} \times AV_{Z1}) + (T_{Z2} \times AV_{Z2}) + (T_{Z3} \times AV_{Z3}) + (T_{Z4} \times AV_{Z4})] / (T_{Z1} + T_{Z2} + T_{Z3} + T_{Z4})$  where  $T_{Z1}$ ,  $T_{Z2}$ ,  $T_{Z3}$  and  $T_{Z4}$  were the time spent by the fish in each zone (s) and  $AV_{Z1}$ ,  $AV_{Z2}$ ,  $AV_{Z3}$  and  $AV_{Z4}$  were the individual angular velocity in each zone (degrees.s<sup>-1</sup>). This variable was an indicator of the speed of changing direction and quantified the swimming path complexity in relation to time spent by fish in each zone.

All data were analyzed for normality with a Shapiro-Wilk test and for homoscedacity of variance with a Bartlett's test; they all complied the rules for parametric statistics. Then, for the individual latency before stimulation a one way ANOVA was used to compare the difference between strains. For the fish spatial distribution, since tank zones were not independent a 2 fixed factors ANOVA was used to compare the differences between strains and sequences for zones 1 and 4. A null model of space use was tested: the fish spatial distribution was compared to a theoretical homogeneous distribution in Z1 and Z4 (25% in each zone) by a Kolmogorov-Smirnov test. Similarly, the fish swimming activity was compared to a theoretical homogeneous activity in Z1 and Z4 (25% in each zone) by a Kolmogorov-Smirnov test. For the fish swimming activity level and swimming path

complexity a 2 fixed factors ANOVA was used to compare the differences between strains and sequences. Homogeneous groups were determined with the *a posteriori* Newman and Keuls test (Dagnélie, 1975). For all tests, significant threshold was  $p < 0.05$  and analyses were performed using Statistica software.

### 3. Results

#### 3.1. Proportion of stimulated fish

The experiment was carried out on 28 fish of each strain. For the *Wild* strain, 16 fish (57%) placed in the experimental tank could be stimulated, for the *Domesticated* strain 14 fish (50%) and for the *Selected* strain 18 fish (64%). The remaining fish could not be stimulated because either they were motionless near a tank wall or they swam close to the walls opposite to and never reached the stimulation zone. These fish were thereafter characterized as “shy” fish and excluded from the statistical analysis.

#### 3.2. Individual latency before stimulation

After the acclimatization time (2 hours), the latency before fish stimulation was  $13.3 \pm 2.7$  min ( $\pm$  SE) for *Wild* strain,  $9.9 \pm 2.8$  min for *Domesticated* strain and  $8.7 \pm 2.7$  min for *Selected* strain. The three strains responses were not different ( $F_{2,44}=0.82$ ,  $p > 0.05$ ).

#### 3.3. Spatial distribution

On all video recorded, 16 on *Wild* fish, 11 on *Domesticated* fish and 16 on *Selected* fish could be analysed (N= 43).

There were no spatial distribution difference between strains for Z1 ( $F_{2,120}=0.59$ ,  $p > 0.05$ ) and for Z4 ( $F_{2,120}=0.99$ ,  $p > 0.05$ ). However, the time spent by fish changed over time in Z1 ( $F_{4,120}=12.96$ ,  $p < 0.001$ ) in for Z4 ( $F_{2,120}=16.98$ ,  $p < 0.001$ ; Fig.3). Indeed, in Z1, fish spent more time during S1 ( $30 \pm 2\%$ ) than during S2 and S3 ( $14 \pm 3\%$  for both) and in Z4, fish spent more time during S2 ( $62 \pm 4\%$ ) and S3 ( $53 \pm 5\%$ ) than S1 ( $29 \pm 3\%$ ). During S1 the fish spatial distribution corresponded to theoretical homogeneous spatial distribution (25% per zone) for Z1 ( $D = 0.500$ ,  $p > 0.05$ ) and for Z4 ( $D = 0.500$ ,  $p > 0.05$ ). During S2 and S3 the observed fish spatial distribution were different than the theoretical homogeneous spatial distribution ( $D = 0.600$ ,  $p < 0.05$  for Z1 and  $D = 0.900$ ,  $p < 0.001$  for Z4).

#### 3.4. Swimming activity

For all strains, fish travelled more distance during S1 ( $9480 \pm 1090$ ,  $9554 \pm 1522$  and  $11761 \pm 914$  cm for *Wild*, *Domesticated* and *Selected* fish respectively) than during S2 ( $2798 \pm 538$ ,  $2665 \pm 1267$  and  $7190 \pm 1413$  cm for *Wild*, *Domesticated* and *Selected* fish respectively). During S3, the distance travelled increased ( $4892 \pm 1302$ ,  $4741 \pm 2415$  and  $7503 \pm 1041$  cm for *Wild*, *Domesticated* and *Selected* fish respectively) but stayed at a lower level than during S1 ( $F_{2,120}=19.32$ ,  $p < 0.0001$ ; Fig.4). For each sequence, *Selected* fish

travelled more distance than *Wild* and *Domesticated* fish, which were not different ( $F_{2,120}=6.87$ ,  $p<0.001$ ; Fig.4). There was no significant interaction between sequence and strain factors ( $F_{4,120}=0.32$ ,  $p>0.05$ ) which underlined an homogeneity in strains responses to the standardized stressor. During S1, fish swimming activity was not different from the theoretical homogeneous swimming activity in Z1 and Z4 ( $D=0.500$ ,  $p=0.112$ ). During S2 and S3, fish swimming activity in Z1 were not different from the theoretical homogeneous swimming activity, however they differed in Z4 ( $D=0.800$ ,  $p<0.01$  for S2 and  $D=0.900$ ,  $p<0.001$  for S3).

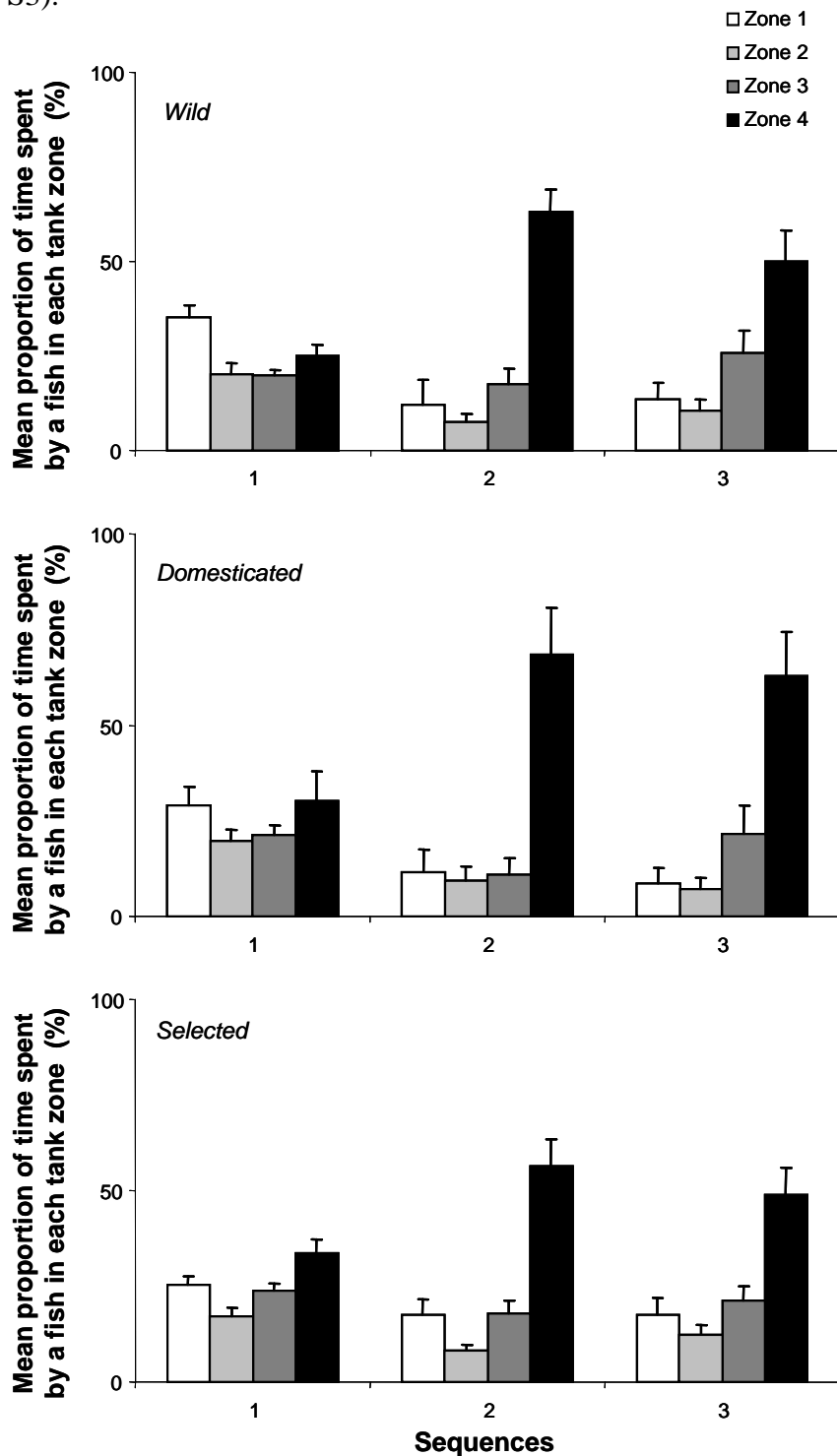
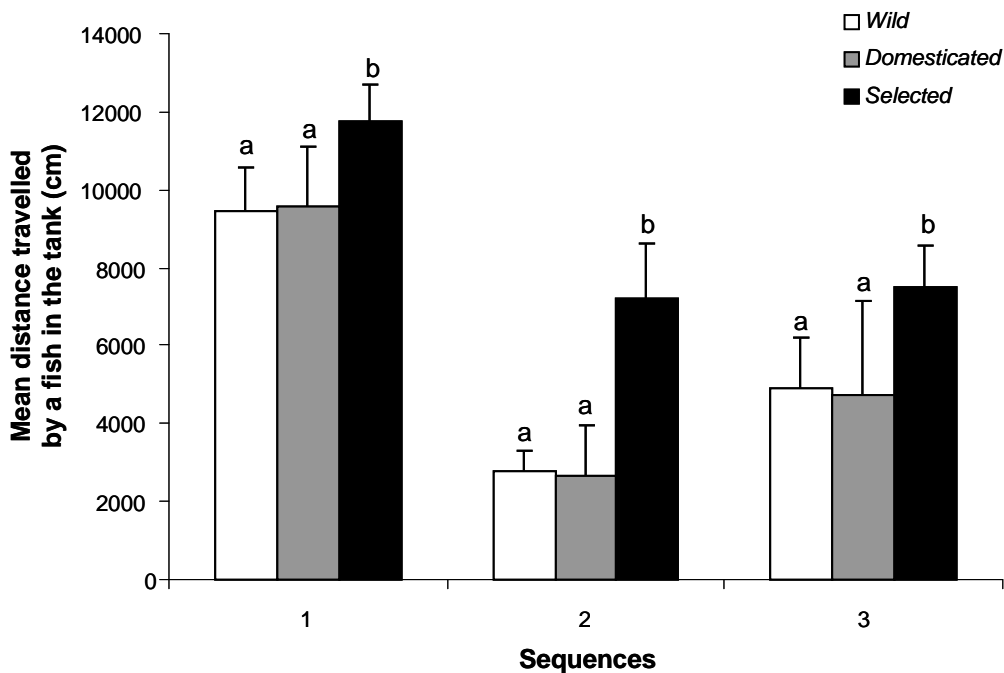


Figure 3. Proportion of time spent (mean  $\pm$  SE, in %) by a fish in each tank zone for each sequence and for each strain.

### 3.5. Swimming path complexity

For all strains, fish changed direction slower during S1 ( $24\pm6$ ,  $34\pm17$  and  $11\pm3$  degrees. $s^{-1}$  for *Wild*, *Domesticated* and *Selected* fish respectively) than during S2 ( $145\pm16$ ,  $137\pm31$  and  $70\pm21$  degrees. $s^{-1}$  for *Wild*, *Domesticated* and *Selected* fish respectively).

During S3, the fish angular velocity decreased ( $72\pm20$ ,  $145\pm32$  and  $32\pm210$  degrees. $s^{-1}$  for *Wild*, *Domesticated* and *Selected* fish respectively) but stayed at a higher level than during S1 ( $F_{2,120}=22.01$ ,  $p<0.0001$ ; Fig.5). For each sequence, *Selected* fish changed direction slower than *Wild* and *Domesticated* fish, which were not different ( $F_{2,120}=11.15$ ,  $p<0.0001$ ; Fig.5). There was no significant interaction between sequence and strain factors ( $F_{4,120}=2.47$ ,  $p>0.05$ ) which again underlined an homogeneity in strains responses to the standardized stressor.



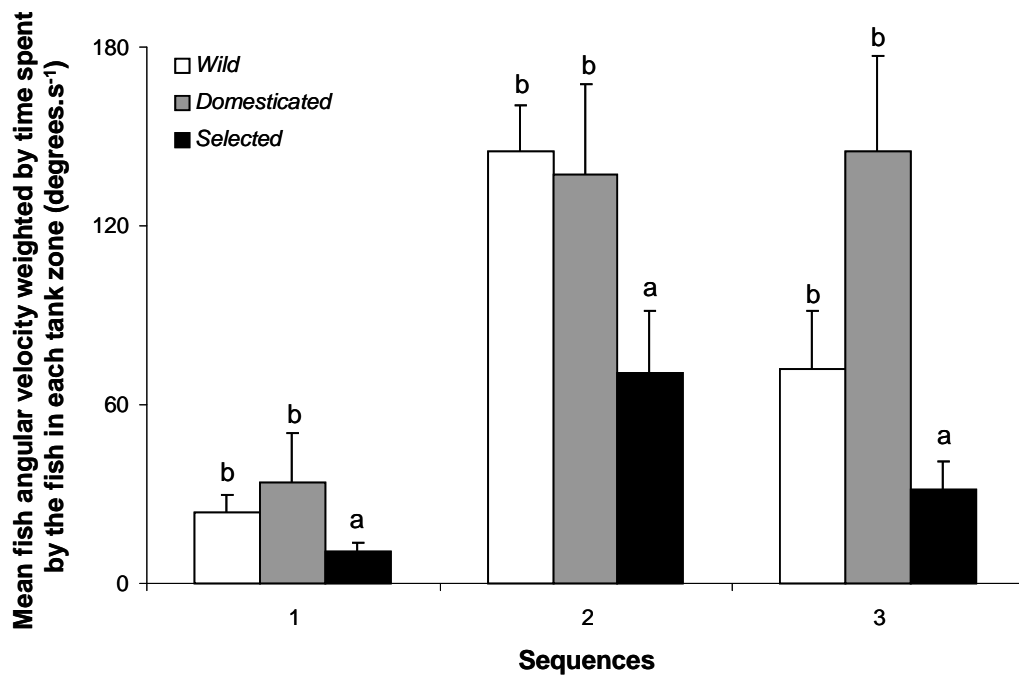
**Figure 4.** Distance travelled (mean  $\pm$  SE in cm) by a fish in the tank for each sequence and for each strain. Letters indicate significant differences between strains (2 fixed factors ANOVA and Newman & Keuls test,  $p<0.05$ ).

## 4. Discussion

### Basic locomotory activity

The spatial exploration behaviour is generally considered as a good indicator of an animal adaptation to its environment. Indeed, such behaviour contributes to the construction of cognitive maps based on the coupling of space elements in which the animal moves (O'Keefe and Nadel, 1978). The capacities to explore an open field (potentially dangerous) could also depend on the animal personality (bold or shy). Indeed, for Fraser et al. (2001) and Wilson et al. (1993, 1994) boldness is considered as a personality trait and is generally defined as the propensity to take risks.

According to our first results, it appeared that each strain presented different exploration behaviour and thus different environmental adaptation capacities, and the proportion of bold and shy fish was also different. Indeed, 64% of *Selected* fish had been stimulated after only 9 min and they also showed a higher distance travelled in the tank and a lower swimming path complexity during the first experimental period compared to the other strains. Thus, *Selected* fish seemed characterized since the beginning of the experiment by a better environmental adaptation and a bolder personality than the other strains.



**Figure 5.** Fish angular velocity weighted by the time spent by the fish in each tank zone (mean  $\pm$  SE in degrees.s<sup>-1</sup>) for each sequence and for each strain. Letters indicate significant differences between strains (2 fixed factors ANOVA and Newman & Keuls test,  $p < 0.05$ ).

### Flight response and evolution of fish exploration behavior

Blanchard et al. (1986, 1989) showed in mice that two major systems of defense behaviour existed. The first system could be observed when a threatening stimulus was physically present and identifiable. This system which aims to reduce danger exposure toward threatening stimulus, involves flight or escape behaviour, which are typical of fear responses. The second system could be observed during potential threatening situation when the stimulus was not clearly identifiable. This case corresponded to a situation in which animals were previously frightened by the stimulus. They presented then, three types of behaviour: avoidance of danger area, risk assessment (to evaluate and to locate) and thigmotaxis (tendency to remain close to the walls of an open field). These two major systems of defense were also observed in sea bass from the three strains tested during this experiment which mainly displayed both flight response and thigmotaxis. First, observations and video-tracking analysis showed that the stimulation induced for all fish a flight response in the opposite direction from the stimulus impact zone as illustrated by the significant increase of time spent

in zone 4. This zone could thus be defined as a “refuge” zone in which fish were characterized by a freezing behaviour, *i.e.* reduced swimming activity along the walls or total motionlessness. These results were in accordance with other studies realized on *Dicentrarchus labrax* (Malavasi et al., 2004, 2008), on *Oncorhynchus kisutch* (Ryer, 2004), on *Calidris alpina* (Barbosa, 1997), on *Salmo trutta* (Fernö and Järvi, 1998), on *Salmo salar* (Gotceitas and Godin, 1991), and on two species of stickleback *Gasterosteus aculeatus* and *Pungitius pungitius* (Godin and Valdrón Clark, 1996). Such common flight response toward a threatening stimulus observed for all fish species, and for all strains in our case study, suggests that such behaviour has a strong innate determinant (Giles, 1984; Vilhunen and Hirvonen, 2003), could not be influenced by domestication and selection level and could thus be considered as a fundamental component of anti-predator behaviour.

Second, swimming activity and spatial exploration seemed strongly impaired by the stimulation and characterized by the second system of defense highlighted by Blanchard et al. (1986, 1989). The significant higher residency in zone 4, the decrease of distance travelled, the increase of swimming complexity and the thigmotaxis behaviour in zone 4 were thus all typical indicators of fish avoidance of a dangerous area and of risk assessment. Forty minutes after the stimulation, fish recovered a higher level of spatial exploration and swimming activity *i.e.* fish globally showed a decreased residency in zone 4, an increase of distance travelled in the tank and a decrease in swimming complexity. These informations seemed to show that fish were less affected than just after the stimulation and began to recover homogeneous swimming activity in the tank. However, the levels of each variable did not return to the previous ones observed before stimulation, which indicated that fish remained fearful toward the stimulus.

Even if the general behavioural reaction of fish was the same in the three strains, *Selected* fish were still characterized by a higher swimming activity and a lower path complexity than other strains whatever the experimental sequences. Thus we could not conclude that *Selected* fish were differentially affected by stimulation than the other strains, but they were characterized since the beginning by a better environmental adaptation and a bolder personality which was kept during the entire test.

Malavasi et al. (2004, 2008) showed that hatchery-reared fish were characterized by a shorter stress response to threatening stimulation than fish of wild origin. In our experiment *Wild* and *Domesticated* fish presented the same spatial exploration behaviour and the same swimming activity. Therefore and since our *Wild* fish were not caught in the sea but issued from wild caught parents, our results could suggest that a twenty months period of rearing (first generation fish) could be sufficient to obtain fish presenting the same behavioural characteristics than second generation fish.

The behaviour and personality differences observed between *Selected* fish and the other fish strains in our experiment could not be explained by behavioural deficits in anti-predator behaviour incurred through rearing in a psychosensory-deprived environment (Olla et al., 1994) or by the lack of some key experiences in early life stage (Huntingford, 2004; Kelley and Maguran, 2003; Price, 1999), because all of our fish were hatchery born and reared under the same conditions. Moreover, the experiment was done on fish with similar weight for the three strains in order to limit any size influence on behaviour since some studies have demonstrated that fish selected for their high growth showed an increased willingness to accept risk (Biro et al., 2004; Fernö and Järvi, 1998; Huntingford and Adams, 2005; Johnsson and Abrahms, 1991; Johnsson et al., 1996). Thus, the difference observed in our study could only be explained by the selection for growth process. We could then suggest that parent selected for growth (and thus perhaps characterised by a better adaptation to rearing environment) transmit this ability to their descendents.

In conclusion, the present study has demonstrated that wild fish (*i.e. Wild* strain which was issued from wild parents with at least one year in captivity) behave similarly to the domestic fish (*i.e. Domesticated* strain). Further, selection for growth seemed to select fish characterized by a bolder personality and potentially better adapted to rearing environment. Thus, selection for growth seemed to have a higher effect on fish personality and behaviour than domestication only. Nevertheless, to test the perpetuation of domestication and/or selection effects on sea bass behaviour, personality and adaptability, it would be necessary to perform measurement on fish issued from following generations of domestication or selection.

*Ces résultats ont fait l'objet d'une communication orale au WFC en octobre 2008 :*

Millot S., Bégout M.L., Chatain, B., 2008. Exploration behavior and flight response toward a stimulus in three sea bass strains (*Dicentrarchus labrax* L.). *The Fifth World Fisheries Congress 2008*, Yokohama, Japan, 20-24 October 2008.

Les bars étudiés dans ce chapitre ont fait l'objet de deux analyses complémentaires :

La première, consiste à analyser des enregistrements vidéo 'haute vitesse' (500 images s<sup>-1</sup>) de la réponse de fuite ou « faststart » des poissons au moment où le stimulus tombe dans l'eau. Cette étude a pour objectif de comparer les performances de fuite des bars issus des trois souches afin de d'évaluer l'influence de la domestication et de sélection sur ce caractère. Un manuscrit est en préparation :

Lefrançois, C., Millot S., Domenici, P., Péan, S., Bégout, M.-L. Escape swimming behavior in three sea bass strains (*Dicentrarchus labrax*). *En préparation*.

La deuxième analyse a testé les aptitudes de nage et les capacités métaboliques de ces mêmes poissons dans un tunnel de nage. Un manuscrit est également en préparation et le résumé est présenté ci-dessous.

Luna Acosta, A., Lefrançois, C., Millot, S., Bégout, M.-L. Physiological response in different strains of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): swimming and aerobic metabolic capacities. *En préparation*.

### **Abstract**

European sea bass is one of the major marine species cultivated in Europe. An ongoing selection program based on growth has produced the first generation of different strains (*Wild*, *Domestic* and *Massal*). Inter-strains differences exist upon other fish species. Is it the case in these strains of European sea bass? Individual oxygen consumption (MO<sub>2</sub>) in relation to swimming speed was measured in a swim tunnel. Physiological traits (critical swimming speed U<sub>crit</sub>, standard metabolic rate SMR, active metabolic rate AMR and metabolic scope MS) were used as criteria to evaluate adaptability of the different strains. *Wild* MO<sub>2</sub> associated to swimming effort was significantly lower at intermediate speeds (from 1.75 to 2.25 BL s<sup>-1</sup>) than for *Domestic* and *Massal*. Nevertheless, no significant ( $p > 0.05$ ) inter-strains differences were observed for any of the physiological variables. Mean values on fasted juveniles (mean body weight: 287.66 ± 8.87 g (i.e. mean ± SE), mean body length: 29.5 ± 0.3 cm) were: SMR = 73 ± 24 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>; AMR = 380 ± 17 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>, MS = 309 ± 22 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>. These results suggest that (i) physiological functions are equivalent between *Wild*, *Domestic* and *Massal* strains and consequently (ii) that the selection of the *Massal* strain, based on production traits, respects its functional integrity, and that (iii) European sea bass possess a large physiological plasticity. Nevertheless, before validating this selection framework, studies on more than one generation and in other strains should be done and compared to other genetic, physiological and behavioral traits.

*L'ensemble de ces travaux a fait l'objet d'une communication orale au ICBF en août 2008 :*

Lefrançois, C., Luna Acosta, A., Millot, S., Péan, S., Bégout, M.-L., Domenici, P., 2008. Swimming performance and aerobic metabolic scope in domesticated strains of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *International Congress on the Biology of Fish*, Portland, USA, July 28 – August 1, 2008.



Discussion Générale

Chapitre

Chapitre

10



L'objectif principal de cette thèse est double : 1) déterminer les grandes caractéristiques comportementales du bar Européen (*Dicentrarchus labrax*) en condition d'élevage et 2) analyser les perturbations du comportement induites par le stress sur des animaux d'origine génétique connue afin d'évaluer l'influence de la domestication et de la sélection sur les capacités d'adaptation et le potentiel de bien-être des bars en élevage. Les effets du stress aigu ou chronique sont étudiés à travers une analyse multicritère d'indicateurs potentiels tels que le comportement alimentaire et natatoire, le potentiel de croissance, l'état physiologique, la prise de risque, l'exploration d'un nouveau territoire interprété en terme de personnalité (timide ou audacieux) des poissons. Le matériel biologique utilisé est constitué de bars issus d'une ferme commerciale (notre « standard industriel ») ou issus de souches expérimentales présentant différents niveaux de domestication et/ou de sélection.

## 1. Caractérisation comportementale de bars issus d'un élevage industriel

Cette première étude, effectuée sur des poissons présentant l'état de domestication communément trouvé dans les fermes d'élevage de bar en Europe, nous a permis de compléter les travaux déjà publiés par Anthouard *et al.* (1993), Sánchez-Vázquez & Tabata (1998) et Covès *et al.* (2006) en évaluant, sur le long terme, les variations de la motivation à s'alimenter et de la croissance inhérentes aux conditions standard d'élevage chez cette espèce (Chapitres 2 et 3). Un comportement « standard » pourrait ainsi se caractériser comme suit :

- L'activité liée à la demande alimentaire est variable au cours du temps, à l'inverse de la quantité d'aliment ingérée qui reste stable.
- Dans la plupart des cas, la totalité de l'aliment distribué est ingérée, sauf dans les jours qui suivent un événement stressant comme une biométrie.
- Elevés sous une photopériode de 16 heures de jour et 8 heures de nuit, les poissons ont une alimentation généralement diurne avec des pics alimentaires à l'aube (06:00) et au environ de 12:00.
- Leur poids moyen et leur indice de condition corporel individuel augmente régulièrement (entre 100 et 400 g) alors que leur taux de croissance spécifique reste stable au cours du temps.
- Les caractéristiques physiologiques (*i.e.* composition musculaire, biochimie du sang et des tissus) sont dans les normes publiées par Pichavant *et al.* (2001), Person Le Ruyet *et al.* (2002, 2003) et Dosdat *et al.* (2003).

L'ensemble de ces résultats, nous a servi de référence pour évaluer les effets du stress sur le comportement alimentaire, le potentiel de croissance et le statut physiologique de l'espèce. Complétés par les autres expériences effectuées dans cette thèse, ils nous permettent aussi de détailler les grands principes qui sous-tendent le comportement d'auto-alimentation de l'espèce, *i.e.* dans un groupe de 50 à 60 bars, environ 5% des individus sont des manipulateurs principaux (réalisant plus de 25% des demandes alimentaires totales), 80% des manipulateurs occasionnels et 15% des non manipulateurs. Cette structure de population est relativement stable dans le temps, bien que le rôle joué par chaque poisson au sein du groupe puisse varier. Les manipulateurs ne se distinguent des autres membres du groupe par aucun signe extérieur apparent et les questions se posent de savoir (1) pourquoi seuls quelques individus réalisent la majeure partie des demandes alimentaires, (2) pourquoi cette tâche n'est pas partagée de

façon équitable entre les différents membres du groupe et (3) quel avantage en tire le manipulateur principal ? Nos travaux apportent les réponses suivantes à ces trois questions :

- 1) Les bars manipulateurs présentent une personnalité et des caractéristiques cognitives particulières leur permettant d'apprendre l'utilisation du self-feeder plus rapidement que les autres membres du groupe. En effet, les poissons réalisant le plus de demandes alimentaires sont également les plus aptes à prendre des risques et semblent caractérisés par une personnalité plus audacieuse (Chapitre 8). Comme chez d'autres espèces, ce trait de personnalité peut être corrélé avec d'autres caractéristiques comportementales et/ou phénotypiques, *e.g.* : leader natatoire (Ward *et al.*, 2004); capacité d'apprentissage (Sneddon, 2003); attractivité sexuelle (Godin & Dugatkin, 1996); dominance (Sundström *et al.*, 2004). Ces poissons gardent aussi la capacité de redevenir le manipulateur principal du groupe à tout moment (Chapitre 2 et 3). Cette observation renforce l'idée que cette aptitude fait partie intégrante de la personnalité de l'individu. Ainsi, nous rejoignons l'idée déjà émise par Anthouard *et al.* (1986), que l'efficacité avec laquelle les poissons utilisent le levier du self-feeder comme un outil dépend des aptitudes particulières de chaque individu, expliquant ainsi la variabilité de comportement observée entre les individus au sein d'une même espèce mais également au sein d'un même groupe.
- 2) L'aptitude des poissons manipulateurs à utiliser le self-feeder est « guidée » par leur statut nutritionnel et leur motivation à s'alimenter. Ils ne présentent, en effet, aucune caractéristique phénotypique ou physiologique particulière sauf un taux de croissance faible, voire négatif, au début de leur période d'activité et qui augmente ensuite pendant celle-ci (Chapitre 2).  
Les individus, caractérisés comme audacieux, semblent également présenter des besoins nutritionnels plus importants que les autres membres du groupe (Chapitre 8).
- 3) L'occupation spatiale de la zone d'alimentation et la monopolisation du levier du self-feeder permet d'acquérir un statut social particulier au sein du groupe. Les poissons manipulateurs, de part leur activité de demande alimentaire importante au cours de la journée, sont caractérisés par une répartition spatiale particulière dans le bassin : ils occupent majoritairement la zone d'alimentation où se trouvent le levier du self feeder et le distributeur de granulés (Chapitre 7). Ils ne présentent cependant aucun signe d'agressivité ou de défense du territoire contrairement à ce qui a été observé chez les salmonidés (Alanära & Brännäs, 1993 ; Brännäs & Alanära, 1993) et ne peuvent donc pas être défini comme dominants. Même si ces poissons ne possèdent pas une position hiérarchique supérieure, ils influencent néanmoins de façon prépondérante le comportement des autres poissons et jouent un rôle indispensable dans la structure sociale du groupe : ils déterminent la quantité d'aliment distribuée à l'ensemble du groupe, sont responsables du rythme de cette alimentation (nocturne, diurne, heures d'alimentation préférentielles) et sont les initiateurs des demandes alimentaires réalisées par les autres bars. Ces individus peuvent donc être définis comme les leaders alimentaires du groupe (Chapitres 2 et 3). L'identité du leader peut cependant varier au cours du temps. La transition entre deux manipulateurs principaux se fait généralement rapidement (4 jours) sans induire de bouleversements autres que ceux apportés par le nouveau leader. Il arrive cependant parfois que cette période de transition dure plus longtemps et entraîne une désorganisation du comportement alimentaire (augmentation des demandes et du gaspillage) due à une diminution de l'influence de chaque leader et à une probable déstructuration sociale du groupe. Ce phénomène est toujours transitoire et disparaît lorsqu'un des deux leaders cesse son activité.

Comment expliquer que l'identité du leader alimentaire change au cours du temps, alors que son rôle semble si important au sein du groupe ?

Les changements se font, dans la majeure partie des cas, de façon spontanée et tous les manipulateurs, présentant un taux de croissance très faible au départ, retrouvent une croissance équivalente à celle des autres bars à la fin de leur période d'activité. Notre hypothèse serait donc que les leaders conservent leur statut jusqu'à ce qu'ils retrouvent un taux de croissance en adéquation avec leur métabolisme et que, par conséquent, leur motivation à s'alimenter diminue. Cette hypothèse serait confirmée par les observations de Krause *et al.* (1992) qui démontrent que les poissons qui occupent les positions frontales d'un banc (leur permettant d'accéder plus facilement à la zone d'alimentation) sont caractérisés par un état de carence alimentaire important et qu'ils conservent cette position aussi longtemps que nécessaire pour recouvrer un état nutritionnel satisfaisant. Ces auteurs suggèrent que les individus leaders peuvent changer au cours du temps.

Nous sommes donc à même de conclure que le comportement alimentaire sous self-feeder des bars en conditions d'élevage standard n'est pas simplement la somme des demandes alimentaires réalisées par chaque membre du groupe, mais qu'il est dirigé par le comportement de demande alimentaire (quantité et rythme) du manipulateur principal, lui-même influencé par son état nutritionnel. Il apparaît aussi que plus que son identité, c'est le rôle de leader du manipulateur au sein du groupe qui est indispensable à la conservation d'une structure sociale stable.

## **2. Caractérisation des effets du stress et de l'influence du niveau de domestication et de sélection**

### **2.1. Sur le comportement alimentaire et la croissance**

Les bars sélectionnés de première ou de deuxième génération sont, avant toute chose, caractérisés par un poids corporel moyen supérieur d'une vingtaine de pourcents à celui des bars non sélectionnés et par un taux de croissance équivalent aux autres souches car le différentiel de poids apparaît au cours de l'élevage larvaire et se stabilise vers 30 g (Vandeputte *et al.*, soumis). Une différence majeure peut cependant démarquer les souches sélectionnées des autres : le taux de croissance et l'indice de condition des poissons sélectionnés fluctuent de manière brutale quand les conditions environnementales varient, *i.e.* fortes baisses de croissance, tout aussi rapidement compensées.

Une autre différence distingue les souches : la vitesse d'apprentissage pour l'alimentation sur self-feeder. Les bars de première génération de domestication apprennent généralement à utiliser le self-feeder en 14 jours (Chapitre 4 et 6) contre 2 jours seulement pour les bars de seconde génération (Chapitre 5). Cette faculté à utiliser un self-feeder rapidement, qui se traduit par un taux de croissance positif pendant la période d'habituation aux conditions expérimentales, pourrait témoigner d'une amélioration des capacités d'adaptation aux conditions d'élevage au cours de la domestication.

L'activité de demande alimentaire, par contre, ne semble pas modifiée de façon évidente par le niveau de domestication ou de sélection, mais elle est profondément affectée par l'induction d'un stress :

- En l'absence de stress, la quantité d'aliment ingérée et gaspillée est très variable d'une expérience à l'autre ; les différentes souches présentent un comportement particulièrement hétérogène. Par exemple, les bars issus de parents sauvages ont demandé et ingéré parfois jusqu'à +36% (Chapitre 4) et parfois jusqu'à -36% (Chapitre 6) d'aliment que les souches domestiquées et sélectionnées. La sélection sur la croissance chez le bar n'entraîne donc pas toujours une plus grande motivation à s'alimenter à l'inverse de ce qui a pu être montré chez la truite arc-en-ciel (Valente *et al.*, 2001), chez le saumon Atlantique (Thodesen *et al.*, 1999) ou bien encore chez la truite commune (Sanchez *et al.*, 2001).
- Sous l'effet d'un premier stress aigu, la quantité d'aliment demandée et ingérée augmente généralement de façon importante, ce qui s'accompagne parfois de gaspillage. Ces observations vont à l'encontre de ce qui est signalé chez d'autres espèces où le stress entraîne généralement une baisse de l'ingestion (Pickering *et al.*, 1982 ; Pickering & Steward, 1984 ; Mesa, 1994 ; Olla *et al.*, 1995 ; Wendelaar Bonga, 1997 ; McCormick *et al.*, 1998, Liebert & Schreck, 2006). Il faut noter cependant que cette consommation accrue d'aliment chez le bar stressé s'accompagne d'une augmentation du taux de croissance spécifique d'environ 40% pour les bars de première génération de domestication et d'une diminution de ce taux d'environ 20% (correspondant à une augmentation estimée du taux métabolique d'environ 11%) pour les bars de deuxième génération. Ce dernier point a déjà été signalé chez d'autres espèces de téléostéens (Barton & Schreck, 1987 ; Rice, 1990 ; Wendelaar Bonga, 1997).
- L'application d'un second stress aigu ne va pas entraîner une forte évolution du comportement alimentaire : la demande alimentaire et l'ingestion restent constantes pour les individus de première génération de domestication ou retournent à un niveau équivalent à celui existant avant la période de stress pour les bars de deuxième génération. Ce phénomène s'accompagne respectivement d'une diminution ou d'une augmentation du taux de croissance spécifique.
- L'induction d'un stress chronique durant une période relativement longue augmente de façon pérenne la motivation à s'alimenter et s'accompagne, dans un premier temps, d'une diminution du taux de croissance spécifique d'environ 30% puis, dans un deuxième temps, d'une élévation significative de ce taux d'environ 20%.

En résumé, la première apparition d'un facteur de stress dans le milieu d'élevage, qu'il soit aigu ou chronique, influence davantage la motivation à s'alimenter et les performances de croissance des poissons que la répétition de ces contraintes, soulignant ainsi les capacités de compensation et d'adaptation du bar. L'évolution du comportement alimentaire présente par ailleurs, un caractère plus homogène pour toutes les souches testées dans le cas d'une réponse à un stress chronique que dans le cas d'un stress aigu, ce qui plaide en faveur de l'existence de plusieurs stratégies d'adaptation selon le type de stress :

- Dans le cas d'un stress aigu, la stratégie d'adaptation des bars serait dépendante de la structure sociale du groupe et de l'influence d'un individu particulier (le leader alimentaire),
- Dans le cas d'un stress chronique, la stratégie serait une accoutumance progressive des poissons aux différentes contraintes imposées, associée à une augmentation de l'ingestion pour compenser l'élévation des dépenses énergétiques.

Une autre stratégie d'adaptation, adoptée par les bars face aux facteurs de stress et quelque soit la souche considérée, est une modification du rythme d'alimentation : il devient plus diurne et se concentre dans une plage horaire bien définie, que le stress soit aigu (surtout pour les souches non sélectionnées) ou chronique. Les pics d'alimentation observés se recalent sur ceux décrits lors d'un comportement hors stress (Chapitre 3), *i.e.* un pic alimentaire à 12:00 (Chapitres 4 et 5) ou à 06:00 (Chapitre 6). Ces résultats renforcent l'idée déjà émise par Spieler (1977) et Parker (1984) chez les mammifères et par Boujard & Leartherland (1992), Boujard *et al.* (1995), Jobling *et al.* (1995); Thorpe & Cho (1995) et Gélinau *et al.* (1996) chez d'autres espèces de téléostéens, que les heures auxquelles les animaux s'alimentent jouent un rôle important dans l'assimilation des nutriments et donc sur leur croissance. Notre hypothèse est que pour compenser l'augmentation de leurs besoins énergétiques et limiter l'effet du stress sur leur taux de croissance, les bars ajustent leur alimentation sur une plage horaire correspondant à l'optimum d'assimilation des nutriments pour leur espèce dans ces conditions particulières.

## 2.2. Sur le statut physiologique

D'une manière générale, il est difficile de déterminer l'influence de la domestication ou de la sélection sur le statut physiologique des bars qui, comme le comportement alimentaire, répond davantage aux facteurs de stress.

La variable la plus révélatrice est pour le bar comme pour d'autres espèces, l'hyperglycémie sanguine (Wedemeyer *et al.*, 1990; Hardy & Audet, 1990; Torres *et al.*, 1991; Cech *et al.*, 1996 ; Pottinger & Carrick, 1999) : le stress lorsqu'il est chronique, et encore plus lorsqu'il est aigu, induit une concentration en glucose plasmatique deux fois supérieure à celle qui est mesurée en condition d'élevage standard (Echevarria *et al.*, 1997; Peres & Oliva-Teles, 1999; Pichavant *et al.*, 2001; Roncarati *et al.*, 2006; Di Marco *et al.*, 2008). Comme le stress augmente le métabolisme (Chapitres 4, 5 et 6) et les demandes énergétiques, il est donc fort probable qu'il provoque une mobilisation et une synthèse du glucose à partir des réserves disponibles comme le glycogène hépatique (Barton & Schreck, 1987 ; Pankhurst & Van Der Kraak, 1997 ; Wendelaar Bonga, 1997). Cette synthèse de glucose a généralement pour but d'apporter à l'animal suffisamment d'énergie pour faire face au stress et y réagir de manière appropriée (Nakano & Tomlinson, 1967; Wendt & Saunders, 1973; Wydoski *et al.*, 1976). Cette hypothèse est confirmée par l'analyse du taux de glycogène hépatique qui chez nos bars se révèle à des niveaux bien inférieurs aux valeurs de référence (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). Même si la réponse physiologique de nos poissons est relativement équivalente entre les souches étudiées, certaines différences s'observent entre les générations : trois semaines après avoir subi deux stress aigus, le taux de glucose des poissons de première génération est encore deux fois supérieur à celui des animaux de deuxième génération placés dans les mêmes conditions. Ceci confirme notre hypothèse selon laquelle le niveau de domestication jouerait un rôle dans la vitesse d'adaptation des bars face aux facteurs de stress aigu. Ces résultats corroborent, par ailleurs, les observations réalisées par Woodward & Strange (1987) et Lepage *et al.* (2000), selon lesquelles, chez les truites, le processus de domestication induit une diminution de la glucogénèse plasmatique après un stress. Des conclusions similaires peuvent être déduites des analyses du glycogène hépatique.

Une autre variable sanguine permettant d'évaluer l'effet du stress sur l'état physiologique des bars, est le taux de lactate. Il ne répond cependant qu'au stress aigu en augmentant fortement (Chapitre 5), mais n'est pas affecté par le stress chronique (Chapitre 6). Ces résultats

s'expliquent par le fait que chez les téléostéens, le lactate est produit par le métabolisme anaérobie des muscles blancs uniquement sous conditions hypoxiques ou sous l'influence d'un exercice intense (Black, 1957 a, b; Joshi, 1978 ; Wardle, 1978), ce dernier point correspondant au facteur de stress aigu de notre étude et non à celui du stress chronique. La production équivalente de lactate sanguin que nous observons après chaque stress aigu et pour l'ensemble des souches testées, indique que cette réaction physiologique n'est corrélée ni avec les capacités d'adaptation des poissons, ni avec les effets de la sélection sur la croissance (Chapitre 5).

Enfin, la dernière variable physiologique nous ayant permis d'évaluer l'effet du stress est l'activité sérotoninergique cérébrale. Les poissons, comme de nombreux autres vertébrés présentent à la suite d'un événement stressant, une augmentation du taux de sérotonine dans le cerveau (Chaouloff, 1993; Winberg & Nilson, 1993; Winberg *et al.*, 1997; Dinan, 1996; Lepage *et al.*, 2000 ; Summers, 2001; Di-Poï *et al.*, 2007; Gesto *et al.*, 2008). Dans notre cas, trois semaines après l'application d'un stress aigu (Chapitre 4), les bars présentent encore un niveau de sérotonine deux à trois fois supérieur à celui mesuré dans les conditions standard (Chapitre 2 ; Di-Poï *et al.*, 2007). Il apparaît aussi que les souches sélectionnées ont un niveau de sérotonine dans le cerveau supérieur aux souches sauvages témoignant d'un niveau de stress plus important à l'inverse de ce que Lepage *et al.* (2000) démontrent chez la truite de mer.

### **2.3. Sur le comportement natatoire**

Le comportement natatoire se révèle être un critère peu discriminant pour évaluer l'effet de la domestication et de la sélection sur la capacité de tolérance au stress des bars issus d'une, voire deux générations de domestication. Cependant, le comportement natatoire à travers l'analyse de la répartition spatiale du groupe et des manipulateurs principaux (Chapitre 7) est pertinent pour mesurer les effets du stress. Nos analyses démontrent que le manipulateur principal, qui a déjà une influence prépondérante sur le comportement alimentaire du groupe, influence également la répartition spatiale de ses congénères.

En dehors des périodes de stress, les poissons se répartissent généralement de manière homogène dans le bassin.

Lors de la première confrontation à un stress aigu, les leaders alimentaires, quelque soit la souche ou la génération considérée, sont toujours dans la zone d'alimentation alors que les autres membres du groupe se répartissent de façon relativement équivalente dans la zone la plus proche ou la plus éloignée du self-feeder. Cette nouvelle répartition spatiale peut sans doute s'expliquer par l'augmentation de la motivation à s'alimenter induite par le stress (Chapitres 4 et 5) et confirme que le comportement des manipulateurs occasionnels est étroitement lié à celui du manipulateur principal. En effet, le positionnement du groupe légèrement en retrait par rapport à cet individu et à la zone d'alimentation, est typique d'une position d'attente d'activation du self-feeder par le manipulateur avant de réaliser des demandes alimentaires propres. Ces observations corroborent celles de Krause *et al.* (2000) qui montrent que le leader se situe généralement à la tête du banc et oriente les autres poissons vers la source de nourriture. Ces résultats démontrent que dans notre étude, le leader alimentaire est également le leader natatoire au sein du groupe.

L'application d'un deuxième stress aigu, ne modifie pas la position du leader, qui est toujours dans la zone d'alimentation, alors que le comportement natatoire des autres poissons devient

relativement homogène dans tout le bassin. Ceci concorde avec l'idée émise précédemment, de l'effet moindre d'un stress répété et de l'existence de capacités d'adaptation chez le bar.

La vitesse de nage, quant à elle, contrairement aux observations réalisées par Olla & Studholme (1971) et Kristiansen *et al.* (2004), ne semble pas réellement influencée par le stress, même si une diminution systématique de la vitesse des poissons manipulateurs de première génération est visible après chaque stress. Ce phénomène est d'ailleurs plus à mettre en relation avec une réduction de la mobilité des manipulateurs dans le bassin (utilisation accrue du self-feeder) qu'à un réel effet direct du stress.

En résumé, il semblerait que l'influence du stress sur la répartition spatiale des poissons serait plus la conséquence du changement de leur motivation à s'alimenter, qu'un effet direct sur leur activité natatoire. Cette variable peut donc être considérée comme un indicateur secondaire du stress.

## 2.4. Sur la personnalité

L'étude du comportement de prise de risque (Chapitre 8) et d'exploration (Chapitre 9) nous a permis, d'une part, de compléter l'analyse de l'effet du stress sur le comportement natatoire, mais également d'identifier la personnalité des bars issus des différentes souches étudiées.

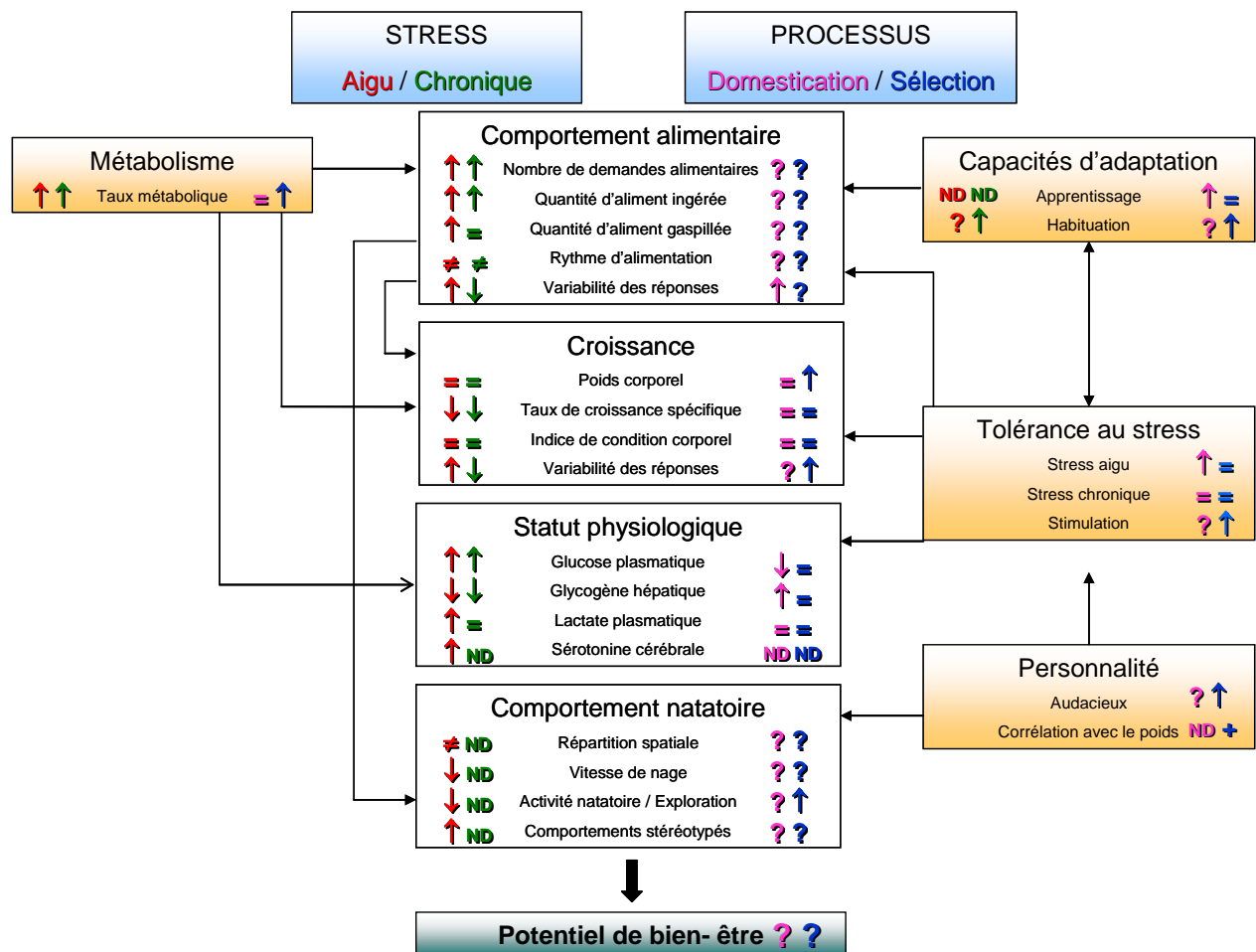
D'une manière générale, l'application d'un facteur de stress aigu (exposition à une nouvelle situation ou stimulation) entraîne, dans un premier temps, une diminution de l'activité natatoire voire une complète immobilité, une désorientation et des comportements stéréotypés (nage le long des parois du bassin ou thigmotaxie, prostration). Ces observations concordent avec les travaux réalisés chez d'autres téléostéens (Gotceitas & Godin, 1991 ; Godin & Valdrón Clark, 1996 ; Barbosa, 1997 ; Fernö & Järvi, 1998 ; Ryer, 2004). Ce comportement disparaît ensuite rapidement démontrant, une fois encore, que les bars s'adaptent vite à ce type de stress. Ainsi, dès le deuxième test de prise de risque la nage des poissons ne présente quasiment plus aucun signe de stress, évolution qui se confirme lors d'un troisième test (Chapitre 8) et il ne faut guère plus de 40 minutes après une stimulation stressante pour que la majorité des bars reprennent une activité exploratoire importante (Chapitre 9).

L'influence des processus de domestication et de sélection à un stade précoce sur la personnalité est là aussi difficile à déterminer. Les tests de prise de risque (Chapitre 8) et d'exploration (Chapitre 9) révèlent malgré tout quelques différences entre les souches testées. L'étude sur la prise de risque montre que, d'une manière générale, les individus sélectionnés sont plus stressés et ont une capacité d'adaptation face à un changement brutal de leur environnement d'élevage moins prononcée que les individus issus de parents sauvages. Cela confirmerait l'existence de facultés d'adaptation et d'apprentissage plus développées déjà signalées chez les bars non sélectionnés (Chapitre 4). D'un autre côté, la capacité d'adaptation des animaux sélectionnés est plus progressive et plus régulière au cours du temps que celle de leurs congénères issus de parents sauvages. Ils présentent, par ailleurs, une aptitude à explorer un nouvel environnement (ouvert et potentiellement dangereux) plus développée que les bars issus d'une simple domestication ou de parents sauvages (Chapitre 9) et chez eux, l'état de stress apparent, engendré par une stimulation (stress aigu), dure moins longtemps.



### 3. Principales conclusions

Les variations des différents éléments composant le comportement alimentaire et natatoire, le potentiel de croissance et le statut physiologique des bars en milieu d'élevage ont été interprétées en terme de tolérance au stress, de capacité d'adaptation, de modification du métabolisme et de personnalité. Pour une lecture plus aisée, les principales conclusions de cette thèse sont résumées dans la Figure 1, mettant en évidence les principaux effets du stress aigu et du stress chronique et l'influence des processus de domestication et de sélection sur ces différentes variables. Cette figure illustre également les interconnexions existantes entre le comportement, la physiologie et les interprétations déduites des résultats. Il reste encore quelques questions auxquelles nous n'avons pas pu répondre, soit parce que les résultats obtenus ne nous ont pas permis de conclure (?), soit parce que des expériences complémentaires doivent être réalisées (ND). Cependant, au vu des premiers résultats, il semble que les indicateurs choisis dans cette thèse pourraient se révéler pertinents dans l'étude des futures générations de domestication.



**Figure 1 :** Principales conclusions de l'étude des effets du stress et de l'influence de la domestication et de la sélection sur différentes variables comportementales et physiologiques dans le but d'évaluer le potentiel de bien-être des bars en élevage. Les effets sont représentés par : ↑ : Augmentation ; ↓ : Diminution ; ≠ : Modification ; = : Pas significatif ; ? : Indéterminé pour le moment ; + : Positif ; ND : résultats non disponibles. Les flèches noires représentent les relations entre les différents résultats et éléments d'interprétation

## 4. Validation d'indicateurs comportementaux et physiologiques

### 4.1. Pour évaluer l'apparition d'un stress en condition d'élevage

La caractérisation des réponses au stress, nous permet de dégager un certain nombre d'indicateurs fiables et pertinents pour détecter l'apparition d'un stress aigu ou chronique chez les bars en condition d'élevage, *i.e.*:

- une augmentation soudaine de la motivation à s'alimenter, accompagnée parfois de gaspillage
- une diminution du taux de croissance
- un changement spontané du rythme alimentaire
- une modification de la répartition spatiale
- une diminution de l'activité natatoire (voire une immobilisation totale)
- des comportements stéréotypés (thigmotaxie, prostration)
- une augmentation du taux de glucose et lactate sanguin, de l'activité sérotoninergique et une diminution de la concentration en glycogène hépatique.

Toutefois, et en accord avec de nombreuses recherches menées chez d'autres vertébrés (Lefcourt *et al.*, 1986 ; Lyons & Price, 1987 ; Hemsworth *et al.*, 1994 ; Márquez *et al.*, 2006), les principes généraux reliant le comportement de l'animal, sa croissance et ses réponses physiologiques restent encore insuffisamment compris et décrits pour qu'il soit possible d'utiliser ces indicateurs séparément dans l'évaluation du bien-être animal (Vessier *et al.*, 2007).

### 4.2. Pour évaluer les effets de la domestication ou de la sélection sur la tolérance au stress

D'une manière générale, les résultats issus de ce travail ne permettent pas encore de valider des indicateurs comportementaux et physiologiques suffisamment sensibles pour évaluer les effets de la domestication ou de la sélection sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être des bars en élevage. Cependant, nous pouvons quand même dégager les quelques grandes tendances suivantes pour des animaux domestiqués ou sélectionnés depuis une ou deux générations:

- La motivation à s'alimenter, le statut physiologique général et le comportement de nage ne sont pas à ce stade précoce de domestication et de sélection des indicateurs suffisamment sensibles.
- Une vitesse d'apprentissage et d'adaptation aux conditions d'élevage (retour rapide à une alimentation, une croissance et un statut physiologique normal) accrue serait plutôt un témoin de la domestication.
- Un rythme alimentaire régulièrement réparti tout au long de la journée, une capacité d'exploration élevée dans un environnement inconnu (pouvant être associé à un caractère audacieux) et un taux de croissance fluctuant à la moindre dégradation des conditions d'élevage, même s'il reste en moyenne élevé, sont des caractéristiques typiques d'animaux sélectionnés pour la croissance.

## 5. Implication de ces résultats pour la production piscicole

Les résultats de cette thèse permettent tout d'abord, de suggérer 4 recommandations majeures qui devraient être susceptibles d'améliorer le rendement alimentaire du bar en élevage et donc indirectement le bien-être :

- 1) Limiter au maximum les tris pour obtenir des groupes de poissons homogènes en taille. Ces pratiques quasiment systématiques en élevage engendrent non seulement du stress mais surtout déplacent des individus ayant un rôle prépondérant (leader) dans l'alimentation (que ce soit sous self-feeder ou non) et dans la stabilité sociale d'un groupe. La désorganisation de cette structure sociale modifie la quantité d'aliment ingérée, le rythme d'alimentation, peut diminuer le taux de croissance et engendre un gaspillage de l'aliment, autant de perturbations qui vont rendre difficile la gestion de l'alimentation par l'éleveur et diminuer les gains espérés par le tri. La réduction de dispersion en taille engendrée par un tri ne sera de toute façon qu'éphémère (et coûteuse en main-d'œuvre) puisqu'elle disparaît en quelques semaines (Saillant *et al.*, 2000).
- 2) Etre extrêmement vigilant à toute modification de la motivation à s'alimenter. Une augmentation de la quantité d'aliment ingérée n'est pas, contrairement à ce que l'on peut penser forcément un gage de bien-être. Elle peut être le témoin de l'apparition d'un stress aigu ou chronique qui s'accompagnera généralement d'une diminution du taux de croissance.
- 3) Prendre en compte le *preferendum* horaire de l'espèce pour s'alimenter (06:00 et 12:00 chez le bar) afin d'optimiser l'assimilation des nutriments, limiter le gaspillage alimentaire et éviter une diminution du taux de croissance durable.
- 4) Initier de véritables programmes de domestication incluant une fermeture stricte du cheptel pour bénéficier des gains d'adaptation à l'environnement d'élevage au fil des générations.

Pour aller plus loin sur ce dernier point, je suggérerai également une sélection dirigée sur la tolérance, voire sur la capacité d'adaptation au stress. Dans la pratique, compte tenu des résultats acquis au cours de ce travail de thèse, je proposerai d'utiliser un stress aigu de type exondation et de suivre la cinétique du taux de croissance selon les challenges suivants :

Pour la sélection d'individus tolérants au stress *i.e.* peu sensibles aux stress aigus :

- Pesée individuelle initiale de tous les challengers.
- Elevage de ces individus en condition standard (alimentation grâce à un nourrisseur automatique non self-feeder) pendant trois semaines.
- Application d'un stress aigu de type exondation pendant une minute suivi d'une pesée individuelle.
- Remise en condition d'élevage normale pendant trois semaines puis pesée individuelle finale.
- Calcul des taux de croissance spécifique et sélection des individus présentant une cinétique de croissance la moins variable entre les périodes pré et post stress.

Pour la sélection d'individus présentant une forte capacité d'adaptation *i.e.* sensibles et fortement répondant au stress aigu, mais présentant des capacités de récupération importantes, les deux étapes suivantes seraient rajoutées au challenge précédent :

- Remise en élevage standard pendant trois semaines puis pesée individuelle.
- Calcul des taux de croissance spécifique et sélection des individus présentant les augmentations du taux de croissance les plus importantes.

Ces animaux seraient en principe pourvus d'une plasticité supérieure à leurs congénères.

## 6. Perspectives

Cette étude n'est qu'un préambule dans l'analyse de l'influence de la domestication et de la sélection sur la tolérance au stress des bars en élevage et sur l'évaluation de leur potentiel de bien-être, mais elle pose les bases et ouvre de nouvelles perspectives de recherche.

Je suggère, en premier lieu, d'approfondir nos connaissances sur la base génétique qui sous-tend les mécanismes que nous avons mis en évidence :

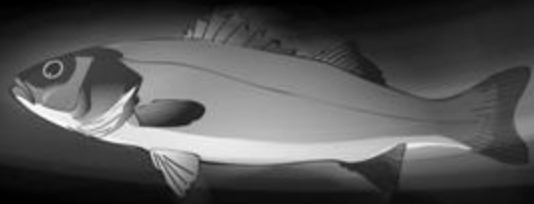
- En déterminant la variabilité génétique des réponses au stress observées entre les individus et/ou entre les souches et en estimant leur héritabilité. Ce travail serait rapidement réalisable en génotypant les poissons car le nombre de familles constituant les groupes étudiés dans cette thèse est assez élevé pour obtenir une bonne précision de ces paramètres génétiques.
- En évaluant, au fil d'autres générations de domestication et de sélection, l'évolution des réponses comportementales et celles concomitantes du potentiel de croissance et du statut physiologique, en se basant sur les indicateurs déjà validés dans cette thèse.

Sur un plan plus méthodologique, et afin de compléter nos connaissances sur les capacités d'apprentissage, la personnalité et le comportement natatoire des bars, je suggère de tester d'autres approches telles :

- Des tests basés sur l'apprentissage spatial, l'utilisation d'un nouvel outil, la reconnaissance d'un individu ou d'un environnement familier pour apporter des compléments d'information sur les capacités cognitives des poissons.
- L'étude du comportement anti-prédateur, de la réaction face à une nouvelle source d'alimentation, ou vis-à-vis d'un individu n'appartenant pas à la même espèce, pour avoir une meilleure connaissance des mécanismes favorisant l'expression et la conservation d'un trait de personnalité au fil des générations.
- L'élaboration de nouveaux outils pour analyser plus finement le comportement natatoire (vitesse de nage du groupe, répartition dans la colonne d'eau, orientation du groupe par rapport au leader, distances inter-individuelles...) et pour améliorer l'inter-calibrage de cette variable avec le comportement alimentaire.

Enfin, je préconise la recherche d'autres types d'indicateurs de stress qui soient non invasifs et facilement utilisables sur un grand nombre de poissons pour permettre un changement d'échelle (*i.e.* de l'expérimental vers l'industrie) et leur utilisation dans des programmes de sélection. Je suggère aussi de faire ces nouvelles investigations sur des facteurs de stress plus proches de ceux qui sont couramment rencontrés en élevage, *i.e.* : les fortes densités, la dégradation de la qualité de l'eau, une oxygénation insuffisante, ou bien encore, des manipulations fréquentes.

## Références bibliographiques



## A

- Alanärä, A. (1992) The effect of time-restricted demand feeding on feeding activity, growth and feed conversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **108**, 357-368.
- Alanärä, A., Brännäs, E. (1993) A test of the individual feeding activity and food size preference in rainbow trout. *Aquaculture International* **1**, 47-54.
- Anthony, D., Telegin, D.Y., Brown, D. (1991) The origin of horseback riding. *Scientific American* **265**, 94-100.
- Anthouard, M., Desportes, C., Kentouri, M., Divanach, P., Paris, J. (1986) Etude des modèles comportementaux manifestés au levier par *Dicentrarchus labrax*, *Diplodus sargus*, *Puntazzo puntazzo*, *Sparus aurata*, et *Lithognathus mormyrus* (Poissons téléostéens), placés dans une situation de nourrissage auto-contrôlé. *Biology Behaviour* **11**, 97-110.
- Anthouard, M., Kentouri, M., Divanach, P. (1993) An analysis of feeding activities of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, moronidae), raised under different lighting conditions. *Ichthyophysiological Acta* **16**, 59-73.
- Appleby M.C. (2004) What causes crowding? Effects of space, facilities and group size on behaviour, with particular reference to furnished cages for hens. *Journal of Animal Welfare Science* **13**, 313-320.
- Aranda, A., Madrid, J.A., Zamora, S., Sánchez-Vázquez, F.J. (1999) Synchronizing effect of photoperiod on the dual phasing of demand-feeding rhythms in sea bass. *Biological Rhythm Research* **30**, 392-406.
- Arnould C, Leterrier C. (2007) Bien-être animal en élevage de poulets de chair. *INRA Productions Animales* **20**, 41-46.
- Aschoff, J. (1981) Freerunning and entrained circadian rhythms. In: *Handbook of behavioural neurobiology (biological rhythms)*, vol 4 (ed. By Aschoff, J.), pp. 81-94. Springer- Verlag, Berlin.
- Ashley, P.L. (2007) Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science* **104**, 199-235.
- Audard C. (2004) Utilitarisme. In : Dictionnaire d'éthique et de philosophie morale. Canto-Sperber M. (Ed), 3ème édition, P.U.F., Paris, France, 2001-2009.
- Azzaydi, M., Martinez, F. J., Zamora, S., Sanchez-Vazquez, F. J., Madrid J. A. (2000) The influence of nocturnal vs. diurnal feeding under winter conditions on growth and feed conversion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture* **182**, 329-338.

## B

- Babouchkine, Y.P. (1987) La selection d'une carpe résistant à l'hiver. In : Proc. World Symp. On Selection Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture, vol 1., 447-454, Bordeaux (France) 27-30 May 1986. Heenemann Verlagsgesellschaft mbH, Berlin.
- Balm, P.H.M. (1997) Immune-endocrine interactions. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture* (Iwana, G., Pickering, A., Sumpter, J., Schreck, C. Eds.), pp.195-222. Cambridge University Press, Cambridge.
- Balm P.H.M., Pottinger T.G. (1995) Corticotrope and melantrope POMC derived peptides in relation to interrenal function during stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology* **98**, 279-288.
- Balon, E.K. (1995) Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from roman gourmets of the swimming flowers. *Aquaculture* **129**, 3-48.
- Baras, E., Tissier, F., Westerloppe, L., Mélard, C., Philippart, J.C. (1998). Feeding in darkness alleviates density-dependent growth of juvenile vundu catfish *Heterobranchus longifilis* (Claridae). *Aquatic Living Resources* **11**, 334-340.
- Barbosa, A. (1997) Foraging strategy and predator avoidance behaviour: an intraspecific approach. *Acta Oecologica* **18**, 615-620.
- Barcellos L.J.G., Woehl V., Wassermann G., Quevedo R., Krieger M. (2001) Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard), a South American catfish. *Aquaculture Research* **32**, 121-123.
- Bardach, J.E. and Todd, J.H. (1970) Chemical communication in fish. In: Johnston, J.W., Moulton, D.G. and Turk, A. (Eds), Advances in chemoreception. Meredith Corporation, New York, Vol.1, pp 205-240.
- Bareille N. (2007) Le mal-être de l'animal malade et sa gestion en élevage. *INRA Productions Animales* **20**, 87-92.
- Barnett, J.L., Taylor, I.A. (1997) Sequential versus concurrent feeding on acute and chronic stress responses in pigs. In: Bottcher, R.W., Hoff, S.J. (Eds.), Fifth International Livestock Environment Symposium. American Society of Agriculture Engineers, Michigan, USA, pp. 607-612.
- Barton, B.A. (1997) Stress in finfish: past, present and future - a historical perspective. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture* (Iwana, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. and Schreck, C.B.), pp 1-33. Cambridge University press, Cambridge, U.K.

- Barton, B.A. (2002) Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology* **42**, 517-525.
- Barton, B.A., Schreck, C.B. (1987) Metabolic cost of acute physical stress in juvenile steelhead. *Transactions of the American Fisheries Society* **116**, 257-263.
- Barton, B.A., Iwama, I.W. (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases* **1**, 3-26.
- Barton, B.A., Schreck, C.B., Barton, L.D. (1987) Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Disease of Aquatic Organisms* **2**, 173-185.
- Baxter, M.R. (1982) The nesting behaviour of sows and its disturbance by confinement at farrowing. *Hohenheimer Arbeiten* **121**, 101-114.
- Beaumont, C., Chapuis, H. (2004) Génétique et sélection avicoles: évolution des méthodes et des caractères. *INRA Productions Animales* **17**, 35-43.
- Bégout-Anras M.-L. (1995) Demand-feeding behaviour of sea bass kept in ponds: diel and seasonal patterns, and influences of environmental factors. *Aquaculture International* **3**, 186-195.
- Bégout Anras M.-L., Lagardère J.-P. (2004). Domestication et comportement chez les poissons téléostéens. *INRA Productions Animales* **17**, 211-215.
- Bentham J. (1776) A fragment on government. Cambridge University Press, Cambridge, UK, Edition 1988, 128p.
- Bentham J. (1789) An introduction to the principles of morals and legislation. In : The collected works of Jeremy Bentham. F. Rosen, J.H Burns (eds), Clarendon Press, Oxford, UK, Edition de 1983, Chapter XVII, Section I, note 2, 283.
- Benus, R., Bohus, B., Koolhas, J. & van Oortmerssen, G. (1991). Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia* **47**, 1008-1019.
- Bevelhimer, M.A. (1996) Relative importance of temperature, food and physical structure to habitat choice by smallmouth bass in laboratory experiments. *Transactions of the American Fisheries Society* **125**, 274-283.
- Biro, P.A., Abrahams, M.V., Post, J.R. & Parkinson, E.A. (2004). Predators select against high growth rates and risk-taking behaviour in domestic trout populations. *Proceeding of the Royal Society B* **271**, 2233-2237.
- Black, E.C. (1957 a) Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. I Kamloops trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **14**, 117-134.
- Black, E.C. (1957 b) Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. II Lake trout, *Salvelinus namaycush*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **14**, 645-649.
- Blanc, J.M., Poisson, H., Escaffre, A.M., Aguirre, P., Vallee, F. (1993) Inheritance of fertilizing ability in male tetraploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **110**, 67-70.
- Blanchard, R.J., Flannelly, K.J., Blanchard, D.C. (1986) Defensive behavior of laboratory and wild *Rattus norvegicus*. *Journal of Comparative Psychology* **100**, 101-107.
- Blanchard, R.J., Blanchard, D.C., Hori, K. (1989) Ethoexperimental approach to the study of defense. In: Ethoexperimental Approaches to the Study of Behavior. Blanchard, R.J., Brain, P.F., Blanchard, D.C., Parmigiani, S. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 114-136.
- Blaxter, J.H.S. (1970) Sensory deprivation and sensory input in rearing experiments. *Helgoland Marine Research* **20**, 642-654.
- Boglione, C., Gagliardi, F., Scardi, M., Cataudella, S. (2001) Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild and reared gilthead bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* **192**, 1-22.
- Boice, R. (1980) Domestication and degeneracy. In *Comparative Psychology. An Evolutionary Analysis of Animal Behavior* (Denney, M.R., ed.), pp. 84-99. New York: Wiley.
- Boissy A., Le Neindre P. (1997) Behavioral, cardiac and cortisol responses to brief peer separation and reunion in cattle. *Physiology and Behavior* **61**, 693-699.
- Boissy A., Le Neindre P., Orgeur P., Bouix J. (1996) Genetic variability of psychological reactivity in lambs reared under open-range management. In: Duncan I.J.H., Widowski T M, Haley D B (Eds.), Proceedings of the 30th Congress of the International Society for Applied Ethology, p.59.
- Boissy, A. (1998). Fear and fearfulness in determining behavior. In *Genetics and the behaviour of domestic animals* (Temple Grandin, ed.), pp. 67-111. Colorado.
- Boissy, A., le Neindre, P., Gastinel, P.L., Bouix, J. (2002) Génétique et adaptation comportementale chez les ruminants : perspectives pour améliorer le bien-être en élevage. *INRA Productions Animales* **15**, 373-382.
- Boissy A., Arnould C., Chaillou E., Colson V., Desiré L., Duvaux-Porter C., Greiveldinger L., Leterrier C., Richard S., Roussel S., Saint-Dizier H., Meneier-Salaün M.C., Valence D. (2007) Emotions et cognition : stratégie pour répondre à la question de la sensibilité des animaux. *INRA Productions Animales* **20**, 17-22.

- Bouissou M.F., Vandenheede M. (1995) Fear reactions of domestic sheep confronted with either a human or a human-like model. *Applied Animal Behaviour Science* **34**, 81-92
- Bouissou, M.-F., Boissy, A. (2005) Le comportement social des bovins et ses conséquences en élevage. *INRA Productions Animales* **18**, 87-99.
- Boujard, T., Leartherland, J.F. (1992) Circadian rhythms and feeding time in fishes. *Environmental Biology of Fishes* **35**, 109-131.
- Boujard, T., Gélineau, A., Corraze, G. (1995) Time of a single daily meal influences growth performance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* **26**, 341-349.
- Boujard, T., Jourdan, M., Kentouri, M., Divanach, P. (1996) Diel feeding activity and the effect of time-restricted self-feeding on growth and feed conversion in European sea bass. *Aquaculture* **139**, 117-127.
- Boulos, Z., Terman, M. (1980) Food availability and daily biological rhythms. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* **4**, 119-131.
- Bourdon J.P. (2003) Recherche agronomique et bien-être des animaux d'élevage. Histoire d'une demande sociale. *Histoire et Sociétés rurales* **19**, 221-239.
- Bourne, P.K. (1986) Changes in haematological parameters associated with capture and captivity of the marine teleost, *Pleuronectes platessa*, L. *Comparative Biochemistry and Physiology* **85A**, 435-443.
- Braithwaite, V.A., Huntingford, F.A. (2004) Fish and welfare : do fish have the capacity for pain perception and suffering. *Animal Welfare* **13**, 587-592.
- Brambell, F. W. R. (1965) Report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive husbandry systems. London: Command Report 2836, Her Majesty's Stationary Office.
- Brännäs, E., Alanärrä, A. (1993) Monitoring the feeding activity of individual fish with a demand feeding system. *Journal of Fish Biology* **42**, 209-215.
- Breuer K., Hemsworth P.H., Barnet J.L, Matthews L.R, Coleman G.J. (2000) Behavioural response to humans and the productivity of commercial dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* **66**, 273-288.
- Breuer K., Hemsworth P.H., Coleman G.J. (2003) The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. *Applied Animal Behaviour Science* **84**, 3-22.
- Bridger, C.J., Booth, R.K., McKinley, R.S., Scruton, D.A. (2001) Site fidelity and dispersal patterns of domestic triploid steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) released to the wild. *ICES Journal of Marine Science* **58**, 510-516.
- Brisbin, I.L.Jr., Risch, T.S. (1997) Primitive dogs, their ecology and behavior: unique opportunities to study the early development of the human-canine bond. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **210**, 1122-1126.
- Broom, D.M. (1988) The concept of stress and welfare. *Recueil De Médecine Vétérinaire* **164**, 715-721.
- Broom, D.M. (1998) Fish welfare and the public perception of farmed fish. In: *Report Aquavision'98. The second nutreco aquaculture business conference stavanger forum, 13-15 May, Vol. 1998* (Nash, C., Julien, V. Eds.), pp. 89-91. Norway.
- Brown, G.E., Brown, J.A., Srivastava, R.K. (1992) The effect of stocking density on the behaviour of arctic char (*Salvelinus alpinus* L.). *Journal of Fish Biology* **41**, 955-963.
- Brown, C. & Braithwaite, V.A. (2004). Size matters: a test of boldness in eight populations of the poeciliid *Brachyrhaphis episcopi*. *Animal Behaviour* **68**, 1325-1329.
- Brown, C., Jones, F. & Braithwaite, V.A. (2005). In situ examination of boldness-shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyrhaphis episcopi*. *Animal Behaviour* **70**, 1003-1009.
- Brumann, D., Krause, J. (1993) Front individuals lead in shoals of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) and juvenile roach (*Rutilus rutilus*). *Behaviour* **125**, 189-198.
- Budaev, S.V. (1997a). Alternative styles in the European wrasse, *Symphodus ocellatus*: boldness-related schooling tendency. *Environmental Biology of Fishes* **49**, 71-78.
- Budaev, S.V. (1997b). 'Personality' in the guppy (*Poecilia reticulata*): a correlation study of exploratory behaviour and social tendency. *Journal of Comparative Psychology* **111**, 399-411.
- Burgat F. (2001). Bien-être animal : la réponse des scientifiques. In : Les animaux d'élevage ont-ils droit au bien-être ? F. Burgat, R. Dantzer (Eds), INRA Editions, Paris, France, 105-133.
- Burger, G., Chevassus, B. (1987) Potential of selection for age at the first sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* **307**, 102-117.
- Burton, S.A., Mackenzie, A.L., Davidson, T.J., Macnair, N. (1997) Evaluation of a glucose oxidase/peroxidase method for indirect measurement of glycogen content in marine mussels (*Mytilus edulis*). *Journal of Shellfish Research* **16**, 435-439.
- Buyse J., Simons P.C.M., Boshouwers F.M.G, Decuyper E. (1996). Effect of intermittent lighting, light intensity and source on the performance and welfare of broilers. *World's Poultry Science Journal* **52**, 121-130.



## C

- Cahu, C., Infante, J.Z., Takeuchi, T. (2003) Nutritional components affecting skeletal development in larval fish. *Aquaculture* **227**, 245-258.
- Capdeville J. (2005) Etat des lieux des bâtiments, des capacités de stockage des déjections, des types d'effluents produits et des pratiques d'épandage dans les exploitations bovines françaises. Dépouillement de l'enquête SCEES 2001. Collection Résultats, Institut de l'Elevage, 24p.
- Carlstead, K. (1986) Predictability of feeding: its effects on agonistic behaviour and growth in grower pigs. *Applied Animal Behaviour Sciences* **16**, 25-38.
- Cech, J.J.Jr., Bartholow, S.D., Young, P.S., Hopkins, T.E. (1996) Stripped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological responses to recovery environment. *Transactions of the American Fisheries Society* **125**, 308-320.
- Chandroo KP, Duncan IJH and Moccia RD (2004) Can fish suffer?: perspectives on sentience, pain, fear and stress. *Applied Animal Behaviour Science* **86**:225-250.
- Chaouloff, F. (1993) Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain Research Reviews* **18**, 1-32.
- Chatain, B. (1994) Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*). *Aquaculture* **119**, 371-379.
- Chatain, B. (1994) Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*. Thèse de Doctorat d'Etat, Univ. d'Aix-Marseille II 199 pp.
- Chen, W.M., Mayumi, N., Mitsuo, T. (2002) Circadian rhythms and individual variability of self-feeding activity in groups of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* **33**, 491-500.
- Chevassus, B., Dorson, M. (1990) Genetics of resistance to disease in fishes. *Aquaculture* **85**, 83-107.
- Chevassus, B., Quillet, E., Krieg, F., Hollebecq, M.-G., Mambrini, M., Fauré, A., Labbé, L., Hiseux, J.P., Vandeputte, M. (2004) Enhanced individual selection for selection of fast growing fish : the « PROSPER » method, with application on brown trout (*Salmo trutta fario*). *Genetics Selection Evolution* **36**, 643-661.
- Coleman, K. & Wilson, D.S. (1998) Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behaviour* **56**, 927-936.
- Commission européenne (1999) Agriculture, environnement, développement rural: faits et chiffres. Rapport de synthèse, 261p.
- Conte, F.S. (1992) Evaluation of a freshwater site for aquaculture potential. Publication WRAC no.92-101. *Western Regional Aquaculture Center, USA*, p.35.
- Conte, F.S. (2004) Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science* **86**, 205-223.
- Contreras-Sanchez, W.M., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., Pereira, C.B. (1998) Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction* **58**, 439-447.
- Cooper J.J., Appleby M.C. (2003) The value of environmental resources to domestic hens a comparison of the work-rate for food and for nests as a function of time. *Animal Welfare* **12**, 39-52.
- Coppenet (1975) Bilan des éléments fertilisants sur les exploitations d'élevage. *Fourrages* **62**, 119-132.
- Coulon, J.B., Hauwuy, A., Martin, B., Chamba, J.F. (1997) Pratiques d'élevage, production laitière et caractéristiques des fromages dans les Alpes du nord. *INRA Productions Animales* **10**, 195-205.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G. (1998) A simple way of avoiding feed wastage in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquatic Living Resources* **6**, 395-401.
- Covès, D., Beauchaud, M., Attia, J., Dutto, G., Bouchut, C. & Bégout Anras, M.L. (2006). Long-term monitoring of individual fish triggering activity on a self-feeding system: An example using European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **253**, 385-392.
- Craig J.V., Muir W.M. (1993) Selection for reduction of beak-inflicted injuries among caged hens. *Poultry Science* **72**, 411-420.

## D

- Dagnélie, P. (1975) Théorie et méthodes statistiques. In : *Applications agronomiques vol. 2*, 463 pp. Presses Agronomiques de Gembloux, Gembloux.
- Dantzer R. (2001) Comment les recherches sur la biologie du bien-être animal se sont-elles construites ? In : Les animaux d'élevage ont-ils droit au bien-être ? F. Burgat, R. Dantzer (Eds), INRA Editions, Paris, France, 85-103.
- Davis, K.B., Griffin, B.R., Gray, W.L. (2002) Effect of handling stress on susceptibility of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus infection. *Aquaculture* **214**, 55-66.
- Davis, K. B., McEntire, M. (2006) Effect of photoperiod on feeding, intraperitoneal fat, and insulin-like growth factor-I in sunshine bass. *Journal of the World Aquaculture Society* **37**, 431-436.

- Dawkins, M.S. (1998) Evolution and animal welfare. *Quarterly Review of Biology* **73**, 305-328.
- De Basilio, V., Picard, M. (2002) La capacité de survie des poulets à un coup de chaleur est augmentée par une exposition précoce à une température élevée. *INRA Productions Animales* **15**, 235-245.
- De Boeck, G., Vlaeminck, A., Van der Linden, A., Blust, R. (2000). The energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to salt stress: an increase in energy expenditure or effects of starvation? *Physiological and Biochemical Zoology* **73**, 102-111.
- De Silva S. & Anderson T. A. (2004). Fish nutrition in aquaculture. London, Chapman & Hall: 340 pp.
- Dellmeier, G.R., Friend, T.H., Gbur E.E. (1985) Comparison of four methods of calf confinement. II. Behavior. *Journal of Animal Science* **60**, 1102-1109.
- Denis B (2004) La domestication: un concept devenu pluriel. *INRA Productions Animales* **17**, 161-166.
- Desforges, M.F. & Woog-Gush, D.G.M. (1976) Behavioral comparisons of Aylesbury and Mallard ducks: Sexual behaviour. *Animal Behaviour* **24**, 391-397.
- Di Marco, P., Priori, A., Finioia, M.G., Massari, A., Mandich, A., Marino, G. (2008) Physiological responses of European sea bass *Dicentrarchus labrax* to different stocking densities and acute stress challenge. *Aquaculture* **275**, 319-328.
- Diamond, J. (2002) Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature* **418**, 700-707.
- Dill, L.M. (1974) The escape response of Zebra danio (*Brachydanio reiro*): the effect of experience. *Animal Behaviour* **22**, 723-730.
- Dill, L.M. (1983) Adaptive flexibility in the foraging behavior of fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **40**, 398-408.
- Dinan, T.G. (1996) Serotonin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Sciences* **58**, 1683-1694.
- Di-Poi, C., Attia, J., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Beauchaud, M. (2007) Behavioural and neurophysiological responses of European sea bass groups reared under food constraint. *Physiology and Behavior* **90**, 559-566.
- Domenici, P., Batty, R.S. (1997) Escape behaviour of solitary herring (*Clupea harengus*) and comparisons with schooling individuals. *Marine Biology* **128**, 29-38.
- Donaldson, E.M. (1990) Reproductive indices as measures of the effects of environmental stressors in fish. In: Adams, S.M. (Ed.), Biological Indicators of stress in Fish. American Fisheries Symposium 8, Bethesda, MD, USA, pp. 109-122.
- Dosdat, A., Person-Le Ruyet, J., Covès, D., Dutto, G., Gasset, E., Le Roux, A. and Lemarié, G. (2003) Effect of chronic exposure to ammonia on growth, food utilisation and metabolism of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources* **16**, 509-520.
- Dowling, L.M. & Godin, J.-G.J. (2002) Refuge use in a killifish: influence of body size and nutritional state. *Canadian Journal of Zoology* **80**, 782-788.
- Doyle, R.W., Herbinger, C.M., Taggart, C.T., Lochmann, S. (1995) Use of DNA microsatellite polymorphism to analyse genetic correlations between hatchery and natural fitness. *American Fisheries Society Symposium* **15**, 205-211.
- Duarte C, Marba N and Holmer M (2007) Rapid domestication of marine species. *Science* **316**, 382-383.
- Duncan J.H., Peterich J.C. (1991) The implications of cognitive processes for animal welfare. *Journal of Animal Science* **69**, 5017-5022.

## E

- Echevarria, G., Martinez-Bebia, M., Zamora, S. (1997) Evolution of biometric indices and plasma metabolites during prolonged starvation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology* **118A**, 111-123.
- Einarsdottir, I.E., Nilssen, K.J., Iversen, M. (2000) Effects of rearing stress on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) antibody response to a non-pathogenic antigen. *Aquaculture Research* **31**, 923-930.
- Einen, O., Waagan, B., Thamassam, M.S. (1998) Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*) – Effects on weight loss, body shape, slaughter- and fillet- yield, proximate and fatty acid composition. *Aquaculture* **166**, 85-104.
- Ellis, T., Scott, A.P., Bromage, N., North, B., Porter, M. (2001) What is stocking density? Trout News, CEFAS-DEFRA, Publication no. 32, pp. 35-37.
- Ellis T, North BP, Scott AP, Bromage NR, Porter MJ and Gadd D (2002) The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology* **61**, 493-531.
- Endler, J.A. (1986) Defence against predators. In: Predator – Prey Relationships (Feder, M.E. & lauder, G.V., eds), pp. 109-134. Chicago: University of Chicago Press.
- Enting H., Kooij D., Dijkhuizen A.A., Huirne R.B.M., Noordhuizen-Stassen E.M. (1997) Economic losses due to clinical lameness in dairy cattle. *Livestock Production Science* **49**, 259-267.

- Etscheidt, J., Manz, D. (1992) Suswasseraquaristik und tierärztliche Praxis. Teil 2: Untersuchungen zur artgerechten Haltung von Zierfischen. *Tierärztl Pract* **20**, 221-226.
- Ewing, R.D., Ewing, S.K. (1995) Review of the effects of rearing density on the survival to adulthood for Pacific salmon. *Progressive Fish-Culturist* **57**, 1-25.

## F

- F.S.B.I. (2002) Fish Welfare. In: *Briefing Paper 2*. Fisheries Society of the British Isles, p 25. Granta Information Systems, Sawston, Cambridge CB 4H.
- Falcon, J., Thibault, C., Begay, V. (1992) Regulation of the rhythmic melatonin secretion by fish pineal photoreceptor cells. In Ali MA (eds), *Rhythms in fishes*. Plenum Press, New York, pp. 167-198.
- Fanouraki, E., Divanach, P., Pavlidis, M. (2007) Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture* **265**, 294-304.
- FAO (2006) The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA) 2006. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy: 180 pp.
- Farbridge, K.J., Leatherland, J.F. (1992) Plasma growth hormone levels in fed and fasted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) are decreased following handling stress. *Fish Physiology and Biochemistry* **10**, 67-73.
- Farm Animal Welfare Council (1992) FAWC updates the five freedoms. *The Veterinary Record* **17**, 357.
- Farrugia, A. (2000) L'eau et les herbivores : les chemins de la qualité. Edition Institut de l'élevage, Paris, 170p.
- Faucher, K., Fichet, D., Miramand, P., Lagardère, J.P. (2006) Impact of acute cadmium exposure on the trunk lateral line neuromasts and consequences on the "C-start" response behaviour of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.; Teleostei, Moronidae). *Aquatic Toxicology* **76**, 278-294.
- Fauconneau, B. (2004) Diversification, domestication et qualité des produits aquacoles. *INRA Productions Animales* **17**, 227-236.
- Fauconneau, B., Laroche, M. (1995) Characteristics of the flesh and quality of products of catfishes. *Aquatic Living Resources* **9**, 165-179.
- Fernö, A. & Järvi, T. (1998) Domestication genetically alters the anti-predator behaviour of Anadromous brown trout (*Salmo trutta*) - a dummy predator experiment. *Nordic Journal of Freshwater Research* **74**, 95-100.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Roed, K.H. (1991) Selection for high and low cortisol stress response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **95**, 53-65.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Roed, K.H. (1992) Disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for stress response. *Aquaculture* **104**, 19-29.
- Fevolden, S.E., Nordmo, R., Refstie, T., Roed, K.H. (1993) Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) selected for high or low responses to stress. *Aquaculture* **109**, 215-224.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Gjerde, B. (1993) Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* **118**, 205-216.
- Fevolden, S.E., Roed, K.H., Fjalestad, K.T., Stien, J. (1999) Post-stress levels of lysozyme and cortisol in adult rainbow trout: heritabilities and genetic correlations. *Journal of Fish Biology* **54**, 900-910.
- Fevolden, S.E., Roed, K.H., Fjalestad, K.T. (2002). Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture* **205**, 61-75.
- Fisher A., Matthews L. (2001) The social behaviour of sheep. In: *Social behaviour in farm animals*, L.J. Keeling, H.W. Gonyou (Eds) CAB International, London, UK, 211-245.
- Fletcher TC (1997) Dietary effects on stress and health. In *Fish Stress and Health in Aquaculture*, GK Iwama, AD Pickering, JP Sumpter and CB Schreck, eds, pp 223-246, Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Fontaine P and Le Bail PY (2004) Domestication et croissance chez les poissons. *INRA Productions Animales* **17**, 217-225.
- Fostier A and Jalabert B (2004) Domestication et reproduction chez les poissons. *INRA Productions Animales* **17**, 199-204.
- Fraser A.F., Broom D.M. (1997) *Farm animal behaviour and welfare*. 3<sup>rd</sup> Edition, Oxon: Editions CAB international, UK, 448p.
- Fraser, D.F., Gilliam, J.F., Daley, M.J., Le, A.N. & Skalsk, G.T. (2001) Explaining leptokurtic movement distributions: intrapopulation variation in boldness and exploration. *The American Naturalist* **158**, 124-135.
- Freixanet, M.G. (1978) Medidas conductuales en campo abierto. *Reviews of book Psychology General and Applied* **33**, 657-672.
- Furevik DM, Bjordal A, Huse I and Fernö A (1993) Surface activity of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in net pens. *Aquaculture* **110**, 119-128.

## G

- Galef Jr, B.G. & Giraldeau, L.A. (2001) Social influences on foraging in vertebrates: causal mechanisms and adaptive functions. *Animal Behaviour* **61**, 3-15.
- Gall, G.A.E., Huang, M. (1988a) heritability and selection schemes for rainbow trout: body weight. *Aquaculture* **73**, 43-57.
- Gall, G.A.E., Huang, N. (1988b) Heritability and selection schemes for rainbow trout: female reproductive performance. *Aquaculture* **73**, 57-66.
- Garcia-Garbi, N., Inglis, V., Turnbull, J.F. (1998) Assessment of phagocytosis by fluorochrome acridine orange. In: *Methodology in Fish Disease research* (Barnes, A., ed.), pp. 91-96. Aberdeen: Fish Research Services.
- Gélineau, A., Mambrini, M., Leatherland, J.F., Boujard, T. (1996) Effect of feeding time on hepatic nucleic acid, plasma T3, T4, and Gh concentrations in rainbow trout. *Physiology and Behaviour* **59**, 1061-1067.
- Gesto, M., Soengas, J.L., Miguez, J.M. (2008) Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol levels in rainbow trout are modified by PAHs (naphthalene, b-naphthoflavone and benzo(a)pyrene) treatment. *Aquatic Toxicology* **86**, 341-351.
- Geyer, M.A. (1990) Approaches to the characterization of drug effects on locomotor activity in rodents. In Adler, M.W. and Cowan, A. (Eds.). *Modern Methods in Pharmacology*, Vol. 6, Testing and Evaluation of Drugs of Abuse, Wiley-Liss. pp. 81-100.
- Giattina, J.D., Gardon, R.R. (1983) A review of the preference-avoidance responses of fishes to aquatic contaminants. *Residue Reviews* **87**, 43-90.
- Giles, N. (1984) Development of the overhead fright response in wild and predator – naïve three spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* L. *Animal Behaviour* **32**, 276-279.
- Giraldeau, L.A., Caraco, T. & Valone, T.J. (1994) Social foraging: individual learning and cultural transmission of innovations. *Behavioural Ecology* **5**, 35-43
- Gjedrem, T. (1976) Genetic variation in tolerance of brown trout to acid water. SNSF Project, Norway, FR5/76, 11p.
- Gjedrem, T., Salte, R., Gjören, H.M. (1991) Genetic variation in susceptibility of Atlantic salmon to furunculosis. *Aquaculture* **97**, 1-6.
- Gjedrem, T., Gjören, H.M. (1995) Genetic variation in susceptibility of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., to furunculosis, BKD and cold water vibriosis. *Aquaculture Research* **26**, 129-134.
- Godin, J.-G.J. (1997) Evading predators. In *Behavioural ecology of teleost fishes* (J.-G.J. Godin, ed) Pp. 191-236. Oxford University Press, Oxford.
- Godin, J.G. & Dugatkin, L.A. (1996) Female mating preference for bold males in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceeding of the National Academy of Sciences* **93**, 10262-10267.
- Godin, J.G.J., Valdrón Clark, K.A. (1997) Risk-taking in stickleback fishes faced with different predatory threats. *Ecoscience* **4**, 246-251.
- Gonyou H.W., Hemsworth P.H., Barnett J.L. (1986) Effects of frequent interactions with humans on growing pigs. *Applied Animal Behaviour Science* **16**, 269-278.
- Goodey, W., Liley, N.R. (1985) Grouping fails to influence the escape behaviour of the guppy (*Poecilia reticulata*). *Animal Behaviour* **33**, 1032-1033.
- Gordon S.H. (1994) Effects of day length and increasing daylength programmes on broiler welfare and performance. *World's Poultry Science Journal* **50**, 269-282.
- Gotceitas, V., Godin, J.G.J. (1991) Foraging under risk of predation in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effects of social status and hunger. *Behavioural Ecology and Sociobiology* **29**, 255-261.
- Grand, T.C. (1999) Risk-taking behaviour and the timing of life history events: consequences of body size and season. *Oikos* **85**, 467-480.
- Grandin T., Deesing M.J. (1998) Genetics and behavior during handling, restraint, and herding. In: *Genetics and the behavior of domestic animals*. Academic Press, San Diego, USA, 113-144.
- Greaves, K., Tuene, S. (2001) The form and context of aggressive behaviour in farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* **193**, 139-147.
- Green JA and Baker BI (1990) The influence of repeated stress on the release of melanin-concentrating hormone in the rainbow trout. *Journal of Endocrinology* **128**:261-266.
- Grignard L., Boissy A., Boivin X., Garel J.P., Le Neindre P. (2000) The social environment influences the behavioural responses of beef cattle to handling. *Applied Animal Behaviour Science* **68**, 1-11.
- Grignard L., Boivin X., Boissy A., Le Neindre P. (2001) Do beef cattle react consistently to different handling situations. *Applied Animal Behaviour Science* **71**, 263-276.
- Groombridge, B. & Jenkins, M.D. (2000) *Global Biodiversity: Earth's Living Resources in the 21<sup>st</sup> Century*. World Conservation. Cambridge, UK.
- Grove, D.J., Loizides, L.G., Nott, J. (1978) Satiation amount, frequency of feeding and gastric emptying rate in *Salo gairdneri*. *Journal of Fish Biology* **12**, 507-516.

- Guémené, D., Kansaku, N., Zadworny, D. (2001) L'expression du comportement d'incubation chez la dinde et sa maîtrise en élevage. *INRA Productions Animales* **14**, 147-160.
- Guémené, D., Guy, G., Mirabito, L., Servière, J., Faure, J.-M. (2007) Bien-être et élevage des palmipèdes. *INRA Productions Animales* **20**, 53-58.
- Guiffra, E., Kijas, J.M.H., Amarger, V., Carlborg, O., Jeon, J.-T., Andersson, L. (2000) The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics* **154**, 1785-1791.
- Gunnarsson S., Keeling, L.J., Svedberg, J. (1999) Effect of rearing factors on the prevalence of floor eggs, cloacal cannibalism and feather pecking in commercial flocks of loose housed laying hens. *British Poultry Science* **40**, 12-18

## H

- Hale, E.B. (1969) Domestication and the evolution of behaviour. In: Hafez, E.S.E. (ed.) *The Behaviour of Domesticated Animals*, 2nd edn. Bailliere, Tindall & Cassell, London pp. 22-42.
- Handy, R.D., Poxton, M.G. (1993) Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **3**, 205-241.
- Hardy, D., Audet, C. (1990) Evaluation of plasma glucose as an indicator of mild chronic stress in brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada* **90**, 54-56.
- Harlan JR. (1992) *Crops and man*. Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Harrenstien, L.A., Tornquist, S.J., Miller-Morgan T.J., Fodness B.G., Clifford, K.E. (2005) Evaluation of a point-of-care blood analyzer and determination of reference ranges for blood parameters in rockfish. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **226**, 255-265.
- Hart, P.J.B. (1993) Teleost foraging: Facts and theories. In: *Behaviour of Teleost Fishes* (Pitcher, T.J., ed.), 2<sup>nd</sup> edn. London: Chapman & Hall.
- Haskell M.J., Hutson G.D. (1996) The pre-farrowing behaviour of sows with access to straw and space for locomotion. *Applied Animal Behaviour Science* **49**, 375-387.
- Heaton, M.B. (1976) Developing visual function in the red junglefowl embryo. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **90**, 53-56.
- Hemsworth P.H., Coleman G.J., Barnett J.L., Jones R.B. (1994) Behavioural responses to humans and the productivity of commercial broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science* **41**, 101-114.
- Henryon, M., Jokumsen, A., Berg, P., Lund, I., Pedersen, P.B., Olesen, N.J., Slierendrecht, W.J. (2002) Genetic variation for growth rate, feed conversion efficiency, and disease resistance exist within a farmed population of rainbow trout. *Aquaculture* **209**, 59-76.
- Herzog, F., Prasuhn, V., Spiess, E., Richner, W. (2008) Environmental cross-compliance mitigates nitrogen and phosphorus pollution from swiss agriculture. *Environmental Science & Policy* **11**, 655-668.
- Hinde, R.A. (1970) *Animal behaviour: a synthesis of ethology and comparative psychology*, 2<sup>nd</sup> edn. McGraw-Hill, New York.
- Höglund J., Nordenfors Uggla A. (1995) Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus galinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. *Poultry Science* **74**, 1793-1798.
- Holm, J.C., Tuene, S., Fosseidengen, J.E. (1998) Halibut behaviour as a means of assessing suitability of ongrowth systems. Annual Science Conference, ICES. Casias, Portugal 16-19 Sept.
- Hontela, A., Rasmussen, J.B., Audet, C., Chevallier, G. (1992) Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **22**, 278-283.
- Huber, M., Dalla Via, J., Wieser, W. (1989) Fish intermediary metabolism and recovery after acute handling stress. In: *Aquaculture-A biotechnology in progress* (De Pauw, N., Jaspers, E., Ackefors, H., Wilkins, N. Eds.). European Aquaculture Society, Bredene, Belgium.
- Huber-Eicher B., Sebö F. (2001) Reducing feather pecking when raising laying hen chicks in aviary systems. *Applied Animal Behaviour Science* **73**, 59-69.
- Humphrey, B. (1933) *The nature of learning*. (Kegan Paul, Trench & Trubner, ed). London.
- Huntingford, F.A. (2004) Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. *Journal of Fish Biology* **65**, 122-142.
- Huntingford, F.A. & Adams, C. (2005) Behavioural syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behaviour* **142**, 1207-1221.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandoe ,P., Turnbull, J. F. (2006) Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology* **68**, 332-372.
- Huntingford, F.A., Kadri, S. (2008) Welfare and fish. In: *Fish welfare* (EJ Branson, ed), pp 300. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- Huss, H.H. (1995) Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper N° 348, 195p.

Hyvärinen, P., Vehanen, T. (2004) Effect of brown trout body size on post-stocking survival and pike predation. *Ecology of freshwater Fish*, **13**, 77-84.

## I

Ingrand, S. (2000) Comportement alimentaire, quantité ingérées et performances des bovins conduits en groupe. *INRA Productions Animales* **13**, 151-163.

## J

Järvi, T. & Uglem, I. (1993) Predator training improves the anti-predator behaviour of hatchery reared Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolt. *Nordic Journal of Freshwater Research* **68**, 63-71.

Jarvis S., Van der Vegt B.J., Lawrence A.B., Mc Lean K.A., Deans L.A., Chirnside J., Calvert S.K. (2001) The effect of parity and environmental restriction on behavioural and physiological responses of pre-parturient pigs. *Applied Animal Behaviour Science* **71**, 203-216.

Jenkins, D. (1961) Social behaviour in the partridge (*Perdix perdix*). *Ibis* **103**, 155-188.

Jergensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M. (1993) Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* **110**, 191-204.

Jobling, M., Arnesen, A.M., Baardvik, B.M., Christiansen, J.S., Jorgensen, E.H. (1995) Monitoring feeding behaviour and food intake: methods and applications. *Aquaculture Nutrition* **1**, 131-143.

Johnson, T.P., Bennett, A.F., McLister, J.D. (1996) Thermal dependence and acclimation of fast start locomotion and its physiological basis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Physiological Zoology* **69**, 276-292.

Johnsson, J.I. & Abrahams, M.V. (1991) Interbreeding with domestic strain increases foraging under threat in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*): an experimental study. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **48**, 237-247.

Johnsson, J.I., Petersson, E., Jonsson, E., Bjornsson, B.T. & Jarvi, T. (1996) Domestication and growth hormone alter antipredator behaviour and growth patterns in juvenile brown trout, *Salmo trutta*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **53**, 1546-1554.

Johnsson, J.I., Hojesjo, J., Fleming, I.A. (2001) Behavioural and heart rate responses to predation risk in wild and domesticated Atlantic salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **58**, 788-794.

Johnsson, J.I., Winberg, S., Sloman, K.A. (2006) Social interactions. In Sloman, K.A., Wilson, R.W., Balshine, S., (eds), Behaviour and physiology of fish. Elsevier Academic Press, London, pp. 151-196.

Joshi, B.D. (1978) Effect of asphyxiation on the blood glucose and lactate contents of two freshwater teleosts. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* **40**, 1-5.

Juell, J.E., Oppedal, F., Boxaspen, K., Taranger, G.L. (2003) Submerged light increases swimming depth and reduces fish density of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. in production cages. *Aquaculture Research* **34**, 469-477.

Juell JE and Fosseidengen JE (2004) Use of artificial light to control swimming depth and fish density of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in production cages. *Aquaculture* **233**, 269-282.

## K

Kamin, L.J., Brimer, C.J. & Black, A.H. (1963) Conditioned suppression as a monitor of fear of the CS in the course of avoidance training. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* **56**, 497-501.

Kause, A., Ritola, O., Paananen, T., Mantysaari, E., eskelinen, U. (2002) Coupling body weight and its composition: a quantitative genetic analysis in rainbow trout. *Aquaculture* **211**, 65-79.

Kawamura, G., Mori, H., Kuwahara, A. (1989) Comparison of sense organ development in wild and reared flounder *Paralichthys olivaceus* larvae. *Nippon Suisan Gakkaishi* **55**, 2079-2083.

Kentouri, M., Divanach, P., Batiague, O., anthouard, M. (1986) Rôle des individus conditionnés dans l'initiation à l'auto-nourrissage et dans l'adaptation à la captivité du loup *Dicentrarchus labrax*, 0+ sauvage, en période hivernale. *Aquaculture* **52**, 117-124.

Kentouri, M., Anthouard, M., Divanach, P., Paspatis, M. (1992) Les modalités d'adaptation comportementale de populations de bars (Serranidae : *Dicentrarchus labrax*), soumises à un nourrissage auto-contrôlé. *Ichthyophysiologica Acta* **15**, 19-42.

Kinghorn, B. (1983) Genetic variation in food conversion efficiency and growth in rainbow trout. *Aquaculture* **32**, 141-155.

Kjaer J.B., Mench, J.A. (2003) Problems and issues associated with poultry breeding. 5. Behavior problems associated with selection for increased production. In : W.M. Muir and S.E. Aggrey (eds), Poultry breeding and biotechnology, CAB International, Wallingford.

- Klontz, G.W. (1993) Environmental requirements and environmental diseases of salmonids. In: Stoskopf, M. (Ed.), *Fish Medicine*. Saunders, Philadelphia, PA, USA, pp. 333-342.
- Kondo S., Sekine J., Okubo M., Asahida Y. (1989) The effects of group size and space allowance on the agonistic and spacing behaviour of cattle. *Applied Animal Behaviour Science* **24**, 127-135.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., van des Vegt, B.J., van Reenen, C.G., Hopster, J., De Jongh, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J. (1999) Coping styles in animals: current status in behaviour and stress-physiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **23**, 925-935.
- Krause, J., Bumann, D., Todt, D. (1992) Relationship between the position preference and nutritional state of individuals in schools of juvenile roach (*Rutilus rutilus*). *Behavioural Ecology and Sociobiology* **30**, 177-180.
- Krause, J., Loader, S.P., McDermott, J. & Ruxton, G.D. (1998 a) Refuge use by fish as a function of body length-related metabolic expenditure and predation risks. *Proceeding of the Royal Society B* **265**, 2373-2379.
- Krause, J., Reeves & P., Hoare, D. (1998 b) Positioning behaviour in roach shoals: the role of body length and nutritional state. *Behaviour* **135**, 1031-1039.
- Krause, J., Hoare, D., Krause, S., Hemelrijk, C.K. & Rubenstein, D. (2000) Leadership in fish shoals. *Fish and Fisheries* **1**, 82-89.
- Krebs, J.R., Davies, N.B. (1981) *An introduction to behavioural ecology*, Blackwell, Oxford.
- Kretschmer, K., Fox, M.W. (1975) Effects of domestication on animal behaviour. *Veterinary Record* **96**, 102-108.
- Kristiansen, T.S., Juell, J.E. (2002) How can we document the welfare of farmed fish? In: *Seafarming Today and Tomorrow*, pp. 285-286. Compiled: Basurka, B. & Saroglia, M. European Aquaculture Society Special Publication 32, August 2002.
- Kristiansen, T.S., Fernö, A., Hjolm, J.C., Privitera, L., Bakke, S., and Fosseidengen, J.E., (2004) Swimming behaviour as an indicator of low growth rate and impaired welfare in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) reared at three stocking densities. *Aquaculture*, **230**, 137-151.
- Kuwada, H., Masuda, R., Shiozawa, S., Kogane, T., Imaizumi, K., Tsukamoto, K. (2000) Effect of fish size, handling stresses and training procedure on the swimming behavior of hatchery-reared striped jack: implications for stock enhancement. *Aquaculture*, **185**, 245-256.

## L

- Lagadic, H., Faure, J.-M. (1987) Preferences of domestic hens for cage size and floor types as measured by operant conditioning. *Applied Animal Behaviour Science* **19**, 147-155.
- Lankin, V. (1997) Factors of diversity of domestic behaviour in sheep. *Genetics Selection Evolution* **29**, 73-92.
- Larrère R. (2003) L'élevage contemporain en question : demande sociale, préférences des consommateurs ou interrogations citoyennes ? *INRA Productions Animales* **16**, 329-332.
- Larrère, R. (2007) Justification éthiques des préoccupations concernant le bien-être animal. *INRA Productions Animales* **20**, 11-16.
- Lawrence A.B., Rushen, J. (1993) *Stereotypic animal behaviour*. CAB international (Ed), Wallingford, UK, 212p.
- Le bellego, L., Noblet, J., Van Milgen, J. (2002). Effect of high temperature and low protein diets on performance of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* **80**, 691-701.
- Le Neindre P. (1989) Influence of rearing conditions and breed on social behaviour and activity of cattle in novel environments. *Applied Animal Behaviour Science* **23**, 129-140.
- Le Neindre P. (1993) Evaluating housing systems for veal calves. *Journal of Animal Science* **71**, 1345- 1354.
- Le Neindre P., Poindron P., Trillat G., Orgeur P. (1993) Influence of breed on reactivity of sheep to humans. *Genetics Selection Evolution* **25**, 447-458.
- Le Neindre P., Grogard, I., Trillat, G., Boissy, A., Sapa, J., Boivin, X. (2002) Docile Limousine cows are not poor mothers. In 7<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.
- Leblond, C. & Reeb, S.G. (2006) Individual leadership and boldness in shoals of golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*). *Behaviour* **143**, 1263-1280.
- Lefcourt A.M., Kahl S., Akers R.M. (1986) Correlation of indices of stress with intensity of electrical shock for cows. *Journal of Dairy Science* **69**, 833- 842.
- Lefrançois, C., Domenici, P. (2006) Locomotor kinematics and behaviour in the escape response of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., exposed to hypoxia. *Marine Biology* **149**, 969-977.
- Lensink B.J., Raussi S., Boivin X., Pyykkönen M., Veissier I. (2001) Calves' reactions to handling depend on housing condition and previous experience with humans. *Applied Animal Behaviour Science* **78**, 173-181.
- Lepage, O., Overli, E., Petersson, E., Järvi, T., Winberg, S. (2000) Differential stress coping in wild and domesticated sea trout. *Brain Behaviour and Evolution* **56**, 259-268.

- Liao IC and Huang YS (2000) Methodology approach used for the domestication of potential candidates for aquaculture. In Recent advances in mediterranean aquaculture finfish species diversification, pp 97-107, CIHEAM-IAMZ, Zaragoza.
- Liebert, A.M., Schreck, C.B. (2006) Effects of acute stress on osmoregulation, feed intake, IGF-1, and cortisol in yearling steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) during seawater adaptation. *General and comparative endocrinology* **148**, 195-202.
- Lyons D.M., Price E.O. (1987) Relationships between heart rates and behavior of goats in encounters with people. *Applied Animal Behaviour Science* **18**, 363-369.
- Lyons D.M., Price E.O., Moberg G.P. (1988) Individual differences in temperament of domestic dairy goats: constancy and change. *Animal Behaviour* **36**, 1323-1333.

## M

- Madrid, J.A. (1994) Question de swing. L'alimentation à la demande et les rythmes endogènes. *Aqua Revue* **52**, 33.
- Madrid, J.A., Boujard, T., Sánchez-Vázquez, F.J. (2001) Feeding Rhythms. In: *Food Intake in Fish* (D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling, eds), pp 189-215. Blackwell Science, London.
- Magnhagen, C. & Staffan, F. (2005) Is boldness affected by group composition in young-of-the-year perch (*Perca fluviatilis*)? *Behavioural Ecology and Sociobiology* **57**, 295-303.
- Malavasi, S., Georgalas, V., Lugli, M., Torricelli, P., Mainardi, D. (2004) Differences in the pattern of antipredator behaviour between hatchery-reared and wild European sea bass juveniles. *Journal of Fish Biology* **65**, 143-155.
- Malavasi, S., Georgalas, V., Mainardi, D., Torricelli, P. (2008) Antipredator responses to overhead fright stimuli in hatchery-reared and wild European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. *Aquaculture Research* **39**, 276-282.
- Márquez C., Nadal R., Armario A. (2006) Influence of reactivity to novelty and anxiety on hypothalamic-pituitary-adrenal and prolactin responses to two different novel environments in adult male rats. *Behavioural Brain Research* **168**, 13-22.
- Martrenchar A., Boilletot E., Cotte J.P., Morisse J.P. (2001) Wirefloor pens as an alternative to metallic cage for fattening rabbits: influence on some welfare traits. *Animal Welfare* **10**, 153-161.
- Marx H., Sengmuller-Sieber T., Hoffmann R., Stolle A. (1999) Stress and product quality of trout, catfish and flounder at stunning and slaughtering. *Archiv für Lebensmittelhygiene* **50**, 37-40.
- Masser, M.P., Rakocy, J., Lorsordo, T.M. (1999) Recirculating aquaculture tank production systems, SRAC Publication no.452. Southern Regional Aquaculture Center, USA, p. 12.
- Mazeaud, M.M., Mazeaud, F. (1981) Adrenergic responses to stress in fish. In: *Stress and Fish* (ed. By A.D. Pickering), pp. 49-75. Academic Press, Toronto.
- Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., Donaldson, E.M. (1977) Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transaction of the American Fisheries Society* **106**, 201-212.
- McCarthy, J.C., Siegel, P.B. (1983) A review of genetical and physiological effects of selection in meat-type poultry. *Animal Breeding Abstracts* **51**, 87-94.
- McCormick, M.I. (1998) Behavioural induced maternal stress in a fish influences progeny quality by a hormonal mechanism. *Ecology* **79**, 1873-1883.
- McCormick, M.I. (1999) Experimental test of the effect of maternal hormones on larval quality of a coral reef fish. *Oecologia* **118**, 412-422.
- McCormick, S.D., Shrimpton, J.M., Carey, J.B., O'Dea, M.F., Sloan, K.E., Moriyama, S., Björnsson, B.T. (1998) Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol. *Aquaculture* **168**, 221-235.
- Mench J.A. (2002) Broiler breeders, feed restriction and welfare. *World's Poultry Science Journal* **58**, 23-29.
- Mercat MJ and Mormède P (2002) Influences génétiques sur les processus d'adaptation et le comportement alimentaire chez le porc. *INRA Productions Animales* **15**, 349-356.
- Mesa, M.G. (1994) Effects of multiple acute stressors on the predator avoidance ability and physiology of juvenile chinook salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* **123**, 786-793.
- Metcalfe NB, Huntingford FA and Thorpe JE (1987) The influence of predation risk on the feeding motivation and foraging strategy of juvenile Atlantic salmon. *Animal Behaviour* **35**, 901-911.
- Metcalfe, N.B., Thomson, B.C. (1995) Fish recognize and prefer to shoal with poor competitors. *Proceedings of the Royal Society B* **259**, 207-210.
- Meunier-Salaün M.C., Dantzer R. (1990) Behaviour-environment relationships in pigs: importance for the design of housing and management systems in intensive husbandry. *Pig News and Information* **11**, 507-514.
- Meunier-Salaün, M.C., Bizeray, D., Colson, V., Courboulay, V., Lensink, J., Prinier, A., Remience, V., Vandenheede, M. (2007) Bien-être et élevage des porcs. *INRA Productions Animales* **20**, 73-80.



- Mignolet, C., Benoît, M., Saintôt, D. (1997) Systèmes d'élevage et risque de pollution azotée. Construction d'un indicateur de risque et application dans la plaine des Vosges. *INRA Productions Animales* **10**, 275-285.
- Mignon-Grasteau, S., Faure, J.M. (2002) Génétique et adaptation : le point des connaissances chez les volailles. *INRA Productions Animales* **15**, 357-364.
- Miles H.M., Loehner S.M., Michaud D.T., Salivar S.L. (1974) Physiological responses of hatchery reared muskellunge (*Esox masquinongy*) to handling. *Transactions of American Fisheries Society* **103**, 336-342.
- Miller, D.B. (1977) Social displays of mallard ducks (*Anas platyrhynchos*): effects of domestication. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **91**, 221-232.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Person-Le Ruyet, J., Breuil, G., Di-Poï, C., Fievet, J., Pineau, P., Roué, M., Sévère, A. (2008) Feed demand behavior in sea bass juveniles: effects on individual specific growth rate variation and health (inter-individual and inter-group variation). *Aquaculture* **274**, 87-95.
- Mills A.D., Jones R.B., Faure J.M. (1991) Reduction of fear in Japanese quail chicks (*coturnix coturnix japonica*) via genetic selection, early environmental enrichment and regular handling. *Applied Animal Behaviour Science* **30**, 182.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M. (1999) High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* **20**, 50-53.
- Morton, D.B. (1990) Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental-animals. *European Journal of Pharmacology* **183**, 1583.
- Morzell M., Sohler D., Van de Vis H. (2003) Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**, 19-28.
- Mounier, L., Marie, M., Lensink, B.J. (2007) Facteurs déterminants du bien-être des ruminants en élevage. *INRA Productions Animales* **20**, 65-72.
- Muir W.M. (1996) Group selection for adaptation to multiple-hen cages: selection program and direct responses. *Poultry Science* **75**, 447-458.
- Murphey, R.M., Mourra, D.F.A., Torres, P.M.C. (1981) Responses of cattle to humans in open spaces: breed comparisons and approach-avoidance relationships. *Behavior Genetics* **11**, 37-48.
- Murphy, P.M., Lindsay, D.R., Le Neindre, P. (1998) Temperament of Merino ewes influences maternal behaviour and survival of Lambs. In: Boissy, A., Veissier, I. (Eds), Proceedings of the 32<sup>th</sup> Congress of the International Society of Applied Ethology.

## N

- Nakano, T., Tomlinson, N. (1967) Catecholamine and carbohydrate concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in relation to physical disturbance. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **24**, 1701-1715.
- Naylor, R. L., Goldberg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M. (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* **405**, 1017-1024.
- Nilsson, J. (1992) Genetic variation in resistance of Arctic char to fungal infection. *Journal of Aquatic Animal Health* **4**, 126-128.

## O

- O'Connor, K.I., Metcalf, N.B., Taylor, A.C. (2000) The stability of standard metabolic rate during a period of food deprivation in juvenile Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **57**, 41-51.
- O'Keefe, J., Nadel, L. (1978) The hippocampus as a cognitive map. Oxford, Clarendon.
- Okawara, Y., Ko, D., Morley, S.D., Richter, D., Lederis, K. (1992) In situ hybridisation of corticotropin-releasing factor encoding messenger RNA in the hypothalamus of the white sucker (*Catostomus commersoni*). *Cell and Tissue Research* **267**, 545-549.
- Olive, P.J.W. (1999) Polychaete aquaculture and polychaete science: a mutual synergism. *Hydrobiologia* **402**, 175-183.
- Olla, B.L., Studholme, A.L. (1971) The effect of temperature on the activity of bluefish, *Pomatomus saltatrix* L. *The Biological Bulletin* **141**, 337-349.
- Olla, B.L., Davis, M.W., Ryer, C.H. (1994). Behavioural deficits in hatchery-reared fish: potential effects on survival following release. *Aquaculture and Fisheries Management* **25**, 19-34.
- Olla, B.L., Davis, M.W., Schreck, C.B. (1995) Stress-induced impairment of predator evasion and non-predator mortality in Pacific salmon. *Aquaculture Research* **26**, 393-398.
- Oppedal, F., Juell, J.E., Johansson, D. (2007) Thermo- and photoregulatory swimming behaviour of caged Atlantic salmon: Implications for photoperiod management and fish welfare. *Aquaculture*, **265**, 70-81.

- Overli, O., Pottinger, T.G., Carrick, T.R., Overli, E., Winberg, S. (2002) Differences in behaviour between rainbow trout selected for high- and low-stress responsiveness. *Journal of Experimental Biology* **205**, 391-395.
- Overli, O., Korzan, W.J., Hoglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Overli, E., Renner, K.J., Summers, C.H. (2004) Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behaviour* **45**, 235-241.
- Overli, O., Winberg, S., Pottinger, T.G. (2005) Behavioural and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout – a review. *Integrative and Comparative Biology* **45**, 463-474.

## P

- Pankhurst, N.W., Van der Kraak, G. (1997) Effects of stress on reproduction and growth. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture* (Iwana, G., Pickering, A., Sumpter, J., Schreck, C. Eds.), pp.73-94. Cambridge University Press, Cambridge.
- Papoutsoglou SE, Tziha G, Vrettos X and Athanasiou A (1998) Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. *Aquacultural Engineering* **18**, 135-144.
- Parker, N.C. (1984) Chronobiologic approach to aquaculture. *Transaction of American Fisheries Society* **113**, 545-552.
- Partridge, L., Green, P. (1985) Intraspecific feeding specializations and population dynamics'. In: RaS Sibley, R., (eds), Behavioural ecology symposium, British ecology society, Blackwell, Oxford, pp 207-226.
- Pauly D., Christensen V., Guenette S., Pitcher T. J., Sumaila U. R., Walters C. J., Watson R. & Zeller D. (2002) Towards sustainability in world fisheries. *Nature* 418(6898): 689-695.
- Peeke, H.V.S. & Petrinovich, L. (1984). Habituation, sensitization and behavior. Academic Press, New York.
- Peres, H., Oliva-Teles, A. (1999) Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilisation by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **179**, 325-334.
- Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., Oliva-Teles, A. (2007) Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* **265**, 325-335.
- Perry, S., Bernier, N.J. (1999) The acute hormonal adrenergic stress response in fish: facts and fiction. *Aquaculture* **177**, 285-295.
- Perry, G.M.L., Danzmann, R.G., Ferguson, M.M., Gibson, J.P. (2001) Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity* **86**, 333-341.
- Person-Le Ruyet, J., Pichavant, K., Vacher, C., Le Bayon, N., Sévère, A., Bœuf, G. (2002) Effects of oxygen supersaturation on growth and metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* **205**, 373-383.
- Person-Le Ruyet, J., Lambers, A., Le Roux, A., Sevère, A., Bœuf, G., Mayer Gostan, N. (2003) Long-term ammonia exposure of turbot : effects on plasma parameters. *Journal of Fish Biology* **62**, 879-894.
- Persson, L., Diehl, S., Eklöv, P. & Christensen, B. (1997) Flexibility in fish behaviour: consequences at the population and community levels. In *Behavioural ecology of teleost fishes*. (J.-G.J. Godin, ed). Pp. 316-343. Oxford University Press, Oxford.
- Pettersson, E., Järvi, T. (2000) Both contest and scramble competition affect the growth performance of brown trout, *Salmo trutta*, parr of wild and sea-ranched origin. *Environmental Biology of Fishes* **59**, 211-218.
- Pettersson, E., Järvi, T. (2006) Anti-predator response in wild and sea-ranched brown trout and their crosses. *Aquaculture* **253**, 218-228.
- Petit, J. (1991) L'aquaculture : un problème pour l'environnement ? *INRA Productions Animales* **4**, 67-80.
- Pflimlin, A., Madeline, Y. (1995) Evaluation des risques de pollution nitriques liés à l'élevage de ruminants et stratégies d'intervention pour la qualité de l'eau. *Rencontre Recherche Ruminants* **2**, 329-338.
- Picard, M., Le Fur, C., Melcion, J.P., Bouchot (2000) Caractéristiques granulométriques de l'aliment : le « point de vue » (et de toucher) des volailles. *INRA Productions Animales* **13**, 117-130.
- Pichavant, K., Person-Le Ruyet, J., Le Bayon, N., Sévère, A., Le Roux, A., Boeuf, G. (2001) Comparative effects of long-term hypoxia on growth, feeding and oxygen consumption in juvenile turbot and European sea bass. *Journal of Fish Biology* **59**, 875-883.
- Pickering, A.D. (1992) Rainbow trout husbandry-management of the stress response. *Aquaculture* **100**, 125-139.
- Pickering, A.D. (1998) Stress responses in farmed fish. In: *Biology of Farmed Fish* (Black, K.D. & Pickering, A.D., eds), pp. 222-255. Sheffield: Sheffield Academic Press.
- Pickering, A.D., Pottinger, T.G. (1989) Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry* **7**, 253-258.
- Pickering, A.D., Stewart, A. (1984) Acclimation of the interregional tissue of the brown trout *Salmo trutta* L., to chronic crowding stress. *Journal of Fish Biology* **24**, 731-740.

- Pickering, A.D., Pottinger, T.G., Christie, P. (1982) Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time-course study. *Journal of Fish Biology* **20**, 229-244.
- Pickering, A.D., Pottinger, T.G., Sumpter, J.P., Carragher, J.F., Le Bail, P.Y. (1991) Effects of acute and chronic stress on the levels of circulating growth hormone in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology* **83**, 86-93.
- Pitcher, T.J., Green, D.A. & Magurran, A.E. (1986). Dicing with death: predator inspection behaviour in minnow shoals. *Journal of Fish Biology* **28**, 439-448.
- Pitcher, T.J., Parrish, J.K. (1993) Functions of shoaling behaviour in teleosts. In: Behaviour of Teleost (Pitcher, T.J., ed.), pp. 363-439. London: Chapman & Hall.
- Plumb, J.A. (1994) Health maintenance of cultured fish: Principle microbial diseases. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Portavella M., Torres B., Salas C. (2004) Avoidance response in goldfish: emotional and temporal involvement of medial and lateral telencephalic pallium. *Journal of Neurobiology* **24**, 2342–2335.
- Post, G.B. (1987) Text book of Fish Diseases. TFH Publications, Neptune, New Jersey, p. 287.
- Pottinger TG (1998) Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *Journal of Fish Biology* **53**, 728-742.
- Pottinger TG (2001) Effects of husbandry stress on flesh quality indicator in fish. In: *Farmed fish quality* (Kestin, S.C. and Warriss, P.D., eds), pp 145-160. Blackwell science, Bristol.
- Pottinger, T.G. (2003) The selection of trout for high and low responsiveness to stress: progress and prospects. *Trout News, CEFAS* **36**, 14-16.
- Pottinger, T.G., Pickering, A.D. (1997) Genetic basis to the stress response: selective breeding for stress-tolerant fish. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture* (Iwana, G., Pickering, A., Sumpter, J., Schreck, C. Eds.), pp.171-193. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R. (1999) Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *General and Comparative Endocrinology* **116**, 122-132.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R. (2000) Indicators of reproductive performance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) selected for high and low responsiveness to stress. *Aquaculture Research* **31**, 367-375.
- Poxton, M.G., 1991. Water quality fluctuations and monitoring in intensive fish culture. In: de Pauw, N., Joyce, J., (eds), *Aquaculture and the Environment*, European Aquaculture Society Special Publication No.16, Gent, Belgium, pp.121-143.
- Press, C. McL. (1998) Immunology of fishes. In: *Handbook of Vertebrate Immunology*. (Pastoret, P.P., Griebel, P., Bazin, H., Govaerts, A., eds), pp. 3-61. London, UK: Academic Press LTD.
- Price, E.O. (1976) The laboratory animal and its environment. In: McScheehy, T. (ed.) *Control of the Animal House Environment*. Laboratory Animal Handbook no.7, Laboratory Animal, London, pp. 7-23.
- Price, E.O. (1980) Sexual behaviour and reproductive competition in male wild and domestic Norway rats. *Animal Behaviour* **28**, 657-667.
- Price, E.O. (1984) Behavioural aspects of animal domestication. *Quarterly Review of Biology* **59**, 1-32.
- Price EO (1998) Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science* **65**, 245-271.
- Price, E.O., King, J.A. (1968) Domestication and adaptation. In: Hafez, E.S.S. (ed.). *Adaptation of Domestic Animals*. Lea & Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, pp 34-35.
- Price E.O., Thos, J. (1980) Behavioral responses to short-term isolation in sheep and goat. *Applied Animal Ethology* **6**, 331-339.
- Price, E.O., Wallach, S.J.R. (1990) Physical isolation of hand-reared Hereford bulls increases their aggressiveness toward humans. *Applied Animal Behaviour Sciences* **27**, 263-267.
- Price E.O., Harris J.E., Borgwardt R.E., Sween M.L., Connor J.M. (2003) Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. *Journal of Animal Science* **81**, 116-121.
- Prunet, P., Auperin, B. (2007) Bien-être chez les poissons d'élevage. *INRA Productions Animales* **20**, 35-40.
- Pullin, R.S.V. (1996) Toward a New partnership. In: *Biodiversity, Science and Development* (Di Castri, F., Younes, T. eds), pp 409-423. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

## Q

- Quiniou, N., Dubois, S., Noblet, J., (2000) Voluntary feed intake and feeding behaviour of group-housed growing pigs are affected by ambient temperature and body weight. *Livestock Production Science* **63**, 245-253.

## R

- Rad, F., Bozaoglu, S., Ergene Gözükar, S., Karahan, A., Kurt, G. (2006) Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture* **255**, 292-300.
- Reese E.S. (1989) Orientation behaviour of butterfly fishes (family Chaetodontidae) on coral reefs, spacial learning of route specific landmarks and cognitive maps. *Environmental Biology of Fishes* **25**, 79–86.
- Reinhardt, U.G. & Healey, M.C. (1999) Season- and size-dependent risk taking in juvenile Coho salmon: experimental evaluation of asset protection. *Animal Behaviour* **57**, 923-933.
- Renaudeau, D., Mandonnet, N., Tixier-Boichard, M., Noblet, J., Bidanel, J.P. (2004) Atténuer les effets de la chaleur sur les performances des porcs : la voie génétique. *INRA Productions Animales* **17**, 93-108.
- Reymond, H. (1989) Régime alimentaire du bar *Dicentrarchus labrax* en première et en deuxième année d'élevage semi-intensif en marais maritime : contribution relative des proies naturelles et de l'aliment à l'ingéré journalier. Rapport final, contrat SEMDAC 89-0001 et contrat IFREMER 88.5.524009.
- Rice, J.A., (1990) Bioenergetics modelling approaches to evaluation of stress in fish. *American Fisheries Society Symposium* **8**, 80-92.
- Robb D.H.F., Kestin S.C. (2002) Methods used to kill fish: Field observations and literature reviewed. *Animal Welfare* **11**, 269-282.
- Robb D.H.F., Wotton S.B., Mckinstry J.L., Sorensen N.K., Kestin S.C. (2000) Commercial slaughter methods used on Atlantic salmon: determination of the onset of brain failure by electroencephalography. *The Veterinary Record* **147**, 298- 303.
- Robertson L., Thomas P., Arnold C.R. (1988) Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. *Aquaculture* **68**, 115-130.
- Rodriguez F., Duran E., Vargas J.P., Torres B., Salas C. (1994) Performance of goldfish trained in allocentric and egocentric maze procedures suggests the presence of a cognitive mapping system in fishes. *Animal Learning and Behavior* **22**, 409–420.
- Roehrig, K.L., Allred, J.B. (1974) Direct Enzymatic Procedure for the Determination of Liver Glycogen. *Analytical Biochemistry* **58**, 414-421.
- Roncarati, A., Melotti, P., Dees, A., Mordenti, O., Angellotti, L. (2006) Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics. *Journal of Applied Ichthyology* **22**, 225-234.
- Rotllant, J., Tort, L. (1997) Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology* **51**, 21-28.
- Rotllant, J., Balm, P.H., Pérez-Sanchez, J., Wendellar Bonga, S.E., Tort, L. (2001) Pituitary and interregal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei) after handling and confinement stress. *General and Comparative Endocrinology* **121**, 333-342.
- Rousing T., Bonde M., Badsberg J.H., Sorensen J.T. (2004) Stepping and kicking behaviour during milking in relation to response in human-animal interaction test and clinical health in loose housed dairy cows. *Livestock Production Science* **88**, 1-8.
- Ruzzante, D.E. (1994) Domestication effects on aggressive and schooling behaviour in fish. *Aquaculture* **120**, 1-24.
- Ruzzante, D.E., Doyle, R.W. (1991) Rapid behavioural changes in medaka (*Oryzias latipes*) caused by selection for competitive and noncompetitive growth. *Evolution* **45**, 1931-1946.
- Ryer, C. (2004) Comparison of genetically based antipredator behaviour in hatchery and wild coho fry from a coastal Oregon river: interpreting a negative result. *Journal of Fish Biology* **64**, 1413-1418.

## S

- Saillant, E. (2000). Effets des conditions d'élevage sur la différenciation du sexe chez le loup, *Dicentrarchus labrax*, caractérisation du dimorphisme sexuel de croissance. Thèse de Doctorat, École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 178 pp.
- Sanchez, M.P., Chevassus, B., Labbé, L., Quillet, E., Mambrini, M. (2001) Selection for growth of brown trout (*Salmo trutta*) affects feed intake but not feed efficiency. *Aquatic Living Resources* **14**, 41-48.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Martínez, M., Zamora, S., Madrid, J.A. (1994) Design and performance of an accurate demand feeder for the study of feeding behaviour in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Physiology and Behaviour* **56**, 789-794.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Zamora, S., Madrid, J.A. (1995 a) Light-Dark and food restriction cycles in sea bass; Effect of conflicting zeitgebers on demand-feeding rhythms. *Physiology and Behaviour* **58**, 705-714.

- Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A., Zamora, S. (1995 b) Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: Dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. *Journal of Biological Rhythms* **10**, 256-266.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A., Zamora, S., Iigo, M., Tabata, M. (1996) Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: dual and independent phasing. *Physiology and Behavior* **60**, 665-674.
- Sánchez-Vázquez, J.A., Tabata, M. (1998) Circadian rhythms of demand-feeding and locomotor activity in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* **52**, 255-267.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Azzaydi M, Martínez FJ, Zamora S and Madrid JA (1998) Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology International* **15**, 607-622.
- Satterthwaite, F.E. (1946). An approximate distribution of estimates of variance components. *Biometrics Bulletin* **2**, 110-114.
- Scapigliati G, Scalia D, Marras A, Meloni S and Mazzini M (1999) Immunoglobulin levels in the teleost sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) in relation to age, season, and water oxygenation. *Aquaculture* **174**, 207-212.
- Schreck, C.B., Li, H.W. (1991) Performance capacity of fish: stress and water quality. In: Brune, D.E., Tomasso, J.R. (Eds.), *Aquaculture and Water Quality. Advances in World Aquaculture*, vol.3. Pub. Wld. Aquacult. Soc., pp.21-29.
- Schreck, C.B., Olla, B.L., Davis, M.W. (1997) Behavioral responses to stress. In: *Fish stress and Health in Aquaculture* (G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter and C.B. Schreck, Eds), pp 145-170. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Schreck, C.B., Contreras-Sanchez, W., Fitzpatrick, M.S. (2001) Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* **197**, 3-24.
- Scott, A.P., Pinillos, M., Ellis, T. (2001) Why measure steroids in fish plasma when you can measure them in water? In: *Perspectives in Comparative Endocrinology: Unity and Diversity* (Goos Th, H.J., Rastogi, R.K., Vaudry, H., Pierantoni, R., eds), pp. 1291-1295. Bologna: Monduzzi Editore.
- Seymour, E.A., Bergheim, A. (1991) Towards a reduction of pollution from intensive aquaculture with reference to the farming of salmonids in Norway. *Aquacultural Engineering* **10**, 73-88.
- Simon, P., Dupuis, R., Costentin, J. (1994) Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behavioral and Brain Research* **61**, 59-64.
- Simontacchi, C., Poltronieri, C., Carraro, C., Bertotto, D., Xiccato, G., Trocino, A., Radaelli, G. (2007) Alternative stress indicators in sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. *Journal of Fish Biology* **72**, 747-752.
- Singer P. (1983) *Practical ethics*, Cambridge University Press, Cambridge, 2nd Ed., 237p.
- Singer P. (1993) *La libération animale*, (Trad. Fr.), Grasset, Paris, France, 382p.
- Skjervold P.O., Fjaera S.O., Ostby P.B., Einen O. (2001) Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **192**, 265-280.
- Sneddon, L.U. (2003) The bold and the shy: individual differences in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* **62**, 971-975.
- Sneddon L.U., Braithwaite V.A., Gentle M. J. (2003) Do fish have nociceptors? Evidence for the evolution of a vertebrate sensory system. *Proceedings of the Royal Academy of London B* **270**, 1115-1121.
- Solomon, R.L. & Wynne, L.C. (1953) Traumatic avoidance learning: acquisition in normal dogs. *Genetic Psychology Monographs* **67**, 1-19.
- Southgate, P., Wall, T. (2001) Welfare of farmed fish at slaughter. *In Practice* **23**, 277.
- Specker J.L., Schreck C.B. (1980) Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **37**, 765-769.
- Spieler, R.E. (1977) Diel and seasonal changes in response to stimuli: a plague and a promise for mariculture. *Proceedings World Mariculture Society* **8**, 865-873.
- Spurway, H. (1995) the causes of domestication: an attempt to integrate some ideas of Konrad Lorenz with evolution theory. *Journal of Genetics* **53**, 325-362.
- Starr, M.D., Mineka, S. (1977) Determinants of fear over the course of avoidance learning. *Learning and Motivation* **8**, 332-350.
- Stauffacher M. (1992) Group housing and enrichment cages for breeding, fattening and laboratory rabbits. *Animal Welfare* **1**, 105-125.
- Strangeland, K., Hoie, S., Taksdal, T. (1996) Experimental induction of infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts. *Journal of Fish Diseases* **19**, 323-327.
- Su, G.S., Liljedahl, L.E., Gall, G.A.E. (1999) Estimates of phenotypic and genetic parameters for within-season date and age at spawning of female rainbow trout. *Aquaculture* **171**, 209-220.
- Summers, C.H. (2001) Mechanisms for quick and variable responses. *Brain Behaviour and Evolution* **57**, 283-292.

- Sumpter JP (1997) The endocrinology of stress. In *Fish Stress and Health in Aquaculture*, GK Iwama, AD Pickering, JP Sumpter and CB Schreck, eds, pp 95-118, Cambridge University Press, Cambridge.
- Sundström, L.F., Petersson, E., Höjesjö, J., Johnsson, J.I. & Järvi, T. (2004). Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance. *Behavioural Ecology* **15**, 192-198.
- Suquet M, Fauvel C and Gaignon JL (2004) La domestication des Gadidés: le cas de la morue et du lieu jaune. *INRA Productions Animales* **17**, 177-182.
- Sutor, H.C., Huntingford, F.A. (2002) Eye colour in juvenile Atlantic salmon: effects of social status, aggression and foraging success. *Journal of Fish Biology* **61**, 606-614.
- Swaney W., Kendal J., Capon H., Brown C., Laland K.N. (2001) Familiarity facilitates social learning of foraging behaviour in the guppy. *Animal Behaviour* **62**, 591-598.

## T

- Tanck, M.W.T., Vermeulen, H., Bovenhuis, K. (2001) Heredity of stress-related cortisol response in androgenetic common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* **199**, 283-294.
- Tanida, H., Miura, A., Tanaka, T., Yoshimoto, T. (1995) Behavioural response to humans in individually handled weanling pigs. *Applied Animal Behaviour Science* **42**, 249-259.
- Tauson R., Wahlström A., Abrahamsson P. (1999) Effect of two floor housing systems and cages on health, production, and fear response in layers. *The Journal of Applied Poultry Research* **8**, 152-159.
- Telezhenko E., Bergsten C. (2005) Influence of floor type on the locomotion of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* **93**, 183-197.
- Terlouw, C. (1993) Environmental and individual factors contributing to the occurrence of stereotypies in female pigs (*Sus scrofa*). Thesis, 179p.
- Terlouw EMC (2002) Stress des animaux et qualités de leurs viandes. Rôles du patrimoine génétique et de l'expérience antérieure. *INRA Productions Animales* **15**, 125-133.
- Thoesen, J.C. (1994) Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens, fourth ed., Version 1. Fish Health Section, American Fisheries Society, Bethesda, MD (sectional series).
- Thodesen, J., Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gjerde, B. (1999) Feed intake, growth and feed utilization of offspring from wild and selected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **180**, 237-246.
- Thodesen, J., Gjerde, B., Grisdale-Helland, B., Storebakken, T. (2001) Genetic variation in feed intake, growth and feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **194**, 273-281.
- Thorpe, J.E., Cho, Y. (1995) Minimising waste through bioenergetically and behaviourally based feeding strategies. *Water Science and Technology* **31**, 29-40.
- Thorpe, J.E., Mangel, M., Metcalfe, N.B., Huntingford, F.A. (1998) Modelling the proximate basis of salmonid life history variation, with application to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Evolutionary Ecology* **12**, 581-598.
- Thorpe, W.H. (1963) *Learning and instinct in animals*, 2<sup>nd</sup> edn. Methuen, London.
- Torres, P., Tort, L., DePauw, N., Joyce, J. (1991) Effects of stress and metal exposure on blood parameters and liver metabolism in rainbow trout. *Special Publication European Aquaculture Society* **14**, 312-313.
- Troy, C.S., MacHugh, D.E., Bailey, J.F., Magee, D.A., Loftus, R.T., Cunningham, P., Chamberlain, A.T., Sykes, B.C., Bradley, D.G. (2001) Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* **410**, 1088-1091.
- Tsukamoto, K., Masuda, S., Endo, M., Otake, T. (1990) Behavioural characteristics of the Ayu, *Plecoglossus altivelis*, as predictive indices for stocking effectiveness in rivers. *Nippon Suisan Gakkaishi* **56**, 1177-1186.
- Tucker C. B., Weary D. M., de Passillé A. M. B., Campbell B., Rushen J. (2006) Type of flooring in front of the feed bunk affects feeding behaviour and use of free stalls by dairy cows. *Journal of Dairy Science* **89**, 2065-2071.
- Turnbull, J.F., Adams, C.E., Richards, R.H., Robertson, D.A. (1998) Attack site and resultant damage during aggressive encounters in Atlantic salmon (*salmo salar* L.) parr. *Aquaculture* **159**, 345-353.

## V

- Valente LMP, Fauconneau B, Gomes EFS and Boujard T (2001) Feed intake and growth of fast and slow growing strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed by automatic feeders or by self-feeders. *Aquaculture* **195**, 121-131.
- Vandeputte M. & Prunet P. (2002) Génétique et adaptation chez les poissons : domestication, résistance au stress et adaptation aux conditions de milieu. *INRA Productions Animales* **15**, 365-371.

- Vandeputte M, Launey S (2004) Quelle gestion génétique de la domestication chez les poissons? *INRA Productions Animales* **17**, 237-242.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Chavanne, H., Cenadelli, S., Parati, K., Vidal, M.-O., Vergnet, A., Chatain, B. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks (soumis).
- Vazzana M, Cammarata M, Cooper EL and Parrinello N (2002) Confinement stress in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) depresses peritoneal leukocyte cytotoxicity. *Aquaculture* **210**, 231-243.
- Veissier I., Le Neindre P., Trillat G. (1989) Adaptability of calves during weaning. *Biology of Behaviour* **14**, 66-87.
- Veissier, I., Gesmier, V., Le Neindre, P., Gautier, J.Y., Bertrand, G. (1994). The effects of rearing in individual crates on subsequent social behaviour of veal calves. *Applied Animal Behaviour Sciences* **41**, 199-210.
- Veissier I., Sarignac C., Capdeville J. (1999) Les méthodes d'appréciation du bien-être des animaux d'élevage. *INRA Productions Animales* **12**, 113-121.
- Veissier, I., Boissy, A., de Passillé A.M., Rushen, J., van Reenen, C.G., Roussel, S., Andanson, S., Pradel, P. (2001) Calves' responses to repeated social regrouping and relocation. *Journal of Animal Science* **79**, 2580-2593.
- Veissier I., Dubroeuq H., Andanson S., Pomies D. (2006) Frustration of walking due to tethering in dairy cows. 40th International Congress of the International Society for Applied Ethology, 1p.
- Veissier I., Beaumont C., Lévy F. (2007) Les recherches sur le bien-être animal : buts, méthodologies et finalité. *INRA Productions Animales* **20**, 3-10.
- Verheijen, F.J., Buwalda, R.J.A. (1988) Do pain and fear make a hooked carp in play suffer? Utrecht: CIP – GEGEVENS.
- Vilhunen, S., Hirvonen, H. (2003) Innate antipredator responses of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) depend on predator species and their diet. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **55**, 1-10.
- Visscher, P.M., Goddard, M.E. (1995) Genetic parameters for milk yield, survival, workability, and type traits for Australian dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **78**, 205-220.
- Voisinet, B.D., Grandin, T., O'Connor, S.F., Tatum, J.D., Deesing, M.J. (1997) Bos Indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. *Meat Science* **46**, 367-377.
- Vollestad, L.A., Quinn, T.P. (2003) Trade-off between growth rate and aggression in juvenile coho salmo., *Oncorhynchus kisutch*. *Animal Behaviour* **66**, 561-568.

## W

- Wagner, E.J., Arndt, R.E., Brough, M. (2001) Comparative tolerance of four stocks of cutthroat trout to extremes in temperature, salinity and hypoxia. *The American Naturalist* **61**, 434-444.
- Wahlström A., Tauson R., Elwinger K. (1998) Effects on production performance and egg quality when feeding different oats/wheat ratios to two hybrids of laying hens kept in aviaries. *Acta Agriculturae Scandinavica Section. A, Animal Science* **48**, 243-249.
- Waples, R.S. (1991) Genetic interactions between hatchery and wild salmonids: lessons from the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **48**, 124-133.
- Ward, A.W., Thomas, P., Hart, P.B. & Krause, J. (2004) Correlates of boldness in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Behavioural Ecology and Sociobiology* **55**, 561-568.
- Wardle, C. S. (1975) Limit of fish swimming speed. *Nature* **225**, 725-7.
- Wardle, C.S. (1978) Non-release of lactic acid from anaerobic swimming muscle of plaice *Pleuronectes platessa* L., a stress reaction. *Journal of Experimental Biology* **77**, 141-155.
- Wardle, C. S. (1993) Fish behaviour and fishing gear. In: *The Behaviour of Teleost Fishes*, 2nd ed (Pitcher, T. J., ed.), pp. 609–643. London: Chapman & Hall.
- Warren, J.W. (1991) Diseases of Hatchery Fish. United States department of Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, DC, p. 92.
- Wedemeyer G.A. (1972) Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and stellhead trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **29**, 1780-1783.
- Wedemeyer, G.A. (1996) *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman & Hall, ITP, New York, p. 232.
- Wedemeyer, G.A., McLeay, D.J. (1981) Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: *Stress and Fish* (A.D. Pickering, ed.), pp. 247-275. London: Academic Press.
- Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., McLeay, D.J. (1990) Stress and acclimation. In: *Methods for Fish Biology* (CB Schreck and PB Moyle, eds), pp 451-489. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

- Wedemeyer G.A. (1997) Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: Iwama G. K., Pickerin A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B. (Eds). Society for Experiment Biology Seminar, Series 62, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 35-71.
- Weld, M.M. ; Fryer, J.N., Rivier, J., Lederis, K. (1987) Inhibition of CRF-and Urotensin I stimulated ACTH release from goldfish pituitary cell columns by the CRF analogue a-helix CRF-(9-41). *Regulatory Peptides* **19**, 273-280.
- Wendelaar Bonga SE (1997) The stress response in fish. *Physiological reviews* **77**, 591-625.
- Wendt, C.A.G., Saunders, R.L. (1973) Changes in carbohydrate metabolism in young Atlantic salmon in response to various forms of stress. *Special Publications of International Atlantic Salmon Foundation* **4**, 55-82.
- West, B., Zhou, B.-X. (1988) Did chickens go north? New evidence for domestication. *Journal of Archeological Science* **14**, 515-533.
- Weyts, F.A.A., Cohen, N., Flik, G., Verburg-van Kemenade, B. (1999) Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. *Fish & Shellfish Immunology* **9**, 1-20.
- Widowski T.M., Curtis E.C. (1990) The influence of straw, cloth tassel, or both on the parturition behaviour of sows. *Applied Animal Behaviour Science* **27**, 53-7
- Wilson, D.S. (1998) Adaptive individual differences within single populations. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London B* **353**, 199-205.
- Wilson, D.S., Clark, A.B. & Biederman, L. (1993) Shy bold continuum in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*): an ecological study of a psychological trait. *Journal of Comparative Psychology* **107**, 250-260.
- Wilson, D.S., Clark, A.B., Coleman, K. & Dearstyne, T. (1994) Shyness and Boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology and Evolution* **9**, 442-446.
- Winberg, S., Nilsson, G.E. (1993) Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* **106**, 597-614.
- Winberg, S., Nilsson, A., Hylland, P., Söderstöm, V., Nilsson, G.E. (1997) Serotonin as a regulator of hypothalamic-pituitary-interrenal activity in teleost fish. *Neuroscience Letters* **230**, 113-116.
- Winfree, R.A., Kindschi, G.A., Shaw, H.T. (1998) Elevated water temperature, crowding and food deprivation accelerate fin erosion in juvenile steelhead. *Progressive Fish-Culturist* **60**, 192-199.
- Wingfield, J.C. (2003) Control of behavioural strategies for capricious environments. *Animal Behaviour* **66**, 807-815.
- Wolfer, D.P., Muller, U., Stagliar, M., Lipp, H.P. (1997) Assessing the effects of the 129/Sv genetic background on swimming navigation learning in transgenic mutants: a study using mice with a modified beta-amyloid precursor protein gene. *Brain Research* **771**, 1-13.
- Woodward, C.C., Strange, R.J. (1987) Physiological stress responses in wild and hatchery-reared rainbow trout. *Transaction of the American Fisheries Society* **116**, 574-579.
- Wright, D., Rimmer, L.B., Pritchard, V.L., Krause, J. & Butlin, R.K. (2003) Inter and intra-population variation in shoaling and boldness in the zebrafish (*Danio rerio*). *Naturwiss* **90**, 374-377.
- Wright, S. (1977) Evolution and the genetics of population, Vol 3. Experimental Results and Evolutionary Deductions. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Wydoski, R.S., Wedemeyer, G.A., Nelson, N.C. (1976) Physiological response to hooking stress in hatchery and wild rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Transaction of the American Fisheries Society* **105**, 601-606.

## Y

- Yue, S., Moccia, R.D. & Duncan, I.J.H. (2004). Investigating fear in domestic rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using an avoidance learning task. *Applied Animal Behaviour Sciences* **87**, 343-354.

## Z

- Zimmerman, P.H., Lundberg, A., Keeling, L.J., Koene, P. (2003) The effect of an audience on the gavel-call and other frustration behaviours in the laying hen, *Gallus Gallus domesticus*. *Animal Welfare* **12**, 315-326.







## Abstract

The culture of aquatic species has grown much more rapidly in recent years than that of terrestrial species. Consequently, aquatic livestock welfare is a growing concern for society. However, unlike the many studies of terrestrial animal welfare, few scientific data exist concerning fish welfare. It is generally recognized that the aquaculture environment exposes fish to many repeated stress factors which affect their health, growth, reproductive performance and feeding behaviour. Even if stress responses do not highlight all welfare disturbances, it is generally admitted that they reveal a poor welfare. Among the solutions investigated to reduce fish stress, domestication and selection appear to be the favoured approaches. However, selection has generally focused on productivity and few fish selection programs have addressed adaptability or stress tolerance. The evolution of the latter under domestication pressure has also been little studied. This thesis has two main goals: 1) Identify the main behavioural characteristics of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in rearing conditions, and 2) Analyze behaviour disturbances induced by stress on animals, which genetic origin is known, to evaluate the influence of domestication and selection on adaptability and their welfare potential. Stress effects (acute or chronic) are studied using multi-criteria analyses of potential indicators including feeding and swimming behaviour, growth potential, physiological state, risk-taking behaviour and exploration of new territory, interpreted in terms of personality (shy or bold).

A first primary study, carried out on fish presenting the common domestication state found in sea bass farms in Europe, has allowed the long term characterisation of "standards" self-feeding behaviour, growth potential and physiological status *i.e.* variable feed demand activity and stable quantity of food intake over time, stress-related food wastage (*e.g.* biometrics), diurnal feeding, regularly increase of body weight and physiological characteristics in the usual published species range. This study has also highlighted the underlying principles of self-feeding behaviour and social structure in this species, *i.e.* in a group of 50 to 60 sea bass, about 5% are high-triggering fish (which realize more than 25% of all trigger actuations), 80% are low-triggering fish, and 15% are zero-triggering fish. Group self-feeding behaviour results not simply from the sum of individual feed demands, but is lead by the high-triggering fish feed demand rhythm and behaviour which is itself influenced by nutritional status. As a general rule, a single individual plays this role within the group for a continuous period of approximately 60 days before being replaced by another. Thus, more than its individuality, it is the role of leader that is essential to maintain a stable group social structure.

Studies on stress effects showed first of all a set of common responses for fish originating from different levels of domestication and/or selection for growth, *i.e.* a sudden increase in feeding motivation sometimes associated with wastage, a decrease of growth rate, a spontaneous change of feeding rhythm, a modification of spatial distribution, a decrease (or total cessation) of swimming activity, stereotyped behaviours (thigmotaxis, prostration), and an increase of blood glucose and lactate levels, an increase of serotonin activity and a decrease of liver glycogen concentration. The process of domestication seems to improve fish learning, and environmental adaptation (*i.e.* fast recovery of feeding, growth and normal physiological status following stress). The process of selection for growth seems to promote animals with regular feeding rhythms throughout the day, high exploration capacities in new environment (interpreted as a bold personality), and variable growth over time.

This work could be completed by (i) the acquisition of the relevant genetic bases of behaviour (genetic variability, heritability, genetic correlations with other phenotypic, physiological or behavioural characters), (ii) the acquisition of new indicators usable in a selective breeding program (non-invasive, inexpensive and easily implemented on a large number of individuals), and (iii) the study of further generations of domestication and selection to better understand their true relative influence on sea bass stress tolerance and welfare potential in aquaculture.

**Key words:** *Dicentrarchus labrax*, domestication, selection, acute stress, chronic stress, welfare, adaptation, stress tolerance, feeding behaviour, swimming behaviour, growth, physiological status, personality.

## Résumé

Depuis plusieurs années déjà, l'élevage des espèces aquatiques connaît une expansion beaucoup plus rapide que celui des espèces terrestres et le problème du bien-être des animaux d'élevage devient une préoccupation grandissante pour nos sociétés. Très peu de données scientifiques sont cependant disponibles sur le bien-être des poissons, contrairement aux nombreux travaux qui ont été réalisés sur les animaux terrestres. De manière globale, il est reconnu que l'environnement aquacole expose les poissons de façon répétée à de nombreux facteurs de stress qui ont des répercussions diverses sur leur l'état de santé, leur performance de croissance et de reproduction et leur comportement alimentaire. Si ces réponses ne mettent pas en évidence toutes les perturbations de leur état de bien-être, il est généralement admis qu'elles en traduisent l'altération. Parmi toutes les solutions recherchées pour réduire la réponse au stress des poissons d'élevage, la domestication et la sélection semblent être privilégiées, bien que cette dernière soit généralement axée sur les caractères de productivité ; peu d'études ont, en effet, été entreprises sur des caractères comme la capacité d'adaptation et de tolérance au stress et encore moins sur leur évolution au cours de la domestication. L'objectif principal de cette thèse est donc double : 1) Déterminer les grandes caractéristiques comportementales du bar européen (*Dicentrarchus labrax*) en conditions d'élevage et 2) Analyser les perturbations du comportement induites par le stress sur des animaux d'origine génétique connue afin d'évaluer l'influence de la domestication et de la sélection sur leurs capacités d'adaptation et leur potentiel de bien-être. Les effets du stress aigu ou chronique sont étudiés à travers une analyse multicritère d'indicateurs potentiels tels que le comportement alimentaire et natatoire, le potentiel de croissance, l'état physiologique, la prise de risque et l'exploration d'un nouveau territoire interprétées en terme de personnalité (timide ou audacieux).

Une première étude, effectuée sur des poissons présentant l'état de domestication communément trouvé dans les fermes d'élevage de bar en Europe, nous a permis de caractériser sur le long terme, les « standards » du comportement alimentaire sous self-feeder (distributeur d'aliment à la demande), du potentiel de croissance et du statut physiologique, *i.e.*: activité de demande alimentaire variable et quantité d'aliment ingérée stable au cours du temps, gaspillage d'aliment apparaissant uniquement lors d'événement stressant (biométrie), alimentation diurne, augmentation du poids corporel régulière et caractéristiques physiologiques dans les normes habituelles publiées pour cette espèce. Cette étude nous a également permis de mettre à jour les principes qui sous-tendent le comportement d'auto-alimentation et la structure sociale de cette espèce, *i.e.* dans un groupe de 50 à 60 bars, environ 5% des individus sont des manipulateurs principaux (réalisant plus de 25% des demandes alimentaires totales), 80% des manipulateurs occasionnels et 15% des non manipulateurs. Le comportement alimentaire sous self-feeder n'est pas simplement la somme des demandes alimentaires réalisées par chaque membre du groupe, mais est dirigé par le comportement alimentaire (quantité et rythme) du manipulateur principal, lui-même influencé par son état nutritionnel. En général, un seul individu au sein du groupe joue ce rôle pendant une période continue d'environ 60 jours puis est remplacé par un autre. Ainsi, plus que son identité, c'est le rôle de leader du manipulateur qui est indispensable à la conservation d'une structure sociale stable.

Les études réalisées sur les effets du stress montrent tout d'abord, un ensemble de réactions commun aux souches présentant différents niveaux de domestication et/ou de sélection sur la croissance, *i.e.*: l'augmentation soudaine de la motivation à s'alimenter accompagnée parfois de gaspillage, la diminution du taux de croissance, le changement spontané du rythme alimentaire, la modification de la répartition spatiale dans le bassin, la diminution de l'activité natatoire (voire une immobilisation totale), les comportements stéréotypés (thigmotaxie, prostration) et l'augmentation du taux de glucose et de lactate sanguin, de l'activité sérotoninergique et la diminution de la concentration en glycogène hépatique. Le processus de domestication, semble améliorer la vitesse d'apprentissage et d'adaptation aux conditions d'élevage (retour rapide, après un stress, à une alimentation, une croissance et un statut physiologique normal). La sélection pour la croissance, quant à elle, semble favoriser les animaux qui ont un rythme alimentaire régulier tout au long de la journée, une capacité d'exploration élevée dans un environnement inconnu (interprétée comme un caractère audacieux) et une croissance variable dans le temps.

Ce travail mériterait d'être complété par (i) l'acquisition des bases génétiques du comportement (variabilité génétique, héritabilité, corrélations génétiques avec d'autres caractères phénotypiques, physiologiques ou comportementaux), (ii) l'acquisition de nouveaux indicateurs utilisables dans un programme de sélection (non invasifs, peu coûteux et rapides dans leur mise en œuvre sur un grand nombre d'individus) et (iii) l'étude d'autres générations de domestication et de sélection pour avoir davantage de recul sur la réelle influence de ces deux processus sur la tolérance au stress et le potentiel de bien-être des bars en aquaculture.

**Mots clés :** *Dicentrarchus labrax*, domestication, sélection, stress aigu, stress chronique, bien-être, adaptation, tolérance au stress, comportement alimentaire, comportement natatoire, croissance, statut physiologique, personnalité.