

**Etude de la smoltification de salmonidés migrateurs par  
le dosage de l'activité  $(Na^+ - K^+)ATP$ asique branchiale.**

*Par Marie-Hélène BOUSSEAU*

## SOMMAIRE

### REMERCIEMENTS

I INTRODUCTION	1
II MATERIEL ET METHODES	4
II 1 Les animaux	4
II 1 1- Les saumons coho	
II 1 2- Les saumons atlantiques	
II 2 Echantillonnages et prélèvements	5
II 3 Techniques de dosage	7
II 3 1- Activité (Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> )ATPasique branchiale	
II 3 1 1- <i>préparation de l'extrait enzymatique</i>	
II 3 1 2- <i>dosage de l'activité ATPasique</i>	
II 3 2- Pression osmotique	
II 3 3- Chlorémie	
II 3 4- Dosage radioimmunologique des hormones thyroïdiennes	
II 4 Traitement des données	12
III RESULTATS	14
III 1 Les saumons coho	14
III 1 1- Longueur et poids	
III 1 2- Coefficient de condition	
III 1 3- Pression osmotique et chlorémie	
III 1 4- Activité (Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> )ATPasique branchiale	
III 2 Les saumons atlantiques	15
III 2 1- Longueur et poids	
III 2 2- Coefficient de condition	
III 2 3- Pression osmotique et chlorémie	
III 2 4- Activité (Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> )ATPasique branchiale	
III 2 5- Hormones thyroïdiennes	
IV DISCUSSION	17
IV 1 Limite de validité de la méthode de dosage de l'activité ATPasique	18
IV 2 Utilisation du dosage dans nos expérimentations	20
IV 2 1- Expérimentation sur le saumon coho	
IV 2 2- Expérimentation sur le saumon <i>salar</i>	
V CONCLUSION	25
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXES	

## REMERCIEMENTS

Je remercie l'équipe Salmonidés de son accueil; et plus particulièrement M Gilles BOEUF pour tous les précieux conseils et informations qu'il m'a apportés, Annick LEROUX et Armelle SEVERE qui n'ont pas hésité à donner de leur temps pour m'enseigner les techniques de prélèvements et de dosages.

## I INTRODUCTION

Les salmonidés migrateurs sont des téléostéens anadromes. Les poissons matures remontent les rivières pour frayer. Les jeunes saumons, appelés parrs, vivent un temps plus ou moins long en rivière puis subissent un ensemble de modifications morphologiques, physiologiques et comportementales qui les préadapte à leur vie future en eau de mer et qui se termine par la dévalaison des saumons dits alors smolts.

Ce processus s'appelle smoltification. Il est lié à un rythme biologique endogène synchronisé et modulé par les facteurs externes, la température et la photopériode (HOAR, 1976, 1988).

Le transfert des salmonidés d'eau douce en eau de mer est une phase critique pour les aquaculteurs. Il est intéressant car les salmonidés migrateurs ont une croissance plus rapide en eau de mer qu'en eau douce. Mais il peut engendrer des troubles physiologiques plus ou moins intenses pouvant aboutir à la mort des individus suivant la période à laquelle il a lieu : ce n'est qu'en pleine période de smoltification que le saumon coho (BOEUF, 1979) et le saumon atlantique (PARRY, 1960; HOUSTON, 1960) peuvent supporter un transfert direct à 35‰ de salinité. Il est donc essentiel de déterminer avec précision le moment à partir duquel le saumon est smolt.

Les critères physiques externes (robe argentée, perte facile des écailles, allongement du corps, etc...) sont insuffisants. Ils ne permettent pas de corréliser avec fiabilité le moment favorable au transfert et une bonne adaptation à l'eau salée (>30‰), et ne donnent pas une indication assez précise pour que les poissons aient par la suite une bonne croissance (HARACHE, 1974).

En France, la salinité étant élevée (34-36‰), l'étude de l'activité  $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) \text{ATP}$ asique branchiale a été choisie parmi d'autres critères pour détermi-

ner l'état de smolt. La ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ )ATPase assure la régulation des taux plasmatiques de sodium et potassium. Ainsi, l'activité enzymatique est faible chez le parr, augmente en eau douce au cours de la smoltification et atteint son maximum quand le saumon est smolt. Si ce dernier est maintenu en eau douce après le moment normal de la migration, le système enzymatique regresse.

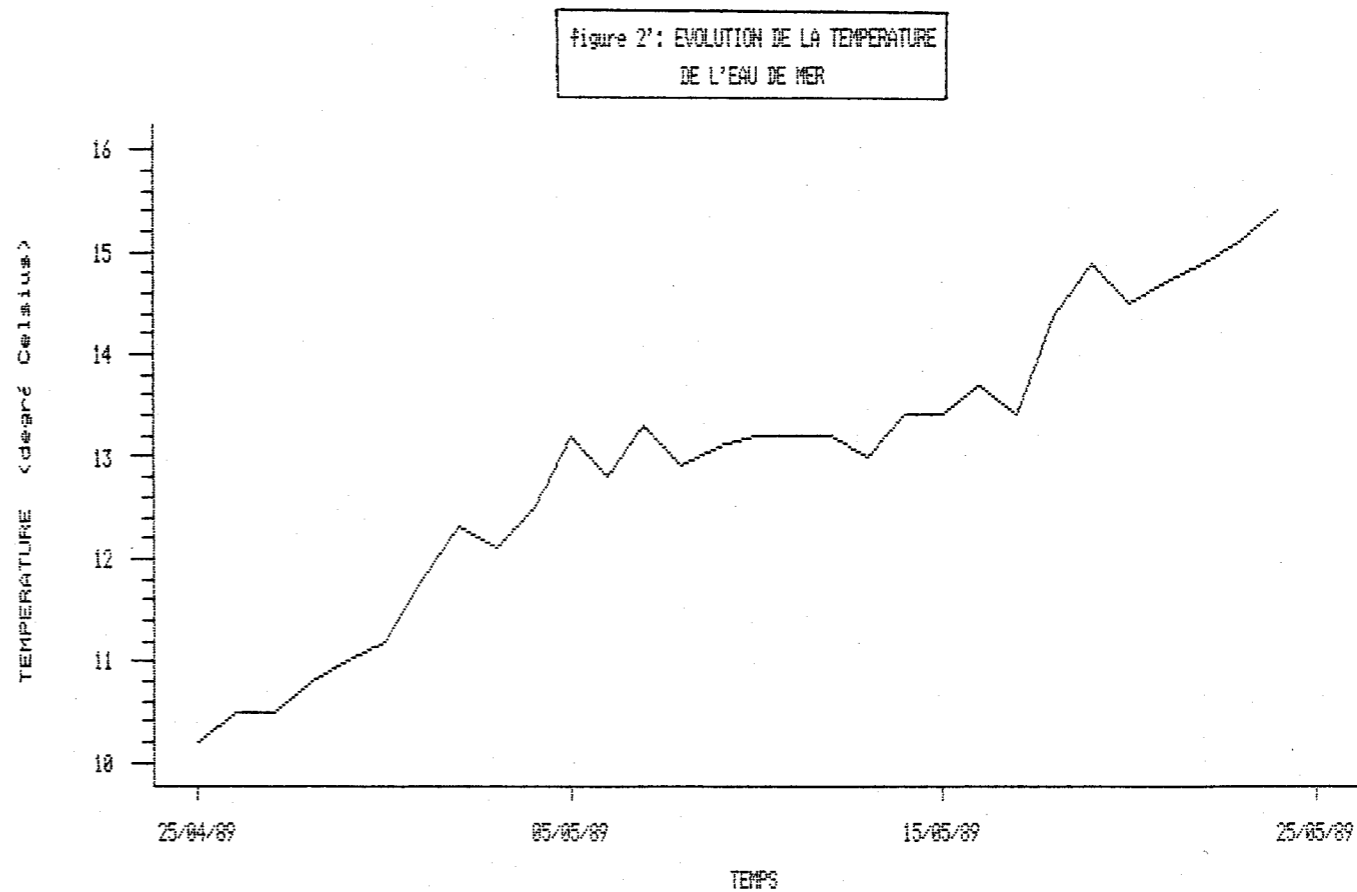
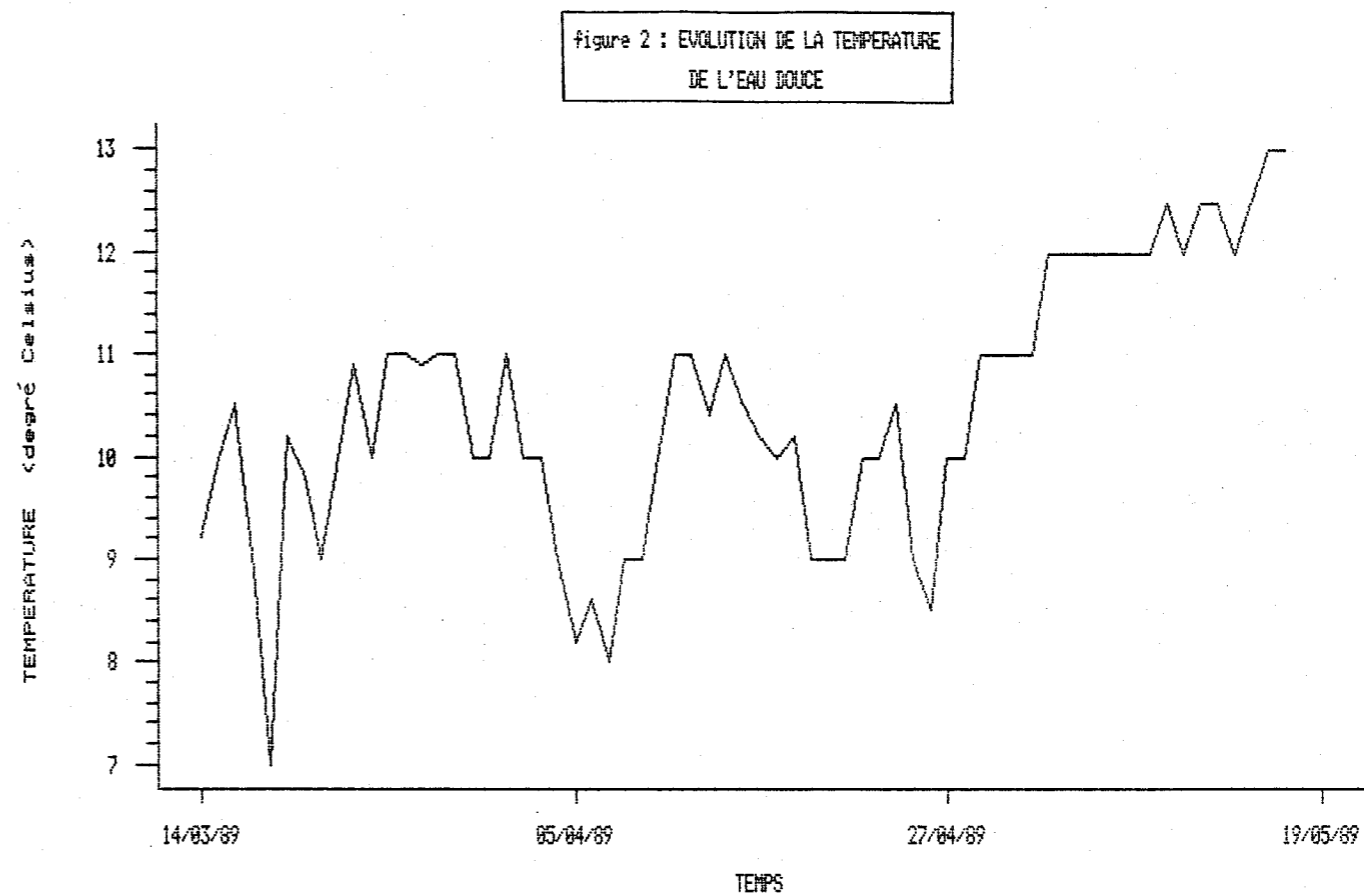
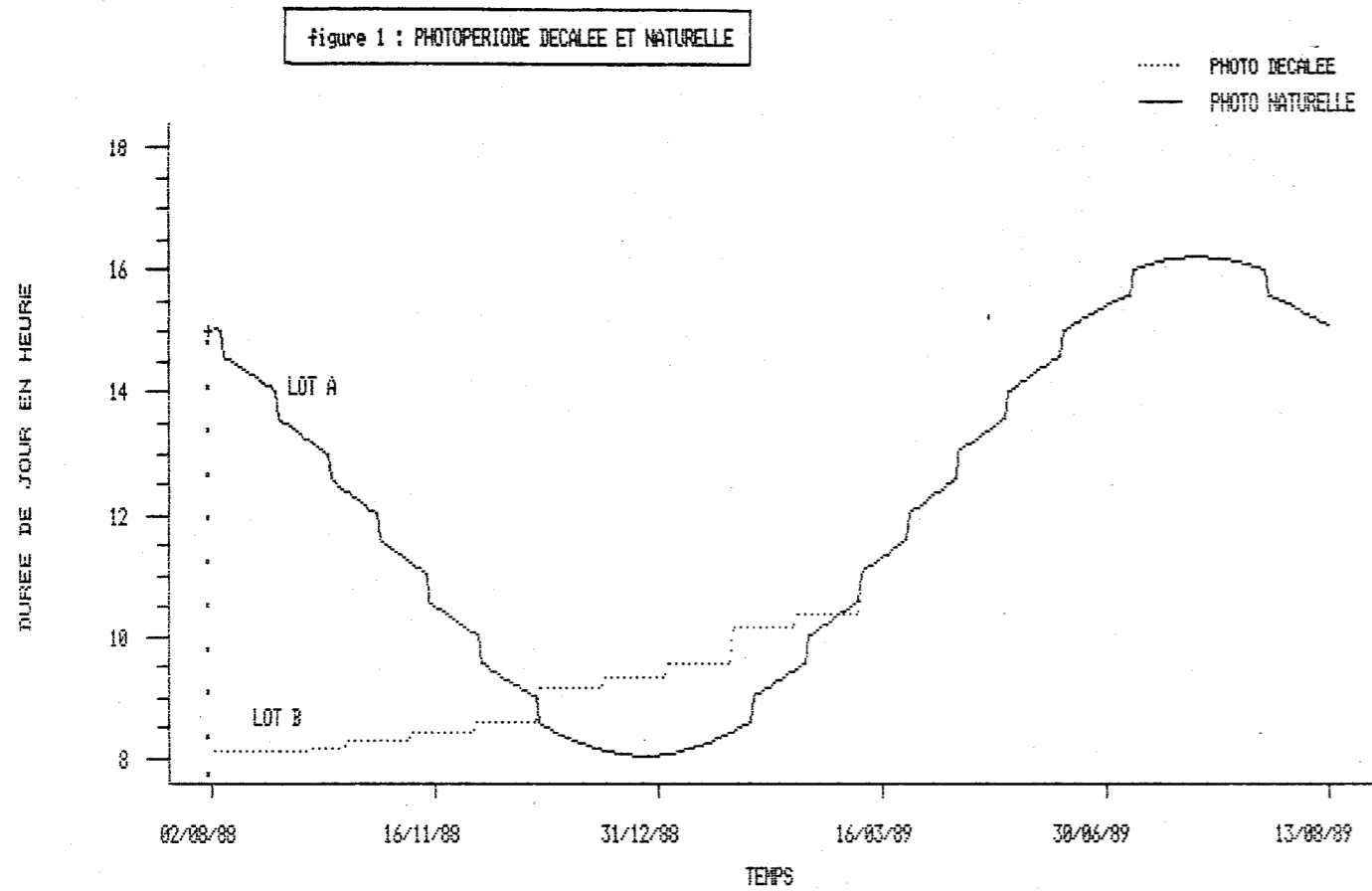
De nombreux travaux ont été entrepris afin de mieux connaître le phénomène de la smoltification. Ensuite, dans le but d'améliorer l'adaptation des saumons à l'eau de mer, donc de diminuer leur mortalité, des études sur la stimulation de la smoltification ont été effectuées. Celles rapportées dans ce mémoire sont basées sur deux expérimentations.

La première met en jeu la photopériode. Des saumons coho (*Oncorhynchus kisutch* W.) ont été importés à l'état d'oeufs de l'hémisphère sud; le but étant qu'au printemps, période de la smoltification en France, ces poissons aient une taille supérieure à celle de saumons coho de l'hémisphère nord (6 mois de vie en plus). En effet, les poissons de grande taille s'adaptent mieux que les saumons de petite taille à un transfert en eau salée (>30‰) (BOEUF, 1987). Le problème est de savoir si ces saumons soumis à une photopériode différente de celle de leur milieu naturel smoltifient.

La deuxième concerne l'influence possible des hormones thyroïdiennes (HT) chez le saumon atlantique. En effet, parmi les hormones responsables du déclenchement et de la modulation de la smoltification, les HT jouent un rôle fondamental (FONTAINE, 1975). Les saumons présentent au printemps un intense pic de thyroxine plasmatique ( $\text{T}_4$ ) une à quatre semaines avant le maximum d'activité de la ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ )ATPase, tant pour les espèces du Pacifique (FOLMAR et DICKHOFF, 1979, 1981) que chez *Salmo salar* (LINDHAL et al, 1983; BOEUF et PRUNET, 1985). Ce pic est encadré par deux augmentations de triiodothyronine ( $\text{T}_3$ ) (BOEUF, 1987). Le haut niveau en  $\text{T}_4$  annonce une grande euryhalinité des animaux pendant quelques semaines (BOEUF, 1987). Le but de cet expérimentation est d'approfondir le rôle des HT dans la smoltification. Ainsi, un lot de saumons atlantiques a été nourri

avant le transfert en mer, avec des granulés enrichis en  $T_3$ , forme active sur les récepteurs (BOEUF, 1987); et un lot témoin avec ces mêmes granulés non enrichis.

Pour ces deux expérimentations, nous avons réalisé des transferts directs en eau de mer des deux espèces de saumons et, avons fait l'étude de l'activité  $(Na^+-K^+)ATP$ asique des microsomes branchiaux ainsi que celles de la pression osmotique, du taux plasmatique de chlorures, de la longueur, du poids et, chez *Salmo salar* du taux plasmatique de  $T_3$  et  $T_4$ .



## **II MATERIEL ET METHODES**

### **II 1 Les animaux**

#### **II 1 1- Les saumons coho**

Les saumons coho ont été importés du Chili le 3 août 1988 à l'état d'oeufs et leur première prise d'alimentation a eu lieu le 31 août. Ils ont été élevés dans des bacs Ewos de 1m<sup>2</sup>, au centre d'IFREMER.

La moitié des poissons a subi la photopériode naturelle de la région dès leur arrivée (lot A), les autres ont été soumis à une photopériode croissante tout au long de l'expérimentation afin de simuler les conditions de lumière qu'ils auraient eu au Chili (lot B) (voir figure 1). Les lots A et B ont toujours été placés dans deux bacs différents.

La température de l'eau douce a varié de 7 à 13,2 °C, au cours de la période d'étude (voir figure 2).

Les poissons ont reçu comme alimentation du granulé SS1 à un taux de rationnement variable suivant leur poids et la température de l'eau.

Le 17 mai 1989, les saumons coho ont été transférés en mer (35‰) en cages flottantes à Camaret. Le suivi de l'adaptation des animaux n'étant pas possible sur ce site, en vue des prélèvements 20 poissons du lot A et 18 du lot B ont été placés à 35‰ et 18 du lot B à 15‰, dans des bacs Ewos de 1m<sup>2</sup>, au centre d'IFREMER.

Entre le passage en mer et le dernier prélèvement (1 semaine après transfert en milieu marin) la température de l'eau de mer a varié de 14,5 à 15,4°C (voir figure 2').

#### **II 1 2- Les saumons atlantiques**

Ils sont issus d'oeufs de saumons sauvages de la rivière Elorn. Ces oeufs ont éclos du 15 au 18 février 1988 à la pisciculture du Conquet où les alevins



ont été élevés puis, ils ont été transférés à l'état de parr au centre d'IFREMER dans des bacs Ewos de 4m<sup>2</sup> pour l'expérimentation.

Les saumons ont été divisés en 2 lots, l'un témoin recevant une ration alimentaire de granulés SSI et l'autre nourri pendant six semaines (jusqu'au transfert en mer) avec le même aliment mais additionné de triiodothyronine (25mg T<sub>3</sub> par Kg d'aliment).

Le 24 avril tous les animaux ont été directement transférés d'eau douce en eau de mer. Au cours de l'expérimentation, la température a varié de 7 à 11°C en eau douce et de 10,2 à 13,8°C en eau de mer. La salinité de l'eau de mer est restée constante à 35‰.

## II 2 Echantillonnages et prélèvements

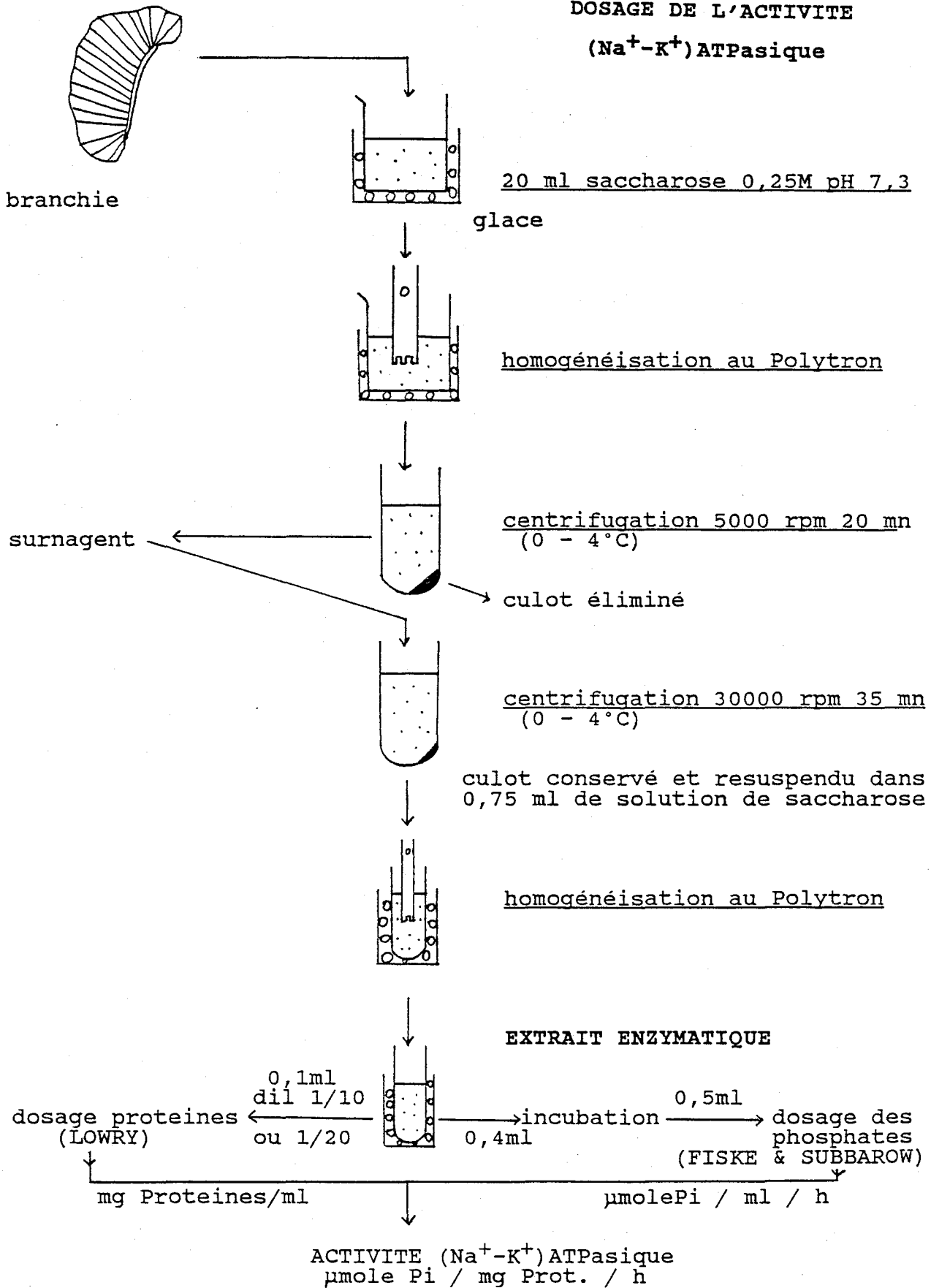
L'expérimentation sur les saumons atlantiques a débuté et s'est terminée par un échantillonnage. Une partie importante ou toute la population à jeun durant un jour est anesthésiée avec de l'éthylenglycol monophenylether (2ml dans 10l d'eau), pesée et mesurée. La balance utilisée est précise au 1/10 de gramme et les mesures de longueur, prises du nez de l'animal à la fourche caudale ont été déterminées au mm près.

Pour les prélèvements, les poissons sont assommés, pesés, mesurés; le sang est prélevé dans l'aorte postérieure à l'aide d'une seringue héparinée (héparinate de lithium); tous les arcs branchiaux sont retirés, rincés dans une solution de saccharose 0,25M pH 7,3 puis placés dans de l'azote liquide (-196°C).

Pour les saumons atlantiques, les prélèvements ont lieu, en eau douce toutes les deux semaines puis après transfert en mer au bout de 0<sup>H</sup>, 24<sup>H</sup>, 8j, 15j et 22 jours.

Les branchies des saumons coho sont prélevées toutes les deux semaines puis toutes les semaines quand l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique augmente. Le sang de ces mêmes saumons n'a été recueilli que durant la période du passage en mer (0<sup>H</sup>, 48<sup>H</sup>, 7jours).

DOSAGE DE L'ACTIVITE  
(Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique



Le poids et la longueur du poisson permettent de calculer le coefficient de condition (K).

$$K = \frac{\text{poids (en g)}}{\text{longueur (en mm)}} \times 10^5$$

Les branchies sont nettoyées par rinçage dans la solution de saccharose des résidus alimentaires et du sang qui donneraient un excès en protéines lors du dosage de l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique. La congélation rapide des échantillons induit une fragmentation de la membrane plasmique donc une libération de sites de (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase.

Le sang recueilli est centrifugé au laboratoire à 3500 rpm durant 15mn. Le plasma ainsi obtenu est récupéré puis congelé (-28°C). Il permet de mesurer la pression osmotique (PO), les taux de chlorures, T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub>.

Les poissons prélevés sont capturés au hasard dans les bassins. Chaque valeur donnée correspond à la moyenne sur 7-8 animaux pour les saumons coho et 8-10 pour les saumons atlantiques.

## II 3 Techniques de dosage

### II 3 1- Activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique

(méthode de BOEUF, 1979)

#### II 3 1 1- *préparation de l'extrait enzymatique*

Les arcs branchiaux d'un poisson, placés dans environ 20ml de solution de saccharose 0,25M pH 7,3, sont rapidement décongelés puis homogénéisés à l'aide d'un broyeur POLYTRON.

L'échantillon subit alors deux centrifugations (L5-65-B Ultracentrifuge BECKMAN). La première, 20mn à 5000 rpm, permet d'éliminer les débris cellulaires divers et les noyaux contenus dans le culot. La deuxième, 35mn à 30000 rpm assure la séparation d'un culot du surnageant recueilli de la 1<sup>ère</sup> centrifugation.

Ce culot constitue l'extrait enzymatique, il est composé de microsomes sur lesquels les sites actifs des ATPases sont plus ou moins libres. Les microsomes

tableau 1 : Milieu d'incubation pour le dosage de l'activité  
(Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique

	TEMOIN	TUBE 1	TUBE 2	TUBE 3	TUBE 4
H <sub>2</sub> O distillée	750	475	475	425	425
NaCl 1M	0	100	100	100	100
KCl 0,8M	0	25	25	25	25
EGTA	0	50	50	50	50
Ouabaine	0	0	0	50	50
Mg <sup>2+</sup> -ATP	250	250	250	250	250
Extrait enzymatique	0	100	100	100	100
Volume total	1000	1000	1000	1000	1000

Tous les volumes sont en microlitre.

Les tubes 1 et 2 permettent le dosage de l'activité ATPasique totale.

Les tubes 3 et 4 permettent le dosage de l'activité Mg<sup>2+</sup> ATPasique.

EGTA : Ethylène-glycol-bis (2 amino-éthyl)- N- N'-tétracétate

sont de petits fragments de membrane plasmique et de reticulum endoplasmique, disposés en vésicules ouvertes et formés sous la force centrifuge.

L'extrait enzymatique est dilué avec la solution de saccharose afin que la densité optique lors du dosage des protéines soit comprise entre 0,4 et 0,7 Do. Le taux de dilution est variable et inconnu, le résultat étant un rapport de deux grandeurs: la concentration en phosphates inorganiques libérés après incubation et, la concentration en protéines dans l'extrait enzymatique.

Chaque étape du dosage est effectuée entre 0 et 4°C afin d'éviter une dénaturation éventuelle du système enzymatique étudié.

### II 3 1 2- dosage de l'activité ATPasique

Le dosage de l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique consiste en la mesure de la quantité de phosphates inorganiques (Pi) libérés lors de la réaction enzymatique par hydrolyse de l'ATP, valeur ramenée par mg de protéines contenues dans l'extrait enzymatique pour pouvoir comparer les différents échantillons entre eux.

#### **\* incubation et dosage des phosphates inorganiques :**

Le milieu d'incubation comprend le substrat de la réaction : Mg<sup>2+</sup>-ATP, les sels activateurs: Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>, de l'EGTA et de l'extrait enzymatique (voir tableau 1). Il a ainsi la composition suivante: 100mM NaCl; 20mM KCl; 0,5mM EGTA; 5mM MgCl<sub>2</sub>; 4,4mM ATP.

Les ions sodium et potassium sont apportés en concentration optimum. L'EGTA complexe les éventuels ions calcium, inhibiteurs de l'activité ATPasique Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> dépendante.

Chaque extrait enzymatique est distribué dans 4 tubes d'incubation. Deux tubes permettent la mesure de l'activité ATPasique totale, les deux autres par ajout de ouabaïne (2,1.10<sup>-3</sup>M) servent à déterminer l'activité de la Mg<sup>2+</sup>-ATPase. En effet, la ouabaïne est un glucoside cardiaque qui inhibe spécifiquement l'activité ATPasique Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> dépendante. La différence activité ATPasique totale-activité (Mg<sup>2+</sup>)ATPasique donne l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique.

tableau 2 : Protocole de la méthode de FISKE et SUBBAROW

	TEMOIN	TUBE 1	TUBE 2	TUBE 3	TUBE 4
Surnageant (ml)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Réactif A (ml)	2	2	2	2	2
Réactif B (ml)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
H <sub>2</sub> O distillée (ml)	7.20	7.20	7.20	7.20	7.20
	attendre 30 mn - lecture à 700 nm				

$\underbrace{Do_1 \quad Do_2}_{Do_m} \quad \underbrace{Do_3 \quad Do_4}_{Do_m'}$

$Do_m$  : densité optique moyenne

$Do_m - Do_m' = Do$  de l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique

Réactif A = molybdate d'ammonium (25g)  
 acide sulfurique concentré (135ml)  
 eau distillée (q.s.p. 1litre)

Réactif B = disulfite de sodium (30g)  
 eau distillée (180ml)  
 acide 1 amino 2 naphthol 6 sulfonique (ANSA) (0,1g)  
 sulfite de sodium (5g)

tableau 3 : Préparation de la gamme étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY

Numéro des tubes	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Solution mère (ml)	0	0.5	1	1.5	2	3	4	5	6
Eau distillée (ml)	10	9.5	9	8.5	8	7	6	5	4
Concentration finale (microg/ml)	0	50	100	150	200	300	400	500	600

Solution mère (préparation): 50mg Sérum Albumine Bovine / 50ml H<sub>2</sub>O distillée

tableau 4 : Protocole de la méthode de LOWRY

	GAMME	EXTRAIT
Différentes concentrations de la gamme	0.4ml	
Extrait dilué		0.4ml
Réactif C	2ml	2ml
	mélanger - attendre 10 mn	
Folin au 1/2	0.2ml	0.2ml
	mélanger en 2 secondes - attendre 30 mn lire à 750 nm à température ambiante	

Réactif C : 50ml de réactif A  
 200microlitre de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O 5%  
 800microlitre de tartrate de sodium 1%

Réactif A : 13,5g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dissous dans 250ml NaOH 0,1N

La préparation des tubes est effectuée dans de la glace fondante pour éviter une hydrolyse spontanée de l'ATP ou le départ de la réaction. Après agitation et bouchage des tubes, ces derniers sont incubés à 37°C (température optimum de l'enzyme) pendant 5mn, condition de vitesse initiale.

La réaction est arrêtée en plongeant les tubes dans de la glace fondante. De plus, les protéines sont aussitôt précipitées en introduisant 100µl d'acide trichloracétique 50% par tube. Ces derniers sont alors agités et centrifugés 10 mn à 5000rpm (centrifugeuse SIGMA 3K-2).

Les Pi sont recueillis dans le surnageant et dosés par la méthode colorimétrique de FISKE et SUBBAROW (1925) (voir tableau 2).

**\* dosage des protéines :**

Le taux de protéines totales de l'extrait enzymatique est déterminé par la méthode colorimétrique de LOWRY *et al.* (1951). Les protéines en solution sont dosées par le réactif au phénol de Folin en milieu alcalin et en présence d'ions cuivriques. Ce réactif agit avec les résidus thyrosine et tryptophane en formant des composés colorés. Les valeurs en protéines des échantillons sont extrapolées à partir d'une courbe étalon effectuée avec une solution de serum albumine bovine (points 0, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 µg de protéines / ml).

L'extrait enzymatique est dilué au 1/10 ou 1/20 selon sa concentration en protéines. Le protocole de la manipulation est décrit dans les tableaux 3 et 4.

L'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique est exprimée en µmole de Pi par mg de protéines par heure.

(Les autres dosages ont été effectués par les techniciennes du laboratoire.)

II 3 2- Pression osmotique (PO)

Les échantillons de plasma sont rapidement décongelés. Un aliquote de 100µl

est prélevé. Le dosage, basé sur le principe de l'abaissement du point de congélation est effectuée à l'aide d'un osmomètre ROEBLING. La lecture de l'osmolalité est directe, en milliosmole par litre avec une précision de plus ou moins 1 mOsm/l.

### II 3 3- Chlorémie

Les ions chlorures sont dosés à l'aide d'un chlorido- mètre Radiometer (CMT 10) par titrimétrie argentimétrique sur 20 microlitre de plasma. Une électrode d'argent libère des ions  $\text{Ag}^+$  qui vont précipiter mole à mole avec les ions  $\text{Cl}^-$  de l'échantillon. Deux autres électrodes mesurent par différence de potentiel la concentration en ions  $\text{Cl}^-$ . Les valeurs sont exprimées en milliéquivalent par litre, avec une précision du mEq.

### II 3 4- Dosage radio immunologique des hormones thyroïdiennes (HT)

50 $\mu$ l de plasma sont mis en présence d'une quantité définie d'anticorps (Ac) anti-HT et d'antigène (Ag) radio- marqué, HT marquées à l'iode  $^{125}$ ; ces quantités sont déterminées afin que 45% des liaisons des Ag soient liées au Ac. Les échantillons sont mis à incuber  $^2\text{H}$  à  $37^\circ\text{C}$ . Il y a alors compétition entre les HT plasmatiques et les HT- $\text{I}^{125}$  pour l'Ac. Lorsque la quantité d'HT présente dans l'échantillon augmente, la quantité de molécules traceuses radioactives liées à l'Ac diminue. Le précipité Ag-Ac est obtenu par ajout de polyéthylène glycol et isolé par centrifugation (5000rpm, 30mn). La radioactivité est mesurée dans le culot par un compteur Gamma à scintillation solide (RIA Gamma, KB). Elle est convertie en concentration (ng/ml) après calcul de l'ordinateur à partir d'une courbe étalon.

### II 4 Traitement des données

Chaque valeur donnée sur les figures correspond à une moyenne sur 7-8



saumons coho et 8-10 saumons atlantiques. Elle est accompagnée de l'erreur standard à la moyenne (S).

$$S = \frac{\text{écart type}}{(\text{nombre d'échantillon})^{\frac{1}{2}}}$$

Le logiciel utilisé pour traiter les données est STATGRAPHICS.

Le test de STUDENT a été employé pour comparer à une même date les moyennes de deux lots différents. On peut ainsi déterminer s'il existe à un moment donné une différence significative entre les deux lots.

Si on trouve  $P < 0,05$  la différence est significative,

$P < 0,01$  la différence est très significative,

$P < 0,001$  la différence est hautement significative.

$P < 0,05$  signifie qu'il y a 5% de chance que les deux moyennes soient équivalentes.

#### LEGENDES DES SIGNES UTILISES SUR LES FIGURES

# visualise le jour où a eu lieu le commentaire écrit sur la figure.

\* : différence significative par le test de Student ( $P < 0,05$ )

\*\* : différence très significative ( $P < 0,01$ )

\*\*\* : différence hautement significative ( $P < 0,001$ )

N.B. : Sur les graphes présentant les moyennes de deux lots plus celles du lot témoin, le test de Student relate la différence de moyenne entre le lot témoin et les autres; mais pas entre les deux lots non témoin.

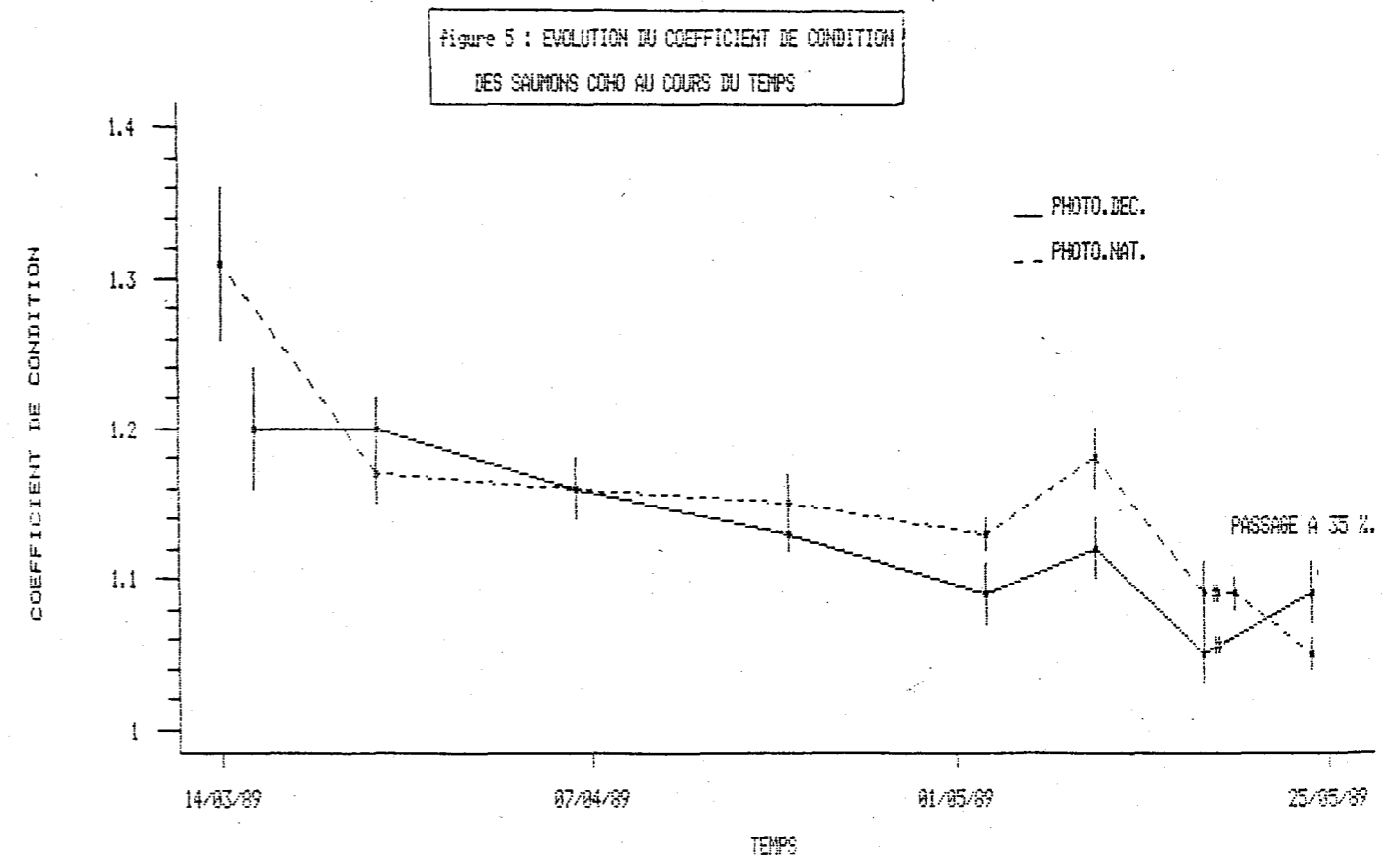


Figure 3 : EVOLUTION DE LA LONGUEUR DES SAUMONS COHO AU COURS DU TEMPS

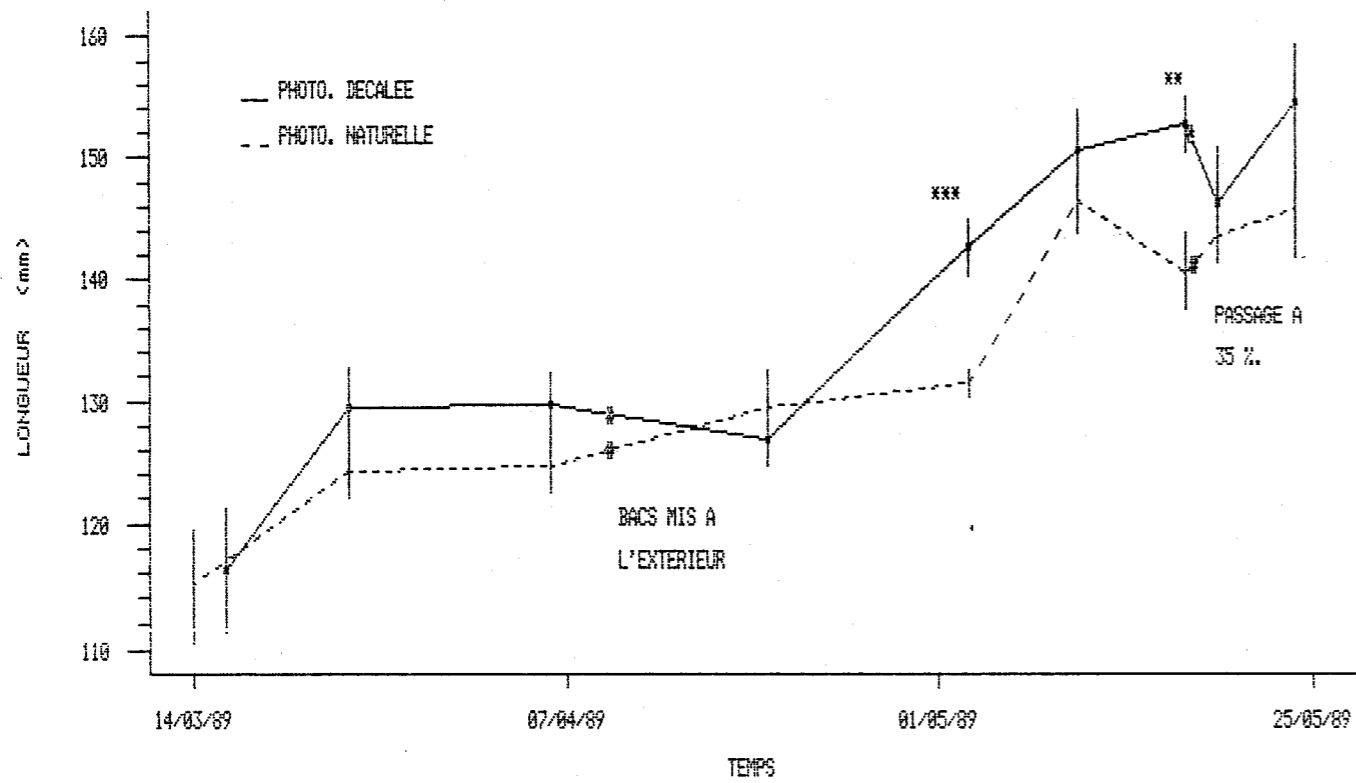


Figure 4 : EVOLUTION DU POIDS DES SAUMONS COHO AU COURS DU TEMPS

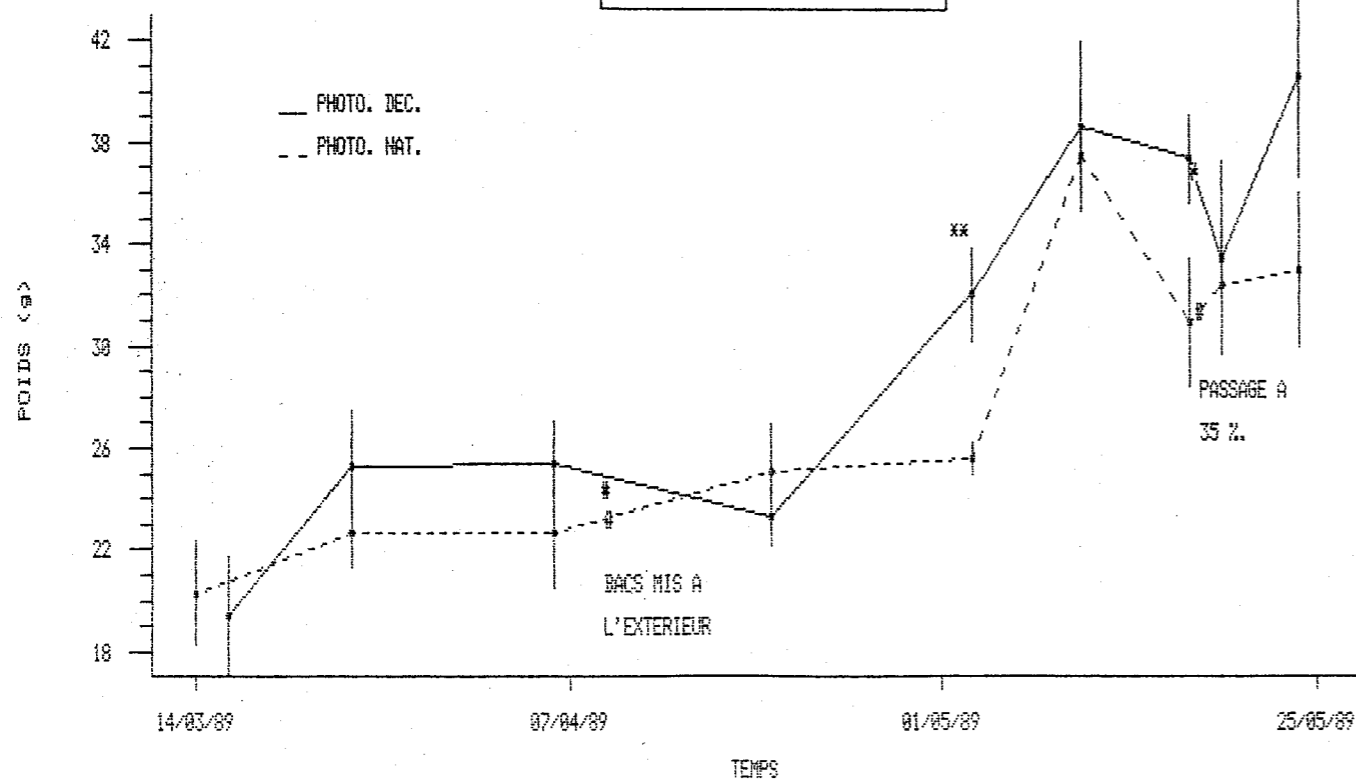


Figure 6 : EVOLUTION DE LA PO DES SAUMONS COHO APRES TRANSFERT EN MER

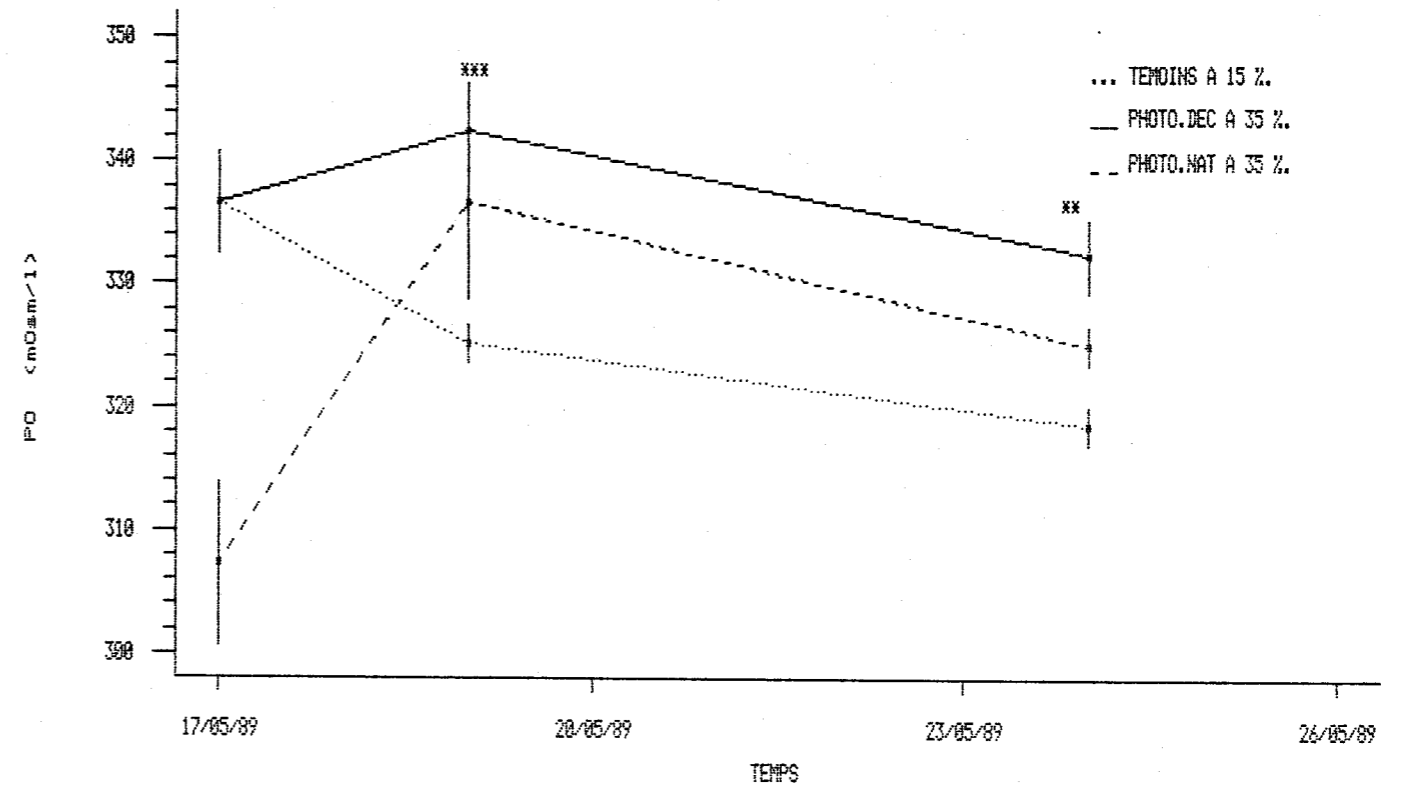
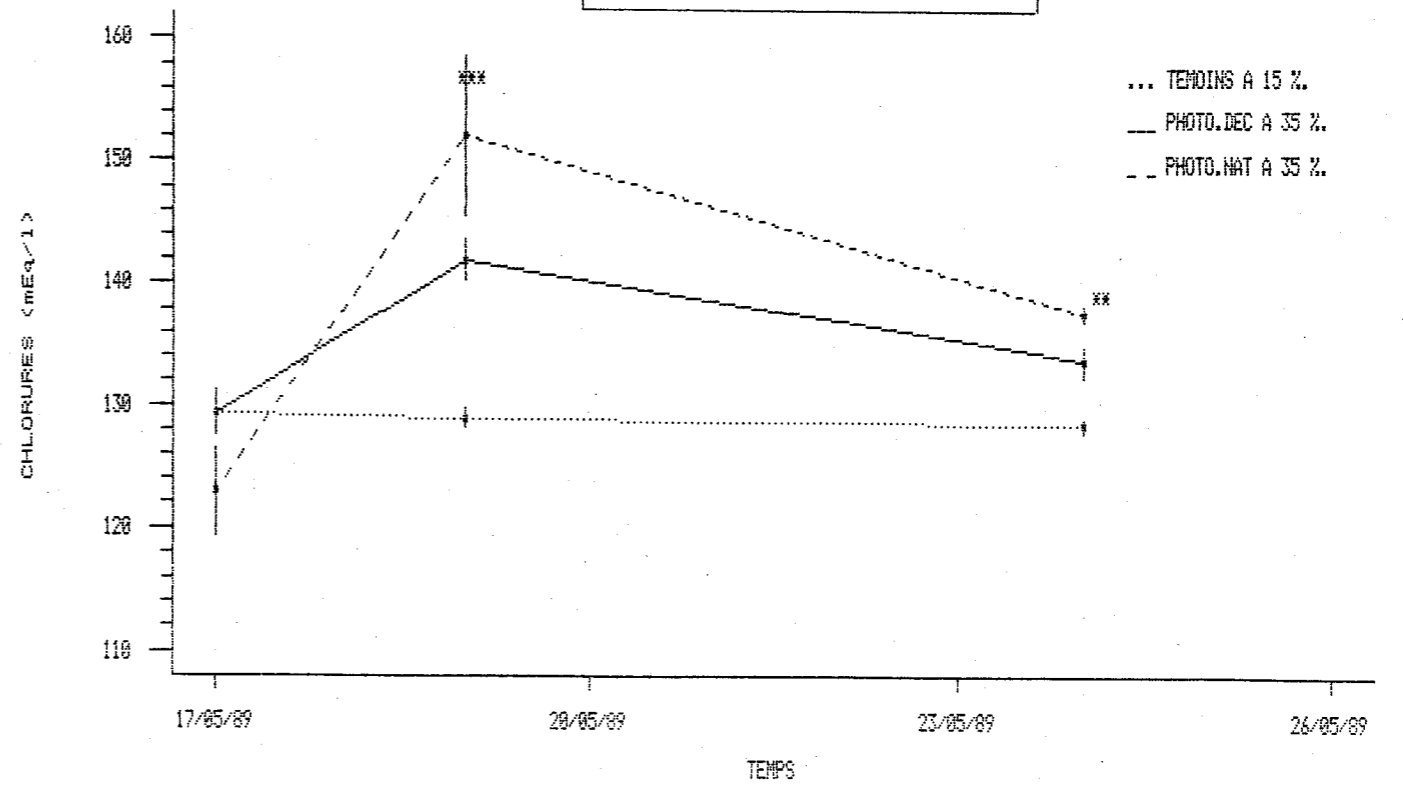


Figure 7 : EVOLUTION DU TAUX DE CHLORURE DES SAUMONS COHO APRES TRANSFERT EN MER



### III RESULTATS

#### III 1 Les saumons coho

##### III 1 1- Longueur et poids

D'après les figures 3 et 4, on peut remarquer que durant la période d'expérimentation la croissance des saumons coho évolue de la même manière pour la longueur et le poids.

Ces deux paramètres augmentent rapidement à partir du 20 avril pour le lot B\* et du 2 mai pour le lot A\*. Par comparaison des figures 3 et 8, on peut noter que cette augmentation débute en même temps que la montée de l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>) ATPasique branchiale.

Le 2 mai, le poids et la longueur des saumons du lot B sont significativement supérieurs à ceux du lot A (respectivement P<0,01 et P<0,001), le 17 mai également (P<0,01). Outre ces deux points l'évolution des deux paramètres est équivalente pour les deux lots.

##### III 1 2- Coefficient de condition (K)

On peut voir d'après la figure 5 que K est à 1,25 au début de l'expérimentation et diminue ensuite jusqu'au transfert en mer; c'est à dire jusqu'à la valeur de 1,07.

Aucune différence significative n'est remarquée entre les deux lots de poissons.

##### III 1 3- Pression osmotique (PO) et chlorémie

Les figures 6 et 7 indiquent que la PO et le taux plasmatique de chlorure présentent un pic après 48<sup>H</sup> en eau de mer: 339mOsm/l et 145mEq/l; valeurs signi-

\* (lot A: photopériode naturelle de la région,

lot B: photopériode toujours croissante)

Figure 8 : EVOLUTION DE L'ACTIVITE (Na+K)ATPasique DES SAUMONS COHO AU COURS DU TEMPS

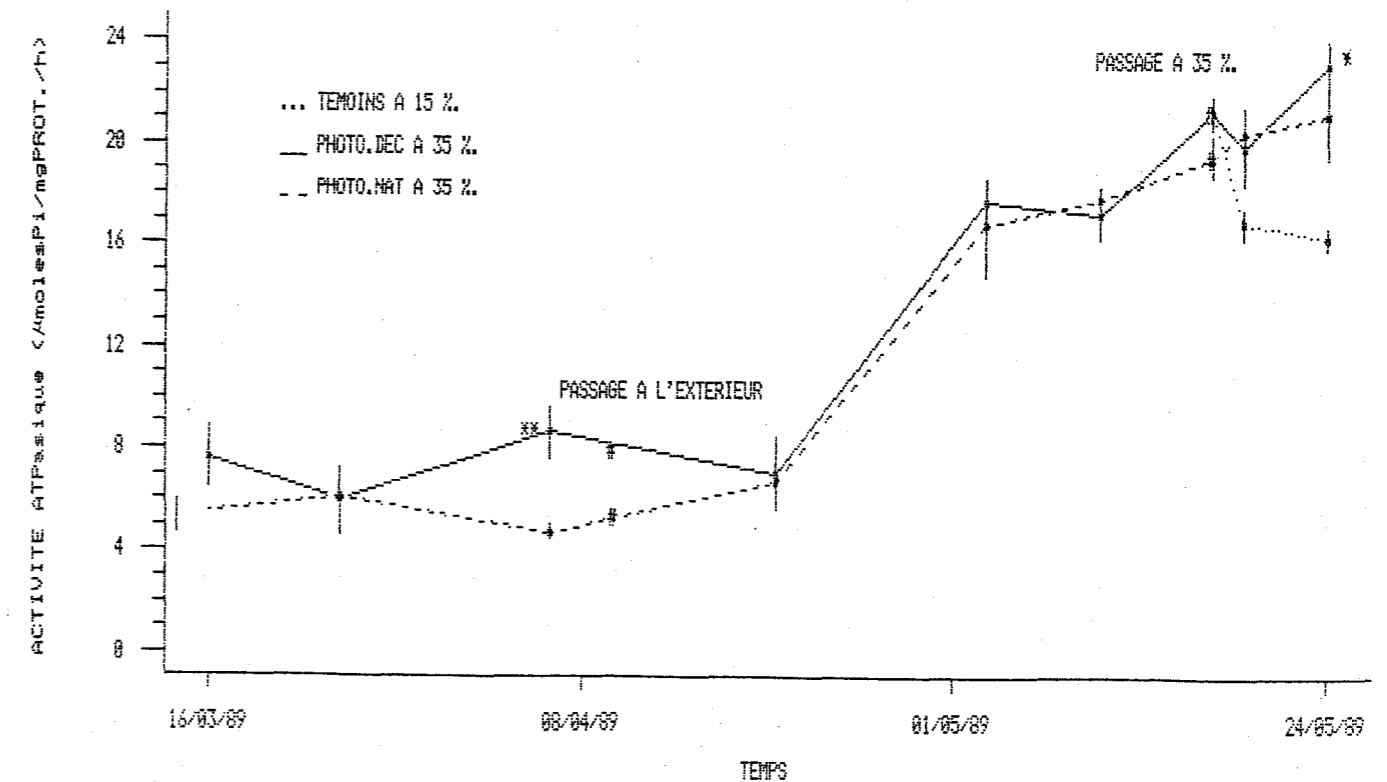


Figure 9 : EVOLUTION DE LA LONGUEUR DES SAUMONS ATLANTIQUES AU COURS DU TEMPS

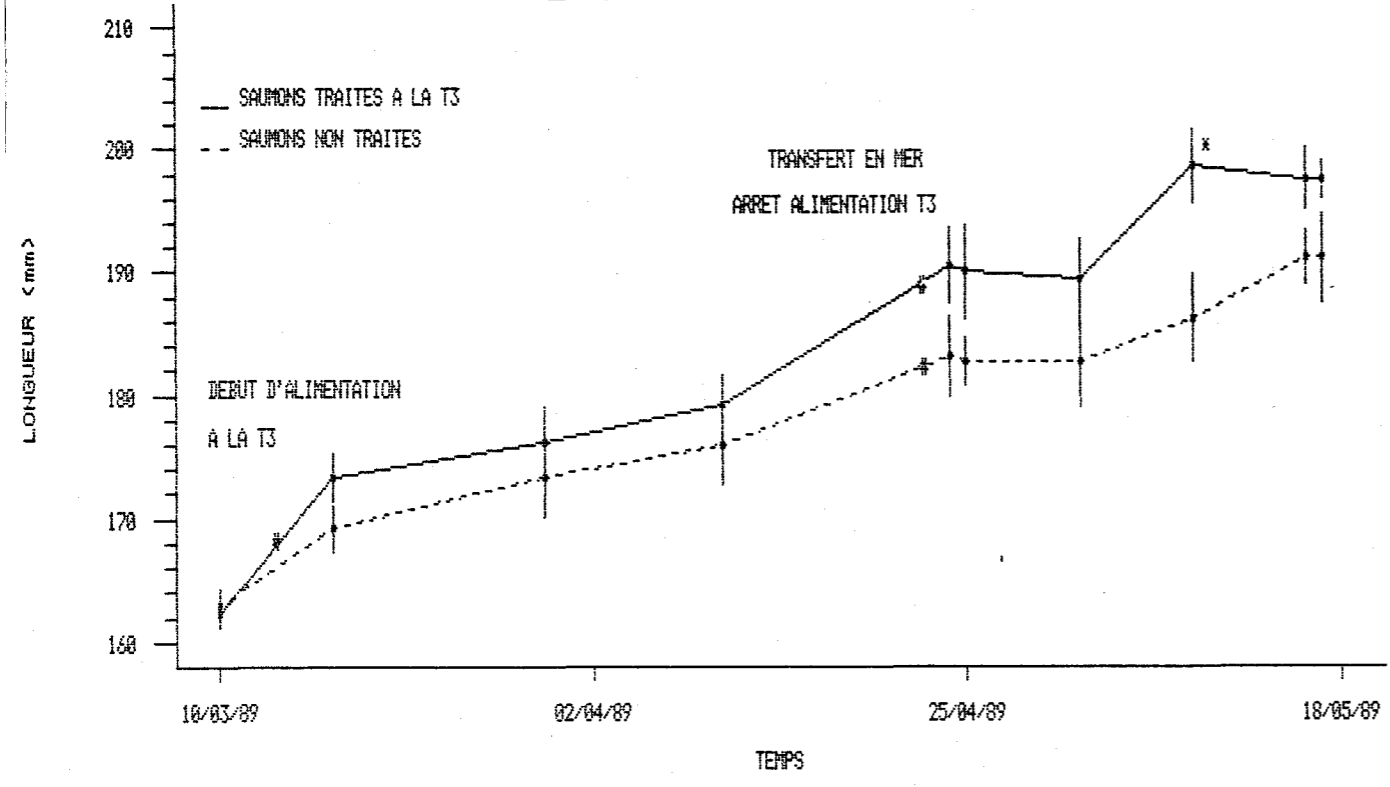


Figure 11 : EVOLUTION DU COEFFICIENT DE CONDITION DES SAUMONS ATLANTIQUES

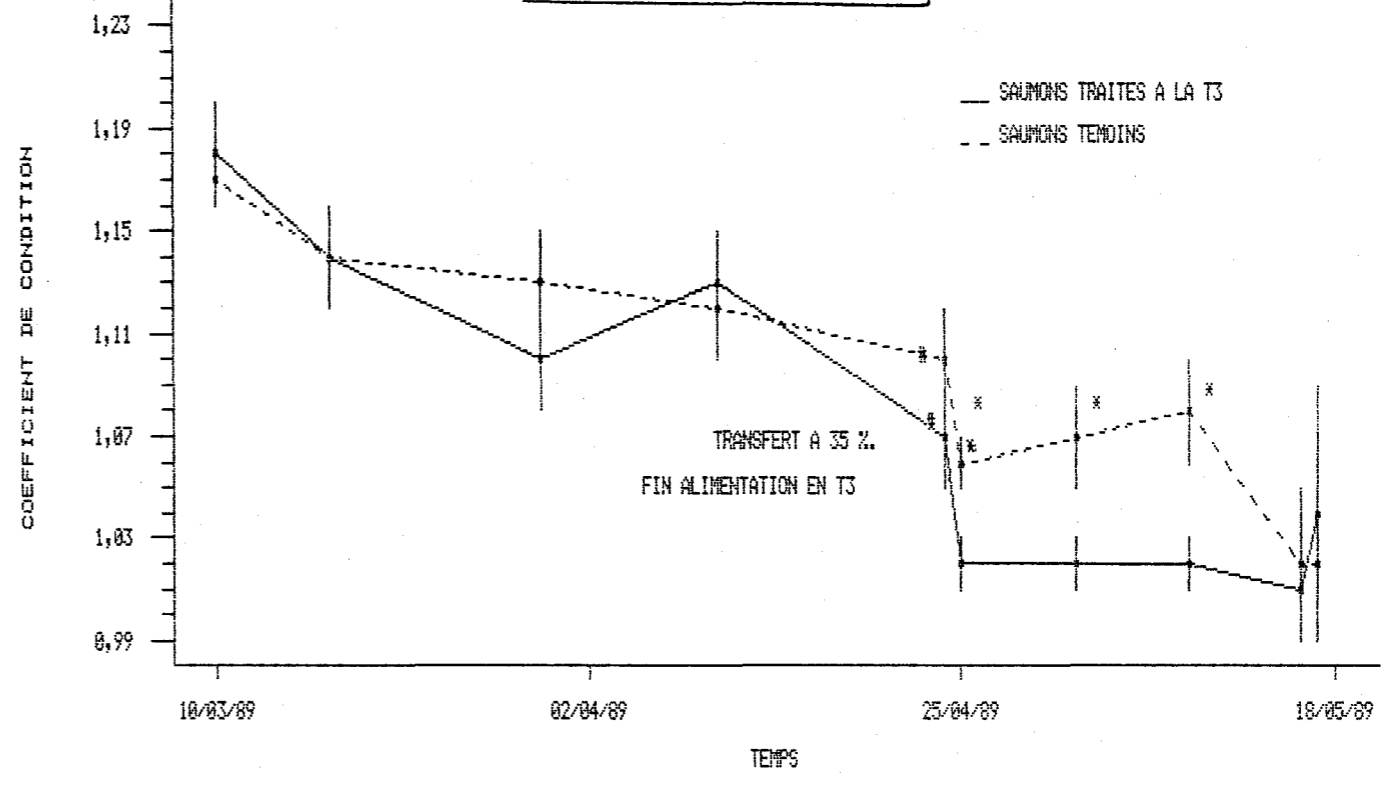


Figure 10 : EVOLUTION DU POIDS DES SAUMONS ATLANTIQUES AU COURS DU TEMPS

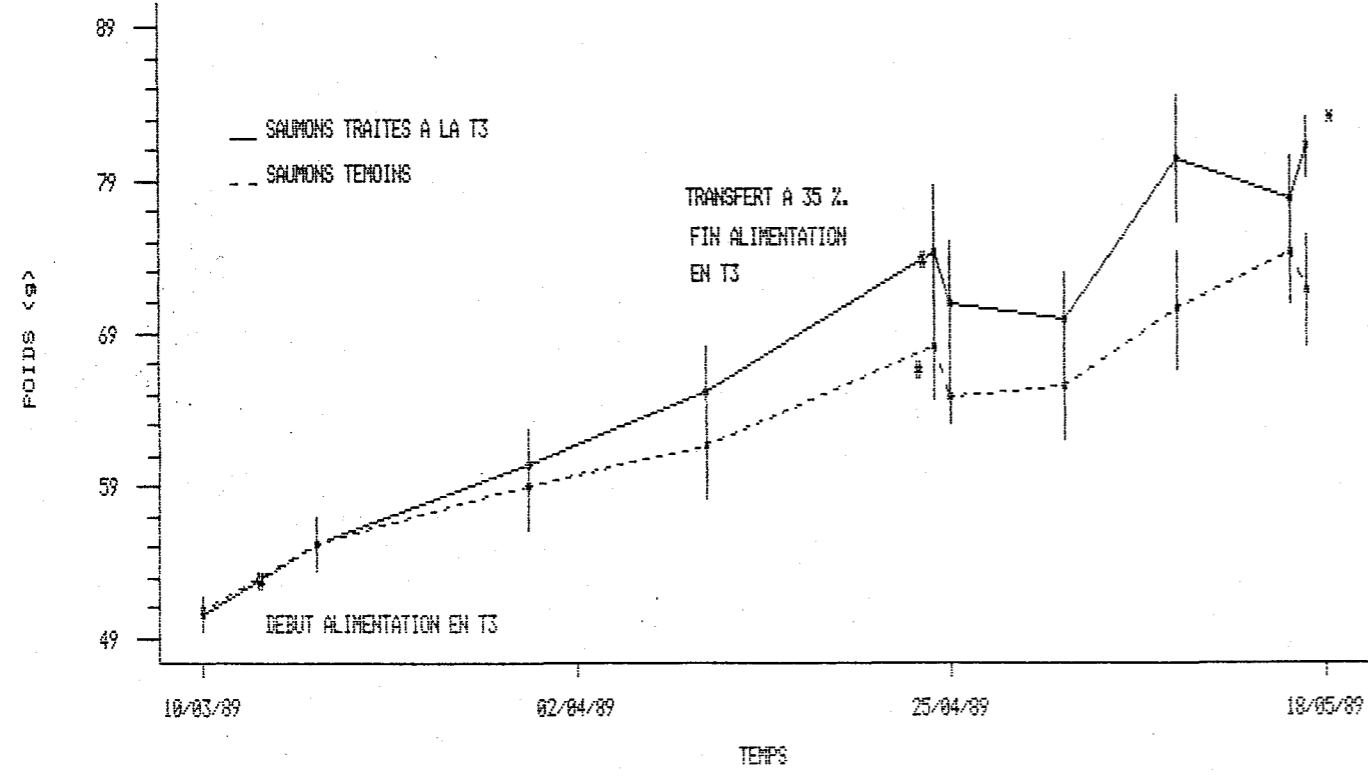
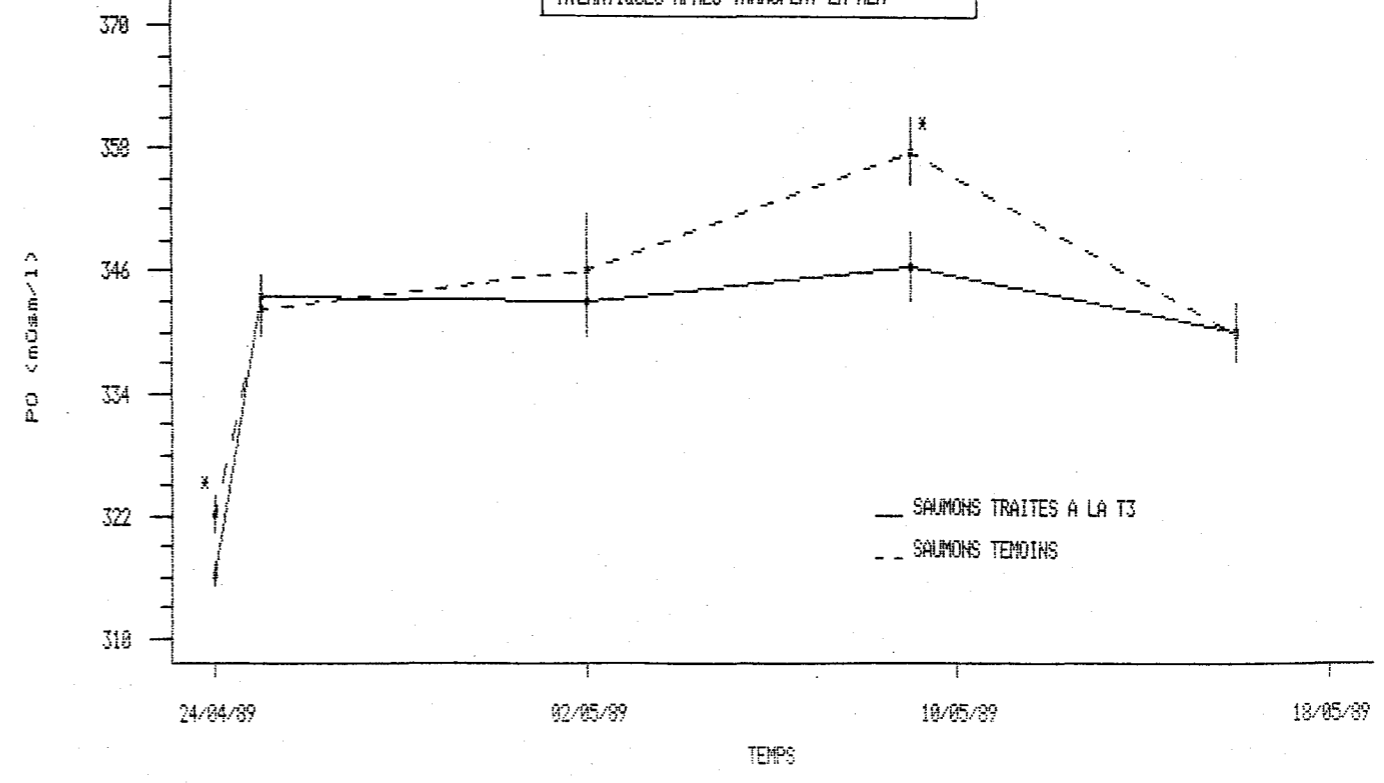


Figure 12 : EVOLUTION DE LA PO DES SAUMONS ATLANTIQUES APRES TRANSFERT EN MER



ficativement élevées par rapport au lot témoin ( $P < 0,01$ ). Ce pic est induit par le changement de salinité, car le lot témoin ne présente pas de variation de PO et de chlorémie.

Sept jours après transfert en mer, les deux lots de saumons coho ont des valeurs de PO et chlorémie "normales" pour des poissons euryhalins à 35‰, et supérieures à celles du lot témoin ( $P < 0,05$  et  $P < 0,01$ ).

#### III 1 4- Activité ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ )ATPasique branchiale

D'après la figure 8, les lots A et B présentent une variation d'activité enzymatique semblable tout au long de l'expérimentation.

Durant le 1<sup>er</sup> mois, l'activité est à  $6,0 \mu\text{molePi/mg Prot./h}$ . A partir du 20 avril, elle augmente rapidement pour atteindre 20 le jour du transfert en mer.

### III 2 Le saumon atlantique

#### III 2 1- Longueur et poids

D'après les figures 9 et 10, la longueur et le poids des saumons ont la même évolution.

La croissance, en poids et en longueur, des animaux traités à la  $T_3$  est supérieure à celle des animaux témoins ( $P < 0,05$ ).

#### III 2 2- Coefficient de condition (K)

Il est de 1,18 au début de la manipulation (voir figure 11). Pour le lot traité, il diminue jusqu'à un jour après transfert et reste ensuite constant ( $K=1,02$ ). Pour le lot témoin, le minimum est atteint 1,02 vingt-deux jours après transfert.

#### III 2 3- Pression osmotique et chlorémie

La PO et le taux plasmatique de chlorure présentent la même variation: une forte augmentation en 24<sup>H</sup> puis une stagnation vers 346 mOsm/l et 148 mEq/l (voir

Figure 13 : EVOLUTION DU TAUX DE CHLORURE DES SAUMONS ATLANTIQUES APRES TRANSFERT EN MER

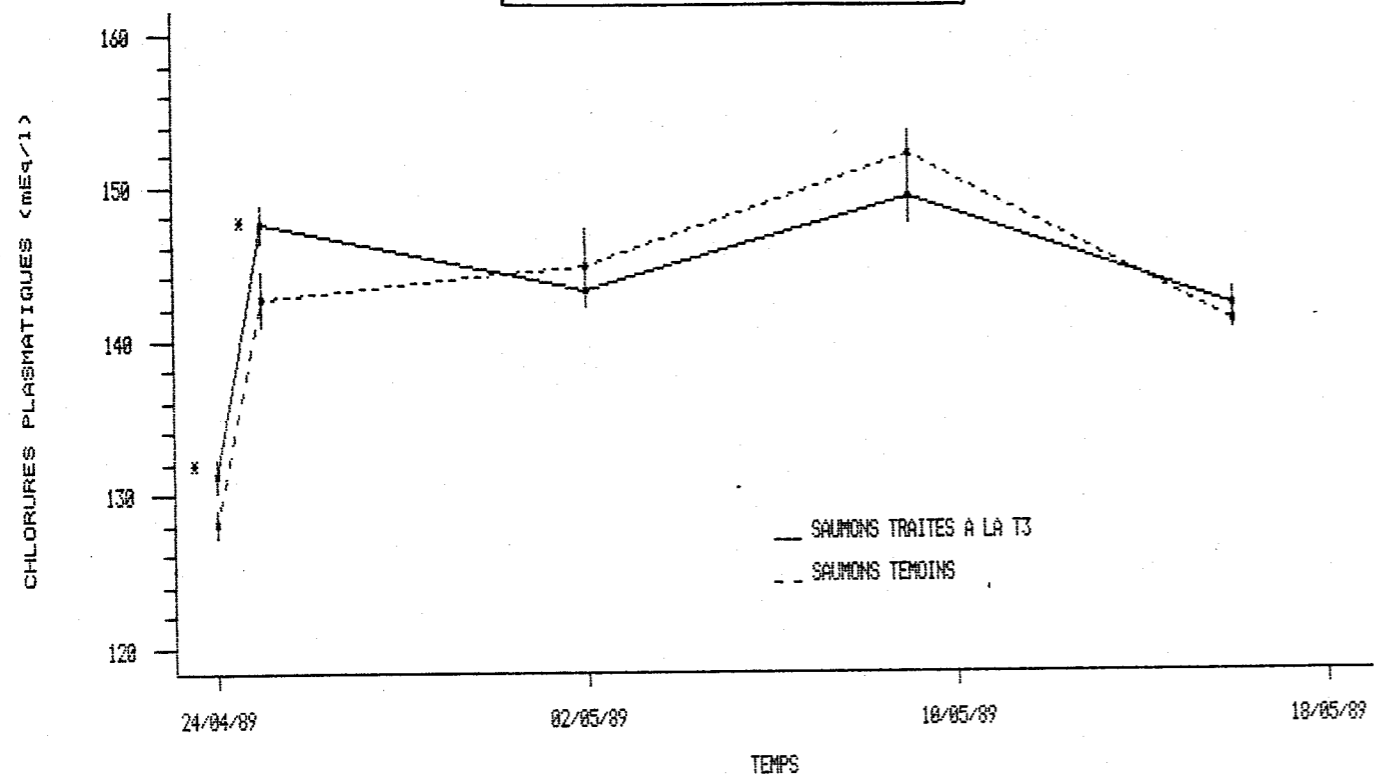


Figure 15 : EVOLUTION DU TAUX PLASMATIQUE DE T3 DES SAUMONS ATLANTIQUES AU COURS DU TEMPS

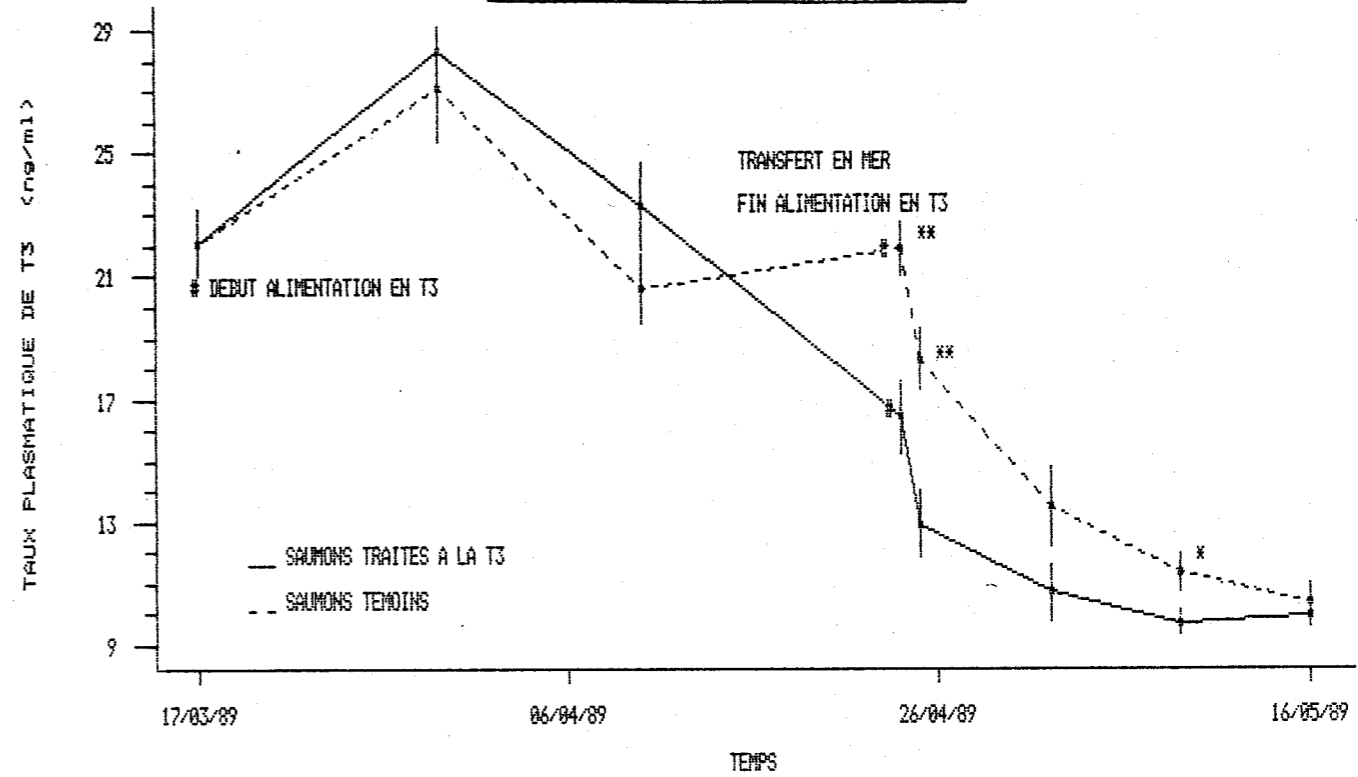


Figure 14 : EVOLUTION DE L'ACTIVITE (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique DES SAUMONS ATLANTIQUES AU COURS DU TEMPS

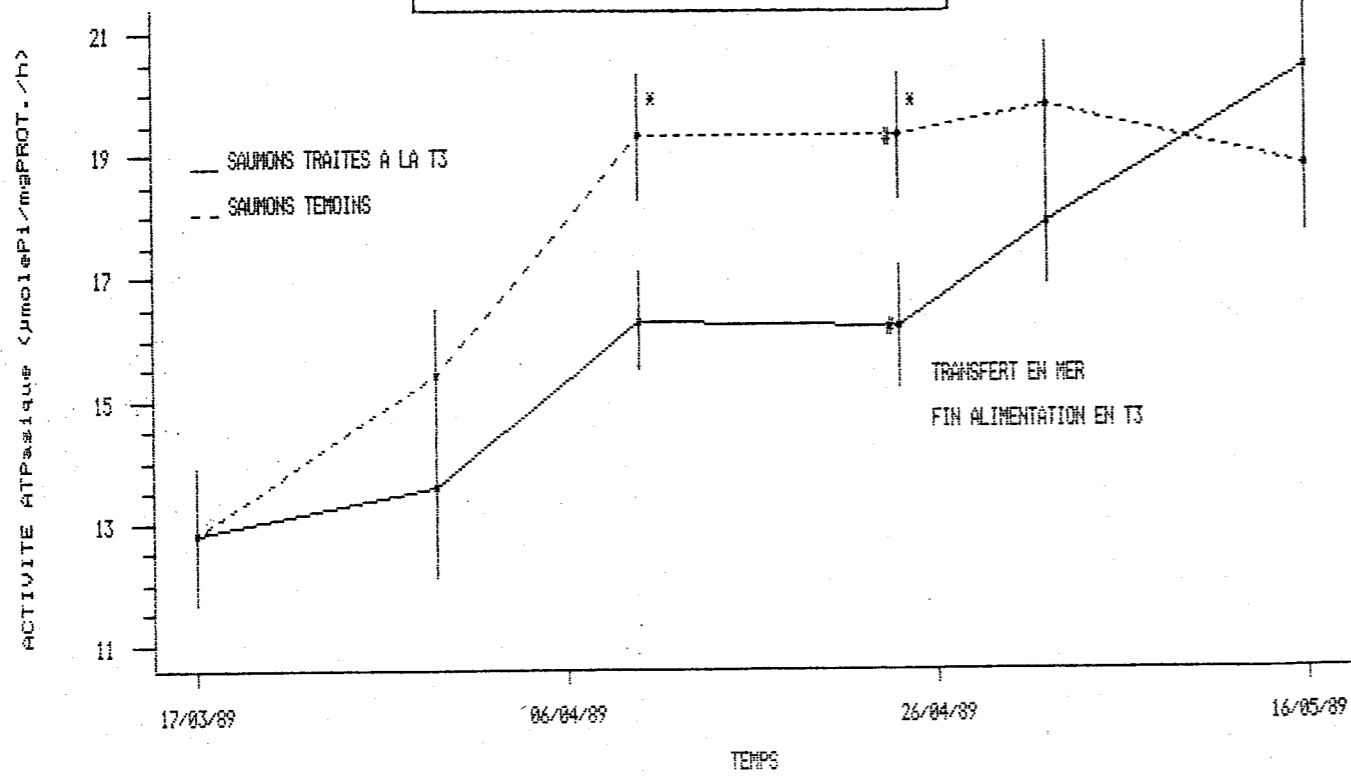
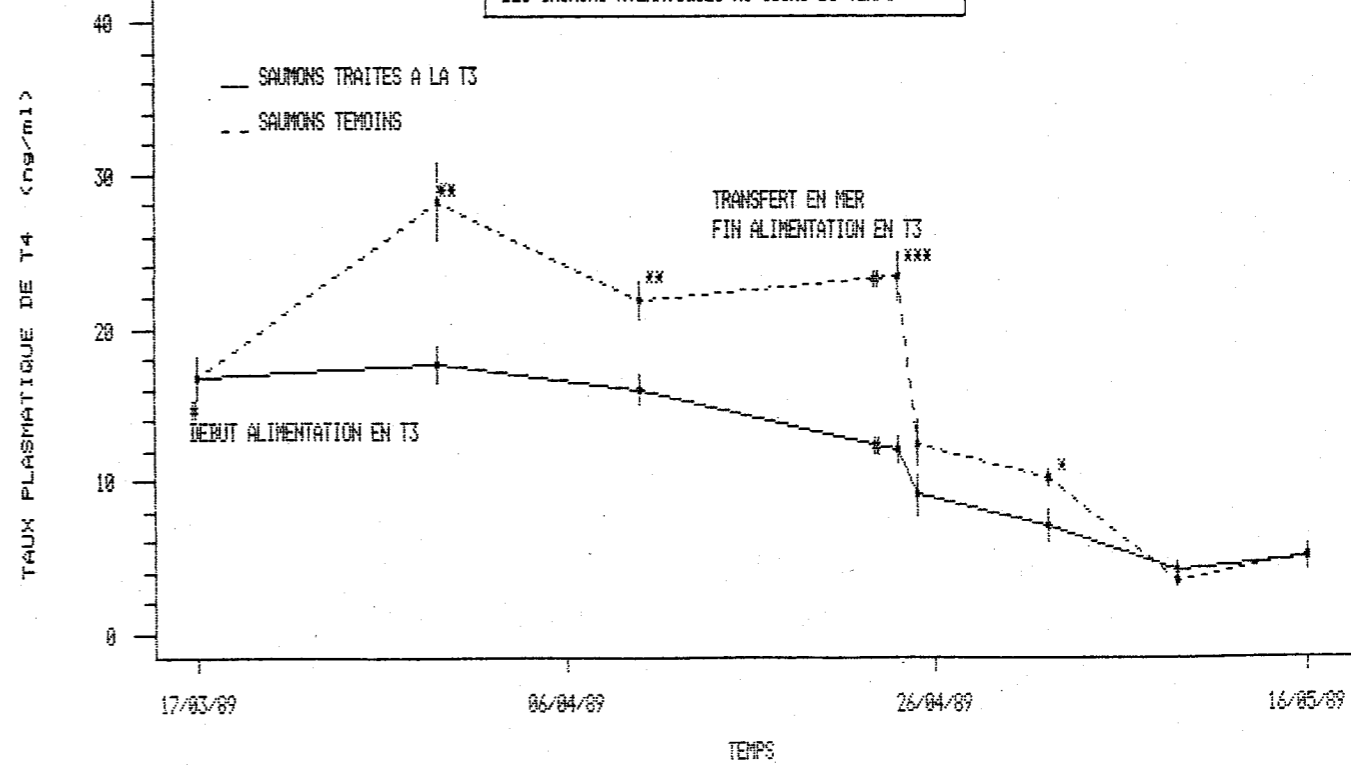


Figure 16 : EVOLUTION DU TAUX PLASMATIQUE DE T4 DES SAUMONS ATLANTIQUES AU COURS DU TEMPS



figures 12 et 13). Au bout de 22 jours après le passage en mer, les valeurs de PO et chlorémie sont "normales" pour des poissons euryhalins à 35‰, 340 de PO et 142 de chlorémie.

#### III 2 4- Activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique branchiale

L'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique est de 12,8  $\mu$ molePi/mg Prot./h au début de la manipulation (voir figure 14). Elle augmente jusqu'au 10 avril pour les deux lots, mais est de 19,3 pour les témoins et de 16,3 pour les animaux traités à la T<sub>3</sub> (P<0,05). Ensuite elle n'évolue plus pour les témoins et augmente pour les autres après transfert en mer.

#### III 2 5- Hormones thyroïdiennes

(voir figures 15 et 16)

Le taux plasmatique de T<sub>3</sub> atteint son maximum le 30 mars (28,3 ng/ml) puis baisse jusqu'à 10,4 le 16 mai; cette diminution est moins rapide pour les animaux témoins.

Le taux plasmatique de T<sub>4</sub> des saumons traités décroît lentement tout au long de l'expérimentation de 16,8 à 5,0 ng/ml. Celui des saumons témoins augmente et reste élevé jusqu'au passage en mer (23,4 ng/ml), puis chute rapidement pour avoir les mêmes valeurs que celles des saumons traités en fin d'expérimentation.

Il est à noter que les taux de T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub> des deux lots diminuent brutalement quand les poissons entrent en contact avec l'eau de mer.

#### IV DISCUSSION

La smoltification intervient en France au printemps et en automne chez le saumon coho et, au printemps chez le saumon atlantique. Cette transformation du parr en smolt se caractérise par:

- une "argentine" de la robe due à une accumulation de purines (MARKERT et VANSTONE, 1966);
- un allongement du corps;
- une augmentation de l'aptitude à l'osmorégulation par la mise en activité, entre autres, d'une imperméabilisation des membranes et d'un système enzymatique branchial ATPasique  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  dépendant (ZAUGG et Mc LAIN, 1972; HOAR, 1976);
- une acquisition d'un instinct grégaire (formation de petits bancs ou "schools") et ralentissement de la nage ...

Le système ATPasique  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  dépendant permet le transport actif d'ions sodium et potassium à travers les membranes biologiques (SKOU, 1960). Sur la branchie des poissons, il est situé dans la membrane plasmique basolatérale des ionocytes (PAYAN et BORNANCIN, 1980), cellules qui jouent un rôle fondamental dans la régulation hydrominérale (KEYS et WILLMER, 1932).

En eau douce, la branchie absorbe sélectivement des ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) contre le gradient électrochimique et, en eau de mer excrète ces ions (EPSTEIN *et al.*, 1975). Ainsi, le nombre de ionocytes et l'activité ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ )ATPasique augmentent lors de la smoltification et après un transfert en eau de mer (ZAUGG et Mc LAIN, 1971, 1976).

Le niveau d'activité ATPasique branchiale peut être utilisé en tant qu'indicateur de l'état de smoltification pour le saumon coho (LASSERRE *et al.*, 1978) comme pour le saumon atlantique (SAUNDERS et HENDERSON, 1978). Nous avons donc



utilisé ses valeurs dans l'étude que nous proposons ici. Son dosage a été effectué par la méthode de BOEUF (1979).

#### IV 1 Limite de validité de la méthode de dosage de l'activité

##### ATPasique

La méthode de BOEUF, grâce à la libération des sites de fixation de l'enzyme par fragmentation des membranes lors de la congélation rapide dans l'azote liquide et lors de l'ultracentrifugation, permet l'obtention de résultats dans une grande "plage": de 0 à 40  $\mu\text{molePi/mg Prot./h}$ . On a ainsi une grande précision dans l'évolution de l'activité enzymatique.

Cette activité pourrait probablement être augmentée par adjonction d'un détergent, en synergie avec l'action de l'azote ou non. Il est à noter que certains lieux de prélèvements étant éloignés du laboratoire, l'utilisation de l'azote liquide est indispensable quant à la conservation des échantillons durant le temps de prélèvement et le transport.

Les travaux de BOEUF en 1979 ont montré qu'une préincubation des fractions membranaires dans une solution détergente, déoxycholate de sodium (DOC) à 0,1%, augmentent l'activité  $(\text{Na}^+-\text{K}^+)\text{ATPasique}$ . Les détergents comme la congélation brusque provoqueraient une fragmentation générale des membranes. Le phénomène d'activation des  $(\text{Na}^+-\text{K}^+)\text{ATPasés}$  serait le résultat d'un démasquage des sites actifs en place sur les faces internes des microsomes et non la conséquence d'une modification structurale des sites ou d'une solubilisation de l'enzyme (BOEUF, 1979).

Mais, on ne connaît pas le rôle exact des détergents sur les membranes et, si la concentration de DOC est trop forte dans le milieu (0,5%) l'activité est fortement inhibée (BOEUF, 1979). De plus, après utilisation de détergent, les valeurs des résultats étant modifiées, toute comparaison avec des valeurs antérieures serait impossible. Ainsi la méthode de BOEUF ne comprend pas une phase

d'adjonction de détergent.

La précision de la mesure de cette méthode constitue le grand avantage de son emploi par rapport aux méthodes plus simplifiées de EWING et JOHNSON (1976) et de ZAUGG (1981). Mais, deux facteurs limitent la vitesse de dosage des échantillons :

- la préparation des extraits enzymatiques est longue (une demi-journée) et, du fait de l'utilisation d'un rotor d'ultracentrifugeuse, douze échantillons peuvent être dosés à la fois ;
- l'effet de la surgélation n'est sensible qu'après au moins un jour dans l'azote liquide.

Afin de doser les protéines et les phosphates inorganiques (Pi) sur un grand nombre d'échantillons, au lieu de 12 à chaque fois, des essais de congélation de l'extrait enzymatique ont été réalisés. Il s'est avéré que la 2<sup>ème</sup> congélation dénaturait les structures tertiaires et quaternaires des protéines. L'activité enzymatique est donc inhibée, tandis que le dosage des protéines basé sur la détermination d'un nombre d'acide aminé contenu dans la chaîne protéique est encore valable.

Nous avons donc pratiqué de la manière suivante: préparation de 12 échantillons et dosage des Pi dans la journée; dosage des protéines de plusieurs lots d'échantillons en une demi-journée après congélation à  $-28^{\circ}\text{C}$  pendant un à quelques jours.

La méthode de BOEUF offre une rapidité suffisante pour les dosages de laboratoire et du fait de sa précision est employée préférentiellement aux autres méthodes. Elle donne une excellente corrélation entre le niveau d'activité  $(\text{Na}^+-\text{K}^+)\text{ATPase}$ , la capacité de l'animal à contrôler sa balance hydrominérale après transfert en mer et ses performances ultérieures (BOEUF *et al.*, 1978).

## IV 2 Utilisation du dosage dans nos expérimentations

### IV 2 1- Expérimentation sur le saumon coho

D'après les travaux de SAUNDERS et HENDERSON (1970) sur *Salmo salar* et de HOAR (1976), la photopériode serait le facteur principal déclenchant les processus de la smoltification et de la migration de dévalaison, en stimulant l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cependant WAGNER (1974) expérimentant sur la truite steelhead (*Salmo gairdneri*) a montré qu'en totale obscurité depuis l'état d'oeuf certains poissons peuvent montrer une envie de migrer mais au-delà de la période normale. CLARKE *et al.* (1981) ont trouvé qu'une photopériode à durée d'éclairement variable facilite l'adaptation à l'eau de mer de saumon coho 0<sup>+</sup> (saumon smolt dans leur première année de vie) en comparaison avec une photopériode constante de 12<sup>H</sup> de lumière.

Notre expérimentation a pour objet de voir si des parrs issus d'oeufs provenant du Chili peuvent smoltifier en Bretagne et si un cycle photopériodique décroissant puis croissant (cycle naturel en Bretagne au printemps et en été) n'inhibe pas la smoltification par rapport à un cycle photopériodique croissant tout au long de l'expérimentation.

Globalement, tous les résultats obtenus sur le saumon coho sont identiques pour les deux lots. En ce qui concerne les différences de poids et de longueur significatives entre le lot A\* et le lot B\*, des 2 et 17 mai, nous pouvons dire qu'elles sont dues à des réponses de stress causées par des manipulations répétées sur les poissons du lot A (changements de bacs pour le 2 mai et bassin sans eau pendant quelques minutes pour le 17 mai). D'après BOEUF (1976), les saumons 0<sup>+</sup> pendant leur smoltification sont très sensibles aux moindres manipulations, ce qui peut entraîner une diminution de l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique. Pourtant la figure 8 ne montre aucune baisse d'activité pour le lot A durant le mois de

\* (lot A: photopériode naturelle de la région,

lot B: photopériode toujours croissante)

mai.

Conformément aux résultats de BOEUF en 1979 sur les saumons coho 0<sup>+</sup>, le pic d'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique a lieu fin mai.

La hausse d'activité débute le 20 avril au même moment que l'augmentation de croissance : du 6 avril au 20 avril le pourcentage de croissance en poids par jour est de 0,7%, du 20 avril au 10 mai il est de 2,0% . WEDEMYER *et al.* (1981) ont montré une augmentation de croissance, du métabolisme, et de la consommation d'oxygène au cours de la smoltification. Une activation du métabolisme peut être provoquée par une élévation de température. Mais dans notre cas, cette dernière n'a pas varié dans un sens précis (voir figure 2).

D'après MAXIME *et al.* (1989), la hausse de l'activité métabolique observée durant la période de la smoltification apparaît en partie indépendante de la température et par conséquent pourrait être corrélée avec des variations endocrines. Cette hypothèse cadrerait mieux avec nos résultats. L'augmentation de croissance et de l'activité enzymatique a lieu un mois avant le maximum de cette dernière; période qui correspondrait à la montée du taux plasmatique de thyroxine, dont un des rôles est la stimulation du métabolisme.

En accord avec les travaux de BOEUF (1979), le coefficient de condition (K) diminue alors que l'activité (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPasique augmente; montrant ainsi un allongement des smolts par rapport aux parrs. Ce phénomène provient en partie de l'intense utilisation des réserves lipidiques et protidiques (BOEUF, 1979).

Dans notre expérimentation: - Les saumons coho ont été passés en mer avec une activité ATPasique de 19,5. Le niveau limite compatible avec une bonne adaptation à l'eau salée (>30‰) semblerait être d'environ 11-12 (BOEUF, 1982);

- Les poissons ne présentent pas une augmentation d'activité au contact de l'eau de mer comme l'ont discuté LANGHORNE et SIMPSON (1986).

- Les témoins restés à 15‰ ont une activité qui diminue par rapport à celle des poissons transférés à 35‰. Cette baisse d'activité pourrait être la même que celle observée par ZAUGG et Mc LAIN (1970, 1972) chez le saumon coho n'ayant pas migré en mer et donc regressant en parr.

Tous ces points nous donnent à penser que le maximum d'activité a été atteint vers le 17 mai, jour du transfert et que ce dernier a eu lieu alors que les saumons étaient smolts.

Les résultats de pression osmotique (PO) et du taux de chlorures le confirment. En effet, le pic de PO à 48<sup>H</sup> ne dépasse pas 360 mOsm/l, indication d'une bonne régulation osmotique après transfert et, les valeurs de PO et chlorémie diminuent après 48<sup>H</sup>. Sept jours après transfert, la différence de PO entre les plasmas de saumon en eau douce et ceux en eau de mer est inférieure à 6%, celle des chlorures à 12%. La différence minimale permettant de dire que la PO et la chlorémie en eau de mer ne sont pas encore bien régulées est de 10 % (BOEUF, 1979).

Nos résultats sur les saumons coho montrent qu'une photopériode croissante sur 3-4 mois n'a aucun effet défavorable sur la smoltification par rapport à une photopériode croissante sur toute la vie.

#### IV 2 2- Expérimentation sur le saumon *salar*

L'influence des hormones thyroïdiennes (HT) a été étudiée dans de nombreux travaux. EALES, en 1979, a montré que les HT seraient à l'origine de l'aspect argenté qui caractérise le smolt. SAUNDERS *et al.* (1985) obtiennent des résultats mettant en évidence qu'un aliment additionné de T<sub>3</sub> ne pouvait pas induire la smoltification chez le saumon atlantique. REFSTIE, en 1982 a pu modifier les capacités d'osmorégulation de jeunes saumons grâce à un traitement à la T<sub>3</sub>.

Notre expérimentation sur le saumon atlantique avait pour but de préciser

le rôle des HT sur l'adaptabilité de cette espèce à l'eau de mer. Les résultats montrent que l'alimentation en  $T_3$  intervient sur le taux d'HT, l'activité  $(Na^+-K^+)ATP$ asique et sur la longueur.

En effet, les animaux témoins se distinguent des poissons traités par un niveau de  $T_4$  élevé avant transfert et, un taux de  $T_3$  supérieur durant quelques jours avant le passage en mer ( $P < 0,01$ ).

Il est à noter que le taux de  $T_3$  des animaux traités n'est pas supérieur, comme on aurait pu le prévoir, à celui des témoins et que, en comparaison avec les résultats de BOEUF (1985), le niveau de  $T_3$  chez les témoins est très élevé. Le niveau faible de  $T_4$  chez les animaux traités s'expliquerait par un rétrocontrôle négatif de la part du haut niveau de  $T_3$  sur la glande thyroïde.

Ces différences de taux d'HT chez les animaux traités ont comme action, d'après nos résultats, une inhibition de l'activation de la  $(Na^+-K^+)ATP$ ase. L'activité enzymatique des saumons traités est significativement inférieure à celle des témoins ( $P < 0,05$ ), elle augmente après le transfert direct en mer. Les saumons traités supportent bien, quand même, la différence de salinité car l'évolution de la PO et de la chlorémie ne montrent pas de maximum plus élevés que ceux des témoins. De plus, les valeurs maximales de PO sont inférieures à 360 mOsm/l et, au bout de 22 jours après passage en mer elles présentent une augmentation de 7,5% par rapport aux valeurs d'eau douce. Une activité enzymatique de 16 serait donc assez élevée pour permettre une bonne adaptation.

Dans certains cas, FOLMAR et DICKHOFF (1981) ont montré qu'une éventuelle stimulation de l'activité  $(Na^+-K^+)ATP$ asique pouvait se produire sous l'influence de la  $T_4$ . LELOUP *et al.* (1986) ont suggéré que la  $T_3$  au travers de l'augmentation du nombre de récepteurs dans la branchie pourrait stimuler l'activité enzymatique.

Nos résultats iraient plutôt dans le sens de ceux de SAUNDERS *et al.* (1985) qui ont montré qu'une alimentation en  $T_3$  ne préadapte pas les salmonidés d'eau

douce à la vie en eau de mer en augmentant l'activité ATPasique.

L'évolution de la longueur semble aussi influencée par l'alimentation en T<sub>3</sub>. Les animaux traités présentent une longueur significativement supérieure (P<0,05) à celle des témoins. Ce fait est retrouvé dans les travaux de BOEUF (1982) où chez *Salmo salar* la T<sub>3</sub> à différentes doses dans l'aliment améliore, entre autres, la croissance; et dans ceux de HIGGS *et al.* (1982) et SAUNDERS *et al.* (1985). Cet effet sur la croissance peut s'expliquer par le fait que les HT, par l'intermédiaire d'une action sur le système nerveux, améliore l'appétit, le taux de transformation alimentaire, l'absorption des protéines et l'utilisation des nutriments (BOEUF, 1987).

## CONCLUSION

Le dosage de l'activité  $(\text{Na}^+-\text{K}^+)\text{ATP}$ asique est un critère biochimique utilisé pour caractériser l'état de smoltification du saumon. Le but de ce dosage peut être de déterminer le moment idéal pour le passage des saumons pendant leur période d'euryhalinité ou donner un point de repère lors d'étude d'autres paramètres influant sur la smoltification. Il est particulièrement intéressant en France à cause des hautes salinités du littoral comparativement aux autres pays producteurs.

La méthode de BOEUF ne permet pas un dosage assez rapide d'un grand nombre d'échantillons. Un aquaculteur voulant connaître l'état d'avancement de ces saumons à un moment précis en vue d'un transfert en mer dans les prochains jours devra utiliser une méthode de dosage plus simplifiée.

Nous pouvons retenir de cette étude que:

- des saumons coho nés dans l'hémisphère sud (Chili) peuvent smoltifier dans l'hémisphère nord sous la photopériode naturelle de la région;
- l'activité  $(\text{Na}^+-\text{K}^+)\text{ATP}$ asique des saumons coho ne semble pas modifiée (inhibée ou stimulée) par une photopériode croissante puis décroissante en eau douce;
- les hormones thyroïdiennes stimuleraient la croissance du saumon atlantique;
- dans l'expérimentation réalisée, elles sembleraient inhiber l'activité  $\text{ATP}$ asique sans pour cela diminuer la capacité d'adaptation à l'eau salée (>30 ‰) des saumons atlantiques.

L'apport de  $\text{T}_3$  en dehors de la période de smoltification aurait peut-être un effet plus marqué.



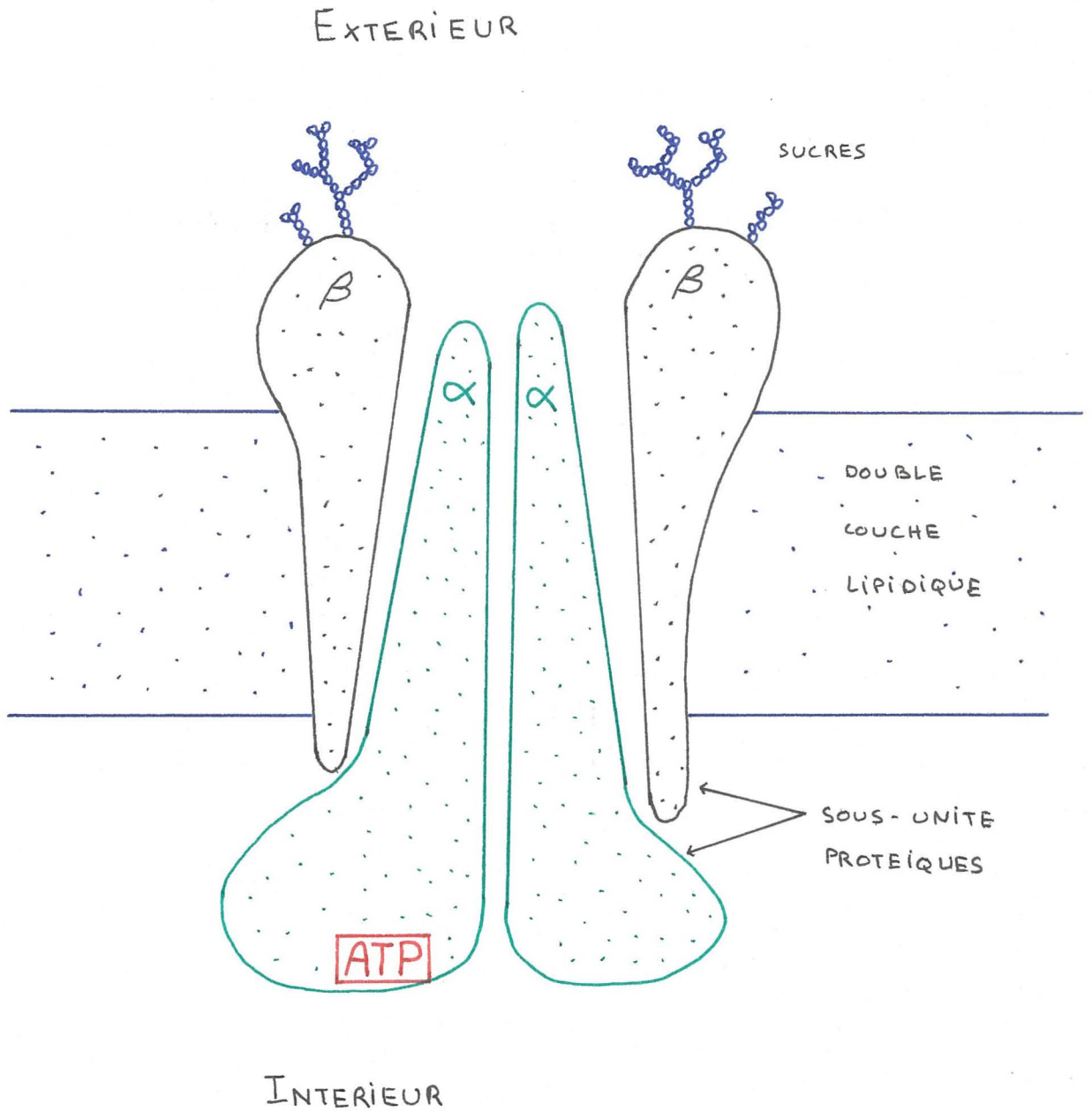
La smoltification est un phénomène complexe qui fait intervenir plusieurs paramètres. Son étude, par le suivi d'un seul ne permet pas l'obtention de résultats très précis ou complets. En effet, les HT interviennent en synergie avec d'autres hormones : hormone de croissance (GH), cortisol, prolactine ... Il existe une relation étroite entre GH et HT chez les poissons.

## BIBLIOGRAPHIE

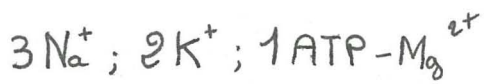
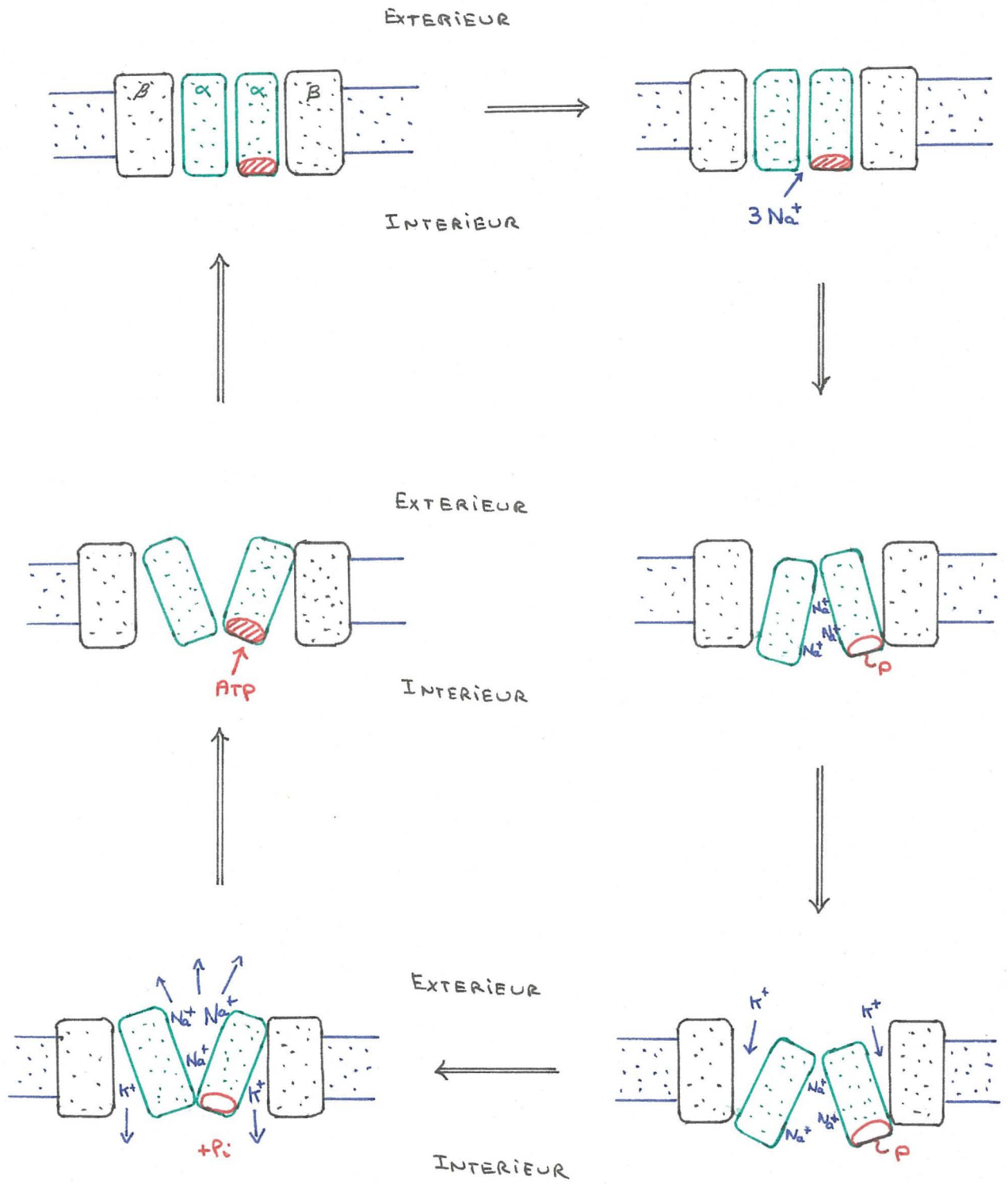
- BOEUF, G.; LASSERRE, P.; HARACHE, Y. . 1978 . Osmotic adaptation of *Oncorhynchus kisutch* Walbaum. II Plasma osmotic and ionic variations, and gill  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ATPase activity of yearling coho salmon transferred to sea water . *Aquaculture*, 15 . pp 35 - 52 .
- BOEUF, G. . 1979 . Contribution à l'étude de la smoltification et de l'adaptation à l'eau de mer chez le saumon coho, *Oncorhynchus kisutch* W. au cours de son développement . Thèse de doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle . Université de Bordeaux I . 144 p .
- BOEUF, G.; LEROUX, A.; HARACHE, Y. . 1982 . Indicateurs biochimiques de la préparation à la migration chez les salmonidés : application aux transferts d'eau douce en eau de mer chez les animaux d'aquaculture . *Publi. CNEXO (Actes Colloq.)*, 14 . pp 327 - 334 .
- BOEUF, G.; PRUNET, P. . 1985 . Measurements of gill ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ )ATPase activity and plasma thyroid hormones during smoltification in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) . *Aquaculture*, 45 . pp 111 - 119 .
- BOEUF, G. . 1987 . Bases physiologiques de la salmoniculture : Osmorégulation et adaptation à l'eau de mer . *Pisciculture Française*, 87 . pp 28 - 40 .
- BOEUF, G. . 1987 . Bases physiologiques de la salmoniculture : Le phénomène de la smoltification . *Pisciculture Française*, 88 . pp 5 - 21 .
- BOEUF, G. . 1987 . Contribution à l'étude de l'adaptation à l'eau de mer chez les poissons salmonidés - Détermination des critères de smoltification par mesure de l'activité ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ )ATPasique des microsomes de la branchie et des hormones thyroïdiennes plasmatiques . Thèse de Doctorat d'Etat . Université de Bretagne occidentale, Brest . 380 p .
- CLARKE, W.C.; SHELBURN, J.E.; BRETT, J.R. . 1981 . Effect of artificial photoperiod cycles, temperature, and salinity on growth and smolting in underyearling coho (*O. kisutch*), chinook (*O. tshawytscha*), and sockeye (*O. nerwa*) salmon . *Aquaculture*, 22 . pp 105 - 116 .
- GELLER, S. . 1983 . *Statistique* . Masson . 4<sup>ème</sup> édition . Paris . pp 1 - 190 .
- GILES, M.A.; VANSTONE, W.E. . 1976 . Changes in ouabain - sensitive adenosine triphosphatase activity in gills of coho salmon (*O. kisutch*) during parr-smolt transformation . *J. Fish. Res. Board Can.*, 33 . pp 54 - 62 .
- HARACHE, Y.; BOEUF, G.; LASSERRE, P. . 1980 . Osmotic adaptation of *Oncorhynchus kisutch* W. III Survival and growth of juvenile coho salmon transferred to sea water . *Aquaculture*, 19 . pp 253 - 273 .
- LASSERRE, P.; BOEUF, G.; HARACHE, Y. . 1978 . Osmotic adaptation of *O. kisutch* W. I Seasonal variations of gill  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ ATPase activity in coho salmon, 0<sup>+</sup>-age and yearling, reared in fresh water . *Aquaculture*, 14 . pp 365 - 382 .

- MAZO, I. . 1982 . Contribution à l'étude du dosage de l'ATPase sodium et potassium dépendante dans la branchie des salmonidés . Université de Bretagne Occidentale . stage de D.E.A. d'océanographie biologique . 25 p .
- MAXIME, V. *et al.* . 1989 . Comparative study of energetic metabolism between parr and smolt in the atlantic salmon (*Salmo salar*) . Aquaculture, 82 . sous presse.
- PISAM, M. *et al.* . 1988 . Ultrastructural features of chloride cells in the gill epithelium of the atlantic salmon, *Salmo salar*, and their modifications during smoltification . The american Journal of Anatomy, 183 . pp 235 - 244 .
- PRIMMETT, D.R.N. *et al.* . 1988 . Transepithelial ion exchange in smolting atlantic salmon (*Salmon salar* L.) . Fish Physiology and Biochemistry, 5 . pp 181 - 186.
- PRUNET, P. *et al.* . 1989 . Smoltification and seawater adaptation in atlantic salmon (*Salmo salar*) : plasma prolactin, growth hormone, and thyroid hormone . General and comparative endocrinology, 74 . pp 355 - 364 .
- SAUNDERS *et al.* . 1985 . The effect of orally administered 3,5,3'-triiodo-L-thyronine on growth and salinity tolerance of atlantic salmon (*Salmo salar*) . Aquaculture, 45 . pp 143 - 156 .

ANNEXE 1 : STRUCTURE DE LA (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase

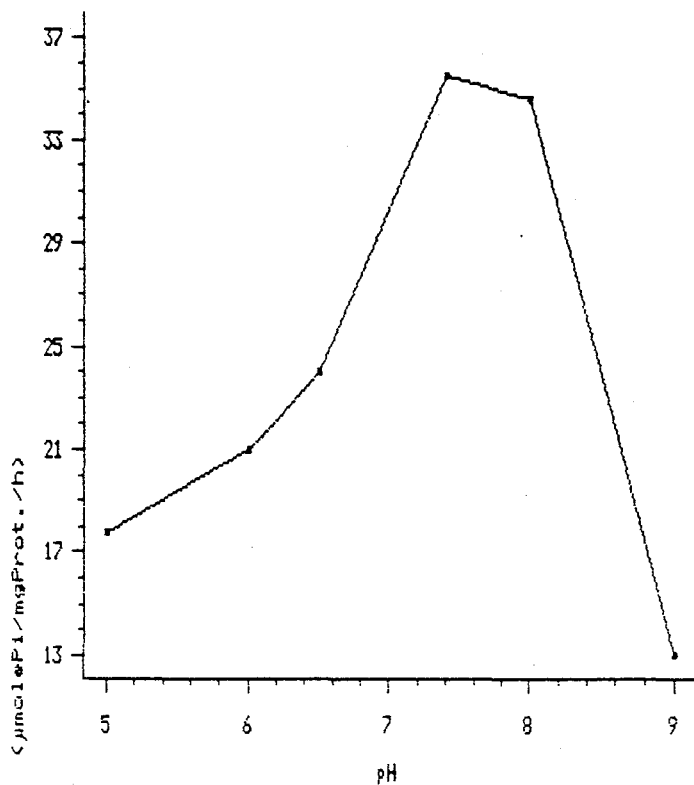


ANNEXE 2 : FONCTIONNEMENT DE LA  $(Na^+-K^+)ATPase$

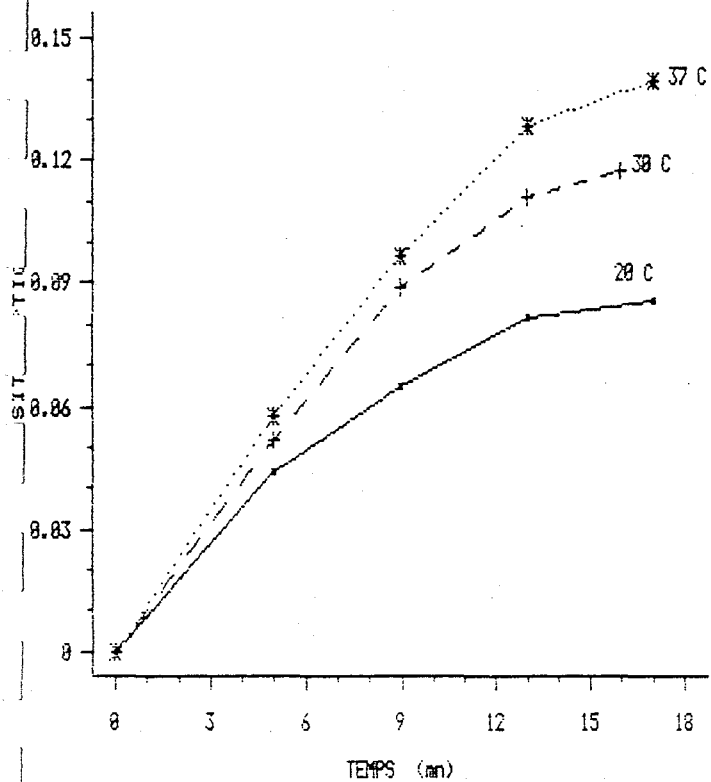


**ANNEXE 3 : DIFFERENTES CINETIQUES  
DE LA (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase**

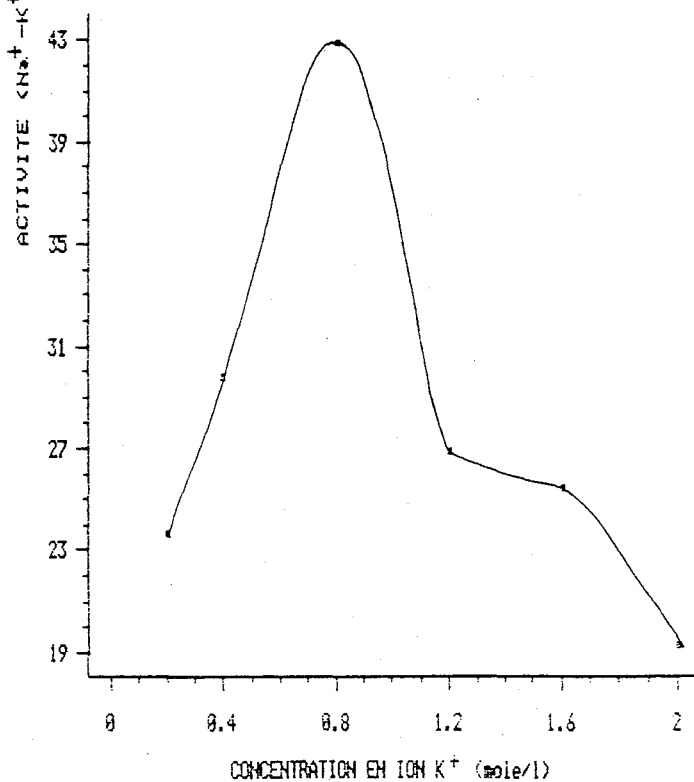
CINETIQUE DE pH DE LA (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase



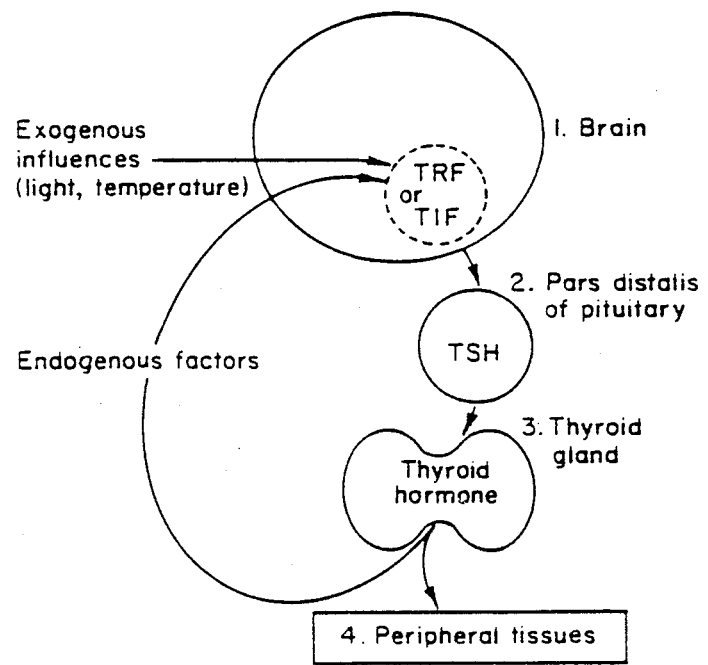
CINETIQUE DE TEMPS ET DE TEMPERATURE DE  
LA (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase



CINETIQUE DE CONCENTRATION EN ION K<sup>+</sup> DE  
LA (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase



ANNEXE 4 : SCHEMA GENERAL DU FONCTIONNEMENT DE LA THYROIDE  
CHEZ LES VERTEBRES



GORBMAN (1969)

**ANNEXE 5 : COMPOSITION ET ANALYSE DE LA FORMULE SS1 (1986) DESTINEE A**

**DES JUVENILES DE SAUMONS ET FABRIQUEE PAR PROCEDE D'EXTRUSION**

			Protéines	Lipides
Farine de poisson (Norseamink)	56,1	Granulé-base		
Farine de sang	2,0			
Tourteau de soja	6,4			
Levure de bière	4,0			
Lait écrémé	2,9			
Gluten de blé	3,0			
Remoulage bis	3,1			
Farine d'algue F660	1,3			
Farine de luzerne	1,8			
Méthionine	0,1			
Complément minéral	2,0			
Liagel	4,0			
NaCl	0,4			
	87,1		51,5	5,8
Huile de foie de morue	8,9	Enrichissement complémentaire		
Lécithine	2,0			
Complément vitaminique	2,0			
	12,9		1,1	10,9
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>		<b>52,6</b>	<b>16,7</b>

GIGNON (1986)

**ANNEXE 6 : PREPARATION DE L'ALIMENT ENRICHIS EN T<sub>3</sub>**

*disoudre la T<sub>3</sub> comme suit :*

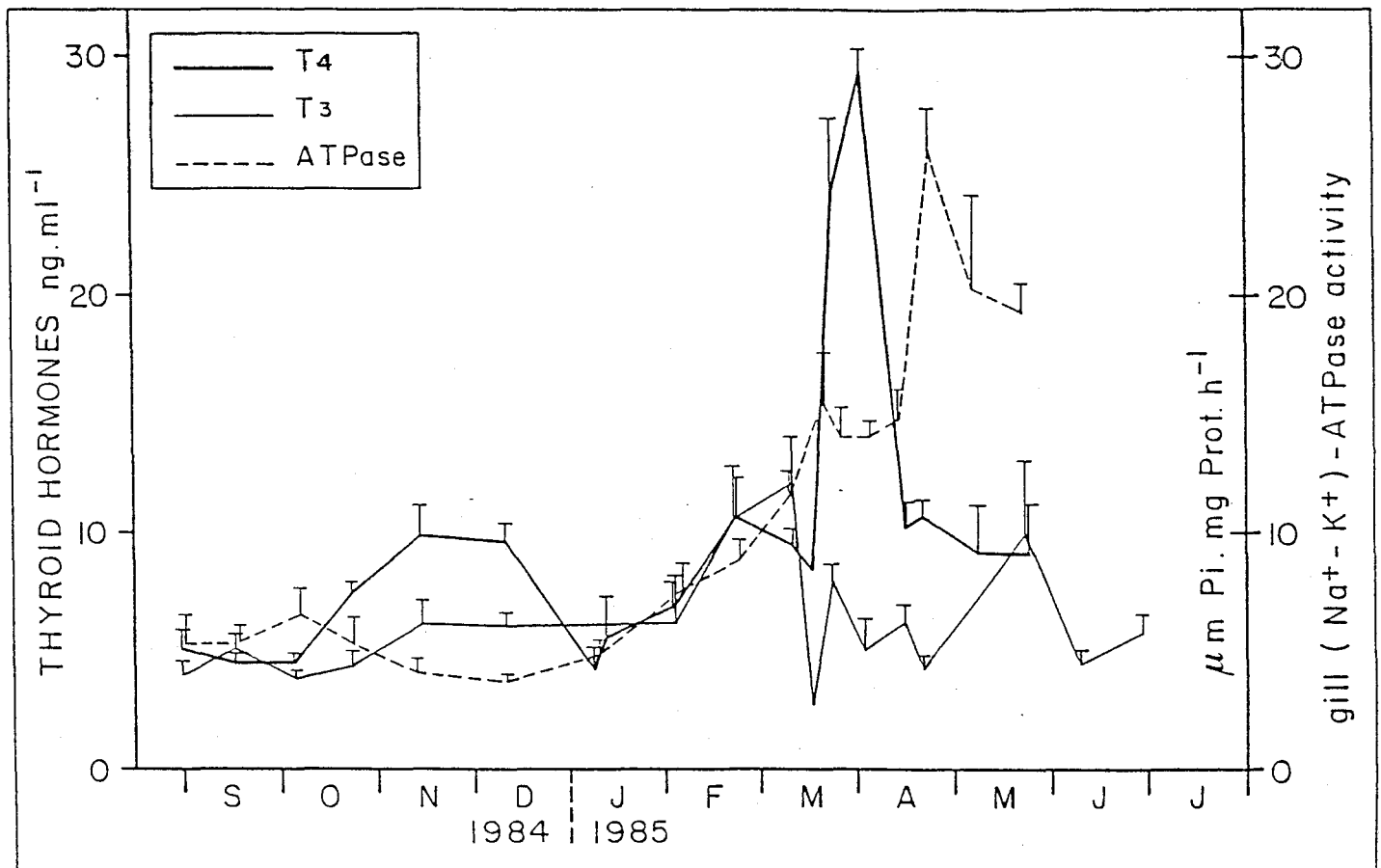
- 25 mg de T<sub>3</sub> )
- 33 ml d'éthanol à 25 % ) pour 1 Kg d'aliment
- 12 ml de soude 0,1 N )

*ajouter la solution à l'aliment, mélanger*

OMELJANIUK et EALES (1986)



**ANNEXE 7 : EVOLUTION SUR UNE ANNEE DE L'ACTIVITE ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ )ATPasique DE LA BRANCHIE ET DU TAUX PLASMATIQUE D'HORMONES THYROIDIENNES CHEZ LE SAUMON ATLANTIQUE**



BOEUF (1985)