

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ A

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC A CHICOUTIMI

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE EN PRODUCTIVITÉ AQUATIQUE

PAR BERNARD ANGERS

B.Sc. EN BIOLOGIE

EFFETS DES DIETES SALÉES

SUR L'ÉQUILIBRE HYDROMINÉRAL

ET L'ACCLIMATATION A L'EAU SALÉE

DE L'OMBLE DE FONTAINE (Salvelinus fontinalis)

JANVIER 1992



Mise en garde/Advice

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

The author retains ownership of the copyright of this dissertation or thesis. Neither the dissertation or thesis, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

RÉSUMÉ

Nous avons évalué comme méthode de préacclimatation à l'eau salée, l'addition de chlorure de sodium à la nourriture de l'omble de fontaine (Salvelinus fontinalis). Suite à des traitements de 2 et 3 semaines par des diètes salées distribuées à des poissons maintenus en eau douce, nous avons évalué les modifications hydrominérales et physiologiques relatives à l'acclimatation à l'eau salée.

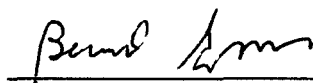
Les traitements ne provoquent aucune variation concernant l'appétit, l'indice hépato-somatique et le facteur de condition, de même que pour le pourcentage d'eau des muscles latéraux. On a observé une augmentation de l'osmolarité plasmatique de même qu'un oedème cellulaire au niveau des branchies. La diète salée produit également une augmentation de l'activité enzymatique de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies ainsi qu'une diminution de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ rénale. Les valeurs ne différaient toutefois pas entre 2 et 3 semaines de traitement.

Suite à un transfert en eau salée à 32 parties par mille, on enregistra des taux de survie supérieurs pour les groupes alimentés avec la diète salée, indiquant que les traitements permettent d'augmenter la régulation d'hypoosmorégulation.

Dans une seconde expérience, nous avons comparé la cinétique de certains paramètres physiologiques, suite à 3 méthodes de transfert en eau salée à 28 parties par mille. Soit par transfert direct, par transfert direct avec traitement préalable à la diète salée et finalement, par un transfert par paliers de salinités intermédiaires.

Les résultats démontrent que la diète salée permet de réduire le déséquilibre hydrominéral suite à un transfert en eau salée. Cependant, pour une même durée de traitement, la diète salée permettrait une réponse d'acclimatation moindre que le groupe acclimaté par paliers de salinités.

La diète salée sur de courtes périodes de traitement induit donc une acclimatation à l'eau salée et réduit les pourcentages de mortalité suite au transfert, sans affecter la croissance. Bien que ce procédé soit plus facilement réalisable en pisciculture, il demeure toutefois moins efficace que l'acclimatation par plateaux de salinités.



Bernard Angers

Étudiant

Denis H. Larivée

Directeur

REMERCIEMENTS

Je remercie tout particulièrement mon directeur de maîtrise, M. Denis Larrivée, pour l'intérêt porté à ce projet et pour la pertinence de ses interventions. Je remercie également toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier mes parents, Céline Pineault et Louis-Philippe Angers; ainsi qu'une amie très chère, Brigitte Jourdain; Annie Angers, biologiste, pour sa participation active lors de la seconde expérience et la correction du manuscrit et Jean-François Angers pour son aide concernant les statistiques.

Je tiens à remercier Linda Bouchard, pour sa collaboration en laboratoire. De même que Yvon Maranda, responsable de la logistique des projets de maîtrise en productivité aquatique et Ghislain Laflamme responsable des laboratoires de biologie.

Finalement, pour leur aide financière qui a permis la réalisation de ma maîtrise, je remercie les responsables du Fonds des chercheurs et d'aide à la recherche (F.C.A.R.), du programme P.A.I.R. de l'U.Q.A.C., ainsi que ceux de la Fondation Asselin de Jonquière.

TABLE DES MATIERES

RÉSUMÉ_____	ii
REMERCIEMENTS_____	iv
TABLE DES MATIERES_____	v
LISTE DES FIGURES_____	vii
LISTE DES TABLEAUX_____	ix
 CHAPITRE 1 INTRODUCTION_____	 1
Problématique_____	2
Objectifs_____	4
 CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE_____	 7
Mécanismes de la régulation hydrominérale_____	8
Potentiel d'hypoosmorégulation_____	11
Effets des diètes salées_____	13
 CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIENCE 1_____	 16
Conditions d'élevage et traitements_____	17
Préparation de la nourriture_____	20
Transferts en eau salée_____	21
Préparation des tissus_____	22
Détermination de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ _____	24
Tests statistiques_____	25
 CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION EXPÉRIENCE 1_____	 26
Alimentation et croissance_____	27
Osmolarité du plasma_____	35

Pourcentage d'eau du muscle_____	41
Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies_____	46
Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des reins_____	51
Survie en eau salée_____	54
 CHAPITRE 5 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIENCE 2_____	 61
Conditions de culture et traitements_____	62
Analyses et transferts en eau salée_____	64
Tests statistiques_____	65
 CHAPITRE 6 RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION EXPÉRIENCE 2_____	 67
Modifications suite aux traitements_____	68
Osmolarité du plasma_____	68
Pourcentage d'eau du muscle_____	71
Osmolarité du muscle_____	71
Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies_____	72
Cinétique en eau salée_____	74
Osmolarité du plasma_____	74
Pourcentage d'eau du muscle_____	81
Osmolarité du muscle_____	84
Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies_____	88
 CHAPITRE 7 CONCLUSION ET PERSPECTIVES_____	 92
 CHAPITRE 8 RÉFÉRENCES_____	 100

LISTE DES FIGURES

Expérience 1:

Figure 1: Durée et concentrations en NaCl de la diète salée_____	19
Figure 2: Ration alimentaire quotidienne_____	29
Figure 3: Variations de l'indice hépato-somatique suite aux traitements et en eau salée_____	31
Figure 4: Variations du facteur de condition suite aux traitements et en eau salée_____	32
Figure 5: Variations de l'osmolarité du plasma suite aux traitements et en eau salée_____	36
Figure 6: Variations du pourcentage d'eau du muscle suite aux traitements et en eau salée_____	42
Figure 7: Photographies microscopiques des branchies_____	45
Figure 8: Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies suite aux traitements et en eau salée _____	47
Figure 9: Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des reins suite aux traitements et en eau salée_____	52
Figure 10: Mortalité cumulative suite aux transferts en eau salée_____	56

Expérience 2:

Figure 11: Durée des traitements. Concentrations de la diète salée et salinité des paliers intermédiaires_____	63
Figure 12: Modifications de l'osmolarité du plasma et du pourcentage d'eau du muscle suite aux traitements_____	69
Figure 13: Modifications de l'osmolarité du muscle et de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ suite aux traitements_____	73
Figure 14: Cinétique de l'osmolarité du plasma suite au transfert en eau salée_____	75
Figure 15: Cinétique du pourcentage d'eau du muscle suite au transfert en eau salée_____	82
Figure 16: Cinétique de l'osmolarité du muscle suite au transfert en eau salée_____	85
Figure 17: Cinétique de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies suite au transfert en eau salée_____	89

LISTE DES TABLEAUX

Expérience 1:

Tableau 1: Ration alimentaire quotidienne moyenne_____ 30

Tableau 2: Résultats relatifs à la survie_____ 55

CHAPITRE 1
INTRODUCTION

1.1 Problématique

De plus en plus d'importance est accordée à la salmoniculture en milieu marin et côtier, soit sous forme intensive en cage (sea-farming) ou en paccage marin (sea-ranching) (Isaksson, 1988). Les élevages en mer présentent des taux de croissance plus élevés qu'en eau douce, tel qu'il a été observé dans les expériences de Sedgwick (1970), Landless (1976) et de Johnston et Cheverie (1985). Ainsi, considérant les taux de croissance et de conversion alimentaire supérieurs chez les jeunes individus et les coûts moindres des installations et de la production dans les milieux marins, il devient avantageux de transférer les poissons le plus tôt possible.

L'omble de fontaine (Salvelinus fontinalis) n'a fait l'objet que de peu d'expériences concernant l'élevage en mer. Whoriskey et al. (1981), en procédant au sea-ranching de cette espèce, remarquèrent toutefois une croissance supérieure chez les poissons allant en mer comparativement à ceux demeurant en eau douce.

Le transfert de l'eau douce à la mer constitue toutefois une étape déterminante dans le succès des élevages. Le déséquilibre hydrominéral résultant de la concentration élevée des ions Na^+ , K^+ et Cl^- en eau de mer par rapport à l'eau douce, peut provoquer des mortalités importantes.

Pour les saumons et truites anadromes, on obtient les plus hauts taux de survie en procédant au transfert en mer durant la période d'euryhalinité maximale, correspondant au phénomène naturel de la smoltification (Lassere et al., 1978; Harache et al., 1980; Boeuf et Harache, 1982; Boeuf et Harache, 1984; Boeuf et al., 1985). La smoltification qui se manifeste en eau douce, est caractérisée par une série de modifications physiologiques et morphologiques préparatoires en prévision de la migration en mer (Hoar, 1976; Folmar et Dickhoff, 1980).

Cependant, chez l'omble de fontaine, la smoltification, telle qu'observée chez les espèces pré-citées ne serait pas développée (McCormick et al., 1985). Selon Hoar (1976) les ombles auraient une anadromie et une euryhalinité moindres que les autres salmonidés.

Chez cette espèce, l'activation des mécanismes d'acclimatation à l'eau salée ne se déclencherait qu'à l'instant où le poisson se retrouve dans un milieu où la salinité augmente. En nature, leur séjour en milieu saumâtre, dans les estuaires, est donc important pour l'acclimatation progressive à l'eau salée en prévision de leur migration finale en milieu marin (McCormick et al., 1985). Ainsi, le transfert direct de l'eau douce à l'eau salée d'ombles de fontaine sans acclimatation préalable, résulte en des pourcentages importants de mortalité (Besner et Bernier, 1986; Besner et al., 1987; Besner et Pelletier, 1991).

Considérant leur faible degré d'euryhalinité, il demeure toutefois possible d'acclimater les ombles de fontaine à l'eau salée. Ainsi, soit en augmentant progressivement la salinité, répétant ainsi l'acclimatation graduelle survenant en nature (Sutterlin et al., 1976; McCormick et Naiman, 1984), soit par une pré-acclimatation en eau douce, par l'addition de sels inorganiques à la nourriture (Besner et Bernier, 1986), il est possible de réduire les taux de mortalité suite au transfert.

1.2 Objectifs

Notre hypothèse de départ stipule qu'il est possible d'induire les mécanismes de régulation hydrominérale, préparatoires au transfert en eau salée, sur l'omble de fontaine alimenté par une diète salée et maintenu en eau douce.

L'ensemble du projet se divise en 2 séries d'expériences.

L'objectif de la première série d'expériences est de déterminer s'il est possible d'induire des modifications physiologiques relatives à l'acclimatation à l'eau salée et ainsi augmenter les taux de survie. Cette partie étant réalisée avant la connaissance des résultats de Besner et Bernier (1986), elle était indispensable à l'élaboration de

notre hypothèse de départ. De plus, ces auteurs n'avaient fourni aucun résultat concernant les changements physiologiques provoqués par les traitements.

Après 14 et 21 jours d'alimentation avec une diète salée, on a déterminé les modifications physiologiques et morphologiques provoquées par le traitement, soit au niveau:

- de l'osmolarité du plasma
- du pourcentage d'eau contenu dans le muscle
- de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies
- de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ du rein

On estima également durant cette période, les répercussions de la diète salée sur l'appétit et la croissance des poissons, à partir:

- de la quantité de nourriture distribuée à la demande
- de l'indice hépato-somatique
- du facteur de condition.

Suite à chaque période de traitements, on procéda à un transfert en eau salée afin d'évaluer la survie en fonction du traitement.

Finalement, après 20 jours en eau salée, on détermina les paramètres physiologiques déjà décrits, dans le but de comparer les modifications provoquées par les traitements et

celles élaborées en eau salée, en plus d'observer les différences entre les groupes avec et sans traitement afin de comparer leur état d'acclimatation.

Dans la seconde série d'expériences, on évalua la cinétique de certains paramètres physiologiques suite au transfert en eau salée. Ce dans le but de comparer 3 méthodes de transfert en eau salée: par transfert direct, par transfert direct avec diète salée au préalable, et par paliers de salinités intermédiaires. Les paramètres évalués sont:

- l'osmolarité du plasma
- le pourcentage d'eau du muscle
- l'osmolarité du muscle
- l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies.

Ces résultats ont permis d'évaluer l'efficacité d'acclimatation à l'eau salée des 2 méthodes d'acclimatation, lorsqu'elles sont appliquées durant une même période. Ceci concernant particulièrement le contrôle du choc ionique et hydrique, et la période de rétablissement. Cette partie a également permis de vérifier la reproductibilité des résultats obtenus par la diète salée pour des poissons de taille inférieure et durant une saison différente.

CHAPITRE 2
REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Mécanismes de la régulation hydrominérale

En eau douce, la concentration électrolytique des liquides internes du poisson est supérieure à celle du milieu. Ainsi, l'eau a tendance à entrer continuellement à travers les membranes, particulièrement au niveau des branchies. Afin de maintenir l'équilibre hydrominéral, le poisson se débarrasse du surplus d'eau par la voie rénale, en produisant une grande quantité d'urine hypotonique équivalente à l'entrée d'eau (Holmes et McBean, 1963).

La perte des sels dans l'urine et par diffusion passive à travers les branchies est compensée au niveau branchial, par une entrée de Na^+ par échange ionique contre NH_4^+ , H^+ , et de Cl^- contre HCO_3^- (Maetz et Romeu, 1964; Maetz, 1969).

En eau de mer, le poisson est hypoosmotique par rapport au milieu et a tendance à se déshydrater. On rapporte des pertes de poids dues à la déshydratation, variant entre 6,8% et 18,8% après 24 heures selon les espèces de salmonidés (Blackburn et Clarke, 1987), et une réduction de la quantité d'eau dans le plasma sanguin pour la truite arc-en-ciel (Bath et Eddy, 1979a).

En réponse immédiate au transfert en milieu marin, le poisson réhydrate son milieu interne en buvant de l'eau salée. Le rein qui sert à l'excrétion hydrique en eau douce, devient alors un organe de rétention d'eau. Ainsi, on observe une diminution du taux de filtration glomérulaire et de la

quantité d'urine produite (Holmes et McBean, 1963). Ford (1958) et Colville et al. (1983) ont également observé après plusieurs jours en eau salée une diminution de la taille et de la quantité de glomérules rénaux. En situation inverse, Talbot et al. (1989) remarquèrent que le taux d'excrétion urinaire des saumons adultes augmente plus de 6 fois en passant de la mer en eau douce.

L'entrée passive des sels et la grande quantité absorbée par le tractus gastro-intestinal avec l'eau de mer bue augmentent la concentration ionique du milieu interne. Pour maintenir l'équilibre hydrominérale, le poisson excrète activement les ions Na^+ et Cl^- , principalement de façon extrarénale, au niveau des branchies.

On relie l'excrétion branchiale des sels aux ionocytes ou cellules à chlorure (Foskett et Scheffey, 1982). Ces cellules riches en mitochondries sont reliées à la régulation ionique du plasma et sont situées dans l'épithélium primaire des branchies.

Durant la smoltification du saumon de l'Atlantique (Salmo salar), on observe en microscopie électronique, 2 types de cellules à chlorure: le type 1 est peu dense aux électrons et représenterait les cellules à chlorure en eau douce, le type 11, plus dense et qui contient des mitochondries minces et allongées, serait caractéristique de l'environnement marin (Richman et al., 1987).

En réponse à une augmentation de la salinité, on observe une réponse morphologique des ionocytes se traduisant par une augmentation du nombre et de la taille et/ou une différenciation du contenu cellulaire (Thompson et Sargent, 1977; Langdon et Thorpe, 1984; Lubin et al., 1989).

L'élévation de la concentration ionique du plasma induit également une augmentation de l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies (Zaugg et McLain, 1970, Saunders et Henderson, 1978; McCormick et Naiman, 1984). Cette enzyme est située sur les surfaces basolatérales des cellules à chlorure et est impliquée dans l'excrétion des ions monovalents (Epstein et al., 1980). L'élévation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ est reliée à l'augmentation du flux sortant du sodium (Forrest et al., 1973) et serait en relation avec l'élaboration du réticulum endoplasmique des ionocytes (Lubin et al., 1989).

Epstein et al. (1969) et Jampol et Epstein (1970) remarquèrent que l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des reins est généralement moindre en mer, signifiant une diminution de la réabsorption rénale des sels. McCartney (1976) observa de façon comparable une diminution de l'activité enzymatique durant la smoltification du saumon de l'Atlantique. Holmes et McBean (1963) ont également constaté au niveau des reins, une diminution de la réabsorption des ions chlorures en eau salée.

La majorité des sels divalents (Mg^{2+} , SO_4^{2-}) ingérés avec l'eau de mer, ne sont pas absorbés par le tractus gastro-intestinal et sont rejetés par les fèces (Shehadeh et Gordon, 1969). Les sels divalents qui atteignent la circulation sanguine sont éliminés par les reins.

2.2 Potentiel d'hypoosmorégulation

Suite à un transfert en eau salée, la survie des poissons dépend de leur capacité à régulariser leur osmolarité interne et à supporter des concentrations d'ions plasmatiques plus élevées (McCormick et Naiman, 1984). L'incapacité d'ajuster leur osmorégulation conduira à une élévation de la concentration ionique et à une déshydratation progressive, jusqu'à la mort (Jackson, 1981; Johnston et Cheverie, 1985).

Pour une espèce, le potentiel d'hypoosmorégulation est relié à la taille du poisson. Considérant que le rapport de la surface des branchies sur le volume du corps est supérieur chez les petits poissons, il en résulte une déshydratation plus rapide et une diffusion d'ions plus élevée par unité de volume, par rapport à la quantité de sels pouvant être excrétée par les branchies (Jackson, 1981). Ainsi, malgré une élévation de l'activité spécifique de la $Na^+K^+ATPase$ branchiale similaire (Johnston et al., 1983), les poissons de

petite taille sont moins tolérants à l'eau salée que ceux de plus grande taille.

McCormick et Naiman (1984) ont observé chez l'omble de fontaine que la longueur minimale permettant un taux de survie de 75% et plus après une acclimatation graduelle à l'eau salée (32 parties par mille), est d'environ 19 cm. Cette taille se situe près de celle retrouvée en nature, chez les ombles anadromes amorçant leur migration vers la mer. Toutefois, les auteurs indiquent que certains individus de 14 cm se sont adaptés et ont survécu au transfert.

Besner et al. (1987) et Besner et Pelletier (1991) ont également observé des fluctuations saisonnières du potentiel d'hypoosmorégulation de cette espèce. Ils observèrent les taux de survie les plus élevés au printemps (entre la mi-mars et la fin juin), tandis que les poissons éprouvent des difficultés d'adaptation après cette période, principalement durant l'hiver. D'après ces résultats, les auteurs supposent que l'omble de fontaine aurait un cycle physiologique préparatoire à la migration en mer comparable à la smoltification.

Le sexe et la maturité sexuelle influencent également la survie en eau salée. Les résultats de McCormick et Naiman (1985) indiquent que les mâles adultes possèdent une tolérance à l'eau salée significativement moindre que les poissons immatures et les femelles matures. Le potentiel

d'hypoosmorégulation des mâles matures atteint également un niveau minimum durant la période automnale lorsque l'indice gonado-somatique est le plus élevé.

2.3 Effets des diètes salées

Lors d'expériences sur l'équilibre hydrominéral et l'osmorégulation, Bourguet et al. (1964) observèrent que l'augmentation de la concentration électrolytique du milieu interne pouvait induire des phénomènes reliés aux processus d'acclimatation à l'eau salée. Ils observèrent ainsi, suite à l'injection de solutions salines, une inhibition de l'entrée et une augmentation de la sortie des sels au niveau des branchies, de même qu'une diminution du taux de filtration glomérulaire et de la quantité d'urine produite. Ces phénomènes ne sont donc pas strictement dépendants de la salinité du milieu, mais sont également reproductibles en eau douce.

De façon similaire, Zaugg et McLain (1969) expérimentèrent une nourriture à laquelle ils avaient ajouté un surplus de sels inorganiques en vue d'induire la smoltification du saumon coho (Oncorhynchus kisutch). Ils observèrent, en même temps qu'une survie accrue, une augmentation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies.

Dans une série d'expériences à grande échelle, Jackson (1977) observa une réduction des mortalités suite au transfert en mer pour les groupes préalablement alimentés avec une diète salée. L'espèce utilisée était la truite arc-en-ciel (Oncorhynchus mykiss), une espèce sans smoltification apparente, mais qui, d'après Boeuf et Harache (1984), possèderait un degré d'euryhalinité relativement élevé. En plus de la possibilité d'induire une préacclimatation à l'eau salée sur une espèce sans smoltification, l'auteur observa des taux de survie optimaux après seulement 2 semaines de traitement.

Salman et Eddy (1987) observèrent une augmentation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ et de la densité des cellules à chlorure sur cette même espèce selon les concentrations de sels ajoutés à la nourriture. Finalement, suite à quelques expériences préliminaires, Bernier et Besner (1986) ont observé suite au transfert en mer, une amélioration des taux de survie pour les ombles de fontaine alimentés avec une diète salée.

Zaugg et McLain (1969) et Basulto (1976) ont noté une diminution du taux de conversion alimentaire de la nourriture salée. Cependant, dans une étude spécifique, Shaw et al. (1975) ont démontré chez le saumon de l'Atlantique, que l'augmentation des quantités de sels inorganiques dans la nourriture n'affecte pas la croissance, ni le taux de conversion alimentaire.

Salman et Eddy (1988) ont également observé en comparant des diètes salées avec et sans concentrations protéiques et calorifiques ajustées, que la conversion alimentaire affectée par l'ajout de sel serait le résultat d'une dilution des protéines et des calories.

Ces résultats indiquent donc que les sels absorbés via le tractus gastro-intestinal permettent d'induire, en eau douce, l'activation des mécanismes d'excrétion des sels au niveau des branchies, produisant ainsi une préadaptation comparable à l'acclimatation progressive par plateaux de salinité. De plus, d'après les résultats de Bourguet et al. (1964), on peut présumer que la diète salée affecterait l'activité rénale en diminuant la filtration glomérulaire et la quantité d'urine produite.

La diète salée en eau douce prépare donc le poisson au milieu marin, en simulant la situation où il doit absorber une grande quantité de sels par l'intermédiaire de l'eau de mer. De plus, ce traitement n'affecte pas la croissance et la conversion alimentaire.

CHAPITRE 3
MÉTHODOLOGIE EXPÉRIENCE 1

3.1 Conditions d'élevage et traitements

Des ombles de fontaine (Salvelinus fontinalis) de taille variant entre 18 et 22 cm furent obtenus d'une pisciculture régionale (La Truite Rouge, St-Fulgence). Les expériences furent réalisées durant l'automne 1988, et la plupart des poissons avaient atteint leur maturité sexuelle (estimée d'après le développement des gonades). Ils furent placés dans 2 bassins rectangulaires d'environ 250 litres, dans les systèmes de l'aquiculture expérimentale de l'université du Québec à Chicoutimi.

L'eau douce provenait du système d'aqueduc de la ville de Chicoutimi. Elle était filtrée mécaniquement et biologiquement, oxygénée et refroidie entre 11 et 12°C avant de parvenir aux bassins avec un débit de 6 litres par minute.

Une période de plus de 2 semaines fut accordée pour l'acclimatation des poissons aux conditions physico-chimiques de l'eau et à la nourriture. Une moulée sèche et flottante (Martin 4.5) était distribuée à satiété, 2 fois par jour.

Après cette période, un des 2 groupes continua d'être nourri avec la moulée de base (témoin), tandis que l'on débuta l'alimentation du second groupe avec la diète salée (expérimental). La quantité de sel ajoutée à la nourriture de la diète salée et la durée des traitements apparaissent à la figure 1.

Le pourcentage de sels dans la nourriture se définit comme suit:

$$\frac{\text{Poids du sel ajouté} \times 100}{\text{Poids total de la nourriture.}}$$

Pour les 2 groupes, on enregistra la quantité de nourriture distribuée quotidiennement afin d'évaluer quantitativement l'appétit. L'appétit se définissant comme étant la quantité de nourriture captée par les poissons, lorsqu'elle est distribuée à la demande, mais sans perte. L'appétit est exprimé selon la formule:

$$\frac{\text{Poids de la nourriture distribuée} \times 100}{\text{Poids frais de poissons.}}$$

Pour ces calculs, le poids du sel ajouté à la diète salée était déduit du poids total de la nourriture.

Après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée, environ 25 poissons de chaque groupe furent retirés. On conserva 6 poissons pour les analyses physiologiques et biochimiques (point 3.4 et 3.5) alors que le reste était transféré en eau salée (point 3.3). Le retrait des poissons s'effectuait environ 20 heures après la dernière distribution de nourriture et la taille des poissons retirés variait entre 19 et 22 cm.

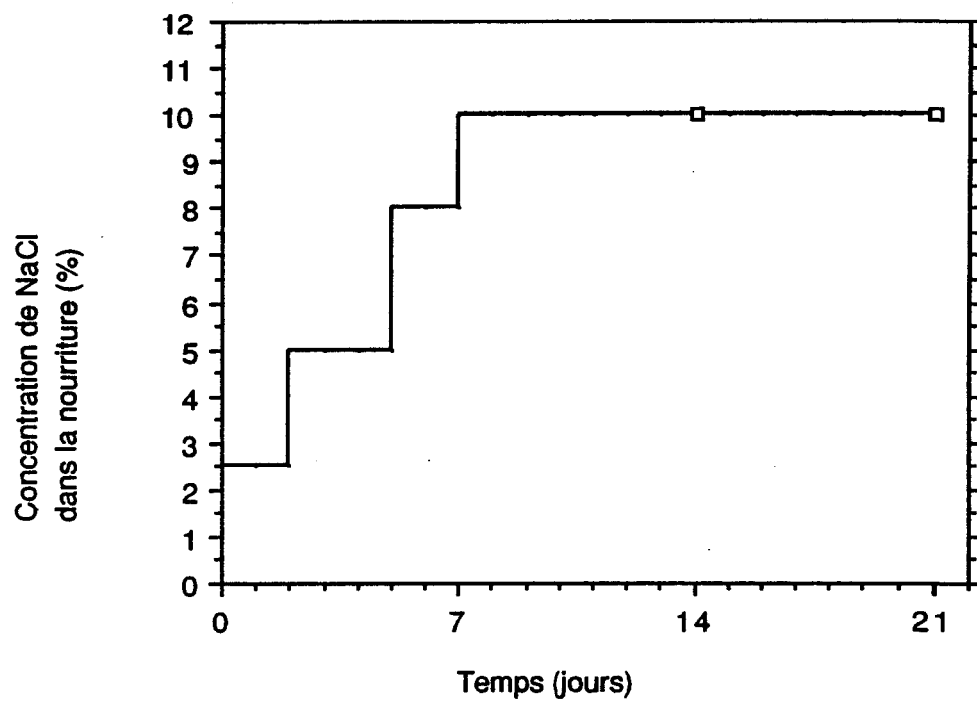


Figure 1: Évolution de la concentration en NaCl de la diète salée. □-Échantillonnage et transfert en eau salée à 32 parties par mille.

3.2 Préparation de la nourriture

La préparation de la nourriture salée s'effectua de façon comparable au protocole de Shaw et al. (1975). On dépose une couche de moulée de base dans un récipient à fond plat et on imbibe la nourriture d'une solution de NaCl. La préparation est ensuite séchée à froid (4°C) jusqu'à ce qu'elle reprenne sa texture originale.

Afin d'ajuster le pourcentage d'humidité de la nourriture préparée et de s'assurer que la quantité finale de sels contenue dans la nourriture correspondait à celle ajoutée, des essais furent réalisés avant le début des traitements. On imbiba 100 g de moulée avec de l'eau distillée et différentes solutions salines correspondant aux concentrations finales de NaCl dans la nourriture. Après différents temps de séchage, on pesait les préparations. La préparation avec l'eau distillée a permis d'ajuster le temps de séchage de façon à obtenir un pourcentage d'humidité équivalent pour la nourriture préparée et la moulée de base. La différence de poids entre le témoin et la nourriture salée a permis d'évaluer la quantité de NaCl retenue par la nourriture.

3.3 Transfert en eau salée

De l'eau salée naturelle fut diluée avec de l'eau douce filtrée afin d'obtenir une salinité de 32 parties par mille. L'eau circulait en circuit fermé avec un débit de 60 litres

par minute. Elle était filtrée, oxygénée et refroidie à la même température que l'eau des bassins d'eau douce avant de parvenir au bassin principal. De forme circulaire, ce bassin de 725 litres fut aménagé de façon à séparer 4 groupes différents à la fois.

Les poissons retirés des bassins d'eau douce, étaient transférés directement dans l'eau salée à 32 parties par mille, sans intermédiaire de salinité. Jusqu'à la fin du traitement en eau salée, ils furent nourris 2 fois par jour avec la moulée de base (sans sels ajoutés).

Les cadavres et les poissons moribonds étaient retirés après chaque période d'alimentation. On détermina la longueur à la fourche (à $\pm 0,1$ cm) et le poids frais du corps (à $\pm 0,5$ g), de même que le temps de survie du poisson. Le temps de survie moyen de chaque groupe fut calculé selon la moyenne arithmétique des temps de survie de chaque poisson d'un groupe (McCormick et Naiman, 1984). Le temps maximal d'observation de survie était de 20 jours. On calcula de la même façon, le temps moyen de mortalité.

Après 20 jours en eau salée, un échantillon du groupe témoin et un échantillon du groupe expérimental (groupe de 14 jours de traitement) furent retirés pour les analyses biochimiques et physiologiques (point 3.4 et 3.5).

3.4 Préparation des tissus

Les poissons réservés aux analyses furent sacrifiés en les assommant d'un coup à la tête. On détermina la longueur à la fourche ($\pm 0,1$ cm) et le poids frais ($\pm 0,5$ g). Le facteur de condition (K) qui est un indicateur de la forme du poisson fut calculé selon le rapport:

$$K = \frac{\text{Poids frais (g)} \times 100}{[\text{Longueur à la fourche (cm)}]^3}.$$

Suite à l'ablation du pédoncule caudal, on préleva un échantillon de sang dans l'aorte dorsale avec une seringue héparinée. On centrifugea immédiatement le sang à basse vitesse (centrifuge clinique modèle CL, International Equipment Co, Needham, MA) et le plasma fut retiré. L'osmolarité du plasma de chaque individu fut déterminée à $\pm 1,0 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$ avec un osmomètre (Advanced Instrument, Newton Highlands, MA).

On préleva les arcs branchiaux et les reins, qui furent placés respectivement dans 5 et 2 ml d'une solution de 0,3 M de sucrose, 70 mM de disodium-EDTA et 0,1M d'imidazole (Johnson *et al.*, 1977). Ces échantillons furent conservés à -20°C jusqu'au moment des analyses biochimiques, soit moins de 4 semaines. D'après Zaugg (1982), il est possible d'entreposer les échantillons au froid durant un maximum de 8 semaines sans perte d'activité enzymatique de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$.

Afin de déterminer le pourcentage d'eau dans le muscle, un morceau des muscles latéraux (entre 5 et 6 g, pesé au 0,001 g près) sans épiderme, fut retiré à proximité des opercules branchiaux, et placé dans un four, à environ 50°C, jusqu'à poids constant. Le pourcentage d'eau correspond à la quantité d'eau par poids frais de muscle, multipliée par 100.

L'indice hépato-somatique fut déterminé par le rapport du poids du foie (pesé à 0,001 g près) sans vésicule biliaire sur le poids frais du poisson avec le foie, mais sans les gonades (Bulow et al., 1978).

Dans un but d'observations complémentaires, des échantillons de la partie centrale du 2° ou 3° arc branchial de certains poissons furent fixés à la glutaraldéhyde (3,5% dans un tampon cacodylate 0,2 M, pH 7,2) durant 3 heures avant d'être lavés et entreposés dans le tampon cacodylate. Ces échantillons furent préparés selon la procédure histologique standard en vue d'un examen en microscopie.

3.5 Détermination de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$

Les échantillons des branchies furent décongelés à la température de la pièce et conservés sur glace où l'on retira la partie cellulaire en grattant les filaments branchiaux avec le dos de la lame d'un scalpel. On se débarrassa du support cartilagineux. La partie cellulaire fut homogénéisée

manuellement sur glace. On ajouta la solution sucrose-imidazol-EDTA froide de façon à obtenir une concentration finale de protéines entre 0,1 et 0,4 mg par ml.

La détermination de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies fut effectuée selon la méthode utilisée par Salman et Eddy (1987), sauf qu'une quantité de 0,06 mM de Na_2ATP fut ajoutée à chaque tube avant l'incubation et que 0,5 mM de ouabaine fut utilisée comme inhibiteur de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$. Ainsi, on ajouta à 0,1 ml d'homogénat de branchies, 0,5 ml d'une solution de 240mM de NaCl , 120 mM de KCl , 20 mM de MgCl_2 et 0,1 M d'imidazol et on incuba à 37°C, avec et sans inhibiteur. On arrête la réaction en ajoutant 4 ml d'une solution d'acide sulfurique 1,67 N, de lubrol 1% et d'acide molybdique 1% sur glace. Après 10 minutes à température de la pièce et une centrifugation à basse vitesse (centrifugeuse clinique), on détermine par absorbance la quantité de phosphore inorganique à 390 nm.

L'activité spécifique de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ est déterminée selon la différence de phosphore inorganique libéré avec et sans inhibiteur, et est exprimée en μMoles de phosphore inorganique libéré par mg de protéine par heure ($\mu\text{M Pi} \cdot \text{mg Prot}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). La quantité de protéines fut évaluée à partir de la méthode de Lowry et al. (1951) modifiée par Hartree (1972), en se servant de l'albumine de sérum bovin comme standard.

On procéda à la préparation des reins en vue de la détermination de l'activité de la Na+K+ATPase en adaptant la méthode utilisée pour les branchies. Ainsi, après la décongélation, on homogénéisa sur glace l'ensemble des tissus rénaux et on ajouta la solution sucrose-imidazol-EDTA froide jusqu'à une concentration finale de protéines variant entre 0,1 et 0,4 mg par ml. On se servit de la même méthode biochimique pour évaluer l'activité enzymatique.

3.6 Tests statistiques

Afin de déterminer la signification statistique entre les modifications physiologiques provoquées par les traitements, les valeurs ont été soumises à une analyse de variance à un critère (ANOVA), suivi a posteriori par un test de Scheffé. Le niveau de signification des tests est de 95% ($p < 0,05$), sauf lorsque indiqué autrement dans le texte.

CHAPITRE 4

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION EXPÉRIENCE 1

4.1 Alimentation et croissance

La ration quotidienne de nourriture distribuée à la demande (appétit) pour la durée de l'expérience pour le groupe témoin et le groupe expérimental apparaît à la figure 2. On remarque pour les 2 groupes, de grandes variations d'un jour à l'autre, indiquant des journées de faible appétit suivies de périodes d'alimentation élevée. Ce genre de fluctuations a déjà été observé dans d'autres études concernant l'alimentation des salmonidés (Brett, 1971; MacLeod, 1977).

Malgré les variations quotidiennes, on observe des courbes assez semblables entre les 2 groupes. D'ailleurs, la ration quotidienne moyenne (Tableau 1) entre les groupes ne diffère pas significativement tout au long de l'expérience. La présence de sels dans la nourriture, de même que les effets physiologiques de ces sels sur l'organisme, n'influenceraient donc pas de façon apparente le comportement alimentaire des poissons.

Durant la première semaine, les poissons montrent un appétit moindre, mais qui ne diffère pas statistiquement entre les 2 groupes. Puisque le groupe témoin et le groupe expérimental ont réagi de façon comparable, et que l'eau et les conditions d'élevage étaient les mêmes, on peut attribuer ce comportement à un stress qui affecta tous les poissons

également. La cause ne fut cependant pas identifiée formellement.

L'augmentation progressive de la quantité de NaCl avait pour but de minimiser les refus d'alimentation ou les rejets de nourriture pouvant être causés par la concentration inhabituellement élevée de sels inorganiques dans la nourriture. Dans une expérience préliminaire réalisée durant l'été, on remarqua lors des premières distributions de nourriture salée en commençant directement avec une concentration de NaCl de 10%, que certains poissons recrachaient la nourriture immédiatement après l'avoir captée. L'utilisation de concentrations initiales moindres de sels a solutionné le problème, de sorte qu'aucune réaction comparable ne fut observée lors des expériences suivantes. Mis à part l'article de Phillips (1947) où l'auteur remarqua que certains poissons rejetaient les capsules de sels, aucune autre mention de ce genre de réaction n'apparaît dans la littérature.

L'indice hépato-somatique (IHS) est d'après Bulow et al. (1978) un indice de croissance, d'alimentation quotidienne et de réserve d'énergie. L'indice hépato-somatique (figure 3) et le facteur de condition (figure 4) ne diffèrent pas significativement ($p > 0,1$) entre les groupes témoins et expérimentaux maintenus en eau douce.

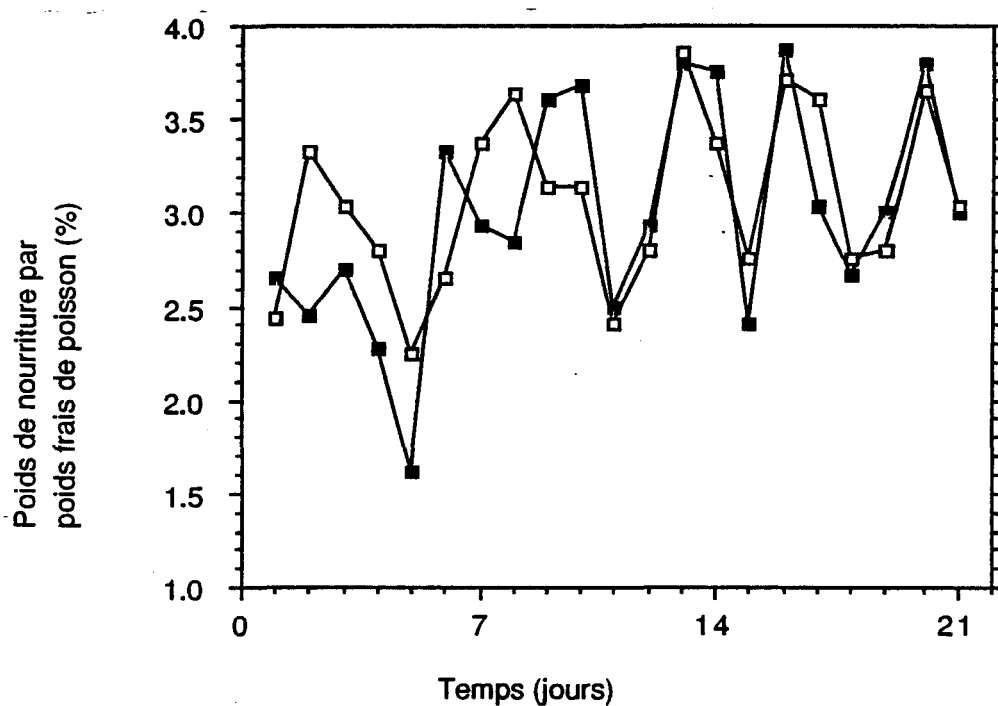


Figure 2: Ration alimentaire quotidienne distribuée à la demande durant les traitements. □-Témoin, ■-Diète salée.

Tableau 1: Quantité de nourriture (moyenne \pm écart type) distribuée quotidiennement durant chaque semaine de traitement, exprimée en pourcentage selon la formule:

$$\frac{\text{Poids de nourriture}}{\text{Poids frais de poisson}} \times 100$$

Poids frais de poisson

Groupes	Témoin	Expérimental
Semaine 1	2,7 \pm 0,4	2,6 \pm 0,5
Semaine 2	3,2 \pm 0,5	3,3 \pm 0,5
Semaine 3	3,2 \pm 0,4	3,1 \pm 0,5
Moyenne	3,02 \pm 0,48	2,99 \pm 0,60

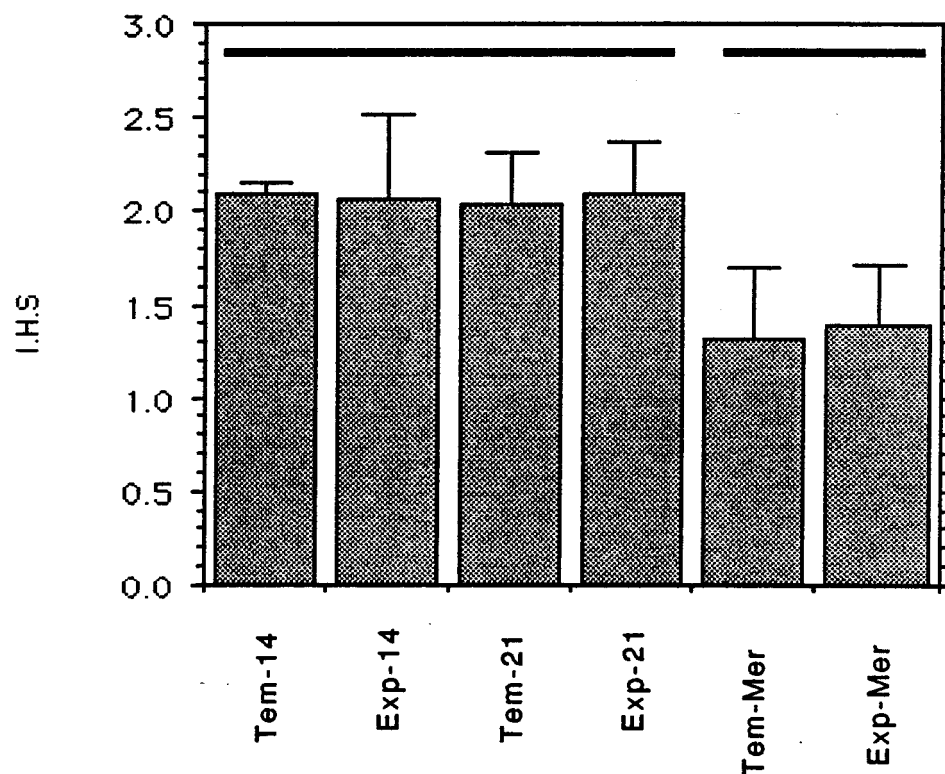


Figure 3: Variations de l'indice hépato-somatique après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée et après 20 jours en eau salée à 32 parties par mille. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

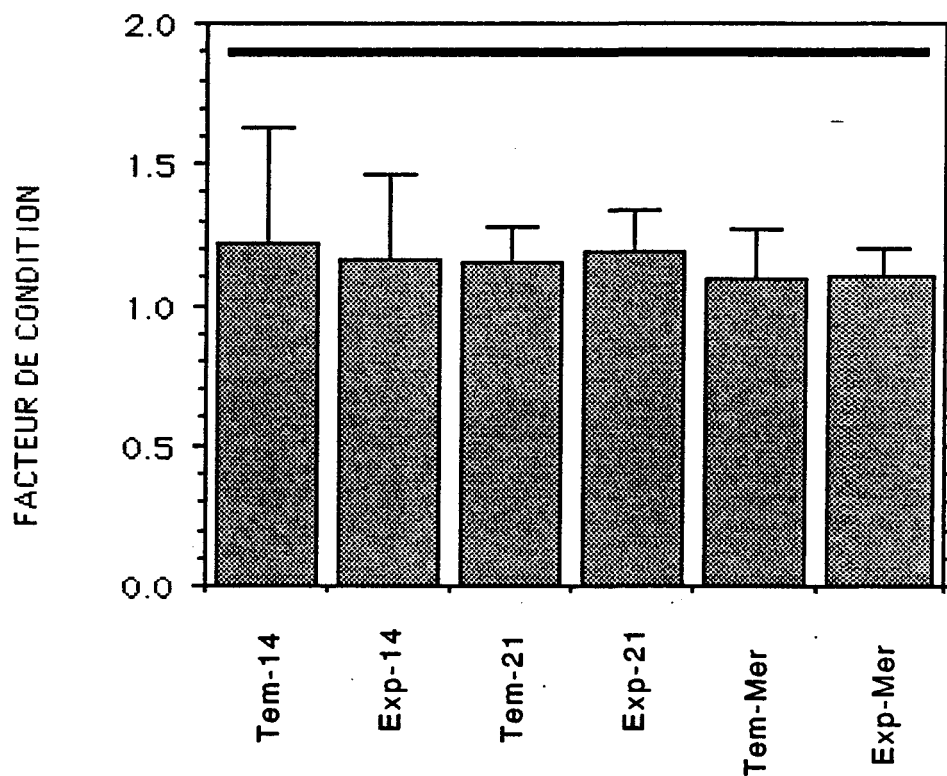


Figure 4: Variations du facteur de condition après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée et après 20 jours en eau salée à 32 parties par mille. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

Ces résultats suggèrent que la diète salée sur de courtes périodes n'entraîne pas de changements défavorables au niveau du métabolisme de la nourriture et de la croissance. Un nombre plus élevé de poissons, de même que des paramètres biochimiques précis (tel le rapport ARN-ADN du foie et du muscle) permettraient de s'assurer de cette hypothèse.

Toutefois, ces résultats sont en accord avec ceux de Salman et Eddy (1988), de même que ceux de Shaw et al. (1975) qui n'observèrent sur le saumon de l'Atlantique (Salmo salar), aucune altération de la conversion alimentaire de nourriture semblable contenant des concentrations différentes en sels (en terme de changement de poids du poisson par poids de nourriture distribuée).

Après 20 jours en eau salée, l'IHS des poissons des 2 groupes transférés est significativement plus bas ($p < 0,01$) que celui des poissons demeurés en eau douce (Figure 3). Ces résultats indiquent une altération négative de l'activité alimentaire et de la croissance suite au transfert. En effet, en eau salée, aucun poisson ne s'est alimenté durant les 6 premiers jours suivant le transfert, et certains ont refusé de se nourrir durant toute la période passée en eau salée.

On rapporte des situations semblables en littérature. MacLeod (1977) observa sur la truite arc-en-ciel, qu'une augmentation de la salinité de 7,5 ou 13 parties par mille

provoque une réduction de l'appétit et du taux de croissance. En demeurant en eau salée, le retour de ces paramètres aux valeurs observées avant l'augmentation de la salinité demandait environ 14 jours. McKay et Gjerde (1985) rapportent que la truite arc-en-ciel élevée en bassin, a un meilleur appétit en eau douce qu'en eau salée et qu'une salinité au-dessus de 20 parties par mille a des conséquences négatives sur la production de la biomasse.

La différence d'IHS entre les groupes témoin et expérimental transférés en eau salée n'est pas significative ($p > 0,1$). En ce sens, on a observé un délai entre le transfert et la première activité alimentaire relativement semblable entre les poissons des 2 groupes. D'après ces résultats, la diète salée ne favoriserait pas une réalimentation plus rapide suite au transfert en eau salée. Jackson (1981) a observé suite au transfert en eau salée, que les truites arc-en-ciel refusent de s'alimenter lorsque la pression osmotique du plasma atteint $370 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$ et tant qu'elle demeure au-dessus de cette valeur. On peut donc supposer que la période de rétablissement de l'osmolarité du plasma sous les valeurs limitant l'alimentation, est demeurée relativement la même pour les groupes témoins et expérimentaux.

Le facteur de condition (figure 4) ne diffère pas significativement ($p > 0,1$) entre les poissons des 2 groupes après 20 jours en eau salée. La moyenne des groupes en eau

salée est cependant légèrement plus basse que celle observée en eau douce. Shaw et al. (1975) ont constaté que la quantité de nourriture nécessaire pour maintenir constant le poids du poisson est supérieure en eau salée, due à l'utilisation supplémentaire d'énergie pour les mécanismes de régulation.

4.2 Osmolarité du plasma

L'osmolarité moyenne du plasma (figure 5) des poissons du groupe témoin en eau douce est de $316,4 \pm 5,0 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$. Celle des poissons nourris avec la diète salée est plus élevée que celle des poissons du groupe témoin ($p < 0,1$). Ces différences sont de l'ordre de 2,8% et de 3,9% par rapport aux témoins, après 2 et 3 semaines de traitement respectivement.

Basulto (1976) et Shaw et al. (1975) observèrent également une concentration plus élevée des ions Na^+ et Cl^- dans le plasma des saumons de l'Atlantique (Salmo salar) nourris avec une diète salée. C'est d'ailleurs l'élévation de l'osmolarité du milieu interne qui produirait l'activation de plusieurs mécanismes de préparation physiologique à l'eau de mer, tel qu'observé par Bourguet et al. (1964) et par Zaugg et McLain (1969).

L'osmolarité plus élevée du plasma indique que le chlorure de sodium ajouté à la nourriture est absorbé par le

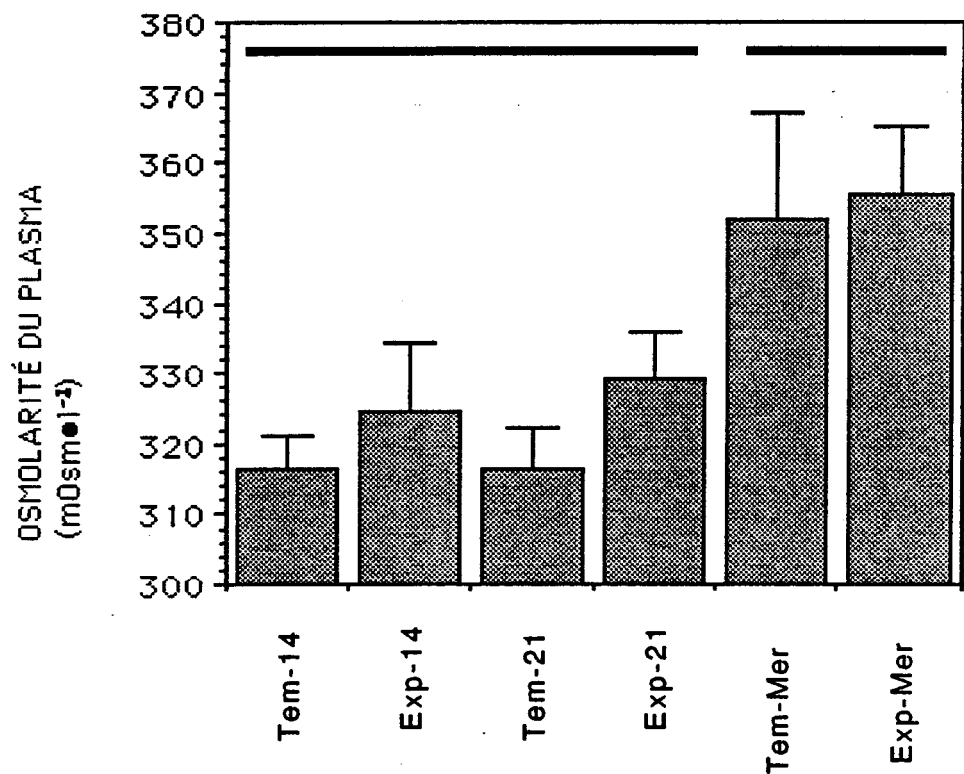


Figure 5: Variations de l'osmolarité du plasma après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée et après 20 jours en eau salée à 32 parties par mille. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

tractus gastro-intestinal. En déterminant la teneur en sel du contenu stomacal et intestinal, Shaw et al. (1975) ont démontré que les sels ingérés avec la nourriture sont presque complètement absorbés en moins de 24 heures. Durant cette expérience, les poissons n'élimineraient pas en moins de 20 heures (temps écoulé entre le dernier repas et l'échantillonnage) tout le surplus de sel. On peut également supposer qu'un temps plus bref entre la période d'alimentation et l'échantillonnage aurait permis d'observer une osmolarité du plasma plus élevée. Phillips (1947) enregistra suite à la distribution de gelules de NaCl (correspondant à une concentration de 10% de sels dans la nourriture) une quantité de sels maximale dans le sang après 6 heures

Puisque l'osmolarité entre un traitement de 2 ou 3 semaines ne diffère pas statistiquement ($p > 0,1$), on suppose que la diète salée ne provoquerait pas, à court terme, d'augmentation cummulative des concentrations ioniques et de déséquilibre dommageable pour le poisson. On pourrait plutôt présumer l'atteinte d'un nouvel équilibre ionique produit par le surplus de sel ingéré avec la nourriture.

Contrairement à Besner et Bernier (1986), aucune mortalité ne fut enregistrée durant les traitements. De plus, on n'observa ni comportements nerveux ou anormaux tels que décrits par Phillips (1947). Il est possible que l'augmentation graduelle de la concentration de sels dans la

nourriture ait permis d'éviter ces réactions, en permettant une adaptation progressive des mécanismes de la régulation ionique et hydrique, de façon similaire à l'acclimatation par paliers de salinité ou dans les estuaires.

D'après les résultats précédents, on peut présumer qu'après une certaine période de traitement, un équilibre s'établit entre la quantité de sels absorbés par le tractus gastro-intestinal et la quantité excrétée par les mécanismes de régulation ionique. Puisque les valeurs entre 2 et 3 semaines ne sont pas différentes, cet équilibre pourrait survenir avant 14 jours. Si tel est le cas, une diète salée de plus longue durée ne serait probablement pas plus efficace. On peut également supposer qu'elle n'entraînerait pas non plus de conséquences néfastes à long terme. En ce sens, les résultats de Basulto (1976) montrent qu'aucune augmentation des ions Na^+ et Cl^- du plasma, ne survient entre 34 et 94 jours de traitement à la diète salée. Les expériences de Jackson (1977) démontrent également que la croissance en terme de poids, n'est pas affectée par une diète salée durant une période allant jusqu'à 12 semaines.

Prunet et Boeuf (1985) ont démontré que l'augmentation de l'osmolarité plasmatique chez la truite arc-en-ciel suite au transfert en mer, s'accompagnait d'une chute de la concentration de prolactine plasmatique. La prolactine jouerait un rôle important dans le bilan hydrominéral en eau douce, tel que démontré par l'incapacité de survivre en eau

douce de Fundulus heteroclitus hypophysectomisé, à cause des pertes importantes de Na^+ , alors qu'il survit en eau salée ou dans un milieu isotonique (Pickford et Phillips, 1959). La prolactine agit en diminuant la perméabilité hydrique des branchies, de la peau et du tractus gastro-intestinal et en réduisant la sortie des ions Na^+ au niveau des branchies. Elle agit également au niveau du rein en diminuant l'excrétion de sodium, en augmentant le taux de filtration et en modifiant la morphologie. Finalement, la prolactine augmente la réabsorption de Na^+ et diminue celle de l'eau à la vessie urinaire (Folmar et Dickoff, 1980).

On peut supposer que la diète salée, en augmentant l'osmolarité du milieu interne, pourrait provoquer une réponse similaire à celle observée lors du transfert en eau salée, en diminuant la concentration de prolactine. Ce qui correspondrait aux effets observés par Bourguet et al. (1964).

En ce sens, la diète salée induirait une réponse hormonale différente de celle observée durant la smoltification, période durant laquelle les concentrations de prolactine augmentent (Richmann et al., 1987). L'augmentation de la prolactine dans ce cas aurait pour but de maintenir en eau douce, le bilan hydrominéral du smolt préparé à l'entrée en eau salée (Barron, 1986a), alors que le poisson traité à la diète salée doit se débarrasser d'un surplus de sel.

L'osmolarité du plasma (figure 5) ne diffère pas entre le groupe témoin et expérimental après 20 jours en eau salée ($p > 0,1$). Les survivants des 2 groupes ont donc atteint, après 20 jours, un état d'acclimatation comparable, se situant aux environs de $354 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$. Si la diète salée permet de réduire le choc ionique suite au transfert en eau salée, ses effets ne sont plus apparents après ce temps.

L'osmolarité du plasma des groupes témoins et expérimentaux maintenus en eau salée est toutefois supérieure à celle des groupes témoins et expérimentaux maintenus en eau douce ($p < 0,01$).

L'osmolarité du plasma en eau salée demeure donc élevée, autant lors d'un transfert direct que pour les poissons préalablement traités. De façon similaire, Boeuf et Harache (1984) observèrent une augmentation importante de la concentration des ions plasmatiques chez l'omble de fontaine transféré en mer, principalement au niveau des ions chlorures. Les ombles acclimatés par plateaux de salinités démontraient également une osmolarité plus élevée après 21 jours en eau salée à 32 parties par mille (McCormick et Naiman, 1984)

4.3 Pourcentage d'eau du muscle

Les groupes témoins et expérimentaux maintenus en eau douce ne présentent aucune différence significative ($p > 0,1$) du pourcentage d'eau des muscles latéraux (figure 6). Les sels inorganiques ajoutés à la nourriture n'affectent donc pas la quantité d'eau des tissus, contrairement à la situation observée en eau salée.

Phillips (1947) remarqua des cas d'oedème suite à la distribution de capsules de NaCl à des ombles de fontaine pour des doses de plus de 3,6 mg par gramme de poisson. Ces expériences ont cependant été réalisées sur des poissons d'environ 5,6 grammes et on peut supposer que ces effets résultent d'un développement incomplet des mécanismes de régulation et/ou d'un rapport surface-volume corporel très élevé chez les individus de petite taille, provoquant un appel d'eau supérieur au taux d'excrétion possible.

Basulto (1976) remarqua également une augmentation du pourcentage d'eau dans les tissus du saumon de l'Atlantique après 34 jours de traitement avec des diètes salées de 8 et 12%. Cependant, lors de la smoltification, on observe une élévation du pourcentage d'eau du corps (Farmer et al., 1978). Si tel est le cas, on ne pourrait relier directement l'élévation du pourcentage d'eau à l'absorption de sels, mais plutôt aux effets provoqués par l'induction de la smoltification.

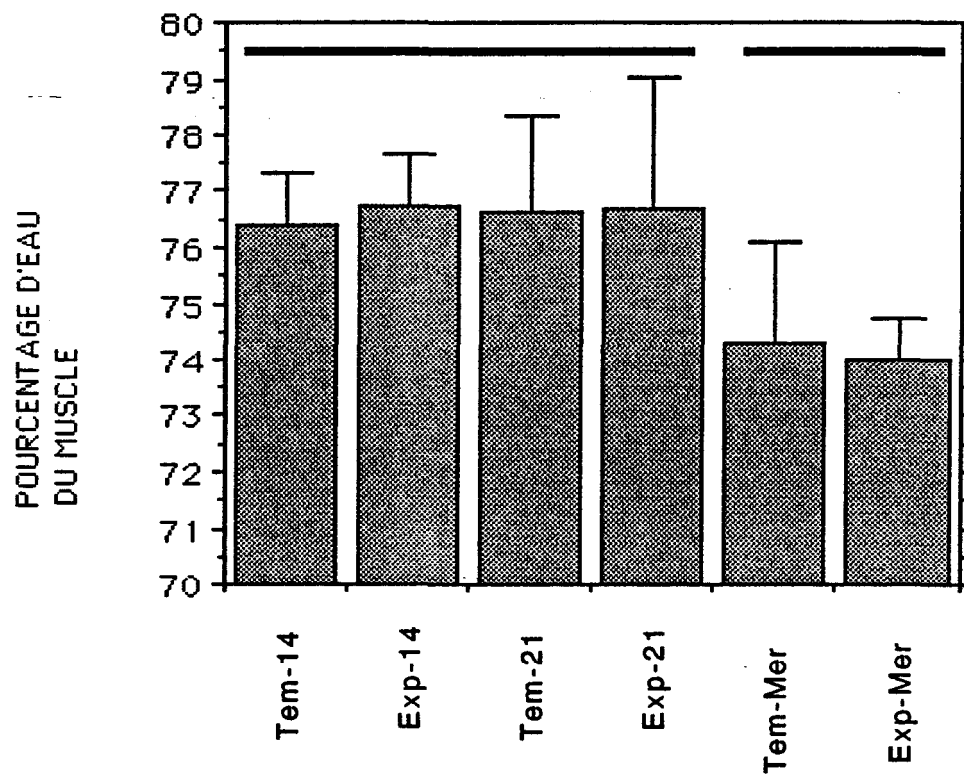


Figure 6: Variations du pourcentage d'eau du muscle après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée et après 20 jours en eau salée à 32 parties par mille. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

La stabilité des paramètres hydriques du muscle n'exclut toutefois pas certaines modifications des mécanismes de régulation hydrique. Ainsi, en supposant que l'entrée d'eau fut augmentée par l'osmolarité plus haute du plasma et du milieu interne en général, elle aurait dû être compensée par une augmentation de la quantité d'urine produite, ce qui ne correspond pas aux réponses physiologiques observées par Bourguet et al (1964). En fait, ces auteurs ont plutôt observé une diminution de la quantité d'urine produite suite à l'augmentation de la concentration interne des sels. En supposant que l'élévation de l'osmolarité induite par la diète salée produit une réaction similaire, la diminution de l'excrétion hydrique et la stabilité du pourcentage d'eau corporel implique une diminution de la perméabilité des membranes, particulièrement au niveau des branchies, telle qu'observée en eau salée par Shedaheh et Gordon (1969).

Après 20 jours en eau salée, les survivants ont un pourcentage d'eau musculaire (figure 6) statistiquement plus bas que celui des groupes maintenus en eau douce ($p < 0,05$), avec une différence de 2,75% pour les témoins et de 3,5% pour le groupe expérimental. Jackson (1981) nota toutefois un réajustement incomplet du pourcentage d'eau musculaire, comparable pour la truite arc-en-ciel transférée à une salinité de 32 parties par mille.

Le pourcentage d'eau ne diffère pas entre les groupes témoins et expérimentaux transférés en eau salée. Ces

résultats indiquent que les poissons des 2 groupes ont atteint un état comparable concernant le pourcentage d'eau.

Suite à l'examen des coupes histologiques, on remarque que l'apparence des branchies des témoins en eau douce (figure 7A) se compare à celle des poissons maintenus en eau salée depuis 20 jours (figure 7C). En plaçant en eau salée un fragment de tissus branchiaux, Bath et Eddy (1979b) observèrent une diminution de la surface des lamelles secondaires, indiquant une déshydratation de ces tissus. Toutefois, Shuttleworth et Freeman (1973) observèrent une réhydratation des branchies des anguilles après 6 heures suite au transfert en eau salée.

Cependant, on constate que les branchies des poissons alimentés avec la diète salée durant une période de 21 jours (figure 7B), montrent une modification prononcée de la structure des cellules épithéliales comparativement à celles des poissons témoins maintenus en eau douce (figure 7A) ou en eau salée (figure 7C). Ces changements structuraux seraient attribuables à un appel d'eau excédentaire provoquant un oedème cellulaire. Cet oedème pourraient être le résultat de l'augmentation de la différence de pression osmotique entre le milieu interne du poisson et l'eau douce, et ne serait pas strictement causé par une élévation de l'osmolarité interne du poisson puisque cet oedème n'est pas observé sur les poissons maintenus en eau salée.

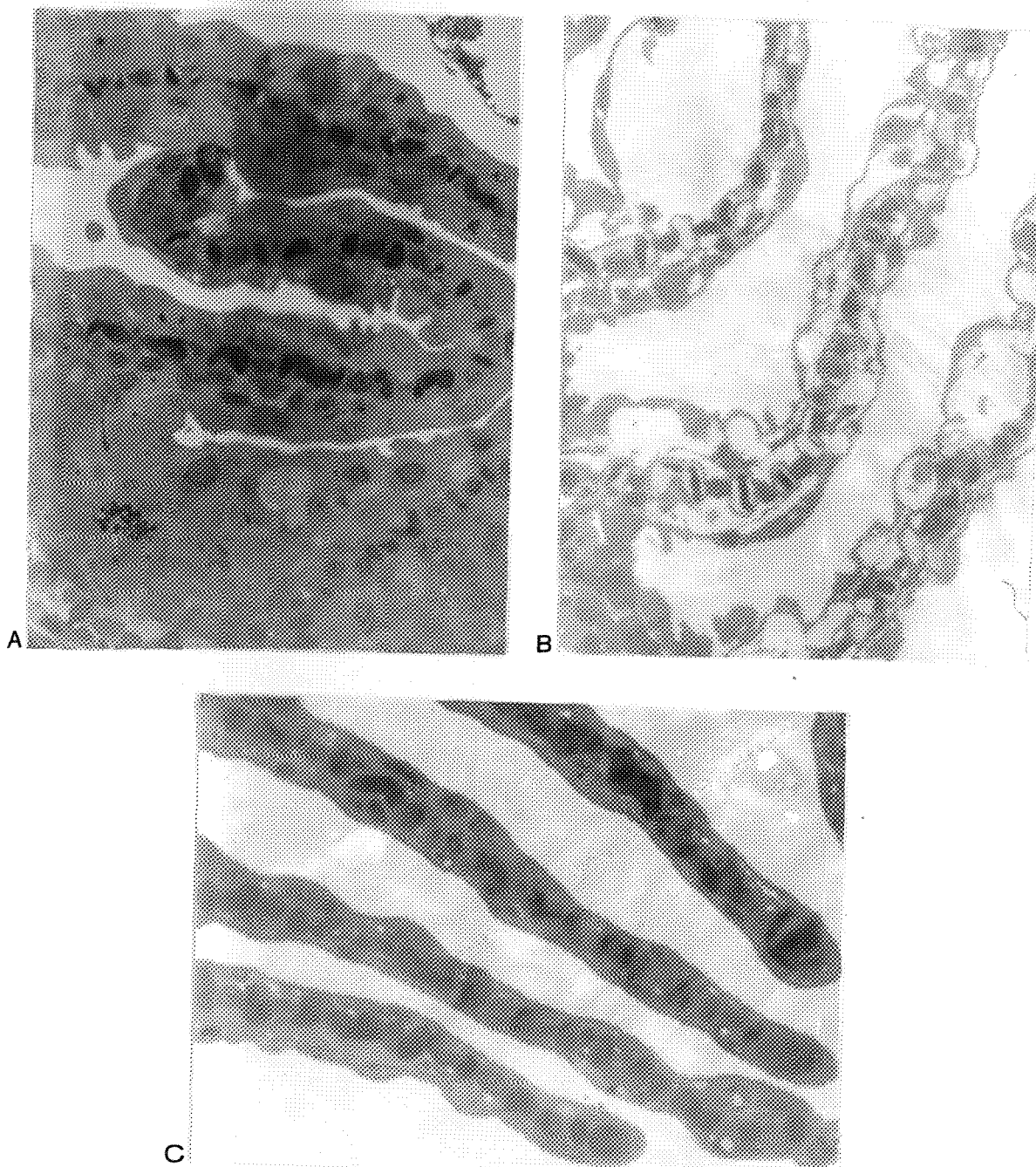


Figure 7: Photographies microscopiques des branchies
A-des témoins en eau douce, B-des poissons alimentés
avec la diète salée en eau douce, C-des témoins en
eau salée. Grossissement de 717 X.

L'oedème généralisé provoqué par l'absorption d'un surplus de sel en eau douce chez des poissons de petite taille tel qu'observé par Phillips (1947), pourrait se limiter aux branchies sur les poissons plus grands.

4.4 Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies

L'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies des témoins en eau douce est de $6,44 \pm 1,27 \mu\text{M Pi} \cdot \text{mg Prot}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (figure 8). McCormick et Naiman (1984) observèrent une activité enzymatique moyenne de $7,9 \mu\text{M Pi} \cdot \text{mg Prot}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, Besner et Pelletier (1991), de $4,27$, alors que Boeuf et Harache (1984) trouvèrent également des valeurs inférieures à $10 \mu\text{M Pi} \cdot \text{mg Prot}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ pour les ombles de fontaine maintenus en eau douce.

L'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ moyenne des poissons alimentés par la diète salée est de $12,52 \pm 2,44 \mu\text{M Pi} \cdot \text{mg Prot}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, soit une activité enzymatique de près du double de celle observée chez les témoins. Il est donc possible, par l'intermédiaire de la diète salée, de provoquer l'induction de l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasique}$ des branchies de l'omble de fontaine maintenu en eau douce.

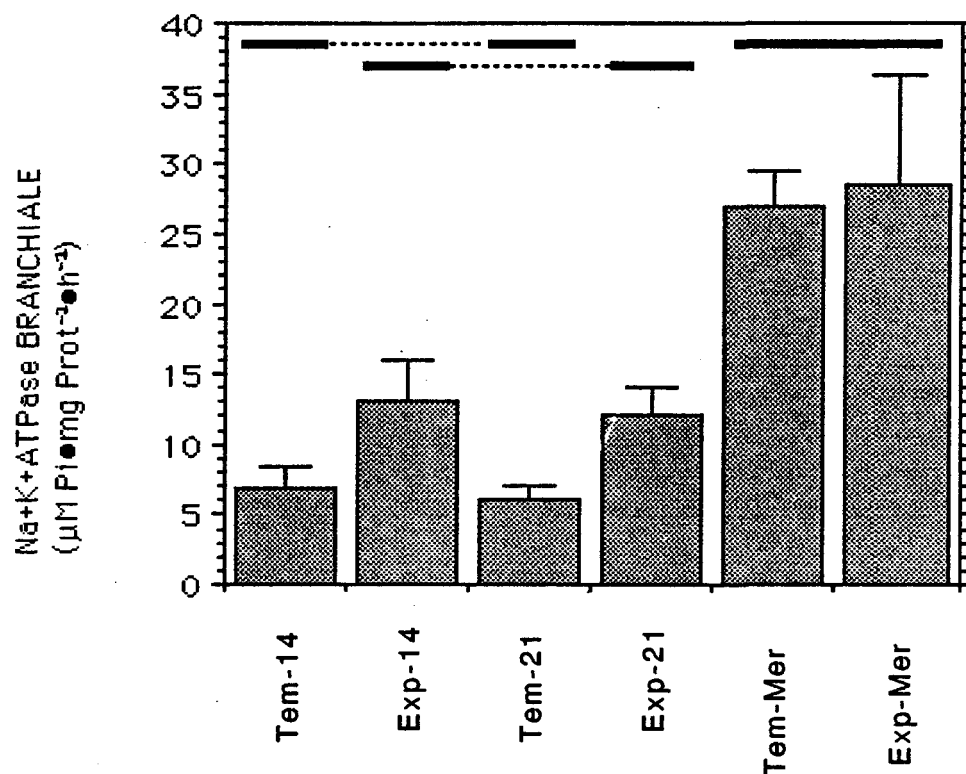


Figure 8: Variations de l'activité de la Na+K+ATPase branchiale après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée et après 20 jours en eau salée à 32 parties par mille. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

Les diètes salées de Zaugg et McLain (1969) et de Salman et Eddy (1987) produisirent également une augmentation de l'activité de la Na+K+ATPase, respectivement sur le saumon coho (Oncorhynchus kisutch) et la truite arc-en-ciel.

L'augmentation de l'activité enzymatique indique que les poissons excrètent activement les sels absorbés via la nourriture. Ainsi, tel que le démontrent les résultats de Bourguet et al. (1964) et de Zaugg et McLain (1969), il est possible de renverser le flux ionique des branchies en eau douce, en augmentant la concentration en sels du milieu interne.

Il n'y a cependant aucune différence significative entre l'activité enzymatique pour les groupes après 2 ou 3 semaines de traitement ($p > 0.1$). Ceci laisse croire qu'un traitement de plus longue durée avec une diète à 10% ne serait probablement pas plus efficace pour l'omble de fontaine, ce qui appuie l'hypothèse concernant l'atteinte d'un nouvel équilibre ionique avant 14 jours de traitement.

Ainsi, chez l'omble de fontaine, seulement 2 semaines de traitement pourraient être nécessaires à l'activation des mécanismes de régulation à l'eau salée induits en eau douce. En ce sens, Jackson (1977) observait que la survie en eau salée de la truite arc-en-ciel augmentait après 2 semaines de diète salée, mais n'était pas significativement améliorée par une prolongation du traitement jusqu'à 12 semaines.

L'élévation de l'activité enzymatique indique également que le traitement permet d'activer le système endocrinien. Le cortisol, un des principaux corticostéroïdes produits par la glande interrénale, est associé à l'adaptation à l'eau salée chez les téléostéens.

Epstein et al. (1980) observèrent chez l'anguille américaine (Anguilla rostrata) une hausse des concentrations de cortisol précédant l'élévation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ branchiale, suite à un transfert en eau salée. Chez le saumon coho (Oncorhynchus kisutch), on observa également une augmentation de la concentration de cortisol durant la smoltification (Specker et Schreck, 1982).

On peut donc, en se basant sur l'augmentation de l'activité enzymatique provoquée par la diète salée, déduire une élévation préalable de la production de cortisol.

Cette substance influence le potentiel d'hypoosmorégulation en induisant entre autres, des changements dans la perméabilité hydrique des membranes, en augmentant l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies et en modifiant la régulation osmotique et ionique des reins, de l'intestin et de la vessie urinaire (Folmar et Dickhoff, 1980; Barron, 1986a).

Après 20 jours, l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies des poissons transférés en eau salée (figure 8) n'est pas significativement différente entre les 2 groupes (p

> 0,1). Ces résultats indiquent que les poissons ont atteint un stade d'acclimatation comparable.

Les survivants en eau salée possèdent une activité enzymatique moyenne de $27,94 \pm 5,45 \mu\text{M Pi} \cdot \text{mg Prot}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, soit une activité 5 fois plus élevée que celle des groupes témoins en eau douce et de près de 3 fois celle des groupes expérimentaux en eau douce.

D'après la quantité de nourriture ingérée par les poissons et qui correspond à environ 3% de nourriture par poids frais de poisson par jour, la concentration de 10% de NaCl ajoutée à la nourriture correspond à 57 mM de NaCl par Kg de poids frais de poisson par jour. Ce qui correspond environ à la quantité de NaCl absorbée quotidiennement par la truite arc-en-ciel en eau salée d'après Shehadeh et Gordon (1969) avec une absorption de 129 ml d'eau salée par Kg de poisson par jour, soit 60 mM de NaCl.

L'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ plus élevée chez les poissons en eau salée que pour les poissons traités en eau douce suggère que l'excrétion des sels par les branchies est beaucoup moins importante en eau douce qu'en eau salée. On peut donc supposer que d'autres mécanismes d'excrétion des sels soient utilisés en eau douce, en particulier au niveau des reins.

4.5 Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des reins

L'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des reins (figure 9) des groupes expérimentaux après 2 et 3 semaines de traitement est de 23,89 et 28,46 $\mu\text{M Pi}\cdot\text{mg Prot}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Elle est significativement plus basse ($p < 0,01$) que celle des témoins (40,10 et 38,86 $\mu\text{M Pi}\cdot\text{mg Prot}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), avec une diminution de 40,6% après 14 jours de traitement et de 26,0% après 21 jours. Toutefois, les valeurs entre les 2 périodes de traitement ne diffèrent pas significativement ($p > 0,1$).

Après 20 jours en eau salée, l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des reins des poissons transférés en eau salée n'est pas différente entre les groupes ($p > 0,1$). Elle ne diffère pas non plus de l'activité enzymatique observée chez les poissons alimentés par la diète salée maintenus en eau douce. L'activité enzymatique observée en eau salée est toutefois significativement plus basse ($p < 0,01$) que celle des poissons témoins en eau douce, avec une différence de 40%.

Tel qu'il a été proposé par Epstein et al. (1969), les témoins en eau douce réabsorbent activement les sels au niveau rénal. Chez les poissons alimentés avec un surplus de sel, il n'y aurait cependant pas ou peu de réabsorption ionique, tel qu'observé chez les poissons en eau salée.

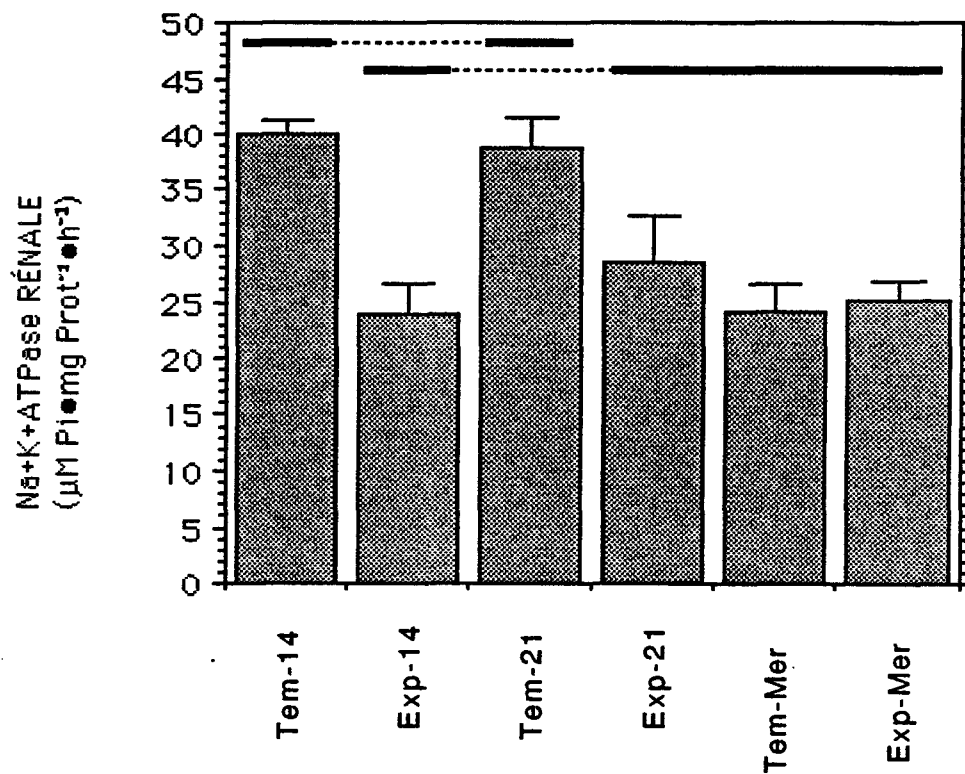


Figure 9: Variations de l'activité de la Na⁺K⁺ATPase rénale après 14 et 21 jours de traitement à la diète salée et après 20 jours en eau salée à 32 parties par mille. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

Ces résultats suggèrent une utilisation préférentielle de la voie rénale (comparativement à la situation retrouvée en eau salée) pour l'excrétion d'une quantité supplémentaire de sels ingérés en eau douce, en accord avec l'hypothèse de Shaw et al. (1975). Une grande quantité de sels pourrait donc être éliminée par le volume important d'urine produite en eau douce et ce sans grande dépense énergétique. Ce qui ne laisserait à l'excrétion branchiale, qu'un rôle de régulation d'appoint.

Ces facteurs permettraient d'expliquer pourquoi l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies n'atteint pas des valeurs aussi élevées par l'addition de sel dans la nourriture, que lorsque le poisson se retrouve en eau salée. Ainsi, en considérant des quantités comparables de sels absorbés en mer et par la diète salée, le poisson traité en eau douce aurait besoin d'une activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ branchiale moindre, grâce aux quantités de sels éliminées par l'urine. Situation qui ne serait pas possible en eau salée à cause de la conservation de l'eau par le poisson.

On remarque donc 2 voies différentes pour l'excrétion des sels, selon la salinité du milieu. De façon extrarénale par les branchies en eau salée, ou principalement par les reins en eau douce.

Si on assume que l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ rénale des poissons alimentés à la diète salée est près de son minimum

puisque l'activité enzymatique de ces poissons ne diffère pas de celle des poissons en eau salée depuis 20 jours, on peut supposer qu'une dose plus élevée de sels dans la nourriture durant les traitements pourrait provoquer soit une réponse accrue de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies, soit une réponse diurétique supérieure. Salman et Eddy (1987) observèrent toutefois une augmentation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies avec l'augmentation de la dose de NaCl dans la nourriture de la truite arc-en-ciel.

4.6 Survie en eau salée

Les résultats relatifs à la survie en eau salée apparaissent au tableau 2. Suite au transfert direct en eau salée, on observe des pourcentages de mortalité élevés après 5 jours, pour les groupes témoins, soit le quart de la population transférée. Au contraire, la mortalité durant cette période est presque nulle chez les poissons des groupes expérimentaux. En fait, un seul poisson des groupes traités est décédé durant cette période. Les effets létaux causés par le transfert en eau salée se font donc rapidement sentir sur les poissons sans acclimatation.

Tableau 2: Résultats relatifs à la survie suite aux transferts en eau salée à 32 parties par mille.

Durée du traitement Groupes	14 jours		21 jours	
	Témoin	Diète	Témoin	Diète
Nombre de poissons transférés	16	14	17	17
% de mortalité après 5 jours en eau salée	25	7	24	0
Temps moyen de mortalité en jours	3,5	9,3	4,3	8,5
% de mortalité après 20 jours en eau salée	38	29	47	12
Temps moyen de survie en jours	14,1	17,1	13,5	18,6

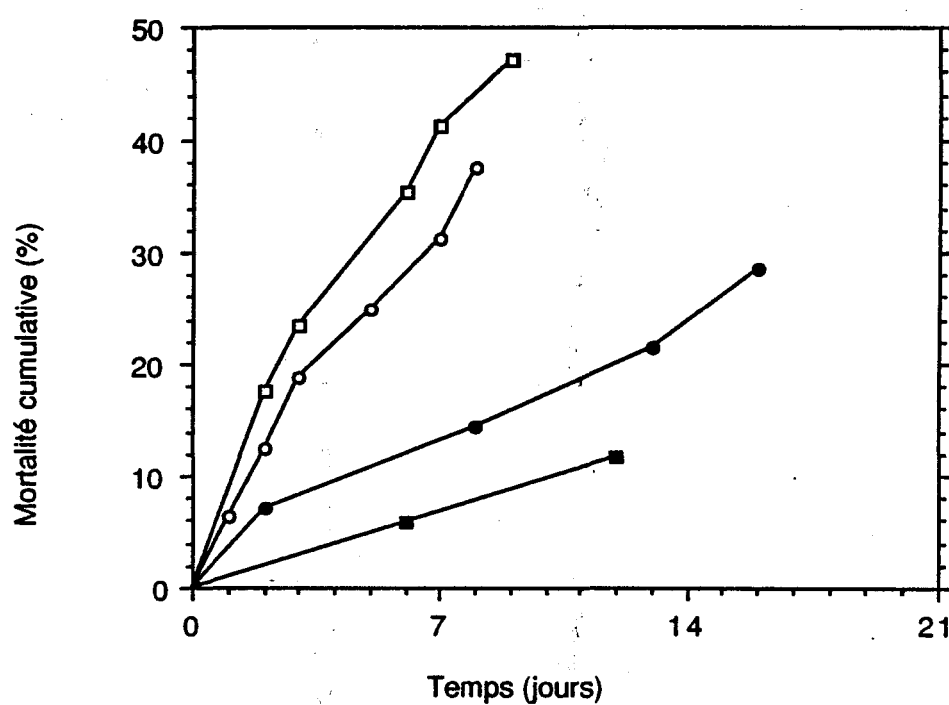


Figure 10: Mortalité cummulative pour les groupes transférés en eau salée à 32 parties par mille.

O-Témoins 14 jours, ●-Diète salée 14 jours,

□-Témoins 21 jours, ■-Diète salée 21 jours.

Le temps moyen de mortalité pour les poissons des groupes témoins indique que la mort des poissons survient principalement durant les premiers jours suite au transfert. La figure 10 indiquant les pourcentages de mortalité cumulative, illustre ce phénomène. On constate ainsi que la totalité des décès des témoins apparaît avant 10 jours suite au transfert en eau salée

Les premiers jours suite au transfert représentent la phase critique d'ajustement à l'eau salée. Cette période est caractérisée par de hautes concentrations d'ions plasmatiques et musculaires, et par la déshydratation des tissus (Black, 1951; Houston, 1959; Jackson, 1981). Si le contrôle de la régulation ionique, consistant en l'activation des mécanismes d'excrétion des sels par les branchies, n'est pas établi rapidement durant ce temps, le poisson subit des altérations physiologiques sévères pouvant conduire à la mort.

Pour les groupes expérimentaux, le temps moyen de mortalité est retardé à plus d'une semaine, soit après ou vers la fin de la période d'ajustement. Ces résultats suggèrent que la diète salée pourrait induire une tolérance accrue à l'eau salée en permettant une meilleure régulation hydrominérale durant la période critique d'adaptation, grâce aux préacclimatations induites avant le transfert.

Ainsi, l'augmentation de l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies et la réduction de l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ rénale

permettraient une réponse d'ajustement plus rapide face à la déshydratation et à l'excrétion des sels, évitant au poisson de subir les effets nocifs des hautes concentrations en sels du milieu.

Après 20 jours en eau salée, la survie et le temps moyen de survie des poissons alimentés avec la diète salée sont améliorés par les 2 différentes périodes de traitement, comparativement aux témoins. L'addition de sels inorganiques à la nourriture permet donc de réduire la mortalité suite au transfert d'ombles de fontaine en eau salée. Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Besner et Bernier (1986) sur l'omble de fontaine, et sur d'autres salmonidés par Zaugg et McLain (1969), Basulto (1976) et Jackson (1981).

On constate que le pourcentage de mortalité après 3 semaines de diète salée est inférieur à celui enregistré après 2 semaines de traitement, bien que l'on n'observa pas de différence entre les paramètres évalués après 2 et 3 semaines de traitement, principalement au niveau de la Na+K+ATPase des reins et des branchies. Il demeure possible que d'autres mécanismes se soient développés durant cette période, entre autres, au niveau de la différenciation des cellules à chlorures. Ces différences des pourcentages de mortalité pourraient également être attribuées à la petite taille de nos échantillons et à la grande variabilité de l'état physiologique relatif au potentiel d'hypoosmorégulation, telle qu'observée par Besner et al.

(1987) durant l'automne et l'hiver, entre autres, à cause de l'avancement de la maturité sexuelle.

Même si la diète salée augmente la survie durant les premiers jours, il semble que les mécanismes d'adaptation à l'eau salée ne soient pas également développés pour tous les individus. En ce sens, on peut supposer en se basant sur les résultats de McCormick et Naiman (1985), que les individus ayant atteint une pleine maturité sexuelle (principalement les mâles) n'ont pu complètement s'adapter et survivre. Expliquant ainsi que la majorité des poissons décédés des groupes alimentés à la diète salée aient tout de même survécus plus d'une semaine en eau salée (figure 10).

Après 20 jours, les survivants des 2 groupes (témoin et expérimental) présentent des valeurs non significativement différentes concernant la pression osmotique, le pourcentage d'eau et l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ branchiale et rénale. Ces résultats indiquent que les différences entre ces paramètres se manifestent bien avant 20 jours et que passé ce temps, les survivants atteignent éventuellement un stade comparable d'acclimatation à l'eau salée.

D'après les résultats de survie suite au transfert en eau salée et en considérant les expériences de Bath et Eddy, (1979a), Jackson, (1981) et de McCormick et Naiman, (1984) sur la cinétique de la teneur en ions plasmatiques et musculaires, et du pourcentage d'eau corporelle suite au

transfert en eau salée de salmonidés sans smoltification, on peut penser que le traitement par la diète salée permettrait de réduire l'importance des modifications hydrominérales survenant durant les premiers jours, évitant ainsi d'atteindre des niveaux létaux.

CHAPITRE 5
MÉTHODOLOGIE EXPÉRIENCE 2

5.1 Conditions de culture et traitements

Cette série d'expériences fut réalisée au printemps 1989 sur des ombles de fontaine de taille moyenne de $14,4 \pm 0,8$ cm provenant d'Aquaculture Manicouagan Saguenay Inc. (La Baie). Les poissons furent aléatoirement séparés en 3 groupes. Les traitements débutèrent lorsque les poissons commencèrent à s'alimenter normalement, soit après un peu moins de 2 semaines.

Les 2 premiers groupes furent maintenus en eau douce, dans un bassin rectangulaire séparé en 2 dans le sens de la circulation de l'eau. Le système était en circuit fermé et l'eau filtrée, aérée et maintenue à 11°C , circulait avec un débit de 60 litres par minute.

Un des groupes continua d'être nourri avec la moulée de base (témoin en eau douce) tandis que l'autre fut alimenté avec une diète salée (expérimental en eau douce). La quantité de sels ajoutée à la nourriture a été de 5% pour une période de 3 jours et de 10% durant 5 jours (Figure 11A).

Le troisième groupe subit une acclimatation progressive à l'eau salée par palier de salinités (expérimental en eau salée). Ce groupe était conservé dans un des compartiments du bassin circulaire de la série d'expériences précédentes.

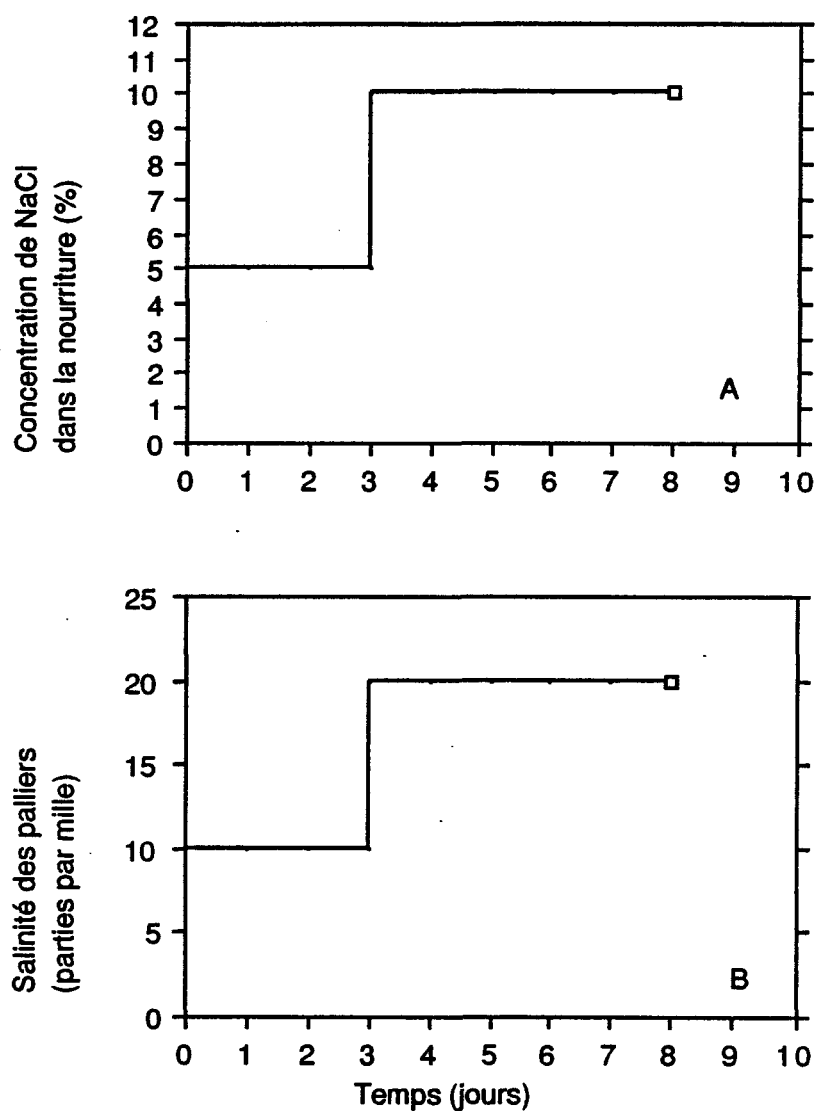


Figure 11: Durée des traitements. A-Évolution de la concentration de NaCl de la diète salée. B-Évolution de la salinité des paliers. □-Échantillonnage et transfert en eau salée à 28 parties par mille.

Après la période d'adaptation en eau douce, on porta la salinité à 10 parties par mille pour une période de 3 jours et à 20 parties par mille durant 5 jours (Figure 11B). La salinité était augmentée en moins de 2 heures par l'addition de solutions concentrées de sels marins. L'eau circulait en circuit fermé avec un débit de 30 l/min. et était filtrée et maintenue à 11°C. L'alimentation de ce groupe était identique à celle du groupe témoin.

5.2 Analyses et transferts en eau salée

Après la période de traitement, on préleva 4 poissons de chacun des groupes pour des analyses d'osmolarité du plasma et du muscle, du pourcentage d'eau des muscles latéraux et de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies. Le reste de la population fut retiré pour être transféré en eau salée.

Les groupes en eau douce furent transférés directement dans le bassin circulaire décrit précédemment où la salinité de l'eau était de 20 parties par mille. Le groupe déjà en eau salée fut transféré dans un autre compartiment afin de produire un stress causé par le transport, comparable pour tous les groupes. La salinité fut ensuite portée à 28 parties par mille en moins d'une heure. La salinité plus basse que celle de l'expérience précédente fut choisie en fonction de la petite taille des poissons, comme le suggère

l'étude de Jackson (1981). Après 24, 72 et 240 heures en eau salée, on retira un échantillon de 4 poissons de la population de chacun des groupes pour les analyses.

La préparation des tissus et les analyses concernant la détermination de l'osmolarité du plasma, du pourcentage d'eau du muscle et de l'activité de la Na+K+ATPase des branchies furent réalisées comme à la première expérience et sont décrites aux points 3.4 et 3.5.

On mesura l'osmolarité du muscle à partir des muscles séchés pour l'obtention du pourcentage d'eau. Après avoir été pesé et réduit en poudre, on homogénéisa le muscle dans de l'eau déionisée et on centrifugea à basse vitesse (centrifugeuse clinique) pour se débarrasser des grosses particules. On précipite ensuite la majorité des protéines dans un bain à 90°C et on détermine l'osmolarité du surnageant. L'osmolarité du muscle est exprimée en mOsm par litre d'eau contenue dans le muscle. Le pourcentage de variations intra-essai ne dépassa pas 3% et les faibles écarts-types avant le transfert, indiquent que cette méthode est relativement constante.

5.3 Tests statistiques

La signification statistique des modifications physiologiques observées après 8 jours de traitement, et

suite aux transferts en eau de mer pour chacun des groupes, a été évaluée en traitant les valeurs par une analyse de variance à un critère (ANOVA), suivi a posteriori par un test de Scheffé.

Une analyse de variance à 2 critères fut également utilisée afin de déterminer la différence entre les 3 groupes, concernant les variations des paramètres observés après 1, 3 et 10 jours suite aux transferts en eau salée. Tous les tests de cette expérience ont été réalisés au seuil de signification de 95%.

CHAPITRE 6

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION EXPÉRIENCE 2

6.1 Modifications de l'équilibre hydrominéral et de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ suite aux traitements.

6.1.1 Osmolarité du plasma

Après 8 jours de traitement, l'osmolarité du plasma (figure 12A) du groupe alimenté avec la diète salée est significativement plus élevée que celle du groupe témoin, avec une différence de 2,75%. Ainsi, on constate, comme lors de la première expérience, que les poissons nourris avec un supplément de sels dans leur nourriture n'éliminent pas complètement le surplus d'ions absorbés, provoquant ainsi une augmentation de la pression osmotique.

Toutefois, l'osmolarité des poissons acclimatés par plateaux de salinités (figure 12A) est statistiquement supérieure à celle des poissons des autres groupes. Ainsi, on observe après 3 et 5 jours dans une eau de 10 et 20 parties par mille, des variations de 9,5% par rapport au témoin et de 6,6% par rapport aux poissons nourris par la diète salée. Après 7-8 jours en eau salée à 20 parties par mille (transfert par paliers de salinités), McCormick et Naiman (1984) ont observé une augmentation de 5-10% de l'osmolarité du plasma et des concentrations plasmatiques de Na^+ et de Cl^- par rapport aux valeurs retrouvées en eau douce.

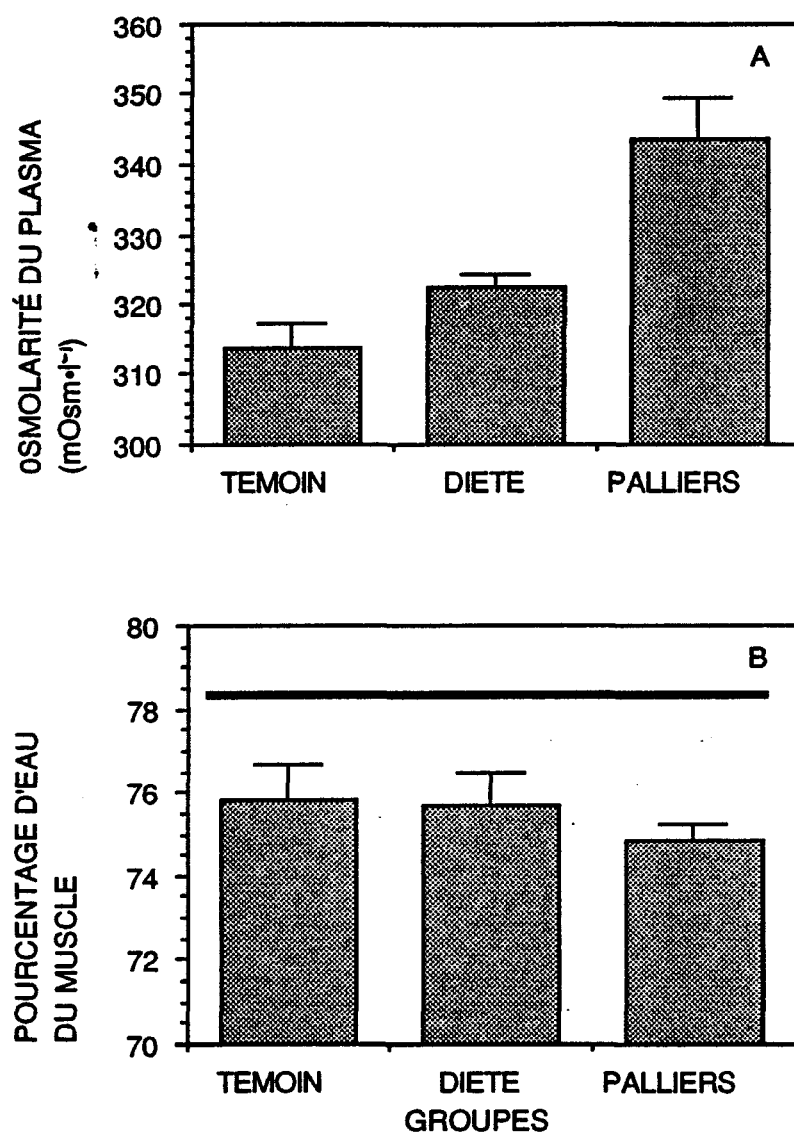


Figure 12: Modifications suite aux traitements.

A-Osmolarité du plasma, B-Pourcentage d'eau du muscle

Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

Nos résultats indiquent que le poisson en eau douce confronté à un surplus de sels maintient les concentrations ioniques du plasma à un niveau plus bas que le poisson dans un environnement salé.

Le poisson en eau douce étant déjà hyperosmotique par rapport à son milieu, il a tendance à perdre constamment des sels. On suppose également qu'il peut boire de l'eau afin de diluer les sels absorbée dans la nourriture. On a relié chez les anguilles le comportement de boire à une augmentation de l'osmolarité des tissus (Sharrat et al., 1964). Bien que l'induction de ce comportement par la diète salée soit à vérifier, il demeure qu'il permettrait au poisson de diminuer la concentration ionique du contenu stomacal.

Le poisson en eau douce n'est pas non plus confronté au problème de déshydratation rencontré en eau salée, et qui contribue à augmenter la concentration ionique. Finalement, le poisson alimenté avec une diète salée en eau douce peut relâcher de grandes quantités de sels par l'urine, tel que proposé par Shaw et al. (1975) et par les résultats de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ de la première expérience.

6.1.2 Pourcentage d'eau musculaire

Le pourcentage d'eau du muscle (Figure 12B) ne diffère pas significativement entre le groupe témoin et le groupe alimenté par la diète salée, maintenus en eau douce. Ainsi, tel qu'observé dans la première expérience, les sels absorbés par la diète salée ne provoquent pas de modifications observables au niveau du pourcentage d'eau du muscle.

Les poissons en eau salée subissent une légère déshydratation, quoique non significativement différente des 2 groupes en eau douce. Ceci indique un maintien ou un rétablissement rapide de l'équilibre hydrique en milieu hypertonique, mais de faible salinité (10 et 20 parties par mille).

6.1.3 Osmolarité du muscle

L'osmolarité du muscle (Figure 13A) est également altérée par les traitements. Comme pour le plasma, la diète salée provoque une augmentation de l'osmolarité au niveau du muscle par rapport aux témoins. Cette élévation de l'osmolarité du muscle demeure toutefois moindre que celle du groupe acclimaté par paliers de salinités.

On observe ainsi une augmentation significative par rapport au témoin de 10,8% pour les poissons alimentés par

la diète salée, et de 19,1% pour ceux acclimatés par paliers de salinités. Les sels ajoutés à la nourriture semblent donc affecter autant le plasma que les muscles, de façon similaire à la réaction provoquée par l'eau salée (Houston 1959, Parry 1961, Bath et Eddy 1979a), mais avec une importance moindre.

6.1.4 Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies

Comme lors de la première série d'expériences, l'activité spécifique de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ (Figure 13B) est augmentée significativement à la suite du traitement à la diète salée, de près de 80% par rapport au témoin. Ces résultats indiquent que l'addition de sels à la nourriture de l'omble de fontaine active les mécanismes de régulation hydrominérale aussi bien sur des poissons de petite taille traités au printemps, que sur des individus de taille supérieure ayant atteint leur maturité sexuelle et traités à l'automne.

On constate également que 8 jours de traitement permet une augmentation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$. Toutefois, l'augmentation des valeurs légèrement moindre que celle observée durant la première expérience suggère que la durée du traitement et/ou la taille des poissons ne permettaient pas une réponse équivalente de l'activité enzymatique.

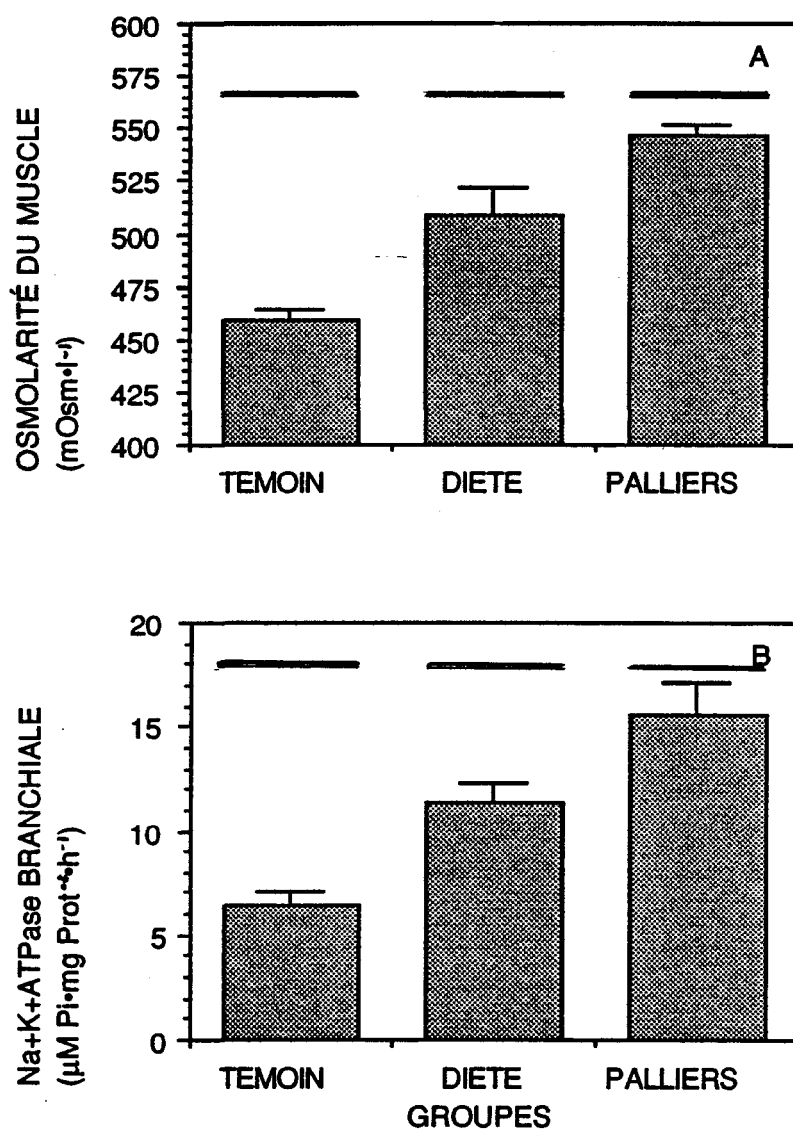


Figure 13: Modifications suite aux traitements.

A-Osmolarité du muscle, B-Activité de la Na+K+ATPase branchiale Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

Le groupe acclimaté par plateaux de salinités montre une hausse de l'activité de la Na⁺K⁺ATPase de 140% (figure 13B). Ainsi, pour une quantité moindre de sels absorbée, le groupe en eau salée atteint des valeurs supérieures à celles des poissons traités en eau douce. En eau salée, la majorité des sels est excrétée activement par les branchies. Nos résultats indiquent que l'excrétion branchiale active n'est utilisée que partiellement en eau douce pour éliminer un surplus de sel absorbé. Ce qui semble confirmer l'hypothèse de l'utilisation du système rénal comme voie d'excrétion principale des sels en eau douce, tel que proposé par Shaw et al (1975). On peut également constater que la voie rénale est particulièrement efficace en eau douce puisque la quantité d'ions internes demeure inférieure à celle des poissons en eau salée.

6.2 Cinétique de la balance hydrominérale et de l'activité de la Na⁺K⁺ATPase suite au transfert en eau salée.

6.2.1 L'osmolarité du plasma

Après 24 heures en eau salée, l'osmolarité du plasma du groupe témoin (figure 14A) s'est élevée de 31% au-dessus de la valeur initiale retrouvée en eau douce, soit une élévation de $4,03 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

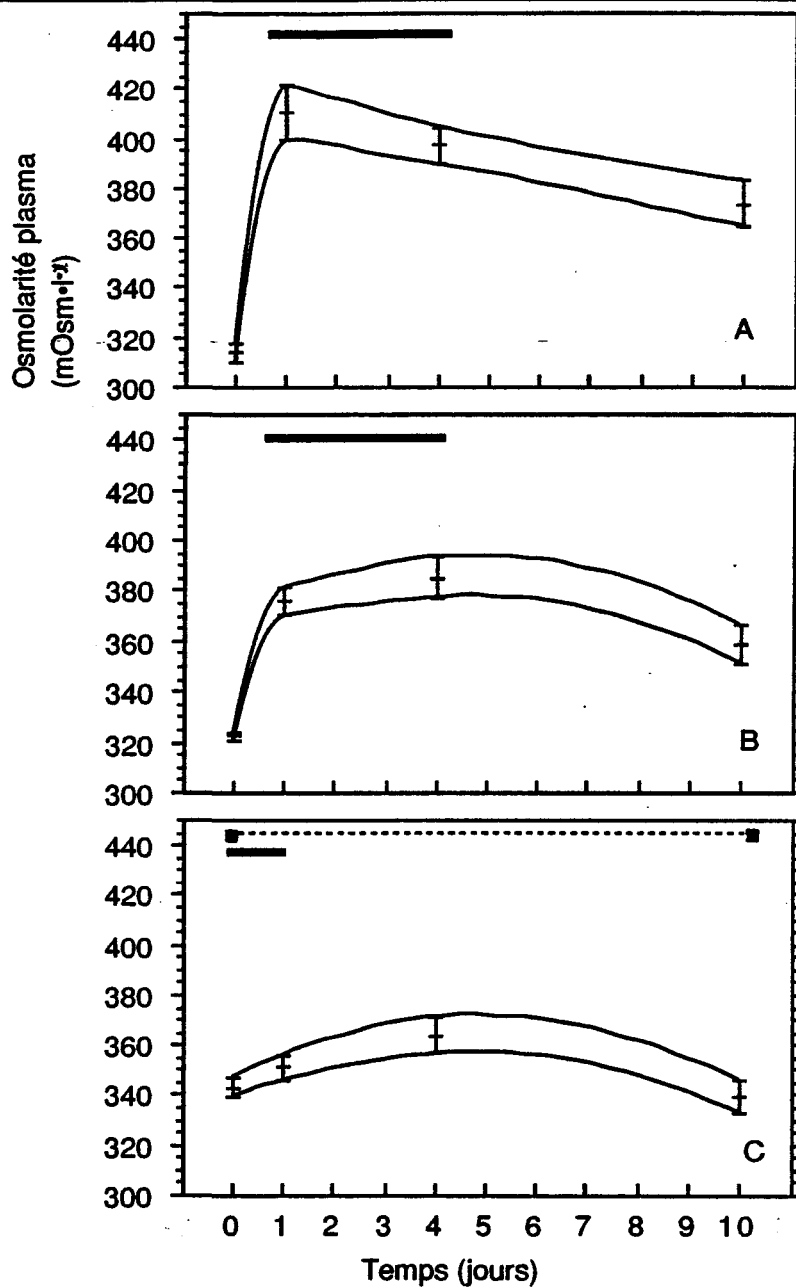


Figure 14: Cinétique de l'osmolarité du plasma suite au transfert en eau salée à 28 parties par mille. A-Témoins, B-Diète salée, C-Paliers de salinités. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

On peut supposer que la valeur atteinte après 24 heures, soit $410 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$, est près de la limite létale de l'osmolarité plasmatique. En effet, après 3 et 5 jours suite au transfert direct en eau salée, on observa 10 et 40% de mortalité. Jackson (1981) situa les limites létales de l'osmolarité plasmatique pour la truite arc-en-ciel aux environs de $420 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$, alors que Conte et Wagner (1965) observèrent un seuil plus élevé pour la truite steelhead ($450 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$), plus tolérante à cause d'une anadromie naturelle.

Les mortalités survenant durant la période d'ajustement, et les élévations drastiques de l'osmolarité montrent le faible potentiel d'hypoosmorégulation de l'omble de fontaine, et combien le poisson n'est pas prédisposé à un transfert direct en mer. On constate également en comparant les résultats de Jackson (1981) que pour un poids et une salinité équivalente suite au transfert, l'omble de fontaine possède un potentiel d'hypoosmorégulation moindre que la truite arc-en-ciel.

Le groupe alimenté à la diète salée subit également une augmentation significative de l'osmolarité plasmatique (figure 14B). Cette élévation est toutefois moins forte et moins rapide que celle des témoins. On observe ainsi suite au transfert, une augmentation de 17% en 24 heures, soit une élévation de l'osmolarité de $2,23 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, et une variation maximale de 20% après 72 heures. Les valeurs

atteintes après 24 heures sont significativement plus basse que celles des témoins (ANOVA, $p < 0,05$). Les préacclimatations induites par la diète salée sont donc efficaces pour diminuer le choc ionique suite au transfert en eau salée.

La concentration ionique du plasma du groupe acclimaté par plateaux de salinités (figure 14C) subit une augmentation maximale de 6% après 72 heures avec un taux de $0,31 \text{ mOsm.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ durant les premières 24 heures.

McCormick et Naiman (1984) ont également observé des valeurs maximales après 3 jours en eau salée, sur des ombles de fontaine acclimatés par plateaux de salinités. La période de temps entre le transfert et l'atteinte des valeurs maximales étant différente entre le groupe témoin et les 2 groupes expérimentaux, on suppose que la stratégie d'ajustement est différente selon l'état physiologique lors du transfert.

On s'aperçoit que le groupe alimenté par la diète salée en eau douce n'est pas aussi bien préparé au transfert en eau salée que le groupe acclimaté par plateaux de salinités. Toutefois, en se basant sur les résultats de Jackson (1977) qui indiquent une meilleure survie après 2 semaines de traitement, on peut penser qu'une période de 8 jours seulement est insuffisante pour induire une préacclimatation optimale avec un traitement par la diète salée.

Puisqu'aucune mortalité ne fut enregistrée dans les 2 groupes expérimentaux, il apparaît que les valeurs maximales atteintes par ces poissons sont inférieures à la limite létale d'osmolarité plasmatique. Ces 2 méthodes de préacclimatation sont donc efficaces, comparativement à un transfert direct en eau salée.

Les valeurs maximales suite au transfert en eau salée sont significativement plus élevées pour le groupe nourri à la diète salée que celles du groupe acclimaté en eau salée (ANOVA $p < 0,05$). On peut supposer qu'une salinité plus élevée du milieu aurait provoqué des taux de mortalité supérieurs sur les poissons alimentés à la diète salée, en étant plus près des limites létales d'osmolarité du plasma. Alexis et al. (1984) ont enregistré des limites létales des paramètres hydrominéraux, différentes selon la température d'acclimatation avant le transfert. Toutefois, puisque les 2 groupes expérimentaux ont été acclimatés aux mêmes températures, la limite létale ne devrait pas varier.

Après 10 jours en eau salée, l'osmolarité plasmatique du groupe acclimaté par paliers de salinités (figure 14C) revient à des valeurs non significativement différentes de celles observées avant le transfert. Celles du groupe témoin (figure 14A) et du groupe expérimental en eau douce (figure 14B) diminuent significativement par rapport au maximum, de 19% et 11% respectivement. L'osmolarité de ces poissons

demeure quand même plus élevée que celle du groupe acclimaté en eau salée.

Une analyse de variance à 2 critères des valeurs d'osmolarité observées après 1, 3 et 10 jours en eau salée démontre que statistiquement, les 3 groupes réagissent de façon différente. Ainsi, le groupe témoin conserve durant les 10 jours en eau salée, une osmolarité plasmatique supérieure aux groupes expérimentaux, et les poissons alimentés par la diète salée, supérieure au groupe acclimaté par paliers de salinités.

Concernant l'osmolarité du plasma, on peut présumer que les poissons du groupe acclimaté par plateaux de salinités se sont adaptés à l'eau salée en environ 10 jours, ces valeurs étant semblables à celles d'avant le transfert, soit près de $340 \text{ mOsm} \cdot \text{l}^{-1}$. Les 2 autres groupes souffriraient encore d'un déséquilibre ionique. D'après la différence observée entre 3 et 10 jours, et en supposant que le taux de rétablissement de l'osmolarité du plasma soit relativement constant, il faudrait encore près d'une dizaine de jours pour les poissons du groupe témoin pour atteindre une osmolarité comparable au groupe acclimaté par paliers de salinités. Il ne faudrait toutefois qu'environ 5 jours supplémentaires pour ceux traités par la diète salée.

A partir d'un examen visuel du tractus gastro-intestinal où l'on nota la présence de traces de nourriture comme résultat de l'alimentation, on remarqua qu'avant le transfert, tous les poissons s'étaient alimentés au dernier repas, dans la même mesure que le groupe témoin. Ainsi, les 2 méthodes d'acclimatation ne semblent pas avoir d'effet négatif sur l'activité d'alimentation.

On constate que l'alimentation est dépendante de l'osmolarité du milieu interne. Jackson (1981) nota chez la truite arc-en-ciel, un refus d'alimentation suite au transfert en eau salée, tant que l'osmolarité plasmatique dépasse et demeure au-dessus de 370 mOsm.l^{-1} .

Après 3 jours en eau salée à 28 parties par mille, seuls les poissons acclimatés par plateaux de salinités s'étaient nourris, dans une proportion de 75%. L'osmolarité plasmatique atteinte par ce groupe (figure 14C) à ce moment serait donc inférieure à la limite provoquant un refus d'alimentation. Puisqu'après 24 heures, l'osmolarité est moins élevée et qu'aucun poisson ne s'était alimenté, on suppose que le stress provoqué par la capture et le transfert serait plutôt responsable du refus d'alimentation.

Après 10 jours, certains poissons préacclimatés par la diète salée ont recommencé à s'alimenter tandis qu'aucune activité comparable ne fut observée chez les témoins.

On remarque donc une différence par rapport aux résultats observés durant l'expérience précédente, où l'on prévoyait un rétablissement de l'alimentation relativement similaire pour les poissons témoins et expérimentaux. Ces différences pourraient s'expliquer par l'état de maturité sexuelle des poissons de la première expérience, pouvant masquer l'amélioration du potentiel d'hypoosmorégulation induit par la diète salée.

Les 2 méthodes d'acclimatation permettraient donc de diminuer la période de jeûne provoquée par le transfert en eau salée. Toutefois, pour une même période de traitement, l'acclimatation par plateaux de salinités demeure plus efficace que le traitement à la diète salée testé dans cette expérience.

6.2.2 Pourcentage d'eau du muscle

Après 24 heures en eau salée, on observe une diminution importante du pourcentage d'eau du muscle pour le groupe témoin (figure 15A), de l'ordre de 5%. Les poissons alimentés par la diète salée subissent également une déshydratation de 2,5% par rapport à la situation en eau douce (figure 15B), mais qui est significativement moindre que le groupe précédent.

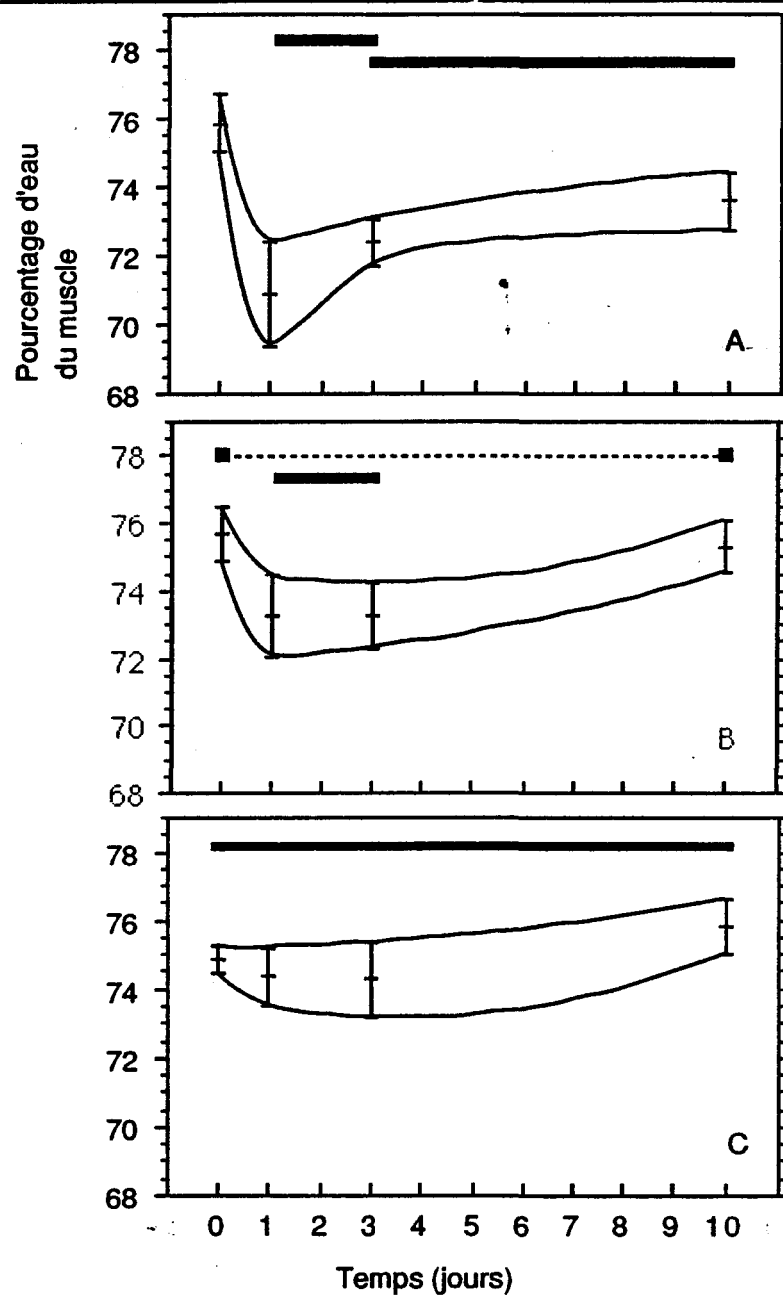


Figure 15: Cinétique du pourcentage d'eau du muscle suite au transfert en eau salée à 28 parties par mille. A-Témoins, B-Diète salée, C-Paliers de salinités. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

Au contraire, on n'observe pas de variations significatives du pourcentage d'eau musculaire concernant le groupe acclimaté par plateaux de salinités (figure 15C), et ce, durant toute la période passée en eau salée. Le séjour en eau de salinité intermédiaire, même sur une courte période, permettrait une acclimatation efficace de la régulation de l'eau en état d'hypoosmorégulation.

Malgré une constante hausse après 24 heures, le pourcentage d'eau du groupe témoin demeure significativement plus bas que celui du groupe acclimaté par plateaux de salinités. Ces poissons souffrent donc encore d'un déséquilibre hydrique, qu'ils ne parviennent pas à ajuster en moins de 10 jours.

La courbe du pourcentage d'eau musculaire des poissons nourris à la diète salée suit un tracé similaire à celle des témoins. Toutefois, les valeurs supérieures pour le groupe expérimental indiquent une déshydratation moindre que les poissons du groupe témoin. Après 10 jours, le pourcentage d'eau des tissus retourne à des valeurs qui ne diffèrent pas significativement de celles observées avant le transfert et de celles du groupe acclimaté par plateaux de salinités.

La diète salée influence donc avantageusement la régulation de l'eau. On suppose que le traitement pourrait affecter directement la régulation hydrique en permettant certaines prédispositions au niveau rénal tel que décrit par

Au contraire, on n'observe pas de variations significatives du pourcentage d'eau musculaire concernant le groupe acclimaté par plateaux de salinités (figure 15C), et ce, durant toute la période passée en eau salée. Le séjour en eau de salinité intermédiaire, même sur une courte période, permettrait une acclimatation efficace de la régulation de l'eau en état d'hypoosmorégulation.

Malgré une constante hausse après 24 heures, le pourcentage d'eau du groupe témoin demeure significativement plus bas que celui du groupe acclimaté par plateaux de salinités. Ces poissons souffrent donc encore d'un déséquilibre hydrique, qu'ils ne parviennent pas à ajuster en moins de 10 jours.

La courbe du pourcentage d'eau musculaire des poissons nourris à la diète salée suit un tracé similaire à celle des témoins. Toutefois, les valeurs supérieures pour le groupe expérimental indiquent une déshydratation moindre que les poissons du groupe témoin. Après 10 jours, le pourcentage d'eau des tissus retourne à des valeurs qui ne diffèrent pas significativement de celles observées avant le transfert et de celles du groupe acclimaté par plateaux de salinités.

La diète salée influence donc avantageusement la régulation de l'eau. On suppose que le traitement pourrait affecter directement la régulation hydrique en permettant certaines prédispositions au niveau rénal tel que décrit par

Bourguet et al. (1964) et/ou en réduisant la perméabilité hydrique des membranes, principalement celles des branchies (Sedhaheh et Gordon, 1969). La diète salée pourrait également agir de façon indirecte, grâce à une meilleure régulation ionique en eau salée, en permettant une excrétion supérieure des sels absorbés avec l'eau de mer bue afin de contrer la déshydratation.

Les préacclimatations améliorant la régulation de l'eau pour le groupe alimenté à la diète salée ne sont toutefois pas aussi efficaces que celles du groupe acclimaté par paliers de salinités. Il est possible que la pression osmotique plus basse en eau douce soit responsable de la différence, démontrant une certaine limite d'efficacité du traitement en eau douce.

6.2.3 Osmolarité du muscle

Après 24 heures en eau salée, l'osmolarité du muscle des poissons du groupe témoin (figure 16A) s'élève drastiquement, avec une augmentation de 45%. Comme pour l'osmolarité du plasma, la variation importante survenant en eau salée indique la sévérité du choc ionique suite au transfert.

Les 2 groupes expérimentaux atteignent également des valeurs maximales après 24 heures (figure 16B et 16C). Bien

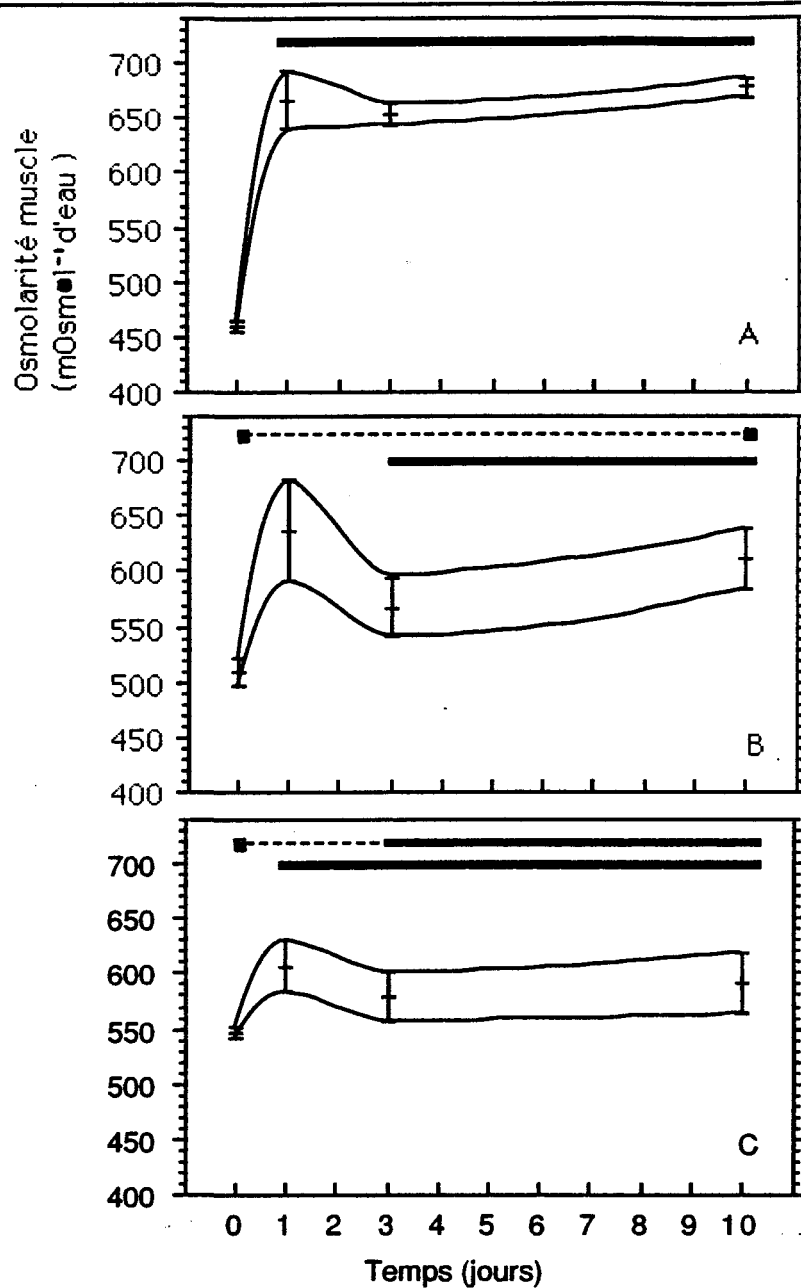


Figure 16: Cinétique de l'osmolarité du muscle suite au transfert en eau salée à 28 parties par mille. A-Témoins, B-Diète salée, C-Paliers de salinités. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$).

que moins élevées, ces valeurs ne diffèrent pas significativement de celles du témoin (ANOVA, $p < 0,05$).

On constate toutefois que l'amplitude des variations suite au transfert est beaucoup moindre que celle du groupe témoin. Ainsi, les différences sont de 25% pour le groupe traité avec la diète salée et de 11% pour celui acclimaté par paliers de salinités.

D'après la cinétique de l'osmolarité du muscle, les 2 groupes expérimentaux semblent avoir atteint un nouvel équilibre avant 10 jours, les valeurs ne différant pas statistiquement entre 3 et 10 jours et entre les 2 groupes. De plus, l'osmolarité musculaire des poissons acclimatés en eau salée revient à des valeurs non significativement différentes de celle d'avant le transfert. Il en est cependant autrement pour le témoin qui semble également avoir atteint un plateau, mais qui est significativement plus élevé que celui des groupes précédents (ANOVA $p < 0,05$). Les poissons de ce groupe souffriraient encore d'un déséquilibre ionique, comme au niveau du plasma.

L'augmentation de l'osmolarité du muscle provient d'une nouvelle répartition de l'eau et des solutés permettant une réhydratation du plasma à partir de l'eau cellulaire (Houston 1959). Contrairement à ce que l'on aurait dû observer, l'osmolarité du muscle est supérieure à l'osmolarité plasmatique. De plus, on constate que pour ces

2 paramètres, les groupes réagissent de façon différente suite au transfert en eau salée. L'osmolarité plasmatique était significativement différente pour les 3 groupes suite au transfert (analyse de variance à 2 critères); l'osmolarité du muscle des 2 groupes préacclimatés ne diffère pas statistiquement en eau salée, alors que l'osmolarité du muscle des témoins est significativement supérieure.

On s'aperçoit qu'entre les groupes, l'osmolarité du muscle réagit plutôt de façon similaire au pourcentage d'eau du muscle. En ce sens, il faudrait évaluer l'influence de la quantité de plasma contenue dans les tissus musculaires prélevés. Bath et Eddy (1979a) observèrent un pourcentage d'eau supérieur dans le muscle de la truite arc-en-ciel transférée en eau salée, comparativement au pourcentage d'eau contenue dans l'ensemble du corps.

Bath et Eddy (1979a) indiquent que les concentrations supérieures des ions Cl^- en eau de mer provoquent une diffusion plus importante de cet ion et les potentiels favorisent l'entrée du Cl^- le long du gradient électrique. En ce sens, Barron (1986b) observait sur des alevins de saumon coho (Oncorhynchus kisutch) suite à une augmentation progressive de la salinité, une élévation de plus de 140% des ions Cl^- musculaires après une semaine dans une eau salée d'environ 13 parties par mille. L'osmolarité étant

créée par l'ensemble des solutés, elle ne tient pas compte précisément des variations du chlore.

6.2.4 Activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des branchies

Suite au transfert en eau salée, il semble y avoir une augmentation progressive de l'activité enzymatique pour tous les groupes (figures 18A, B, C). Les valeurs maximales étant toujours retrouvées chez le groupe acclimaté en eau salée et les valeurs minimales chez les témoins.

Toutefois, on constate pour tous les groupes, que l'activité enzymatique après 24 heures ne diffère pas significativement de celle observée avant le transfert en eau salée. De façon similaire, Madsen et Naamansen (1989) ont observé sur la truite arc-en-ciel, que l'activité $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ des premiers jours en eau salée demeurerait similaire à celle retrouvée en eau douce. Ainsi, l'excrétion des sels par les branchies doit demeurer relativement la même qu'avant le transfert, tel que décrit durant la phase d'ajustement à l'eau salée (Houston, 1959; Jackson, 1981). La diète salée ou l'acclimatation par plateaux de salinités provoquant une augmentation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ avant le transfert en eau salée, permet donc de réduire le choc ionique suite au transfert, en attendant l'activation complète des mécanismes de régulation.

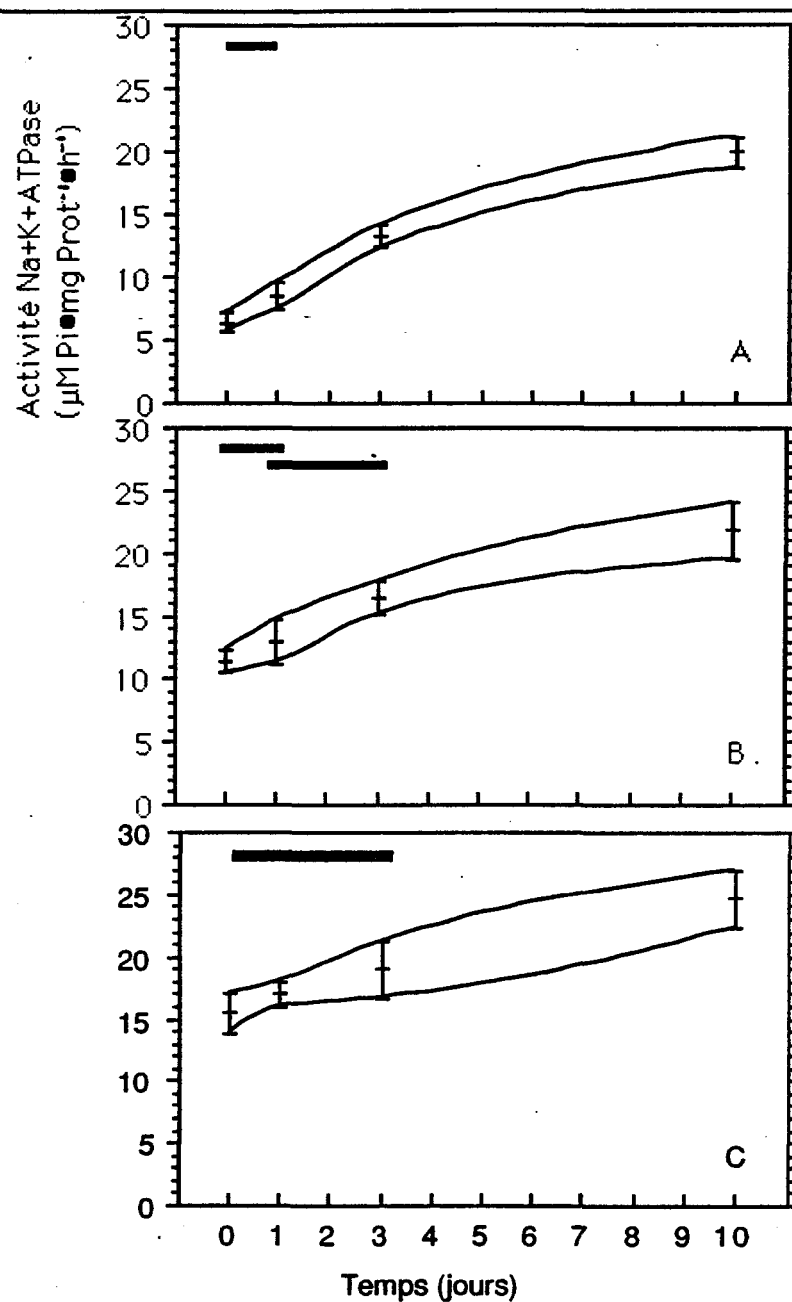


Figure 17: Cinétique de l'activité de la Na+K+ATPase des branchies suite au transfert en eau salée à 28 parties par mille. A-Témoins, B-Diète salée, C-Paliers de salinités. Les barres horizontales relient les valeurs non significativement différentes (ANOVA $p > 0,05$)

L'augmentation de l'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ survient principalement entre 24 et 72 heures suivant le transfert. Après 10 jours, on observe pour le groupe acclimaté par paliers de salinités, une variation de 60% par rapport à l'activité enzymatique avant le transfert. Le groupe alimenté par la diète salée montre une élévation de 92%, mais l'activité enzymatique demeure inférieure à celle du groupe précédent. Le groupe témoin subit une hausse de 211% par rapport aux valeurs d'avant le transfert, mais l'activité enzymatique demeure moindre que celle des autres groupes.

Une analyse de variance à 2 critères indique que les 3 groupes possèdent une activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ différente suite au transfert en eau salée. On observe ainsi les valeurs les plus élevées pour le groupe acclimaté par paliers de salinités, suivi du groupe alimenté par la diète salée.

Puisque les poissons acclimatés par plateaux de salinités ne subissent pas de variation hydrique significative suite au transfert, la baisse de l'osmolarité plasmatique après 3 jours serait reliée à une excrétion supérieure à l'entrée des sels. L'acclimatation graduelle au milieu hypertonique entraînant un développement efficace de la régulation hydrique permettrait d'éviter l'absorption d'un grand volume d'eau salée suite au transfert. Combinée à une

excrétion ionique élevée, la concentration interne des sels demeure relativement stable.

L'activité de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ moindre pour les poissons des 2 autres groupes laisse présumer que l'excrétion active ne parvient pas encore à neutraliser l'entrée des sels. Bath et Eddy (1979a) indiquent que les quantités d'eau salée bues diminuent rapidement durant les 8 heures suivant le transfert, limitant ainsi l'entrée des sels par cette voie. L'osmolarité étant augmentée par le choc hydrique important résultant du transfert de l'eau douce à l'eau salée, on suppose que l'arrêt de l'augmentation de l'osmolarité après 24 heures pour les témoins et après 72 heures pour les poissons alimentés par la diète, serait alors provoquée par la réhydratation du milieu interne. La différence de temps entre ces 2 groupes s'expliquerait par une réhydratation plus importante pour le groupe témoin, ayant subi un choc hydrique plus sévère.

CHAPITRE 7

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les expériences réalisées ont permis de démontrer qu'il est possible d'induire une préacclimatation physiologique à l'eau de mer, sur des ombles de fontaine maintenus en eau douce et alimentés avec un supplément de sels dans leur nourriture. Les prédispositions développées se traduisent suite au transfert en mer par un déséquilibre hydrominéral moindre, des taux de survie accrus et un rétablissement plus rapide du bilan hydrominéral vers un nouvel équilibre.

En accord avec les résultats de Shaw et al. (1975), l'addition de sels inorganiques à la nourriture n'affecte pas, sur de courtes périodes d'utilisation, la transformation alimentaire, estimée à partir de l'indice hépato-somatique considéré comme indicateur de croissance, d'alimentation quotidienne et de réserve d'énergie, et du facteur de condition. Le traitement n'influence pas non plus l'appétit. En ce sens, une augmentation graduelle de la concentration de sels dans la nourriture permet d'éviter les réactions de rejet lors de l'alimentation.

Le poisson alimenté avec la diète salée n'élimine pas totalement le surplus d'ions absorbés. On observe donc une augmentation de l'osmolarité du milieu interne, au niveau du plasma et du muscle. Bien que l'osmolarité augmente de façon moins importante lors des traitements en eau douce, on observe des variations ioniques comparables suite au transfert en eau salée.

Les modifications causées par le traitement semblent toutefois n'induire aucune conséquence néfaste, autant sur des ombles matures sexuellement à l'automne que sur des poissons de petite taille au printemps, contrairement aux mortalités observées lors des essais de Besner et Bernier (1986). Il est possible que l'élévation graduelle de la concentration de sels dans la nourriture réduise le choc ionique tout en permettant une acclimatation progressive au surplus de sels ingérés.

Le traitement ne provoque aucune modification du pourcentage d'eau du muscle, à l'opposé des observations de Basulto (1976) et de Phillips (1947). On présume que certaines modifications de la régulation osmotique soient quand même induites par le traitement, au niveau du rein par une diminution d'urine produite et au niveau des branchies, en réduisant la perméabilité hydrique, tel qu'observé par Bourguet et al. (1964) et Sedaheh et Gordon (1969). Ces changements permettraient un ajustement plus rapide et une déshydratation moindre lors du transfert en eau salée.

La diète salée induit également des préacclimations ioniques en augmentant l'activité spécifique de la Na+K+ATPase des branchies et en diminuant celle des reins, se rapprochant ainsi de l'état observé en eau salée. Ce traitement provoque des réactions similaires pour l'activité enzymatique des branchies pour les différents salmonidés traités (Zaugg et McLain, 1969; Salman et Eddy, 1987).

On suppose des voies d'excrétion des surplus de sels différentes selon la salinité du milieu: par les branchies en eau salée, et principalement par l'intermédiaire des reins, en eau douce.

Un certain équilibre entre la quantité de sels absorbés et excrétés, semble être atteint après quelques temps. En ce sens, il ne semble pas avantageux de prolonger les traitements, du moins à des concentrations fixes de sels. Ces résultats sont en accord avec ceux de Jackson (1977) et permettent d'expliquer pourquoi lors de ces expériences, les taux de survie demeurent relativement stables après 14 jours.

Les poissons transférés sans traitement au préalable, atteignent rapidement des valeurs d'osmolarité et de déshydratation proches ou dépassant les limites létales, expliquant les hauts taux de mortalité durant les premiers jours. Grâce aux préacclimations qu'elle induit, la diète salée diminue les pourcentages de mortalité suite à un transfert en eau salée. Elle réduit le déséquilibre hydrominéral et permet un rétablissement plus rapide vers les valeurs retrouvées avant le transfert. Le traitement permet également une reprise plus rapide de l'alimentation en mer.

Même s'il est probable qu'un traitement de seulement 8 jours soit insuffisant avec la diète salée à 10%,

l'acclimatation par plateaux de salinités appliquée sur une même période de temps demeure plus efficace en terme de prédisposition et de contrôle subséquent en eau salée. Toutefois, même s'il est possible d'induire une activation des mécanismes d'adaptation à l'eau salée en eau douce, tous les mécanismes ne seront probablement jamais complètement fonctionnels, à cause de la différence de pression osmotique entre les 2 milieux.

Il serait intéressant de tester une diète salée sur des poissons placés en milieu légèrement salé. On propose en ce sens, de débiter la distribution de nourriture salée en eau douce, afin d'activer les mécanismes d'excrétion de sels induits en eau douce. Les effets de la diète salée en eau douce n'ayant pas de conséquences néfastes sur la croissance, la durée de ce traitement peut être variable. Tout en poursuivant la diète salée, on augmente la salinité de l'eau. Des tests sur la durée et la salinité optimale, combinés à la diète salée devraient être réalisés. On suppose toutefois que quelques jours seulement dans une eau à 20 parties par mille permettraient une acclimatation efficace. Le passage en eau salée intermédiaire permettrait également d'éliminer le problème d'oedème provoqué par la diète salée en eau douce, avant le transfert en mer. Shaw et al. (1975) n'observèrent pas de problème relié à l'incorporation d'un surplus de sels pour des poissons maintenus en eau salée. De plus, la combinaison des 2

méthodes pourrait permettre de diminuer la consommation d'eau salée dans les installations où ce facteur est limitant, par exemple dans les piscicultures éloignées des régions côtières.

L'action des sels ajoutés à la nourriture semble indépendante de la taille et de la saison. Toutefois, en se basant sur nos résultats et ceux des expériences de McCormick et Naiman (1984) et de Besner et al. (1987), l'application de ces traitements serait plus avantageuse sur des individus de petite taille au printemps, alors que le potentiel d'hypoosmorégulation semble optimal durant cette période de l'année.

La diète salée qui est d'un usage moins complexe, plus économique et moins risqué que l'acclimatation par paliers, est une alternative intéressante pour préacclimater des ombles de fontaine à l'eau salée, tout en tenant compte de leur faible euryhalinité. En ce sens, des études sur la croissance et la survie lors des transferts impliquant des variations importantes de température et de salinité seraient pertinentes concernant la rentabilité de cette pratique.

Les expériences de Zaugg et al. (1983) sur le sea-ranching du saumon chinook (Oncorhynchus tsawytscha), ont démontré la possibilité d'améliorer les taux de retour par des traitements préalables aux diètes salées. Ajoutée aux

taux de retour élevés pour l'omble de fontaine (Whoriskey et al., 1981) et à la possibilité d'augmenter les taux de survie par les traitements, l'intégration de ces pratiques pourrait être intéressante en aquiculture.

Il demeure encore toutefois plusieurs points à éclaircir concernant l'addition de sels inorganiques à la nourriture. Par exemple, on peut se demander si un pourcentage supérieur de sels à la nourriture pourrait permettre une réponse accrue des mécanismes d'acclimatation. En ce sens l'usage de concentrations intermédiaires de sels pourrait être une solution avantageuse, en diminuant le stress initial. Une fréquence élevée de la distribution de la ration alimentaire quotidienne pourrait également être efficace, en évitant une augmentation ponctuelle de la quantité de sels absorbés, tout en conservant des quantités quotidiennes totales identiques.

Il faudrait également déterminer la persistance des modifications induites, en période de jeûne en eau douce. Cette période sans alimentation recommandée avant un transport ajoutée au temps pris pour le transfert des poissons de l'eau douce à la mer pourrait influencer les résultats.

En se basant sur les effets des hormones, tels que cités en littérature, les modifications provoquées par la diète salée impliqueraient une hausse de la concentration de

cortisol et une baisse de celle de la prolactine. Cependant, il serait pertinent de vérifier les effets de la nourriture salée sur le système endocrinien, en relation avec les mécanismes d'osmorégulation. Ces résultats pourraient permettre de conjuguer ce traitement à d'autres facteurs tels la photopériode et la température qui sont impliqués entre autres dans la smoltification des salmonidés anadromes (Zaugg et Warner, 1973; McCormick et al., 1987) ou certains traitements hormonaux complémentaires, largement traités dans la littérature. Une variété de stimuli opérant en synergie pourrait permettre une activation accrue (si possible en eau douce) de certains mécanismes qui ne semblent pas totalement développés par la diète salée seule.

CHAPITRE 8

RÉFÉRENCES

- Alexis M. N., Papaparaskeva-Papoutsoglou E. and Papoutsoglou S., 1984. Influence of acclimation temperature on the osmotic regulation and survival of rainbow trout (Salmo gairdneri) rapidly transferred from fresh water to sea water. *Aquaculture*, 40 : 333-341.
- Barron M. G., 1986a. Endocrine control of smoltification in anadromous salmonids. *J. Endocr.*, 108: 313-319.
- Barron M. G., 1986b. Tissue chloride levels of coho salmon fry during progressive salinity exposure, *Prog. Fish Cult.*, 48 : 294-296.
- Basulto S., 1976. Induced saltwater tolerance in connection with inorganic salts in the feeding of Atlantic salmon (Salmo salar L.). *Aquaculture*, 8 : 45-55.
- Bath R. N. and Eddy F. B., 1979a. Salt and water balance in rainbow trout (Salmo gairdneri) rapidly transferred from fresh water to sea water. *J. Exp. Biol.* 83 : 193-202.
- Bath R. N. and Eddy F. B., 1979b. Ionic and respiratory regulation in rainbow trout during rapid transfer to seawater. *J. Comp. Physiol.*, 134: 351-357.
- Besner M. and Bernier L., 1986. L'adaptation des salmonidés à l'eau de mer. In: Colloque sur l'aquiculture: les perspectives d'avenir en aquiculture. Conseil des productions animales du Québec, M.A.P.A.Q., 183 pages.
- Besner M. and Pelletier D., 1991. Adaptation of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*, to direct transfer to sea water in spring and summer. *Aquaculture*, 97: 217-230.
- Besner M., Pelletier D. and Bernier L., 1987. Adaptation de l'omble de fontaine à l'eau de mer. *C. r. Ass. Ann. Assoc. Aquicole Canada*, 1: 58-59
- Black V. S., 1951, Changes in body chloride, density and water content of chum and coho salmon fry transferred from fresh water to sea water. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 8: 164-176.
- Blackburn J. and Clarke W. C., 1987. Revised procedure for the 24 hour seawater challenge test to measure seawater adaptability of juvenile salmonids. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1515: 35 p.

- Boeuf G and Harache Y., 1982. Criteria for adaptation of salmonids to high salinity seawater in France. *Aquaculture*, 28: 163-176.
- Boeuf G and Harache Y., 1984. Adaptation osmotique à l'eau de mer de différentes espèces (Salmo trutta, Salmo gairdneri, Salvelinus fontinalis) et hybride (Salmo trutta ♀ x Salvelinus fontinalis ♂) de salmonidés. *Aquaculture*, 40:343-358.
- Boeuf G., Le Roux A., Gaignon J. L. and Harache Y., 1985. Gill (Na+K+)-ATPase activity and smolting in Atlantic salmon (Salmo salar L.) in France. *Aquaculture*, 45: 73-81.
- Bourguet J., Lahlouh B and Maetz J., 1964. Modifications expérimentales de l'équilibre hydrominéral et de l'osmorégulation chez Carassius auratus. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 4: 563-576.
- Brett J. R., 1971. Satiation time, appetite and maximum food intake of sockeye salmon (Oncorhynchus nerka). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28: 409-415.
- Bulow F. G., Coborn Jr C. B. and Cobb C. S., 1978. Comparison of two blue gills population by means of the RNA-DNA ratio and liver somatic index. *Trans. Am. Fish Soc.*, 107: 799-803.
- Colville T. P., Richards R. H. and Dobbie J. W., 1983. Variations in the renal corpuscular morphology with adaptation to sea water in the rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. *J. Fish Biol.*, 23 : 451-456.
- Conte F. P. and Wagner H. H., 1965, Development of osmotic and ionic regulation in the juvenile steelhead trout (Salmo gairdneri). *Comp Biochem. Physiol.*, 14: 603-620.
- Epstein F. N., Manitus A., Weinstein E., Katz A. I. and Pickford G.E., 1969. Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase in kidney of Fundulus heteroclitus adapted to fresh water and salt water. *Yale J. Biol. Med.* 41: 388-393.
- Epstein F. H., Silva P. and Kormanik G., 1980. Role of Na-K-ATPase in chloride cell fonction; *Am. J. Physiol.*, 238 : R246-R250.
- Farmer G. J., Ritter J. A. and Ashfield D., 1978. Sea water adaptation and pre-smolt transformation of juvenile Atlantic salmon Salmo salar. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 35: 93-100.

- Folmar L. C and Dickhoff W. W., 1980. The parr-smolt transformation (smoltification) and sea water adaptation in salmonids, a review of selected literature. *Aquaculture*, 21: 1-37.
- Ford P., 1958. Studies on the development of the kidney of the Pacific pink salmon (Oncorhynchus gorbuscha Walbaum) 11. Variation in the glomerular count of the kidney of the pacific pink salmon. *Can. J. Zool.*, 36: 45-47.
- Forrest J. N., Cohen A. D. Schon D. A. and Epstein F. H., 1973. Na transfer and Na+K+ATPase in gills during adaptation to sea water: effect of cortisol. *Am. J. Physiol.*, 224: 709-713.
- Foskett J. K. and Scheffey C., 1982. The chloride cell: definitive identification as the salt-secretory cell in teleosts. *Science*, 215: 164-166.
- Harrache Y., Boeuf G. and Lassere P., 1980. Osmotic adaptation of Oncorhynchus kisutch Walbaum 111: Survival and growth of juvenile coho salmon transferred to sea water at various time of the year. *Aquaculture*, 19: 253-273.
- Hartree E. F., 1972. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.*, 48: 422-427.
- Hoar W. S. 1976. Smolt transformation: evolution, behaviour and physiology. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 1234-1252.
- Holmes W. N. and McBean R. L., 1963. Studies on the glomerular filtration rate or rainbow trout (Salmo gairdneri). *J. Exp. Biol.*, 40: 335-341.
- Houston A. H., 1959. Osmoregulatory adaptation of steelhead trout (Salmo gairdneri Richardson) to sea water. *Can. J. Zool.* 37: 729-748.
- Isaksson A., 1988. *Salmo* ranching; a world review. *Aquaculture*, 75: 1-33.
- Jackson A. J., 1977. Reducing trout mortalities after seawater transfer. *Fish Farming Int.*, 4: 31-32.
- Jackson A. J., 1981. Osmotic regulation in rainbow trout (Salmo gairdneri) following transfert to seawater; *Aquaculture*, 24: 143-151

- Jampol L. M. and Epstein F. N., 1970. Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase and osmotic regulation by fishes. *Am. J. Physiol.*, 218: 607-611
- Johnston C. E., Birt T. P. and Murphy J. L., 1983. Branchial sodium-potassium ATPase activity and growth of rainbow trout in seawater. *Prog. Fish-Cult.* 45(1): 19-23.
- Johnston C. E. and Cheverie J. C., 1985. Comparative analysis of ionoregulation in rainbow trout (Salmo gairdneri) of different sizes following rapid and slow salinity adaptation; *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42 : 1994-2003.
- Johnson S. L., Ewing R. D. and Lichatowick J. A., 1977. Characterisation of gill (sodium potassium ion) activated adenosine triphosphate from chinook salmon, Oncorhynchus tshawytscha. *J. Exp. Zool.* 199: 345-354.
- Landless P. J. 1976. Acclimation of rainbow trout to sea water. *Aquaculture*, 7 : 173-179.
- Langdon J. S. and Thorpe J. E., 1984. Response of the gill Na+K+ATPase activity, succinic dehydrogenase activity and chloride cells to saltwater adaptation in Atlantic salmon, Salmo salar L., parr and smolt. *J. Fish Biol.*, 24: 323-331.
- Laserrre P., Boeuf G. and Harache Y., 1978. Osmotic adaptation of Oncorhynchus kisutch Walbaum. 1. Seasonal variations of gill Na+K+ATPase activity in coho salmon, 0+ age and yearling, reared in fresh water. *Aquaculture*, 14: 365-382.
- Lowry O. H., Roseborough N. J., Farr A. L. and Randall R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- Lubin R. T., Rourke A. W. and Bradley T. M., 1989. Ultrastructural alterations in branchial chloride cells of Atlantic salmon, Salmo salar, during parr-smolt transformation and early development in sea water. *J. Fish Biol.*, 34 : 259-272.
- McCartney T. H., 1976. Sodium-potassium dependent adenosine triphosphate activity in gills and kidneys of Atlantic salmon (Salmo salar). *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 53 : 351-353.

- MacLeod M. G., 1977. Effects of salinity on food intake, absorption and conversion in the rainbow trout Salmo gairdneri. Mar. Biol., 43: 93-102.
- Madsen S. S. and Naamansen E. T., 1989, Plasma ionic regulation and gill Na⁺/K⁺ATPase change during rapid transfer to sea water of yearling rainbow trout Salmo gairdneri: time course and seasonal variations. J. Fish Biol. 34: 829-840.
- Maetz J., 1969. Sea water teleosts, evidence for a sodium potassium exchange in ion regulations of the eel and other teleosts. Science, N. Y. 166: 613-615.
- Maetz J. and Romeu F. G., 1964. The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish. Carassius auratus. II. Evidence for NH₄⁺/Na⁺ and HCO₃⁻/Cl⁻ exchanges. J. Gen. Physiol., 47: 1209-1227.
- McCormick S. D. and Naiman R. J., 1984. Osmoregulation in the brook trout Salvelinus fontinalis-II. Effects of size, age and photoperiod on sea water survival and ionic regulation. Comp. Biochem. Physiol., 79A (1): 17-28.
- McCormick S. D. and Naiman R. J., 1985. Hypoosmoregulation in an anadromous teleost: influence of sex and maturation. J. Exp. Zool., 234: 193-198.
- McCormick S. D., Naiman R. J. and Montgomery E. T., 1985. Physiological smolt characteristics of anadromous and non-anadromous brook trout (Salvelinus fontinalis) and Atlantic salmon (Salmo salar). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42 : 529-538.
- McCormick S. D., Saunders R. L., Henderson E. B. and Harmon P. R., 1987. Photoperiod control of parr-smolt transformation in Atlantic salmon (Salmo salar): Changes in salinity tolerance, gill Na⁺,K⁺-ATPase activity and plasma thyroid hormones. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 1462-1468
- McKay L. R. and Gjerde B., 1985. The effect of salinity on growth of rainbow trout. Aquaculture, 49 : 325-331.
- Parry G., 1961. Osmotic and ionic change in blood and muscle of migrating salmonids. J. Exp. Biol., 38: 411-425.
- Pickford G. E. and Phillips J. C., 1959. Prolactin a factor promoting the survival of hypophysectomised killifish in fresh water. Science, 130: 453.

- Phillips Jr A. M., 1947. The physiological effect of sodium chloride upon brook trout. Trans. Am. Fish. Soc. 74 : 297-309.
- Prunet P. and Boeuf G., 1985. Plasma prolactin level during transfer of rainbow trout (Salmo gairneri) and Atlantic salmon (Salmo salar) from fresh water to sea water. Aquaculture. 45: 167-176.
- Richman N. H. III, Tai de Diaz S., Nishioka R. S. Prunet P. and Bern H. A., 1987. Osmoregulatory and endocrine relationships with chloride cell morphology and density during smoltification in coho salmon (Oncorhynchus kisutch). Aquaculture, 60: 265-285.
- Salman N. A. and Eddy F. B., 1987. Response of chloride cell numbers and gill Na⁺ K⁺ ATPase activity of freshwater rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson) to salt feeding. Aquaculture, 61:41-48.
- Salman N. A. and Eddy F. B., 1988. Effect of dietary sodium chloride on growth, food intake and conversion efficiency in rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). Aquaculture, 70: 131-144.
- Saunders R. L. and Henderson E. B., 1978. Changes in gill ATPase activity and smolt status of Atlantic salmon (Salmo salar). J. Fish. Res. Bd. Can., 35:1542-1546.
- Sedgwick S. D., 1970. Rainbow trout farming in Scotland. Farming trout in salt water. Scot. Agric., 49: 180-185.
- Sharratt M. B. Bellamy D and Chester Jones I., 1964. Adaptation of the silver eel (Anguilla anguilla L.) to sea water and to artificial media together with observations of the role of the gut. Comp. Biochem. Physiol., 11: 19-30.
- Shaw H. M., Saunders R. L., Hall H.C. and Henderson E. B., 1975. Effect of dietary sodium chloride on growth of Atlantic salmon (Salmo salar). J. Fish. Res. Board Can., 32 : 1813-1819.
- Shehadeh Z. H. and Gordon M. S., 1969. The role of the intestine in salinity adaptation of the rainbow trout. Comp. Biochem. Physiol., 30 : 397-418.
- Shuttleworth T. J. and Freeman R.F.H., 1973. The role of the gills in seawater adaptation in Anguilla dieffenbachii L. Osmotic and ionic composition of the blood and gill tissue. J. Comp. Physiol., 86:293-313.

- Specker J. L. and Schreck C. B., 1982. Change in plasma corticosteroids during smoltification in coho salmon Oncorhynchus kisutch. Gen. Comp. Endocr., 46: 53-58.
- Suterlin A. M., Harmon P. and Bachard H., 1976. The culture of the brook trout in salt water. Fish. Mar. Serv. Res. Dev. Tech. Rep., No 636; 21 pages.
- Talbot C., Eddy F. B., Potts W. T. W. and Primett D. R. N., 1989. Renal fonction in migrating adult atlantic salmon, Salmo salar L. Comp. Biochem. Physiol. A, 92 : 241-245.
- Thompson A. J. and Sargent S. R., 1977. Changes in the levels of chloride cells and (Na+K+) dependant ATPase in the gills of yellow and silver eels adapting to sea water. J. Exp. Zool., 200: 33-40.
- Whoriskey F.G., Naiman R. J. and Montgomery W. L., 1981. Experimental sea ranching of brook trout Salvelinus fontinalis Mitchill. J. Fish. Biol., 19 : 637-651.
- Zaugg W. S., 1982. A simplified preparation for adenosine triphosphatase determination in gill tissue. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 215-517.
- Zaugg W. S. and McLain L. R., 1969. Inorganic salts effects on growth, salt water adaptation and gill ATPase of Pacific salmon. In: O. W. Neuhaus and J. E. Halver (Ed.), Fish in Research. Academic Press Inc., New York, pp. 293-306.
- Zaugg W. S. and McLain L. R., 1970. Adenosine triphosphatase activity in gills of salmonids: seasonal variations and saltwater influence in coho salmon Oncorhynchus kisutch. Comp. Biochem. Physiol. 35: 587-596.
- Zaugg W. S., Roley D. D., Prentice E. F., Gores K. X. and Waknitz F. W., 1983. Increased seawater survival and contribution to the fishery of chinook salmon (Oncorhynchus tsawytscha) by supplemental dietary salt. Aquaculture, 32 : 183-188.
- Zaugg W. S. and Wagner H. H., 1973. Gill ATPase activity related to parr-smolt trasnformation and migration in steelhead trout (Salmo gairdneri): influence of photoperiod and temperature. Comp. Biochem. Physiol., 45B: 955-965.