



HAL
open science

Effet de l'enrichissement du milieu d'élevage de la truite arc-en-ciel sur l'amélioration du bien être animal

Baptiste Véchart

► **To cite this version:**

Baptiste Véchart. Effet de l'enrichissement du milieu d'élevage de la truite arc-en-ciel sur l'amélioration du bien être animal. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04353425

HAL Id: dumas-04353425

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04353425>

Submitted on 19 Dec 2023

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

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

ANNEE 2023 - Thèse n°70

EFFET DE L'ENRICHISSEMENT DU MILIEU D'ELEVAGE DE LA TRUITE ARC-EN-CIEL SUR L'AMELIORATION DU BIEN- ÊTRE ANIMAL

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université

de Nantes le 10 octobre 2023

par

Baptiste, Georges, Jean-Claude VÉCHART

Sous la direction de

Madame Ségolène CALVEZ

Président du jury : **Monsieur Jean-Claude DESFONTIS**, Professeur à Oniris

Membres du jury : **Madame Emmanuelle MOREAU**, Professeur à Oniris

Madame Ségolène CALVEZ, Maître de conférences à Oniris

ANNEE 2023 - Thèse n°70

EFFET DE L'ENRICHISSEMENT DU MILIEU D'ELEVAGE DE LA TRUITE ARC-EN-CIEL SUR L'AMELIORATION DU BIEN- ÊTRE ANIMAL

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université

de Nantes le 10 octobre 2023

par

Baptiste, Georges, Jean-Claude VÉCHART

Sous la direction de

Madame Ségolène CALVEZ

Président du jury : **Monsieur Jean-Claude DESFONTIS**, Professeur à Oniris

Membres du jury : **Madame Emmanuelle MOREAU**, Professeur à Oniris

Madame Ségolène CALVEZ, Maître de conférences à Oniris

Liste du corps enseignant



Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
Nutrition et Endocrinologie		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (CERC) Martine KAMMERER (PR émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr) Julie HERVE (MC HDR) Grégoire MIGNOT (MC)	Solenn GAVAUD (CERC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC)
Pathologie générale, microbiologie et immunologie		
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC) Emmanuel JAFFRES (MC)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Quentin PRUVOST (CEC)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	
Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr) Lucile MARTIN (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségolène CALVEZ (MC HDR) Aurélien MADOUASSE (MC) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) François MEURENS (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Christophe CHARTIER (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (CERC) Bruno LE BIZEC (Pr) Marie-France PILET (Pr)	Fanny RENOIS-MEURENS (MC HDR) Sofia STRUBBIA (MC)

Département **DSC** Sciences cliniques

Responsable : **Catherine IBISCH** – Adjoint : **Marion FUSELLIER**

Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC) Margarida RIBEIRO DA SILVA NEUNLIST (MC)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (MC HDR)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Gwénola TOUZOT-JOURDE (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)	Sabrina VIEU (AERC)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (MC HDR) Catherine IBISCH (MC) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (MC HDR)

Département **GPA** Génie des procédés alimentaires

Responsable : **Sébastien CURET-PLOQUIN** – Adjointe : **Vanessa JURY**

Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (MC HDR) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	

Département **MSC** Management, statistiques et communication

Responsable : **Samira ROUSSELIERE** – Adjointe : **Véronique CARIOU**

Mathématiques, statistiques, informatique	El Mostafa QANNARI (Pr émérite) Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUR (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GUYLER (Ens. Cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)

Mentions légales

La reproduction d'extraits de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- Nom et prénoms de l'auteur : Baptiste Véchart
- Année de soutenance : 2023
- Titre de la thèse : Effet de l'enrichissement du milieu d'élevage de la truite arc-en-ciel sur l'amélioration du bien-être animal
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes
- Ecole de soutenance : Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages : 174 p.

Remerciements

À mon jury,

Au Professeur Jean-Claude Desfontis, Professeur à Oniris, pour me faire l'honneur de présider mon Jury de thèse.

Au Professeur Emmanuelle Moreau, Professeur à Oniris pour avoir accepté de participer à ce Jury, pour sa contribution aux expériences et pour ses conseils apportés durant la soutenance de mémoire.

À Madame Ségolène Calvez, Maître de conférences à Oniris, pour son encadrement bienveillant, pour son travail de correction du manuscrit et pour ses conseils très précieux et indispensables durant l'étude.

Pour leur contribution à ce travail,

À M. Lionel Pineau, pour son aide bienveillante et indispensable pour le travail réalisé à la station aquacole, pour la mise en place du matériel des expériences et pour ses conseils tout au long de ce travail.

À Mme Céline David, pour son aide lors des expérimentations et pour la réalisation des dosages de cortisol à Laboniris.

À Mme Florine Bachelet, pour sa contribution lors des expérimentations et pour son aide à la saisie de données.

À l'équipe d'Aquaculture, M. Kenny Oberlé, Mme Emmanuelle Moreau, M. Antoine Rostang, Mme Nora Navarro-Gonzalez et Mme Ségolène Calvez pour leurs contributions indispensables aux expérimentations.

À M. Guillaume Morgant, pour son aide lors des expérimentations et pour le temps passé à essayer de mettre en place la technique de dosage du cortisol dans les écailles.

À Mme Nadine Brisseau et Mme Anne Lehebel, pour leur aide bienveillante et leur temps passé pour la réalisation des statistiques.

À l'équipe de Laboniris pour la réalisation des dosages de glucose, de lactate et de cortisol.

Table des matières

Liste du corps enseignant.....	3
Mentions légales	5
Remerciements	7
Table des annexes	14
Table des figures.....	15
Table des tableaux.....	18
Table des abréviations et des sigles	19
Introduction.....	21
Partie 1 : Etude bibliographique : Effet de l'enrichissement sur le bien-être de la truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	23
I. Notion fondamentale sur le bien-être animal.....	23
1. Définition du bien-être animal appliqué au domaine piscicole.....	23
2. La perception de la douleur, de la peur et de la souffrance chez le poisson	24
3. Existe-t-il une prise de conscience chez les poissons ?.....	25
4. La réponse au stress chez le poisson	26
a. La réponse à un stress aigu	26
b. La réponse à un stress chronique.....	28
5. Croissance et stress.....	28
6. Maladies et stress	29
II. Biomarqueurs pour évaluer le stress des poissons	29
1. Analyse du cortisol dans les écailles	30
2. Analyse du cortisol plasmatique	31
3. Analyse du glucose plasmatique.....	32
4. Analyse de la lactatémie	32
III. Evaluation du comportement de la truite arc-en-ciel comme indicateur de bien-être..	33
1. Comportement au moment de la prise alimentaire.....	33
2. L'activité respiratoire du poisson comme indicateur de stress.....	33
3. Comportement d'agression et stress chez le poisson	33
4. Comportements stéréotypés chez le poisson.....	33
IV. Enrichissement des conditions d'élevage	34
1. Enrichissement et réglementation.....	34
2. Objectifs de l'enrichissement.....	34

3. Les différents types d'enrichissement	35
4. Etat de l'art sur l'enrichissement environnemental	36
a. L'enrichissement sensoriel	36
b. L'enrichissement structurel.....	37
c. L'enrichissement occupationnel.....	38
d. L'enrichissement social	39
e. L'enrichissement alimentaire	40
5. L'enrichissement à plus grande échelle ?	40
V. Evaluation de l'expression de gènes impliqués dans la sensibilité du poisson	41
1. Enrichissement et amélioration de l'activité cérébrale.....	41
2. Les c-miARN impliqués dans l'activité cérébrale comme biomarqueurs de stress.....	42
VI. Exemple d'une maladie fréquente en élevage favorisée par le stress des poissons : la furunculose à <i>Aeromonas salmonicida</i> sub. <i>salmonicida</i>	42
1. Présentation de la bactérie et de la maladie	42
3. Eléments d'épidémiologie	44
4. Les traitements en élevage	44
5. La vaccination.....	44
6. Technique de balnéation pour réaliser un challenge infectieux	45
Partie 2 : Evaluation de l'effet de l'enrichissement du milieu d'élevage sur l'amélioration du bien-être animal et sur la robustesse des poissons.....	46
I. Matériels et méthodes	46
1. Justification du nombre de poissons utilisés dans les expériences.....	46
2. Matériel biologique.....	46
3. Mise en place d'air-lift pour s'affranchir des bulleurs.....	47
4. Présentation du protocole expérimental : Enrichissement et amélioration du bien-être	47
a. Descriptif des enrichissements.....	47
b. Déroulé des trois temps de prélèvements.....	54
5. Observation du comportement des truites-arc-en-ciel.....	55
a. Description du protocole d'observation des poissons.....	55
b. Exemples de notation du comportement des poissons.....	57
6. Standardisation des différents prélèvements	62
a. Le prélèvement d'écailles.....	62
7. Technique ELISA pour l'analyse du cortisol dans les écailles	63

8. Technique ELISA pour l'analyse du cortisol dans le sang	65
9. Présentation du protocole expérimental : Enrichissement et robustesse immunitaire, challenge infectieux à <i>Aeromonas salmonicida sub. salmonicida</i>	65
II. Résultats	68
1. Pesée et croissance des poissons.....	68
a. Poids moyen par bac et par triplicat	68
i. Temps T1.....	68
ii. Temps T2.....	69
iii. Temps T3.....	70
b. Taille moyenne par bac et par triplicat	74
i. Temps T1.....	74
ii. Temps T2.....	75
iii. Temps T3.....	75
c. Corrélation entre les variables poids et taille.....	78
2. Glucose et lactates plasmatiques	79
a. Glucose plasmatique	79
i. Temps T1.....	79
ii. Temps T2.....	80
iii. Temps T3.....	80
b. Lactate plasmatique	83
i. Temps T1.....	83
ii. Temps T2.....	83
iii. Temps T3.....	84
3. Cortisol plasmatique	87
a. Temps T1	87
b. Temps T2	87
c. Temps T3.....	88
4. Cortisol dans les écailles et les nageoires	91
5. Scores des nageoires.....	91
6. Analyse de la grille d'évaluation comportementale	92
a. Temps d'habituation avant retour au comportement normal	92
b. Indicateurs comportementaux (phase 1).....	93
i. Activité de nage	93
• Nage active et nage stagnante	93

•	Activité du bac	94
ii.	Orientation de la nage	94
iii.	Comportement de banc.....	95
•	Répartition hétérogène en groupe.....	95
•	Répartition horizontale.....	96
iv.	Répartition dans les enrichissements	97
•	Répartition dans le tube PVC.....	97
	98
•	Répartition dans les enrichissements propres aux conditions.....	99
c.	Indicateurs comportementaux (phase 2)	100
ii.	Comportements stéréotypés.....	101
iii.	Comportement alimentaire	101
iv.	Caractéristiques physiques	101
v.	Morbidité et mortalité	102
5.	Résultats du challenge infectieux	103
a.	Taux de mortalité et taux de morbidité par condition.....	103
b.	Cinétique de mortalité et morbidité par condition	104
c.	Taux de présence de furoncles sur les morts/morbides et taille moyenne des furoncles.....	106
d.	Taux de présence de rate hypertrophique et de tube digestif hémorragique sur les morts/morbides	108
e.	Taux de bactériologie positive à la bactérie <i>Aeromonas salmonicida</i> sub. <i>salmonicida</i> sur l'ensemble des morts/morbides et des survivants	109
III.	Discussion	112
1.	Les éléments d'enrichissement.....	112
a.	Des enrichissements non pertinents.....	112
i.	Performances de croissance	112
ii.	Comportement des poissons et utilisation des enrichissements.....	112
iii.	Marqueurs de stress	113
iv.	Résistance aux agents pathogènes	113
b.	Des enrichissement encourageants	113
i.	Performances de croissance	113
ii.	Comportement des poissons et utilisation des enrichissements.....	114
iii.	Marqueurs de stress	115

iv. Résistance aux agents pathogènes	115
c. Conclusion sur les enrichissements	116
d. Comparaison par rapport à la littérature	117
2. Critique du protocole de l'expérience	117
a. Observation du comportement.....	117
b. Durée de l'expérience	118
3. Les marqueurs sanguins.....	118
a. Le cortisol plasmatique	118
b. Le glucose	119
c. Les lactates	119
d. Le cortisol dans les écailles et nageoires	119
e. Corrélation entre les variables	120
4. La modélisation statistique	120
5. La transposition à une plus grande échelle : l'élevage	121
a. Biosécurité et hygiène	121
b. Mise en place et facilité de lavage et désinfection	121
c. Produits chimiques et enrichissements.....	122
d. Densité et enrichissement.....	122
e. Compétition pour les enrichissements	122
IV. Conclusion de la phase expérimentale et perspectives	123
Conclusion générale	124
Bibliographie	126
Annexes	132

Table des annexes

Annexe 1 : Description de l'air lift	132
Annexe 2 : Planning des expériences	136
Annexe 3: Schéma morphologique pour le diagnostic et la classification des principales lésions externes de la nageoire dorsale (Noble, Gismervik, et Iversen 2020).	137
Annexe 4 : Grille utilisée lors des trois temps de l'expérience pour noter, le poids, la taille et le score des nageoires.....	138
Annexe 5 : Grille d'observation du comportement des poissons des bacs 24 bacs de 200L	139
Annexe 6 : Grille d'observation des symptômes de la maladie de la furunculose	142
Annexe 7 : Dictionnaires de données pour le codage dans R.....	143
Annexe 8 : Tableaux des résultats de poids moyen pour les temps T1, T2 et T3	152
Annexe 9 : Tableaux des résultats de taille moyenne pour les temps T1, T2 et T3.....	158
Annexe 10 : Tableaux des résultats de la glycémie moyenne pour les temps T1, T2 et T3 ..	163
Annexe 11 : Tableaux des résultats de la lactatémie moyenne pour les temps T1, T2 et T3	166
Annexe 12 : Tableaux des résultats de la cortisolémie moyenne pour les temps T1, T2 et T3	169
Annexe 13 : Tableaux des résultats de la grille de comportement.....	172
Annexe 14 : Résultats du challenge infectieux.....	173

Table des figures

Figure 1 : Comparaison anatomique de la structure du cerveau humain (A) et du cerveau de la truite (B) (Le cortex cérébral est représenté en gris clair et le tronc cérébral en gris foncé) (FSBI 2002).....	26
Figure 2 : La réponse hormonale suite à un stress chez le poisson (FSBI 2002).....	27
Figure 3 : La molécule de cortisol ou $11\beta,17\alpha,21$ -trihydroxypregn-4-ene-3,20-d (Cortisol — Wikipédia (wikipedia.org).	27
Figure 4 : Les différents éléments composant le système immunitaire du poisson (FSBI 2002).	28
Figure 5 : Plaquette illustrant les différents types d'enrichissement (CIWF Agroalimentaire s. d.).....	35
Figure 6 : Furoncle sur le flanc et au niveau de la nageoire anal du poisson (Calvez 2023)....	43
Figure 7 : Furoncle sur le flanc du poisson (Calvez 2023).	43
Figure 8 : Photographie d'un opérateur en train de vacciner une truite dans la cavité abdominale.....	44
Figure 9 : Photographie du bac n°15 illustrant la condition filtre bleu.....	48
Figure 10 : Photographie du bac n°9 illustrant les tuyaux en caoutchouc.	49
Figure 11 : Photographie du bac n°10 et 13 illustrant les lamineaires.	49
Figure 12 : Photographie du bac n°3 illustrant les tapis en herbe synthétique qui flottent et créent une zone d'ombre.	50
Figure 13 : Photographie du bac n°24 illustrant les parois en caoutchouc.	50
Figure 14 : Photographie du bac n°14 illustrant la condition bullage.....	51
Figure 15 : Photographie du bac n°2 illustrant le témoin négatif (tuyau PVC).....	52
Figure 16 : Photographie du bac n°23 illustrant le témoin positif (absence d'enrichissement).	52
Figure 17 : Plan de la station avec les différentes conditions, 24 bacs de 200L, 30 poissons par bac.	54
Figure 18 : Photographie illustrant un cas d'utilisation des tuyaux en caoutchouc.	58
Figure 19 : Photographie illustrant un cas d'utilisation de l'herbe en flottaison.	59
Figure 20 : Photographie illustrant un cas dans la condition témoin positif.	60
Figure 21 : Photographie illustrant un cas d'utilisation des lamineaires.	61
Figure 22 : Photographie montrant la localisation du prélèvement d'écailles et de nageoires.	62
Figure 23 : Photographie montrant la zone de prélèvement sanguin.	62
Figure 24 : Photographie d'une nageoire (a) et d'écailles (b) et (c).	65
Figure 25 : Graphique en boite à moustaches du poids moyen au temps T1 par condition...	68
Figure 26 : Graphique en boite à moustaches du poids moyen au temps T2 par condition...	69
Figure 27 : Graphique en boite à moustaches du poids moyen au temps T3 par condition...	70
Figure 28 : Graphique en boite à moustaches montrant le poids moyen des 3 temps de prélèvement.	71
Figure 29 : Graphique en boite à moustaches du poids moyen par condition sur les 3 temps de prélèvement.	72

Figure 30 : Graphique montrant l'évolution de la prise de poids des poissons par condition.	73
Figure 31 : Graphique en boite à moustaches de la taille moyenne au temps T1 par condition.	74
Figure 32 : Graphique en boite à moustaches de la taille moyenne au temps T2 par condition.	75
Figure 33 : Graphique en boite à moustaches de la taille moyenne au temps T3 par condition.	76
Figure 34 : Graphique montrant l'évolution de la taille moyenne des poissons par condition.	77
Figure 35 : Graphique du poids en fonction de la taille de l'ensemble des individus des temps T1, T2 et T3.	78
Figure 36 : Graphique en boite à moustaches de la glycémie moyenne au temps T1 par condition.	79
Figure 37 : Graphique en boite à moustaches de la glycémie moyenne au temps T2 par condition.	80
Figure 38 : Graphique en boite à moustaches de la glycémie moyenne au temps T3 par condition.	81
Figure 39 : Glycémie au cours du temps.	82
Figure 40 : Graphique en boite à moustaches de la lactatémie moyenne au temps T1 par condition.	83
Figure 41 : Graphique en boite à moustaches de la lactatémie moyenne au temps T2 par condition.	84
Figure 42 : Graphique en boite à moustaches de la lactatémie moyenne au temps T3 par condition.	85
Figure 43 : Lactatémie au cours du temps.	86
Figure 44 : Graphique en boite à moustaches de la cortisolémie moyenne au temps T1 par condition.	87
Figure 45 : Graphique en boite à moustaches de la cortisolémie moyenne au temps T2 par condition.	88
Figure 46 : Graphique en boite à moustaches de la cortisolémie moyenne au temps T3 par condition.	89
Figure 47 : Graphique représentant l'évolution de la cortisolémie moyenne au cours du temps.	90
Figure 48 : Graphique en boite à moustaches du temps de retour à un comportement normal en minutes par condition.	92
Figure 49 : Graphique en boite à moustaches du pourcentage de nage active par condition.	93
Figure 50 : Graphique en boîte à moustaches représentant le pourcentage d'utilisation du tube de PVC par condition.	98
Figure 51 : Graphique en boîte à moustaches des pourcentage d'utilisation des enrichissements par condition.	99
Figure 52 : Graphique en boîte à moustaches de la moyenne par condition du nombre d'accélération brusques.	100

Figure 53 : Effectifs des animaux atteints par la maladie (1) et effectifs des survivants (2).	104
Figure 54 : Différences significatives entre les conditions concernant la cinétique de mortalité.	105
Figure 55 : Courbe de survie par condition.	106
Figure 56 : Photographie d'un poisson présentant des pétéchie.	107
Figure 57 : Photographies d'un poisson présentant une exophtalmie unilatérale.	108
Figure 58 : Photographie de deux boîtes TSA ayant mis en culture à partir d'échantillon de rate de poissons.	109
Figure 59 : Photographies du tuyau perforé en hélice.	132
Figure 60 : Photographie d'un air-lift.	133
Figure 61 : Photographies d'un bac 200L équipé du système d'air-lift.	134
Figure 62 : Graphique comparant l'efficacité des air-lift par rapport aux bulleurs, la teneur en oxygène est exprimée en fonction du temps.	135

Table des tableaux

Tableau 1 : Protocole d'enrichissement mis en place : 8 conditions (dont les témoins) en triplicat.	53
Tableau 2 : Protocole de sédation, anesthésie et euthanasie de la manipulation.....	55
Tableau 3 : Observation des conditions sur une semaine.	56
Tableau 4 : Formule pour calculer la concentration en fonction de la masse initiale de l'échantillon (S.Gavaud et K.Haurogné 2021).	64
Tableau 5 : Gain moyen par triplicat en gramme entre T1 et T2 (25 poissons par bac).	70
Tableau 6 : Gain moyen par triplicat en gramme entre T1 et T3 (20 poissons par bac).	73
Tableau 7 : Différences significatives de la taille moyenne par bac.	74
Tableau 8 : Moyenne et écart-type de la cortisolémie moyenne en nmol/L de tous les individus au temps T1, T2 et T3.	90
Tableau 10 : Activité du bac (en pourcentage par catégorie).....	94
Tableau 11 : Orientation de la nage.....	94
Tableau 12 : Pourcentage de répartition du banc dans deux groupes par condition.	95
Tableau 13 : Pourcentage de répartition des animaux dans les zones du bacs par condition.	96
Tableau 14 : Pourcentage de répartition horizontale par condition.	97
Tableau 16 : Occurrence des caractéristiques physiques par condition sur l'ensemble des conditions.	102
Tableau 17 : Nombre de morts ou morbides sur l'ensemble des 2 mois d'expérience.	102
Tableau 19 : Taux de présence de furoncles sur les morts/morbides et taille moyenne des furoncles.....	107
Tableau 20 : Taux de présence de rate hypertrophique et de tube digestif hémorragique sur les morts/morbides.	108
Tableau 21 : Taux de bactériologie positive à <i>Aeromonas salmonicida</i> sub. <i>salmonicida</i> parmi les individu morts ou morbides.....	110
Tableau 22 : Réel taux d'incidence de la maladie.	111
Tableau 23 : Tableau récapitulant les avantages et inconvénient de chaque condition.....	116

Table des abréviations et des sigles

- ONGI : Organisation non gouvernementale internationale
- CIWF : Compassion in World Farming
- BL : Body length
- c-miARN : circulating micro ARN
- UFC : Unité formatrice de colonie
- B : Bac
- P : Poisson
- APAFIS : Autorisation de projet utilisant des animaux à des fins scientifiques
- DOC : désoxycorticostérone
- MR : récepteur minéralocorticoïde
- GR : récepteur glucocorticoïde

Introduction

Aujourd'hui, l'apport en protéines dans nos assiettes est de plus en plus représenté par la consommation de poissons. En effet, il est prévu pour 2030, d'après le rapport de la FAO de 2020 (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) sur l'aquaculture, une consommation de poisson destinée à l'alimentation humaine qui devrait être supérieure de 18% à celle de 2018. De plus, il est également à noter que la consommation mondiale de poisson devrait atteindre 21,5 kg par personne et par an en 2030, contre 13,4 kg sur la période 1986-1995 (FAO, 2020). La consommation de poisson est donc en accroissement, s'intensifie et s'inscrit dans une dynamique d'avenir pour satisfaire les besoins des consommateurs.

Cette consommation de poisson repose sur la pêche de poissons sauvages mais également sur des poissons en provenance d'élevage c'est-à-dire l'aquaculture. Cette notion se définit comme l'activité liée à la culture ou à l'élevage d'espèces aquatiques végétales ou animales, et comprend la pisciculture qui est l'élevage de poissons. En France, la filière piscicole est surtout représentée par la truiticulture en eau douce *Oncorhynchus mykiss* (la truite arc-en-ciel) ([Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire](#), consulté le 10/02/23). En 2030, il est estimé que 59% du poisson destiné à la consommation humaine devraient provenir de la production aquacole (FAO, 2020).

Au vu de l'augmentation de l'aquaculture dans notre société, il est intéressant de se pencher sur les conditions d'élevage des poissons dans ce système et notamment au bien-être de ces derniers. De nombreuses pathologies sont liées au stress et conduisent à une baisse de production et de croissance des animaux. Il est important de savoir détecter les premiers signes de bien-être altéré pour minimiser les effets négatifs du stress sur les animaux d'élevage. Cependant, l'évaluation et la surveillance du bien-être en aquaculture n'est pas encore beaucoup répandue et pose beaucoup de questions. Cette notion de bien-être est déjà présente dans plusieurs filières notamment bovine, porcine et avicole. En aviculture, le bien-être est notamment mis en avant avec une grille d'évaluation du bien-être : la grille EBENE. Cet aspect est encore peu courant dans la filière aquacole.

Le bien-être est une notion complexe qui nécessite de prendre en compte plusieurs aspects notamment la physiologie du poisson et son éthologie. L'évolution de l'opinion publique est un point qui ne rentre pas dans la définition du bien-être mais qui doit être pris en compte. En effet, de plus en plus, les consommateurs apprécient savoir dans quelles conditions les animaux ont été élevés.

Il est nécessaire de mieux comprendre la sensibilité et le bien-être des poissons en acquérant et en diffusant les connaissances scientifiques sur ce sujet. Selon la littérature (Chandoo et al, 2004), nous pouvons affirmer que les poissons sont reconnus comme des êtres sensibles. Seulement, la législation ne met pas toujours bien cela en avant. Il est donc encore nécessaire de réaliser des études visant à mettre en évidence leur capacité à ressentir des émotions qu'elles soient négatives ou positives et de montrer le lien qu'il existe entre cette sensibilité et leur bien-être (Lambert et al. 2022).

Pour améliorer les conditions de bien-être il existe différents moyens et notamment l'enrichissement du milieu. Les différents types d'enrichissement du milieu peuvent être structurel, sensoriel, social, alimentaire, cognitif ou encore occupationnel (CIWF Agroalimentaire s. d.). Au cours de cette étude, nous avons étudié l'influence de l'enrichissement du milieu d'élevage sur le bien-être des truites arc-en-ciel et notamment sur les niveaux de stress en présence d'enrichissements structurels et sensoriels. Nous nous sommes également penchés sur l'analyse du comportement des poissons, sur l'utilisation des enrichissements et sur les performances de croissance. Nous avons clôturé l'ensemble de ces expériences avec une deuxième étude : un challenge infectieux avec la bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida* responsable de la furunculose. L'objectif de ce challenge infectieux était de voir si les individus vivant dans les milieux enrichis étaient plus résistants vis à vis d'un agent pathogène.

Dans une première partie, nous présenterons l'état de l'art sur la connaissance et l'évaluation du bien-être du poisson, puis dans une seconde partie, nous présenterons une étude expérimentale qui a porté sur l'effet de différents enrichissements sur le bien-être et la robustesse des poissons.

Partie 1 : Etude bibliographique : Effet de l'enrichissement sur le bien-être de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*)

I. Notion fondamentale sur le bien-être animal

1. Définition du bien-être animal appliqué au domaine piscicole

Le bien-être animal est une notion complexe qui intervient dans de nombreux systèmes d'élevage. Il est régi par cinq libertés (Farm Animal Welfare, 2001) :

- 1) Il faut s'assurer que les animaux soient préservés de la faim et de la malnutrition.
- 2) Il faut assurer aux animaux un environnement approprié et confortable.
- 3) Il faut veiller à ce que les animaux soient préservés de la douleur, des blessures et de maladies.
- 4) Il faut éviter de confronter les animaux à des situations de stress.
- 5) Il faut veiller à ce que les animaux puissent exprimer les comportements considérés comme normaux pour l'espèce.

Le bien-être animal requiert prévention et traitement des maladies, protection appropriée, soins, alimentation adaptée, manipulations réalisées sans cruauté, abattage ou mise à mort effectués dans des conditions décentes d'après l'OIE.

Le code sanitaire pour les animaux aquatiques, rédigé en 2022, ne mentionne que les notions de bien-être animal dans le domaine du transport et de la mise à mort des poissons. La partie élevage n'est que peu présente, c'est pourquoi il est intéressant de se pencher sur les conditions d'élevage des poissons pour voir s'il est possible de les améliorer ([OMSA - Organisation mondiale de la santé animale \(woah.org\)](https://www.woah.org/), consulté le 11/02/23).

La notion de bien-être animal s'applique aux espèces ayant des capacités cognitives leur permettant de ressentir des émotions telles que le stress, la peur mais aussi le confort et le plaisir (Chandroo et al, 2004). L'approche cognitive chez le poisson est assez compliquée mais a déjà été appréhendée (Marco Cerqueira et al. 2021 ; M. Cerqueira et al. 2020). Ainsi en s'inspirant du modèle des mammifères, la FSBI (2002) a édité les cinq principes directeurs en les adaptant à l'élevage piscicole :

- 1) Les poissons doivent être nourris avec une alimentation complète, en adéquation avec les exigences de leur espèce et de leur âge.
- 2) Ils doivent vivre dans une eau de bonne qualité avec un débit suffisant et avec une température et une luminosité adéquate.
- 3) Ils doivent faire l'objet d'une attention particulière afin de prévenir l'apparition d'infections et de maladies.
- 4) Ils doivent vivre dans un espace suffisamment grand pour leur espèce, afin d'exprimer leurs comportements naturels. Ils doivent également être en contact avec des

congénères dans le but d'entretenir des liens sociaux, s'il s'agit d'une espèce vivant en banc. Le milieu d'élevage doit être enrichi et adapté selon l'espèce.

5) Les conditions entraînant un niveau d'anxiété très élevé comme la peur, la douleur, la faim ou des manipulations excessives doivent être minimisées.

L'ANSES, dans son Avis relatif au Bien-être animal de 2018, stipule que « Le bien-être d'un animal est l'état mental et physique positif lié à la satisfaction de ses besoins physiologiques et comportementaux, ainsi que de ses attentes. Cet état varie en fonction de la perception de la situation par l'animal ». Cette définition apporte un nouveau point de vue à étudier : la question du ressenti d'émotions et de plaisirs de la part des animaux. Le bien-être n'est donc pas uniquement de limiter le stress des animaux mais bel et bien aussi de leur apporter des émotions positives (ANSES 2018). Le bien-être peut aussi être défini en citant la définition du mal-être proposée par Huntingford à savoir une « expérience prolongée d'état mentaux déplaisants ». Pour parler de bien-être, nous devons donc au minimum éviter ces « états mentaux déplaisants » (Huntingford et al. 2006). C'est une condition nécessaire au bien-être mais en aucun cas suffisante. A partir des définitions, nous pouvons dire que le bien-être, ce n'est pas seulement éviter le mal-être mais c'est aussi apporter des émotions positives aux individus.

Dans le monde terrestre, il existe des recommandations concernant le bien-être adaptées et spécifiques à la physiologie et au comportement de chaque espèce comme par exemple les conditions de détention (DIRECTIVE 2010/63/UE du Parlement Européen et du Conseil relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques, 2010). Dans le monde aquatique, ces recommandations existent mais elles sont généralisées à un ensemble d'espèces aquatiques qui n'ont pas le même comportement, qui ne vivent pas dans les mêmes conditions de vie ou encore qui n'ont pas la même physiologie. En effet, la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) présente un optimum thermique autour de 14°C alors que d'autres espèces comme le saulosi (*Pseudotropheus chidongo saulosi*) évoluent à des températures autour de 23-28°C. De plus, la truite arc-en-ciel est une espèce grégaire alors que d'autres n'ont pas besoin d'être en groupe pour évoluer dans leur milieu.

La notion de bien-être doit donc être adaptée à chaque type d'espèce, nous nous pencherons sur le bien-être de la truite-arc-en-ciel dans notre étude.

2. La perception de la douleur, de la peur et de la souffrance chez le poisson

Tout d'abord, il est important de définir ces différents termes. La peur et la douleur sont toutes les deux des souffrances (ANSES 2018). D'après le dictionnaire Larousse ([Dictionnaire de français Larousse](#)), la souffrance est « un état prolongé de douleur physique ou morale ». La peur quant à elle est définie par le TLFi ([TLFi | Trésor de la Langue Française informatisé - ATILF | CNRS-UL](#)) par « un état affectif plus ou moins durable, pouvant débuter par un choc émotif, fait d'appréhension (pouvant aller jusqu'à l'angoisse) et de trouble, qui accompagne la prise de conscience ou la représentation d'une menace ou d'un danger réel ou

imaginaire ». Enfin, la douleur est définie par « une souffrance plus ou moins vive, produite par une blessure, une brûlure, une lésion ou toute autre cause, qui manifeste une rupture du bien-être, de l'équilibre de la santé, la perte ou la diminution de l'intégrité physique ».

Dans les années 1990, il existait un débat sur le fait que le poisson souffre ou non. Aujourd'hui, certains en doutent encore mais il a été prouvé que les poissons ressentent de la douleur et de la souffrance. En effet, Sneddon et al., (Sneddon et al, 2002 ; Sneddon, et al, 2003) ont identifié deux types de nocicepteurs (fibres A-delta et C) en étudiant notamment l'électrophysiologie et l'anatomie du nerf trijumeau chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Ils ont également montré dans une autre étude que les propriétés électrophysiologiques des nocicepteurs de la truite arc-en-ciel étaient similaires à ceux des mammifères (Lynne U. Sneddon 2018). Il existe une dernière similarité entre les mammifères et la truite arc-en-ciel : il s'agit des messagers de la nociception qui sont les mêmes à savoir la substance P, les encéphalines et les endorphines (Sneddon et al, 2002; Sneddon et al, 2003). La différence entre les mammifères et les poissons est la présence de nocicepteurs pour ressentir des températures froides qui n'a pas été découvert chez les poissons (Sneddon et al, 2019).

D'un point de vue comportementale, la douleur peut être observée de manière similaire entre les poissons et les mammifères. Chez les poissons, nous pouvons constater des réponses comportementales courantes telles que le retrait, la modification du comportement normal vers un comportement de protection ou de guérison. De plus, après un événement douloureux, il peut y avoir une forme d'apprentissage de l'animal si bien que s'il sent un nouvel événement douloureux similaire arriver, il pourra montrer un comportement modifié en fonction de l'apprentissage comme un comportement d'évitement (Sneddon et al, 2015).

3. Existe-t-il une prise de conscience chez les poissons ?

Dans le cerveau humain, c'est le néocortex qui gère le ressenti subjectif de la souffrance et de la douleur. Il gère donc la conscience de l'humain. Les poissons sont démunis de néocortex (Figure 1) (FSBI 2002). Nous pouvons nous demander si les poissons sont capables de ressentir la douleur. Il faudrait plutôt se pencher sur le fait que, peut-être, ils ne ressentent pas la douleur de la même manière que l'homme. Nous savons que chez d'autres espèces animales, ce sont d'autres parties du cerveau qui sont capables de gérer le stimulus de la douleur. Il a été montré que, chez différentes espèces, certains stimuli ne sont pas gérés par la même zone du cerveau. Par exemple, certains stimuli visuels sont gérés par une partie du cortex cérébral chez les mammifères et par le mésencéphale chez les oiseaux (Huntingford et al. 2006). Il pourrait donc être de même pour les stimuli de la douleur. Il est possible que d'autres parties du cerveau se soient développées pour gérer le ressenti de la douleur chez les poissons. En effet, des études ont montré que les poissons ont la capacité de percevoir des stimuli douloureux (Sneddon et al, 2002; L. U. Sneddon et al, 2003). Ainsi, la souffrance et la douleur que peuvent subir les poissons ne sont pas à négliger en terme de bien-être (FSBI 2002).

Il existe dans le système neuronal des poissons des structures ayant une forte probabilité d'homologie fonctionnelle avec la partie corticale du télencéphale des mammifères. Ces structures se nomment le pallium télencéphalique et le tectum

mésencéphalique. Certains scientifiques pensent que ces structures seraient capables de gérer la conscience de l'animal. Ils pensent que ces structures seraient capables « d'expériences conscientes » (Neindre et al. 2017).

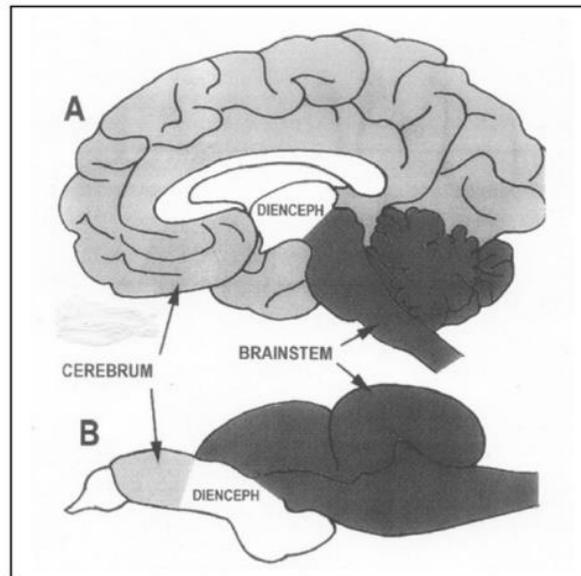


Figure 1 : Comparaison anatomique de la structure du cerveau humain (A) et du cerveau de la truite (B) (Le cortex cérébral est représenté en gris clair et le tronc cérébral en gris foncé) (FSBI 2002).

4. La réponse au stress chez le poisson

a. La réponse à un stress aigu

Chaque individu a besoin de vivre dans un milieu stable, le maintien de cette stabilité est appelé l'homéostasie. Dès lors que ce milieu est déstabilisé, l'individu réagit de manière à maintenir cette homéostasie en modifiant son comportement ou sa physiologie, c'est ce qu'on appelle la réponse au stress (Schreck 2000).

Lors d'une réponse à un stress primaire, nous observons des changements neuroendocriniens (Figure 2). En effet, face à un facteur de stress le poisson libère de l'adrénaline et de la noradrénaline du tissu chromaffine (équivalent de la médullosurrénale des mammifères) (Gingerich et al, 1989). En parallèle, l'axe interrénal hypothalamo-hypophysaire est activé (Stratholt et al, 1997). Cette activation induit une libération de corticotropine (CRH) de l'hypothalamus et ensuite de cortisol (Figure 3) au niveau du tissu interrénal (équivalent du cortex surrénalien des mammifères) (Weld et al. 1987).

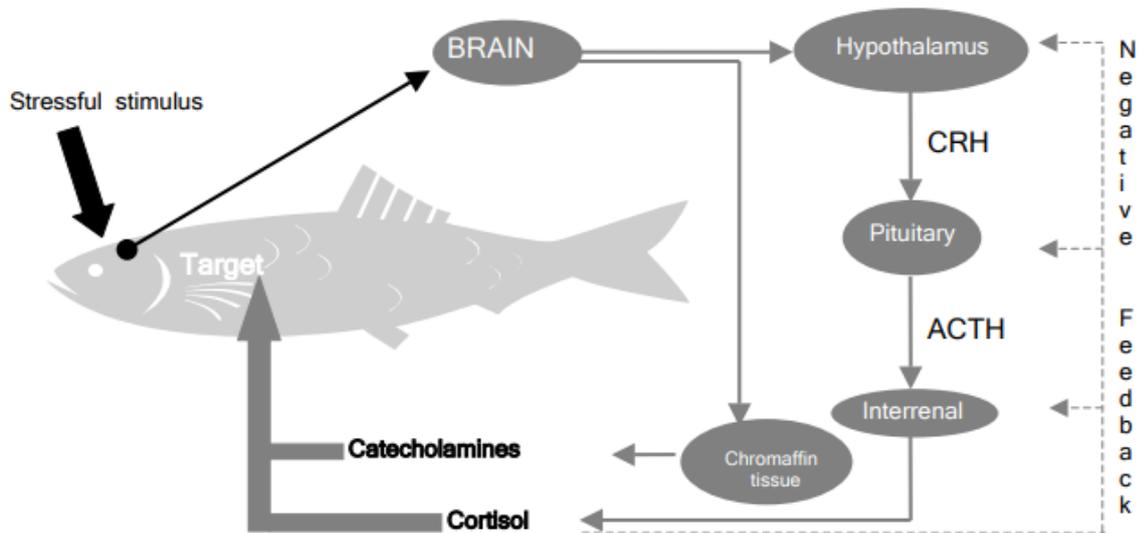


Figure 2 : La réponse hormonale suite à un stress chez le poisson (FSBI 2002).

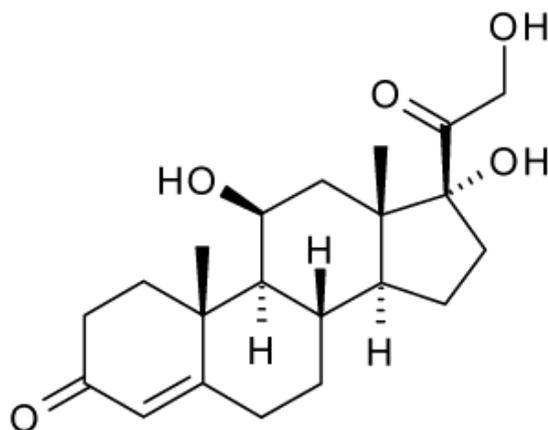


Figure 3 : La molécule de cortisol ou 11,17 α ,21-trihydroxypregn-4-ene-3,20-d ([Cortisol — Wikipédia \(wikipedia.org\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Cortisol)).

Suite à la libération de ces hormones, une réponse secondaire se met en place. En effet, il y a de nombreux changements secondaires : un changement des taux de sécrétion des hormones hypophysaires et thyroïdiennes, un changement dans le taux de renouvellement des neurotransmetteurs tels que la dopamine et la sérotonine. Il y a également une augmentation de la capacité respiratoire suite à une augmentation de la fréquence cardiaque et du volume d'éjection systolique donc en conséquence une augmentation du flux sanguin dans les branchies. Pour finir, il y a une mobilisation de l'énergie en utilisant les réserves glucidiques et lipidiques et en oxydant les protéines musculaires.

Les réponses primaires et secondaire sont aiguës et rapides. Lorsque le facteur de stress est persistant une réponse tertiaire, chronique, se met en place et induit des modifications de la fonction immunitaire et de la résistance aux maladies, de la croissance et de l'état reproducteur.

b. La réponse à un stress chronique

Le stress chronique peut donc induire des modifications de la fonction immunitaire. En effet, le stress peut dérégler les moyens mis en place par le poisson pour se défendre des agents pathogènes. Ces moyens sont constitués de molécules chimiques capables de détruire ou inactiver des pathogènes dans les fluides corporels, de cellules circulantes comme les phagocytes pouvant détruire les pathogènes ou encore des lymphocytes pouvant déclencher une réponse immunitaire adaptative. Le dérèglement de la fonction immunitaire vient du cortisol. En effet, les cellules immunitaires ont des récepteurs au cortisol et une augmentation de sa concentration en cas de stress inactive ces cellules.

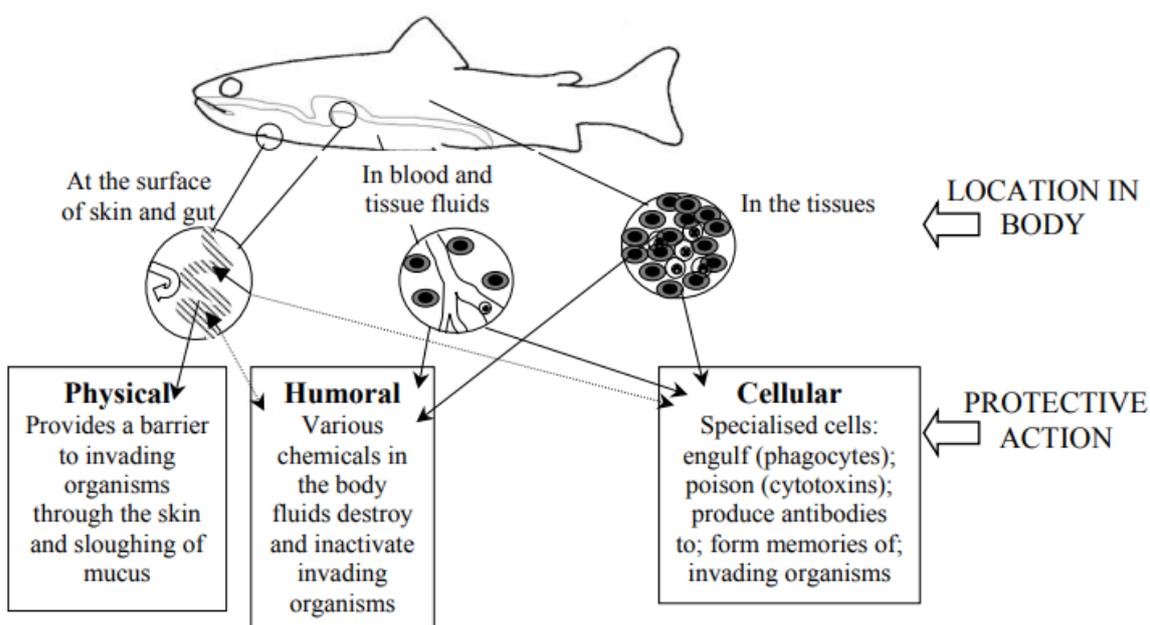


Figure 4 : Les différents éléments composant le système immunitaire du poisson (FSBI 2002).

L'exposition chronique à un facteur de stress dérègle de manière plus prolongée le système immunitaire du poisson et le rend plus vulnérable aux maladies (Figure 4) (FSBI 2002). La dernière étape du stress peut aboutir à la mort de l'animal, on parle de delayed mortality syndrome ou de « thanatostress ». Ce terme est un néologisme associant le mot « thanatos » signifiant « mort » en grec et le mot « stress ». C'est un terme peu utilisé mettant en avant l'impact néfaste du stress sur la santé pouvant aboutir à la mort.

5. Croissance et stress

Les effets du stress entraînent une réduction de l'apport énergétique et une augmentation de l'utilisation de l'énergie. Ce manque d'énergie n'est plus mobilisable pour la croissance. Ainsi, le stress influence la croissance du poisson de manière négative (FSBI 2002). Dans une autre étude, ils ont montré que le stress contribuait à une réallocation de l'énergie vers le transfert et l'absorption de l'oxygène par les branchies au détriment de la croissance mais aussi de la reproduction (Wendelaar Bonga 1997).

6. Maladies et stress

Dans l'étude de Pickering et al (1989), ils ont injecté de manière répétée du cortisol dans la cavité péritonéale chez la truite brune. Ils ont montré que cela entraînait une élévation chronique des taux de cortisol sanguin responsable d'une augmentation de la mortalité ayant pour cause les maladies bactériennes et fongiques courantes. Le stress aurait donc un effet immunosuppresseur et cela passerait par l'action du cortisol (Pickering et al, 1989).

II. Biomarqueurs pour évaluer le stress des poissons

Le cortisol est l'hormone la plus importante quand nous parlons de stress chez les poissons (Carbajal et al. 2019). Elle peut se mesurer à partir de prélèvements sur le poisson (dans le sang, dans les écailles, sur le corps entier, dans les fèces, dans le mucus ou encore dans les œufs) mais aussi dans l'environnement (dans l'eau du bac et dans les urines diluées dans l'eau) (Sadoul et al, 2019). Ce sont diverses techniques qui sont plus ou moins faciles à réaliser. La mesure la moins invasive est l'analyse du cortisol présent dans l'eau. Cependant, elle ne permet pas d'avoir une mesure à l'échelle de l'individu. De plus, une partie du cortisol pourrait ne pas être mesurée car réabsorbée par les poissons, dégradée ou adsorbée à la surface de l'eau (Sadoul et al, 2019). Le prélèvement de mucus peut-être intéressant pour évaluer le stress aigu car il est corrélé à la concentration en cortisol dans le plasma (Sadoul et al, 2019). Cependant, il existe une grande variabilité entre les échantillons de mucus prélevés sur un animal. La mesure sur les fèces est une technique non invasive qui peut permettre d'avoir une mesure individuelle même s'il n'est pas évident de récupérer les fèces propres à chaque animal. Cependant, il est nécessaire d'avoir une quantité importante de fèces pour l'analyse. De plus, les fèces sont excrétées longtemps après le moment stressant donc il n'est pas facile de récupérer les fèces de ce moment. L'analyse sur corps entier ou sur les œufs sont deux techniques très invasives car elles nécessitent l'euthanasie de l'animal. Elles permettent toutefois d'obtenir des mesures individuelles corrélables à la concentration plasmatique en cortisol. Enfin, l'analyse sur les écailles permet d'évaluer le stress chronique, c'est une technique moins invasive que le prélèvement sanguin mais plus invasive que les mesures sur l'eau ou encore le mucus. Elle ne permet pas de distinguer un stress antérieur plutôt qu'un autre mais d'évaluer l'ensemble des stress subit par l'animal au cours de sa vie (Sadoul et al, 2019). Le prélèvement sanguin est une technique bien tolérée par les poissons. L'analyse du cortisol plasmatique permet d'évaluer le stress aigu. Ce prélèvement se réalise à l'aide d'une aiguille et d'une seringue sur tube hépariné. Le sang peut être prélevé dans le sinus veineux caudale ou dans le bulbe artériel. Il est nécessaire ensuite de centrifuger les échantillons et de les conserver à -20°C ou -80°C jusqu'à l'analyse (Sadoul et al 2019).

Une partie du cortisol sanguin sécrété lors d'évènements stressants se stocke dans les tissus calcifiés. Chez les oiseaux, il s'agit des plumes. Chez les mammifères, il s'agit des poils. D'après l'étude de Sadoul et al (2019), il faut trouver une matrice qui incorpore bien le cortisol, qui a une croissance lente afin de quantifier le stress sur une période longue et qui est facile à prélever. Les écailles semblent être de bonnes candidates pour être cette matrice. Une

écaïlle est une structure exo-squelettique dermique calcifiée. Elles se développent tout au long de la vie du poisson et sont constituées de collagène minéralisé d'hydroxyapatite de calcium.

Il a été montré que les écaïlles sont des biomatériaux qui accumulent le cortisol et qui permettent d'évaluer le stress chronique dans des conditions de laboratoire (Carbajal et al. 2019).

1. Analyse du cortisol dans les écaïlles

L'étude de Aerts et al (2015) avait pour but de déterminer le niveau de stress subi par les poissons en quantifiant les niveaux de glucocorticoïde dans les écaïlles ou dans d'autres matrices. En effet, le cortisol s'accumule dans les écaïlles au fur et à mesure du temps ; il est le miroir des conditions d'élevage du poisson. Le stress chronique est un stress qui s'accumule au fur et à mesure du temps et révèle les conditions stressantes tout au long de la vie du poisson. Leur étude avait pour but de quantifier le stress chronique des poissons en quantifiant le cortisol dans les écaïlles. L'avantage de cette technique est qu'elle n'est pas invasive. Il s'agit simplement d'un prélèvement d'écaïlles. Cependant, il est important de standardiser le prélèvement, c'est-à-dire prélever les écaïlles au même endroit pour tous les individus. Dans leur étude, ils ont prélevé les écaïlles dans la zone médiodorsoventrale gauche dorsalement à la nageoire pectorale. Ils n'ont pas trouvé de différence de teneur en cortisol entre des écaïlles prélevées sur les différents côtés du poisson (dorsale, cranioventrale, médioventrale ou caudale) ni entre les écaïlles prélevées du côté gauche et droit. Toutefois, il faut éviter les écaïlles de la ligne latérale car elles diffèrent beaucoup par leur structure (Aerts et al, 2015).

Le nombre d'écaïlles à prélever dépend de l'espèce et de la taille du poisson. Dans leur étude, plutôt que de prélever un nombre, ils ont préféré prélever une quantité à savoir 100 mg. Cela correspond à 40-80 écaïlles. Cependant, ils précisent qu'une écaïlle peut suffire à l'analyse. Ils ont réalisé une partie de leur étude sur le bar (*Dicentrarchus labrax*). Ils ont mis en place 3 lots : un lot peu stressé, un lot stressé de manière intermédiaire et lot très stressé. Le stress était une combinaison de différents facteurs comme une densité élevée, des chasses d'eau ou encore une exposition à l'air. Le lot peu stressé était confiné dans 25% du volume initial pendant 30 min une fois tous les deux jours. Le lot intermédiaire était confiné dans 25% du volume initial pendant 30 min une fois tous les deux jours et des chasses étaient réalisées pendant 5 min une fois tous les deux jours. Enfin, le lot très stressé était confiné dans 10% de son volume initial pendant 30 min une fois tous les deux jours, des chasses étaient réalisées pendant 5 min une fois tous les deux jours et les poissons étaient exposés à l'air pendant 1 min une fois par semaine. Ces manipulations ont duré 3 semaines. Ils ont montré que la moyenne en cortisol du lot peu stressé était de 1,70 µg/kg d'écaïlle. Celle du lot avec un stress intermédiaire était de 2,27 µg/kg d'écaïlle. Enfin, celle du lot très stressé était de 3,44 µg/kg d'écaïlle. Ces résultats ont été obtenus par analyse chromatographique.

Ils ont également réalisé une étude sur le saumon (*Salmo salar*) et ils ont montré que la gamme de cortisol était plus large et s'étendait de 1,33 µg/kg à 98,17 µg/kg d'écaïlle. Ces données ont été analysées à l'aveugle, c'est-à-dire sans savoir quel individu était stressé ou non.

Dans une autre étude, des auteurs ont tenté de valider une méthode de dosage du cortisol à partir de la technique ELISA (Carbajal et al. 2018). Ils ont utilisé 20 poissons rouges. Ils ont prélevé 300 mg d'écaillés sur l'ensemble du corps et ont testé plusieurs techniques de lavage des écaillés. Ils ont retenu 3 lavages avec 3 ml d'isopropanol pendant 2,5 min sur un vortex à 1800 rpm. Une fois les écaillés lavées, elles ont été séchées à température ambiante pendant au minimum 24 heures. Ensuite, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur à bille. Enfin, 75mg de chaque échantillon ont été mis en incubation avec 1,5ml de méthanol pendant 18 heures à 30°C. Une fois l'extraction au méthanol terminée, les échantillons ont été centrifugés à 9500g pendant 10min et 1ml du surnageant a été évaporé et reconstitué avec 0,2ml de tampon fourni avec le kit de test. Ils ont ensuite utilisé le kit « Cortisol EIA KIT; Neogen® Corporation, Ayr, UK » avec une gamme de 0,04 à 10 ng/ml pour déterminer la concentration en cortisol. Cette procédure (hormis le lavage et le modèle du kit) est la même que celle de S.Gavaud et al (2021) décrite par la suite. Cette technique a montré des résultats cohérents, elle a donc été validée par les auteurs.

2. Analyse du cortisol plasmatique

Le cortisol sanguin est un biomarqueur souvent utilisé pour évaluer le stress des poissons. Cependant, son interprétation reste limitée. Comme nous l'avons vu précédemment, suite à un facteur de stress, le poisson déclenche une réponse primaire au stress entraînant notamment une libération de cortisol dans le sang. D'après Aerts et al, (2015), les niveaux de cortisol sont variables au cours de la journée, cela ajoute un biais important lors de l'interprétation du niveau de cortisol sanguin. De plus, le niveau de cortisol plasmatique ne montre « qu'un instantané de l'état du cortisol au moment de l'échantillonnage » (Aerts et al, 2015).

Aerts et al, (2015) ont également travaillé sur le niveau de cortisol dans le sang pour évaluer le stress chronique sur les lots peu stressé, intermédiaire et très stressé décrit précédemment. Le lot peu stressé avait une moyenne de cortisol plasmatique de 183,26 ng/mL, le lot intermédiaire avait une moyenne de 254,79 ng/mL et le lot très stressé avait une moyenne de 150,28 ng/mL. Leur étude n'a pas constaté de corrélation entre le niveau de stress chronique et la concentration en cortisol.

Le cortisol sanguin ne révèle pas les conditions, stressantes ou non, dans lesquelles le poisson a évolué. Il n'est donc pas un biomarqueur de stress chronique. Il est à noter également que le prélèvement sanguin est invasif et induit donc un stress supplémentaire pouvant être confondu avec le stress que l'on veut évaluer. La pêche et l'exposition à l'air sont également des sources de stress qui sont confondues avec le stress que l'on veut évaluer. La réponse primaire au stress étant très rapide, il est probable que le niveau de cortisol soit déjà modifié au moment du prélèvement sanguin. Il est à souligner également que les anesthésiques utilisés pour réaliser le prélèvement sanguin dans de bonnes conditions peuvent inhiber ou du moins réduire l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cela engendre donc une modification de la libération de cortisol qui peut donc masquer sa sécrétion liée au stress de la pêche et de la prise de sang et donc mieux refléter le stress que l'on veut évaluer.

3. Analyse du glucose plasmatique

Les hormones du stress secrétées suite à une réponse primaire mobilisent et augmentent la production de glucose dans l'organisme du poisson. Cette augmentation se fait notamment par la gluconéogenèse et la glycogénolyse et permet de faire face à la demande énergétique nécessaire à la fuite ou au combat (Iwama et al. 1999). Le glucose est libéré du foie et des muscles, gagne la circulation sanguine et pénètre dans les cellules grâce à l'insuline (Martínez-Porchas et Martínez-Córdova 2009). Les résultats de glycémie doivent être interprétés avec prudence. En effet, l'alimentation, la saison de l'année ou encore le stade de vie influencent la concentration en glucose plasmatique (Martínez-Porchas et Martínez-Córdova 2009).

Les résultats de mesure du glucose plasmatique de la truite-arc-en-ciel de la thèse vétérinaire de Darmancourt (2022) ont montré des valeurs de glucose plasmatique de 0,8 à 1,2 g/L.

Au vu de la variabilité de la teneur en glucose dans le sang, Martínez-Porchas et al, (2009) recommandent de l'utiliser en complément d'autres indicateurs plutôt qu'en tant qu'indicateur principal. Pour obtenir des valeurs cohérentes en glucose il faut répéter la mesure, cela est possible en cas de stress aigu mais compliqué lors de stress chronique, car les premières mesures pourraient influencer les suivantes.

4. Analyse de la lactatémie

Les lactates sont un indicateur essentiellement utilisé pour évaluer un stress aigu (Seibel et al, 2021; European Food Safety Authority (EFSA) 2009). Ils sont secrétés chez les espèces capables d'anaérobiose lorsqu'un stress aussi intense soit-il n'est pas accompagné d'un apport suffisant en dioxygène. La lactatémie semble être un bon indicateur pour la truite arc-en-ciel ou encore pour le saumon cependant il est à noter que ce n'est pas le cas pour toutes les espèces piscicoles. En effet, les taux de glucose et de lactate plasmatique ne sont pas augmentés lors d'un stress chez le Labre bicoloré (*Hemigymnus melapterus*) (Grutter et al, 2000).

Les résultats de mesure de lactates chez la truite-arc-en-ciel de la thèse vétérinaire de Darmancourt (2022) juste après l'abattage ont montré des valeurs de lactates plasmatiques comprises entre 9 et 14 mmol/L.

Il est important de rappeler qu'il existe une diversité d'espèces piscicoles et que les techniques pour évaluer leur stress peuvent-être différentes que cela soit leur comportement ou encore les biomarqueurs de stress comme montré ici. Il est également important à mentionner que contrairement aux mammifères, la corrélation entre les lactates plasmatiques et les lactates musculaires n'est pas vraie. En effet, la majorité des lactates chez le poisson sont stockés dans les muscles sans que cela ait d'influence sur la lactatémie (Merkin et al. 2010). Nous avons vu que le taux plasmatique en glucose était influencé par divers facteurs comme l'alimentation. Il en est de même pour la lactatémie, qui peut être influencée par le jeûne notamment prodigué aux animaux avant un transport. Cet aspect sera important à prendre en compte lorsque des analyses de sang seront à interpréter (Bermejo-Poza et al. 2017).

III. Evaluation du comportement de la truite arc-en-ciel comme indicateur de bien-être

Un des indicateurs le plus parlant en terme de bien-être en aquaculture est l'observation du comportement des individus. Leurs comportements s'expriment par différents modes de nage, par l'aspect des nageoires, par la fréquence de ventilation branchiale, par des motifs pigmentaires et la coloration de la peau, par leur appétit ou encore par rapport à leur position dans l'eau (Martins et al. 2012).

1. Comportement au moment de la prise alimentaire

Si nous nous penchons sur l'aspect alimentation, nous pouvons définir la notion de « motivation alimentaire », comme le temps entre la distribution de nourriture par l'opérateur et le début d'alimentation des poissons, qui est un indicateur pertinent du bien-être étudié chez le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) (Martins et al. 2012). Un temps augmenté par rapport à la normale peut avoir pour cause une altération du bien-être passant par exemple par un problème zootechnique ou infectieux.

2. L'activité respiratoire du poisson comme indicateur de stress

La fréquence respiratoire est également un indicateur pertinent. En effet, chez un poisson non stressé, nous constatons une fréquence minimale, alors que lors de moments stressants, l'activité ventilatoire des poissons peut augmenter de manière accrue. Cette activité ventilatoire dépend des paramètres de l'eau, notamment la concentration en dioxygène et en dioxyde de carbone. Tous les changements environnementaux qui augmentent l'activité ventilatoire des poissons vont rendre le poisson plus vulnérable aux agents environnants car l'appareil branchiale sera plus exposé à ces derniers.

3. Comportement d'agression et stress chez le poisson

L'agressivité au sein des individus résulte souvent d'une compétition qu'elle soit pour la nourriture ou pour un territoire. Cette agressivité s'observe directement dans les bacs lors d'attaque ou *a posteriori* avec l'observation de lésions cutanées. Il a été montré qu'il existait une corrélation significative entre le nombre de blessures ou de cicatrices cutanées avec le nombre d'agressions mesuré par observation directe. Cette corrélation a été utilisée pour évaluer le bien-être du poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*) dans plusieurs études (Almazán-Rueda et al, 2004; Rueda 2004; Cañon Jones et al. 2010).

4. Comportements stéréotypés chez le poisson

Les comportements stéréotypés chez les poissons n'ont pas beaucoup été étudiés. L'étude précédente a montré deux schémas stéréotypés chez le poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*) qui nage de manière continue et compulsive, de manière circulaire ou triangulaire. Cette étude a montré par la suite que le comportement stéréotypé est un indicateur pertinent pour évaluer le bien-être de cette espèce (Rueda 2004; Almazán-Rueda et al, 2004).

Nous pouvons conclure que le comportement du poisson n'a pas encore été beaucoup étudié et qu'une grille d'évaluation comportementale n'est pas aisée à construire. De plus, les évaluations comportementales sont souvent subjectives et peuvent varier d'un opérateur à un autre.

IV. Enrichissement des conditions d'élevage

Nous avons vu les différentes conséquences que le stress peut induire chez le poisson. Il est intéressant maintenant de se pencher sur les différentes manières de réduire ce stress. L'enrichissement semble être une voie appropriée pour limiter les conditions stressantes et améliorer le bien-être animal. Une étude récente s'est intéressée à évaluer différents types d'enrichissements chez la truite arc en ciel (Brunet et al. 2022). Ils ont montré que des environnements plus complexes diminuaient les niveaux d'agressivité et amélioraient la croissance. Le stress des individus était donc limité avec un milieu enrichi. L'important à souligner est que les enrichissements en jouant sur le stress ont eu un effet bénéfique sur la croissance des animaux. C'est un aspect économique non négligeable à prendre en compte en aquaculture.

1. Enrichissement et réglementation

D'un point de vue réglementaire, il convient d'enrichir au minimum l'environnement des poissons dans le cas d'usage des animaux à des fins scientifiques. En effet, dans la DIRECTIVE 2010/63/UE du Parlement Européen et du Conseil relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (2010), il est stipulé que « les établissements veillent à mettre en place des techniques d'enrichissement appropriées qui élargissent la gamme d'activités possibles des animaux et développent leurs capacités d'adaptation, en encourageant notamment l'exercice physique, l'exploration, la manipulation et les activités cognitives, en fonction des espèces ». Il est précisé en particulier que les poissons « bénéficieront d'un enrichissement environnemental approprié, par exemple des cachettes ou un substrat adapté, sauf si les comportements suggèrent que cela n'est pas nécessaire ».

2. Objectifs de l'enrichissement

Cette notion d'enrichissement environnemental a été décrite par Näslund et al (2016) comme « une augmentation délibérée de la complexité environnementale dans le but de réduire les traits inadaptés et aberrants chez les poissons élevés dans des environnements autrement privés de stimuli ». Cette augmentation de la complexité environnementale aurait pour but de réduire les comportements stéréotypés, de réduire le stress chronique et de prévenir les problèmes de santé. Il aurait pour but également de promouvoir le bien-être de l'animal en lui permettant d'exprimer les comportements normaux de son espèce et en provoquant des émotions positives (Compassion in world farming, s. d.). Toutefois, il est important de suivre les indicateurs comportementaux des poissons face à un milieu enrichi car même si l'enrichissement prône une amélioration du bien-être, il peut également être source de compétition entre les individus s'il n'est pas disponible pour tout le monde. En effet,

dans le cadre du projet CASDAR AQUA BEA, une expérimentation a été réalisée au lycée d'enseignement général, technologique et agricole de Bréhoulou à Fouesnant dans le Finistère, visant à évaluer l'intérêt des zones d'ombre dans le bien-être des truites-arc-en-ciel. Ils ont constaté que ces zones d'ombre étaient souvent convoitées par les poissons les plus dominants et que cela prédisposait à la mise en place d'une compétition entre les individus.

3. Les différents types d'enrichissement

Les enrichissements peuvent être variés. En effet, on peut mentionner 5 types d'enrichissement (Figure 5) (Compassion in world farming, s. d.) :

- L'enrichissement structurel avec par exemple un substrat, des plantes artificielles ou encore des abris (tuyaux). Ce type d'enrichissement a pour but d'amener de la complexité dans l'environnement du poisson.
- L'enrichissement social, le but étant d'élever différentes espèces ensemble sous réserve qu'elles soient compatibles. Ce type d'enrichissement tente de reproduire les écosystèmes aquacoles préexistants à l'état sauvage.
- L'enrichissement sensoriel, qui a pour but de proposer aux poissons une ambiance différente au sein du milieu d'élevage, par exemple des fonds colorés ou des zones d'ombre.
- L'enrichissement occupationnel, qui lui regroupe un ensemble d'objets manipulables dans l'eau ou encore la mise en place de courants d'eau variés.
- L'enrichissement alimentaire, qui peut faire appel à des aliments aromatisés ou des granulés de tailles variées

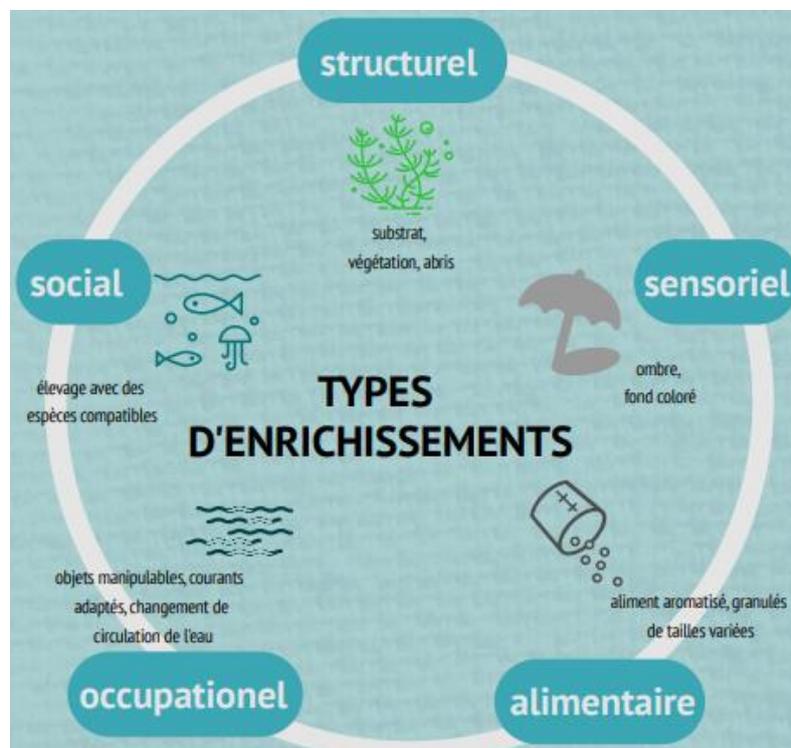


Figure 5 : Plaquette illustrant les différents types d'enrichissement (CIWF Agroalimentaire s. d.).

D'après la CIWF Agroalimentaire (s. d.), (ONGI qui travaille sur le bien-être animal), l'effet des enrichissements a été plus étudié sur les poissons juvéniles que sur les poissons en grossissement. Il serait donc intéressant de voir si les conditions d'enrichissement sont similaires ou non lorsque le poisson est juvénile et lorsqu'il est en phase de grossissement puis en phase adulte.

4. Etat de l'art sur l'enrichissement environnemental

Dans une étude, Zhang et al (2022) ont montré qu'il s'agit des enrichissements structurel et sensoriel qui participent le plus au bien-être animal. En effet, les structures physiques, les types de substrats et les enrichissements colorés (bleu et marron) semblent avoir un fort effet positif sur le bien-être animal. Ils ont obtenu ces résultats en réalisant une méta-analyse sur 1797 articles choisis sur de nombreux critères en lien avec le bien-être. Ces résultats montrent que les couleurs compatibles avec l'habitat naturel sont mieux appréciées des poissons. D'après eux, il est nécessaire que des études se penchent de plus en plus sur l'enrichissement des conditions d'élevage des poissons car pour les citer : « dans un milieu enrichi, les animaux aquatiques ont généralement un meilleur bien-être que leurs homologues vivant dans un milieu stérile » (Zhang et al, 2022).

a. L'enrichissement sensoriel

L'enrichissement sensoriel peut se matérialiser sous forme de stimuli lumineux. Pour cela, faut-il encore choisir la bonne longueur d'onde de la lumière et sa périodicité. Il a été montré que le rouge, une lumière constante ou une obscurité permanente affecte de manière négative le poisson en terme de développement aux stades œufs, larves et juvéniles. Cela peut causer des malformations et augmenter la mortalité (Sánchez-Vázquez et al. 2019).

Il est donc conseillé, d'après Zhang et al (2022), de travailler plutôt avec des couleurs comme le bleu et le marron, plus compatibles avec l'habitat naturel du poisson.

Un autre type d'enrichissement sensoriel peut être des stimuli auditifs tels que de la musique. En effet, dans le milieu d'élevage, les poissons sont soumis à de nombreux bruits parasites ayant souvent pour origine les pompes, les systèmes de filtration. Ils sont soumis également à des bruits plus soudains comme les manipulations des opérateurs autour des bacs. Ces différents bruits peuvent impacter de manière négative le bien-être des poissons. C'est pourquoi, des études ont été menées pour voir si le fait d'ajouter un bruit de fond spécifique à l'habitat naturel des poissons pouvait influencer leur comportement (Wells 2009). Une autre étude a reproduit le son que les poissons peuvent entendre dans des conditions d'élevage off-shore et dans le cas d'élevage en pisciculture. Ils ont montré que les performances de croissance (taille et poids) étaient meilleures dans le cas où les poissons entendaient les bruits de la mer mais aussi des bateaux que les lots témoins où il n'y avait aucune bande son. Ils ont montré également que les concentrations de cortisol et de glucose sérique étaient inférieures dans les conditions enrichies en stimuli auditifs. Ils ont donc conclu que le bruit de l'aquaculture offshore et le paysage sonore de la mer influencent de manière positive les performances de croissance des animaux et contribuent à limiter le stress chez la dorade royale (*Sparus aurata*) (Filiciotto et al. 2013). Cette étude est intéressante car nous

aurions pu penser qu'un environnement calme sans aucun bruit contribuerait à améliorer le bien-être des poissons. Or ici, les auteurs ont montré qu'un environnement associé à des bruits de mer calme et de bateaux contribuent à améliorer le bien-être des animaux. Toutefois, dans une autre étude, ils ont montré que le bruit de l'aquaculture offshore et le paysage sonore marin influencent négativement le statut oxydatif et la fonction immunitaire de la dorade royale. Ainsi, les conditions de l'environnement acoustique de la mer semblent plus stressantes qu'elles ne paraissaient dans la première étude (Filiciotto et al. 2017). Papoutsoglou et al. (2013) se sont intéressés à la musique classique en tant qu'enrichissement sensoriel auditif. Ils ont utilisé deux stimuli musicaux (Mozart et Romanza) chez des truites arc-en-ciel juvéniles ($6,7 \pm 0,12$ g) pendant 14 semaines.

Ils ont montré que les performances de croissance étaient meilleures dans le cas des lots enrichis avec un stimulus musical par rapport aux groupes témoins. La musique peut donc être un enrichissement sensoriel intéressant.

b. L'enrichissement structurel

L'enrichissement structurel peut se décliner sous plusieurs formes. Il peut se matérialiser par des objets qui apportent de la complexité environnementale notamment sous forme d'abris, comme des tuyaux, des tuiles, des morceaux de plastiques semi-circulaires. Il peut se matérialiser également sous forme de substrats (graviers de granulométrie différente) notamment pour les espèces vivant dans le fond. Certaines études ont montré que l'enrichissement environnemental, comme des tubes de PVC, augmentait la survie et la croissance, mais aussi améliorait la qualité de la nage, réduisait la réponse au stress quand ils étaient exposés à des facteurs stressants comme l'exposition à l'air et des injections sous-cutanées d'acide acétique (Pounder et al. 2016 ; Näslund et al, 2016 ; Ahlbeck Bergendahl et al. 2017). Même si les mécanismes sous-jacents ne sont pas encore clairs, deux études ont montré que l'enrichissement environnemental augmentait la capacité de résistance des poissons face aux épidémies de parasites (Räihä et al. 2019 ; Karvonen et al. 2016). De plus, dans une autre étude, a été testée la résistance à certaines bactéries sur des poissons vivant dans des milieux enrichis ou non. La bactérie *Flavobacterium columnare* chez le saumon d'atlantique (*Salmo salar*) et la truite brune (*Salmo trutta*) a été utilisée pour un challenge. Un premier lot de poissons a été élevé dans un milieu enrichi en petits graviers (40-60mm de diamètre), en abri et en changement de direction du flux d'eau. Un deuxième lot a été élevé sans enrichissement. Ils ont travaillé avec 5 populations de truites et 5 populations de saumon d'origines géographiques différentes. Une épidémie naturelle à *Flavobacterium columnare* a été observée dans les bassins. Ils ont constaté que, dans 8 des 10 populations testées, les individus vivant en milieu enrichi avaient une mortalité plus faible que ceux vivant sans enrichissement. Les auteurs ont conclu que l'élevage enrichi avait considérablement augmenté la survie des poissons pendant l'épidémie naturelle à *Flavobacterium columnare* (Räihä et al. 2019).

Dans une seconde expérience, ils ont tenté d'introduire la bactérie de manière contrôlée. Les poissons ont été élevés dans deux conditions d'élevage comme précédemment

décrites (enrichis ou standard). Ensuite, les poissons ont été disposés dans des bacs de plus petite taille et la moitié des bacs a été enrichie avec du petits graviers (40-60 mm de diamètre), cela constituait les lots enrichis. Les poissons ont été divisés de manière à être soit exposés à leur milieu d'origine c'est-à-dire standard vers standard et enrichi vers enrichi, soit à un milieu nouveau c'est-à-dire standard vers enrichi ou enrichi vers standard. Cela donnait un total de huit combinaisons possibles. Une dose de $4,5 \cdot 10^6$ unités formatrices de colonies par mL a été ajoutée par bac. Ils ont montré que les poissons exposés dans un environnement enrichi ont eu une survie plus élevée, quel que soit leur milieu d'élevage d'origine. De plus, le taux de survie dans l'environnement enrichi était plus élevé parmi les poissons issus d'un milieu d'élevage enrichi que ceux issus d'un milieu standard (Räihä et al. 2019).

L'enrichissement contribue donc à augmenter la résistance des poissons face à des maladies et donc à contribuer à une meilleure défense immunitaire de l'organisme (Räihä et al. 2019).

Dans une autre étude (Salvanes et al. 2013), les auteurs ont mis en place un protocole où les poissons ont vécu dans des milieux enrichis (3 bassins) ou dans des milieux standards (3 bassins). Les poissons sont restés dans les milieux pendant 8 semaines. Le milieu enrichi comprenait des éléments structurels comme des cailloux, des galets et des structures flottantes en plastique. Les cailloux et les galets (diamètre 8-12 cm) représentaient 75% de la base du bassin et constituaient pour les poissons des éléments pour s'y cacher. Il y avait également des frondes en plastique (5 cm de large et 50 cm de long). Les frondes étaient en suspension, lestées à l'aide des cailloux. Les poissons pouvaient également s'y abriter. Ils ont constaté que les poissons utilisaient l'ensemble des éléments d'enrichissement. Le télencéphale a été récupéré des différents poissons et l'ARN total a été extrait. Grâce à la technique de RT-PCR, ils ont pu quantifier l'expression de différents gènes notamment le gène NeuroD1 qui est un gène impliqué dans la neurogenèse et un indicateur des changements neurogènes associés à l'apprentissage et à la mémoire (Salvanes et al. 2013). Ils ont montré que les poissons élevés dans les milieux avec enrichissement présentaient des niveaux plus élevés d'expression de l'ARNm NeuroD1 par rapport aux poissons témoins élevés dans des milieux standards. Ils ont réalisé une seconde expérience qui consistait à mettre des poissons élevés dans les deux conditions différentes dans un labyrinthe afin de voir qui était le plus rapide à sortir. Ils ont montré que les poissons élevés dans des conditions enrichies sont sortis du labyrinthe plus rapidement que les poissons témoins au fur et à mesure des jours d'expérimentation.

Pour conclure, ils ont montré que l'enrichissement participait à améliorer la plasticité neuronale et la capacité cognitive chez les saumons d'atlantique juvéniles (*Salmo salar*) (Salvanes et al. 2013 ; Arechavala-Lopez et al. 2020).

c. L'enrichissement occupationnel

L'enrichissement occupationnel peut se présenter sous la forme d'exercices imposés aux poissons. Les niveaux de nage des poissons en captivité sont souvent inférieurs à ceux dans la nature (Arechavala-Lopez et al. 2021). Il est donc intéressant de voir si de l'exercice

peut améliorer les conditions d'élevage des animaux. Des études se sont intéressées à l'influence de la nage des poissons sur leur physiologie et sur leur comportement. Il indique que l'exercice soutenu à des vitesses optimales améliore la croissance des muscles du poissons et influence donc la qualité de la chair de manière positive. L'exercice soutenu permet également un retard du développement ovarien et la stimulation du système immunitaire (Palstra et al, 2011). Ils ont constaté chez la truite arc-en-ciel que la croissance maximale s'effectue avec une vitesse de nage d'une longueur corporelle (BL : body length) par seconde (1 BL/s). Donc chez toutes les espèces de salmonidés testées, la mise en place d'un exercice modéré et soutenu entraîne une augmentation significative du poids et donc de la croissance des animaux (Walker et al, 1978).

Dans une autre étude (Herbert et al, 2011), les auteurs ont montré qu'un exercice soutenu (1,5 longueur corporelle par seconde soit 1,5 BL/s) chez le saumon atlantique entraînait un meilleur taux de croissance et de conversion alimentaire que chez les témoins. Ils ont également montré que le taux de cortisol plasmatique était inférieur aux témoins. Cela montre que la nage et l'exercice sont en lien avec l'amélioration du bien-être. Toutefois, il faut rester prudent avec l'intensité de l'exercice. En effet, dans une autre étude (Parker et al, 2014), les auteurs ont montré qu'une vitesse plus rapide de l'ordre de 3,0 BL/s affecte négativement la croissance des poissons et l'utilisation de la nourriture.

Diverses études ont montré que les poissons étaient capables de jouer. Il a été identifié trois types de jeux : locomoteur (comme par exemple des jets à bulle ou des pierres à air), la manipulation d'objets et l'interaction social incluant celle avec l'homme (Fife-Cook et al, 2021; 2019; Burghardt 2015). Dans les élevages, nous constatons que les salmonidés sautent en dehors de l'eau, nous pouvons donc nous demander ce que signifie les sauts chez cette espèce. D'après Fagen (2017), ce comportement serait associé à une forme de jeu. Ce comportement peut également être lié à la régulation de la flottabilité, aux infections parasitaires ou au stress. Il est donc compliqué de savoir si ce comportement est associé à une forme de jeu ou de stress. C'est pourquoi, il faut être prudent sur le développement de cette pratique.

d. L'enrichissement social

L'enrichissement social consiste à mettre différentes espèces en relation mais aussi à laisser assez d'espace pour que les poissons s'évitent (Arechavala-Lopez et al. 2021). Il faut s'assurer que les espèces soient compatibles. Et au sein d'une espèce, il faut s'assurer que les différents stades soient compatibles. En effet, des espèces qui vivent en banc et se retrouvent seules en captivité peuvent ressentir du mal-être. *A contrario* une espèce vivante seule et territoriale pourra montrer de l'agressivité pour défendre un territoire. Il existe d'ores et déjà des associations de différentes espèces. Ces associations n'ont pas encore pour objectif d'améliorer le bien-être des animaux mais elles ont plutôt un avantage zootechnique. En effet, dans certains élevages ils ont associé des poissons nettoyeurs tels que des espèces de napoléons avec des saumons adultes. Les poissons nettoyeurs se nourrissent du copépode du pou du saumon, cela permet alors de réduire la charge parasitaire des saumons (Haugland et al. 2020). Un autre exemple d'association d'espèces peut être l'association de différentes espèces de carpes dans les étangs asiatiques et africains. Des espèces comme

Hypophthalmichthys molitrix, *Aristichthys nobilis* et *Cyprinus spp* sont élevées ensemble. Il a été montré que l'introduction de la carpe commune (*Cyprinus carpio*) avait significativement augmenté la croissance des autres espèces de carpes (Wahab et al. 1995).

e. L'enrichissement alimentaire

L'enrichissement alimentaire dépend du type d'aliment, de la quantité d'aliment, du type et de la périodicité de distribution (Arechavala-Lopez et al. 2021). Un système d'auto-alimentation contribue à améliorer le bien-être des poissons. En effet, ils peuvent choisir à quel moment de la journée s'alimenter. L'utilisation de distributeurs permet une répartition uniforme de l'alimentation dans les élevages (Skøien et al, 2018). Cela permet donc de limiter la compétition pour l'aliment. Les aliments peuvent se présenter sous différentes formes comme les granulés/extrudés, les proies vivantes comme utilisées dans les écloseries marines ou dans les polycultures. Les caractéristiques des granulés ou des aliments extrudés sont la taille, la forme, la saveur, la texture, l'appétence et la couleur. Toutes ces caractéristiques peuvent varier et constituent plusieurs façons d'enrichir le milieu avec l'alimentation (Kubitza et al, 1999). L'utilisation de saveurs contribue dans les élevages de poissons carnivores à diminuer le cannibalisme. L'enrichissement alimentaire contribue donc à réduire le mal-être des animaux en limitant le cannibalisme (Kubitza et al, 1999). Les aliments peuvent être semi-flottants, flottants ou coulants, il faut adapter l'alimentation à la position dans la colonne d'eau où l'espèce préfère se nourrir (Arechavala-Lopez et al. 2021).

L'enrichissement s'inscrit donc dans une dynamique d'amélioration des conditions de vie des poissons en élevage. Il est donc important de poursuivre les études sur celui-ci pour prévoir une mise en place future à plus grande échelle.

5. L'enrichissement à plus grande échelle ?

La mise en place de mesures d'enrichissement environnemental à l'échelle des élevages est encore naissante. Cela est dû notamment à des résultats inattendus et contradictoires venant de différentes études. Cela peut donc amener à une mauvaise conception des enrichissements selon l'espèce ou le stade d'élevage. Les enrichissements structurels sont différents d'une espèce à l'autre, par conséquent il faut adapter l'enrichissement à chaque espèce, comme ce qui est déjà fait pour les animaux terrestres. Un autre point à soulever est l'hygiène et la biosécurité qui semblent être des freins à cette mise en place. En effet, des particules alimentaires ou des déjections peuvent s'accumuler dans des objets d'enrichissement, favorisant le développement de bactéries ou d'autres agents (biofilm). Le nettoyage et la désinfection des objets peuvent être compliqués et chronophages. De plus, certaines substances chimiques peuvent s'échapper des éléments d'enrichissement comme les phtalates de PVC potentiellement dangereux pour les animaux aquatiques. Une mauvaise conception peut entraîner des dangers physiques favorisant les blessures, les infections et la mortalité. La mise en place des enrichissements peut également provoquer de la néophobie chez certains individus ou encore favoriser la territorialité pour certaines zones plus enrichies (Arechavala-Lopez et al. 2021).

La mise en place d'enrichissement nécessite une transformation des méthodes et protocoles. Il peut donc y avoir une certaine résistance venant des parties prenantes de l'industrie. En effet, tout changement implique un investissement financier considérable sans savoir à l'avance si le projet est rentable. Cela dépend également de l'échelle, un changement dans un système extensif ou semi-intensif peut-être envisagé mais dans les systèmes intensifs et ultra-intensifs, un petit changement peut nécessiter une grande transformation dans les procédures et peut avoir un impact important (Arechavala-Lopez et al. 2021).

La mise en œuvre d'enrichissements doit être adaptée à l'espèce, au stade de vie, à la taille des individus, à la densité, aux types de méthodes d'élevage et aux types d'exploitation. Elle doit être suivie de près en réalisant une analyse coût-avantage afin de convaincre l'industrie. En effet, il est nécessaire de montrer qu'un bien-être amélioré peut contribuer à une meilleure croissance des poissons. Cela doit encore être démontré. Un autre moteur, autre qu'économique, peut contribuer à faire avancer ce projet. En effet, la sensibilisation du grand public à l'égard du bien-être des poissons est un atout majeur pour la mise en place des enrichissements (Arechavala-Lopez et al. 2021).

V. Evaluation de l'expression de gènes impliqués dans la sensibilité du poisson

1. Enrichissement et amélioration de l'activité cérébrale

Pour évaluer la sensibilité du poisson, il est nécessaire de se concentrer sur les gènes impliqués dans cette sensibilité mais aussi dans la plasticité neuronale du poisson. L'étude de Cardona et al. (2022) a montré que l'enrichissement de l'environnement avait de manière significative modifié l'expression de gènes liés à la plasticité neuronale, la neurogenèse et la synaptogenèse. Ces expressions de gènes étaient surtout localisées dans le télencéphale. Cela sous-entend que l'enrichissement de l'environnement influe sur le développement du cerveau de la truite arc-en-ciel. Ensuite, ils ont évalué l'expression des gènes liée à l'activité cérébrale en mesurant la concentration en ARNm (ARN messagers) sur des lots de poissons vivant dans un environnement enrichi et d'autres vivant dans un environnement stérile. La méthode de RT-PCR (PCR quantitative) a été utilisée. Les gènes ciblés dans l'expérience sont des gènes marqueurs de l'activité cérébrale, de la plasticité neuronale, de la neurogenèse, de la synaptogenèse et intervenant dans certaines voies de neurotransmetteurs comme la dopamine, le glutamate, le GABA et la sérotonine. Les résultats de leur étude ont montré que les sujets vivant dans un milieu enrichi présentaient une expression de gènes neurotrophes, ou de gènes impliqués dans la neurogenèse et dans la synaptogenèse augmentée *a contrario* des sujets vivant dans un milieu stérile. Parmi ces gènes, nous pouvons citer *npas4b* et *pcna* qui sont deux gènes impliqués dans l'activité neuronale. Mais aussi *stxbp5*, *ntkr2b*, *stx1b*, *neurabin-1* et *ncam* qui sont cinq gènes neurotrophes. Ou encore *mapk1*, *mapk erk*, *mtor* et *creb* qui sont des gènes impliqués dans la plasticité neuronale. Des gènes impliqués dans des voies neurotransmetteurs sont plus exprimés également comme *dat* qui est un transporteur

de la dopamine, *vmat2* qui est un transporteur de sérotonine, *gbrl2* et *chat* qui sont des gènes impliqués dans la voie du GABA.

2. Les c-miARN impliqués dans l'activité cérébrale comme biomarqueurs de stress

Dans une deuxième étude Cardona, et al. (2022) ont montré que les c-miARN (circulating micro ARN) peuvent être utilisés comme biomarqueurs de stress chez la truite arc-en-ciel. Ils peuvent être mesurés dans le plasma mais aussi dans le mucus épidermique. Deux matrices non létales pour le poisson. Dans l'étude, ils ont travaillé en induisant un stress hypoxique chez les poissons. Une augmentation significative des taux de miARN circulants (c-miARNs) a été constatée dans le plasma des truites vivant en milieu enrichi. Ils ont trouvé 4 types de c-miARNs : miR-203-3p, miR-205-1a-5p, and miR-218a-5p. Le gène miR-200b/c-3p semble impliqué dans la voie de la sérotonine (McKibben et al, 2021). Le gène miR-205-1a-5p était en quantité très faible chez des souris atteintes d'une maladie neurogénéralive associée à des déficits de la cognition, du comportement et du mouvement (Ryan et al, 2019). Le gène miR-218a-5p est le c-miARN le plus induit dans le cortex préfrontal des rats soumis à un stress chronique. Il est donc impliqué dans la dépression et l'anxiété (Yoshino et al, 2022). Les c-miARN sont spécifiques à certains tissus, en effet miR-205-1a-5p et miR-203-3p sont spécifiques respectivement du cerveau et des branchies. Les autres sont présents dans une majorité de tissus mais avec une expression la plus importante dans le cerveau.

Les c-miARNs sont donc des candidats non négligeables dans le rôle de biomarqueurs pour la plasticité comportementale des poissons. La complexification de l'environnement en passant par l'enrichissement du milieu d'élevage favorise donc le développement de certaines voies neuronales de la truite-arc-en-ciel. Nous pouvons penser que les c-miARN peuvent être des biomarqueurs pour tout type de stress. Si les c-miARN sont des biomarqueurs de stress, alors ils sont aussi des biomarqueurs impliqués dans le bien-être animal. Ils sont donc intéressants à l'évaluer.

Ces études montrent donc que l'enrichissement environnemental contribue à améliorer le développement de certaines voies notamment celles de la neurogenèse et de la synaptogénèse ou encore la plasticité neuronale chez la truite arc-en-ciel.

VI. Exemple d'une maladie fréquente en élevage favorisée par le stress des poissons : la furonculose à *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida*

1. Présentation de la bactérie et de la maladie

Aeromonas salmonicida sub. salmonicida est une espèce de bactérie à gram négatif de la famille des Aeromonadaceae. Cette bactérie est responsable d'une infection épidermique en aquaculture nommée la furonculose. Elle se manifeste notamment chez la truite et le saumon. Cette maladie cause des infections graves et entraîne donc des pertes économiques importantes dans les élevages (Hayatgheib et al. 2021).

2. Présentation des symptômes

Les symptômes peuvent aller d'une évolution suraiguë à chronique. Pour l'évolution suraiguë, on constate une mortalité soudaine sans signe clinique apparent. Pour l'évolution aiguë, on peut constater des hémorragies au niveau des branchies mais également à la base des nageoires. On peut avoir des rejets contenant du sang. Au niveau des signes internes, on constate des pétéchies des muscles, du tégument, du péritoine et de la vessie natatoire. Nous pouvons également observer un intestin flasque et enflammé avec un rejet de liquide souvent hémorragique. Si un prélèvement sanguin est effectué, on constatera un hématocrite réduit en raison des nombreuses pertes de sang qu'a subi l'organisme. Quand l'évolution est plutôt chronique, on pourra visualiser sur les flancs du poisson des furoncles (Figure 6, Figure 7) qui correspondent à des lésions profondes du muscle.



Figure 6 : Furoncle sur le flanc et au niveau de la nageoire anal du poisson (Calvez 2023).



Figure 7 : Furoncle sur le flanc du poisson (Calvez 2023).

3. Eléments d'épidémiologie

La bactérie se transmet par contact entre poissons infectés. Il est donc important de mettre en place des mesures de quarantaine lors d'introduction de nouveaux animaux dans un élevage. La bactérie est résistante dans l'eau, donc l'eau contaminée suffit à contaminer les poissons qui y vivent. Des poissons asymptomatiques peuvent être porteurs et propager la bactérie à d'autres congénères. Le matériel contaminé comme les bottes et les filets sont des vecteurs de la bactérie il est donc important de prendre des mesures d'hygiène et de désinfection dans les élevages. Le stress, comme une mauvaise oxygénation de l'eau, un parasitisme élevé ou une augmentation de la température, sont des facteurs pouvant déclencher la maladie quand elle est présente dans l'élevage.

4. Les traitements en élevage

Le traitement passe par une antibiothérapie. L'oxytétracycline est une molécule qui peut être utilisée. Le florfenicol peut également être utilisé. Il se présente sous forme de pré mélange médicamenteux via l'alimentation.

5. La vaccination

Il existe plusieurs laboratoires proposant un vaccin contre la furunculose (Alphaject 1200, Aquavac FNM plus, Aquavec Furovac et Furogen 2). Il est également possible de fabriquer des auto-vaccins spécifiques à l'élevage en question.



Figure 8 : Photographie d'un opérateur en train de vacciner une truite dans la cavité abdominale.

6. Technique de balnéation pour réaliser un challenge infectieux

L'étude de Moreau et al. (2023) a permis de mettre en place une technique de balnéation pour infecter les poissons par la bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida*. Ils ont constaté une infection aiguë et des lésions similaires à ceux de la furonculose à une concentration de 10⁶ UFC/mL et à une température de 16°C. Le temps de contact avec la bactérie a influencé le nombre d'animaux infectés et le taux de mortalité. Un temps de contact de 24 heures a permis d'atteindre un taux de mortalité proche de 50%. Cette technique est adaptée pour réaliser des challenges infectieux afin de tester la résistance des poissons selon leurs conditions d'élevage.

La bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida* semble être une bonne candidate pour étudier le stress et la survie des poissons pour comparer leur résistance selon les conditions d'élevage. En effet, pour comparer la survie des individus, il est nécessaire d'utiliser une bactérie qui ne provoque pas 100% de mortalité car sinon nous ne verrions pas de différence entre les milieux enrichis ou non. L'évolution serait trop rapide et violente. Certes, il existe une forme aiguë de furonculose mais il existe également une forme chronique. Un grand nombre de maladies sont favorisées lors de stress chronique, c'est le cas de la furonculose. De plus, la bactérie est résistante dans l'eau, il n'est donc pas nécessaire de l'injecter au poisson (stress supplémentaire). Donc pour un challenge infectieux, la technique de balnéation de Moreau et al. (2023) est indiquée.

Partie 2 : Evaluation de l'effet de l'enrichissement du milieu d'élevage sur l'amélioration du bien-être animal et sur la robustesse des poissons

Les expériences suivantes s'inscrivent dans un projet portant sur le bien-être des poissons d'élevage : le projet CASDAR AQUA BEA (compte d'affectation spécial pour le développement agricole et rural : projet aqua bien-être) n° agrément 19AIP5919.

I. Matériels et méthodes

1. Justification du nombre de poissons utilisés dans les expériences

Pour vérifier la répétabilité de notre protocole et éviter l'effet bac, chaque condition a été réalisée en triplicat (3 bacs). Pour le calcul du nombre de poissons nécessaires à notre étude, nous avons utilisé le site internet [BiostaTGV - Statistiques en ligne \(sentiweb.fr\)](https://www.sentiweb.fr). Le test de comparaison de deux moyennes observées avec un risque alpha de 0.05, une puissance à 0,8 et un test unilatéral, donne un nombre de 13 poissons par lot. Pour prendre en compte notre étude en triplicat, le nombre d'animaux prélevés par lot est amené à 15 (3 x 5). Pour l'évaluation de la robustesse des animaux suite au challenge infectieux, nous allons réaliser un test de comparaison de deux proportions observées (pourcentage de mortalité dans le lot non enrichi estimé à 50%, pourcentage de mortalité dans le lot enrichi P2 estimé à 30% - 40%). Le risque alpha étant de 0.05, la puissance étant de 0,8 et avec l'utilisation d'un test unilatéral, 36-37 poissons par lot sont préconisés. Le nombre d'animaux restant s'il n'y a aucune mortalité avant le challenge est de 45 poissons par lot et répond donc au nombre d'animaux préconisé. Le protocole a été validé par le comité d'éthique et par le ministère - APAFIS (#40967-2023021514284658 v4).

2. Matériel biologique

Nous avons décidé de travailler avec *Oncorhynchus mykiss* (la truite arc-en-ciel) car il s'agit de l'espèce la plus élevée en France ([La pisciculture : production et consommation | Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire](#), consulté le 20/02/2023). Nous avons choisi d'utiliser des truites arcs-en-ciel triploïdes. En effet, l'avantage principal des truites triploïdes est de s'affranchir de la maturation des caractères sexuels. Dans notre étude, cela va nous permettre de ne pas avoir à distinguer mâle et femelle. Les hormones sexuelles étant intimement liées aux molécules que nous allons analyser (notamment le cortisol), cela pourrait créer un biais selon le sexe de l'animal.

Les truites ont été élevées à la Pisciculture Expérimentale INRAE des Monts d'Arrée (PEIMA.) à Sizun en Bretagne et ont été transportées en février 2023 à la station expérimentale aquacole d'Oniris.

Les 960 individus ont été répartis dans 3 bacs de 1 m³ chacun à une température de 10°C, soit 320 individus par bac correspondant à une densité de 17,6 kg/m³ (55 g par individu). Les truites arc-en-ciel sont restées 3 semaines dans les bassins de 1 m³ afin de les acclimater.

Le 09/03/2023, une partie des individus a été répartie dans 24 bacs de 200 L. Cela correspond à 30 individus par bac avec un poids calculé à partir des ABAC de croissance de 75 g par individu. Cela équivaut à une densité de 11,4 kg/m³. Les truites arc-en-ciel sont restées 3 semaines en acclimatation dans ces nouveaux bacs.

La température de l'eau a été augmentée progressivement pour être fixée à 15°C. Il s'agit de la température optimale d'élevage de la truite arc-en-ciel. L'oxygène dans l'eau était de 90-100 % de saturation. L'eau des bacs a été renouvelée d'un tiers tous les jours afin d'éliminer les fèces et les aliments non consommés. Ce renouvellement s'est réalisé en effectuant des chasses 30 minutes après le repas du matin. Les poissons ont été observés deux fois par jour et les paramètres d'élevage ont été mesurés en continu par des sondes. La qualité de l'eau (pH, teneurs en nitrates et en nitrites) a été évaluée une fois par semaine. La quantité de nourriture a été adaptée à chaque bac en fonction du poids moyen par bac (mesuré au temps T1 le 03/04/2023). La distribution de nourriture s'est découpée en deux repas par jour : le premier à 9h et le second à 14h. Les poissons ont été nourris avec l'aliment NEO 19 CDC – semi F4 de chez « Le Gouessant » tout le long de l'expérience.

3. Mise en place d'air-lift pour s'affranchir des bulleurs

Durant l'expérience, nous allons évaluer le bien-être des animaux grâce à une grille d'observation des animaux. Cette observation sera réalisée une fois par semaine et donnera un score final par bac. La difficulté à laquelle nous nous sommes confrontés est la présence de bulles en provenance des bulleurs pour oxygéner l'eau qui ne nous permet pas de bien visualiser les poissons et ne nous permet pas d'évaluer le bien-être des poissons. Nous avons donc réalisé un dispositif d'oxygénation alternatif au bulleur : l'air-lift (Annexe 1).

4. Présentation du protocole expérimental : Enrichissement et amélioration du bien-être

a. Descriptif des enrichissements

D'un point de vue réglementaire (DIRECTIVE 2010/63/UE), il convient d'enrichir chaque bac. Dans notre expérience, nous avons choisi d'enrichir le milieu avec un morceau de PVC de 20 cm de long et de 100 mm de diamètre faisant office de cachette. Les enrichissements à tester dans cette étude vont donc se surajouter à cet élément.

Les différents enrichissements testés sont les suivants :

- Un enrichissement sensoriel avec un filtre bleu sur le capot en plexiglass (Figure 9).

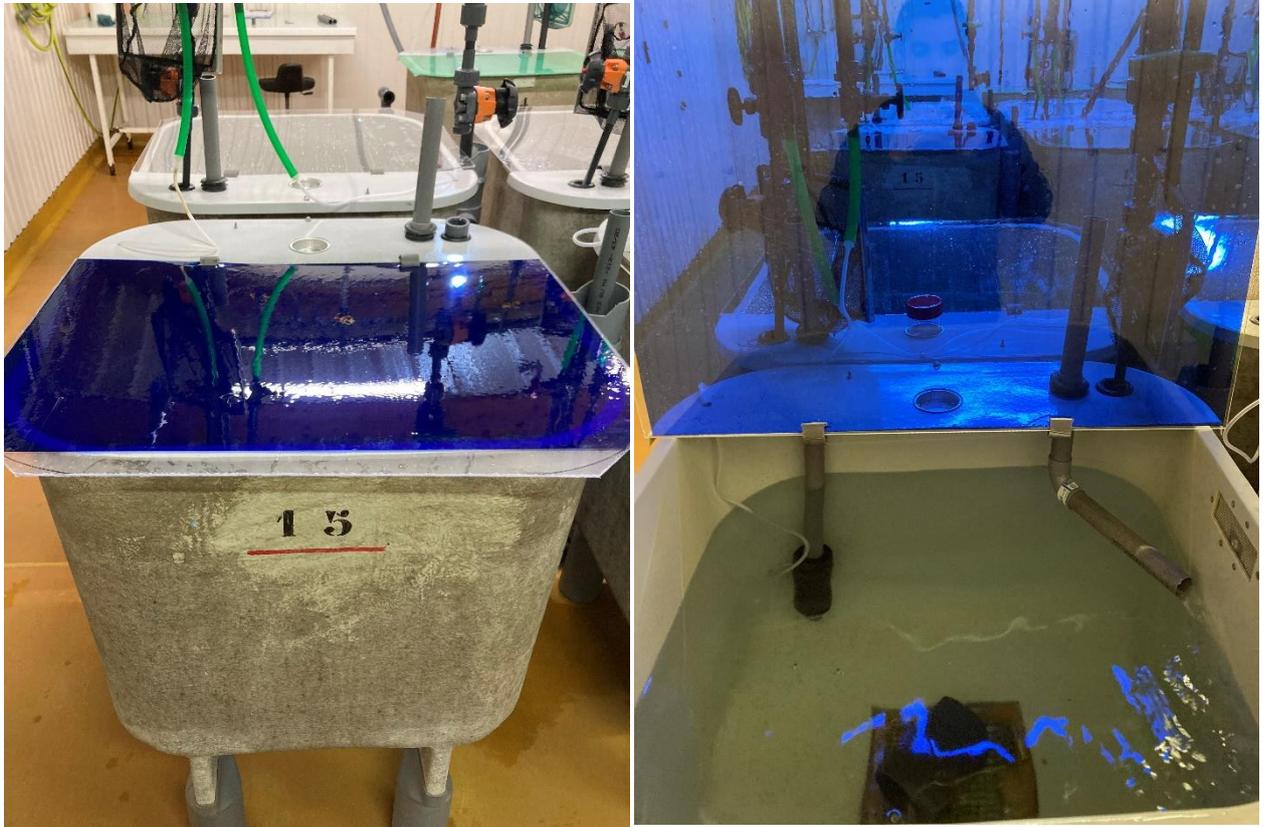


Figure 9 : Photographie du bac n°15 illustrant la condition filtre bleu.

- Un enrichissement structurel avec des tuyaux en caoutchouc (Figure 10).

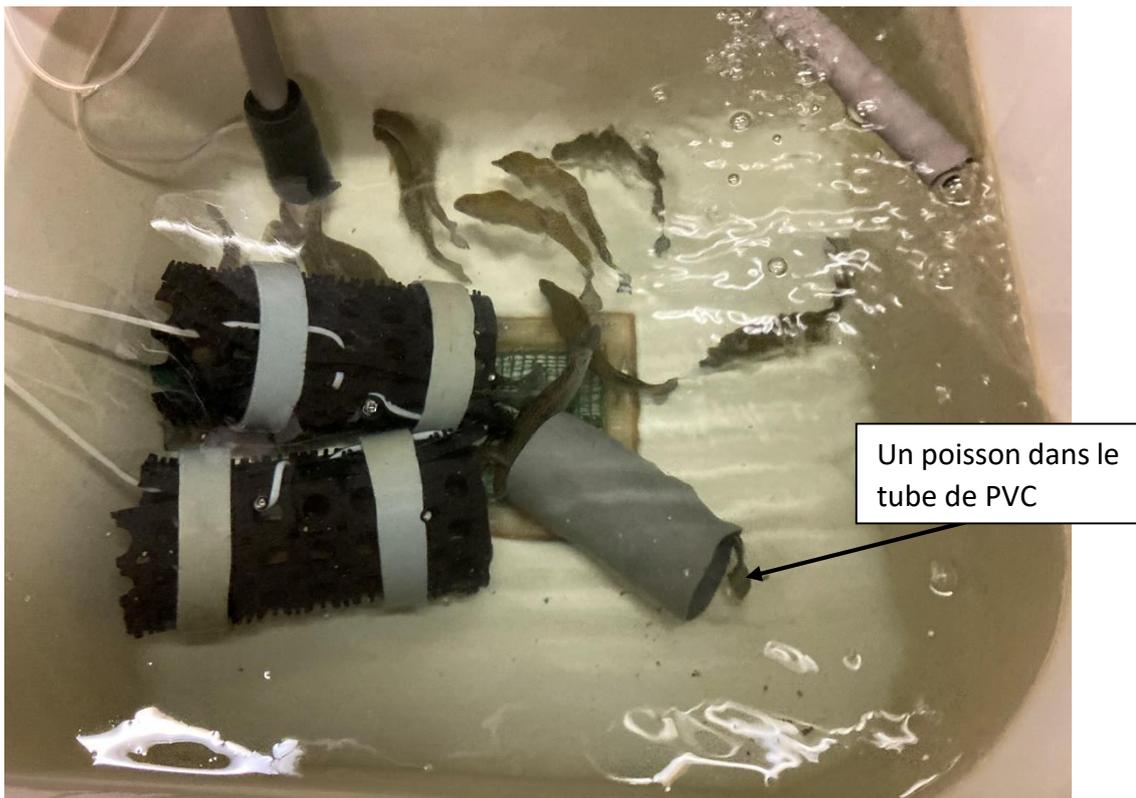


Figure 10 : Photographie du bac n°9 illustrant les tuyaux en caoutchouc.

- Un enrichissement structurel avec des lamineires (Figure 11Figure 11).



Figure 11 : Photographie du bac n°10 et 13 illustrant les lamineires.

- Un enrichissement sensoriel avec un tapis en herbe créant une zone d'ombre (Figure 12).



Figure 12 : Photographie du bac n°3 illustrant les tapis en herbe synthétique qui flottent et créent une zone d'ombre.

- Un enrichissement structurel avec des parois en caoutchouc (Figure 13).



Figure 13 : Photographie du bac n°24 illustrant les parois en caoutchouc.

- Un enrichissement sensoriel avec mise en place du bullage (Figure 14).



Figure 14 : Photographie du bac n°14 illustrant la condition bullage.

Nous constatons sur la Figure 14 que la surface de l'eau est troublée et ne permet pas d'observer les poissons de manière optimale. C'est pourquoi, lors de l'observation de cette condition, nous avons coupé les bulleurs. Cette photographie illustre bien l'intérêt de la mise en place des air-lift qui permettent une bonne observation des animaux dans les autres conditions.

Le témoin négatif avait uniquement le tube de PVC réglementaire. Le témoin positif n'avait aucun enrichissement. Nous avons mis en place des conditions stressantes pour le témoin positif : manipulation dans des volumes réduits et donc variation de la densité. Nous nous sommes inspirés de l'étude de Aerts et al (2015) pour réaliser le témoin positif. Nous avons donc réalisé une réduction du volume d'eau de 200 L à 50 L pendant 45 minutes tous les mardis à 9h à partir de la semaine T1+1semaine. Durant cette réduction du volume d'eau, les poissons ont été exposés à l'air pendant 10 secondes une fois toutes les 15 minutes durant les 45 minutes de réduction du volume d'eau. Les sondes de mesures ont été placées dans les 3 bacs témoin positif. Lors de ces manipulations, la concentration en oxygène a diminuée mais nous avons veillé à ce qu'elle ne passe jamais en dessous de 3 mg/L.

- Un témoin négatif avec uniquement un tuyau en PVC (Figure 15).



Figure 15 : Photographie du bac n°2 illustrant le témoin négatif (tuyau PVC).

- Un témoin positif avec absence d'enrichissement (Figure 16).

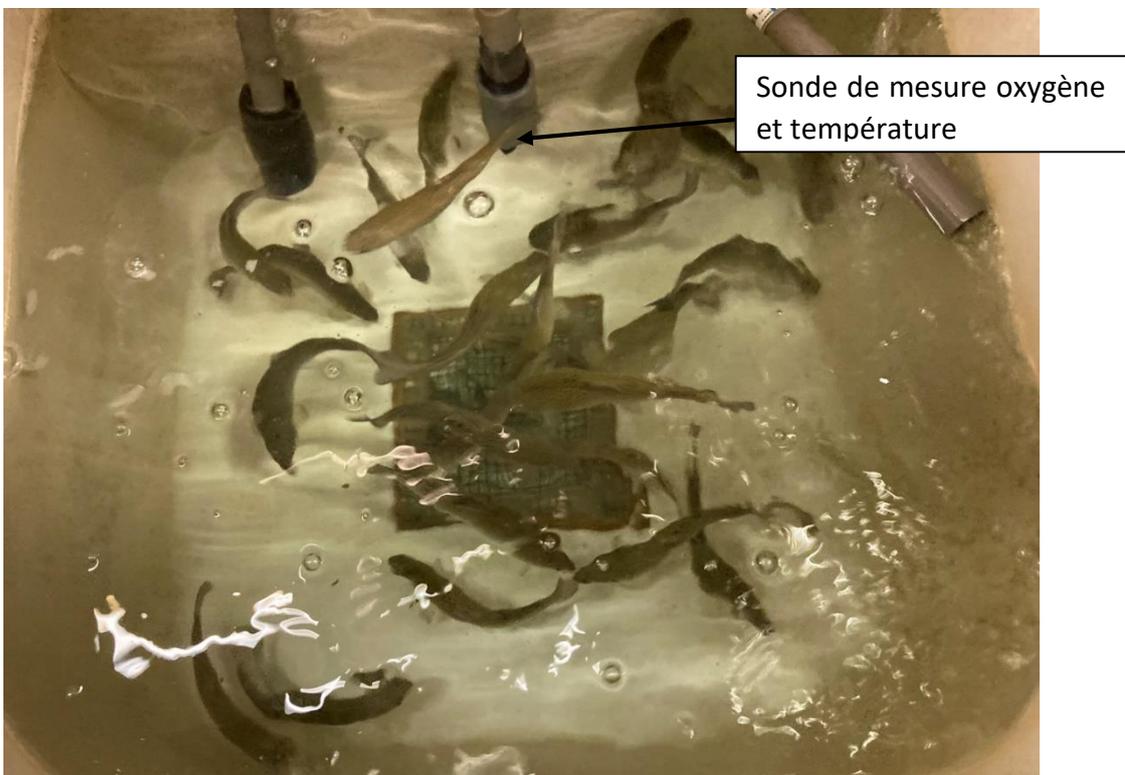


Figure 16 : Photographie du bac n°23 illustrant le témoin positif (absence d'enrichissement).

Tableau 1 : Protocole d'enrichissement mis en place : 8 conditions (dont les témoins) en triplicat.

Type d'enrichissement	Structure d'enrichissement	Élément réglementaire
Structurel 1	Tapis caoutchouc enroulé en mode tuyau (tuyau PVC 160mm)	Tube PVC 100mm
Structurel 2	Éléments en suspension style laminaire (tuyaux en silicone lestés par des bulleurs)	Tube PVC 100mm
Structurel 3	Tapis en caoutchouc sur les parois	Tube PVC 100mm
Sensoriel 1	Tapis d'herbe sur en flottaison (zone d'ombre)	Tube PVC 100mm
Sensoriel 2	Bulleur	Tube PVC 100mm
Sensoriel 3	Filtre de lumière bleue (ombrière bleutée)	Tube PVC 100mm
Témoin négatif	Aucun	Tube PVC 100mm
Témoin positif	Aucun	Aucun

La position des conditions dans la salle a été placée plus ou moins aléatoirement. Nous avons effectué un tirage au sort qui a été plus ou moins remanié suite à l'analyse des poids moyens par conditions mesurées à T1. Nous avons essayé d'équilibrer pour que l'écart type entre les poids moyens de chaque condition soit le plus faible possible (Annexe 8). Nous avons donc réalisé le plan de salle comme illustré sur la Figure 17.

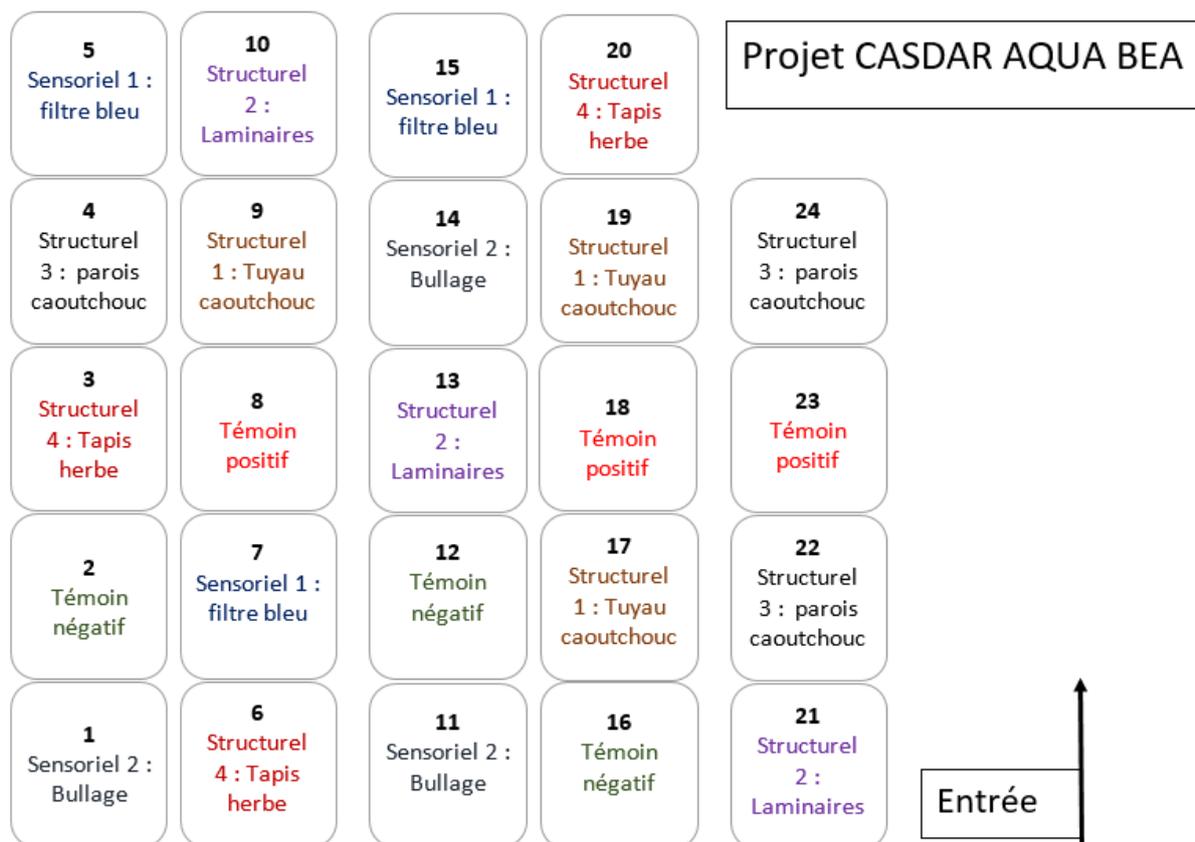


Figure 17 : Plan de la station avec les différentes conditions, 24 bacs de 200L, 30 poissons par bac.

Les enrichissements ont été mis en place dans les bacs d'élevage après la période d'acclimatation dans les bacs de 200 l et après les mesures et prélèvements du temps T1. Les poissons ont été élevés selon 8 conditions différentes en triplicat (3 bacs) (Tableau 1).

b. Déroulé des trois temps de prélèvements

Le planning des expériences est illustré par l'Annexe 2. Au temps T1 (03/04/2023 et 04/04/2023), l'ensemble des animaux a été sédaté directement dans leur bac. Le volume du bac d'élevage a été réduit de 200L à 100L afin de réduire l'utilisation de produits anesthésiques. Les poissons ont été sédatés avec de l'iso-eugénol (VEPIDAN) à la dose de 0,02 ml/l (Tableau 2). Lors de cette étape, nous avons veillé à ce que les poissons soient bien sédatés avant de les manipuler, c'est-à-dire que les poissons soient bien balancés sur le dos et qu'ils n'aient pas de réaction de saut ou de débatement lors de la prise dans l'épuisette.

Ensuite, l'ensemble a été anesthésié dans des bacs de 50L avec de l'iso-eugénol à la dose de 0,06 ml/l. Ensuite, les animaux ont été pesés, mesurés et nous avons évalué un score d'état des nageoires (Annexe 3 et Annexe 4). Parmi les 30 poissons par bac anesthésiés : 25 ont été réintroduits dans leur bac respectif afin de se réveiller, cinq ont été euthanasiés dans un bac de 10L avec de l'iso-eugénol à la dose de 0,9 mL/L. L'iso-eugénol a été renouvelé une fois tous les 6 bacs dans le bac de 50L et dans le seau d'euthanasie de 10L.

Tableau 2 : Protocole de sédation, anesthésie et euthanasie de la manipulation.

	Sédation	Anesthésie	Euthanasie
Iso-eugenol (VEPIDAN)	0,02mL/L	0,06mL/L	0,9mL/L
Préparation de la solution	Dilution 1/10 ^{ème} dans alcool à 70° (2mL de la solution pure + 18mL d'alcool) → 4mL de la solution dans 100L	Dilution 1/10 ^{ème} dans alcool à 70° (6mL de la solution pure + 54mL d'alcool) → 30mL de la solution dans bac de 50L	Dilution ½ dans alcool à 70° (9mL de la solution pure et 9mL d'alcool) → 18mL de la solution dans 10L

Sur les 5 poissons euthanasiés nous avons prélevé entre 1 et 2 mL de sang qui ont été répartis dans un tube hépariné avec 3,5 µL d'héparine et dans un tube sec. A partir du tube hépariné et après centrifugation, nous avons récupéré du plasma. Nous avons alors gardé 200 µL de plasma pour l'analyse du glucose et des lactates, 150 µL pour le cortisol. Ces échantillons ont été conservés à -20°C avant d'être analysés. Pour doser les ARN, nous avons récupéré 50 µL de sérum qui ont été conservés à -80°C avant d'être analysés.

Tous les poissons euthanasiés ont été pris en photographie, puis nous avons prélevé la portion comprise entre la première et la deuxième arête de la nageoire dorsale. Nous avons également prélevé des écailles dans la région médiodorsoventrale gauche, dorsalement à la nageoire pectorale comme décrit par Aerts et al (2015). Les écailles et les nageoires ont été mises dans des tubes Falcon de 15mL et conservées à 4°C avant d'être lavées et analysées. Le cerveau de chaque poisson a été prélevé et conservé dans du RNAlater à -20°C avant d'être analysé.

Ce protocole de prélèvement a été réitéré une deuxième fois 4 semaines après au temps T2 (02/05/2023) puis une dernière fois 4 semaines après au temps T3 (30/05/2023) marquant la fin de la première partie de l'expérience (Annexe 2). Nous avons décidé de ne pas remplacer les poissons prélevés pour ne pas apporter de nouveaux individus qui pourraient engendrer du stress et pour conserver une biomasse relativement similaire sur la durée de l'expérience.

5. Observation du comportement des truites-arc-en-ciel

a. Description du protocole d'observation des poissons

Nous nous sommes inspirés d'une grille d'observation du comportement des poissons réalisée par l'ITAVI (Institut technique en aviculture, cuniculture et pisciculture). Cette grille a déjà été utilisée dans des projets CASDAR AQUA BEA. Nous l'avons adaptée à notre projet afin de mettre en avant le comportement des poissons vis-à-vis des enrichissements mis en place (Annexe 5). Les poissons ont été observés une fois par semaine à partir de la semaine T1+1semaine. L'observation a été réalisée par le même opérateur pendant les 7 semaines. Les

différents triplicats ont été observés selon le Tableau 3. L'ordre d'observation des triplicats a été réalisé de manière à ne pas observer le même jour deux bacs voisins.

Tableau 3 : Observation des conditions sur une semaine.

Jour	Mardi	Mercredi	Jeudi
Conditions observées	Laminaires et filtre bleu	Paroi en caoutchouc, témoin négatif, tunnels en caoutchouc et enrichissement complet	Témoin positif, bulleur et tapis d'herbe en flottaison

La procédure d'observation est la suivante : dans un premier temps, nous avons ouvert le capot plexiglas du bac de manière délicate. Il est souvent observé une réaction de la part des poissons. Il était nécessaire d'attendre entre 1 et 5 minutes selon les bacs avant de retrouver un comportement dit normal. A partir de ce moment, nous pouvions commencer à évaluer le pourcentage de poissons en nage active et ceux en nage stagnante. Nous avons évalué également l'activité du bac de 1 à 3. Nous avons considéré une activité de 1 lorsque le bac était calme et que les poissons se déplaçaient lentement sans agitation ou ne se déplaçaient pas. Une activité égale à 3 correspond à des poissons qui étaient agités et nageaient rapidement. Une activité égale à 2 était donc un état intermédiaire. Ensuite, si les poissons nageaient, nous avons pu caractériser la nage de « désorientée » ou « désorganisée ». Si dans la grille, cette case n'est pas cochée nous considérons que la nage était organisée. Ensuite, nous avons subdivisé le banc si cela était possible. Nous avons regardé combien de groupes se démarquaient et quelle était la proportion. Nous avons cherché également à caractériser leur activité ainsi que leur position dans la colonne d'eau (1 : au fond, 2 : au milieu, 3 en surface). Pour chaque groupe, nous avons détaillé également dans quelles zones il se situait, à savoir : dans le tube de PVC, dans/collés à l'enrichissement ou dans une autre zone. Nous nous sommes intéressés ensuite à la répartition horizontale, si le banc était bien réparti sur l'ensemble de la surface, s'il était plutôt au centre du bac ou s'il était plutôt sur les bords du bac. Pour certains triplicats, comme les laminaires et le tapis d'herbe créant une zone d'ombre, nous avons compté le nombre d'individus qui passent dans l'enrichissement en une minute. En effet, nous avons constaté que ce type d'enrichissement était plutôt un enrichissement de passage, les poissons y passent mais n'y restent pas longtemps. Après cette prise d'observation, il s'était écoulé environ 5 min et nous avons réévalué toutes ces données. Si nous avons constaté des différences alors nous les avons notées au temps T5min sur la grille.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux indicateurs comportementaux. Sur une durée de 5 min, nous avons compté le nombre de poissons qui sautaient, qui accéléraient

brusquement ou changeaient brusquement de direction, qui avaient un déséquilibre de la vessie natatoire, qui avaient un comportement agressif, qui hyper ventilaient à la surface ou qui étaient prostrés. Ensuite, nous avons évalué les comportements stéréotypés tels que la nage verticale ou sur le flanc ou encore le frottement des lèvres ou des flancs contre les parois. Pour finir, nous nous sommes penchés sur les caractéristiques physiques telles qu'une couleur anormale, une conformation anormale (gonflée ou maigre) et des yeux anormaux. Cette observation était réalisée le matin 2 heures après le repas pour ne pas avoir de modification du comportement liée à l'ingestion d'aliment.

Lors de la distribution de l'aliment, nous avons évalué « la motivation alimentaire » décrite comme le temps nécessaire aux poissons pour venir commencer à manger après la distribution. Nous avons regardé également si les poissons approchaient vers l'opérateur lors de la distribution d'aliments.

Nous avons été obligés, lorsque nous observions le triplicat avec bullage, de couper les bulleurs car il nous était alors impossible de voir le comportement des poissons.

b. Exemples de notation du comportement des poissons

Nous présentons plusieurs photographies des bacs afin d'illustrer différents cas que nous avons observés. Ces exemples permettent de comprendre comment nous avons noté différentes situations observées et comment nous avons rempli la grille.



Figure 18 : Photographie illustrant un cas d'utilisation des tuyaux en caoutchouc.

Nous constatons sur la Figure 18 que tous les poissons sauf 2 au centre et 1 dans le tuyau PVC utilisent l'enrichissement que ce soit dessous ou dedans. Dans ce cas, sur la grille d'observation nous avons noté :

- Nage active : 0%
- Nage stagnante : 100%
- Activité du bac (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
- Désorientée : oui
- Groupe 1 : 90%
 - Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1
 - Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
 - Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 2
- Groupe 2 : 10%
 - Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1
 - Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
 - Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 1-3
- Répartition sur les bords du bassin (en raison de l'enrichissement)
- Répartition dans les enrichissements :
 - Tube PVC : 5%
 - Enrichissement tuyaux en caoutchouc : 90%
 - Autres zones : 5%



Figure 19 : Photographie illustrant un cas d'utilisation de l'herbe en flottaison.

Nous constatons sur la Figure 19 que tous les poissons sauf 5 dont 1 dans le tube PVC utilisent l'enrichissement en étant dans la zone d'ombre en dessous. Dans ce cas, sur la grille d'observation nous avons noté :

- Nage active : 25%
- Nage stagnante : 75%
- Activité du bac (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
- Désorientée : oui
- Groupe 1 : 75%
 - Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1
 - Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
 - Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 2
- Groupe 2 : 25%
 - Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1
 - Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
 - Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 1-3
- Répartition sur les bords du bassin (en raison de l'enrichissement)
- Répartition dans les enrichissements :
 - Tube PVC : 5%
 - Enrichissement tapis d'herbe : 75%
 - Autres zones : 20%



Figure 20 : Photographie illustrant un cas dans la condition témoin positif.

Nous constatons sur la Figure 20 que tous les poissons sont en activité. Dans ce cas, sur la grille d'observation nous avons noté :

- Nage active : 100%
- Nage stagnante : 0%
- Activité du bac (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 3
- Désorientée : oui
- Groupe 1 : 100%
 - Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1-2
 - Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 3
 - Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 3
- Groupe 2 : 0%
- Répartition sur l'ensemble de la surface
- Répartition dans les enrichissements :
 - Tube PVC : 0%
 - Enrichissement : 0%
 - Autres zones : 100%

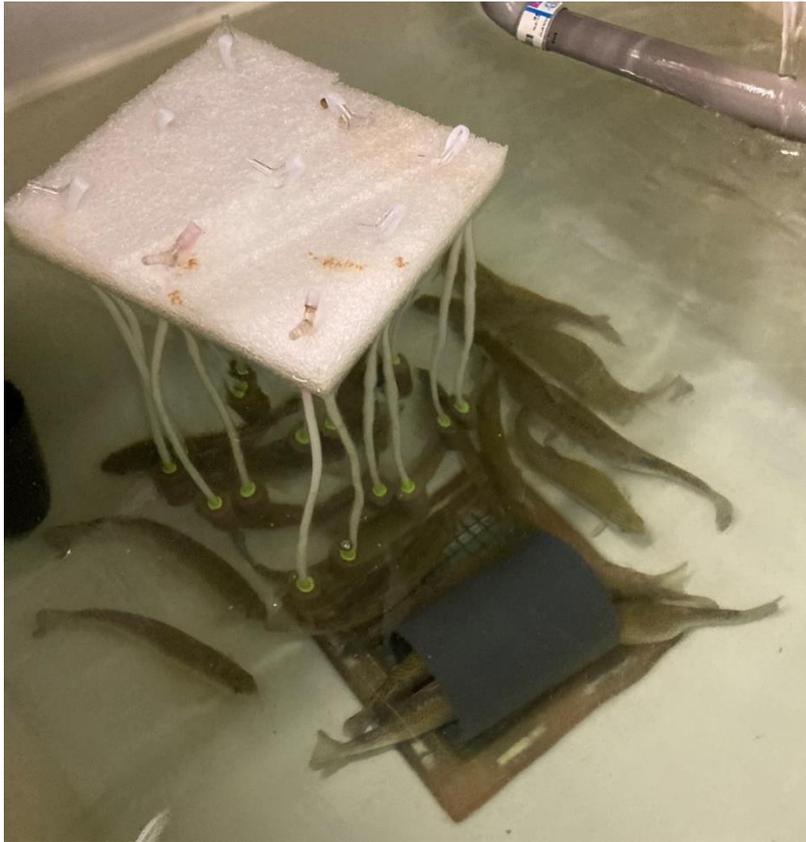


Figure 21 : Photographie illustrant un cas d'utilisation des lamineaires.

Nous constatons sur la Figure 21 qu'une majorité de poissons utilisent les lamineaires en les traversant. Dans ce cas, sur la grille d'observation nous avons noté :

- Nage active : 20%
- Nage stagnante : 80%
- Activité du bac (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
- Désorientée : oui
- Groupe 1 : 50%
 - o Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1
 - o Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
 - o Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 1-3
- Groupe 2 : 50%
 - o Zones (Fond : 1, Milieu : 2, Surface : 3) : 1
 - o Activité du groupe (1 : calme, 2 : intermédiaire, 3 : agité) : 1
 - o Environnement (Tube de PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3) : 2
- Répartition sur les bords du bassin (en raison de l'enrichissement)
- Répartition dans les enrichissements :
 - o Tube PVC : 30%
 - o Enrichissement : 50%
 - o Autres zones : 20%
- Nombre de poissons qui passent dans les lamineaires par min : difficile à évaluer car ils sont stationnaires sous les lamineaires dans ce cas.

Nous mesurons le dernier critère lorsque les poissons nagent activement et qu'ils passent régulièrement dans les lamineaires sans y rester. Dans la majorité des cas, ils ne font que passer sans y rester (pas comme le cas décrit). Nous appliquons ce dernier critère également dans le cas de l'enrichissement avec les tapis d'herbe.

6. Standardisation des différents prélèvements

a. Le prélèvement d'écaillés

Nous avons réalisé le prélèvement selon le protocole de Aerts et al (2015) c'est-à-dire dans la région médiodorsoventral gauche dorsalement à la nageoire pectorale à l'aide d'une lame de ciseau (Figure 22). Ce prélèvement a été réalisé après euthanasie de l'animal.



Figure 22 : Photographie montrant la localisation du prélèvement d'écaillés et de nageoires.

b. Le prélèvement sanguin

Nous avons réalisé 360 prélèvements de sang. Ils ont été réalisés suite à l'euthanasie de l'animal. Le prélèvement a été réalisé dans le sinus veineux caudal à gauche du poisson (Figure 23). L'aiguille a été introduite ventralement à l'intersection d'une droite parallèle à la ligne latérale (5 mm ventralement) avec une droite passant par la base caudale de la nageoire dorsale et l'anus. Nous avons prélevé entre 1 et 2 mL de sang par poisson. Une partie du sang a été ensuite mise dans un tube hépariné (avec 3,5 μ L d'héparinate de lithium) et centrifugée à la suite du prélèvement. Nous avons alors mis de côté 200 μ L de plasma pour l'analyse du glucose et des lactates et 100 μ L pour l'analyse du cortisol. Le plasma a été conservé à -20°C avant d'être analysé. L'autre partie du sang a été mise dans un tube sec afin de récupérer 50 μ L de sérum pour l'analyse des ARN. Le sérum a été conservé à -80°C avant d'être analysé. Les tubes ont été identifiés par des étiquettes sur les tubes selon la modalité d'enrichissement et le poisson prélevé par bac de 1 à 5. Ainsi, le troisième poisson prélevé du bac 14 a été noté B14P3.

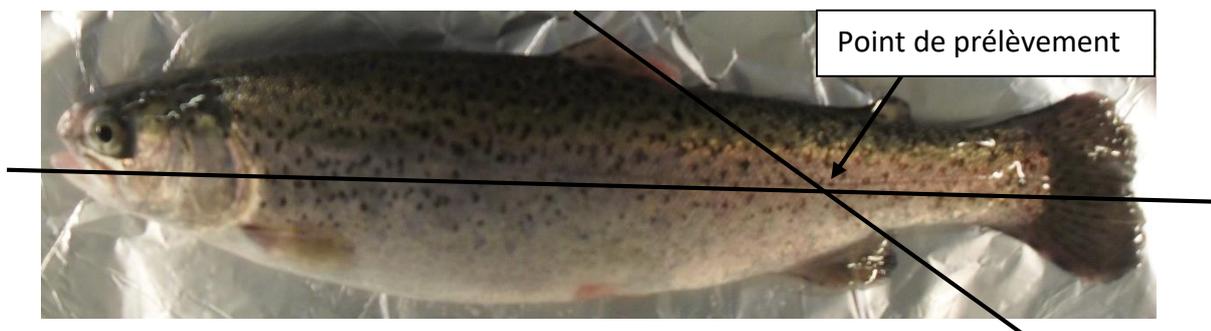


Figure 23 : Photographie montrant la zone de prélèvement sanguin.

7. Technique ELISA pour l'analyse du cortisol dans les écailles

Nous avons suivi le protocole d'extraction du cortisol réalisé par Heimbürge et al. (2020) sur des soies de porc. Ce protocole a d'abord été adapté pour les soies de porc par Heimbürge et al. (2020) à partir d'un protocole destiné aux cheveux humains et aux poils de singes (Meyer et al. 2014). Le mode opératoire a ensuite été résumé dans un document destiné au dosage par S.Gavaud et al (2021). Voici les différentes étapes du protocole après avoir prélevé les écailles sur le poisson dans des tubes Falcon de 15 mL :

1) Lavages : réaliser deux lavages de 3 min avec 5 mL d'eau sur une roue. Retirer l'eau à l'aide d'une pipette graduée. Puis réaliser deux lavages de 3 min avec 5 mL d'isopropanol (HPLC) de 3 min sur une roue. Retirer l'isopropanol à l'aide d'une pipette graduée.

2) Séchage : déposer les écailles dans une boîte de pétri contenant un disque de papier filtre. Refermer le couvercle et laisser les écailles sécher pendant au moins 48 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière.

3) Broyage : couper les écailles, puis peser dans un tube à fond rond 35 à 40 mg d'écailles. Noter précisément le poids de chaque échantillon. Ajouter 4 billes de 3 mm dans chaque tube. Placer les tubes dans l'azote liquide afin de favoriser le broyage. Mettre les échantillons dans le broyeur à billes à raison de 10 tubes par adaptateurs et 2 adaptateurs. Deux broyages de 10 min à 30 Hz sont à réaliser.

4) Extraction : Centrifuger les tubes. Ajouter 1,5 mL par tube de méthanol. Mettre du parafilm autour du bouchon pour éviter que le méthanol ne coule. Placer les tubes sur l'agitateur de plaques à 800 rpm pendant 24h à température ambiante et à l'abri de la lumière.

5) Concentration : Suite aux 24h d'agitation, centrifuger les tubes à 1500 g pendant 5 min. Récupérer 750 µl de surnageant dans un tube de 1,5 mL. Ensuite, mettre les tubes dans un concentrateur sous vide à 45°C pendant environ 70 min. S'assurer qu'au bout de 70 min, il n'y ait plus de liquide dans les tubes. Les échantillons peuvent être stockés à -20°C jusqu'au dosage.

6) Dosage : Mettre en suspension les culots secs des échantillons dans 140 µl de PBS froid. Se munir du kit de dosage Demeditec : cortisol free in saliva ELISA.

7) Protocole du kit :

- Ajouter 50 µL de solution « Calibrator » (Calibrator 0 : 0 ng/ml, Calibrator 1 : 0,1 ng/ml, Calibrator 2 : 0,4 ng/ml, Calibrator 3 : 1,7 ng/ml, Calibrator 4 : 7 ng/ml et Calibrator 5 : 30 ng/ml) en duplicat dans les 12 premiers puits. Ajouter 50 µL de solution « Control » en duplicat dans les puits suivants. Ajouter 50 µL de chaque échantillon dans les puits restants en duplicat.

- Ajouter 50 µL de la solution « enzyme conjugates » (enzyme de conjugaison) dans chaque puit.

- Laisser incuber pendant 60 minutes à température ambiante (18-25°C) sur un agitateur à 900 rpm.

- Vider tous les puits de la plaque

- Laver à 4 reprises les puits avec une solution de lavage diluée « diluted wash solution » (300 µl par puits).

- Tapoter les puits sur du papier absorbant pour enlever les gouttelettes résiduelles.
- Ajouter 200 µl de la solution « substrate solution » dans chaque puit.
- Laisser incuber 30 minutes sans agitation à l'abri de la lumière (sous papier aluminium) et à température ambiante (18-25°C).
- Stopper la réaction enzymatique en ajoutant 50µl de la solution « stop solution » dans chaque puit.
- Placer la plaque dans le spectrophotomètre afin de lire l'absorbance à 450 nm et 595 nm. L'absorbance doit être déterminée 15 minutes au maximum après l'ajout de la solution « stop solution ».

8) Calcul de la concentration en cortisol : Le spectrophotomètre effectue deux lectures d'absorbance, une à 450 nm (notée A450) et une à 595 nm (notée A595). Il effectue une différence entre les deux : $y = A450 - A595$. Le logiciel trace alors une courbe de y (la différence des deux absorbances) en fonction de la concentration en cortisol des 6 échantillons de la gamme « Calibrator ». A partir de cette courbe, nous pouvons trouver une valeur en abscisse (notée x) pour chaque échantillon. La valeur x s'exprime en ng/mL. Pour pouvoir comparer les échantillons, il est nécessaire de ramener la concentration en cortisol au poids de chaque échantillon. Nous avons utilisé le Tableau 4 pour calculer cette masse.

Tableau 4 : Formule pour calculer la concentration en fonction de la masse initiale de l'échantillon (S.Gavaud et K.Haurogné 2021).

Concentration en ng/mL	Quantité extraite (750 µl)	Quantité totale (1,5 mL) en pg	Poids soies en mg	Quantité totale en pg/mg
x	$Y = x * 140$	$Z = Y * 2$	W	$C = Z / W$

Nous avons réalisé des essais avant d'analyser les échantillons de l'expérience à partir d'écaillés de poissons présents à la station aquacole de Oniris. Pour les premiers essais, nous avons suivi le protocole précédent et la majorité des résultats étaient en dehors de la gamme de dosage (valeur trop faible de cortisol). Nous avons pour les essais suivants changé la méthode de broyage car si l'échantillon est mal broyé, le cortisol est moins bien extrait. Nous avons donc broyé au mortier pour obtenir une poudre blanche. Les résultats de cet essai ont également montré beaucoup d'échantillons en dehors de la gamme de dosage. Dans un dernier essai, nous avons changé la méthode de lavage des écaillés et nageoires (Carbajal et al. 2018). Le reste du protocole reste inchangé.

En effet, nous avons lu dans une étude que le lavage à l'eau pouvait éliminer du cortisol présent dans les écaillés/nageoires. Dans les essais suivants, l'extraction du cortisol des écaillés a été réalisée selon la procédure décrite par Carbajal et al. (2018). Les écaillés ont été lavées trois fois avec de l'isopropanol avec 3 ml par lavage. Chaque lavage correspond à 2 minutes et 30 secondes sur la roue. Comme décrit dans le protocole précédent, au minimum 24h après les lavages, les écaillés ont été broyées avec un broyeur à billes (Retsch, type MM2, Allemagne). Nous avons ensuite pesé 100 mg de chaque échantillon qui ont été incubés dans du méthanol pendant 24h. La suite de la procédure est la même que précédemment. Pour les essais précédents nous avons utilisé un kit de dosage avec une gamme de 0,1 à 30 ng/ml de

cortisol (kit de dosage du cortisol dans la salive : « Cortisol free in Saliva ELISA »). Dans l'étude de Carbajal et al. (2018; 2019), un kit avec une gamme plus faible a été utilisé. En effet, il s'agit du kit « Cortisol EIA KIT; Neogen® Corporation, Ayr, UK » avec une gamme de 0,04 à 10 ng/ml. Nous avons photographié des écailles et des nageoires après lavage (Figure 24).

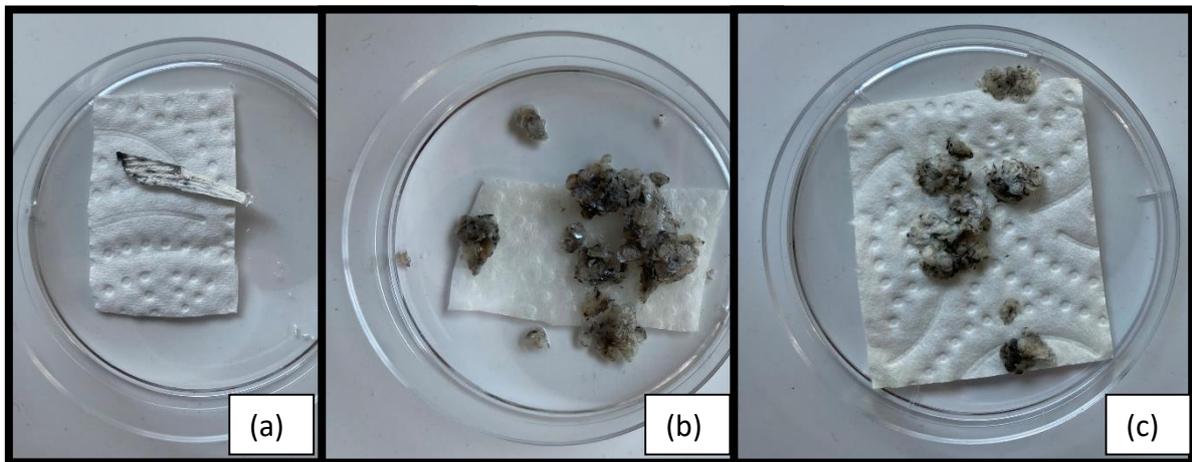


Figure 24 : Photographie d'une nageoire (a) et d'écailles (b) et (c).

8. Technique ELISA pour l'analyse du cortisol dans le sang

La technique ELISA de dosage du cortisol dans le sang se fait à partir de sérum. Le principe de la technique repose sur un dosage radio-immunologique par compétition entre le cortisol marqué à l'iode 125 et le cortisol présent dans l'échantillon vis-à-vis d'un anticorps polyclonal anti-cortisol de lapin biotinylé contenu dans l'antisérum. Les échantillons, le traceur (cortisol marqué à l'iode 125) et les anticorps (antisérum) sont incubés dans des tubes avec de la streptavidine. Pendant l'incubation, des complexes-immuns (antigène-anticorps biotinylés) vont se lier à la streptavidine. Ensuite, les éléments non fixés sont éliminés par retournement. Le taux de radioactivité est inversement proportionnel à la concentration de cortisol dans l'échantillon. Le kit utilisé est « Cortisol RIA » avec une gamme allant de 0 à 1600 nmol/l.

9. Présentation du protocole expérimental : Enrichissement et robustesse immunitaire, challenge infectieux à *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida*

Afin d'évaluer l'amélioration de la robustesse des animaux, un challenge infectieux a été réalisé suite à T3 et à l'étude sur l'effet des enrichissements sur les indicateurs de stress. L'objectif de ce challenge infectieux étant de voir si les différentes conditions d'enrichissement mises en place ont permis aux poissons de limiter leur stress et donc d'avoir une fonction immunitaire plus performante ou non. L'introduction de la bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida* a été réalisée par une balnéation de 24 heures à une concentration bactérienne de 10^6 CFU/mL (Moreau et al, 2023) après retrait des enrichissements et des air-lift (passage aux bulleurs). La solution bactérienne pour le challenge a été préparée dans un bouillon TSB. La même quantité a été introduite dans chaque bac. Un bac témoin a été mis en place dans la même pièce avec le bouillon TSB sans bactérie. Des mesures de biosécurité ont été mises en place au sein de la station aquacole pour limiter le transport d'agents pathogènes

(pédiluve, blouse, sur-chaussures, gants, ...). Le challenge infectieux s'est déroulé du 05/06/2023 au 15/06/2023. Tous les poissons qui ne sont pas morts pendant le challenge infectieux ont été euthanasiés à la fin du challenge. Cette expérience a été réalisée sur 45 poissons par lot (15 poissons par bac) qui ont été élevés dans les conditions citées précédemment.

Afin d'éviter la souffrance des animaux, les poissons ont été euthanasiés dès l'observation de furoncles de taille supérieure à 1 cm² ou lorsqu'ils étaient moribonds (mélanisme, nage erratique sur le dos ou arrêt de prise alimentaire). La mortalité et la morbidité des animaux ont été suivies deux fois par jour pendant 10 jours. Chaque poisson mort ou euthanasié a été autopsié pour observer les signes cliniques apparents (furoncles, nageoires hémorragiques) et les lésions internes (tube digestif hémorragique, splénomégalie). Un isolement de rate sur gélose TSA a également été réalisé afin de voir si la bactérie était retrouvée et donc potentiellement responsable de la mort des individus.

Une grille d'observation et de compilation des résultats a été réalisée (Annexe 6) récapitulant le jour de la mort de l'animal, la façon dont l'animal est mort (mort naturelle ou euthanasie car dépassant les points limites), les symptômes observés et les résultats de l'autopsie et de la bactériologie.

10. Choix des variables et analyses statistiques

L'ensemble des tests statistiques a été réalisé avec le logiciel RStudio Desktop 2022 avec R version 4.3.0. Certaines données ont été importées à partir de Excel 2016 notamment la comparaison air-lift et bullage lors de la mise en place du matériel d'élevage des truites.

Nous avons ensuite construit 3 bases de données :

- **Une base de données par individu (notée 1)** avec les variables suivantes en colonnes : le bac du poisson, le numéro du poisson, le temps de prélèvement, la condition d'élevage, les résultats de croissance (poids et taille), les scores des nageoires et des lésions de la bouche, les résultats de glycémie, lactatémie, cortisolémie et la concentration en cortisol dans les écailles et nageoires.
- **Une base de données par bac concernant l'observation du comportement des individus (notée 2)** avec les variables suivantes en colonnes : le numéro du bac, la condition d'élevage, le numéro de la semaine d'observation et tous les paramètres relatifs à l'observation du comportement des animaux (Annexe 5).
- **Une base de données relatives au challenge infectieux par individu (notée 3)** avec les variables suivantes en colonnes : le numéro du bac, le numéro du poisson, la condition, la date de mort, la façon dont le poisson est mort (mort dans le bac, euthanasié car morbide ou euthanasié à la fin du challenge), la présence de furoncle, la taille des furoncles, l'hypertrophie de la rate, le tube digestif hémorragique, la pratique d'une autopsie sur l'individu, et les résultats de bactériologie.

Nous avons construit des dictionnaires de données afin d'expliquer chaque variable, son codage dans R, son unité et son type (Annexe 7).

Types de tests réalisés pour l'analyse statistique :

Pour comparer les variables concernant le poids, la taille, la cortisolémie, la glycémie et la lactatémie, nous avons réalisé des modèles linéaires mixtes uni variés et multivariés. L'objectif de ces modèles est d'évaluer si chacune des variables « temps » et « condition » influence le poids, la taille, la cortisolémie, la glycémie et la lactatémie. Si tel est le cas, ce modèle tentait de quantifier cet effet. La fonction permettant de réaliser une régression linéaire avec données hiérarchisées est : `lmer()`. Pour réaliser un modèle linéaire mixte multivarié, nous utilisons des variables explicatives qualitatives et nous réalisons un modèle uni varié pour chaque variable. Pour le modèle multivarié, nous retenons les variables avec une p-value $\leq 0,2$. Nous avons pris en compte un effet aléatoire au niveau des bacs.

Pour comparer, les différents paramètres de la grille d'observation du comportement des poissons nous avons utilisé des tests non paramétriques (test de kruskal) car nous avons peu d'échantillons.

Nous avons utilisé un modèle de régression linéaire généralisée mixte qui a pour objectif de modéliser le risque d'avoir une lésion grave et vive au niveau de la nageoire dorsale. De la même manière que pour le poids et la taille, nous avons utilisé les variables explicatives « condition » et « temps » pour évaluer ce risque. Nous avons voulu voir s'il existait une interaction entre ces variables (« condition » et « temps »). La fonction permettant de réaliser une régression linéaire généralisée est : `glmer()`.

Pour analyser les différences de mortalité au cours du challenge infectieux, nous avons réalisé un modèle de régression logistique pénalisé uni varié et multivarié. L'objectif étant d'analyser le risque de mortalité (en fonction de la condition, de la présence de furoncle et de leur taille, de la présence d'un tube digestif hémorragique et/ou d'une rate hypertrophiée et des résultats de la bactériologie). Nous avons pris en compte un effet aléatoire au niveau des bacs. La fonction permettant de réaliser une régression logistique est : `logistf()`.

De plus, concernant le challenge infectieux nous avons réalisé une analyse de survie qui permet de montrer des éventuelles différences de mortalité au cours du temps. Nous avons utilisé les fonctions : `Surv()`, `survfit()`, `survdiff()` des packages `survival` et `survminer`.

II. Résultats

1. Pesée et croissance des poissons

a. Poids moyen par bac et par triplicat

i. Temps T1

Les différentes conditions ont été tirées au sort et remaniées selon les poids moyens par bac établi suite au premier temps de prélèvement T1.

Pour l'ensemble des tests statistiques réalisés dans R, nous avons utilisé les données des 30 poissons par bac au temps T1, des 25 poissons par bac au temps T2 et des 20 poissons par bac au temps T3. Nous avons fait ce choix pour que l'effectif de poissons soit le maximal pour les tests réalisés. Ainsi, pour chaque temps, nous présentons un tableau avec les 30 poissons par bac et un autre tableau avec uniquement les 25 anesthésiés en Annexe 8.

Statistiquement, il n'y a pas de différence significative en terme de poids au temps T1 entre les 24 bacs (p -value = 0,056). Cela montre que le lot utilisé est homogène au début de l'expérience.

Nous avons ensuite réalisé un graphique en boîte à moustaches concernant le poids moyen par triplicat (Figure 25).

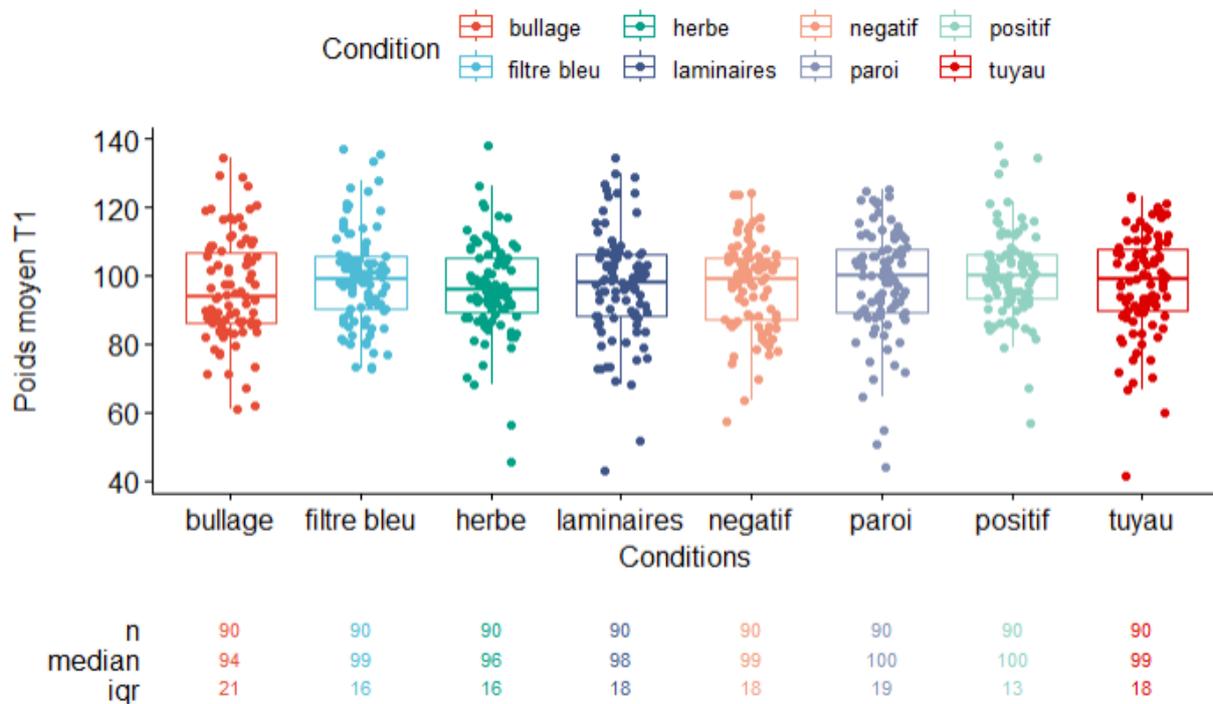


Figure 25 : Graphique en boîte à moustaches du poids moyen au temps T1 par condition.

Statistiquement, il n'y a pas de différence significative entre les conditions au temps T1 (p -value=0,39). Les conditions sont donc comparables pour la suite des expériences.

D'après les ABAC de croissance, nous avons estimé qu'au temps T1 (3 et 4 avril) un poids de 99,34g par poisson. La moyenne obtenue après pesée de l'ensemble des poissons est de 97,61 soit un peu inférieur aux ABAC de croissance. Après avoir montré la normalité de la variable « poids » et après avoir utilisé un test de student, nous avons montré que cette moyenne est statistiquement différente de la théorique mais elle reste cohérente. L'écart type de l'ensemble des poissons pesés est de 14,65g. Nous constatons donc une légère hétérogénéité dans le poids des poissons.

ii. Temps T2

Les poids moyens ont été calculés à partir des données des 20 poissons anesthésiés et replacés dans leur bac respectif d'élevage et à partir des 5 poissons euthanasiés (Annexe 8). Nous avons montré statistiquement qu'au temps T2, il n'y a pas de différence significative entre les 24 bacs ($p\text{-value}=0,60$). Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches par triplicat (Figure 26).

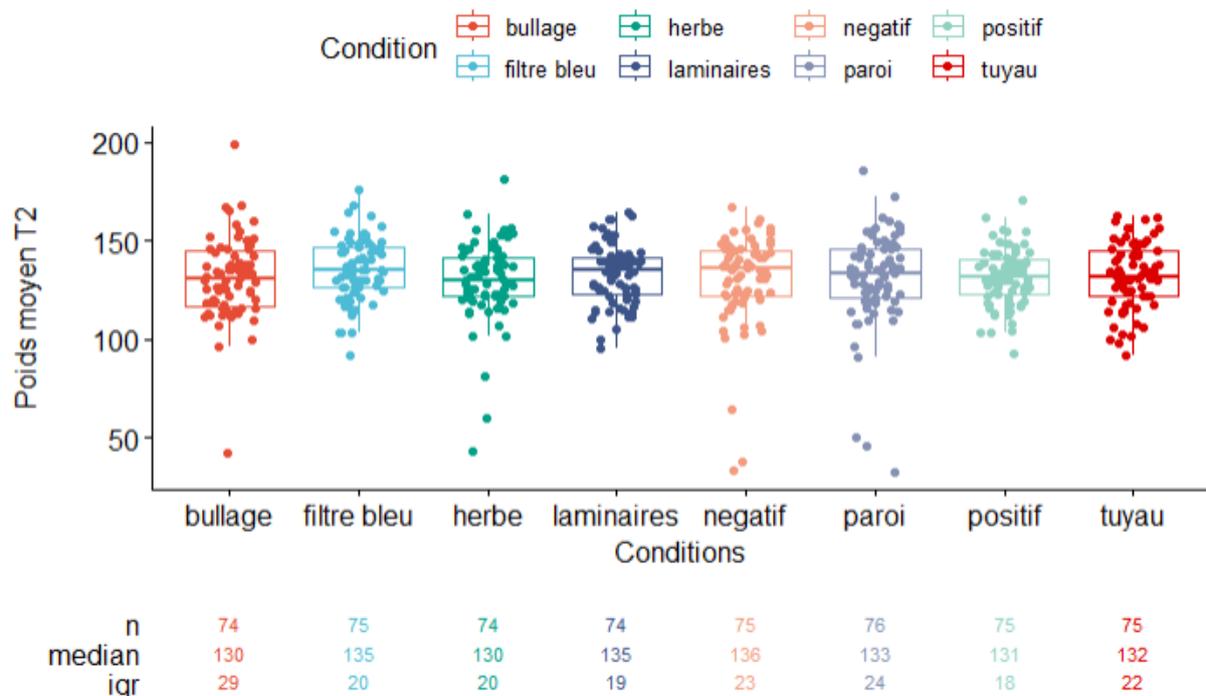


Figure 26 : Graphique en boîte à moustaches du poids moyen au temps T2 par condition.

Nous avons montré statistiquement qu'il n'y a pas de différence significative de poids au temps T2 entre les 8 conditions ($p\text{-value}=0,69$).

D'après les ABAC de croissance, nous avons estimé qu'au temps T2 (2 mai) un poids de 131,96g par poisson. La moyenne obtenue après pesée de l'ensemble des poissons est de 131,64 soit un peu inférieur aux ABAC de croissance. Nous avons réalisé le même test qu'au temps T1 et nous avons montré que la moyenne obtenue et la moyenne théorique ne sont pas significativement différentes. L'écart type de l'ensemble des poissons pesés est de 19,15g. Nous constatons comme au temps T1 une légère hétérogénéité dans le poids des poissons.

Nous avons ensuite calculé un gain moyen par bac et par triplicat entre le temps T1 et T2. Nous avons comparé les 25 individus anesthésiés du temps T1 au 25 poissons (20 anesthésiés et 5 euthanasiés) du temps T2. Il s'agit exactement des mêmes individus du temps T1 au temps T2 (Tableau 5).

Tableau 5 : Gain moyen par triplicat en gramme entre T1 et T2 (25 poissons par bac).

Triplikat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	36,36	35,39	33,00	33,79
Triplikat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	33,35	33,84	33,40	31,17

Nous constatons que des conditions comme « filtre bleu » et « laminaires » ont des gains moyens plus élevés que le témoin positif par exemple. Toutefois ces différences ne sont pas significatives.

iii. Temps T3

Les résultats du temps T3 sont présentés en Annexe 8. Nous avons montré statistiquement qu'il n'y a pas de différence significative entre les 24 bacs au temps T3 (p -value=0,22). Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches par triplicat (Figure 27).

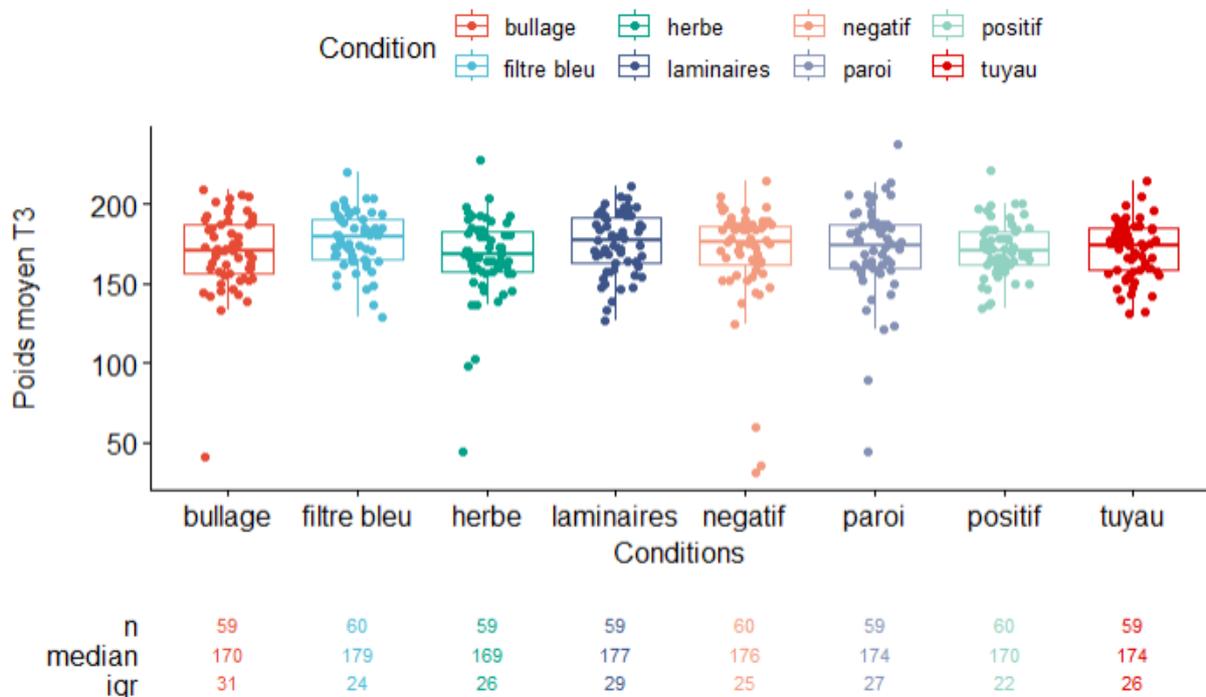


Figure 27 : Graphique en boîte à moustaches du poids moyen au temps T3 par condition.

Nous avons montré statistiquement qu'il n'y a pas de différence significative entre les 8 conditions au temps T3 ($p\text{-value}=0,29$).

D'après les ABAC de croissance, nous avons estimé qu'au temps T3 (29 mai) un poids de 169,30g par poisson. La moyenne obtenue après pesée de l'ensemble des poissons est de 171,11 (Annexe 8) soit un peu supérieure aux ABAC de croissance. Nous avons montré statistiquement que la moyenne obtenue est significativement différente de la moyenne théorique. L'écart type de l'ensemble des poissons pesés est de 24,31g. Nous constatons comme les deux premiers temps une légère hétérogénéité dans le poids des poissons.

Nous avons réalisé un modèle linéaire mixte pour analyser la variabilité du poids en fonction de variables explicatives comme la condition et le temps de prélèvement afin de voir s'il existait une interaction entre le temps et les conditions d'élevage (Figure 28 et Figure 29).

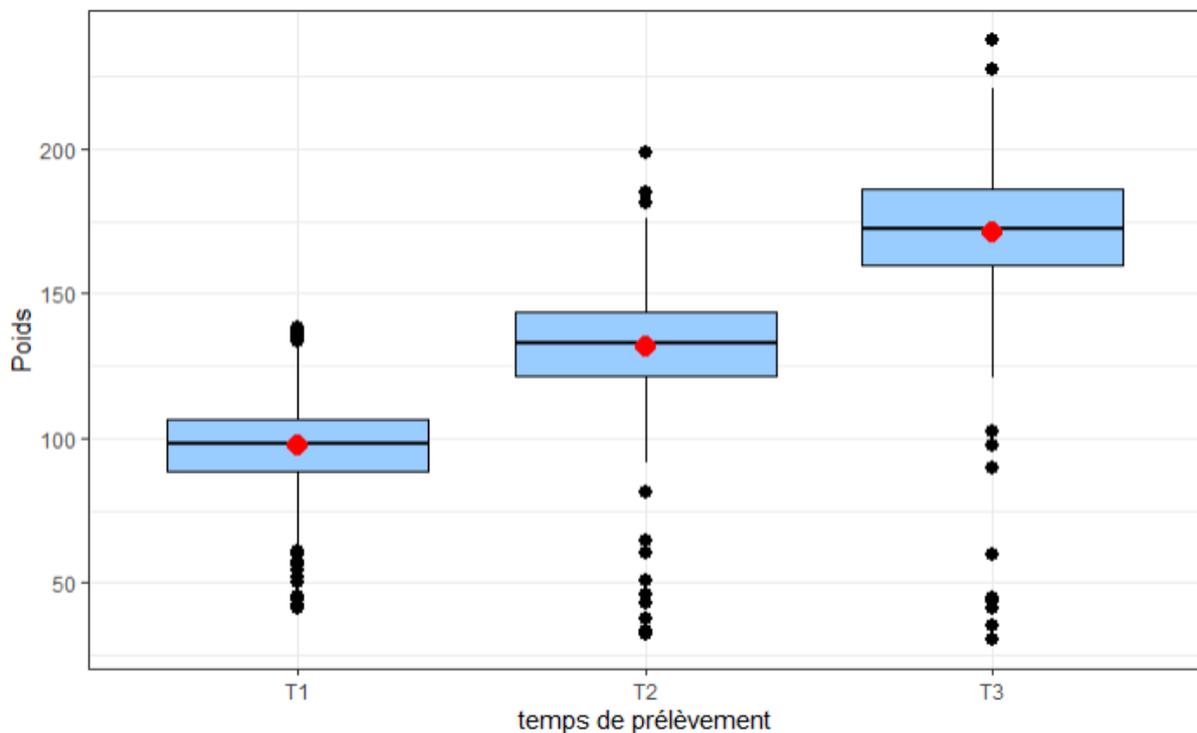


Figure 28 : Graphique en boîte à moustaches montrant le poids moyen des 3 temps de prélèvement.

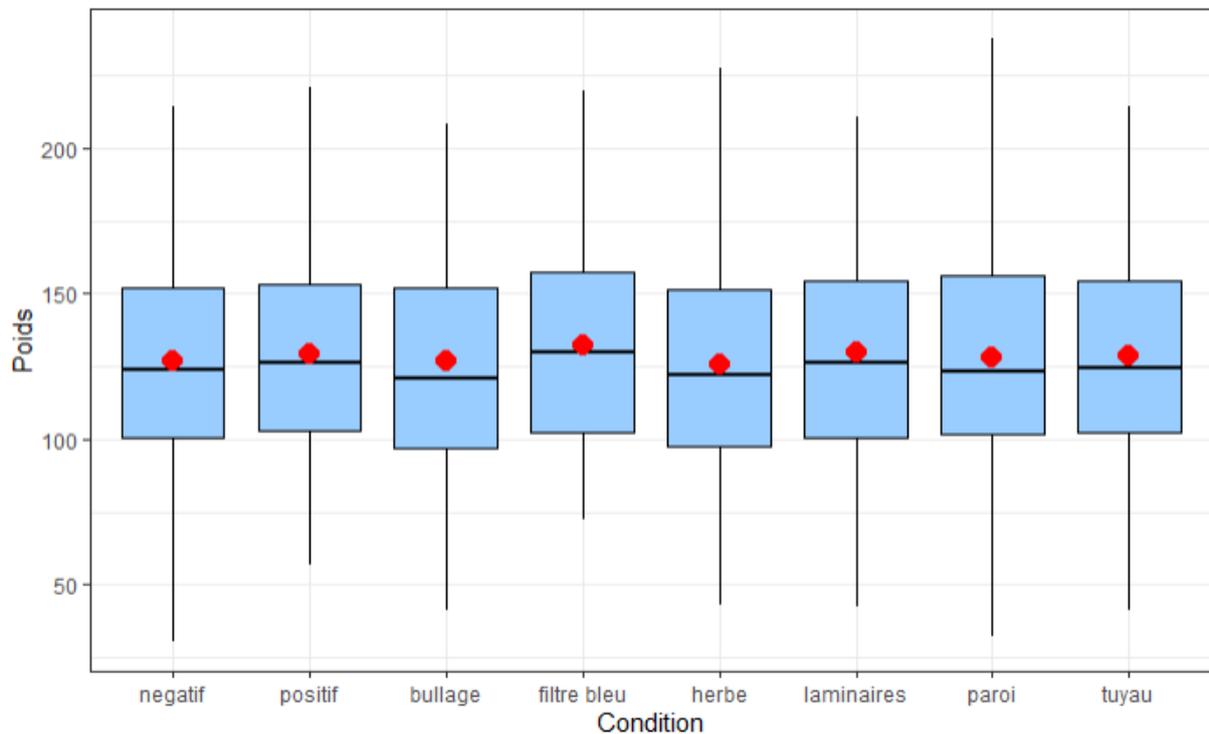


Figure 29 : Graphique en boîte à moustaches du poids moyen par condition sur les 3 temps de prélèvement.

Nous avons dans un premier temps réalisé un modèle uni varié pour la variable « condition ». Nous avons montré qu'il n'y a pas de variation significative du poids en fonction des différentes conditions (p -value=0,68). Nous avons fait pareil pour la variable « temps ». Nous avons montré que le temps influençait de manière significative le poids. C'est un résultat cohérent avec une p -value égale à $2,2 \times 10^{-16}$. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'interaction entre ces deux variables. Nous avons montré que cette interaction n'était pas significative (p -value=0,92).

Il n'y a pas de différence significative de poids entre les conditions en fonction du temps de d'élevage dans notre expérience et il n'y a pas interaction entre les conditions et le temps. Ce modèle confirme les résultats obtenus précédemment.

Nous avons réalisé un graphique montrant l'évolution de la prise de poids des poissons par condition (Figure 30).

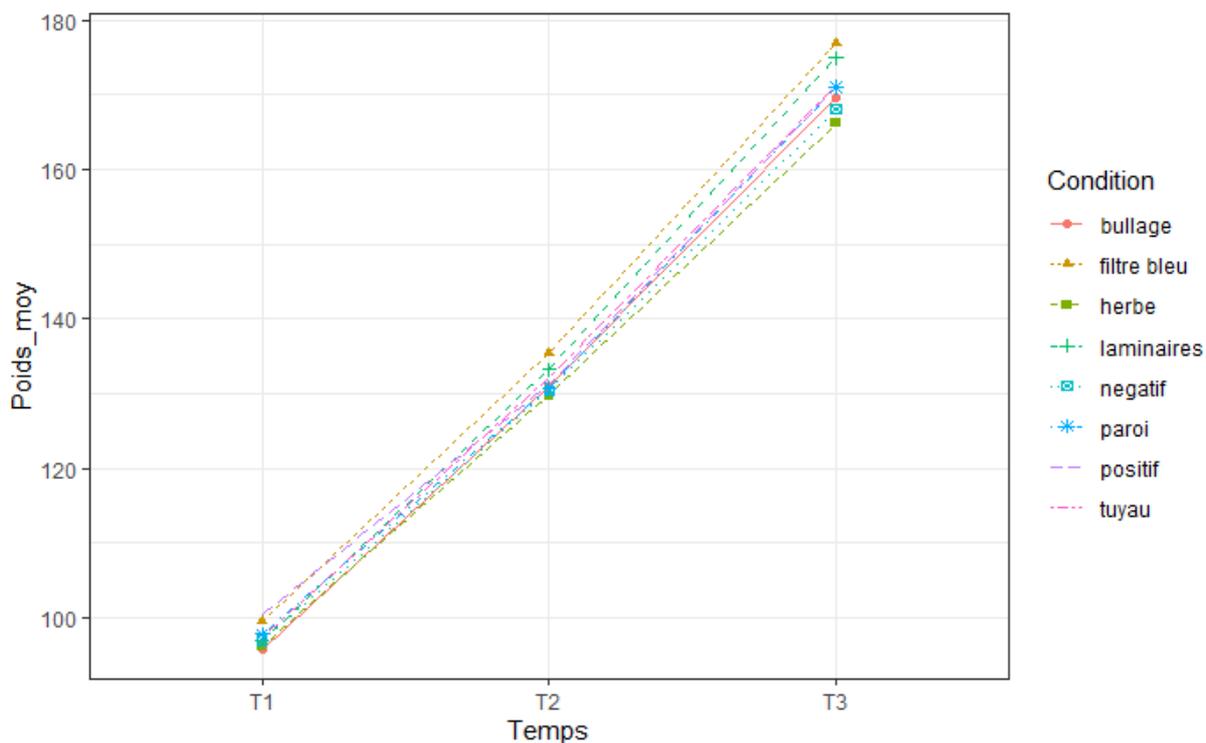


Figure 30 : Graphique montrant l'évolution de la prise de poids des poissons par condition.

Nous pouvons constater que la prise de poids dans les conditions « filtre bleu » et « laminaires » est plus élevée que la condition « herbe » ou encore celle du témoin négatif. Toutefois, cela n'est pas significatif.

Nous avons, comme pour le temps T2, calculé un gain moyen par condition (Tableau 6).

Tableau 6 : Gain moyen par triplicat en gramme entre T1 et T3 (20 poissons par bac).

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Gain moyen	77,90	77,05	73,50	73,03
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Gain moyen	72,12	70,42	70,99	71,10

Nous pouvons voir que, comme le gain moyen du temps T1 au temps T3, les conditions « filtre bleu » et « laminaires » sont plus élevées que d'autres conditions comme les témoins. Toutefois, ces différences ne sont pas significatives. La différence de gain moyen entre le maximum et le minimum est de 6,91 g. Cette différence de poids s'est réalisée sur une période de 2 mois. Il serait intéressant de voir si cette différence serait davantage marquée sur une période plus longue.

b. Taille moyenne par bac et par triplicat

i. Temps T1

Nous avons également mesuré la taille des poissons de la bouche à la fourche de la queue. Nous avons calculé des tailles moyennes par bac pour les 30 poissons par bac mais aussi pour les 25 anesthésiés uniquement (sans les 5 euthanasiés) (Annexe 9).

Nous avons montré statistiquement qu'il y avait des différences significatives entre la taille moyenne de plusieurs bacs (p-value=0,0003) (Tableau 7). Le lot de bac initial n'est donc pas homogène sur la condition taille.

Tableau 7 : Différences significatives de la taille moyenne par bac.

Paire de bac	Différence significative
B1-B21	TRUE
B20-B8	TRUE
B21-B8	TRUE
B21-B9	TRUE

Le bac 21 (condition « laminaires ») présente des différences significatives avec le bac 1 (condition « bullage »), le bac 8 (témoin positif) et le bac 9 (condition « tuyau »). Il est en effet significativement inférieur que les 3 autres bacs initialement. De plus, le bac 20 (condition « herbe ») est significativement inférieur concernant la taille moyenne que le bac 8 (témoin positif) qui est le bac avec la taille moyenne la plus élevée.

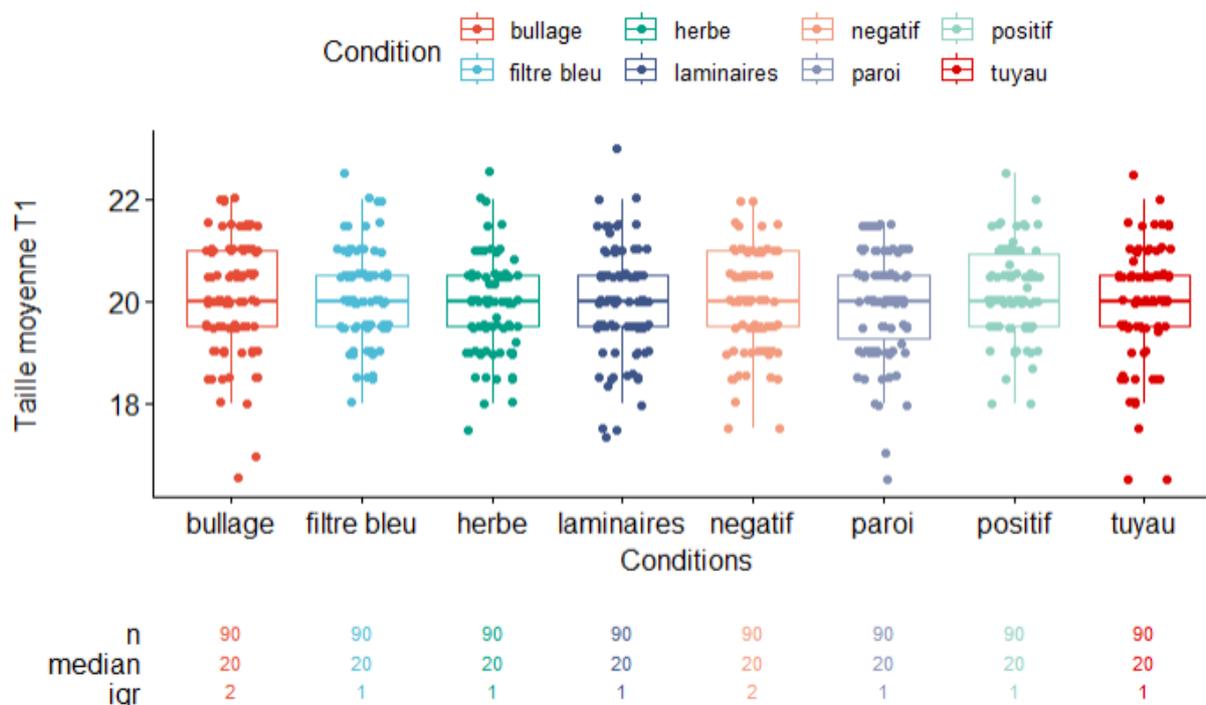


Figure 31 : Graphique en boîte à moustaches de la taille moyenne au temps T1 par condition.

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches par condition (Figure 31). Nous avons montré statistiquement qu'il n'y avait pas de différence significative entre la taille moyenne de chaque condition (p -value=0,5). Le lot initial est donc homogène.

ii. Temps T2

Nous avons également mesuré la taille des poissons au temps T2 en Annexe 9. Nous avons montré statistiquement qu'il n'y avait pas de différence significative entre la taille moyenne de chaque bac (p -value=0,01 mais sans différence entre les paires de bac avec le test de post-hoc). Cependant il faut faire attention avec ses résultats car certains bacs étaient différents au temps T1. C'est pourquoi pour la suite nous allons nous focaliser sur une comparaison entre conditions car elles étaient initialement comparables.

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches par condition (Figure 32).

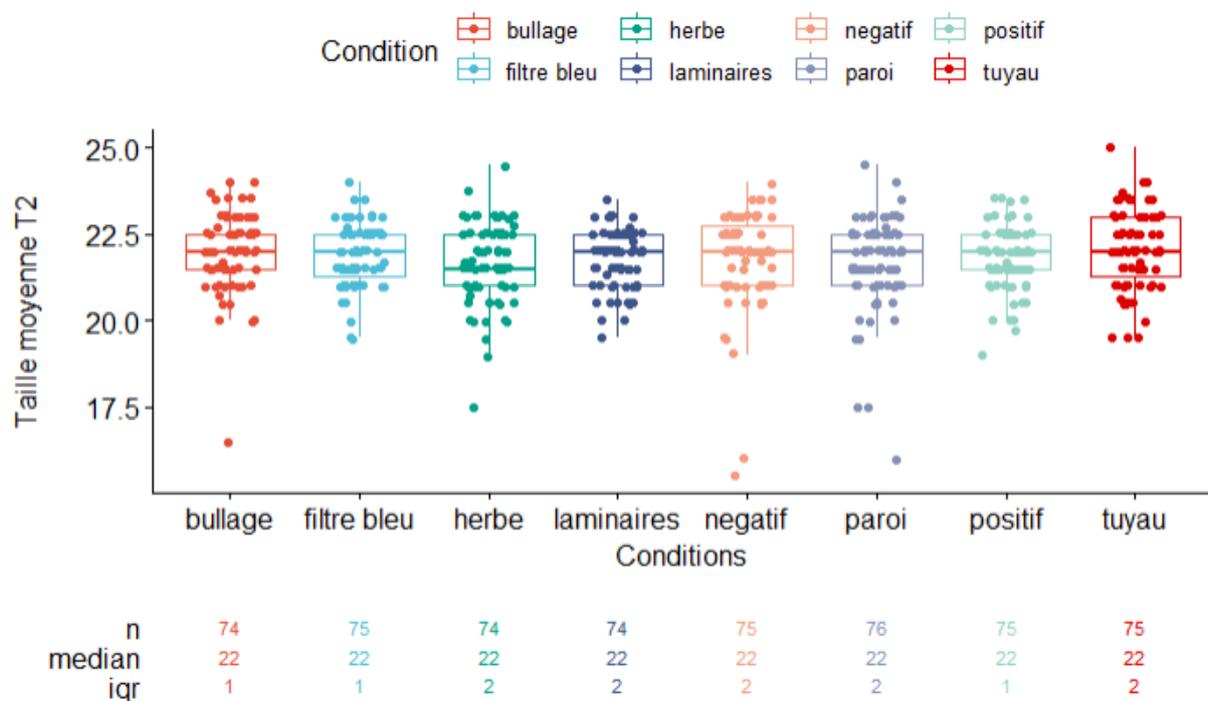


Figure 32 : Graphique en boîte à moustaches de la taille moyenne au temps T2 par condition.

Nous avons montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les conditions (p -value=0,35). Le premier mois d'expérimentation n'a donc pas montré de différence de taille moyenne entre les conditions.

iii. Temps T3

Nous avons également mesuré la taille des poissons au temps T3 (Annexe 9). Nous avons montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les bacs (p -value=0,04 mais sans différence significative au test de post-hoc).

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches par condition (Figure 33).

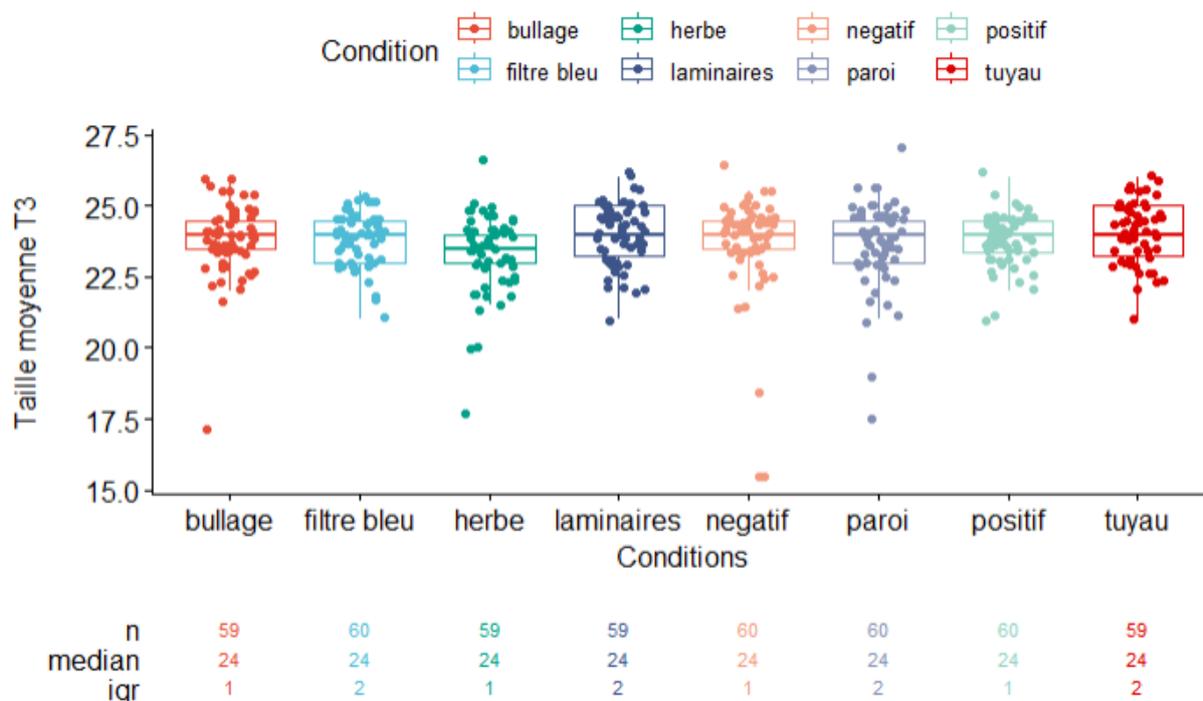


Figure 33 : Graphique en boîte à moustaches de la taille moyenne au temps T3 par condition.

Pour le temps T3, une condition diffère d'une autre et ce de manière significative (p -value=0,048). En effet, la condition « tuyau » présente une taille significativement plus élevée que la condition « herbe » au bout de 2 mois d'expérimentation.

Comme pour le poids, nous avons réalisé un modèle uni varié pour la variable « condition ». Nous avons montré qu'il n'y a pas de variation significative du poids en fonction des différentes conditions (p -value=0,78). Nous avons fait pareil pour la variable « temps ». Nous avons montré que le temps influençait de manière significative la taille. C'est un résultat cohérent avec une p -value égale à $2,2 \times 10^{-16}$. Nous avons ensuite montré que l'interaction temps/conditions n'était pas significative (p -value=0,58).

Il n'y a pas de différence significative de taille entre les conditions en fonction du temps et il n'y a pas d'interaction entre les conditions et le temps.

Nous avons réalisé, comme pour la variable poids, une cinétique de la taille au cours du temps (Figure 34).

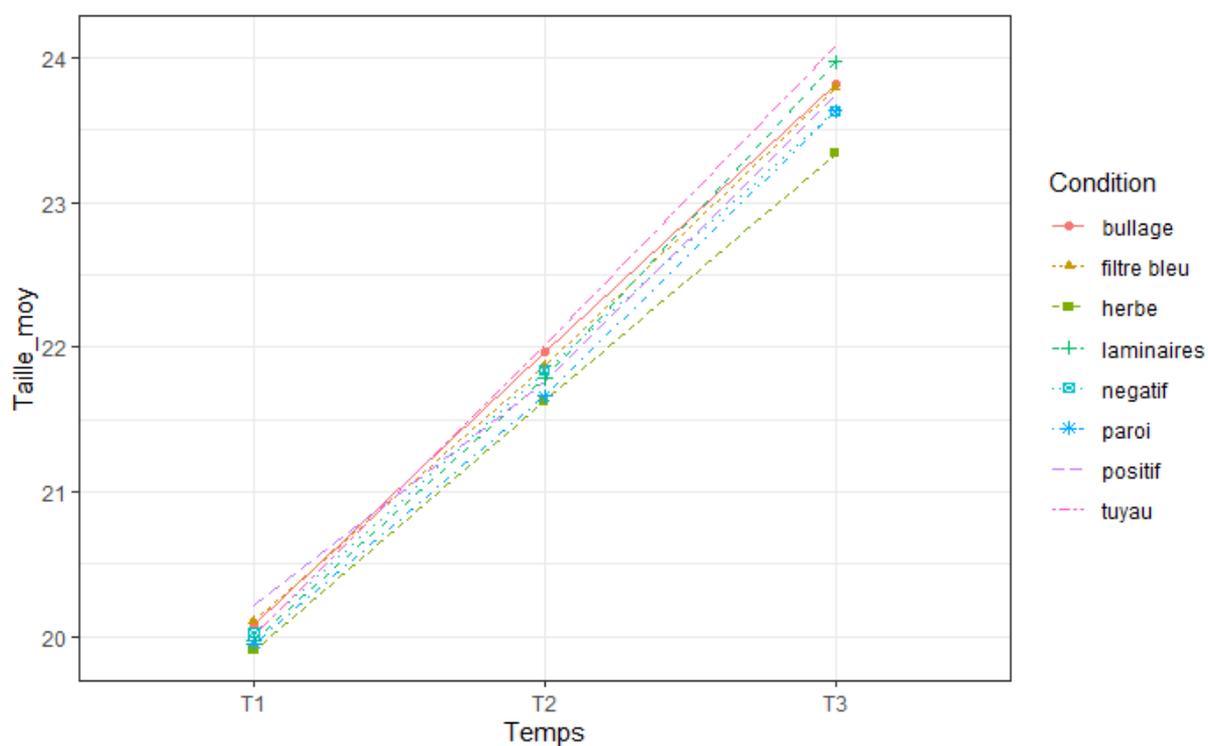


Figure 34 : Graphique montrant l'évolution de la taille moyenne des poissons par condition.

Ce graphique montre l'évolution de la taille moyenne par condition qui est sensiblement proche entre les conditions. Il permet de mettre en évidence la différence montrée au temps T3 entre les conditions « herbe » et « tuyau ».

Conclusion du 1a et b :

Nous avons montré globalement qu'il n'y a pas de différence majeure concernant les performances zootechniques entre les conditions au bout de 2 mois d'expérimentation. Une période plus longue d'expérimentation aurait pu montrer des écarts plus marqués.

c. Corrélation entre les variables poids et taille

Nous avons cherché à savoir s'il existait une corrélation linéaire entre la taille et le poids des poissons. Nous avons montré qu'il existait une forte corrélation avec un coefficient $\rho=0,96$ (Figure 35).

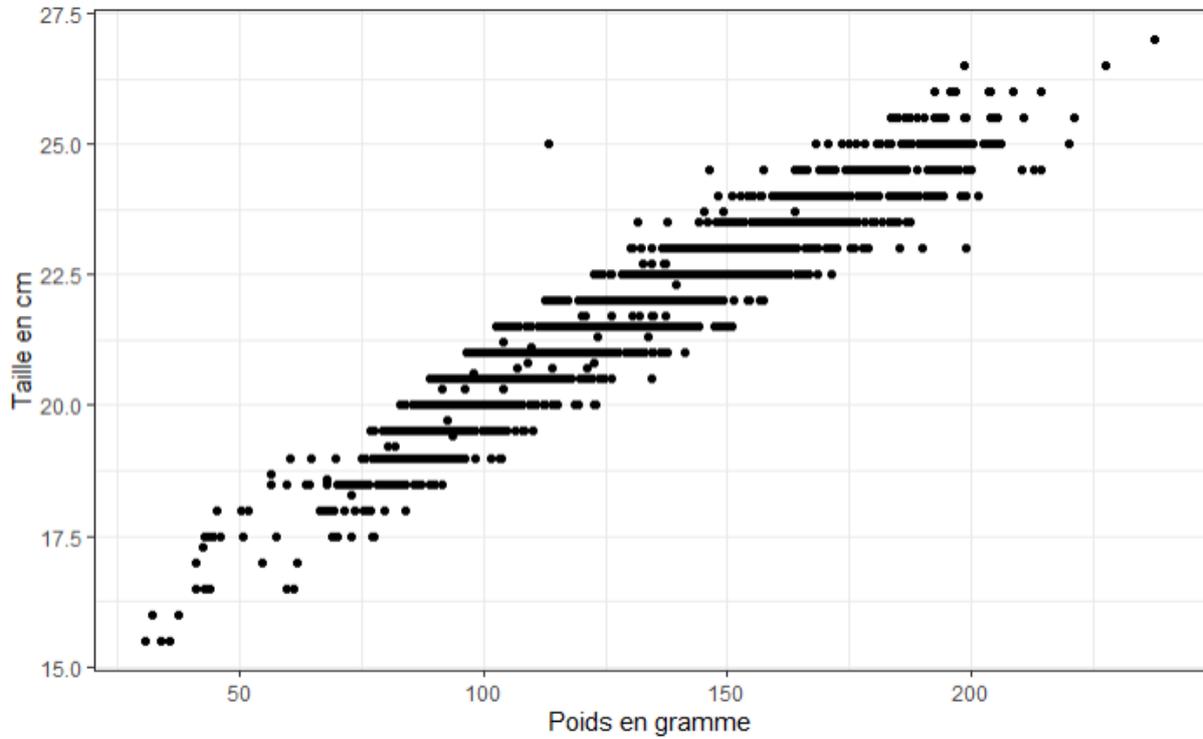


Figure 35 : Graphique du poids en fonction de la taille de l'ensemble des individus des temps T1, T2 et T3.

Conclusion du 1.c : Il existe donc une forte corrélation linéaire entre le poids et la taille, ce qui est rassurant pour notre expérience. La croissance des poissons a été respectée.

2. Glucose et lactates plasmatiques

Les concentrations en glucose et lactate plasmatiques ont été effectuées par le laboratoire Laboniris à Oniris.

a. Glucose plasmatique

i. Temps T1

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en glucose par bac et par triplicat (Annexe 10).

Les tests statistiques ont été réalisés sur les conditions c'est-à-dire sur 15 poissons par lot. En effet, une comparaison par bac aurait été compliquée en raison d'un faible nombre d'échantillons par lot (5 poissons).

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches (Figure 36).

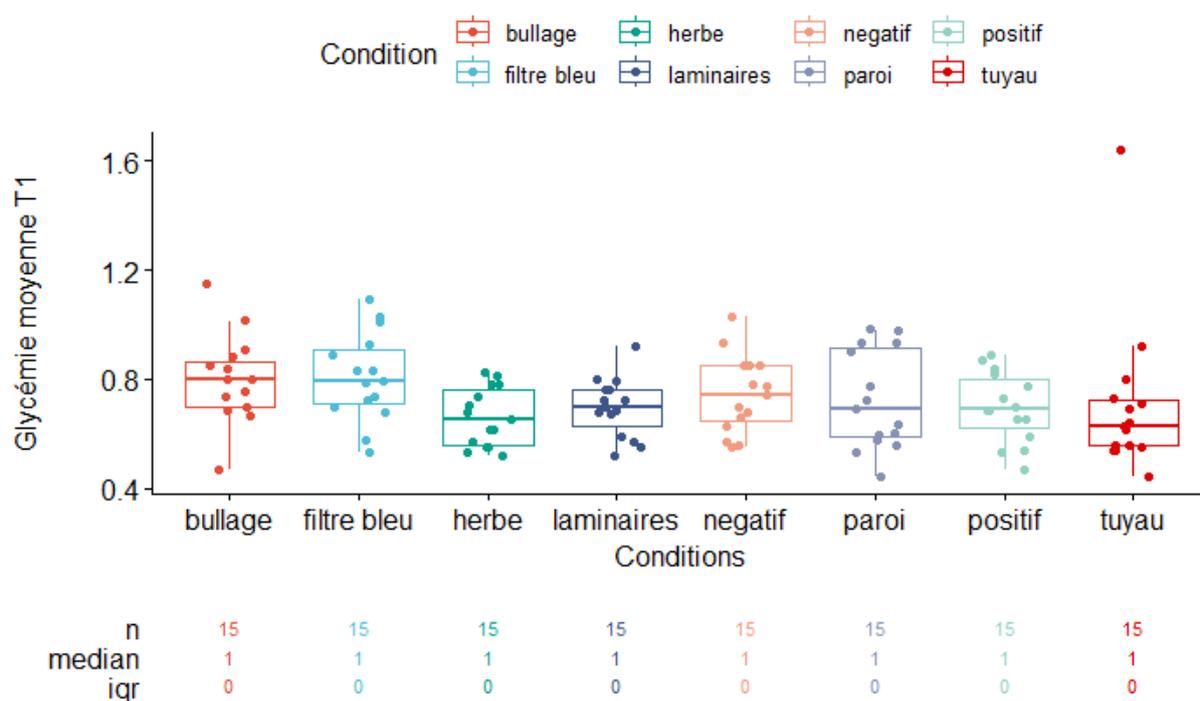


Figure 36 : Graphique en boîte à moustaches de la glycémie moyenne au temps T1 par condition.

Nous n'avons pas montré de différence significative concernant la glycémie moyenne par condition (p -value=0,049 mais pas de différence au test de post-hoc). Le lot initial est donc homogène et il sera possible de comparer les résultats des temps T2 et T3.

i. Temps T2

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en glucose par bac et par condition au temps T2 (Annexe 10).

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches (Figure 37).

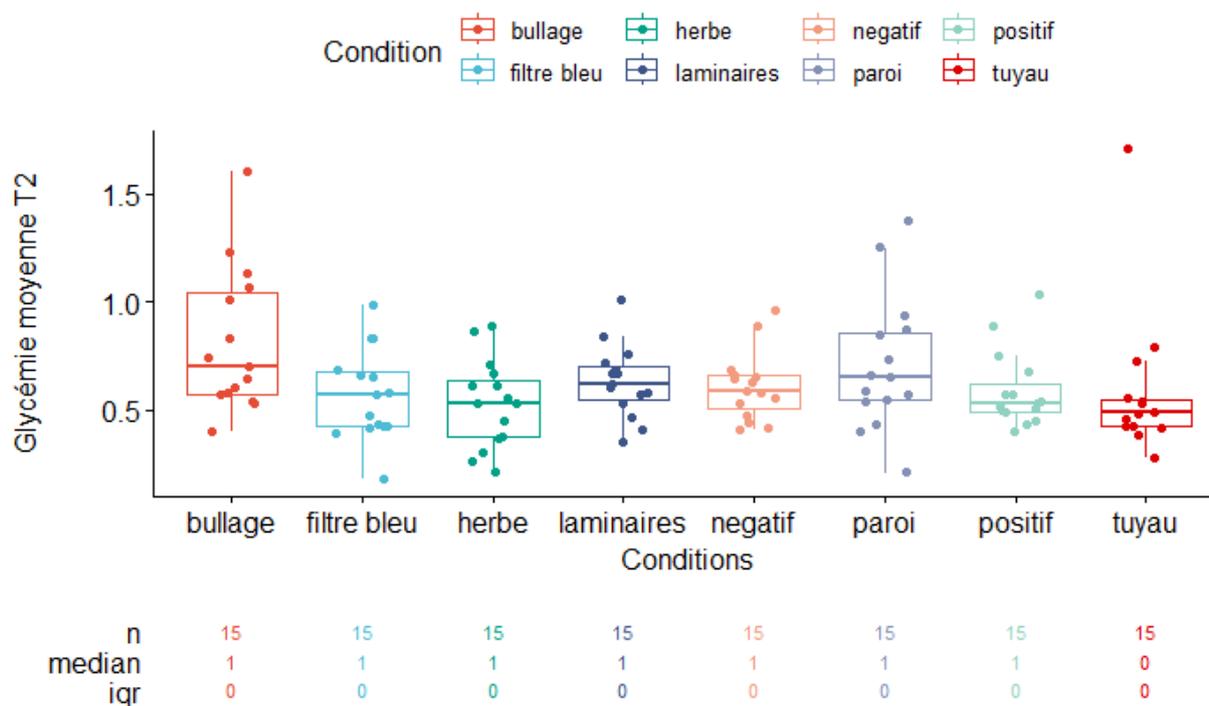


Figure 37 : Graphique en boîte à moustaches de la glycémie moyenne au temps T2 par condition.

Nous avons montré qu'il n'y a pas de différence significative (p -value=0,064) entre les conditions au temps T2 concernant la glycémie. Or nous avons vu que, lors de stress la concentration en glucose plasmatique varie à la hausse. Nous constatons que la condition « bullage » présente la valeur la plus élevée et que la condition « filtre bleu » présente la plus faible.

iii. Temps T3

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en glucose par bac et par condition au temps T3 (Annexe 10). Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches (Figure 38).

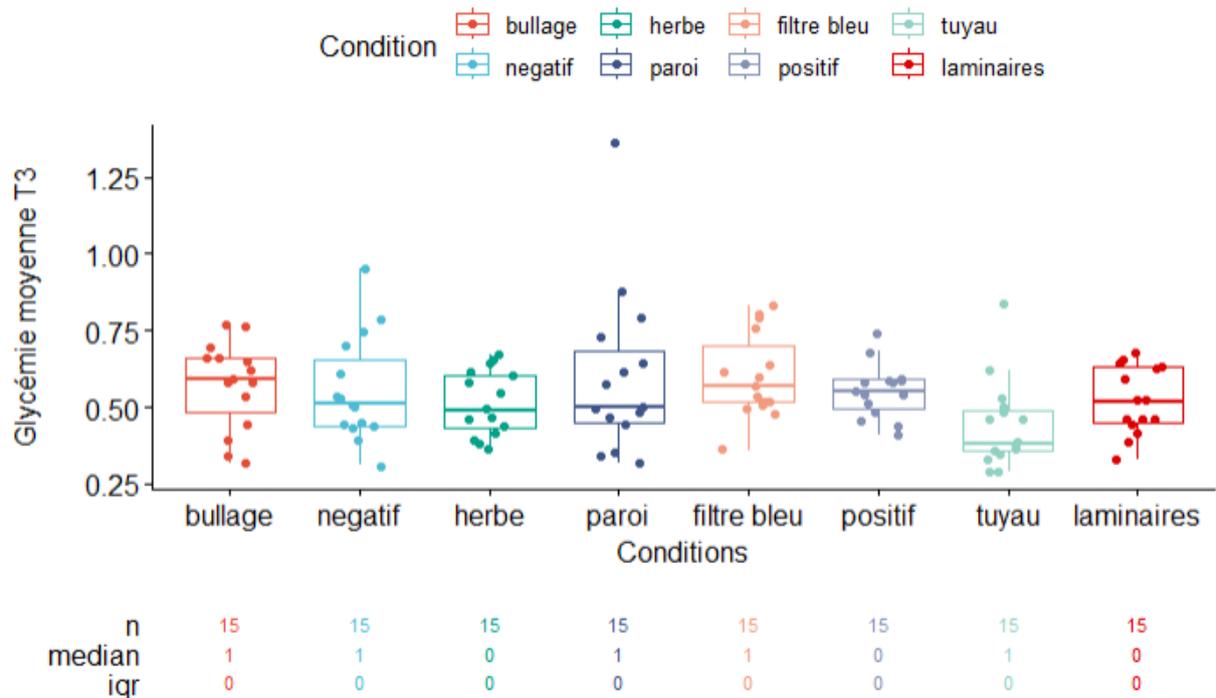


Figure 38 : Graphique en boîte à moustaches de la glycémie moyenne au temps T3 par condition.

Nous avons montré qu'il n'y a pas de différence significative (p -value=0,072) entre les conditions au temps T3 concernant la glycémie.

Nous avons réalisé un modèle linéaire mixte uni varié pour la variable « condition ». Nous avons montré qu'il n'y a pas de variation significative de la glycémie en fonction des différentes conditions (p -value=0,04 mais pas de différence au test de post-hoc, simplement une tendance entre les conditions « bullage » et « herbe » avec une p -value=0,09). Nous avons fait pareil pour la variable « temps ». Nous avons montré que le temps influençait de manière significative la glycémie. La p -value est égale à $7,7 \times 10^{-13}$. Nous avons ensuite montré que l'interaction temps/conditions n'était pas significative (p -value=0,40). Or, la glycémie dépend du temps. En effet, les valeurs de glycémie entre T1, T2 et T3 sont différentes d'un temps à un autre (p -value=0,0002). Elles diminuent au cours du temps de manière significative.

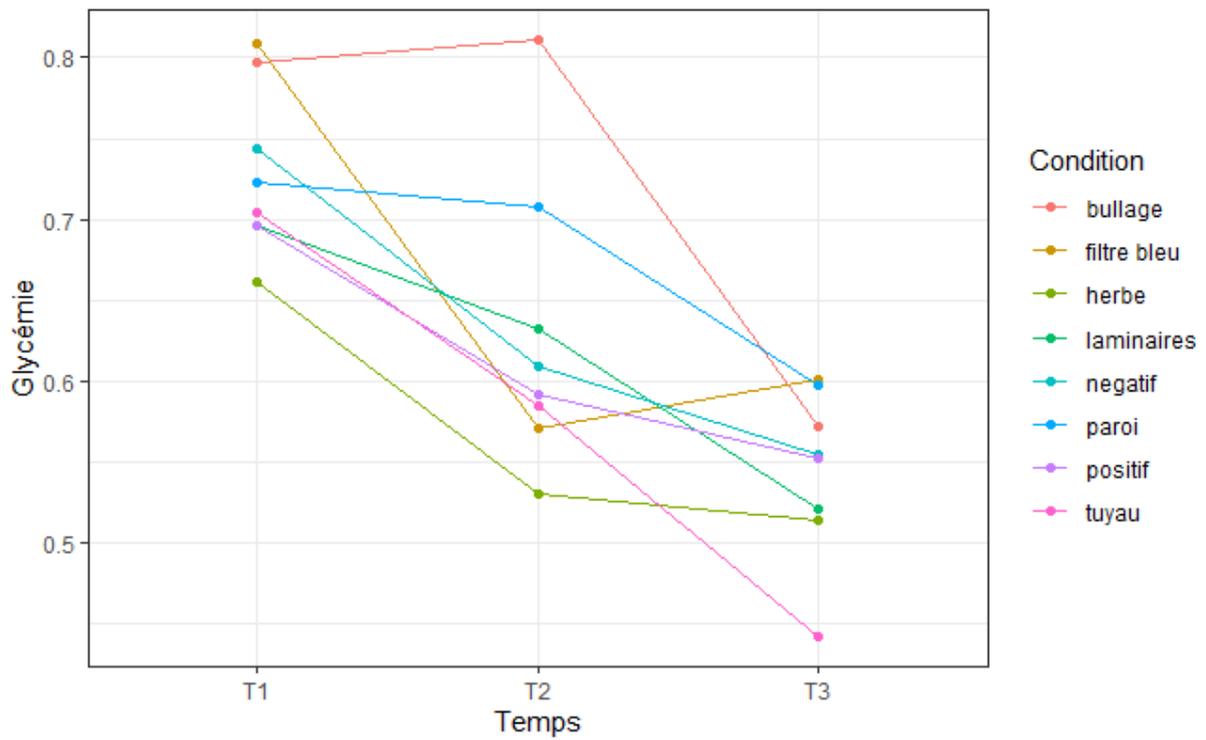


Figure 39 : Glycémie au cours du temps.

Il n'y a pas de différence significative de glycémie entre les conditions en fonction du temps et il n'y a pas d'interaction entre les conditions et le temps. Mais il y a une diminution significative de la glycémie de l'ensemble des poissons au cours du temps (Figure 39). Ce qui suggère une baisse du stress des animaux au cours des deux mois d'expérience.

b. Lactate plasmatique

i. Temps T1

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en lactate par bac et par condition (Annexe 11).

Nous avons ensuite réalisé un graphique en boîte à moustaches (Figure 40).

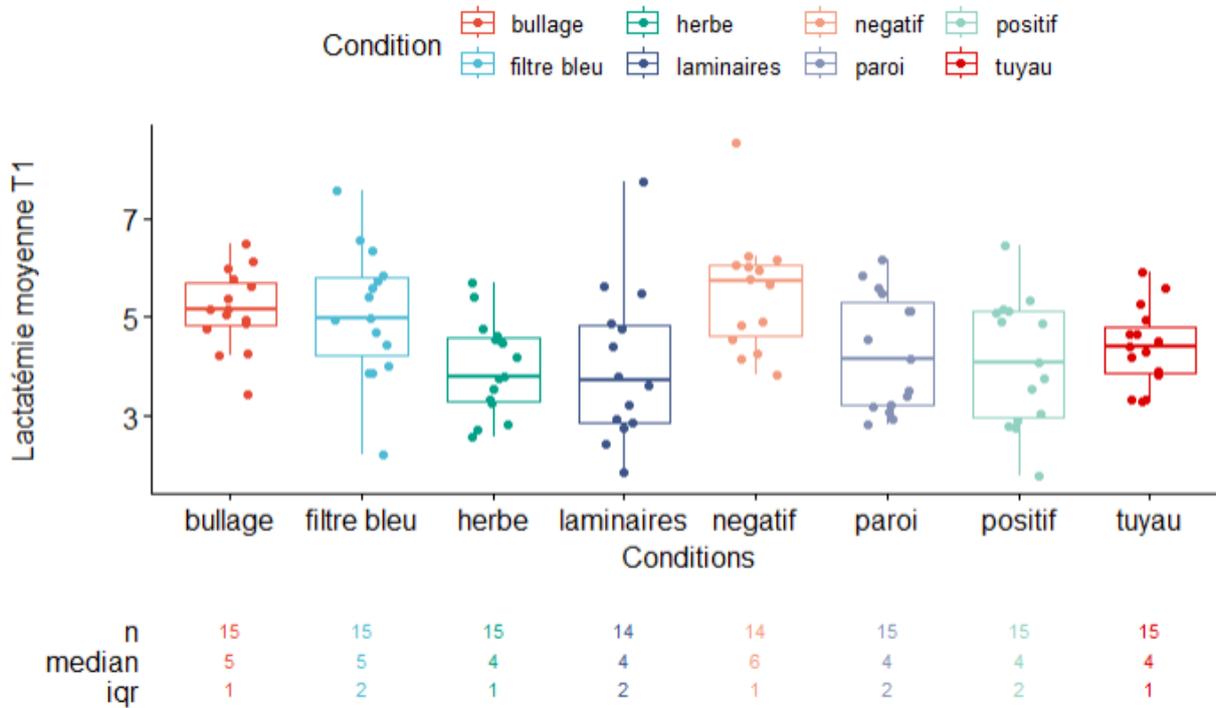


Figure 40 : Graphique en boîte à moustaches de la lactatémie moyenne au temps T1 par condition.

Nous avons montré que le témoin négatif présente une lactatémie supérieure significativement à celle du témoin positif (p -value=0,036) et à celles des conditions « herbe » (p -value=0,013) et « laminaires » (p -value=0,024) (Figure 40).

ii. Temps T2

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en lactates plasmatiques par bac et par condition au temps T2 (Annexe 11).

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches (Figure 41).

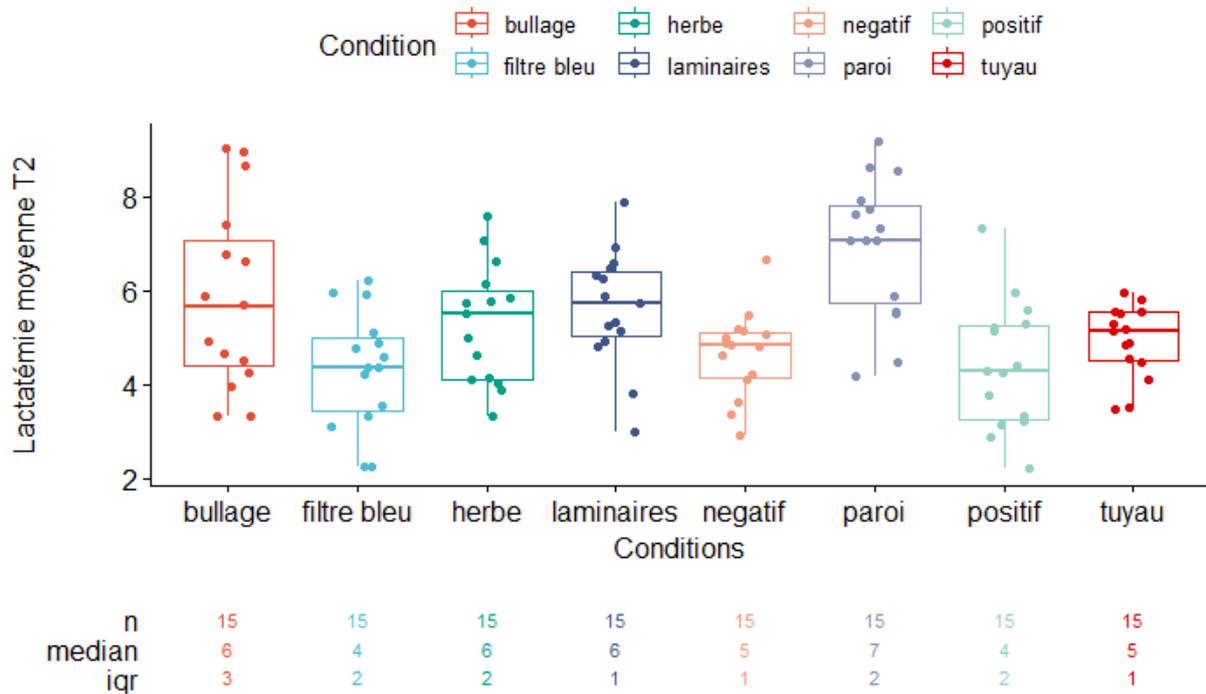


Figure 41 : Graphique en boite à moustaches de la lactatémie moyenne au temps T2 par condition.

Nous avons montré qu'il existait des différences significatives entre les conditions (p -value=0,00015). En effet, la condition « paroi » présente une lactatémie moyenne la plus élevée et significativement supérieure à la condition « filtre bleu » et aux témoins négatif et positif. La condition « paroi » semble donc être une condition qui stresse les animaux plus que le témoin positif ou encore que le témoin négatif. La condition « filtre bleu » semble être une condition moins stressante que la condition « paroi » mais ne diffère pas significativement des deux témoins.

iii. Temps T3

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en lactates plasmatiques par bac et par condition au temps T3 (Annexe 11).

Nous avons réalisé un graphique en boite à moustaches par condition (Figure 42).

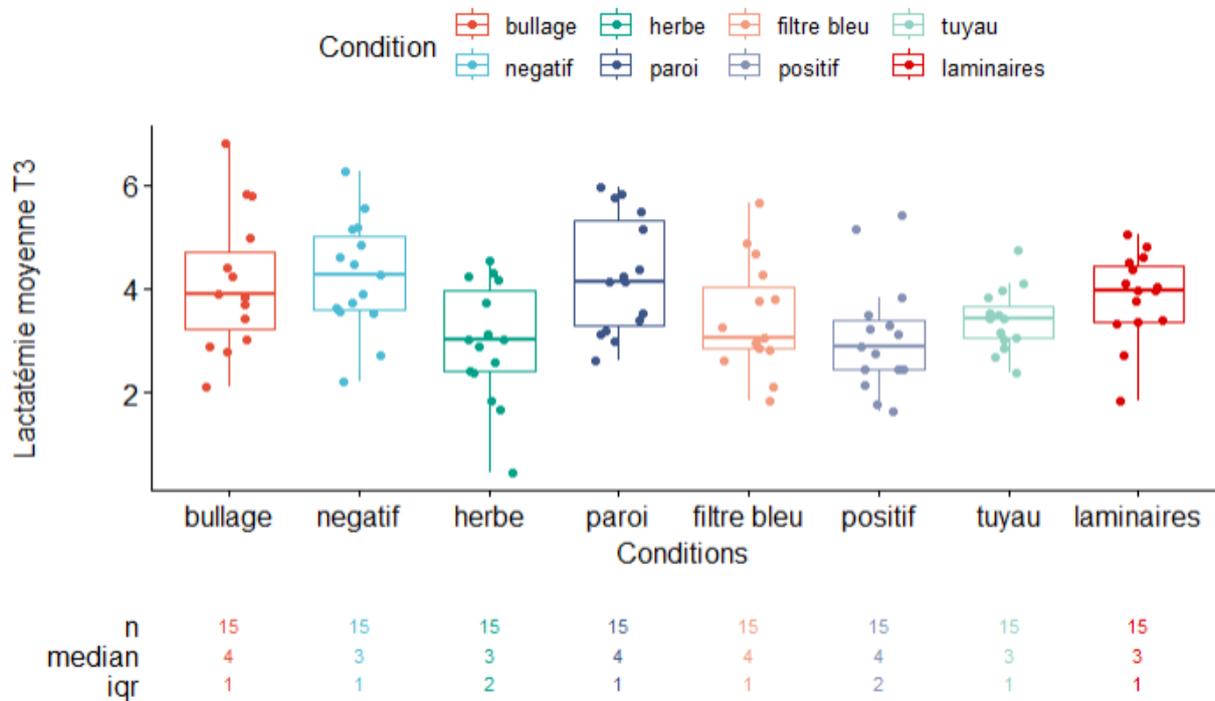


Figure 42 : Graphique en boîte à moustaches de la lactatémie moyenne au temps T3 par condition.

Nous avons montré qu'il existait des différences significatives entre les conditions (p -value=0,0011). La condition « herbe » présente une lactatémie plus faible et ceux de manière significative que la condition « paroi » et le témoin négatif. De plus, la condition « paroi » a une lactatémie supérieure et ceux de manière significative par rapport au témoin positif (Figure 42).

Comme pour le poids, nous avons réalisé un modèle linéaire mixte uni varié pour la variable « condition ». Nous avons montré qu'il n'y avait pas de variation significative de la lactatémie en fonction des différentes conditions (p -value=0,01 mais pas de différence au test de post-hoc). Nous avons montré que le temps influençait de manière significative la lactatémie. La p -value est égale à $2,2 \times 10^{-16}$. Nous avons ensuite montré que l'interaction temps/conditions était significative (p -value= $2,2 \times 10^{-7}$) et qu'il y avait un lien entre le temps et les conditions. De plus, la lactatémie dépend du temps. En effet, les valeurs de lactates entre T1, T2 et T3 sont différentes d'un temps à un autre. Elles augmentent de manière significative entre T1 et T2 puis diminuent de manière significative entre T2 et T3 (p -value<0,0001). Les valeurs entre T1 et T3 diminuent également significativement.

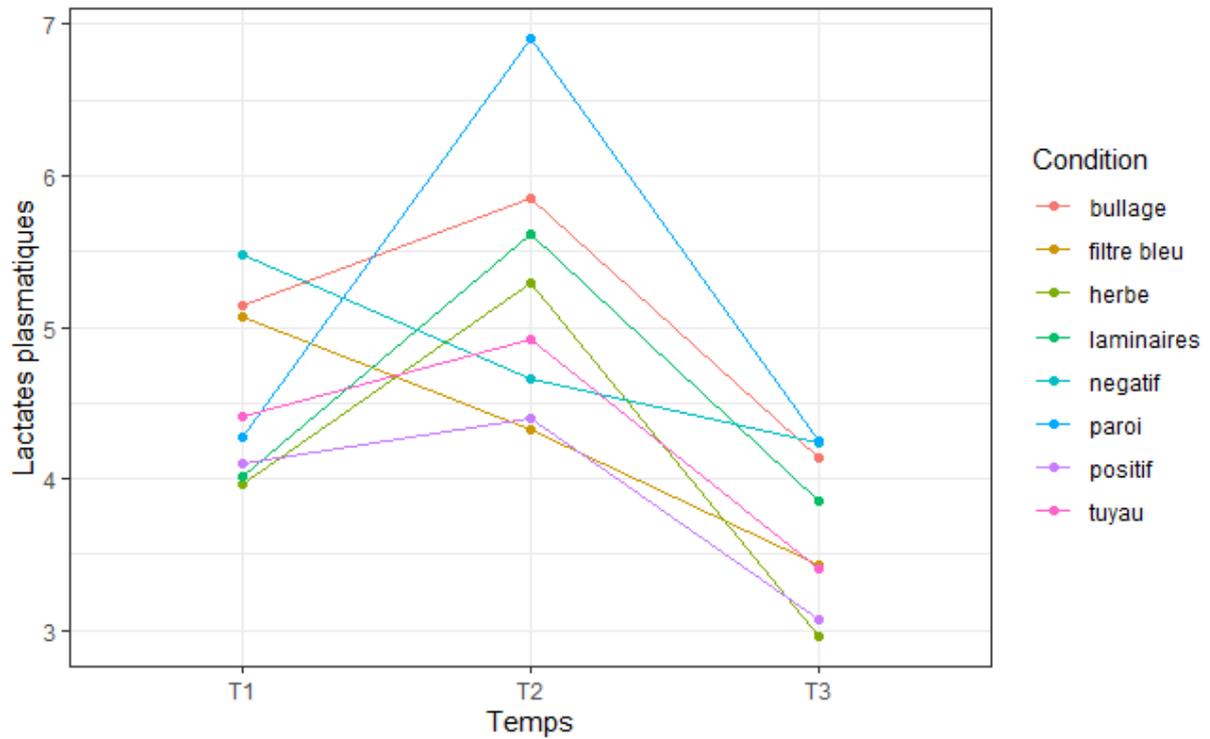


Figure 43 : Lactatémie au cours du temps.

Il n'y a pas de différence significative de lactatémie entre les conditions en fonction du temps. Nous avons montré qu'il y a une diminution significative de la lactatémie de l'ensemble des poissons au cours du temps (entre T1 et T3) avec un pic significatif d'augmentation à T2 (Figure 43). Ceci suggère une baisse globale du stress des animaux au cours des deux mois d'expérience.

3. Cortisol plasmatique

Nous avons ensuite mesuré la concentration en cortisol dans le sang par dosage radio-immunologique.

a. Temps T1

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en cortisol par bac et par condition pour le temps T1 (Annexe 12).

Nous avons réalisé un graphique en boîte à moustaches par condition (Figure 44).

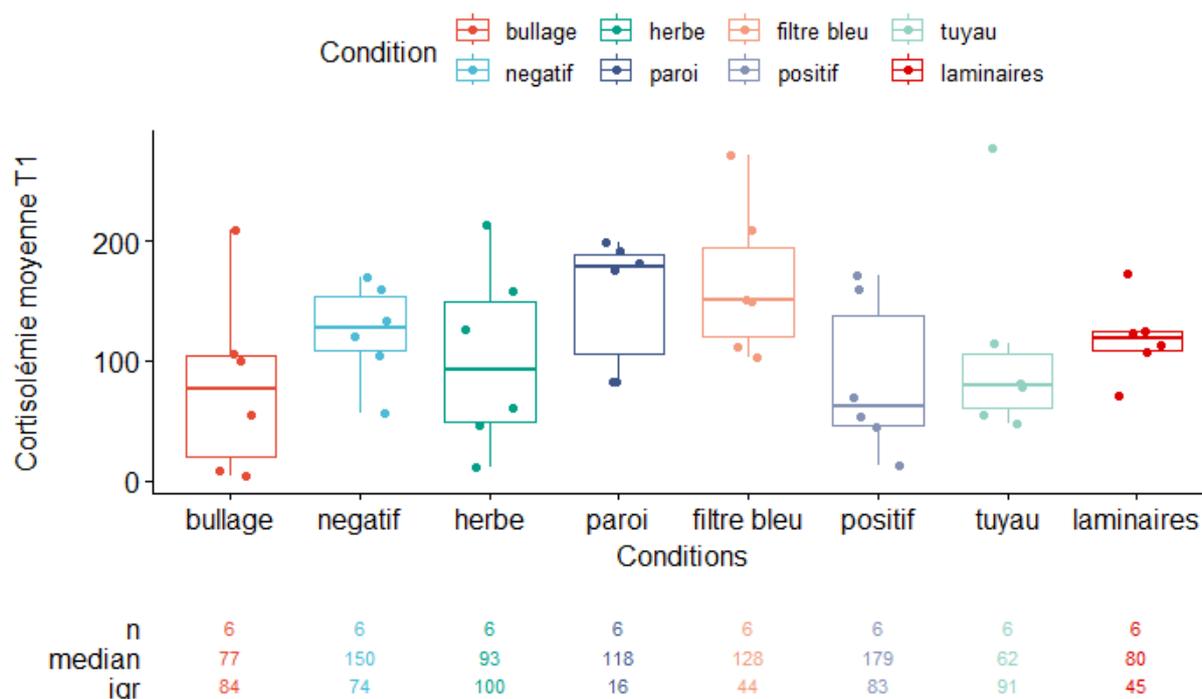


Figure 44 : Graphique en boîte à moustaches de la cortisolémie moyenne au temps T1 par condition.

Nous constatons une hétérogénéité des résultats en visualisant le graphique de la Figure 44. Toutefois, il n'y a pas de différence significative que ce soit entre les bacs ($p\text{-value}=0,34$) ou les conditions ($p\text{-value}=0,27$) au temps T1.

b. Temps T2

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en cortisol par bac et par condition (Annexe 12).

Nous avons montré qu'il existe des différences significatives entre les bacs ($p\text{-value}=5,155 \times 10^{-6}$). En effet, le bac 20 (condition « herbe ») est significativement plus faible que le bac 8 (témoin positif), le bac 9 (condition « tuyau »). De plus, le bac 24 (condition « paroi ») est également significativement plus faible que les bacs 8 et 9 qui sont les plus élevés.

Nous avons ensuite réalisé un graphique en boîte à moustaches par condition (Figure 45).

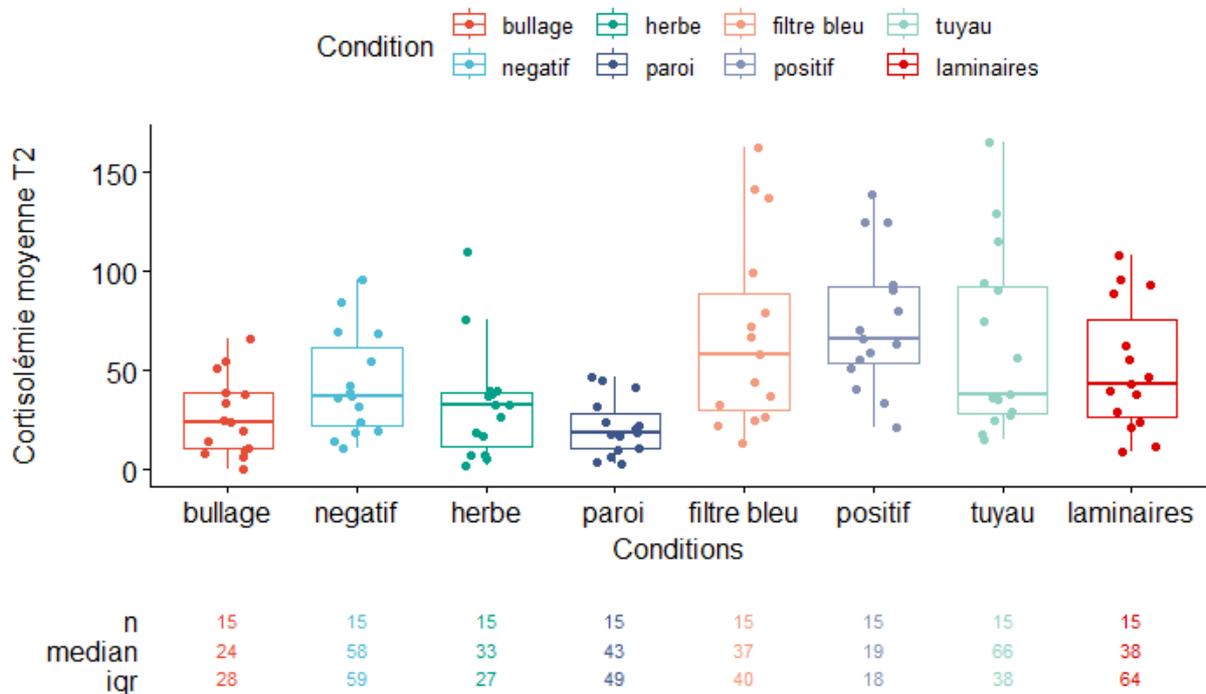


Figure 45 : Graphique en boîte à moustaches de la cortisolémie moyenne au temps T2 par condition.

Nous avons montré qu'il existait des différences significatives entre les conditions au temps T2 concernant la cortisolémie ($p\text{-value}=2,7\text{E-}05$). En effet, le témoin positif présente des résultats significativement plus élevés que les conditions « bullage », « herbe » et « paroi ». De plus, la condition « paroi » présente les résultats les plus faibles et est significativement inférieure à la condition « filtre bleu » et au témoin négatif. Il est plutôt rassurant de montrer que la cortisolémie est la plus élevée pour le témoin positif et ceux de manière significative par rapport à 3 autres conditions. Nous pouvons donc dire que les conditions « bullage », « herbe » et « paroi » présentent un niveau de stress inférieur à celui du témoin positif et sont donc moins stressés que ces derniers.

c. Temps T3

Nous avons calculé une moyenne des concentrations en cortisol par bac et par condition (Annexe 12).

Nous avons montré qu'il existe des différences entre les bacs ($p\text{-value}=4,835\text{E-}07$). En effet, le bac 22 (condition « paroi ») présente des résultats les plus faibles et ce de manière significative par rapport aux bacs 1 (condition « bullage »), 10 (condition « laminaires »), 3 (condition « herbe »). De plus, le bac 3 est plus élevé de manière significative par rapport au bac 13 (condition « laminaires »).

Nous avons ensuite réalisé un graphique en boîte à moustaches par condition (Figure 46).

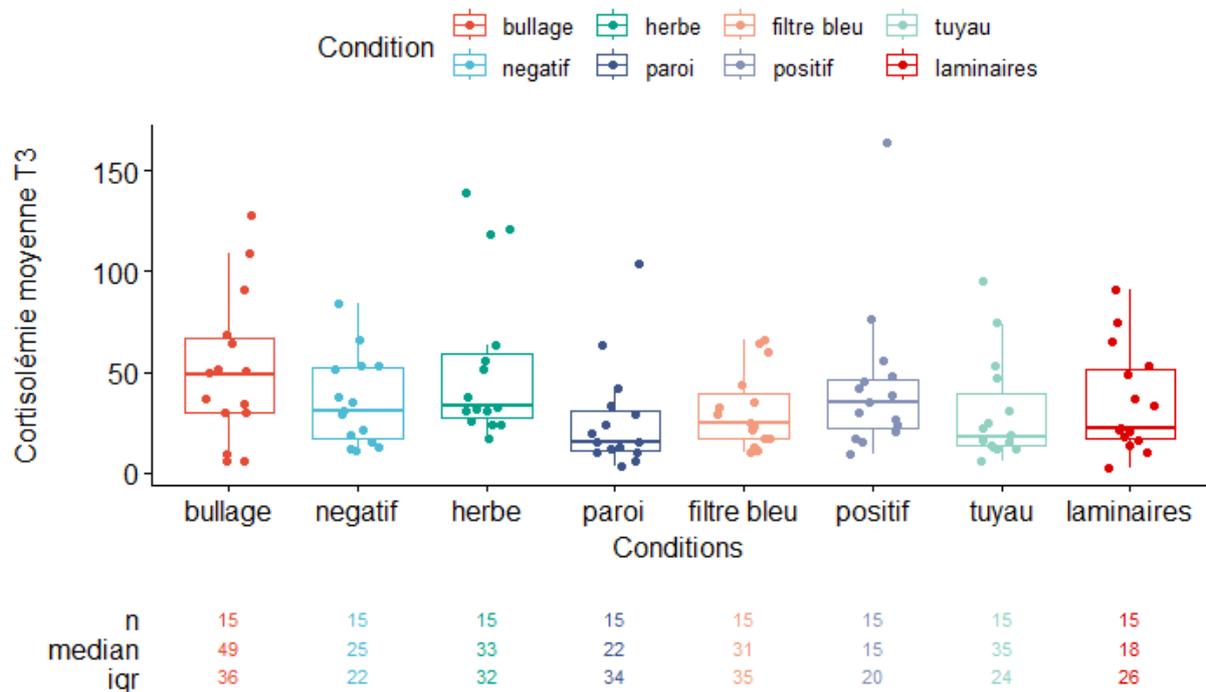


Figure 46 : Graphique en boîte à moustaches de la cortisolémie moyenne au temps T3 par condition.

Nous avons montré pour le temps T3 qu'il n'y avait pas de différence significative (p -value=0,093) concernant la cortisolémie moyenne de chaque condition.

Comme pour le poids, nous avons réalisé un modèle linéaire mixte uni varié pour la variable « condition ». Nous avons montré qu'il n'y a pas de variation significative de la cortisolémie en fonction des différentes conditions sur l'ensemble des 3 temps (p -value=0,96). Nous avons montré que le temps influençait de manière significative la lactatémie. La p -value est égale à $2,2 \times 10^{-16}$. Nous avons ensuite montré que l'interaction temps/conditions était significative (p -value= 2×10^{-16}) et qu'il y avait un lien entre le temps et les conditions. De plus, la cortisolémie dépend du temps. En effet, les valeurs de glycémie entre T1-T2 et T1-T3 sont significativement différentes (p -value=0,0004). Elles diminuent de manière significative entre T1 et T2 puis restent stables entre T2 et T3.

Il n'y a pas de différence significative de cortisolémie entre les conditions en fonction du temps. Il y a une interaction significative entre les conditions et le temps. C'est-à-dire qu'il y a une relation entre ces deux variables. Une interaction significative décrit une situation où l'influence d'une variable dépend de l'état de la seconde ([Interaction \(statistiques\) – Wikipédia \(wikipedia.org\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Interaction_statistique)). Nous constatons une baisse générale du cortisol dans le sang des poissons au cours du temps. Les conditions d'élevage dans les bacs mis en place ont limité leur stress.

Nous avons ensuite tracé sur un graphique l'évolution de la cortisolémie moyenne par condition au cours du temps (Figure 47).

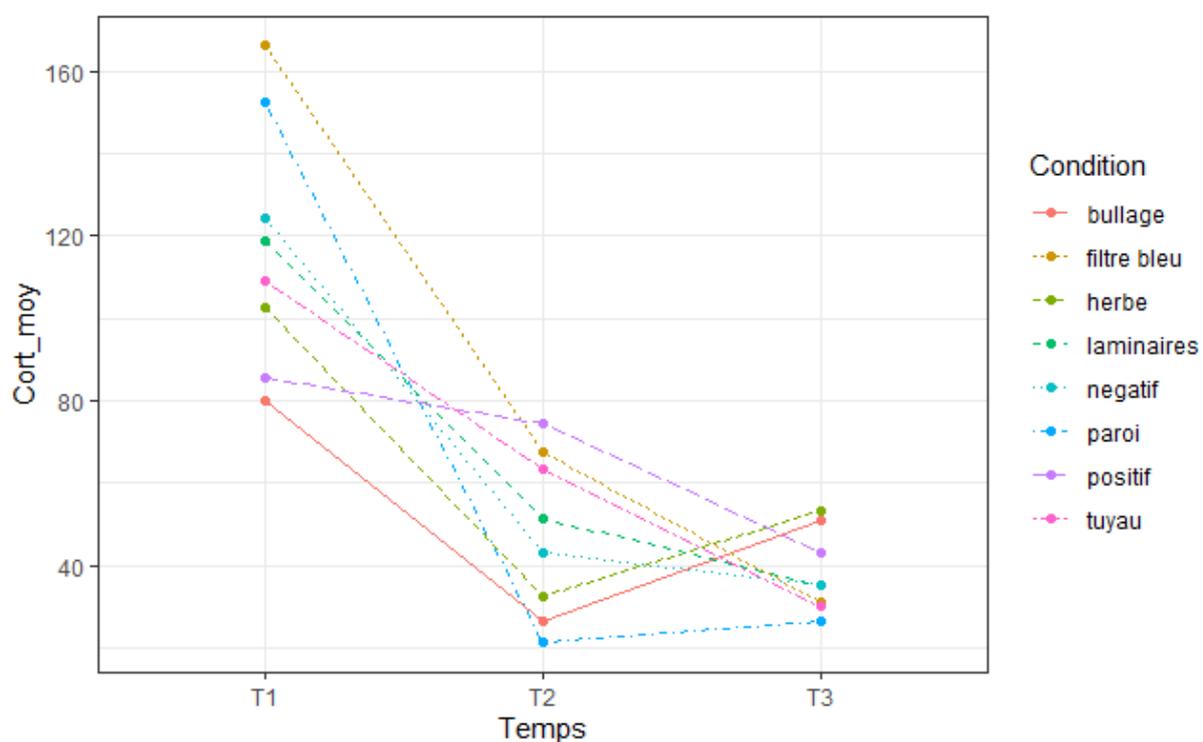


Figure 47 : Graphique représentant l'évolution de la cortisolémie moyenne au cours du temps.

Tableau 8 : Moyenne et écart-type de la cortisolémie moyenne en nmol/L de tous les individus au temps T1, T2 et T3.

	T1	T2	T3
Moyenne	117,3	47,6	38,2
Ecart-type	66,0	37,0	30,7

De plus, il existe des différences entre les moyennes de cortisolémie à des temps différents. En effet, la cortisolémie moyenne à T1 est significativement différente des valeurs moyennes de cortisol de T2 et T3. Les valeurs en cortisol plasmatique ne sont pas différentes pour les temps T2 et T3. Nous constatons donc une baisse significative de la cortisolémie au cours du temps.

Interaction entre les paramètres mesurés : Nous nous sommes demandés s'il existait une corrélation linéaire entre le lactate, le glucose et le cortisol plasmatique. Nous avons montré qu'il n'existait pas de lien entre la glycémie et la lactatémie (coefficient rho=0,39), entre la glycémie et la cortisolémie (coefficient rho=0,34) et entre la lactatémie et la cortisolémie (coefficient rho=0,01). Nos expériences n'ont pas mis en évidence de lien entre ces paramètres. Les coefficients mentionnés sont les coefficients de Pearson qui montrent s'il existe un lien linéaire et monotone entre les variables. Nous avons également calculé les coefficients de Spearman qui s'intéressent au lien non linéaire entre les variables

(logarithmique) qui ont montré des résultats similaires avec des coefficients trop faibles pour montrer une corrélation.

4. Cortisol dans les écailles et les nageoires

Nous avons réalisé un dosage du cortisol dans les écailles et dans les nageoires. L'ensemble des résultats obtenus sont en dehors et en dessous de la gamme des kits (de 0,1 à 30 ng/ml de cortisol pour le kit « Cortisol free in Saliva ELISA » et de 0,04 à 10 ng/ml pour le kit « Cortisol EIA KIT; Neogen® Corporation, Ayr, UK »).

Dans notre expérience, nous n'avons pas montré de cortisol mesurable avec les deux kits testés.

5. Scores des nageoires

A chaque temps de prélèvement, nous avons évalué le score des nageoires de chaque poisson. Nous avons évalué les nageoires dorsale, pelviennes, pectorales et caudales. Nous avons remarqué que les 3 dernières nageoires présentaient peu de lésions ; nous nous sommes donc focalisés sur les lésions de la nageoire dorsale. Nous avons, lors de l'évaluation des nageoires, distingué une lésion cicatrisée d'une lésion vive selon l'Annexe 3. Pour réaliser la comparaison statistique de ce score de nageoire dorsale, nous avons donc comptabilisé l'évolution du nombre de lésions vives. En effet, les lésions vives relatent une lésion récente compatible avec une blessure entre individus ou dans les enrichissements.

Nous cherchons donc à modéliser le risque d'avoir un stade de gravité des lésions dorsales plus ou moins élevé. Nous cherchons également les facteurs de risque favorisant des lésions avec un score de 3 contre des lésions avec un score de 1 ou 2. Nous nous demandons aussi si les enrichissements ont pu être abrasifs ou provoquer des comportements agressifs entre les individus. A travers ce modèle nous allons comparer les conditions dans le temps.

Dans un premier temps nous avons réalisé un modèle linéaire mixte univarié pour la variable condition. Nous avons obtenu une p-value égale à 0,10 (<0,2 pour les modèle). La variable condition semble donc être un facteur de risque favorisant.

Nous avons réalisé la même chose pour la variable temps et nous avons montré qu'elle semblait être également un facteur de risque ($p\text{-value}=1,4^E-8$). Ensuite, à l'aide d'un modèle multivarié, nous avons montré qu'il n'existait pas d'interaction significative entre les variables « condition » et « temps » concernant les lésions de la nageoire dorsale. De plus, nous avons comparé les conditions deux à deux sans montrer de différence significative. Nous avons montré que le temps était un facteur de risque. En effet, le risque d'avoir une lésion vive et grave de la nageoire dorsale est différent et ce de manière significative pour les 3 temps de prélèvement. Ainsi, le temps T1 correspond au temps où le risque était le plus important, le temps T2 correspond au temps où le risque était le plus faible et le temps T3 est différent significativement des deux autres et intermédiaire.

Il n'y a pas de différence quant au risque d'avoir des lésions graves et vives de la nageoire dorsale entre les conditions. Nous avons montré que le temps influence ce risque. En effet, le risque baisse avec le temps (entre T1 et T2). Nous pouvons donc conclure que les

enrichissements n'ont pas favorisé de comportement agressif entre les individus et n'ont pas blessé les nageoires des poissons.

6. Analyse de la grille d'évaluation comportementale

L'évaluation du comportement des différents paramètres qui vont suivre a été réalisée à l'aide d'une grille d'évaluation du comportement en Annexe 5.

a. Temps d'habituation avant retour au comportement normal

Nous avons dans un premier temps évalué pour chaque bac (observé une fois par semaine pendant 7 semaines) le temps de retour au comportement normal après intervention de l'opérateur. C'est seulement après ce temps que le début de l'observation pouvait commencer afin de remplir la grille de manière optimale. Le temps de retour au comportement normal est présenté sur la Figure 48.

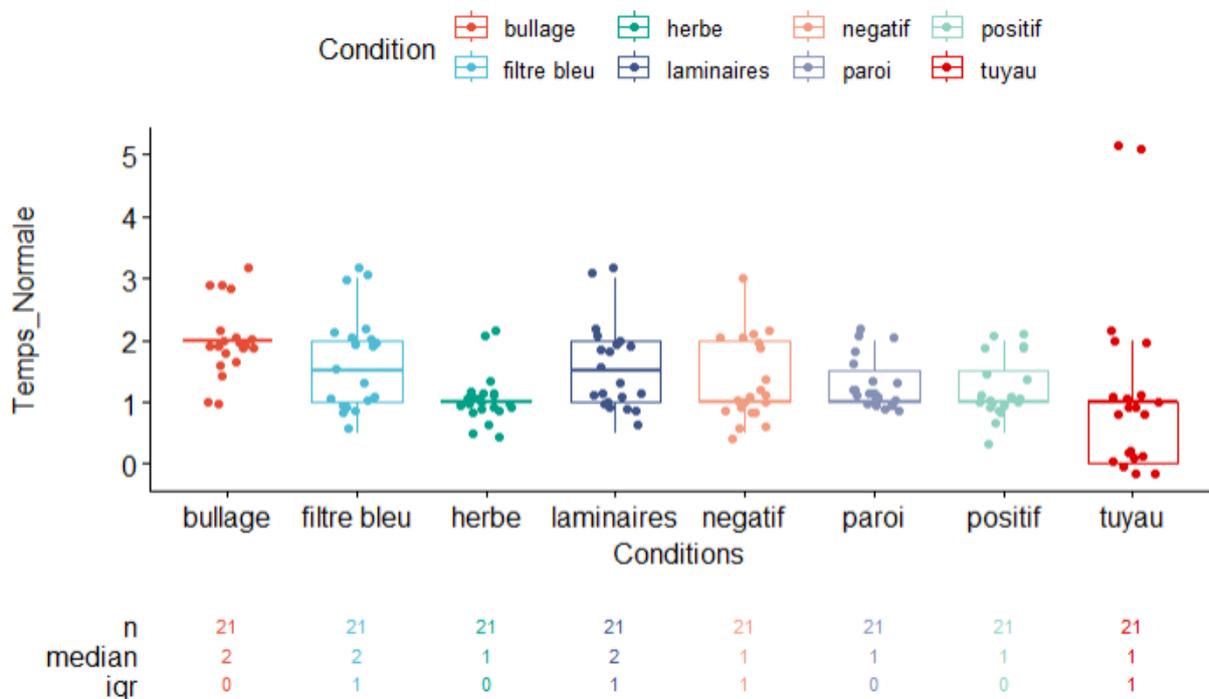


Figure 48 : Graphique en boîte à moustaches du temps de retour à un comportement normal en minutes par condition.

Il existe des différences significatives entre les conditions concernant le temps pour retrouver un comportement normal ($p\text{-value}=7,6^E-06$). En effet, la condition « bullage » présente la valeur la plus élevée de temps de retour à la normale et ce de manière significative par rapport aux conditions « herbe », « paroi », « tuyau » et aux témoins. Nous pouvons donc conclure que la condition « bullage » comprend des individus plus sensibles à l'intervention d'un opérateur. Cela peut s'expliquer par le fait que, lors de l'observation, l'opérateur était obligé de couper le bullage (leur enrichissement) afin de les observer. Ceci constitue donc un élément de stress supplémentaire aux autres conditions qui peut occasionner un temps de retour à la normale plus long. De plus, il s'agit des individus de la condition « tuyau » qui ont un temps

de retour à la normale le plus faible. En effet, lors de l'observation le plus souvent ils réagissaient très peu car ils étaient cachés dans l'enrichissement et ne voyaient pas forcément l'opérateur.

b. Indicateurs comportementaux (phase 1)

i. Activité de nage

- Nage active et nage stagnante

Nous avons ensuite évalué le pourcentage d'individus qui nagent de manière active ou non. La nage stagnante s'exprime en fonction de la nage active ($100\% - \% \text{Nage active}$). Nous nous intéressons à un seul des deux paramètres ici (Annexe 13, Figure 49).

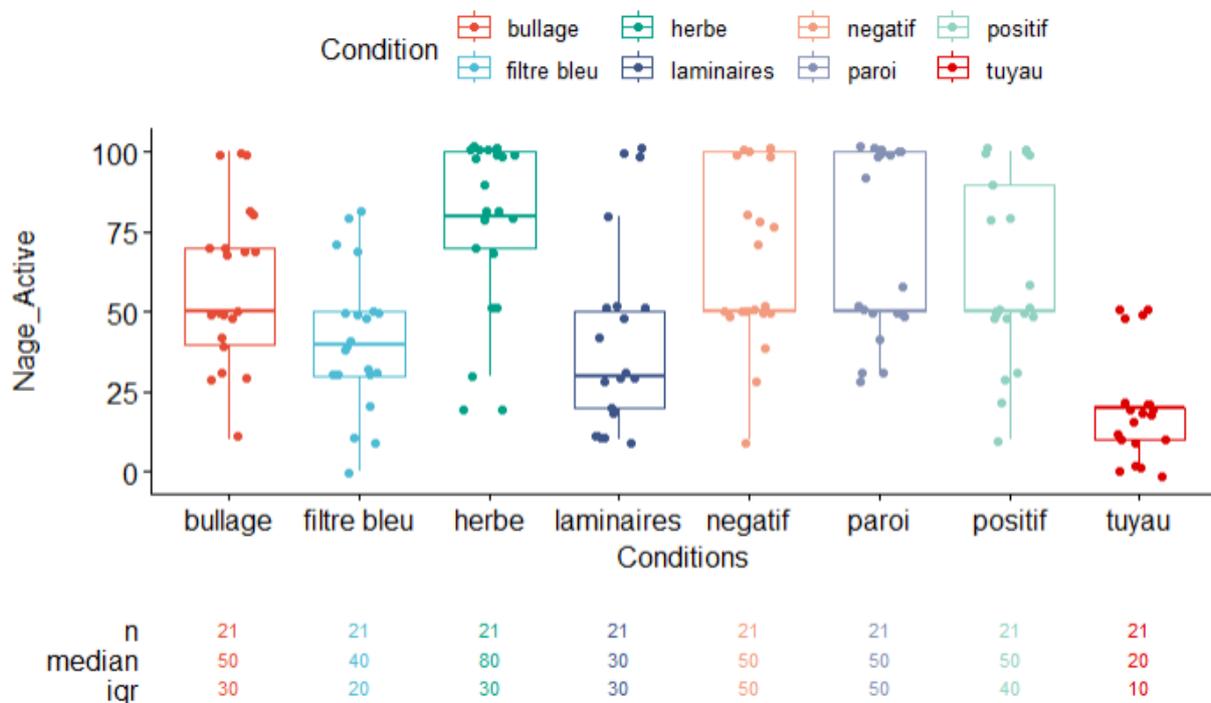


Figure 49 : Graphique en boîte à moustaches du pourcentage de nage active par condition.

Le pourcentage de nage active était différent entre certaines conditions ($p\text{-value}=1,2 \times 10^{-9}$). En effet, les conditions « bullage », « paroi », et « herbe » et les témoins diffèrent de manière significative avec la condition « tuyau » qui présente un pourcentage de nage active le plus faible. Cela s'explique par le fait que les individus de la condition « tuyau » étaient le plus souvent statiques et cachés dans l'enrichissement « tuyau » donc ils nageaient très peu. Nous détaillerons par la suite l'utilisation des enrichissements des différentes conditions.

La condition « herbe » diffère également de manière significative avec la condition « laminaires ».

- Activité du bac

Nous avons défini le terme d'activité comme étant le reflet de l'agitation ou non des poissons dans le bac. Elle peut prendre la valeur 1 si les animaux sont calmes, 3 si les animaux sont agités et 2 s'il s'agit d'un état intermédiaire entre les deux premiers (Tableau 9).

Tableau 9 : Activité du bac (en pourcentage par catégorie).

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Activité = 1	81,0%	66,7%	57,1%	95,3%
Activité = 2	19,0%	33,3%	42,9%	4,7%
Activité = 3	0%	0%	0%	0%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Activité = 1	0%	42,9%	33,3%	47,6%
Activité = 2	4,7%	47,6%	61,9%	33,3%
Activité = 3	95,3%	9,5%	4,8%	19,1%

Nous constatons une hétérogénéité dans les résultats. En effet, il s'agit de la condition « bullage » qui présente la part la plus importante d'activité notée à 3. Ce sont donc les poissons les plus agités à l'observation. Ce sont les conditions « tuyau » et « laminaires » qui ont la part la plus importante d'activité notée à 1. Il s'agit donc des poissons observés les plus calmes mais cela n'a pas été montré statistiquement.

ii. Orientation de la nage

Nous avons ensuite évalué l'orientation de la nage des poissons. Nous avons essayé de voir s'il existe une orientation et une structuration de la nage entre les individus. Ce paramètre prenait la valeur 1 pour une nage désorientée et 0 sinon (Tableau 10).

Tableau 10 : Orientation de la nage.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Nage désorientée : 1	100%	100%	100%	100%
Sinon 0 :	0%	0%	0%	0%

Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Nage désorientée : 1	100%	100%	100%	100%
Sinon 0 :	0%	0%	0%	0%

Nous n'avons pas constaté de nage orientée durant les 7 semaines d'observation chez toutes les conditions. Cela peut être dû à l'absence de courant suffisamment important pour induire une nage orientée chez les individus.

iii. Comportement de banc

- Répartition hétérogène en groupe

Nous avons ensuite évalué le nombre de groupes présents au sein d'un bac. Nous présentons le pourcentage occupé par le groupe le plus grand. Si ce pourcentage est de 100% cela veut dire qu'il n'y avait qu'un seul groupe (Tableau 11).

Tableau 11 : Pourcentage de répartition du banc dans deux groupes par condition.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Groupe 1 (%)	100%	98,3%	100%	68,6%
Groupe 2 (%)	0%	1,7%	0%	32,4%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Groupe 1 (%)	100%	100%	100%	100%
Groupe 2 (%)	0%	0%	0%	0%

Nous constatons que, dans toutes conditions sauf « tuyau » et « laminaires », le banc de poissons au sein d'un bac n'est pas partagé. La condition « laminaires » montre un résultat élevé dans le groupe 1 ce qui suggère que quelques fois le groupe était hétérogène. Par contre, dans la condition « tuyau », le banc de poissons était toujours partagé en deux groupes : un groupe majoritaire en nombre dans les tuyaux et un deuxième groupe minoritaire un peu plus agité dans une autre partie du bassin. Nous pouvons donc nous demander si la mise en place d'enrichissements peut favoriser de la compétition pour ces derniers. En effet, les quelques poissons à côté des tuyaux étaient peut-être en compétition avec les autres dans l'enrichissement pour avoir une place dans les tuyaux.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la position des poissons dans la colonne d'eau selon l'enrichissement mis en place (Tableau 12).

Tableau 12 : Pourcentage de répartition des animaux dans les zones du bacs par condition.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Fond	80,9%	52,4%	28,6%	95,2%
Milieu	0%	14,3%	33,3%	0%
Fond-Milieu	19,1%	33,3%	38,1%	4,8
Milieu-Surface	0%	0%	0%	0%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Fond	57,1%	9,5%	38%	47,6%
Milieu	0%	4,8%	14,3%	14,3%
Fond-Milieu	42,9%	80,9%	42,9%	38,1%
Milieu-Surface	0%	4,8%	4,8%	0%

Nous constatons que dans la majorité des conditions les poissons se situent dans le fond et/ou au milieu de la colonne. Nous avons très rarement observé des poissons en surface. Les enrichissements mis en place ne semblent pas influencer la position des poissons dans la colonne d'eau.

- Répartition horizontale

Nous avons ensuite évalué la position horizontale des poissons. En effet, nous avons noté à chaque observation s'ils étaient plutôt au centre du bassin, sur les bords ou bien répartis sur l'ensemble de la surface (Tableau 13).

Tableau 13 : Pourcentage de répartition horizontale par condition.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Bord du bassin	0%	4,8%%	0%	95,2%
Centre du bassin	9,5%	0%	4,8%	0%
Répartis sur l'ensemble de la surface	90,5%	95,2%	95,2%	4,8%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Bord du bassin	4,8%%	23,8%	0%	0%
Centre du bassin	4,8%	0%	0%	9,5%
Répartis sur l'ensemble de la surface	90,4%	76,2%	100%	90,5%

Nous constatons que, pour l'ensemble des conditions, mis à part « tuyau », les poissons sont bien répartis sur l'ensemble de la surface. Pour la condition « tuyau », l'élément d'enrichissement était sur le bord du bassin et comme l'enrichissement était beaucoup sollicité alors cela donne une répartition au bord du bassin. Cette répartition est donc liée directement à l'emplacement de l'enrichissement.

iv. Répartition dans les enrichissements

Nous avons ensuite analysé la répartition des poissons dans les enrichissements. Nous avons commencé par évaluer la répartition dans le tube PVC proposé à tous les poissons sauf ceux du témoin positif.

- Répartition dans le tube PVC

Les résultats en pourcentage d'utilisation par rapport au banc sont présentés dans la Figure 50 et l'Annexe 13.

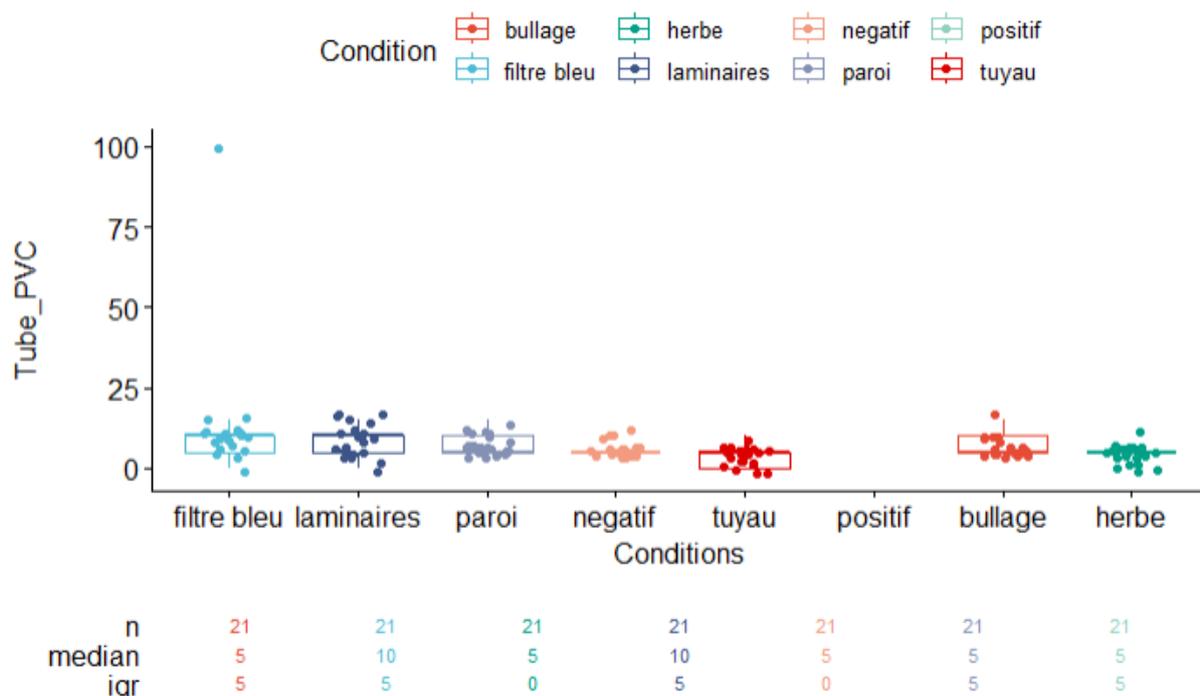


Figure 50 : Graphique en boîte à moustaches représentant le pourcentage d'utilisation du tube de PVC par condition.

Nous constatons qu'il existe des différences significatives ($p\text{-value}=4,8^E-15$) au sein des conditions concernant l'utilisation du tube de PVC. En effet, le témoin positif diffère de manière significative en terme d'utilisation du tube PVC de toutes les conditions sauf la condition « tuyau ». Cela paraît cohérent car le témoin positif n'avait pas à disposition de tube PVC. Nous pouvons donc en conclure que toutes les conditions utilisent plus ou moins le tube de PVC sauf la condition « tuyau » qui ne l'utilise pas ou très peu. Cela peut s'expliquer par le fait que la condition « tuyau » avait à sa disposition des tuyaux plus grands (diamètre de 160 mm) en caoutchouc. Il semblerait que ce genre de tuyaux soient plus attrayants que ceux en PVC (diamètre 100 mm). Il existe également une différence significative entre la condition « filtre bleu » qui est la plus élevée et les conditions « herbe », « tuyau » et « positif ». La condition « laminaires » est plus élevée et ce de manière significative par rapport aux conditions « tuyau » et « positif ». Enfin, les deux témoins diffèrent l'un de l'autre de manière significative. Ces résultats montrent qu'il y a une réelle utilisation du tube de PVC pour certaines conditions alors que d'autres comme « tuyau » ne l'utilisent pas du tout.

La comparaison de l'utilisation de l'enrichissement « tube de PVC » par condition est intéressante mais ce n'était pas l'objectif premier. En effet, nous cherchions à évaluer l'utilisation globale du tuyau en PVC. Nous avons donc calculé une moyenne globale sans compter le témoin positif dépourvu de cet enrichissement. Nous avons montré que 6,9% de l'ensemble du bac utilisent en moyenne le tube de PVC à un moment T. Nous notons un écart type élevé de 8,6% qui montre une hétérogénéité dans l'utilisation du tube PVC selon les bacs.

Finalement, nous avons montré que le tube de PVC est un début d'enrichissement intéressant pour les poissons. En effet, pour un banc de 30 poissons, en moyenne 2 individus vont l'utiliser ce qui correspond quasiment à sa capacité maximale.

- Répartition dans les enrichissements propres aux conditions

Ensuite, nous nous sommes intéressés à l'utilisation des enrichissements dans les différentes conditions. Tout d'abord dans la condition « filtre bleu », le filtre était placé sur le bac donc l'enrichissement leur était imposé. L'évaluation de son utilisation n'était pas possible donc nous l'avons mis à 0%. Ensuite, pour l'observation de la condition « bullage » il était nécessaire de couper les bulles pour observer les poissons, donc il était impossible d'évaluer l'utilisation de l'enrichissement, nous l'avons mis à 0% également. Ensuite, les deux témoins n'avaient pas d'enrichissement propre à leur condition donc ils sont également à 0% (Figure 51).

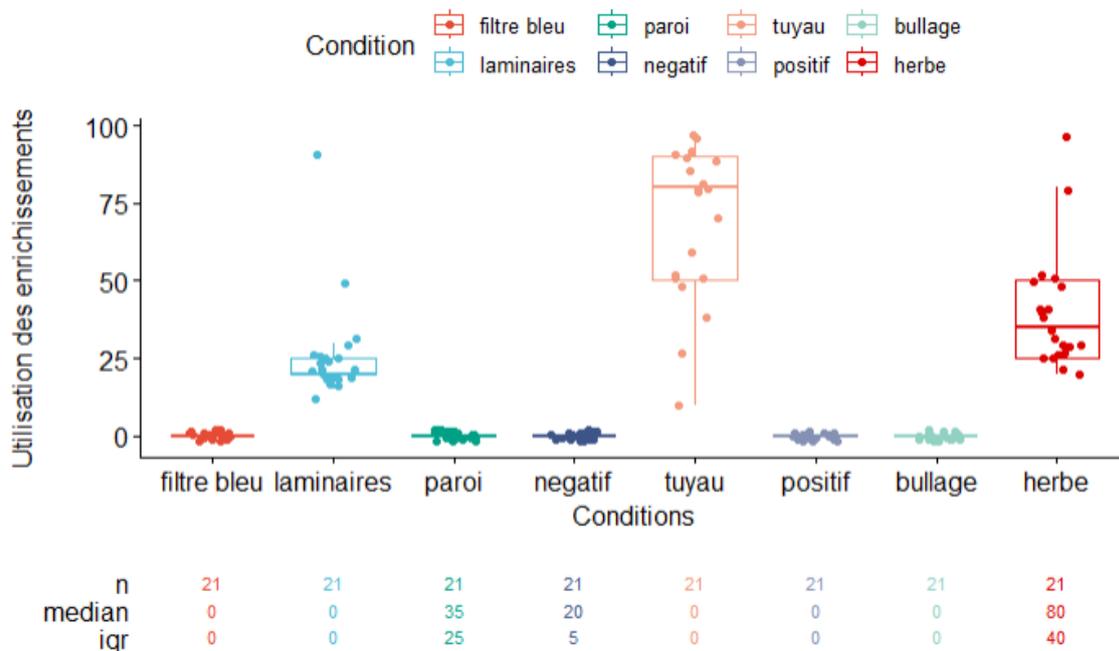


Figure 51 : Graphique en boîte à moustaches des pourcentage d'utilisation des enrichissements par condition.

Il existe des différences significatives d'utilisation des enrichissements entre les conditions (p -value=2,2^{E-16}). Tout d'abord il n'y a pas de différence entre les conditions « filtre bleu », « paroi », « négatif », « positif » et « bullage ». A partir de ce résultat, nous pouvons en conclure que les poissons de la condition « paroi » n'ont pas du tout utilisé la paroi en caoutchouc mise en place. Il n'y a pas de différence entre les conditions « tuyau », « herbe » et « laminaires ». Il existe des différences significatives entre les conditions des deux groupes décrits précédemment. Cela montre qu'il existe une réelle utilisation significative des enrichissements mis en place, notamment pour les tuyaux en caoutchouc, les laminaires et le

tapis d'herbe. Nous constatons toutefois qu'il s'agit des tuyaux en caoutchouc qui occasionnent une utilisation de l'enrichissement la plus élevée.

Nous avons ensuite constaté au fur et à mesure des observations que les enrichissements « laminaires » et « herbe » étaient plus des enrichissements de passage c'est-à-dire des enrichissements où les poissons passent mais n'y restent pas forcément. Nous avons donc évalué le nombre de passages de poissons dans les laminaires ou sous le tapis d'herbe (dans la zone d'ombre) en une minute.

Nous avons montré qu'en moyenne 36 individus passent sous le tapis d'herbe en une minute et que 19 individus passent dans les laminaires en une minute. Cela montre que ces deux enrichissements sont des enrichissements de passage même si les poissons peuvent y rester de temps à autre.

c. Indicateurs comportementaux (phase 2)

i. Indicateurs classiques

Les indicateurs classiques d'évaluation du comportement sont les sauts, les accélérations brusques, les déséquilibres de la vessie natatoire, les comportements agressifs, l'hyperventilation en surface et la prostration. Parmi ces derniers, nous n'avons jamais constaté de déséquilibre de la vessie natatoire, d'hyperventilation en surface et de prostration. Ces indicateurs ne seront pas détaillés car il n'y a pas de différence entre les conditions. Ensuite, pour les indicateurs « sauts » et « comportements agressifs » nous en avons observé que très peu, ce qui ne permet pas de conclure sur des différences entre les conditions. Nous allons donc nous focaliser sur les accélérations brusques qui ont été observées de nombreuses fois (Figure 52).

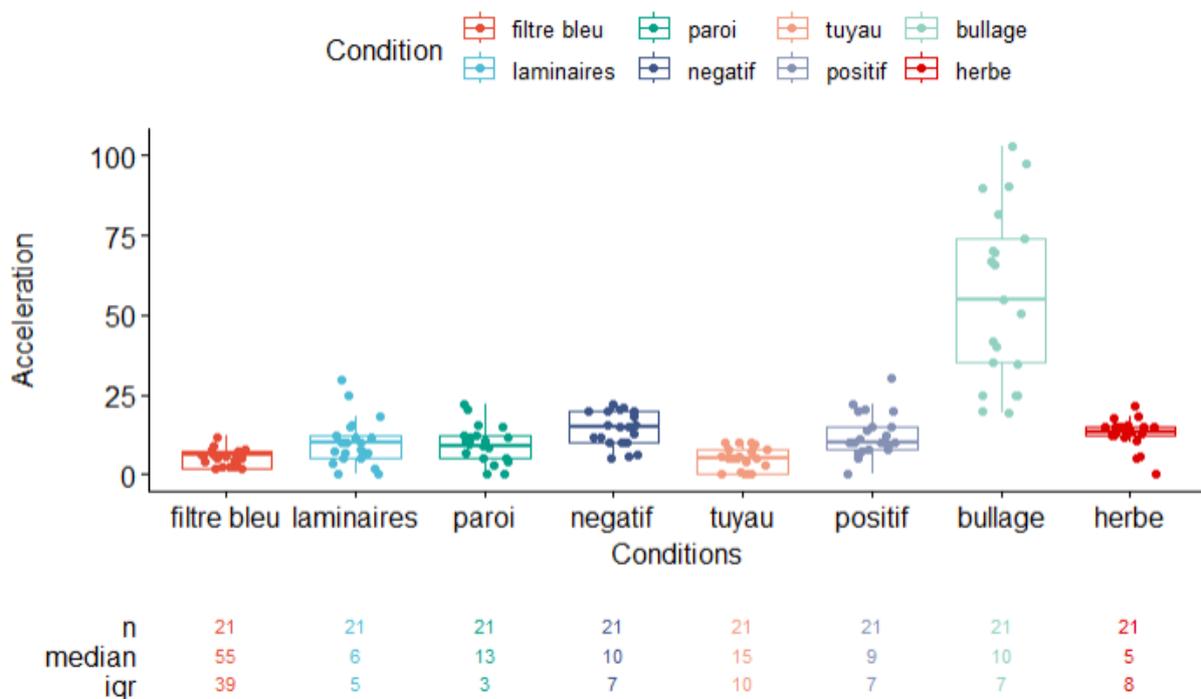


Figure 52 : Graphique en boîte à moustaches de la moyenne par condition du nombre d'accélérations brusques.

Il existe des différences significatives concernant le nombre d'accélération brusques entre les différentes conditions ($p\text{-value}=2,2\text{E-}16$). Tout d'abord, nous constatons que la condition « bullage » présente le plus d'accélération et diffère de manière significative de toutes les autres conditions. Cela peut s'expliquer par la coupure du bullage lors de l'observation qui constitue un élément de stress chez les poissons. La condition « tuyau » présente la moyenne du nombre d'accélération la plus faible et diffère de manière significative par rapport aux conditions « herbe », « négatif » et « positif ». La condition « filtre bleu » présente également une moyenne faible d'accélération et diffère de manière significative par rapport aux conditions « herbe », « négatif » et « positif ». Les conditions « tuyau » et « filtre bleu » sont donc des conditions où les poissons réalisent moins d'accélération brusques que les témoins. Ils sont donc moins stressés lors de l'observation.

ii. Comportements stéréotypés

Les comportements stéréotypés sont la nage verticale, la nage sur le flanc et le frottement des lèvres ou des flancs sur les parois du bac. Nous n'avons pas constaté de comportements stéréotypés lors de toutes les observations. Nous ne pouvons pas conclure sur des différences entre les conditions concernant les comportements stéréotypés. Les différents enrichissements n'ont donc pas favorisé de comportements stéréotypés.

iii. Comportement alimentaire

Nous avons également évalué le comportement alimentaire à travers deux paramètres : la prise alimentaire et l'approche vers l'opérateur lors de la distribution.

Au cours de toutes les observations, nous avons toujours constaté une bonne prise alimentaire des poissons ainsi qu'une approche vers l'opérateur lors de la distribution. Les différents enrichissements n'ont donc pas altéré les comportements alimentaires des poissons.

iv. Caractéristiques physiques

Les caractéristiques physiques sont une couleur anormale, une conformation anormale (gonflés ou maigre) et des yeux anormaux. Nous avons constaté que très peu de fois ces caractéristiques. Nous présentons dans le tableau le nombre de fois par condition que ces caractéristiques ont été observées sans pouvoir conclure sur le fait qu'un enrichissement aurait pu favoriser une dégradation des caractéristiques physiques (Tableau 14).

Tableau 14 : Occurrence des caractéristiques physiques par condition sur l'ensemble des conditions.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Couleur anormale	1	0	2	0
Conformation anormale	0	0	0	0
Yeux anormaux	0	0	0	0
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Couleur anormale	0	2	0	0
Conformation anormale	0	0	0	0
Yeux anormaux	0	1	0	0

v. Morbidité et mortalité

Nous avons également évalué la mortalité et la morbidité sur l'ensemble des 2 mois d'expérience (Tableau 15).

Tableau 15 : Nombre de morts ou morbides sur l'ensemble des 2 mois d'expérience.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Morts	0	0	1	1
Morbides	0	0	0	0
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Morts	1	1	0	0
Morbides	0	0	0	0

Nous constatons un faible nombre de morts lors des 2 mois d'expérience et une absence de poissons morbides. Les enrichissements n'ont donc pas favorisé une mortalité plus élevée ou une morbidité plus élevée que la normale.

5. Résultats du challenge infectieux

A la suite des deux mois d'observation et d'évaluation des effets des enrichissements sur les poissons, nous avons réalisé un challenge infectieux avec la bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida* afin de s'intéresser à la robustesse des poissons suite à la mise en place d'enrichissements dans leur milieu d'élevage. L'introduction de la bactérie a été réalisée par balnéation pendant 24 heures à une concentration de 10^6 CFU/mL (Moreau et al. 2023). Le challenge s'est déroulé pendant une période de 10 jours. Pendant cette période, les poissons ont été observés deux fois par jour. Nous présentons ici les résultats de la grille d'observation (Annexe 6).

a. Taux de mortalité et taux de morbidité par condition

Nous avons calculé le taux de mortalité et de morbidité de chaque condition. Nous avons ensuite calculé le taux d'incidence de la maladie qui correspond au nombre d'individu nouvellement malade sur une période. Nous considérons que les individus morts sont passés par une phase de maladie (présentant des symptômes) avant de mourir. Par définition, les individus morbides présentent des symptômes de la maladie. Le taux d'incidence correspond donc à la somme des individus morts et morbides par condition divisée par le nombre total d'individus par condition (Annexe 14).

$$\text{Taux d'incidence} = \frac{\sum(\text{morts}) + \sum(\text{morbides})}{\sum(\text{individus})}$$

La Figure 53 présente la somme des animaux morts ou morbides en (1) et l'effectif des survivants en (2). La colonne pour les témoins du challenge est plus épaisse car il n'y a pas eu de mort. Elle est également plus faible en effectif car il n'y avait que 15 poissons contre 45 pour chaque condition. La condition « témoin » en abscisse correspond au témoin du challenge c'est-à-dire où aucune bactérie n'a été introduite dans le bac. Les conditions « positif » et « négatif » correspondent aux témoins en terme d'enrichissement c'est-à-dire sans enrichissement surnuméraire.

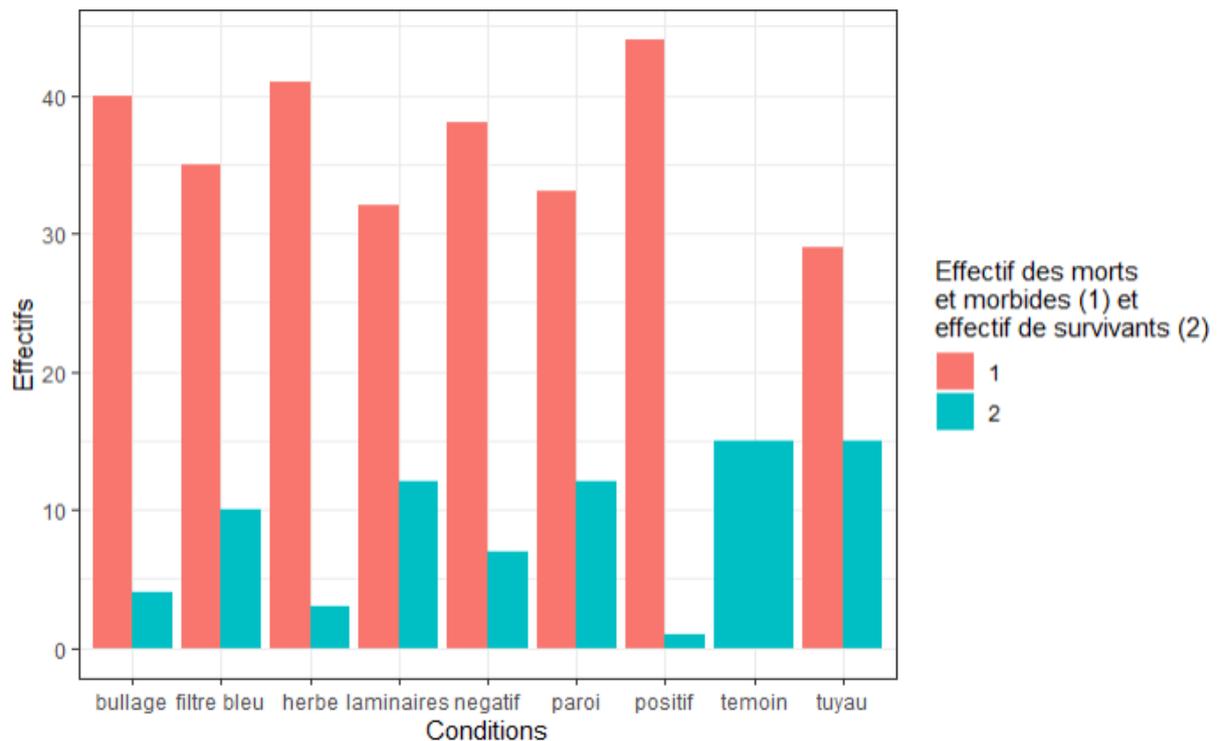


Figure 53 : Effectifs des animaux atteints par la maladie (1) et effectifs des survivants (2).

Le taux de mortalité total du challenge est de 63,2%, le taux de morbidité est de 18,8%, le taux d'incidence est de 82,0% et enfin le taux de survie est de 18,0%. Les 15 individus du lot témoin (sans introduction de la bactérie) n'ont pas été comptés pour ces calculs.

Nous avons ensuite comparé la mortalité entre les différentes conditions en réalisant un modèle de régression logistique pénalisée. Nous avons réalisé un modèle uni varié avec la variable traduisant l'incidence de la maladie par condition. Nous avons montré qu'il existait des différences entre les conditions ($p\text{-value}=5,5\text{E-}13$).

Tout d'abord, nous avons obtenu des résultats attendus. En effet, le témoin (sans bactérie) du challenge est différent significativement de toutes les conditions sauf « tuyau » et « paroi » qui présentent des valeurs de mortalité faibles. Il existe ensuite une différence significative de mortalité entre le témoin positif et la condition « tuyau » ($p\text{-value}=0,048$). L'enrichissement avec des tuyaux en caoutchouc a permis de limiter la mortalité des poissons par rapport au témoin positif qui présente la mortalité la plus élevée.

b. Cinétique de mortalité et morbidité par condition

Nous avons ensuite réalisé une étude de survie. En effet, les taux précédemment décrits ne nous donnent pas d'information de cinétique. C'est pourquoi une étude de survie nous a permis de voir s'il y avait des différences de mortalité dans le temps selon les conditions.

Nous avons donc créé deux variables supplémentaires pour réaliser l'étude de survie : une variable temps, qui compte le nombre de jours avant la mort de l'animal et une variable

binaire « évènement » qui traduit la mort ou non de l'animal. Nous avons obtenu une p-value égale à 3^E-10 ; il y a donc des différences de cinétique de mortalité entre les conditions.

Tout d'abord, le lot témoin du challenge infectieux n'a pas présenté de mortalité et sa cinétique est donc différente significativement de toutes les autres conditions. La bactérie introduite est donc responsable de la mort des animaux. Ensuite, la condition bullage présente une cinétique plus importante et ce de manière significative par rapport aux conditions « laminaires », « paroi » et « tuyau ». Les conditions « filtre bleu », « laminaires », « tuyau » et « paroi » sont différentes significativement du témoin positif. Cela suggère que ces conditions ont permis une réduction de la cinétique de mortalité. La condition « tuyau » possède la cinétique la plus faible. Elle est différente significativement des conditions « bullage », « herbe », du témoin positif et du témoin du challenge. Cette condition constitue un élément d'enrichissement intéressant pour réduire une cinétique de mortalité.

La Figure 54 met en avant les différences entre les conditions. Une p-value < 0,05 correspond à une différence significative entre deux conditions.

Pairwise comparisons using Log-Rank test							
data: BDD_CI and Condition							
	bullage	filtre bleu	herbe	laminaires	negatif	paroi	positif
filtre bleu	0.26623	-	-	-	-	-	-
herbe	0.59242	0.55307	-	-	-	-	-
laminaires	0.04124	0.46619	0.14916	-	-	-	-
negatif	0.46619	0.68604	0.75109	0.20574	-	-	-
paroi	0.00496	0.16578	0.01082	0.53486	0.05980	-	-
positif	0.46619	0.07284	0.13779	0.00483	0.13779	4.0e-05	-
témoin	6.0e-08	1.2e-05	3.7e-08	4.0e-05	1.4e-06	4.0e-05	1.4e-09
tuyau	0.00499	0.14860	0.01448	0.46619	0.05262	0.79871	0.00017

Figure 54 : Différences significatives entre les conditions concernant la cinétique de mortalité.

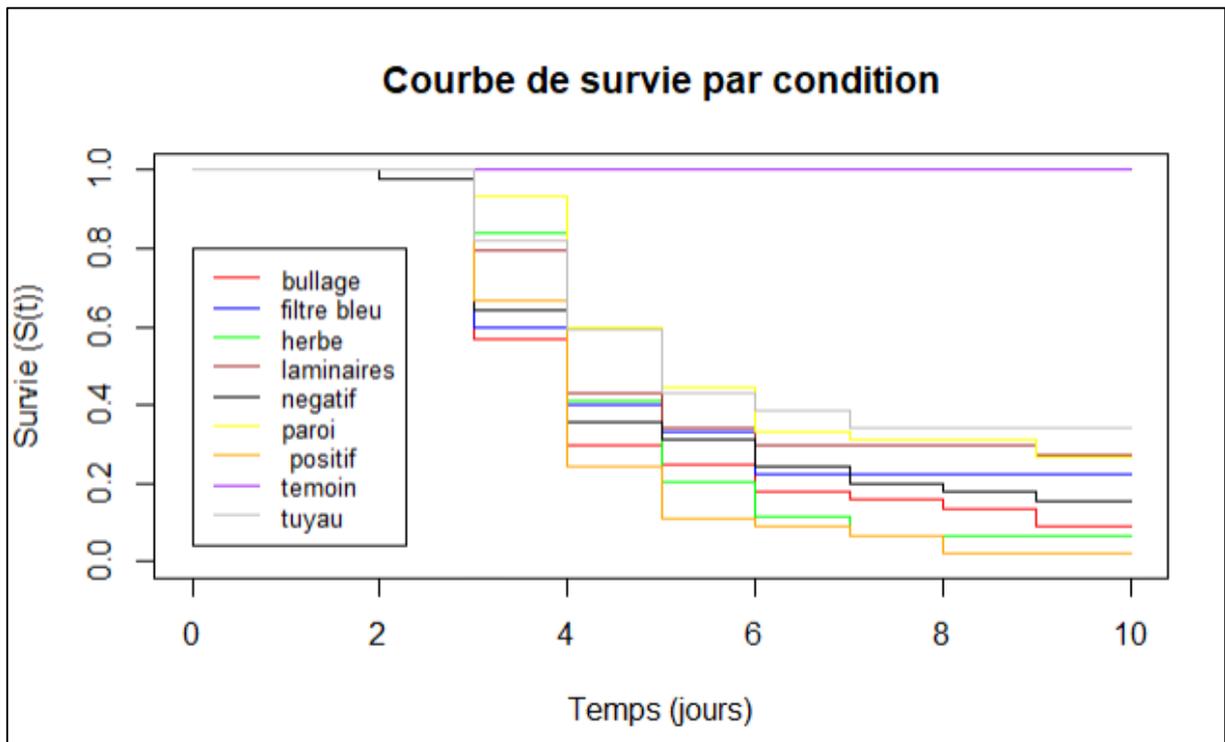


Figure 55 : Courbe de survie par condition.

La courbe de survie de la Figure 55 met en avant les résultats précédents à savoir en violet le témoin du challenge où il n’y a pas eu de mort et le témoin positif en orange (en terme d’enrichissement) qui présente la cinétique la plus importante.

c. Taux de présence de furoncles sur les morts/morbides et taille moyenne des furoncles

Nous avons ensuite détaillé quelques symptômes externes de la maladie à savoir les furoncles et les pétéchies. Les pétéchies ont été retrouvés sur une grande majorité des poissons, les furoncles ont moins été observés. Parmi les individus présentant des furoncles, nous avons calculé la taille moyenne des furoncles par condition (Tableau 16).

Tableau 16 : Taux de présence de furoncles sur les morts/morbides et taille moyenne des furoncles.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taux de présence de furoncle	5,7%	6,3%	6,0%	10,3%
Taille moyenne des furoncles	< 0,3 cm ²	0,8 cm ²	0,3 cm ²	4,0 cm ²
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taux de présence de furoncle	7,5%	7,3%	7,9%	6,8%
Taille moyenne des furoncles	0,6 cm ²	0,2 cm ²	0,4 cm ²	2,7 cm ²

La moyenne du taux de présence de furoncles est de 7,2% parmi les individus morts ou morbides. Nous constatons que les individus de la condition « tuyau » présentent plus de furoncles et de plus grosse taille. Cela ne les rend pas forcément plus malade. De plus, nous avons également noté quand nous observions un furoncle perforant. Or, aucun n'a été observé lors de l'expérience.

Nous avons constaté que les pétéchies étaient un symptôme retrouvé sur la majorité des poissons malades ou morts. Nous pouvons voir sur la Figure 56 un exemple d'un poisson mort présentant ce symptôme. Nous avons également vu un poisson avec une exophtalmie unilatérale (Figure 57).



Figure 56 : Photographie d'un poisson présentant des pétéchies.



Figure 57 : Photographies d'un poisson présentant une exophthalmie unilatérale.

d. Taux de présence de rate hypertrophique et de tube digestif hémorragique sur les morts/morbides

Nous nous sommes ensuite intéressés aux symptômes internes visibles lors de l'autopsie à savoir une splénomégalie et un tube digestif hémorragique (Tableau 17).

Tableau 17 : Taux de présence de rate hypertrophique et de tube digestif hémorragique sur les morts/morbides.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taux de rate hypertrophique	60,0%	93,8%	78,8%	89,3%
Taux de tube digestif hémorragique	85,7%	100%	100%	100%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taux de rate hypertrophique	72,5%	65,9%	65,8%	72,3%
Taux de tube digestif hémorragique	97,5%	95,1%	85,7%	93,2%

Nous avons calculé le taux de rate hypertrophiée moyen parmi les individus malades ; il est de 73,9%. Il est de 12,7% pour les individus survivants au challenge. Cela montre que les individus survivants ont eu une hypertrophie réactionnelle de la rate suite à l'agent pathogène. Le taux de présence d'un tube digestif hémorragique parmi les individus malades est de 94,9% alors qu'il est de 19,0% pour les individus survivants. Cette analyse des symptômes n'a pas pour but de montrer de différence entre les conditions mais plutôt de montrer que la splénomégalie et le tube digestif hémorragique sont des symptômes très présents de la maladie de la furonculose.

e. Taux de bactériologie positive à la bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida* sur l'ensemble des morts/morbides et des survivants

Pour chaque individu, nous avons réalisé une bactériologie afin de voir si l'agent pathogène à incriminer était bien *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida*.

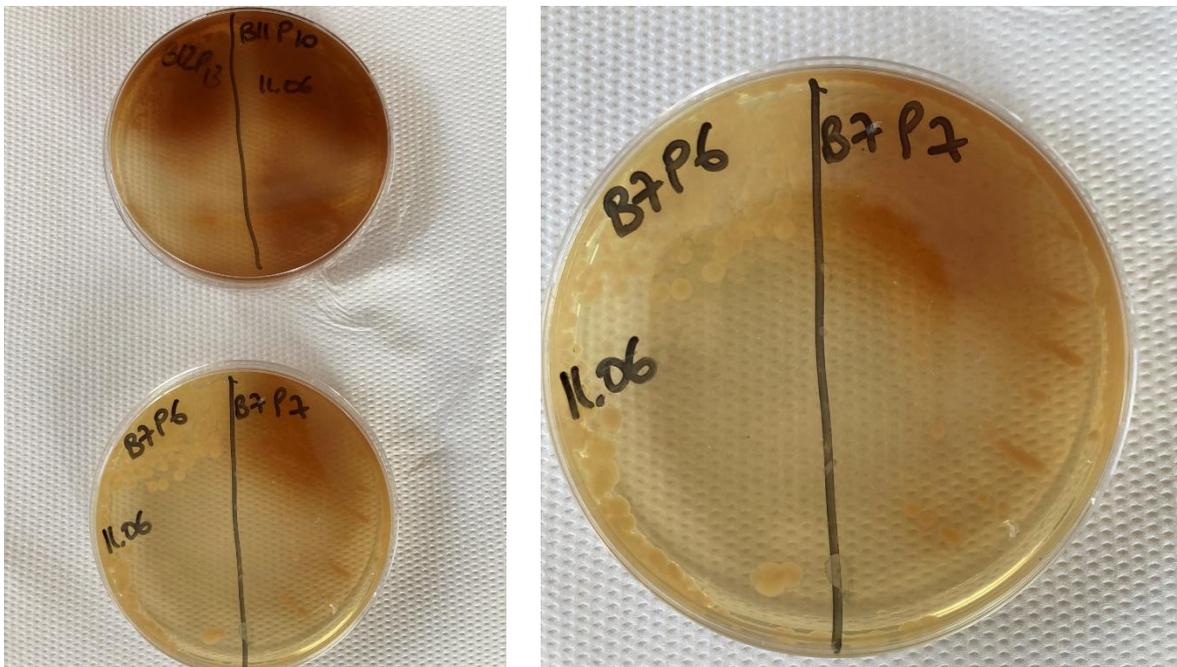


Figure 58 : Photographie de deux boîtes TSA ayant mis en culture à partir d'échantillon de rate de poissons.

Nous pouvons voir sur la Figure 58 deux boîtes TSA. Chaque boîte a été partagée pour deux poissons et la date de mise en culture a été notée. Pour la boîte du haut, nous constatons un halo marron caractéristique de la bactérie *Aeromonas salmonicida sub. salmonicida*. Les individus B12P13 et B11P10 sont donc positifs à cette bactérie. Pour la boîte du bas (zoomée) nous constatons le halo marron pour l'individu B7P7, il est donc positif à la bactérie. Or l'individu B7P6 ne présente pas ce halo soit l'incubation à l'étuve n'a pas été assez longue (2-3 jours) et nous avons relu la boîte 24h après, soit le temps d'incubation était correcte et l'individu a été considéré négatif à la bactérie.

Tableau 18 : Taux de bactériologie positive à *Aeromonas salmonicida* sub. *salmonicida* parmi les individu morts ou morbides.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taux de bactériologie positive des morts/morbides	97,1%	96,8%	93,8%	100%
Taux de bactériologie positive des survivants	0%	0%	8,3%	20,0%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taux de bactériologie positive des morts/morbides	100%	95,1%	94,7%	97,7%
Taux de bactériologie positive des survivants	0%	0%	16,7%	100%

Le taux de bactériologie positive moyen est de 96,8% parmi les individus morts ou morbides. Il est de 7,7% pour les survivants. A partir de ces données nous pouvons recalculer un réel taux d'incidence de la maladie. Nous avons multiplié le taux d'incidence du tableau de l'Annexe 14 par le taux de bactériologie positive du Tableau 18 afin d'avoir le réel taux d'incidence de la maladie (Tableau 19).

Tableau 19 : Réel taux d'incidence de la maladie.

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taux d'incidence	75,5%	70,4%	68,8%	65,9%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taux d'incidence	90,9%	88,6%	79,9%	95,6%

Nous constatons que les résultats sont relativement similaires au tableau de l'Annexe 14 en raison du taux important de bactériologie positive.

III. Discussion

1. Les éléments d'enrichissement

Nous allons tenter de distinguer parmi les conditions mises en place, des enrichissements encourageants ou non pertinents à partir des données de comportements, des performances de croissance, des résultats des marqueurs de stress et des résultats du challenge infectieux. Parmi les enrichissements mis en place, nous avons le bullage, les laminaires, le filtre bleu, les parois en caoutchouc et le tapis d'herbe flottant. Les deux témoins nous permettent de comparer chaque condition à une situation neutre, sans enrichissement surnuméraire (le témoin négatif) et à une situation stressante, sans enrichissement et avec des manipulations stressantes (le témoin positif).

a. Des enrichissements non pertinents

i. Performances de croissance

D'un point de vue des performances de croissance, aucun enrichissement n'est à éliminer. En effet, les résultats de poids et de taille n'ont montré aucune différence significative entre les conditions aux trois temps différents. De plus, la modélisation à partir d'une régression logistique pour le poids et la taille n'a pas montré d'interaction entre les variables « condition » et « temps » concernant la variable « poids » d'un côté et la variable « taille » d'un autre. Cela montre que le poids et la taille n'ont pas été influencés par les conditions au cours du temps.

ii. Comportement des poissons et utilisation des enrichissements

D'un point de vue du comportement, nous avons montré et ce de manière significative que les individus avec l'enrichissement « bullage » étaient plus sensibles à l'intervention d'un opérateur avec un temps de retour du comportement à la normale élevée. Ce résultat peut être critiqué. En effet lors de l'observation de cette condition, il était nécessaire de couper le bullage et donc d'une certaine manière de supprimer l'enrichissement de manière temporaire ce qui a sûrement provoqué un stress chez les individus. Ce stress se retrouve pour cette condition sur d'autres paramètres évalués au cours des observations comme l'activité de nage du bac et le nombre d'accélération brusques. Nous avons montré que dans 95,3% les individus de la condition « bullage » présentent une activité égale à 3 donc les animaux sont agités. De plus, le nombre d'accélération brusques est significativement plus élevé que toutes les autres conditions. Ces résultats montrent que les individus de cette condition d'un point de vue comportement sont plus stressés et plus agités au moment de l'observation par l'opérateur. Cependant, avec la suppression de l'enrichissement pendant l'observation, nous ne pouvons pas dire que ces résultats soient imputables à l'enrichissement en lui-même. Il serait intéressant de mettre en place un système d'observation du type caméra dans l'eau pour observer les poissons sans avoir à couper le bullage.

La paroi en caoutchouc n'a pas du tout été utilisée par les poissons. Les critères d'observation de l'utilisation de cet enrichissement résidaient dans le fait soit qu'ils s'y frottaient soit qu'ils y restaient collés. Nous n'avons pas observé ces critères. En effet,

l'utilisation de cet enrichissement n'est pas différente significativement des deux témoins qui ne présentaient pas d'enrichissement. Cet enrichissement n'est donc pas pertinent.

iii. Marqueurs de stress

D'un point de vue des résultats des marqueurs de stress et notamment la glycémie, aucun enrichissement n'est à éliminer car aux 3 temps de prélèvement nous n'avons pas montré de différence significative entre les conditions. La glycémie ne nous permet pas de conclure sur un enrichissement meilleur ou non pour la réduction du stress.

Au vu des résultats du cortisol, aucun enrichissement n'est à éliminer car il n'y a pas de différence significative d'après le modèle linéaire mixte uni varié réalisé.

Au vu de la lactatémie, il ne semble pas approprié de sélectionner un enrichissement ou non avec uniquement ce paramètre car nous avons montré qu'il n'y avait pas de différence entre les conditions au cours du temps. Or, temps par temps, nous avons montré que la condition « paroi » présente aux temps T2 et T3 des valeurs élevées de lactates plasmatiques. En effet, au temps T2, la lactatémie de cette condition est plus élevée significativement que les deux témoins. Ensuite au temps T3, elle est significativement plus élevée que le témoin positif. La condition « paroi » est donc la condition la plus stressante pour les poissons au vu de la lactatémie.

iv. Résistance aux agents pathogènes

D'un point de vue de la résistance aux agents pathogènes la condition « bullage » à une cinétique comparable à celle du témoin positif et est significativement supérieure que les conditions « laminaires », « paroi » et « tuyau ». Cette condition ne contribue donc pas à diminuer la cinétique de mortalité face à un agent pathogène.

b. Des enrichissement encourageants

i. Performances de croissance

D'un point de vue des performances de croissance, même si nous avons montré qu'il n'y avait pas de différence de croissance entre les conditions au cours du temps, nous pouvons constater que deux conditions se détachent sur la Figure 30 : les conditions « laminaires » et « filtre bleu ». Pour ces deux conditions, les gains moyens sont également les plus élevés. Il serait donc intéressant de réaliser cette expérience sur une période plus longue pour voir si cet écart peut s'accroître ou non. L'écart de gain moyen, ici non significatif, est de 7 g sur 2 mois d'expérience. Sur un temps d'élevage d'une truite portion de 300 g pendant 1,5 an, cela peut représenter un écart de gain moyen de 63 g ($7 \text{ g} \times 18 \text{ mois} / 2 \text{ mois d'expérience}$) si l'on considère que la prise de poids suit un modèle linéaire. Cet écart moyen représente 21% ($63\text{g}/300\text{g} \times 100\%$) du poids final de la truite au moment de sa commercialisation. Il n'est donc pas négligeable. Les laminaires et le filtre bleu sont donc des conditions encourageantes d'un point de vue des performances de croissance.

ii. Comportement des poissons et utilisation des enrichissements

Tout d'abord, nous pouvons mettre en avant que pour toutes les conditions, l'enrichissement mis en place n'a pas modifié le comportement alimentaire, n'a pas provoqué de comportements stéréotypés, n'a pas dégradé les caractéristiques physiques des poissons (par exemple blessures contre un enrichissement abrasif) et n'a pas provoqué d'augmentation de la mortalité ou de la morbidité.

Ensuite d'un point de vue du comportement, les individus de la condition « tuyau » présente une moyenne de temps de retour à la normale la plus faible. En effet, les individus souvent cachés dans les tuyaux ne voyaient pas toujours l'opérateur. Ces individus semblaient donc moins sensibles à l'approche de ce dernier. De plus, cette condition présente un pourcentage de nage active la plus faible et ceux de manière significative par rapport aux témoins. Le pourcentage de nage active n'est pas facile à interpréter. En effet, nous ne savons pas si nager de manière active ou rester caché immobile dans le fond dans l'enrichissement est plus ou moins un signe de stress. Nous avons vu précédemment que l'exercice soutenu influence de manière positive la croissance du poisson mais peut engendrer des retards de développement du système ovarien et de la stimulation du système immunitaire (Palstra et Planas 2011). Donc, une nage active trop élevée peut avoir des effets néfastes. Ensuite, une nage peu présente donne l'impression lors de l'observation que les animaux sont calmes au fond du bac. Ce n'est peut-être pas forcément le cas ; ce paramètre n'est donc pas évident à interpréter.

Les conditions « tuyau », « filtre bleu » sont les conditions les plus calmes en termes d'activité. Au vu de l'utilisation importante des enrichissements dans ces deux conditions, nous pouvons imputer le calme des poissons aux conditions d'enrichissement.

Certaines conditions ont laissé l'opportunité au banc de poissons de se partager en deux groupes. En effet, plus marqué chez les individus de la condition « tuyau », nous l'avons aussi observé chez les individus de la condition « laminaires ». Nous avons donc observé un groupe majoritaire (souvent autour de 80-90% du banc) utilisant les enrichissements avec une activité souvent calme et un autre groupe minoritaire dans une autre zone du bac souvent présentant une activité intermédiaire voire agitée. Nous pouvons alors nous demander si l'enrichissement mis en place peut causer de la compétition pour ce dernier. Il aurait donc un effet néfaste pour une partie de la population du bac. Il est donc nécessaire d'adapter l'enrichissement à chaque population et notamment à la taille de la population. En effet, dans notre cas les tuyaux en caoutchouc étaient quasiment saturés donc les quelques poissons en trop ne pouvait pas y accéder. Il est aussi possible d'avoir une compétition liée à une hiérarchie avec par exemple quelques poissons présents dans les enrichissements empêchant les autres d'y venir alors qu'il y reste de la place. Dans ce dernier cas, il est nécessaire de multiplier les enrichissements dans le bac pour favoriser l'accès aux poissons les plus bas dans la hiérarchie.

Nous avons observé l'utilisation des enrichissements mis en place. Nous avons montré que le tapis d'herbe, les tuyaux en caoutchouc et les laminaires sont utilisés de manière significative par les poissons. Le comptage des individus passant sous le tapis d'herbe pour se cacher dans la zone d'ombre ou passant dans les laminaires montre que tous les individus y passent au moins une fois en une minute.

Les individus de la condition « filtre bleu » présentent une moyenne d'accélération brusques significativement inférieure aux témoins ; ces individus sont plus calmes et donc moins stressés.

L'observation d'un bac de 1 m³ avec plusieurs enrichissements (nommé « bac complet »), nous a permis de les comparer entre eux, et notamment le filtre bleu qui n'a pas pu être caractérisé car il a été imposé aux poissons. Dans ce bac, les poissons avaient le choix et ils ont choisi pour plus de la majorité le filtre bleu qui leur assurait une zone d'ombre. Il est intéressant de noter que 65% des individus utilisent un enrichissement à un moment T dans ce bac. Afin de récupérer ces données, ce bac a été observé une fois par semaine pendant les 7 semaines d'observation.

iii. Marqueurs de stress

D'un point de vue des résultats des marqueurs de stress, nous pouvons constater que la lactatémie des conditions « herbe », « laminaires » est inférieure significativement que celle du témoin négatif. La mise en place d'enrichissement dans ces conditions a donc contribué à une réduction du stress par rapport au témoin négatif dépourvu d'enrichissement supplémentaire.

Pour ce qui est de la cortisolémie, elle est plus basse significativement pour les conditions « herbe », « bullage » et « paroi » par rapport au témoin positif au temps T2. Ces enrichissements sont donc intéressants pour contribuer à la réduction du stress par rapport au témoin positif. Toutefois, cela ne représente qu'un temps sur les trois. En effet, nous avons montré que pour les trois temps réunis il n'y avait pas de différence de cortisolémie entre les conditions.

Les résultats des 3 marqueurs ne vont pas toujours dans le même sens, ainsi il n'est pas facile de montrer qu'un enrichissement est mieux qu'un autre en terme de réduction du stress dans notre étude via ces marqueurs

iv. Résistance aux agents pathogènes

D'un point de vue de la mortalité, il n'y a que les individus de la condition « tuyau » qui semblent mieux résister à l'agent pathogène. Or, il est intéressant également d'analyser en plus de la mortalité, la cinétique. Cette cinétique nous permet de voir que les conditions « filtre bleu », « laminaires », « tuyau » et « paroi » semblent intéressantes car elles ont une cinétique plus faible que le témoin positif. La condition « tuyau » possède la cinétique la plus faible. Elle semble être une condition très intéressante pour diminuer la cinétique de mortalité face à un agent pathogène. Dans un challenge, la dose infectieuse est très importante. En effet, l'objectif initial était d'avoir un pourcentage de mortalité autour des 50% comme l'étude menée par Moreau et al. (2023). Notre pourcentage de mortalité est de 82%, il est trop élevé par rapport à notre objectif initial. Une dose infectieuse plus faible (comme en condition naturelle) aurait pu permettre de mettre en évidence des différences plus marquées.

c. Conclusion sur les enrichissements

Nous allons dans cette conclusion synthétiser les éléments d'enrichissement à retenir ou à éliminer au vu des résultats obtenus (Tableau 20).

Tableau 20 : Tableau récapitulatif des avantages et inconvénients de chaque condition.

Conditions	Résultats	Performance de croissance	Comportement et utilisation des enrichissements	Marqueurs de stress	Résistance aux agents pathogènes
Tuyaux caoutchouc		=	+	=	+
Laminaires		=	+	+	+
Filtre bleu		=	+	+	+
Tapis d'herbe		=	+	+	=
Paroi caoutchouc		=	-	-	+
Bullage		=	-	+	-
Témoin positif		=	=	-	-
Témoin négatif		=	=	-	=

Un signe « = » signifie que la condition n'a pas d'influence sur le marqueur. Un signe « + » signifie qu'elle est un enrichissement encourageant au vu de ce marqueur et un signe « - » signifie qu'elle n'est pas pertinente au vu de ce marqueur.

A partir de ce tableau, nous pouvons mettre en évidence 4 enrichissements intéressants pour améliorer le bien-être de la truite arc-en-ciel et sa résistance face aux agents pathogènes à savoir : les tuyaux en caoutchouc, les laminaires, le filtre bleu et le tapis d'herbe.

Les parois sont un enrichissement à oublier au vu de son manque d'utilisation par les poissons. Le bullage peut être gardé mais il est recommandé d'explorer le comportement des poissons en présence de bulle avec une caméra dans l'eau.

Nous nous intéressons à l'utilisation de l'enrichissement présent dans tous les bacs (sauf le témoin positif), il s'agit du tuyau en PVC qui est un bon début d'enrichissement. En effet, nous avons montré que quelle que soit la condition, il était utilisé à un moment T par 6,9% du banc ce qui correspond quasiment à sa capacité maximale. Il serait donc intéressant de multiplier ce genre d'enrichissement pour que tous les poissons y aient accès.

d. Comparaison par rapport à la littérature

Nous avons comparé nos résultats par rapport à la littérature. D'un point de vue de l'agressivité, Brunet et al. (2022) ont montré que l'enrichissement environnemental réduisait l'agressivité des animaux. Du côté de notre étude, nous n'avons pas observé de signe d'agressivité, donc nous ne pouvons pas conclure sur une réduction de l'agressivité liée à l'enrichissement.

Contrairement à notre étude, Brunet et al. (2022) ont montré que l'enrichissement améliorait les performances de croissance. Les poissons étaient pesés tous les 3 semaines pendant 8 mois. Or la période de notre étude est de 2 mois. Encore une fois, une période plus longue pourrait permettre de montrer une influence de l'enrichissement sur la croissance.

Dans la littérature (Brunet et al. 2022), ils ont montré que l'érosion de la nageoire dorsale était significativement plus importante dans les milieux sans enrichissement. Dans notre étude, nous n'avons pas montré de différence. Ces résultats sont liés à l'agressivité des poissons, en effet nous n'avons pas observé de comportement agressif ce qui est cohérent avec l'absence de lésions des nageoires.

D'un point de vue des marqueurs sanguins, ils n'ont pas trouvé de différence de cortisol entre les groupes avec enrichissements et les groupes sans. Cela remet en cause le rôle de biomarqueur de stress du cortisol (Brunet et al. 2022).

2. Critique du protocole de l'expérience

Nous nous sommes intéressés à deux axes pour discuter du protocole de l'expérience : le protocole d'observation des poissons et la durée de l'expérience.

a. Observation du comportement

Tout d'abord pour chaque condition, nous avons attribué un jour de la semaine pour l'observation. L'ensemble des conditions n'a donc pas été observé dans la même journée au vu du volume horaire nécessaire pour observer les poissons. Ceci constitue un léger biais dans notre protocole.

Ensuite, l'observation du comportement des poissons et l'utilisation des enrichissements n'ont pas pu être évalués de manière optimale dans les conditions « filtre bleu » et « bullage ». En effet, le filtre bleu a été imposé aux poissons donc nous n'avons pas pu évaluer son utilisation. Pour remédier à cela nous avons mis en place le bac complet pour évaluer son utilisation. De plus, lorsque nous observions les poissons de cette condition nous étions obligés d'ouvrir le capot ce qui supprimait de manière partiel l'enrichissement.

Le protocole d'observation de la condition « bullage » est à revoir. En effet, il était nécessaire de couper le bullage pour observer les poissons. Nous n'avons pas pu observer l'utilisation de l'enrichissement et nous avons créé un stress avec la suppression de ce dernier. Il aurait été judicieux de mettre en place un système d'observation par des caméras sous l'eau pour éviter de couper les bulles.

Le protocole initial d'observation des poissons était de ne pas ouvrir le capot pour observer les poissons. En effet, nous avons mis en place des plaques de plexiglass transparentes sur les bacs pour bien visualiser les poissons. Finalement, nous avons été obligés d'ouvrir le capot de chaque bac pour observer les animaux et donc d'occasionner des gestes parasites car il y avait de la condensation sur le plexiglass qui rendait l'observation impossible.

Nous avons tout de même évité des biais liés à la prise alimentaire. En effet, les poissons ont été observés au moins deux heures après le nourrissage et la chasse d'eau afin que leur comportement ne soit pas influencé par l'agitation lors de la prise alimentaire ou le calme postprandiale.

b. Durée de l'expérience

La durée de l'expérience était de 2 mois et représente qu'une faible partie de la vie de la truite arc-en-ciel en élevage. Une expérience sur une période plus longue aurait sans doute pu montrer des écarts plus importants par exemple pour les performances de croissance (Brunet et al. 2022). Au contraire, l'observation du comportement des poissons et de l'utilisation des enrichissements ne nécessitent pas forcément une période plus longue. En effet en 2 mois d'observation, des résultats intéressants ressortent et une période plus longue pourrait amener l'opérateur à être moins objectif et à moins voir les détails de comportement.

3. Les marqueurs sanguins

Tout d'abord, les résultats de nos marqueurs sont bien dans le même ordre de grandeur que ce qui est décrit dans la littérature (II. Biomarqueurs pour évaluer le stress des poissons. Contrairement à ce que nous voulions montrer, il n'existe pas dans notre expérience de lien linéaire entre la glycémie, la lactatémie et la cortisolémie. Dans l'étude de A White et al (1986) ils ont montré en travaillant sur la plie commune (*Pleuronectes platessa*) qu'il existe une corrélation significative entre la glycémie et la cortisolémie. L'espèce étudiée est différente de notre étude mais nous pouvons penser que des résultats similaires peuvent être obtenus sur la truite-arc-en-ciel.

a. Le cortisol plasmatique

Nous nous attendions à des résultats plus tranchés notamment entre le témoin positif et les autres conditions. La cortisolémie du témoin positif est plus élevée de manière significative que sur un des 3 temps. Nous pensons que les manipulations stressantes auraient contribué de manière plus importante à l'augmentation du cortisol sanguin. De plus, nous pensions avoir une augmentation du cortisol pour le témoin négatif pour montrer que l'absence d'enrichissement contribuait au stress du poisson.

Les sources de stress externes comme la pêche ont été évitées avec la mise en place d'une anesthésie directement dans les bacs ce qui a permis de revaloriser la mesure du cortisol dans le sang souvent décrit comme marqueur du stress aigu et non du stress chronique recherché ici. Mais nous constatons que ce marqueur ne permet pas de bien révéler les conditions d'élevage des poissons.

Toutefois, au cours du temps d'élevage nous avons montré que la cortisolémie moyenne de tous les poissons était significativement différente entre T1 et le groupe T2-T3. Cela nous

amène à penser que l'ensemble des conditions a contribué à diminuer le stress des poissons au cours du temps.

b. Le glucose

De la même manière que pour le cortisol, nous nous attendions à des glycémies moyennes plus élevées pour les témoins. Pour les 3 temps, la glycémie n'est pas différente entre les conditions. Nous pouvons alors émettre deux options : soit les poissons ne sont réellement pas plus stressés d'une condition à l'autre, soit la glycémie n'est pas un marqueur pertinent pour évaluer le stress. Au vu des résultats de comportement, il semblerait que certaines conditions soient plus stressantes que d'autres donc la glycémie dans notre expérience n'est pas un marqueur de stress pertinent.

c. Les lactates

De la même manière, nous attendions à des résultats plus tranchés. Elle est cohérente avec le comportement observé pour la condition « paroi » avec une lactatémie supérieure aux témoins pour deux temps sur trois. Elle ne nous apporte pas plus d'information.

Les trois marqueurs sanguins mettent en évidence des valeurs parfois antagonistes entre elles qui rendent le résultat difficile à interpréter. Ils ne mettent pas en évidence de manière optimale les conditions d'élevage des poissons. Ils ne sont pas forcément les meilleurs marqueurs pour analyser le stress. En effet, Prunet, Sturm, et Milla (2006) ont montré que grâce à une comparaison des séquences et une analyse phylogénétique que les poissons possèdent des récepteurs GR (récepteur de glucocorticoïde comme le cortisol) mais aussi des récepteurs MR (récepteur minéralocorticoïde). Les résultats de leur étude ont montré que le cortisol semble être le ligand physiologique du GR, cela n'est pas forcément le cas du MR qui semble avoir une forte affinité pour la désoxycorticostérone (DOC). La DOC peut donc être un ligand physiologique du récepteur MR. Les informations sur cette molécule sont encore peu élucidées chez le poisson, il est donc intéressant de voir quel rôle occupe la DOC dans la réponse au stress.

d. Le cortisol dans les écailles et nageoires

La mise en place du dosage du cortisol dans les écailles et les nageoires n'a pas été aisée. En effet, nous avons commencé à réaliser des tests de dosage avec des poissons adultes déjà présents à la station aquacole. Nous avons donc réalisé ces premiers tests avec des écailles plus « grandes » et donc plus difficile à broyer. Ces premiers résultats ont révélé beaucoup d'échantillons en dessous de la gamme du kit (0,1 à 30 ng/ml). Nous avons émis l'hypothèse qu'il y avait un problème d'extraction du cortisol dû à un broyage insuffisant des échantillons. Nous avons donc changé la technique de broyage. En effet, nous avons décidé de broyer les échantillons au mortier puis au broyeur. Nous avons obtenu une poudre blanche correcte pour la suite du protocole. Les résultats à la suite de ce deuxième essai se sont révélés également décevants.

A partir de ces deux premiers essais, nous avons pensé que le cortisol dans les écailles et nageoires était trop faible dans ces matrices pour être dosé et donc que ce marqueur n'était pas pertinent pour évaluer le stress chronique dans notre étude.

Nous avons ensuite trouvé dans la littérature une procédure de lavage différente de celle que nous avons utilisée pour les deux premiers essais (Carbajal et al. 2018; 2019). En effet, la procédure que nous utilisons (celle pour les poils de porc) passe par deux lavages à l'eau puis deux lavages à l'isopropanol. Or dans les travaux de Carbajal et al. (2018) il est décrit que l'eau peut éliminer une partie du cortisol présent dans les matrices. Cela pourrait donc expliquer pourquoi nous avons une concentration en dessous des gammes lors des premiers essais. Ils recommandent donc 3 lavages à l'isopropanol uniquement. Dans cette étude, ils utilisent également un kit de dosage avec une gamme plus faible. Nous avons donc réitéré un troisième essai avec ce nouveau kit et cette nouvelle technique de lavage qui n'a pas montré de meilleurs résultats.

Aerts et al. (2015) ont tenté également de mesurer la quantité de cortisol dans les écailles de la carpe commune (*Cyprinus carpio*). Dans leur étude, ils ont montré grâce à la technique de spectrométrie de masse par chromatographie liquide ultra-performante que les valeurs de cortisol dans les écailles étaient de l'ordre du pmol par écaille. Les kits de dosage que nous avons utilisés avaient des gammes trop élevées par rapport aux résultats de Aerts et al. (2015). C'est une raison pour laquelle nous n'avons pas pu mettre en évidence de cortisol dans les écailles.

Il est intéressant de se demander si les kits de dosage que nous avons utilisés pour mesurer le cortisol dans le sang auraient pu permettre de mesurer également la quantité de cortisol dans les écailles. La gamme des kits utilisés pour la technique de dosage radio-immunologique est de 0 à 1600 nmol/L. La faisabilité dépend de la quantité dans laquelle il faut diluer la poudre d'écaille obtenue après broyage. Il serait donc intéressant de réaliser plusieurs essais pour adapter au mieux le protocole. La technique de dosage radio-immunologique semble prometteuse pour mesurer la quantité de cortisol dans les écailles.

e. Corrélation entre les variables

Nous avons vu dans la littérature que les marqueurs cortisol, lactates et glucose plasmatiques étaient liés. Une augmentation de cortisol entraîne une augmentation de glucose et de lactates dans le sang. Notre expérience n'a pas montré ces résultats. En effet les coefficients de corrélation calculés ne montrent pas de lien entre ces marqueurs. Cette absence de corrélation peut avoir plusieurs origines. Tout d'abord, nous pouvons avoir une cinétique de production du glucose ou des lactates plus lente que celle du cortisol. Donc au moment de la prise de sang la néoglucogenèse ne s'est peut-être pas encore déroulée ou partiellement. De plus, nous soulevons également la difficulté que nous avons eue pour prélever 1 à 2 mL de sang sur des petits poissons de 90 g (au temps T1). Ce constat a pu également influencer les résultats obtenus.

4. La modélisation statistique

Pour la comparaison des variables poids et taille, nous n'avons pas eu de problème d'effectif du fait que tous les poissons anesthésiés étaient pesés et mesurés. Nous avons donc pu utiliser des tests paramétriques en émettant des hypothèses.

Cependant, pour comparer les valeurs des marqueurs sanguins, nous n'avons que 5 valeurs par bac et donc 15 par condition. Cette effectif ne nous a pas permis d'utiliser des tests

paramétriques car il fallait au minimum 30 échantillons par condition. Nous avons dû utiliser des tests non paramétriques moins puissants que ces derniers. Ce manque de puissance peut expliquer l'absence de différence significative.

Pour la comparaison de la mortalité pendant le challenge infectieux, nous voulions réaliser un modèle de régression logistique pénalisée multivariée en prenant en compte la mortalité, les symptômes externes (furoncle et leur taille), les symptômes internes (tube digestif hémorragique et hypertrophie de la rate) et les résultats de la bactériologie. Ce modèle n'a pas abouti en raison de certaines variables trop puissantes (le pourcentage de bactériologie positive ou encore le pourcentage de rate hypertrophique et de tube digestif hémorragique) qui ne laissaient pas voir les différences des autres variables. L'objectif initial était de voir si un individu était plus ou moins malade selon les symptômes qu'il présentait. Or ici, ces trois variables étaient trop représentées au sein du pool d'individus malades/morts et donc écrasaient les différences des autres variables. Nous avons donc opté pour le même modèle mais en analyse uni variée avec simplement la variable mortalité selon les conditions. Ce modèle nous a permis de mettre en évidence des différences non visibles avec l'analyse multivariée comme la différence de mortalité entre la condition « tuyau » et le témoin positif.

Pour la comparaison du score des nageoires, nous avons fait le choix de ne travailler uniquement avec les résultats de la nageoire dorsale car c'était celle qui était le plus souvent atteinte. Nous avons réalisé un modèle linéaire mixte multivarié pour mettre en évidence le risque d'avoir une lésion grave et vive au niveau de la nageoire dorsale. Nous avons montré que ce risque n'était pas différent d'une condition à une autre. Il aurait été intéressant de s'intéresser aux autres nageoires pour voir si d'autres résultats pourraient être mis en évidence. En effet, nous pouvons penser que pour mettre en évidence un comportement agressif il faudrait s'intéresser à la nageoire anale ou pelvienne car ce sont celles les plus accessibles par l'agresseur lors d'une « course-poursuite ».

5. La transposition à une plus grande échelle : l'élevage

a. Biosécurité et hygiène

D'un point de vue de la biosécurité et de l'hygiène, nous avons constaté que certains enrichissements sont plus appropriés que d'autres. En effet, lors des 2 mois d'observation nous avons constaté que de l'aliments s'accumulaient entre la paroi du bac et la paroi en caoutchouc, sur le support des lamineaires et sur le tapis en herbe. De plus, le bullage ne permettait pas aux déchets et aliments non mangés de sédimenter dans le fond et de partir avec la chasse d'eau quotidienne. Pour les enrichissements avec le filtre bleu et les tuyaux en caoutchouc, nous n'avons pas constaté d'accumulation d'aliments ou de déchet.

b. Mise en place et facilité de lavage et désinfection

Nous avons constaté pour les enrichissements qui devenaient sales rapidement (environ une semaine) qu'il était plus ou moins facile de les laver et de les désinfecter. Les enrichissements en caoutchouc comme les parois et les tuyaux sont faciles à mettre en place et à enlever pour les laver et les désinfecter. Par contre, les lamineaires et les tapis en herbe sont plus compliqués à bien laver en raison de leur surface importante avec l'eau.

La mise en place d'un filtre bleu à plus grande échelle nécessite une installation au-dessus du bassin pour y apposer le filtre. L'avantage, c'est qu'il n'est pas nécessaire de le laver et de le désinfecter régulièrement car il n'est pas en contact avec l'eau. Donc une fois mis en place, nous n'avons plus à nous en soucier. Il peut cependant être gênant lors de la pêche des poissons pour les trier. Dans tous les cas, lors de manipulations des poissons (pour les trier ou pour d'autres manipulations) il est nécessaire d'enlever tous les enrichissements.

c. Produits chimiques et enrichissements

Nous avons vu dans la littérature que certains matériaux utilisés pour les enrichissements peuvent libérer des produits chimiques dans l'eau (5. L'enrichissement à plus grande échelle ?). Les enrichissements en caoutchouc que nous avons utilisés avait une forte odeur, caractéristique du caoutchouc. Nous avons donc décidé de les laisser tremper dans une eau circulante pendant un mois avant l'expérimentation pour éliminer cette odeur et les potentiels produits chimiques présents. Dans une étude menée par Stephensen et al. (2005), ils ont montré que le lixiviat de caoutchouc provenant notamment des pneus était toxique pour les poissons. Dans leur étude, ils ont exposé des truites arc-en-ciel à des tuyaux en caoutchouc. Ils ont constaté, qu'après analyse, l'eau des bassins était contaminée avec du 2-mercaptobenzothiazole et de la diphénylamine provenant du caoutchouc. Des métabolites de ces molécules ont été retrouvés dans la bile des poissons. Il est donc nécessaire de choisir des matériaux « non toxiques » pour les poissons pour mettre en place des enrichissements.

d. Densité et enrichissement

Nous avons constaté que, pour la condition « tuyau », tous les poissons étaient au fond cachés dans les tuyaux. Nous pouvons nous demander si la mise en place d'enrichissements, en l'occurrence les tuyaux ici pouvaient augmenter la densité de poissons dans un bassin sans altérer le bien-être des poissons. En effet, la mise en place de tuyaux augmente la surface disponible pour les poissons. Ils ont la possibilité d'être au-dessus, en-dessous, dedans ou à côté des tuyaux sans qu'ils ne voit ou soit trop proche d'un congénère, ainsi ils ont « plus de place ». Cela permettrait d'augmenter la productivité en contribuant au bien-être animal, car nous avons montré précédemment que les tuyaux en caoutchouc font partie des enrichissements encourageants. Au contraire les parois en caoutchouc n'augmentent pas la surface disponible car elles sont apposées sur les parois du bassin dans notre expérience.

e. Compétition pour les enrichissements

La question de la compétition entre les individus se pose car il ne faudrait pas que les enrichissements créent une compétition au sein du banc de poisson et que cela favorise des comportements agressifs. C'est pourquoi l'enrichissement d'un bassin doit être adapté à chaque espèce et à la densité de poissons. En effet, pour améliorer le bien-être au sein d'un bassin il ne suffit pas de mettre en place un enrichissement dans un coin. Il est nécessaire d'en mettre suffisamment pour que tous les poissons y aient accès. Cela nécessite donc un investissement important que cela soit économique avec le prix des matériaux ou que cela soit en terme de temps avec le temps nécessaire à la mise en place, le lavage et la désinfection des enrichissements.

IV. Conclusion de la phase expérimentale et perspectives

Nous avons mis en évidence que la réalisation d'un protocole expérimental n'est pas aisée et qu'il peut toujours être amélioré. Dans notre cas, augmenter la durée de l'expérience aurait pu permettre d'observer des écarts plus intéressants entre les conditions testées.

Nous avons montré que l'enrichissement du milieu d'élevage de la truite arc-en-ciel est une voie très intéressante pour améliorer le bien-être animal. En effet, nous avons noté que les enrichissements « tuyaux », « laminaires », « filtre bleu » et « herbe » sont des enrichissements encourageants pour la suite. En revanche, l'enrichissement « paroi » n'est pas pertinent. Le bullage reste un enrichissement qui mérite d'être plus étudié.

Enfin, nous avons également montré que les marqueurs de stress utilisés ne sont pas toujours faciles à interpréter. En effet, les marqueurs sanguins révèlent plus un stress aigu alors que le cortisol dans les écailles traduit un stress chronique. Il n'est pas toujours évident de croiser ces données aux comportements observés des poissons.

Lors des manipulations, nous avons prélevé du sang pour doser les c-miARN et le cerveau pour étudier le niveau d'expression des gènes impliqués dans la sensibilité du poisson. Les différents gènes qui pourraient être analysés sont npas4b et pcna qui sont deux gènes impliqués dans l'activité neuronale mais aussi mapk1, mapk erk, mtor et creb qui sont des gènes impliqués dans la plasticité neuronale (Cardona et al. 2022).

De plus, le dosage des c-miARN pourrait permettre de savoir si ces molécules sont des biomarqueurs plus pertinents que le cortisol, le lactate et le glucose pour évaluer le stress et le bien-être chez le poisson.

Conclusion générale

Au cours de notre étude, nous avons voulu montrer qu'améliorer les conditions d'élevage de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) pouvait passer par une phase d'enrichissement du milieu. Cet enrichissement est associé à une complexification du milieu qui stimule les poissons. Il se décline sous plusieurs formes notamment l'enrichissement structurel et l'enrichissement sensoriel sur lesquelles nous nous sommes penchés dans nos expériences. Les différents objectifs de cette étude étaient d'améliorer le bien-être des animaux, d'augmenter les performances de croissance, d'étudier le comportement des poissons en présence d'enrichissements et d'évaluer la robustesse des poissons ayant vécu dans un milieu enrichi. Il est nécessaire de rappeler que les trois derniers objectifs ne peuvent pas se détacher de l'objectif principal à savoir : améliorer le bien-être des animaux.

Pour quantifier le bien-être animal durant l'étude, nous avons utilisé différents marqueurs : des paramètres sanguins (la cortisolémie, la glycémie et la lactatémie), l'observation du comportement des animaux et leur utilisation des enrichissements. Nous avons noté qu'il n'était pas évident de corrélérer les différents marqueurs entre eux et qu'il était encore plus difficile de les corrélérer aux comportements des poissons. Pour analyser les performances de croissance, nous avons mesuré et pesé les poissons à trois reprises pendant la phase expérimentale. Cela nous a permis d'évaluer la prise de poids selon les types d'enrichissements. Enfin, une comparaison de la mortalité et une analyse de survie ont permis d'analyser l'effet d'enrichissement présent pendant une phase d'élevage au vu de la robustesse des poissons face aux agents pathogènes.

Nous avons montré dans notre étude que les enrichissements n'influencent pas les performances de croissance des animaux sur la période donnée. Nous avons noté quelques tendances qui se dégagent notamment pour les enrichissements de type laminaire et filtre bleu qui ont les valeurs de poids les plus élevées. Il serait intéressant de répéter cette expérience et ce suivi de croissance sur une période plus longue.

L'analyse statistique de la cortisolémie, de la lactatémie et de la glycémie n'a pas montré de différence entre les enrichissements testés. Or, nous avons constaté pour les trois paramètres une baisse significative au cours du temps pour l'ensemble des conditions. Cela suggère une baisse du stress et une amélioration du bien-être durant la phase expérimentale.

Au niveau du comportement, nous avons montré que les laminaires, les tuyaux en caoutchouc, le filtre bleu et le tapis en herbe sont des enrichissements encourageants. En effet, l'ensemble des poissons ont utilisé ces enrichissements. En revanche, les parois en caoutchouc ont été délaissées par les poissons et semblent ne pas être à retenir. Un point important à noter est que l'ensemble des enrichissements testés n'a pas favorisé de comportements stéréotypés, n'a pas augmenté la mortalité ou la morbidité et n'a pas blessé les poissons.

Les résultats du challenge infectieux ont montré de manière significative que les tuyaux en caoutchouc ont joué un rôle dans la résistance des poissons à l'agent pathogène. Au contraire,

le bullage et le tapis en herbe ont des résultats similaires au témoin positif où la mortalité est maximale.

Nous nous sommes demandés ensuite si cette mise en place d'enrichissements était transposable à plus grande échelle. Les enrichissements en caoutchouc répondent aux critères de lavage et de désinfection. Cela est plus compliqué pour les lamineuses et le tapis en herbe. Le filtre bleu quant à lui est plus difficile à mettre en place mais ne nécessite pas de lavage, ni de désinfection.

Pour conclure, nous retenons à la suite de cette étude, que les tuyaux en caoutchouc présentent le plus de points positifs alors même qu'ils pourraient permettre d'augmenter la densité de poissons en améliorant leur bien-être. Mais la notion d'enrichissement mérite encore d'être étudiée afin d'explorer d'autres aspects que nous n'avons pas abordés comme évaluer de manière non subjective la notion de lavage et de désinfection des enrichissements. Il serait également intéressant de mener une enquête sur le terrain pour évaluer l'acceptation des éleveurs.

Bibliographie

- A White. 1986. « Serum cortisol, glucose and lipids in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) exposed to starvation and aquarium stress », 1986, sect. Volume 84, Issue 4, 1986, Pages 649-653.
- Aerts, Johan, et Sarah De Saeger. 2015. « Quantification of glucocorticoids in fish scales as biomarkers for chronic stress ». <https://patentscope.wipo.int/search/fr/detail.jsf?docId=WO2015091591>.
- Aerts, Johan, Juriaan Rogier Metz, Bart Ampe, Annemie Decostere, Gert Flik, et Sarah De Saeger. 2015. « Scales Tell a Story on the Stress History of Fish ». Édité par Daniel E Crocker. *PLOS ONE* 10 (4): e0123411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123411>.
- Ahlbeck Bergendahl, I., S. Miller, C. Depasquale, L. Giralico, et V. A. Braithwaite. 2017. « Becoming a Better Swimmer: Structural Complexity Enhances Agility in a Captive-reared Fish ». *Journal of Fish Biology* 90 (3): 1112-17. <https://doi.org/10.1111/jfb.13232>.
- A.J.F. WEBSTER. 2001. « Farm Animal Welfare: the Five Freedoms and the Free Market ». *The Veterinary Journal*, 2001, sect. Volume 161, Issue 3, Pages 229-237.
- Almazán-Rueda, Pablo, Johan W Schrama, et Johan A.J Verreth. 2004. « Behavioural Responses under Different Feeding Methods and Light Regimes of the African Catfish (*Clarias Gariepinus*) Juveniles ». *Aquaculture* 231 (1-4): 347-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.016>.
- Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de et l'environnement et du travail). 2018. « Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au « Bien-être animal : contexte, définition et évaluation » ». *Saisine n°2016-SA-0288*.
- Arechavala-Lopez, Pablo, Maria J. Cabrera-Álvarez, Caroline M. Maia, et Joao L. Saraiva. 2021. « Environmental enrichment in fish aquaculture: A review of fundamental and practical aspects ».
- Bermejo-Poza, Rubén, Jesús De la Fuente, Concepción Pérez, Elisabet González de Chavarri, María Teresa Díaz, Fernando Torrent, et Morris Villarroel. 2017. « Determination of Optimal Degree Days of Fasting before Slaughter in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Aquaculture* 473 (avril): 272-77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.01.036>.
- Brunet, Valentin, Aude Kleiber, Amélie Patinote, Pierre-Lô Sudan, Cécile Duret, Guillaume Gourmelen, Emmanuelle Moreau, et al. 2022. « Positive Welfare Effects of Physical Enrichments from the Nature-, Functions- and Feeling- Based Approaches in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Aquaculture* 550 (mars): 737825. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737825>.
- Burghardt, Gordon M. 2015. « Play in Fishes, Frogs and Reptiles ». *Current Biology* 25 (1): R9-10. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.027>.
- Calvez, Ségolène. 2023. « Aquaculture et Pathologie Aquacole ».
- Cañon Jones, Hernán Alberto, Linda A. Hansen, Chris Noble, Børge Damsgård, Donald M. Broom, et Gareth P. Pearce. 2010. « Social Network Analysis of Behavioural Interactions Influencing Fin Damage Development in Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) during Feed-Restriction ». *Applied Animal Behaviour Science* 127 (3-4): 139-51. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.09.004>.

- Carbajal, A., L. Monclús, O. Tallo-Parra, M. Sabes-Alsina, D. Vinyoles, et M. Lopez-Bejar. 2018. « Cortisol Detection in Fish Scales by Enzyme Immunoassay: Biochemical and Methodological Validation ». *Journal of Applied Ichthyology* 34 (4): 967-70. <https://doi.org/10.1111/jai.13674>.
- Carbajal, A., O. Tallo-Parra, L. Monclús, D. Vinyoles, M. Solé, S. Lacorte, et M. Lopez-Bejar. 2019. « Variation in Scale Cortisol Concentrations of a Wild Freshwater Fish: Habitat Quality or Seasonal Influences? » *General and Comparative Endocrinology* 275 (mai): 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.01.015>.
- Cardona, Emilie, Valentin Brunet, Elodie Baranek, Léo Milhade, Sandrine Skiba-Cassy, Julien Bobe, Ludovic Calandreau, Jérôme Roy, et Violaine Colson. 2022. « Physical Enrichment Triggers Brain Plasticity and Influences Blood Plasma Circulating MiRNA in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Biology* 11 (8): 1093. <https://doi.org/10.3390/biology11081093>.
- Cardona, Emilie, Léo Milhade, Angéline Pourtau, Stéphane Panserat, Frédéric Terrier, Anthony Lanuque, Jérôme Roy, Lucie Marandel, Julien Bobe, et Sandrine Skiba-Cassy. 2022. « Tissue Origin of Circulating MicroRNAs and Their Response to Nutritional and Environmental Stress in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Science of The Total Environment* 853 (décembre): 158584. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158584>.
- Cerqueira, M., S. Millot, A. Felix, T. Silva, G. A. Oliveira, C. C. V. Oliveira, S. Rey, S. MacKenzie, et R. Oliveira. 2020. « Cognitive Appraisal in Fish: Stressor Predictability Modulates the Physiological and Neurobehavioural Stress Response in Sea Bass ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287 (1923): 20192922. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2922>.
- Cerqueira, Marco, Sandie Millot, Tomé Silva, Ana S. Félix, Maria Filipa Castanheira, Sonia Rey, Simon MacKenzie, Gonçalo A. Oliveira, Catarina C. V. Oliveira, et Rui F. Oliveira. 2021. « Stressor Controllability Modulates the Stress Response in Fish ». *BMC Neuroscience* 22 (1): 48. <https://doi.org/10.1186/s12868-021-00653-0>.
- Chandroo, K.P., I.J.H. Duncan, et R.D. Moccia. 2004. « Can Fish Suffer?: Perspectives on Sentience, Pain, Fear and Stress ». *Applied Animal Behaviour Science* 86 (3-4): 225-50. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.004>.
- CIWF Agroalimentaire. s. d. « Enrichissement du milieu en aquaculture ». Consulté le 24 février 2023. <https://www.agrociwf.fr/ressources/poissons/infographie-enrichissement/>.
- Compassion in world farming. s. d. « Environmental enrichment for fish in aquaculture ».
- Darmancourt, Lucas, et Ségolène Calvez. 2022. « L'IKEJIME : ÉTAT DES LIEUX ET APPORTS DE CETTE MÉTHODE D'ABATTAGE POUR L'ACCEPTABILITÉ DE LA MISE À MORT DES POISSONS ».
- « DIRECTIVE 2010/63/UE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques ». 2010.
- European Food Safety Authority (EFSA). 2009. « Species-specific Welfare Aspects of the Main Systems of Stunning and Killing of Farmed Seabass and Seabream ». *EFSA Journal* 7 (4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1010>.
- Fagen, Robert. 2017. « Salmonid Jumping and Playing: Potential Cultural and Welfare Implications ». *Animals* 7 (12): 42. <https://doi.org/10.3390/ani7060042>.
- FAO. 2020. *La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2020*. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229fr>.

- Fife-Cook, Isabel, et Becca Franks. 2019. « Positive Welfare for Fishes: Rationale and Areas for Future Study ». *Fishes* 4 (2): 31. <https://doi.org/10.3390/fishes4020031>.
- . 2021. « Koi (Cyprinus Rubrofusca) Seek Out Tactile Interaction with Humans: General Patterns and Individual Differences ». *Animals* 11 (3): 706. <https://doi.org/10.3390/ani11030706>.
- Filiciotto, Francesco, Stefano Cecchini, Giuseppa Buscaino, Vincenzo Maccarrone, Giuseppe Piccione, et Francesco Fazio. 2017. « Impact of Aquatic Acoustic Noise on Oxidative Status and Some Immune Parameters in Gilthead Sea Bream *Sparus Aurata* (Linnaeus, 1758) Juveniles ». *Aquaculture Research* 48 (4): 1895-1903. <https://doi.org/10.1111/are.13027>.
- Filiciotto, Francesco, Vincenzo Maximiliano Giacalone, Francesco Fazio, Gaspare Buffa, Giuseppe Piccione, Vincenzo Maccarrone, Vincenzo Di Stefano, Salvatore Mazzola, et Giuseppa Buscaino. 2013. « Effect of Acoustic Environment on Gilthead Sea Bream (*Sparus Aurata*): Sea and Onshore Aquaculture Background Noise ». *Aquaculture* 414-415 (novembre): 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.042>.
- FSBI, Fisheries Society of the British Isles, Granta Information Systems, 82A High Street, Sawston, Cambridge CB2 4H. 2002. « Fish Welfare. Briefing Paper 2 ».
- Gingerich, W.H., et K.R. Drottar. 1989. « Plasma Catecholamine Concentrations in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*) at Rest and after Anesthesia and Surgery ». *General and Comparative Endocrinology* 73 (3): 390-97. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(89\)90196-2](https://doi.org/10.1016/0016-6480(89)90196-2).
- Grutter, A. S., et N. W. Pankhurst. 2000. « The Effects of Capture, Handling, Confinement and Ectoparasite Load on Plasma Levels of Cortisol, Glucose and Lactate in the Coral Reef Fish *Hemigymnus Melapterus* ». *Journal of Fish Biology* 57 (2): 391-401. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2000.tb02179.x>.
- Haugland, Gyri T., Albert K. Dagbjartarson Imsland, Patrick Reynolds, et Jim Treasurer. 2020. « Application of Biological Control: Use of Cleaner Fish ». In *Aquaculture Health Management*, 319-69. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813359-0.00010-5>.
- Hayatgheib, Niki, Ségolène Calvez, Catherine Fournel, Lionel Pineau, Hervé Pouliquen, et Emmanuelle Moreau. 2021. « Antimicrobial Susceptibility Profiles and Resistance Genes in Genus *Aeromonas* Spp. Isolated from the Environment and Rainbow Trout of Two Fish Farms in France ». *Microorganisms* 9 (6): 1201. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061201>.
- Heimbürge, Susen, Ellen Kanitz, Armin Tuchscherer, et Winfried Otten. 2020. « Within a Hair's Breadth – Factors Influencing Hair Cortisol Levels in Pigs and Cattle ». *General and Comparative Endocrinology* 288 (mars): 113359. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.113359>.
- Herbert, Neill A., Sunil Kadri, et Felicity A. Huntingford. 2011. « A Moving Light Stimulus Elicits a Sustained Swimming Response in Farmed Atlantic Salmon, *Salmo Salar* L. ». *Fish Physiology and Biochemistry* 37 (2): 317-25. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9499-7>.
- Huntingford, F. A., C. Adams, V. A. Braithwaite, S. Kadri, T. G. Pottinger, P. Sandoe, et J. F. Turnbull. 2006. « Current Issues in Fish Welfare ». *Journal of Fish Biology* 68 (2): 332-72. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.001046.x>.

- Iwama, George K., Mathilakath M. Vijayan, Rob B. Forsyth, et Paige A. Ackerman. 1999. « Heat Shock Proteins and Physiological Stress in Fish ». *American Zoologist* 39 (6): 901-9. <https://doi.org/10.1093/icb/39.6.901>.
- Karvonen, Anssi, Mariella Aalto-Araneda, Anna-Maija Virtala, Raine Kortet, Perttu Koski, et Pekka Hyvärinen. 2016. « Enriched Rearing Environment and Wild Genetic Background Can Enhance Survival and Disease Resistance of Salmonid Fishes during Parasite Epidemics ». Édité par Angela Strecker. *Journal of Applied Ecology* 53 (1): 213-21. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12568>.
- Kubitza, Fernando, et Leonard L. Lovshin. 1999. « Formulated Diets, Feeding Strategies, and Cannibalism Control during Intensive Culture of Juvenile Carnivorous Fishes ». *Reviews in Fisheries Science* 7 (1): 1-22. <https://doi.org/10.1080/10641269991319171>.
- Lambert, Helen, Amelia Cornish, Angie Elwin, et Neil D’Cruze. 2022. « A Kettle of Fish: A Review of the Scientific Literature for Evidence of Fish Sentience ». *Animals* 12 (9): 1182. <https://doi.org/10.3390/ani12091182>.
- Martínez-Porchas, Marcel, et Luis Rafael Martínez-Córdova. 2009. « Cortisol and Glucose: Reliable Indicators of Fish Stress? »
- Martins, Catarina I. M., Leonor Galhardo, Chris Noble, Børge Damsgård, Maria T. Spedicato, Walter Zupa, Marilyn Beauchaud, et al. 2012. « Behavioural Indicators of Welfare in Farmed Fish ». *Fish Physiology and Biochemistry* 38 (1): 17-41. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9518-8>.
- McKibben, Lauren Allen, et Yogesh Dwivedi. 2021. « MicroRNA Regulates Early-Life Stress-Induced Depressive Behavior via Serotonin Signaling in a Sex-Dependent Manner in the Prefrontal Cortex of Rats ». *Biological Psychiatry Global Open Science* 1 (3): 180-89. <https://doi.org/10.1016/j.bpsgos.2021.05.009>.
- Merkin, Grigory V., Bjorn Roth, Camilla Gjerstad, Erik Dahl-Paulsen, et Ragnar Nortvedt. 2010. « Effect of Pre-Slaughter Procedures on Stress Responses and Some Quality Parameters in Sea-Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) ». *Aquaculture* 309 (1-4): 231-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.08.025>.
- Meyer, Jerrold, Melinda Novak, Amanda Hamel, et Kendra Rosenberg. 2014. « Extraction and Analysis of Cortisol from Human and Monkey Hair ». *Journal of Visualized Experiments*, n° 83 (janvier): 50882. <https://doi.org/10.3791/50882>.
- Moreau, Emmanuelle, Lionel Pineau, Florine Bachelet, Antoine Rostang, Kenny Oberlé, et Ségolène Calvez. 2023. « Time Effect of Experimental Infection on Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) by Immersion with *Aeromonas Salmonicida* Subsp. *Salmonicida* ». *Fish & Shellfish Immunology* 135 (avril): 108664. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108664>.
- Näslund, Joacim, et Jörgen I Johnsson. 2016. « Environmental Enrichment for Fish in Captive Environments: Effects of Physical Structures and Substrates ». *Fish and Fisheries* 17 (1): 1-30. <https://doi.org/10.1111/faf.12088>.
- Neindre, Pierre Le, Muriel Dunier, Alain Boissy, Emilie Bernard, Xavier Boivin, Ludovic Calandreau, Nicolas Delon, et al. 2017. « La conscience animale: une expertise scientifique collective de l’Inra ».
- Noble, Chris, Kristine Gismervik, et Martin H. Iversen. 2020. « Welfare Indicators for farmed rainbow trout: tools for assessing fish welfare ».
- Palstra, Arjan P., et Josep V. Planas. 2011. « Fish under Exercise ». *Fish Physiology and Biochemistry* 37 (2): 259-72. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9505-0>.

- Papoutsoglou, Sofronios E., Nafsika Karakatsouli, Christos Skouradakis, Eustratios S. Papoutsoglou, Alkistis Batzina, Georgios Leondaritis, et Nikolaos Sakellariadis. 2013. « Effect of Musical Stimuli and White Noise on Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Growth and Physiology in Recirculating Water Conditions ». *Aquacultural Engineering* 55 (juillet): 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.01.003>.
- Parker, Timothy M., et Michael E. Barnes. 2014. « Rearing Velocity Impacts on Landlocked Fall Chinook Salmon (<i>Oncorhynchus Tshawytscha</i>) Growth, Condition, and Survival ». *Open Journal of Animal Sciences* 04 (05): 244-52. <https://doi.org/10.4236/ojas.2014.45031>.
- Pickering, A. D., et T. G. Pottinger. 1989. « Stress Responses and Disease Resistance in Salmonid Fish: Effects of Chronic Elevation of Plasma Cortisol ». *Fish Physiology and Biochemistry* 7 (1-6): 253-58. <https://doi.org/10.1007/BF00004714>.
- Pounder, Kieran C., Jennifer L. Mitchell, Jack S. Thomson, Tom G. Pottinger, Jonathan Buckley, et Lynne U. Sneddon. 2016. « Does Environmental Enrichment Promote Recovery from Stress in Rainbow Trout? ». *Applied Animal Behaviour Science* 176 (mars): 136-42. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2016.01.009>.
- Prunet, P, A Sturm, et S Milla. 2006. « Multiple corticosteroid receptors in Fish : From old ideas to new concepts », 2006, sect. Volume 147, Issue 1 Pages 17-23. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648006000220>.
- Räihä, Ville, Lotta-Riina Sundberg, Roghaieh Ashrafi, Pekka Hyvärinen, et Anssi Karvonen. 2019. « Rearing Background and Exposure Environment Together Explain Higher Survival of Aquaculture Fish during a Bacterial Outbreak ». Édité par Nessa O'Connor. *Journal of Applied Ecology* 56 (7): 1741-50. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13393>.
- Rueda, Pablo Almazán. 2004. *Towards Assessment of Welfare in African Catfish, Clarias Gariepinus: The First Step*. Wageningen, Netherlands: Wageningen University.
- Ryan, Brigid, Joanna M. Williams, et Maurice A. Curtis. 2019. « Plasma MicroRNAs Are Altered Early and Consistently in a Mouse Model of Tauopathy ». *Neuroscience* 411 (juillet): 164-76. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.05.036>.
- Sadoul, Bastien, et Benjamin Geffroy. 2019. « Measuring Cortisol, the Major Stress Hormone in Fishes ». *Journal of Fish Biology* 94 (4): 540-55. <https://doi.org/10.1111/jfb.13904>.
- Salvanes, Anne Gro Vea, Olav Moberg, Lars O. E. Ebbesson, Tom Ole Nilsen, Knut Helge Jensen, et Victoria A. Braithwaite. 2013. « Environmental Enrichment Promotes Neural Plasticity and Cognitive Ability in Fish ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280 (1767): 20131331. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1331>.
- Sánchez-Vázquez, Francisco Javier, Jose Fernando López-Olmeda, Luisa Maria Vera, Herve Migaud, Marcos Antonio López-Patiño, et Jesús M. Míguez. 2019. « Environmental Cycles, Melatonin, and Circadian Control of Stress Response in Fish ». *Frontiers in Endocrinology* 10 (juin): 279. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00279>.
- Schreck, C.B. 2000. « The Biology of Animal Stress, Section : Accumulation and Long-Term Effects of Stress in Fish ». *Animal Stress*, 147-58.
- Seibel, Henrike, Björn Baßmann, et Alexander Rebl. 2021. « Blood Will Tell: What Hematological Analyses Can Reveal About Fish Welfare ». *Frontiers in Veterinary Science* 8 (mars): 616955. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.616955>.
- S.Gavaud, et K.Haurogné. 2021. « Extraction et dosage du cortisol pilaire ».
- Skjøien, Kristoffer Rist, Morten Omholt Alver, et Jo Arve Alfredsen. 2018. « Modelling and Simulation of Rotary Feed Spreaders with Application to Sea Cage Aquaculture – A

- Study of Common and Alternative Designs ». *Aquacultural Engineering* 82 (août): 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.11.002>.
- Sneddon, L. U., V. A. Braithwaite, et M. J. Gentle. 2003. « Do Fishes Have Nociceptors? Evidence for the Evolution of a Vertebrate Sensory System ». *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270 (1520): 1115-21. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2349>.
- Sneddon, Lynne U. 2002. « Anatomical and Electrophysiological Analysis of the Trigeminal Nerve in a Teleost Fish, *Oncorhynchus Mykiss* ». *Neuroscience Letters* 319 (3): 167-71. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)02584-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)02584-8).
- . 2015. « Pain in Aquatic Animals ». *Journal of Experimental Biology* 218 (7): 967-76. <https://doi.org/10.1242/jeb.088823>.
- . 2018. « Comparative Physiology of Nociception and Pain ». *Physiology* 33 (1): 63-73. <https://doi.org/10.1152/physiol.00022.2017>.
- . 2019. « Evolution of Nociception and Pain: Evidence from Fish Models ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 374 (1785): 20190290. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0290>.
- Stephensen, Eiríkur, Margaretha Adolfsson-Erici, Mats Hulander, Jari Parkkonen, et Lars Förlin. 2005. « Rubber Additives Induce Oxidative Stress in Rainbow Trout ». *Aquatic Toxicology* 75 (2): 136-43. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.07.008>.
- Stratholt, Miles L., Edward M. Donaldson, et N. Robin Liley. 1997. « Stress Induced Elevation of Plasma Cortisol in Adult Female Coho Salmon (*Oncorhynchus Kisutch*), Is Reflected in Egg Cortisol Content, but Does Not Appear to Affect Early Development ». *Aquaculture* 158 (1-2): 141-53. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00165-8).
- Wahab, M A, Z F Ahmed, M Aminul Islam, M S Haq, et S M Rahmatullah. 1995. « Effects of Introduction of Common Carp, *Cyprinus Carpio* (L.), on the Pond Ecology and Growth of Fish in Polyculture ». *Aquaculture Research* 26 (9): 619-28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1995.tb00953.x>.
- Walker, M. Greer, et L. Emerson. 1978. « Sustained Swimming Speeds and Myotomal Muscle Function in the Trout, *Salmo Gairdneri* ». *Journal of Fish Biology* 13 (4): 475-81. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1978.tb03457.x>.
- Weld, Madeline M, James N Fryer, Jean Rivier, et Karl Lederis. 1987. « Inhibition of CRF- and urotensin I-stimulated ACTH release from goldfish pituitary cell columns by the CRF analogue a-helical CRF-(9-41) », 273-80.
- Wells, Deborah L. 2009. « Sensory Stimulation as Environmental Enrichment for Captive Animals: A Review ». *Applied Animal Behaviour Science* 118 (1-2): 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.01.002>.
- Wendelaar Bonga, S. E. 1997. « The Stress Response in Fish ». *Physiological Reviews* 77 (3): 591-625. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>.
- Yoshino, Yuta, Bhaskar Roy, et Yogesh Dwivedi. 2022. « Corticosterone-Mediated Regulation and Functions of MiR-218-5p in Rat Brain ». *Scientific Reports* 12 (1): 194. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03863-y>.
- Zhang, Zonghang, Lijia Gao, et Xiumei Zhang. 2022. « Environmental Enrichment Increases Aquatic Animal Welfare: A Systematic Review and Meta-analysis ». *Reviews in Aquaculture* 14 (3): 1120-35. <https://doi.org/10.1111/raq.12641>.

Annexes

Annexe 1 : Description de l'air lift

L'air lift est un tuyau verticale percé par 75 trous de 1 mm de diamètre disposés de manière hélicoïdale sur 7,5 cm du tuyau. Sur le tuyau vertical, est placée une chambre de compression sur les 75 trous (Figure 59) où de l'air est introduit par un tuyau en silicone de 5 mm de diamètre. Cela permet de faire remonter de l'eau dans le tuyau. L'échange air-eau se fait par les trous de 1 mm. Plus les trous sont petits plus il y a de bulles dans le tuyau et plus la surface d'échange air-eau est conséquente. Cela engendre un courant d'eau oxygénée qui parcourt le tuyau. Une colonne de dégazage a été mise en place afin d'évacuer l'air (pauvre en oxygène) en fin de course du tuyau. Cela permet d'avoir moins d'air en sortie du tuyau et de ne pas troubler la surface de l'eau. L'eau ainsi plus lourde, car dégazée, entraîne par sa densité le système complet.

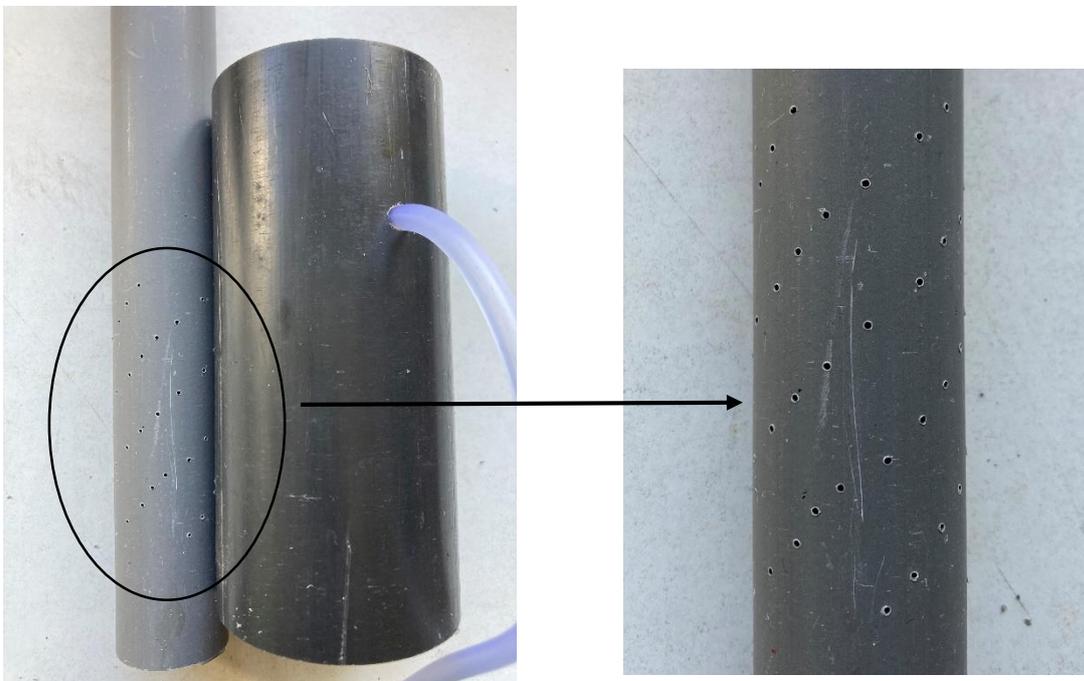


Figure 59 : Photographies du tuyau perforé en hélice.

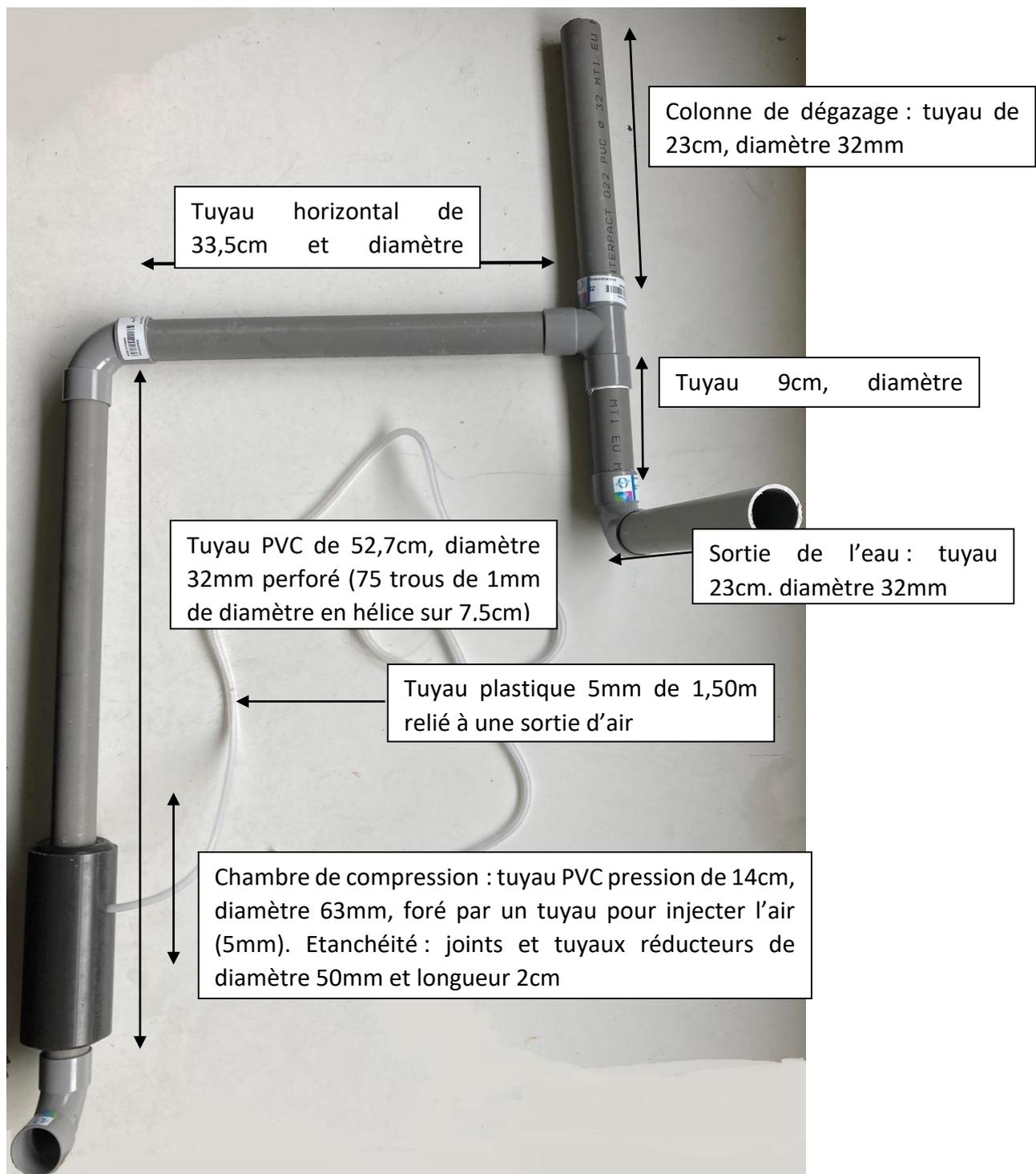


Figure 60 : Photographie d'un air-lift.

Les coudes font 2 cm de longueur 32 mm de diamètre et le degré est de 87°. Les trépieds de biche font 8,5 cm de longueur, 32 mm de diamètre et 87° de degré.

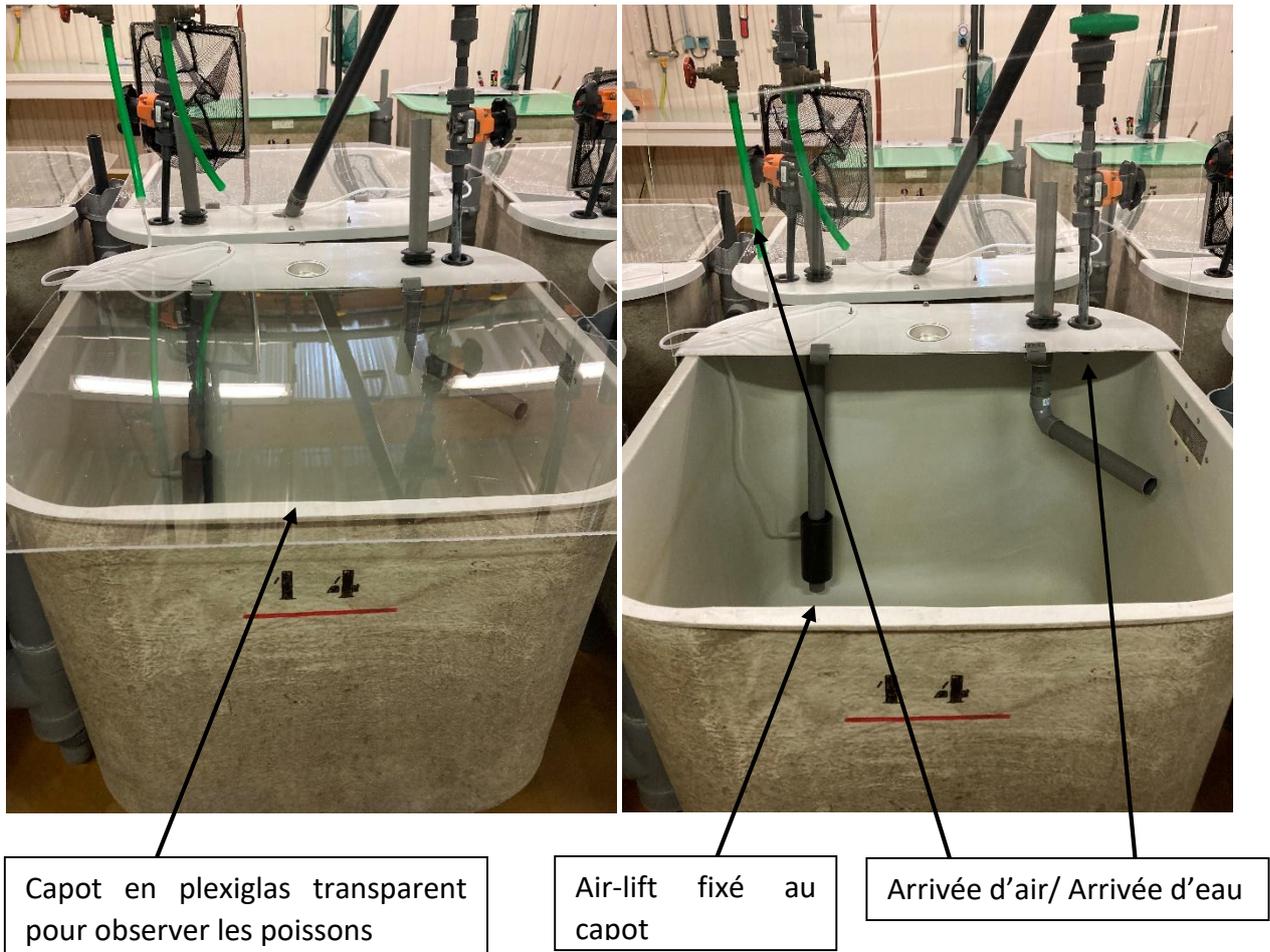


Figure 61 : Photographies d'un bac 200L équipé du système d'air-lift.

Sur la Figure 61 nous pouvons voir un système de capot en plexiglas équipé du système d'air-lift. Ce système nous permet de pouvoir observer aisément le comportement des poissons.

Une expérience pour comparer les deux systèmes d'oxygénation de l'eau a été réalisée. Nous avons mis en place 5 bacs avec les biomasses suivantes : bac 1,2,3 : 8 poissons de 400 g dans 200 L = 16 kg/m³, bac 4, 5 : 9 poissons 400 g dans 200 L = 18 kg/m³.

Chaque bac va servir dans un premier temps à l'expérience des air-lift puis dans un deuxième temps à l'expérience des bulleurs. Ainsi nous pourrons comparer les deux méthodes sur des biomasses identiques. Le but étant de valider le modèle air-lift pour s'affranchir d'une surface troublée par les bulles et ainsi observer les poissons de manière optimale.

Tout d'abord, nous avons noté les valeurs d'oxygène dans les bacs avec un oxymètre. Le bac n'étant pas homogène en oxygène suite à l'oxygénation par les bulles nous avons relevé les mesures en sortie de bac. Nous avons coupé air-lift et bulleur, au bout de 60 min nous avons relevé la valeur en oxygène pour les 5 bacs. Nous avons alors constaté que le simple renouvellement d'eau permet de maintenir une concentration minimale en oxygène dans le bac. Nous avons ensuite réalisé une cinétique sur 30 min après avoir relancé les air-lift. L'expérience a été réitérée avec les bulleurs.

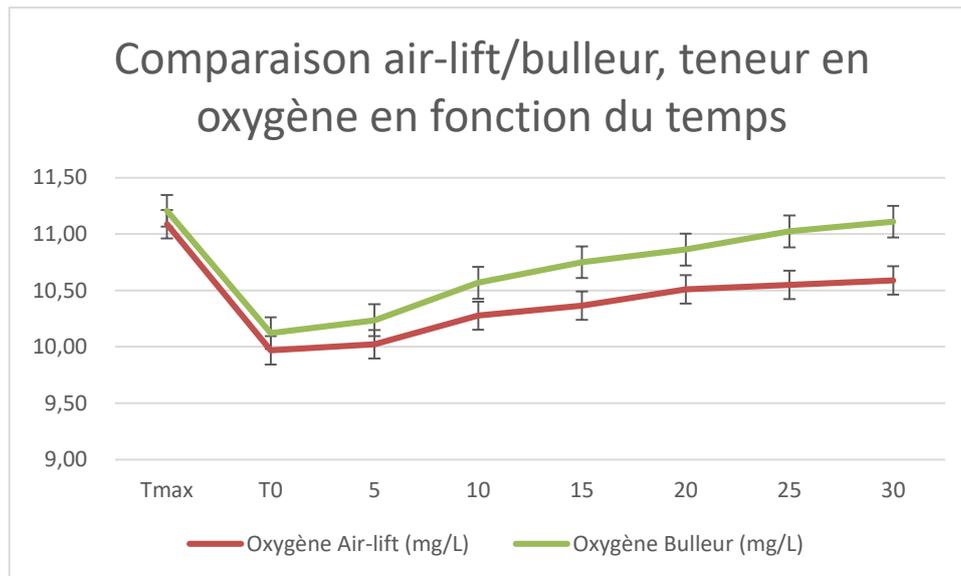
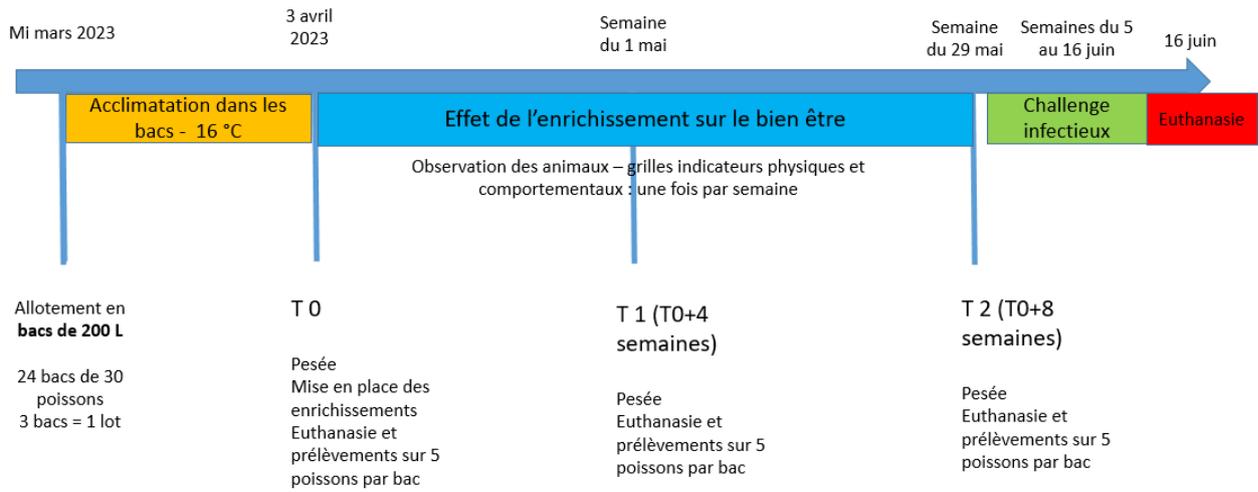


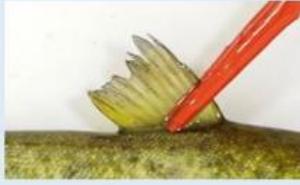
Figure 62 : Graphique comparant l'efficacité des air-lift par rapport aux bulleurs, la teneur en oxygène est exprimée en fonction du temps.

Nous constatons que les bulleurs atteignent les valeurs d'oxygène standards plus rapidement que les air-lift. Les bulleurs sont plus efficaces que les air-lift. Cependant, le système air-lift associé à l'apport d'eau du système recirculé permet de regagner des valeurs en oxygène standards en 30 minutes ce qui est acceptable pour notre expérience. Nous avons donc choisi d'utiliser le système d'air-lift. 24 air-lift ont donc été construits pour l'expérience (1 par bac de 200 L).

Annexe 2 : Planning des expériences



Annexe 3: Schéma morphologique pour le diagnostic et la classification des principales lésions externes de la nageoire dorsale (Noble, Gismervik, et Iversen 2020).

	1	2	3
Healed fin damage	 <p>Most of the fin remaining</p>	 <p>Half of the fin remaining</p>	 <p>Very little of the fin remaining</p>
Active fin damage, splitting, haemorrhaging	 <p>Most of the fin remaining</p>	 <p>Half of the fin remaining</p>	 <p>Very little of the fin remaining</p>

Annexe 4 : Grille utilisée lors des trois temps de l'expérience pour noter, le poids, la taille et le score des nageoires

N° Poisson	Taille (longueur à la fourche)	Poids	Scores (cf Noble et al. 2020)														
			Erosion de nageoire Dorsale		Erosion de nageoire Caudale		Erosion des nageoires Pelviennes		Erosion de nageoires Pectorales		Erosion opercules	Erosion nez/bouche	Perte des écailles	Nécroses	Exophtalmie	Déformation vertébrale	
			Cicatrisé	Avif	Cicatrisé	Avif	Cicatrisé	Avif	Cicatrisé	Avif	Cicatrisé	Avif					
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	
14																	
15																	
16																	
17																	
18																	
19																	
20																	
21																	
22																	
23																	
24																	
25																	
26																	
27																	
28																	
29																	
30																	

Annexe 5 : Grille d'observation du comportement des poissons des bacs 24 bacs de 200L

Date :			
Heure :			
N°bassin et type d'enrichissement			
Temps passé depuis le dernier repas (en min)			
Réaction à l'homme	1) Pas de réaction)	2) Poissons à moitié groupés devant ou à l'opposé de l'observateur	3) Tous les poissons sont groupés à l'opposé/devant l'observateur
<i>Préciser la réaction</i>			
Temps d'habituation avant retour au comportement normal			

Indicateurs comportementaux (phase 1)	T0 min	T 5 min	Remarques
Activité de nage (% d'individus dans chaque activité)			
Nage active			
Nage stagnante			
Activité du bac (de 1 à 3)			
Orientation de la nage (% d'individus dans chaque activité)			
Désorientée/désorganisée			
Comportement de banc (% d'individus dans chaque activité)			
Répartition hétérogène (si homogène %G1 = 100%)			

Groupe 1 (% du bac)			
G1 : Zones (Fond : 1, Milieu : 2 et/ou Surface : 3)			
G1 : Activité (Calme : 1, Moyen : 2, Agité : 3)			
G1 : Environnement (Tube PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3)			
Groupe 2 (% du bac)			
G2 : Zones (Fond : 1, Milieu : 2 et/ou Surface : 3)			
G2 : Activité (Calme : 1, Moyen : 2, Agité : 3)			
G2 : Environnement (Tube PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3)			
Répartition horizontale (% d'individus dans chaque zone)			
Bien répartis sur l'ensemble de la surface			
Au centre du bassin			
Sur les bords du bassin			
Répartition dans les enrichissements (% d'individus dans chaque zone)			
Tunnels en caoutchouc (tuyaux)			
Laminaires : nombre d'individus par min			
Bulleur			
Filtre bleu			
Autres zones			
Indicateurs comportementaux (phase 2)	Total sur 5min (nombre)		Total

Sauts		Moribonds	
Accélérations brusques/changement brusques de direction		Mortalité	
Déséquilibre natatoire vessie			
Comportements agressifs			
Hyperventilation en surface			
Prostration			
Comportements stéréotypés			
Nage verticale			
Nage sur le flanc			
Frottement des lèvres/flancs contre la paroi			
Alimentation			
Prise alimentaire/Refus			
Approche vers opérateur lors de la distribution			
Caractéristiques physiques			
Couleur anormale			
Conformation anormale (gonflé ou maigre)			
Yeux anormaux			

Annexe 6 : Grille d'observation des symptômes de la maladie de la furunculose

Casdar BEA

SUIVI MORBIDITES ET MORTALITE

Ecole Nationale Vétérinaire
ONIRIS

Salle 3 Bac : 25 Nombre de poisson : 15

Date d'inoculation : Témoin tsb 500 ml le 05/06/23

N° du poisson	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Date de mortalité																
Date de morbidité / Euthanasie																
	Furoncile															
Presence *	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Taille																
Perforant*																
	Rate															
Taille : hypertrophie ? *	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
TD hémorragique *	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Bactériologie															
Autopsie *	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Aeromonas *	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
Remarque	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS

* OUI: O / Non : N

Annexe 7 : Dictionnaires de données pour le codage dans R

Dictionnaire de données concernant la base de données par individu notée 1 :

Nom variable	Signification	Codage R	Type	Unité	Commentaires
Poissons	Indentification du poisson par rapport à son numéro, à son bac et au temps de prélèvement	Poisson	Qualitatif nominale	Concaténation du temps de prélèvement, du numéro du bac et du numéro du poisson	« P » sur les grilles
Numéro du bac	Numéro de chaque bac	Num_Bac	Qualitatif nominale	B1 à B24	« B » sur les grilles
Numéro du poissons	Numéro du poissons (de 1 à 30)	Num_Poisson	Qualitatif nominale	P1 à P30	
Temps	Temps de prélèvement	Temps	Qualitatif nominale	T1 à T3	
Poids	Poids de chaque poisson en gramme	Poids	Quantitatif continue	Gramme	
Taille	Taille de chaque poisson en cm	Taille	Quantitatif continue	Gramme	
Conditions	Conditions d'enrichissement	Condition	texte		
Erosion nageoire dorsale cicatrisé	Score d'érosion nageoire dorsale cicatrisé	Dorsale_Cicatrise	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion nageoire dorsale à vif	Score d'érosion nageoire dorsale à vif	Dorsale_Vif	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion nageoire caudale cicatrisé	Score d'érosion nageoire caudale cicatrisé	Caudale_Cicatrise	Quantitatif discret	De 1 à 3	

Erosion nageoire caudale à vif	Score d'érosion nageoire caudale à vif	Caudale_Vif	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion nageoires pelviennes cicatrisé	Score d'érosion nageoires pelviennes cicatrisé	Pelvienne_Cicatrise	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion nageoires pelviennes à vif	Score d'érosion nageoires pelviennes à vif	Pelvienne_Vif	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion nageoires pectorales cicatrisé	Score d'érosion nageoires pectorales cicatrisé	Pectorale_Cicatrise	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion nageoires pectorales à vif	Score d'érosion nageoires pectorales à vif	Pectorale_Vif	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Erosion opercules	Score d'érosion opercules	Opercule	Quantitatif discret	De 0 à 3	
Erosion opercules	Score d'érosion bouche/nez	Bouche	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Nécroses	Score de nécroses	Nécrose	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Exophtalmie	Scores d'exophtalmie	Exophtalmie	Quantitatif discret	De 1 à 3	
Déformation vertébrale	Score de déformation vertébrale	Déformation	Quantitatif discret	De 1 à 3	

Glucose	Concentration en glucose plasmatique en g/L	Glu	Quantitatif continue	En g/L	
Lactates	Concentration en lactates plasmatique en mmol/L	Lact	Quantitatif continue	En mmol/L	
Cortisol sang	Concentration en cortisol plasmatique en mmol/L	Cort_Sang	Quantitatif continue	En mmol/L	
Cortisol écailles	Concentration en cortisol dans les écailles en pg/mg	Cort_Ecaille	Quantitatif continue	En pg/mg	
Poids écailles	Poids écailles	Poids_Ecaille	Quantitatif continue	En mg	
Concentration cortisol écailles	Concentration cortisol écailles ng/ml	Cort_Ecaille1	Quantitatif continue	En ng/ml	
Cortisol nageoires	Concentration en cortisol dans les nageoires en pg/mg	Cort_Nageoire	Quantitatif continue	En pg/mg	
Poids nageoires	Poids nageoires	Poids_Nageoire	Quantitatif continue	En mg	
Concentration cortisol nageoires	Concentration cortisol nageoire ng/ml	Cort_Nageoire1	Quantitatif continue	En ng/ml	

Dictionnaire de données concernant la base de données d'observation du comportement des 24 bacs notée 2 :

Nom variable	Signification	Codage R	Type	Unité	Commentaires
Bac	Identification du bac en fonction de la semaine d'observation, de son numéro et de sa condition	Bac	Qualitatif nominale	Concaténation de la semaine d'observation, du numéro du bac et de la condition d'enrichissement	
N°bac	Numéro du bac	Num_Bac1	Qualitatif nominale	De 1 à 24	
Conditions	Conditions d'enrichissement	Condition	texte		
Semaine d'observation	Numéro de la semaine d'observation	Num_Semaine	Qualitatif nominale	De S1 à S7	
Temps de retour à la normale	Temps nécessaire aux poissons pour retrouver un comportement normal	Temps_Normale	Quantitatif continue	De 0 à l'infini en minutes	
Nage active	Pourcentage de poissons qui nagent	Nage_Active	Quantitatif discret	pourcentage	
Nage stagnante	Pourcentage de poissons immobiles	Nage_Immobile	Quantitatif discret	pourcentage	
Activité du bac	Activité du bac	Activite_Bac	Quantitatif discret	De 1 à 3	Calme : 1, Moyen : 2, Agité : 3
Nage désorientée	Nage désorientée	Nage_Desorientee	Quantitatif binaire	2 modalités : - 1 = Oui - 0 = Non	
Groupe 1 (% du bac)	Pourcentage du groupe 1	Groupe1	Quantitatif discret	pourcentage	

G1 : Zones	Zone où se situent les poissons du groupe 1	Zone_Groupe1	Quantitatif discret	1, 2,3, 12, 13, 23 et 123	Fond : 1, Milieu : 2 et/ou Surface : 3
G1 : Activité	Activité du groupe 1	Activite_Groupe1	Quantitatif discret	De 1 à 3	Calme : 1, Moyen : 2, Agité : 3
G1 : Environnement	Utilisation des enrichissements par le groupe 1	Enrichissement_Groupe1	Quantitatif discret	1, 2,3, 12, 13, 23 et 123	Tube PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3
Groupe 2 (% du bac)	Pourcentage du groupe 2	Groupe2	Quantitatif discret	pourcentage	
G2 : Zones	Zone où se situent les poissons du groupe 2	Zone_Groupe2	Quantitatif discret	1, 2,3, 12, 13, 23 et 123	Fond : 1, Milieu : 2 et/ou Surface : 3
G2 : Activité	Activité du groupe 2	Activite_Groupe2	Quantitatif discret	De 1 à 3	Calme : 1, Moyen : 2, Agité : 3
G2 : Environnement	Utilisation des enrichissements par le groupe 2	Enrichissement_Groupe2	Quantitatif discret	1, 2,3, 12, 13, 23 et 123	Tube PVC : 1, Enrichissement : 2, Autres zones : 3
Bien répartis sur l'ensemble de la surface	Répartition sur l'ensemble de la surface	Ensemble_Surface	Quantitatif binaire	2 modalités : - 1 = Oui - 0 = Non	
Au centre du bassin	Répartition au centre du bassin	Centre_Bassin	Quantitatif binaire	2 modalités : - 1 = Oui - 0 = Non	

Sur les bords du bassin	Répartition sur les bords du bassin	Bords_Bassin	Quantitatif binaire	2 modalités : - 1 = Oui - 0 = Non	
Tube PVC	Utilisation du tube PVC	Tube_PVC	Quantitatif discret	pourcentage	
Enrichissements	Utilisation de l'enrichissement mis en place	Enrichissement	Quantitatif discret	pourcentage	
Laminaires/Herbe : nombre d'individus par min	Nombre d'individus qui passent dans les laminaires ou l'herbe en 1 min	Nombre_Laminaire	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Sauts	Nombre de sauts en 5 min	Saut	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Accélération s	Nombre d'accélération en 5 min	Acceleration	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Déséquilibre vessie natatoire	Nombre de déséquilibre de la vessie natatoire en 5 min	Vessie	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Comportements agressifs	Nombre de comportements agressifs en 5 min	Agression	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Hyperventilation en surface	Nombres d'hyperventilation en surface en 5 min	Hyperventilation	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Prostration	Nombre d'animaux prostrés en 5 min	Prostration	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Nage verticale	Nombre de poissons qui nage verticalement en 5 min	Nage_Verticale	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	

Nage sur le flanc	Nombre de poissons qui nage sur le flanc en 5 min	Nage_Flanc	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Frottement parois	Nombre qui se frotte sur les parois en 5 min	Frottement	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Prise alimentaire	Poissons mangent rapidement après la distribution de nourriture	Alim	Quantitatif binaire	2 modalités : - 1 = Oui - 0 = Non	
Approche opérateur	Poissons s'approche de l'opérateur lors de la distribution de nourriture	Operateur	Quantitatif binaire	2 modalités : - 1 = Oui - 0 = Non	
Couleur anormale	Nombre de poissons avec une couleur anormale	Couleur	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Conformation anormale	Nombre de poissons avec une conformation anormale	Conformation	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Yeux anormaux	Nombre de poissons avec des yeux anormaux	Yeux	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Moribonds	Nombre de poissons moribonds	Moribond	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	
Mortalité	Nombre de poissons morts	Mort	Quantitatif discret	De 0 à l'infini	

Dictionnaire de données concernant la base de données relative au challenge infectieux notée 3 :

Nom variable	Signification	Codage R	Type	Unité	Commentaires
Poissons	Indentification du poisson par rapport à son numéro, à son bac	Poisson	Qualitatif nominale	Concaténation du numéro du bac et du numéro du poisson	
Numéro du bac	Numéro de chaque bac	Num_Bac	Qualitatif nominale	B1 à B24	
Numéro du poissons	Numéro du poissons (de 1 à 15)	Num_Poisson	Qualitatif nominale	P1 à P30	
Date de mort	Date de la mort (naturel ou euthanasie) du poisson	Date_mort	Date		
Mort ou Moribond	Spécifie si le poisson est mort naturellement ou a été euthanasié	Mort_Morb	Quantitatif binaire	1 si mort 0 si euthanasié car morbide 2 si euthanasié en fin d'expérience	
Furoncle	Précise si présence de furoncle ou non sur le poisson	Furoncle	Quantitatif binaire	1 si oui 0 sinon	
Taille Furoncle	Précise la taille du furoncle en cm2	Furoncle_Taille	Quantitatif continue		
Furoncle perforant	Précise si présence de furoncle perforant ou non sur le poisson	Furoncle_Perforant	Quantitatif binaire	1 si oui 0 sinon	
Rate hypertrophique	Précise si la rate est	Rate_hyper	Quantitatif binaire	1 si oui 0 sinon	

	hypertrophique ou non				
TD hémorragique	Précise si le tube digestif est hémorragique	TD_hemo	Quantitatif binaire	1 si oui 0 sinon	
Autopsie	Précise si l'autopsie a été réalisé	Autops	Quantitatif binaire	1 si oui 0 sinon	
Bactério	Précise si la Aeromonas a été retrouvé à la bactériologie	Bacterio	Quantitatif binaire	1 si oui 0 sinon	

Annexe 8 : Tableaux des résultats de poids moyen pour les temps T1, T2 et T3

Temps T1 :

Poids moyen en gramme par bac au temps T1 (30 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	97,21	94,54	96,24	97,76	103,12	98,07	97,39	103,17
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	99,87	97,83	93,72	95,46	103,42	96,55	97,72	100,77
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	94,38	98,49	97,89	94,04	89,76	100,31	99,73	95,20

Poids moyen en gramme par bac au temps T1 (25 poissons anesthésiés) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	98,05	95,50	94,58	95,96	100,85	99,00	97,93	102,64
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	102,34	99,42	94,84	96,00	101,67	99,71	98,08	99,53
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	96,53	98,76	95,74	93,99	92,20	100,68	98,20	96,36

Poids moyen en gramme par triplicat au temps T1 (25 poissons anesthésiés) :

Triplikat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Poids moyen	98,95	97,77	97,67	98,20

Triplicat	Bullage	Herbe flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Poids moyen	97,53	95,86	97,01	99,87

Poids moyen en gramme par triplicat au temps T1 (30 poissons par bac) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Poids moyen	99,41	97,00	97,76	97,38
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Poids moyen	95,83	96,11	96,92	100,46

Moyenne et écart type des poids moyens en gramme par bac et par triplicat au temps T1 :

	Par triplicat	Par bac (25 anesthésiés)	Par bac (30 poissons)	De l'ensemble
Moyenne	97,86	97,86	97,61	97,61
Ecart type	1,21	2,75	3,27	14,65

Temps T2 :

Poids moyen en gramme par bac au temps T2 (25 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	132,30	128,78	126,90	129,62	140,63	133,80	134,12	135,44
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	137,48	134,66	126,34	128,58	136,20	134,00	131,18	133,88
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	128,52	129,36	129,97	128,38	128,62	132,40	128,32	129,80

Poids moyen en gramme par bac au temps T2 (20 poissons anesthésiés) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	131,96	125,48	124,53	127,91	138,92	134,14	132,29	138,60
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	138,17	135,95	127,00	128,36	139,85	134,74	133,67	136,06
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	125,01	131,06	129,56	128,85	126,93	133,77	128,78	129,19

Poids moyen en gramme par triplicat au temps T2 (25 poissons par bac) :

Triplikat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Poids moyen	135,31	133,16	130,61	131,99
Triplikat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Poids moyen	130,88	129,69	130,41	131,04

Poids moyen en gramme par triplicat au temps T2 (20 poissons anesthésiés) :

Triplikat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Poids moyen	134,96	134,24	130,29	130,91
Triplikat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Poids moyen	131,23	129,17	129,97	132,81

Moyenne et écart type des poids moyens en gramme par bac (20 poissons anesthésiés ou les 25) et par triplicat au temps T2 :

	Par triplicat (20 anesthésiés)	Par triplicat (25 poissons)	Par bac (20 anesthésiés)	Par bac (25 poissons)	De l'ensemble
Moyenne	131,70	131,64	131,70	131,64	131,64
Ecart type	2,09	1,82	4,67	3,65	19,15

Gain moyen en gramme entre T1 et T2 (25 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	34,25	33,28	32,32	33,66	39,78	34,80	36,18	32,79
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	35,14	35,24	31,50	32,58	34,52	34,29	33,10	34,36
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	31,99	30,60	34,23	34,39	36,41	31,88	30,12	33,44

Moyennes et écart types des gains moyens en gramme par bac et par triplicat entre T1 et T2 :

	Par triplicat	Par bac
Moyenne	33,79	33,79
Ecart type	1,56	2,05

Temps T3 :

Poids moyen en gramme par bac au temps T3 (20 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	170,17	161,31	159,79	176,01	180,92	173,09	175,21	178,06
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	178,84	176,54	164,42	166,53	180,65	174,35	174,43	176,17
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	166,71	167,50	168,15	165,96	167,27	171,11	167,16	166,38

Poids moyen en gramme par bac au temps T3 (15 poissons anesthésiés) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Poids moyen	172,64	155,28	151,95	169,69	183,60	175,59	174,42	179,25
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Poids moyen	180,55	174,68	165,81	165,81	178,85	172,98	177,21	175,64
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Poids moyen	169,76	166,73	164,76	166,89	167,44	166,50	168,86	166,01

Poids moyen en gramme par triplicat au temps T3 (20 poissons par bac) :

Triplikat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Poids moyen	176,85	174,82	171,17	171,23
Triplikat	Bullage	Herbe flottaison	en Témoin négatif	Témoin positif
Poids moyen	169,65	166,28	168,00	170,97

Poids moyen en gramme par triplicat au temps T3 (15 poissons anesthésiés) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Poids moyen	178,41	173,66	167,40	171,69
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Poids moyen	170,48	164,81	165,58	171,61

Moyenne et écart type des poids moyens en gramme par bac (15 poissons anesthésiés ou les 20) et par triplicat au temps T3 :

	Par triplicat	Par bac (15 anesthésiés)	Par bac (20 poissons)	De l'ensemble
Moyenne	171,12	170,45	171,12	171,11
Ecart type	3,42	7,49	5,99	24,31

Moyennes et écart types des gains moyens en gramme par bac et par triplicat entre T1 et T3 :

	Par triplicat	Par bac
Moyenne	73,26	73,26
Ecart type	2,81	4,21

Annexe 9 : Tableaux des résultats de taille moyenne pour les temps T1, T2 et T3

Temps T1 :

Taille moyenne en centimètre par bac au temps T1 (30 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Taille (cm)	20,38	20,05	20,05	20,02	20,30	20,12	20,02	20,57
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Taille (cm)	20,33	20,18	19,88	19,82	20,33	19,98	20,00	20,20
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Taille (cm)	19,73	20,10	19,94	19,54	19,38	20,11	19,98	19,73

Taille moyenne en centimètre par bac au temps T1 (25 poissons anesthésiés) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Taille (cm)	20,50	20,18	19,98	19,96	20,24	20,28	20,10	20,66
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Taille (cm)	20,56	20,28	20,06	19,92	20,32	20,28	20,02	20,18
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Taille (cm)	19,92	20,08	19,80	19,44	19,50	20,20	20,00	19,78

Taille moyenne en centimètre par triplicat au temps T1 (25 poissons anesthésiés) :

Triplikat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	20,12	20,03	19,98	20,09

Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	20,28	19,90	20,09	20,25

Taille moyenne en centimètre par triplicat au temps T1 (30 poissons par bac) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	20,11	19,97	19,95	20,00
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	20,08	19,90	20,02	20,22

Moyenne et écart type des tailles moyennes en centimètre par bac (25 poissons anesthésiés ou les 30) et par triplicat au temps T1 :

	Par triplicat	Par bac (25 anesthésiés)	Par bac (30 poissons)	De l'ensemble
Moyenne	20,09	20,09	20,03	20,03
Ecart type	0,13	0,29	0,27	0,99

Temps T2 :

Taille moyenne en centimètre par bac au temps T2 (25 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Taille (cm)	22,12	21,74	21,57	21,52	21,92	21,89	21,93	22,14
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Taille (cm)	22,44	21,90	21,68	21,70	21,98	22,12	21,77	22,08
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Taille (cm)	21,74	21,54	21,88	21,44	21,45	21,93	21,60	21,52

Taille moyenne en centimètre par bac au temps T2 (20 anesthésiés) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Taille (cm)	22,18	21,60	21,55	21,38	21,75	21,89	21,78	22,28
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Taille (cm)	22,48	21,85	21,70	21,68	22,10	22,05	21,83	22,18
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Taille (cm)	21,60	21,63	21,90	21,40	21,37	21,95	21,60	21,50

Taille moyenne en centimètre par triplicat au temps T2 (20 poissons anesthésiés) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	21,78	21,77	21,61	21,99
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	21,98	21,61	21,82	21,83

Taille moyenne en centimètre par triplicat au temps T2 (25 poissons par bac) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	21,87	21,78	21,66	22,02
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	21,97	21,63	21,84	21,76

Moyenne et écart type des tailles moyennes en centimètre par bac (20 poissons anesthésiés ou les 25) et par triplicat au temps T2 :

	Par triplicat (20 poissons anesthésiés)	Par triplicat (25 poissons)	Par bac (20 poissons anesthésiés)	Par bac (25 poissons)	De l'ensemble
Moyenne	21,80	21,82	21,80	21,82	21,82
Ecart type	0,14	0,14	0,30	0,26	1,13

Temps T3 :

Taille moyenne en centimètre par bac au temps T3 (20 poissons par bac) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Taille (cm)	23,73	22,98	22,98	23,37	23,88	23,71	23,70	24,05
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Taille (cm)	24,43	24,03	23,58	23,66	24,25	24,18	23,80	24,28
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Taille (cm)	23,68	23,70	24,13	23,35	23,63	23,81	23,48	23,70

Taille moyenne en centimètre par bac au temps T3 (20 anesthésiés) :

N° bac	Bac 1	Bac 2	Bac 3	Bac 4	Bac 5	Bac 6	Bac 7	Bac 8
Taille (cm)	23,73	22,57	22,57	23,04	23,96	23,75	24,00	24,10
N° bac	Bac 9	Bac 10	Bac 11	Bac 12	Bac 13	Bac 14	Bac 15	Bac 16
Taille (cm)	24,37	23,87	23,50	23,57	24,17	24,18	23,83	24,20
N° bac	Bac 17	Bac 18	Bac 19	Bac 20	Bac 21	Bac 22	Bac 23	Bac 24
Taille (cm)	23,79	23,63	23,83	23,27	23,50	23,50	23,50	23,70

Taille moyenne en centimètre par triplicat au temps T3 (20 poissons par bac) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	23,79	23,97	23,63	24,08
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	23,83	23,35	23,64	23,74

Taille moyenne en centimètre par triplicat au temps T2 (15 poissons anesthésiés) :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taille moyenne	23,80	23,84	23,41	24,00
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taille moyenne	23,80	23,19	23,45	23,72

Moyenne et écart type des tailles moyennes en centimètre par bac (15 poissons anesthésiés ou les 20) et par triplicat au temps T3 :

	Par triplicat (15 poissons anesthésiés)	Par triplicat (20 poissons)	Par bac (15 poissons anesthésiés)	Par bac (20 poissons)	De l'ensemble
Moyenne	23,65	23,75	23,65	23,75	23,75
Ecart type	0,27	0,23	0,45	0,37	1,33

Annexe 10 : Tableaux des résultats de la glycémie moyenne pour les temps T1, T2 et T3

Temps T1 :

Moyenne de la concentration en glucose en g/L par bac au temps T1 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Glucose (g/L)	0,72	0,82	0,75	0,89	0,86	0,69	0,75	0,76
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Glucose (g/L)	0,63	0,72	0,89	0,79	0,69	0,79	0,81	0,62
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Glucose (g/L)	0,76	0,56	0,72	0,54	0,68	0,65	0,77	0,62

Moyenne de la concentration en glucose en g/L par triplicat au temps T1 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Glucose (g/L)	0,81	0,70	0,72	0,70
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Glucose (g/L)	0,80	0,66	0,74	0,70

Moyenne et écart type des concentrations en glucose (g/L) par bac, par triplicat et l'ensemble des individus au temps T1 :

	Par triplicat	Par bac	De l'ensemble
Moyenne	0,73	0,73	0,73
Ecart type	0,05	0,09	0,17

Temps T2 :

Moyenne de la concentration en glucose en g/L par bac au temps T2 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Glucose (g/L)	0,67	0,68	0,50	0,45	0,60	0,44	0,56	0,53
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Glucose (g/L)	0,76	0,68	0,68	0,60	0,63	1,09	0,55	0,54
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Glucose (g/L)	0,42	0,56	0,57	0,65	0,58	0,77	0,68	0,90

Moyenne de la concentration en glucose en g/L par triplicat au temps T2 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Glucose (g/L)	0,57	0,63	0,71	0,58
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Glucose (g/L)	0,81	0,53	0,61	0,59

Moyenne et écart type des concentrations en glucose (g/L) par bac, par triplicat et l'ensemble des individus au temps T2 :

	Par triplicat	Par bac	De l'ensemble
Moyenne	0,63	0,63	0,63
Ecart type	0,09	0,15	0,25

Temps T3 :

Moyenne de la concentration en glucose en g/L par bac au temps T3 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Glucose (g/L)	0,59	0,49	0,60	0,50	0,64	0,49	0,62	0,62
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Glucose (g/L)	0,59	0,64	0,61	0,52	0,44	0,52	0,55	0,65
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Glucose (g/L)	0,41	0,47	0,33	0,46	0,48	0,45	0,57	0,90

Moyenne de la concentration en glucose en g/L par triplicat au temps T3 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Glucose (g/L)	0,60	0,52	0,60	0,44
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Glucose (g/L)	0,57	0,51	0,55	0,55

Moyenne et écart type des concentrations en glucose (g/L) par bac, par triplicat et l'ensemble des individus au temps T3 :

	Par triplicat	Par bac	De l'ensemble
Moyenne	0,54	0,54	0,54
Ecart type	0,05	0,11	0,16

Annexe 11 : Tableaux des résultats de la lactatémie moyenne pour les temps T1, T2 et T3

Temps T1 :

Moyenne de la concentration en lactate en mmol/L par bac au temps T1 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Lactates (mmol/L)	5,51	4,64	4,46	4,78	4,09	4,45	5,98	4,64
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Lactates (mmol/L)	4,21	4,94	5,19	5,75	4,43	4,74	5,12	5,91
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Lactates (mmol/L)	4,73	3,45	4,28	2,98	2,88	4,10	4,23	3,95

Moyenne de la concentration en lactate en mmol/L par triplicat au temps T1 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Lactates (mmol/L)	5,07	4,08	4,28	4,41
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Lactates (mmol/L)	5,15	3,96	5,43	4,11

Moyenne et écart type des concentrations en lactate (mmol/L) par bac, par triplicat et de l'ensemble des individus au temps T1 :

	Par triplicat	Par bac	De l'ensemble	Moyenne P1 et P2	Moyenne P3,P4 et P5
Moyenne	4,56	4,56	4,56	3,97	4,96
Ecart type	0,57	0,80	1,25	1,04	1,24

Temps T2 :

Moyenne de la concentration en lactates en mmol/L par bac au temps T2 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Lactates (mmol/L)	4,01	4,88	6,20	6,40	5,16	4,23	4,67	4,11
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Lactates (mmol/L)	4,66	5,10	5,44	5,27	6,08	8,11	3,14	3,82
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Lactates (mmol/L)	4,58	3,23	5,51	5,44	5,67	6,13	5,85	8,20

Moyenne de la concentration en lactates en mmol/L par triplicat au temps T2 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Lactates (mmol/L)	4,32	5,62	6,91	4,92
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Lactates (mmol/L)	5,85	5,29	4,66	4,40

Moyenne et écart type des concentrations en lactates (mmol/L) par bac, par triplicat et de l'ensemble des individus au temps T2 :

	Par triplicat	Par bac	De l'ensemble
Moyenne	5,24	5,24	5,24
Ecart type	0,87	1,27	1,52

Temps 3 :

Moyenne de la concentration en lactates en mmol/L par bac au temps T3 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Lactates (mmol/L)	5,03	4,05	3,37	3,57	3,07	2,28	2,69	2,24
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Lactates (mmol/L)	3,45	3,29	3,09	3,46	4,30	4,30	4,54	5,20
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Lactates (mmol/L)	3,67	2,73	3,10	3,22	3,96	3,81	4,23	5,38

Moyenne de la concentration en lactates en mmol/L par triplicat au temps T3 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Lactates (mmol/L)	3,43	3,85	4,25	3,41
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Lactates (mmol/L)	4,14	2,96	4,24	3,07

Moyenne et écart type des concentrations en lactate (mmol/L) par bac, par triplicat et de l'ensemble des individus au temps T3 :

	Par triplicat	Par bac	De l'ensemble
Moyenne	3,69	3,69	3,69
Ecart type	0,52	0,85	1,13

Annexe 12 : Tableaux des résultats de la cortisolémie moyenne pour les temps T1, T2 et T3

Temps T1 :

Moyenne de la concentration en cortisol en nmol/L par bac au temps T1 des individus P1 et P2 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Cortisol (nmol/L)	6,0	113,0	142,0	187,0	180,0	137,0	126,5	92,5
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Cortisol (nmol/L)	84,5	143,0	77,0	152,0	115,5	157,5	191,5	108,0
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Cortisol (nmol/L)	62,5	56,5	180,0	28,5	97,5	129,5	107,0	141,0

Moyenne de la concentration en cortisol en nmol/L par triplicat au temps T1 des individus P1 et P2 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Cortisol (nmol/L)	166,0	118,7	152,5	109,0
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Cortisol (nmol/L)	80,7	102,5	124,3	85,3

Temps T2 :

Moyenne de la concentration en cortisol en nmol/L par bac au temps T2 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Cortisol (nmol/L)	32,0	21,8	39,8	31,6	61,4	48,8	59,8	103,2
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Cortisol (nmol/L)	100,8	75,0	17,0	63,2	53,8	31,0	82,0	44,6
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Cortisol (nmol/L)	60,6	72,8	28,6	9,6	24,8	22,8	47,2	9,6

Moyenne de la concentration en cortisol en nmol/L par triplicat au temps T2 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Cortisol (nmol/L)	67,7	51,2	21,3	63,3
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Cortisol (nmol/L)	26,7	32,7	43,2	74,4

Temps T3 :

Moyenne de la concentration en cortisol en nmol/L par bac au temps T3 :

N° bac	1	2	3	4	5	6	7	8
Cortisol (nmol/L)	81,8	46,8	98,4	47,6	17,6	28,6	51,6	71,4
N° bac	9	10	11	12	13	14	15	16
Cortisol (nmol/L)	58,2	66,6	50,6	21,2	13,4	20,0	24,0	38,0
N° bac	17	18	19	20	21	22	23	24
Cortisol (nmol/L)	14,6	32,6	17,8	33,0	25,2	9,2	25,4	22,6

Moyenne de la concentration en cortisol en nmol/L par triplicat au temps T3 :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Cortisol (nmol/L)	31,1	35,1	24,5	30,2
Triplicat	Bullage	Herbe flottaison en	Témoin négatif	Témoin positif
Cortisol (nmol/L)	50,8	53,3	35,3	41,3

Annexe 13 : Tableaux des résultats de la grille de comportement

Pourcentage de poissons présentant une nage active :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Pourcentage (%)	41,0	40,5	67,6	18,8
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Pourcentage (%)	59,0	77,1	66,0	61,9

Pourcentage d'utilisation du tube PVC par condition :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Pourcentage d'utilisation du tuyau PVC	12,9%	8,3%	6,9%	3,3%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Pourcentage d'utilisation du tuyau PVC	6,7%	4,0%	6,2%	0%

Annexe 14 : Résultats du challenge infectieux

Taux de mortalité, taux de morbidité et incidence de la maladie :

Triplicat	Filtre bleu	Laminaires	Paroi caoutchouc	Tuyau caoutchouc
Taux mortalité de	55,6%	59,1%	62,2%	47,7%
Taux morbidité de	22,2%	13,6%	11,1%	18,2%
Taux survivants de	22,2%	27,3%	26,7%	34,1%
Taux d'incidence de la maladie de	77,8%	72,7%	73,3%	65,9%
Triplicat	Bullage	Herbe en flottaison	Témoin négatif	Témoin positif
Taux mortalité de	63,6%	77,3%	60,0%	80,0%
Taux morbidité de	27,3%	15,9%	24,4%	17,8%
Taux survivants de	9,1%	6,8%	15,6%	2,2%
Taux d'incidence de la maladie de	90,9%	93,2%	84,4%	100%

VECHART Baptiste

EFFET DE L'ENRICHISSEMENT DU MILIEU D'ELEVAGE DE LA TRUITE ARC-EN-CIEL SUR L'AMELIORATION DU BIEN-ETRE ANIMAL

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 10 octobre 2023

RESUME

La majorité de la consommation de poisson dans le monde a pour origine l'aquaculture. Au vu de cette augmentation, il est intéressant de se pencher sur les conditions d'élevage des poissons et notamment sur leur bien-être. Une des voies pour améliorer ces conditions d'élevage est l'enrichissement de l'environnement.

La présente étude s'intéresse à l'effet de l'enrichissement du milieu d'élevage de la truite arc-en-ciel sur l'amélioration du bien-être animal, sur les performances de croissance et sur la résistance des animaux face à un agent pathogène. Nous avons montré que les enrichissements mis en place n'avaient pas d'influence sur les performances de croissance et sur les résultats des marqueurs sanguins (cortisol, lactate et glucose).

En revanche, les enrichissements comme les tuyaux en caoutchouc, les laminaires et le filtre bleu sont pertinents en termes d'utilisation par les poissons mais aussi sur l'aspect de la résistance aux agents pathogènes. L'enrichissement « paroi en caoutchouc » ne semble pas quant à lui approprié au regard de son manque d'utilisation par les poissons.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés également à la transposition de ces enrichissements à l'échelle de l'élevage. Cela ne semble pas être une tâche aisée. En effet, une telle mise en œuvre représente un investissement financier important sans pour autant avoir de garantie d'amélioration du bien-être ou des performances de croissance des animaux. C'est pourquoi la notion d'enrichissement mérite encore d'être étudiée en prenant notamment en compte les attentes des éleveurs.

MOTS CLES :

- TRUITE ARC-EN-CIEL
- BIEN-ETRE ANIMAL
- AQUACULTURE
- ENRICHISSEMENT ENVIRONNEMENTAL
- CORTISOL
- STRESS
- PERFORMANCES DE CROISSANCE
- LACTATES
- GLUCOSE
- COMPORTEMENT

DATE DE SOUTENANCE : 10 octobre 2023