

# Effets de l'inuline et des fructooligosaccharides sur la réponse au stress chronique chez les juvéniles de sandre (*Sander lucioperca*)

A. BAULU<sup>1</sup>, R. MANDIKI<sup>2</sup>

(Reçu le 14/04/2019; Accepté le 11/01/2020)

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'inuline et des fructooligosaccharides sur le taux de croissance et la réponse au stress chronique chez les juvéniles du sandre (*Sander lucioperca*). Ainsi, quatre traitements constitués de deux doses (10 et 20 g/kg d'aliment) de ces deux additifs alimentaires ont été testés en triplicat via des granulés expérimentaux sur des poissons de poids moyen initial  $14,6 \pm 0,04$  g en comparaison à deux groupes témoins (témoin stressé et témoin non stressé). Pour tous les traitements, l'aliment est constitué de farines animales et végétales avec des teneurs en protéines brutes et lipides respectivement de 40,1 et 12,0%. Étant donné que l'objectif est d'évaluer si l'administration de prébiotiques pouvait limiter les effets de la réponse au stress chronique, le premier stress a été appliqué à J7, puis par la suite une fois par semaine jusqu'à J36, soit au total 5 manipulations d'exondation. Après 36 jours de nourrissage, les paramètres de croissance et physiologiques ont été déterminés. Comparativement aux poissons témoins, le stress d'exondation n'a pas eu d'effet significatif sur la vitesse de croissance. Cependant, des différences significatives ont été observées à partir de 20 g/kg d'aliment au niveau du traitement à l'IN2 avec des valeurs de GP (%) et SGR (%/j) plus élevées que les autres traitements. Quant aux paramètres physiologiques, le niveau de cortisol était plus élevé chez les témoins stressés comparativement à tous les autres groupes, mêmes ceux nourris aux prébiotiques. Cependant, les prébiotiques ont significativement limité l'augmentation du cortisol indiquant une influence positive des prébiotiques sur la réponse au stress. Au vue de ces résultats, il serait souhaitable par les études supplémentaires de tester d'autres doses afin de déterminer le taux d'incorporation optimal de prébiotiques dans l'alimentation des juvéniles de sandre pour mieux limiter les effets de stress.

**Mots clés:** *Sander lucioperca*, inuline, fructooligosaccharides, stress d'exondation, cortisol, glucose

## Inulin and fructooligosaccharides effects on chronic stress response of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*)

### Abstract

The goal of this study is to evaluate the effect of the inulin and fructooligosaccharides on growth and response to chronic stress of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). Four treatments of two rates (10 and 20 g/kg of food) of these two feed additives were tested in three replicates using experimental feed granules on fishes of medium initial weight of  $14,6 \pm 0,4$  g by and comparing them to two control groups (stress and no stress controls). For all treatments, the feed is composed of animal and vegetal meal having protein and fat contents of respectively 40,1 and 12,0%. As the goal was to evaluate if administration a prebiotic could limit the effects of chronic stress, the first stress was applied at day 7, and every week thereafter up to day 36, a total of five manipulations of pond drying. After 36 days of feeding, growth and physiological parameters were assessed. Comparatively to control fish, pond drying stress had no significant effect on fish growth rate. However, significant differences were observed at additive rate of 20 gr per kg the food (20 gr/kg) in treatment IN2 with values of GP (%) and SGR (%/day) that were higher than in others treatments. The level of cortisol was also higher of the stressed controls when compared to all other group, even those fed with prebiotics. Prebiotics had however significantly limited the increase in cortisol indicating their positive effect on stress response. From the results, other studies should test additional rates of probiotics to determine the optimal rate of prebiotics in the feed of pikeperch juveniles to limit the effects of stress.

**Keywords:** *Sander lucioperca*, inulin, fructooligosaccharide, pond drying stress, cortisol, glucose

## INTRODUCTION

Dans plusieurs pays européens, il y a un intérêt croissant pour l'élevage de sandre (*Sander lucioperca*) en aquaculture à cause de sa croissance relativement rapide et sa valeur économique élevée (Koop *et al.*, 2009). De plus, ce poisson est apprécié dans l'alimentation humaine, suite à sa bonne qualité organoleptique (Dil et Teletcheae, 2008; Zdzislaw et Krystyna, 2009). A ce titre, il est parmi les espèces prometteuses de percidés en élevage intensif (Hilge et Steffens, 1996; Gozea *et al.*, 2008; Zakes, 1999; Kestemont et Mélard, 2000 et Philipsen, 2008).

Plusieurs études ont été menées avec comme objectifs soit de développer la reproduction artificielle (Schlumberger et Proteau, 1996; Demska-zakeoe et Zakeoe, 2002) soit l'élevage au stade larvaire et juvéniles sous des conditions contrôlées (Hilge et Steffens, 1996). Bien que l'élevage de juvéniles de sandre soit réalisé actuellement dans des conditions contrôlées, le rendement de cet élevage reste

encore insuffisant à cause d'une mortalité et d'un taux de cannibalisme élevés (Kestemont et Mélard, 2000). Une réponse élevée au stress pourrait aussi être évoquée pour expliquer la mortalité élevée ainsi que le faible taux de croissance au cours de ces jeunes stades, étant donné qu'il a déjà été montré que les percidés seraient plus sensibles au stress que les salmonidés (Jentoft *et al.*, 2005). Dans bien de cas, les pratiques d'élevage présentent de nombreux facteurs de stress pouvant compromettre directement ou indirectement la capacité de croissance et le statut physiologique chez le poisson (Segner *et al.*, 2012; Douxfils *et al.*, 2014) et augmenter aussi la sensibilité des poissons aux maladies infectieuses (Siwiki *et al.*, 2012). En élevage, le stress est considéré comme un facteur important pouvant conduire à l'altération de la santé chez les poissons. Ainsi, les animaux résistants au stress peuvent être considérés comme des bons candidats pour la domestication (Awata *et al.*, 2011; Douxfils *et al.*, 2014).

<sup>1</sup> Institut National pour l'Étude et la Recherche Agronomique, Laboratoire d'aquaculture, Yaekama, RD Congo

<sup>2</sup> Unité de Recherche en Biologie Environnementale et Évolutive, Université de Namur, Namur, Belgique

Face à cette situation, de nombreux composés peuvent être ajoutés dans l'alimentation des poissons pour aider le mécanisme de défense contre le stress et les maladies (Siwika *et al.*, 2006). Le recours à l'utilisation des immunostimulants comme les prébiotiques peut améliorer la croissance des micro-organismes symbiotiques et contre-carrer le développement des pathogènes pour constituer ainsi un traitement prophylactique intéressant en aquaculture (Cerezuela *et al.*, 2013). La maîtrise de l'utilisation des prébiotiques pourrait être une stratégie prophylactique qui aurait un grand intérêt pour le développement de l'aquaculture de sandre mais aussi pour atténuer l'émergence et l'épandage des antibiotiques dans l'environnement (Siwika *et al.*, 2009; Mandiki *et al.*, 2011). Chez les salmonidés, il a été montré que certains prébiotiques ont un effet bénéfique sur la santé et la croissance ainsi que la diminution des agents pathogènes (Ringo *et al.*, 2010). Chez les percidés, l'étude réalisée par Siwika *et al.*, (2009) a relevé un effet positif des bêta-glucanes sur le mécanisme cellulaire et la défense humorale non spécifique. Les études visant à démontrer l'importance des prébiotiques pour atténuer la réponse au stress sont rares.

C'est dans cette optique que nous comparons l'efficacité de deux types de prébiotiques, fructooligosaccharides et inuline, sur la croissance et la résistance au stress chronique chez les juvéniles de sandre.

### Intérêts des prébiotiques en aquaculture

Au cours de deux dernières décennies, l'utilisation traditionnelle des antibiotiques dans l'aquaculture a été critiquée en raison du développement potentiel des bactéries résistantes, la présence de résidus d'antibiotiques dans les fruits de mer, la destruction des populations microbiennes dans l'environnement et la suppression du système immunitaire chez les poissons (Sapkota *et al.*, 2008, Ringo *et al.*, 2010).

Comme stratégie alternative aux antibiotiques, les probiotiques ont récemment attiré une grande attention en aquaculture. De nombreux rapports ont été publiés concernant l'application des probiotiques dans le milieu aquacole (Wang *et al.*, 2008). Différents effets ont été démontrés et, en premier lieu, une modulation du système immunitaire et une protection contre les infections bactériennes, mais qui est très variable en fonction de l'espèce de poisson (Nicolas *et al.*, 2007). De plus, l'application à grande échelle des probiotiques reste limitée, en raison du coût élevé de leur production, des questions de réglementation et de sécurité et des défis concernant l'incorporation dans les aliments extrudés (Ringo *et al.*, 2010).

Il semblerait plus pratique de manipuler la microflore digestive des animaux aquatiques grâce à l'utilisation de prébiotiques qui en créant des conditions favorables au développement de certaines espèces bactériennes symbiotiques peuvent inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes et améliorer ainsi l'efficacité du système immunitaire et réduire la sensibilité aux maladies de l'organisme hôte (Nicolas *et al.*, 2007; Ringo *et al.*, 2010).

L'utilisation des prébiotiques peut avoir un rôle d'augmenter le taux de croissance et de changer la communauté bactérienne dans la voie gastro-intestinale (Nicolas *et al.*, 2007; Yousefian et Amiri, 2009; Ringo *et al.*, 2010). Aussi, selon Gatlin et Peredo (2012) les bactéries bénéfiques pour

la santé, le plus souvent augmentées par les prébiotiques comprennent ceux du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, qui limitent la présence de bactéries nocives.

Cependant, l'étude réalisée par Siwika *et al.*, (2009), avec les bêta-glucanes sur le mécanisme cellulaire et la défense humorale non spécifique chez les juvéniles de sandre n'a relevé aucun effet positif sur le taux de croissance et l'état général des poissons.

Parmi les principaux prébiotiques déjà connus en alimentation humaine et pour les animaux terrestres, très peu ont déjà été testés à ce jour chez le poisson (Ringo *et al.*, 2010). Parmi ceux-ci, on peut citer l'inuline, fructooligosaccharides (FOS), mannanoligosaccharides (MOS), galactooligosaccharides (GOS), xylooligosaccharides (XOS), arabinoxyloligosaccharides (AXOS), isomaltoligosaccharides (ISOS) et des produits composés comme GroBiotic® incluant un ou plusieurs prébiotiques et d'autres substances de diverses natures.

### Objectifs de l'étude

La présente étude a comme objectif principal d'évaluer les effets de l'inuline et de fructooligosaccharides sur le taux de croissance et la réponse au stress chronique chez les juvéniles de sandre. Les objectifs spécifiques de notre expérience sont:

- D'évaluer l'effet du stress d'exondation sur la croissance et la réponse physiologique chez les juvéniles de sandre;
- De comparer le potentiel d'actions de deux polysaccharides (FOS vs inuline) chez les juvéniles de sandre.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### Lieu et durée de l'expérience

L'élevage des juvéniles de sandre et l'analyse des indicateurs de la réponse au stress ont été effectués à l'Unité de Recherche en Biologie Environnementale et Évolutive (URBE) de l'Université de Namur. L'élevage a duré trente-six jours, du 01/07/2014 au 05/08/2014.

### Matériel biologique

Les poissons utilisés sont des juvéniles de sandre, de poids moyen initial de  $11,3 \pm 0,3$  g en provenance d'Excellence Fish BV (Eric Philipsen), localisée au Pays Bas. Les poissons ont été acclimatés durant environ un mois avant le début de la phase expérimentale (du 28/05/2014 au 30/06/2014).

### Protocole expérimental

Le présent protocole (10137KE) a été réalisé avec l'accord du comité d'éthique local pour les expériences animales, conformément aux directives européennes en matière de bien-être animal.

### Traitements appliqués

Deux additifs alimentaires conditionnés sous forme de poudre lyophilisée ont été testés: Inuline et fructooligosaccharides qui sont des extraits des plantes. Les deux types d'additifs ont été administrés via des granulés expérimentaux fabriqués au laboratoire. Deux doses d'inuline et fructooligosaccharides ont été comparées à un témoin. De plus,

tous les lots recevant ces prébiotiques ont été soumis une fois par semaine à un stress d'exondation de 30 secondes en comparaison à des groupes stressés nourris avec l'aliment témoin. Ainsi, quatre traitements ont été testés comme suit:

- Inuline = IN: deux doses respectives de 1 et 2% soit 10 et 20 g/kg d'aliment;
- Fructooligosaccharides = FOS: deux doses respectives de 1 et 2% soit 10 et 20 g/kg d'aliment;
- Contrôle témoin stressé = CTS: sans inuline ni fructooligosaccharides;
- Contrôle témoin = CT: sans inuline ni fructooligosaccharides.

Le stress d'exondation consiste à une vidange complète de l'eau du bassin d'élevage, tout en laissant exposer les poissons à l'air libre pendant environ 30 secondes.

Comme chaque traitement a été réalisé en trois répétitions, dix-huit bassins répartis en trois circuits séparés ont été utilisés; chaque condition est représentée dans chacun des circuits par une répétition (Tableau 1).

### Conditions expérimentales

Les juvéniles (de poids moyen initial de  $14,6 \pm 0,04$  g) ont été répartis sur 18 bassins (Tableau 1), à raison 23 poissons par bassin. Les bassins ont été intégrés dans un système d'alimentation en circuit fermé muni d'un système de filtration mécanique et biologique et de système de chauffage électrique et de pompes d'aération. Afin de réduire un peu la densité, chaque bassin d'une capacité utile de 100 litres n'était rempli qu'au un quart (75 L); le taux de renouvellement a été de 4 l/min.

Durant l'expérience, la température de l'eau a varié entre 21,5 et 24,0 °C avec une moyenne de  $22,8 \pm 1,9$ °C et le taux d'oxygène dissous a été de  $6,8 \pm 0,2$  mg/l. Ces paramètres ont été contrôlés quotidiennement tandis que le dosage d'ammonium ( $0,10 \pm 0,04$  mg/l  $\text{NH}_4^+$ ), de nitrates ( $3,8 \pm 0,8$  mg/l  $\text{NO}_3$ ) et de nitrites ( $0,028 \pm 0,025$  mg/l  $\text{NO}_2$ ) hebdomadairement. Le siphonage des bassins a été effectué régulièrement afin d'éviter la dégradation du milieu d'élevage.

Les bassins d'élevage ont été couverts avec des planches opaques, pour fournir un abri aux poissons et éviter la sensibilité lumineuse lors de nourrissage. Avant le début de l'expérience, les poissons ont été nourris pendant au moins 3 semaines avec de l'aliment témoin afin de les habituer avec de granulés expérimentaux fabriqués localement.

Durant toute la phase d'élevage, les poissons ont été nourris manuellement à satiété visuelle, à une fréquence de trois fois par jours (à 9h00, 12h00 et 15h00). Le niveau de

rationnement était vérifié sur la base des ingérés enregistrés et était d'environ 2%. A la fin de chaque journée, les quantités d'aliments distribués ont été enregistrées pour la détermination des paramètres d'utilisation de l'aliment.

### Préparation des aliments expérimentaux

Pour chaque régime, tous les ingrédients ont été pesés selon leurs proportions. Les ingrédients de petites proportions ont été d'abord introduits dans un petit mixeur pour homogénéiser le mélange pendant environ 30 minutes y compris les doses nécessaires de poudres lyophilisées (FOS et Inuline). Après, tous les ingrédients ont été ajoutés dans un grand mixeur pour être mélangé tandis que l'huile de foie de morue a été ajoutée progressivement. Ensuite, une petite quantité d'eau a été ajoutée progressivement aux ingrédients pendant le mélange pour rendre l'ensemble compact. À la fin du mélange, l'ensemble a été introduit dans une boudineuse, munie d'une grille de 1,5 mm de diamètre de maille, afin d'obtenir des pellets en forme de spaghettis. L'aliment obtenu a été mis à sécher à température ambiante pendant environ 48 heures puis concassés en forme de granulés (pelleting) qui a été conservé dans des seaux étiquetées dans une chambre froide (4°C). L'aliment témoin a été formulé de la même façon, sans ajout d'additifs.

### Conduite du stress répété d'exondation

Étant donné que l'objectif était de déterminer si l'administration des prébiotiques pouvait limiter les effets de la réponse au stress chronique, il fallait d'abord habituer les poissons aux aliments expérimentaux. Le premier stress a été réalisé à J7, puis par la suite une fois par semaine jusqu'à J36, soit au total 5 exondations. Les bassins témoins dans lesquels les poissons n'ont pas été soumis au facteur de stress tout long de la période expérimentale, ont été utilisés comme contrôle positif.

Pour chaque bassin exondé, l'exondation a été réalisée à l'aide d'une pompe et la durée pour vider l'eau a été d'environ 5 minutes, puis on allumait le chronomètre pendant 30 secondes avant de remettre l'eau dans le bassin en circulation.

### Évaluation de la réponse physiologique au stress à J36

Afin d'évaluer la sensibilité du sandre au stress répété d'exondation, un prélèvement d'organes (sang, foie, rate et reins) a été réalisé à J36 après le stress d'exondation tel que décrit au paragraphe précédent. Le prélèvement a été fait une heure post-stress. Quatre poissons ont été capturés rapidement dans chaque bassin, placés dans un seau contenant de l'acide amino-benzoïque (MS222, 150 mg/L). Dès les signes d'induction de l'état de l'anesthésie,

**Tableau 1: Les traitements et les doses appliquées dans chaque circuit d'élevage de juvéniles de sandre**

CIRCUIT I						CIRCUIT II					
CT	CTS	IN1	FOS1	IN2	FOS2	CT	CTS	IN1	FOS1	IN2	FOS2
0	0	10*	10*	20*	20*	0	0	10*	10*	20*	20*
CIRCUIT III						CIRCUIT II					
CT	CTS	IN1	FOS1	IN2	FOS2	CT	CTS	IN1	FOS1	IN2	FOS2
0	0	10*	10*	20*	20*	0	0	10*	10*	20*	20*

\*Doses de l'inuline (IN) et fructooligosaccharides (FOS) en gramme par kilogramme d'aliment (g/kg)

le prélèvement de sang est réalisé de façon à ne pas dépasser 5 min entre la capture des quatre poissons de chaque bassin. Puis le poisson est euthanasié, pesé et ensuite disséqué afin de prélever le foie, la rate et les reins. Étant donné la faible taille des juvéniles, en moyenne, 200-350 µl de sang ont été obtenus par poisson au niveau de la veine caudale. Après la prise de sang, le sang a été placé dans les eppendorfs héparines et gardé sur glace (4°C). Ensuite, le sang a été centrifugé pendant 10 minutes à 7500 RCF afin de récupérer le plasma. Le plasma a été alors aliquoté ( $\pm$  50 µl) pour les différents dosages et placé au congélateur (-80°C). Les paramètres étudiés pour l'évaluation de la réponse au stress a été le cortisol et le glucose plasmatique pour la réponse physiologique.

### Paramètres de croissance et utilisation de l'aliment

Pour caractériser l'évolution des paramètres de croissance, les poissons de chaque bassin ont été pesés individuellement au début et à la fin de l'expérience J0 et J36. La quantité d'aliments distribués quotidiennement, ainsi que le nombre de morts, ont été enregistrés afin de déterminer le taux de survie et les indices de l'utilisation de l'aliment.

Les différents paramètres sont calculés selon les formules suivantes:

$$\text{Taux de survie TS (\%)} = 100 * (\text{Ef/Ei})$$

$$\text{Gain de poids GP (\%)} = ((\text{Pf-Pi})/\text{Pi}) * 100$$

$$\text{Taux de croissance spécifique SGR (\% j}^{-1}\text{)} = 100 * (\ln \text{Pf} - \ln \text{Pi}) / \Delta t$$

$$\text{Gain de poids GP (mg/j)} = 1000 * (\text{Pf-Pi}) / \Delta t$$

$$\text{Taux de conversion alimentaire FCR} = \text{Rd} / (\text{Bf-Bi})$$

$$\text{Efficacité de conversion alimentaire ECA} = 1/\text{FCR}$$

Avec:

Pi: Poids moyen individuel initial (g)

Pf: Poids moyen individuel final (g)

Ei: Effectif initial

Ef: Effectif final

Bi: Biomasse initiale (g)

Bf: Biomasse finale (g)

Rd: Ration ou quantité d'aliment consommé ou distribué (g)

$\Delta t$  : Nombre de jours

### Dosage des indicateurs physiologiques

Au cours de cette étude, nous avons choisi comme indicateurs de stress le cortisol et le glucose qui sont des indicateurs souvent utilisés.

#### Dosage du cortisol

Afin de doser le cortisol, nous avons utilisé un kit commercial ELISA (DGR cortisol ELISA EIA-1887). Le principe du test est basé sur une réaction immuno-enzymatique compétitive. Les puits d'une plaque 96 unités sont recouverts par un anticorps monoclonal dirigé contre un antigène spécifique du cortisol. Le cortisol présent dans le plasma de sandre entre en compétition avec le cortisol conjugué à la peroxydase (HRP) pour la liaison à l'anticorps. Dans un puits, sont déposés 20 µl de sérum et 200 µl de cortisol conjugué à l'HRP. Après incubation à température ambiante, les puits sont lavés et le conjugué non lié est éliminé. La quantité de peroxydase dans les puits a été révélée grâce à la coloration avec le substrat. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration en cortisol de l'échantillon. Les densités optiques obtenues ont été comparées à une courbe standard qui permet le calcul de la concentration en cortisol en ng/ml.

#### Dosage de glucose

Le glucose est dosé par colorimétrie (Lott et Turner, 1975). Le principe du glucose s'effectue par voie enzymatique en utilisant le glucose oxydase et la peroxydase. La première partie du dosage consiste en une déprotéinisation du plasma grâce à une solution d'acide perchlorique 0,33 M. Ensuite les échantillons sont centrifugés pendant 10 minutes à 3000 tours. Le surnageant est ensuite prélevé (25 µl) et 2 ml de solution réactionnelle y sont ajoutés. La solution réactionnelle est constituée de 2000 unités de glucose oxydase, de 147 unités de peroxydase, de 125 mg d'ABTS (2,2' azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonate) et le tout est porté à volume de 500 ml de tampon phosphate 0,1 M. Le tout est placé pendant 15 minutes à 38°C au bain-marie afin que le glucose oxydase oxyde le D-glucose en acide D-gluconique et en eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ensuite la peroxydase transforme l'eau oxygénée en chromogène oxydé. La coloration du chromogène oxydé peut être lue à 436 nm. Cette

**Tableau 2: Composition des différents régimes expérimentaux**

Ingrédient	CT	IN1	IN2	FOS1	FOS2
	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
Farine de muscle de morue	460	460	460	460	460
Gluten de blé	42	42	42	42	42
Farine de sang	22	22	22	22	22
Amidon modifié	222	222	222	222	222
Glucose	25	25	25	25	25
Huile de foie de morue	104	104	104	104	104
Prémix vitaminé	10	10	10	10	10
Prémix minéral	10	10	10	10	10
BHT-BHA	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Bétaine	10	10	10	10	10
Inuline	0	10	20	0	0
FOS	0	0	0	10	20
CMC	20	20	20	20	20
$\alpha$ -Cellulose	74,9	64,9	54,9	64,9	54,9
<b>Total</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

Pour tous les différents régimes expérimentaux, les teneurs en protéines brutes et en lipides ont été de 46,06 et 12,24% respectivement.

coloration est proportionnelle à la concentration connue en glucose et qui permettra de connaître la concentration en glucose du sérum. En effet, le glucose est un indicateur de stress, les réserves énergétiques sont rapidement mobilisées afin que l'organisme puisse répondre au stress.

### Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été effectuée par l'analyse des variances à un facteur (ANOVA-1) suivie par un test LSD de comparaison multiples. Les différences significatives entre les moyennes ont été déterminées au seuil de 5%. L'homogénéité des variances a été vérifiée à l'aide de test de Bartlett. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel STATISTICA.

## RÉSULTATS

### Paramètres zootechniques

La mortalité enregistrée pendant toute la période expérimentale a été faible (1,4 à 2,9%), et aucune différence significative n'a été observée entre les traitements et les témoins ( $P > 0,05$ ).

### Poids moyens finaux (g)

Avec un poids moyen initial de  $14,6 \pm 0,04$ g, les juvéniles ont augmenté de poids à J36 (Tableau 3). Le poids moyen final des juvéniles sous le traitement d'inuline (IN1 et IN2) varie de  $23,9 \pm 1,68$  à  $25,8 \pm 0,59$ g respectivement. Ceux qui sont nourris avec les fructooligosaccharides ont également augmenté de poids avec une tendance contraire, ceux de FOS1 ont un poids moyen supérieur de  $25,0 \pm 1,99$  g par rapport à ceux de FOS2,  $23,9 \pm 0,86$  g.

En ce qui concerne les poids moyens finaux, une différence significative a été observée ( $P < 0,05$ ) entre l'IN2 et les autres traitements à J36 (Figure 1).

### Gain de poids (GP (%))

Le gain de poids varie en fonction de traitements et des doses. Les valeurs obtenues sont de  $64,3 \pm 11,7$  à  $75,7 \pm 3,51$ % respectivement pour l'inuline (IN1 et IN2) et de  $70,3 \pm 50,0$ % pour le FOS1 et de  $63,0 \pm 6,08$ % pour le FOS2 (Tableau 3).

Avec IN2, une augmentation significative a été observée ( $P < 0,05$ ) par rapport aux autres traitements, y compris les témoins, suivi de FOS1. Les valeurs obtenues varient de 12,7 à 16,7% pour l'IN2 et de 7,33 à 11,3% pour le FOS1 par rapport aux témoins (Figure 2).

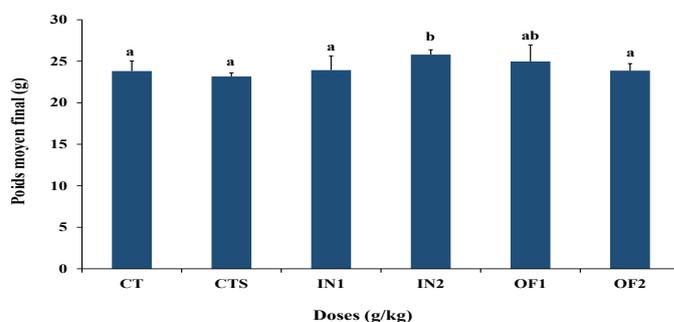


Figure 1: Variation des poids moyens finaux chez les juvéniles de *S. lucioperca* à J36 (OF1=FOS1 et OF2=FOS2)

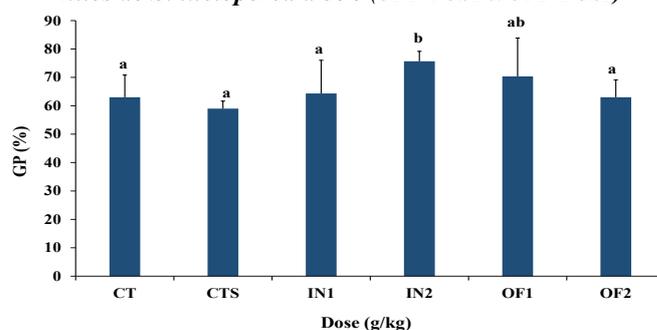


Figure 2: Variation de gain de poids moyen (%) à J36 chez les juvéniles de *S. lucioperca* selon le traitement

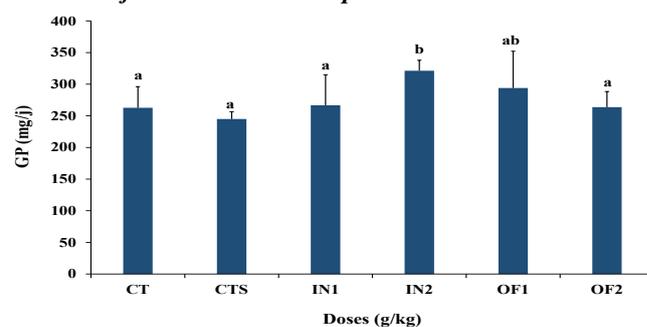


Figure 3: Variation de poids moyen (mg/j) à J36 chez les juvéniles de *S. lucioperca* selon le traitement.

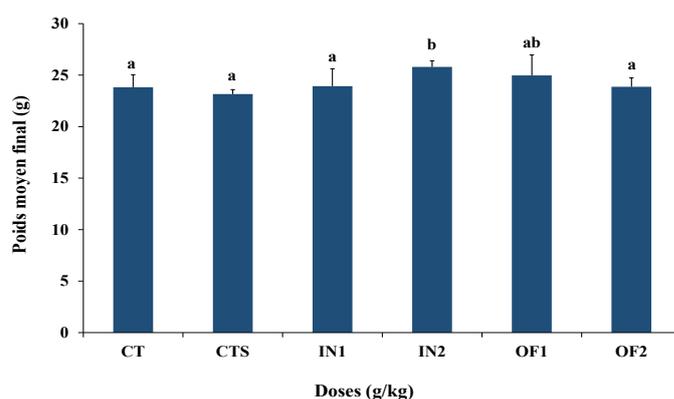


Figure 4: Variation de taux de croissance spécifique journalier chez les juvéniles de *S. lucioperca* selon le traitement à J36

Tableau 3: Poids vifs initiaux et finaux et survie des juvéniles de sandre recevant des régimes additionnés de prébiotiques et soumis au stress d'exondation

Paramètres	Traitements					
	CT	CTS	IN1	IN2	FOS1	FOS2
Pmi (g)	14,6	14,6	14,6	14,5	14,7	14,6
Pmf (g)	23,8	23,2	23,9	25,8	25,0	23,9
TS (%)	97,1 ± 2,51	98,6 ± 2,51	97,1 ± 2,51	98,6 ± 2,51	98,6 ± 2,51	97,1 ± 2,51
GP (%)	63,0 ± 7,81 <sup>a</sup>	59,0 ± 2,65 <sup>a</sup>	64,3 ± 11,7 <sup>a</sup>	75,7 ± 3,51 <sup>b</sup>	70,3 ± 50,0 <sup>ab</sup>	63,0 ± 6,08 <sup>a</sup>
SGR (%/j)	1,39 ± 0,14 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,61 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,51 ± 0,24 <sup>ab</sup>	1,40 ± 0,11 <sup>a</sup>
GP (mg/j)	263 ± 33,5 <sup>a</sup>	245 ± 11,5 <sup>a</sup>	267 ± 48,2 <sup>a</sup>	321 ± 16,4 <sup>b</sup>	294 ± 58,0 <sup>ab</sup>	264 ± 24,8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Valeurs moyennes ± SD portant le même exposant ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

La comparaison des résultats de gain de poids à J36 a montré un effet significatif du traitement IN2 par rapport aux autres traitements ( $P < 0,05$ ). Cette tendance a été également observée avec les données concernant le gain de poids moyen journalier GP ( $\text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$ ) ( $P < 0,03$ ) (Tableau 3).

En ce qui concerne le gain de poids moyen ( $\text{mg}\cdot\text{j}$ ), la valeur la plus faible est de  $245 \pm 11,5$  mg dans le lot témoin et la valeur la plus élevée est de  $321 \pm 16,4$  mg avec le traitement nourrit avec IN2. L'analyse statistique a montré une différence significative entre le traitement avec IN2 et les autres traitements ainsi que les témoins ( $P < 0,05$ ) (Figure 3).

#### Taux de croissance spécifique (SGR (%/j))

Les résultats obtenus à J36 montrent une augmentation de taux de croissance spécifique, la valeur faible est de  $1,32 \pm 0,05\%$  obtenue avec le lot témoin et la valeur la plus élevée est de  $1,61 \pm 0,07\%$  obtenue avec la dose de l'IN2. L'analyse statistique montre qu'il y a une différence significative entre le traitement de l'IN2 et les autres traitements. Le test de LSD a permis de voir que la dose de l'IN2 est différent des autres traitements ( $P < 0,05$ ) (Figure 4).

Les traitements de FOS1 et d'IN2 comparés aux témoins, ont montré une amélioration de taux de croissance spécifique (SGR) de  $0,12$  à  $0,19\%$  et de  $0,22$  à  $0,29\%$  respectivement. Le suivi de ce paramètre de croissance (SGR) entre les traitements a montré une différence significative entre IN2 et les autres groupes expérimentaux ( $P = 0,04$ ).

#### Paramètres physiologiques

##### Cortisol

Le stress d'exondation réalisé une fois par semaine pendant un mois entraîne une augmentation du niveau plasmatique du cortisol. La valeur la plus faible est de  $30,4 \pm 14,8$  ng/ml obtenue avec le témoin non stressé et la plus élevée est de  $159,5 \pm 21,3$  ng/ml obtenue avec le témoin stressé. L'analyse statistique a montré une différence significative ( $p = 0,0007$ ) entre le CTS et le CT (Tableau 4).

Pour les poissons recevant les prébiotiques, le niveau de cortisol est aussi élevé par rapport aux témoins. L'analyse statistique montre une différence significative entre le CT et ces traitements aux prébiotiques. Néanmoins, les traitements aux prébiotiques ont limité l'augmentation du taux de cortisol, excepté pour la dose de  $1\%$  de FOS1, dont les valeurs sont de  $108,0 \pm 55,1$  ng/ml contre  $159,5 \pm 21,3$  ng/ml pour le témoin stressé, soit un écart de  $19,2\%$  (Tableau 4).

Malgré la limitation de l'augmentation de la cortisolémie par les prébiotiques les valeurs sont plus élevées ( $86,3 \pm 78,8$  ng/ml pour IN1;  $108,0 \pm 55,1$  pour FOS1 et  $104,2 \pm 45,9$  ng/ml pour FOS2) contre le CT ( $30,4 \pm 14,8$  ng/ml). Le tableau 5 montre le pourcentage du taux de cortisol par rapport au témoin non stressé.

On peut remarquer à travers le tableau 5 que les pourcentages de cortisol sont toujours élevés par rapport au témoin stressé.

##### Le glucose

Le stress d'exondation réalisé une fois par semaine pendant un mois a entraîné une augmentation de la glycémie. La valeur la plus faible est de  $30,0 \pm 7,5$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  obtenue avec le témoin non stressé et la valeur la plus élevée est de  $73,2 \pm 27,3$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  obtenue avec le témoin stressé. L'analyse statistique a montré une différence significative ( $p = 0,0004$ ) entre le CT et CTS.

Chez les poissons recevant les prébiotiques, on observe aussi une élévation du niveau plasmatique de glucose. Les valeurs ont varié de  $49,10 \pm 18,86$  à  $61,30 \pm 17,66$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  pour les traitements. Mais les traitements réduisent tant soit peu cette élévation du niveau de glucose. Le tableau 6 montre le pourcentage d'augmentation du taux de glucose par rapport au témoin non stressé.

Le tableau 6 montre que les prébiotiques ont limité l'augmentation du taux du glucose plasmatique, surtout les traitements avec l'inuline (IN2).

#### DISCUSSION

Dans la présente étude, nous avons testé si l'addition de l'inuline ou fructooligosaccharides a un effet sur la croissance et la résistance au stress chronique chez les juvéniles de sandre. Avant de discuter les effets de traitements aux prébiotiques, il est utile de signaler que les performances de croissance sont faibles à J36 de nourrissage à cause de la faible utilisation alimentaire des rations qui peut être dû aux facteurs de l'environnement, au stress d'exondation comme déjà montré les études antérieures chez les percidés ou d'autres espèces de poissons (Ringo *et al.*, 2010; Douxfils *et al.*, 2014).

##### Effet sur la croissance

##### Réponse du stress répété d'exondation

Les performances de croissance obtenues au cours de notre étude sont faibles comparativement aux données obtenues par d'autres auteurs sur la même espèce et presque au même stade. Siwiki *et al.*, (2009) ont obtenu une vitesse de croissance d'environ  $608$  mg/jour avec les juvéniles de sandre dans leur expérience. Cela peut-être dû à une courte habitude aux bassins d'élevage, malgré une période d'acclimatation suffisante d'environ 28 jours. Parler aussi du changement de régime alimentaire, granulés industriels vs granulés expérimentaux.

La croissance du sandre est meilleure à une température comprise entre  $18$  et  $22^\circ\text{C}$  qu'à  $21,5$  et  $24^\circ\text{C}$ , température de notre système d'expérimentation.

**Tableau 4: Taux plasmatique de cortisol chez les juvéniles de sandre (ng/ml)**

CT	CTS	IN1	IN2	OF1	OF2
36,6	160,7	42,7	72,5	51,7	63,6
13,5	180,1	38,8	78,2	110,6	94,9
41,0	137,6	177,3	108,8	161,8	154,0
$30,4 \pm 14,8^c$	$159,5 \pm 21,3^a$	$86,3 \pm 78,8^b$	$86,5 \pm 19,5^{cb}$	$108,0 \pm 55,1^{ab}$	$104,2 \pm 45,9^b$

### Influence des traitements aux prébiotiques

Les doses de l'IN1 et de FOS2 de 10 et 20 g/kg d'aliment, respectivement, n'ont eu aucun effet sur le poids moyen final, le gain de poids (GP%) et le taux de croissance spécifique (SGR, %/j) comparées au témoin. Les performances de croissance dans l'ensemble ont été significativement améliorées chez les poissons recevant le traitement avec l'IN2 et FOS1 aux doses respectives de 20 et 10 g/kg d'aliment. L'application de ces prébiotiques a donc amélioré de manière significative la capacité de croissance de juvéniles de sandre par rapport au témoin. Une différence significative a été observée entre les répliques.

Précisons qu'il est possible d'obtenir une meilleure croissance à celle obtenue dans notre étude chez le sandre. Man-

diki *et al.*, (2011) ont obtenu une amélioration significative de la croissance chez la perche, en utilisant une faible dose de prébiotiques. Une application efficace des prébiotiques est sous la dépendance de plusieurs facteurs, notamment des facteurs intrinsèques et des facteurs biotiques comme les paramètres physico-chimiques du système expérimental (Mélard *et al.*, 1996).

Selon Ringo *et al.*, (2010), l'effet des prébiotiques sur la croissance ont été étudiés dans une mesure limitée et variable selon l'espèce. Ces mêmes auteurs ajoutent que, l'effet de supplémentation en prébiotiques peut varier selon le stade de croissance. En outre, l'environnement (température de l'eau, la disponibilité en oxygène, etc.) peut avoir plus d'influence que l'alimentation sur la croissance des poissons ou potentiellement confondre l'interprétation des conclusions de prébiotiques.

Les résultats de notre expériences montrent un effet légèrement positif sur la croissance chez les juvéniles de sandre avec les prébiotiques testés et que la dose optimale de l'inuline est de 20 g/kg d'aliment et pour les fructooligosaccharides 10 g/kg d'aliment.

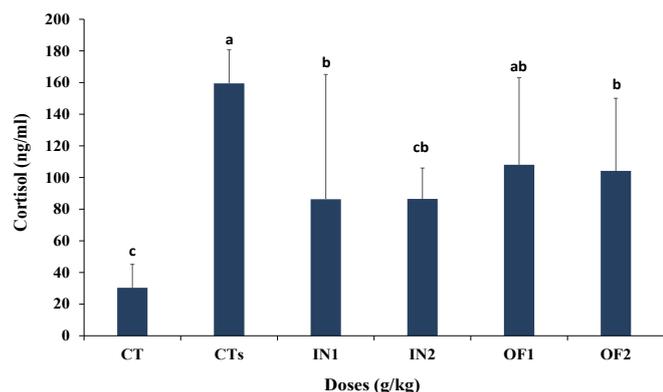


Figure 5; Variation du taux de cortisol plasmatique à J36 chez les juvéniles recevant des prébiotiques et soumis au stress d'exondation

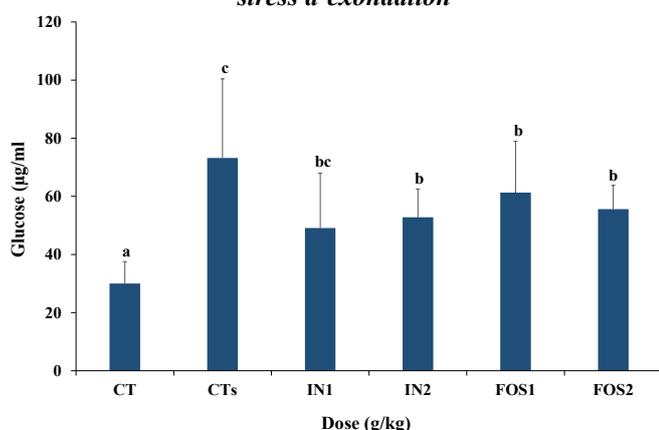


Figure 6; Variation de glucose après stress d'exondation chez les juvéniles de sandre (*S. lucioperca*)

### Réponse physiologique

Le stress pourrait affecter la croissance des poissons, la reproduction et le comportement (Wendelaar Bonga, 1997). La vitesse d'augmentation du taux de cortisol, de glucose et d'autres caractéristiques physiologiques aux facteurs de stress est fonction du temps d'exposition. La réponse de percidés à certains types de stress tels que le transport, l'exondation, la capture (filet maillant et épuisette) et l'intensité lumineuse a fait l'objet de quelques études (Bau *et al.*, 2000; Acerete *et al.*, 2004; Douxfils *et al.*, 2014).

Dans la présente étude, les niveaux de cortisol et de glucose (figures 5 et 6) ont été relativement inférieurs qu'à ceux obtenus par Bau *et al.*, (2000) dans leur études (cortisol: 236,8 à 521,4 ng/ml; glucose: 1,29 à 3,11 g/ml). Cependant, les conditions expérimentales, les méthodes d'analyse, l'origine et la taille de poisson pourraient expliquer la différence qui se manifeste entre l'étude précédente et la présente. En dépit que la concentration en cortisol est moins élevée par rapport à l'étude précédente, les poissons non soumis au stress ont eu une valeur inférieure à cette hormone que les poissons soumis au stress.

Tableau 5: Taux de cortisol plasmatique en pourcentage pour les différents traitements par rapport au témoin non stressé

	%	CT
CTS	84,0	16,0
IN1	73,8	26,0
IN2	74,0	26,0
FOS1	78,1	21,9
FOS2	77,4	22,6

Tableau 6: Taux de glucose plasmatique en pourcentage pour les différents traitements par rapport au témoin stressé

	%	CT
CTS	70,9	29,1
IN1	62,1	37,9
IN2	63,7	36,2
FOS1	67,1	32,9
FOS2	64,9	35,0

Le niveau de cortisol est similaire entre les traitements, bien que la dose de l'IN1 (86,3 ng/ml) a montré un niveau inférieur par rapport aux autres traitements (FOS1: 108,0 ng/ml). D'autre part, la supplémentation en prébiotiques a présenté une limitation en cortisol après exondation par rapport au témoin stressé, bien qu'on ait des valeurs élevées. Avec d'autres espèces de percidés, Douxfils *et al.*, (2014) sur la perche commune démontrent une différence de diminution du niveau de cortisol de  $57,3 \pm 24,5$  ng/ml. De même, Acerete *et al.*, (2004) ont obtenu une augmentation du taux de cortisol (150 ng/ml) pour un stress de transport chez la perche commune.

Le taux de glucose du plasma est élevé dans tous les traitements, la quantification du glucose plasmatique peut fournir une information complémentaire valable concernant la sévérité et la durée de stress (Pottinger, 1998).

Dans la présente étude, l'effet de stress d'exondation sur le niveau glycémique apparaît qualitativement similaire et aussi prononcé que celui observé sur le taux de cortisol plasmatique (Figure 5 et 6). Ce résultat suggère l'existence de facteurs identiques contrôlant l'élévation de la cortisolemie et de la glycémie lors de perturbations et supporte ainsi l'hypothèse suivant laquelle l'hyperglycémie induite par le stress est aussi, en grande partie, dépendante du cortisol (Van Der Boon *et al.*, 1991).

## CONCLUSION

Les résultats de la présente étude ont permis d'apporter des éléments de réponses concernant les actions par lesquelles les prébiotiques pourraient améliorer la croissance et limiter le stress des juvéniles du sandre:

- Les doses de 10g/kg d'aliment d'inuline et 20g/kg d'aliment de fructooligosaccharides dans la ration n'améliorent pas significativement les performances de croissance;
- L'effet chronique de stress d'exondation répétée était moins élevé dans tous les traitements que le témoin stressé, ce qui suggère que l'inuline et les fructooligosaccharides pourraient limiter l'effet de stress répété chez le sandre.

A l'issue de ces résultats, d'autres études doivent être menées afin de déterminer la dose optimale d'incorporation d'inuline et des fructooligosaccharides pouvant dans l'aliment du sandre afin de limiter les teneurs du cortisol et du glucose à un niveau basal.

## BIBLIOGRAPHIE

- Acerete L., Balash J.C., Espinosa E., Josa A., Tort L. (2004). Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237: 167-178.
- Awata S., Tsuruta T., Iguchi K. (2011). Effects of suspended sediment on cortisol levels in wild and cultured strains of ayu *plecoglossus altivelis*. *Aquaculture* 314: 115-121.
- Bau F., Ferroni-Claverie N., Parent J.P. (2000). Réponses physiologiques de sept espèces de poissons lacustres à un stress de capture (filet maillant et épuisette). *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 357/358: 157-168.
- Cérézuela R., Meseguer J., Esteban A. M. (2013). Effects of dietary inulin, *Bacillus subtilis* and micro algae on intestinal gene expression in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and shellfish immunology* 34: 843-848.
- Demska-Zakeoe K., Zakeoe Z. (2002). Controlled spawning of pikeperch *Stizostedion lucioperca* L., in Lake Cage. *Zech J. Anim. Sci.*, 47: 230-238.
- Demska-Zakes K., Kowalska A., Zakes Z. (2003). The development of the swim bladder of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) reared intensive culture. *Arch. Pol. Fish.* 11: 45-55.
- Dil H., Teletchea F. (2008). The European market of the pikeperch for consumption. In: Percid fish culture, from research to production (Eds) Fontaine P., Kestemont P., Wang N., Presses Universitaires de Namur, Namur, Belgium: 15-16.
- Douxfils J., Lambert S., Mathieu C., Milla S., Mandiki S.N.M., Henrotte E., Wango N., Dieu M., Raes M., Rougeot C., Kestemont P. (2014). Influence of domestication process on immune response to repeated emersion stressors in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, part A 173: 52-60.
- Gatlin M.D. III., Peredo A.M. (2012). Prebiotics and probiotics: Definitions and applications. South Regional Aquaculture Center, 4711.
- Grozea A., Telea A., Korbuly B., Bănăţean-Dunea I., Osman A. (2008). Preliminary study regarding the efficiency of different hormones on pikeperch spermiation. *Lucrări Ştiinţifice-Zootehnie şi Biotehnologii, Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară a Banatului Timişoara*, 41: 59-64.
- Hilge V., Steffens W. (1996). Aquaculture of fry and fingerling of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* L.). A short review. *J. Appl. Ichtyol.* 12: 167-170.
- Jentoft S., Aastveit A.H., Torjesen P.A., Andersen O. (2005). Effects of stress on growth, cortisol and glucose level in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.* 141: 353-358.
- Kestemont P., Mélard C. (2000). Aquaculture. In: percid Fisches (ed. J.F Craig), 191-224, Blackwell Sci.: Oxford.
- Koop D., Cucherousset J., Syväranta J., Martino A., Cérégino R., Santoul F. (2009). Trophic ecology of the pikeperch (*Sander lucioperca*) in its introduced areas: a stable isotope approach in south western France. *C.R. Biologies*, 332: 741-746.
- Lott J. A., Turner K. (1975). Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clinical chemistry*, 21: 1754-1760.
- Mandiki S., Milla S., Wang N., Blanchard G., Djonkack T., Tanascaux S., Kestemont P. (2011). Effect of probiotic bacteria on growth parameters and immune defense in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) Lavea under intensive culture conditions. *Aquaculture Research*, 42: 693-703.

- Mélard C., Baras E., Marie L., Kestemont P. (1996). Rapport entre la densité de peuplement, la croissance, le cannibalisme et le taux de survie en culture intensive chez les larves et les juvéniles de la perche (*Perca fluviatilis*). *Annales Zoologici Fennici* 33: 643-651.
- Nicolas J.L., Gatessoupe F.J., Frouel S., Bachere E., Gueguen Y. (2007). Quelles stratégies alternatives aux antibiotiques en aquaculture? *INRA Prod. Anim.* 20: 253-258.
- Philipsen A. (2008). Excellence fish: production of pikeperch in recirculating system. In: percid fish culture, from research to production (Eds) p. 67.
- Pottinger T.G. (1998). Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *J. Fish Biol.*, 53: 728-742.
- Ringo E., Olsen R. E., Gifstad T. O., Dalmo R. A., Amund H., Hemre G. I., Bakke A. M. (2010). Prebiotics in aquaculture. Aquaculture: A review. *Aquaculture Nutrition* 16: 117-136.
- Sapkota A., Sapkota A.R., Kucharski M., Burke J., McKenzie S., Walker P., Lawrence R. (2008). Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environment Int.* 34: 1215-1226.
- Schlumberger O., Proteau J.P. (1996). Reproduction of pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in captivity. *J. Appl. Ichtyol.* 12: 149-152.
- Segner H., Sundh H., Buchmann K., Douxfils J., Sundell K.S., Mathieu C., Ruane N., Jutfelt F., Toften H., Vaughan L. (2012). Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiol. Biochem.* 38: 85-105.
- Siwicki A., Zakes Z., Majewska T. E., Kowalska A., Malaczewska J. (2009). Supplementing the feed of pikeperch [*Sander lucioperca* (L.)] juveniles with MacroGard and its influence on non-specific cellular and humoral defense mechanisms. *Aquaculture Research*, 40: 405-411.
- Siwicki A.K., Lepa A., Zakes Z., Kowalska A., Kazun B., Karun K., Glabski E. (2012). Influence of dietary administration of  $\beta$ -hydroxy-methylbutyrate (HMB) on the innate immunity and resistance against bacterial infections in pikeperch (*Sander lucioperca*). *Journal of Agricult. Sci. and Technol.* B 2 :965-970.
- Siwicki K.A., Lepa A., Malaczewska J., Kazun B., Kazun K., Terech-Majewska E. (2006). Isolation and identification of carp interstitial nephritis and gill necrosis virus (CNGV) in fingerling common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Pol. Fish.* 14: 157-167.
- Van Der Boon J., Van Den Thillart G.E.E.J.M., Addink A.D.F. (1991). The effects of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 100A: 47-53.
- Wang Y.B., Li J.R., Lin J. (2008). Probiotic in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture* 281: 1-4.
- Wendelaar Bonga S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77: 501-625.
- Yousefian M., Amiri M.S. (2009). A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology*, 8: 7313-7318.
- Zakes K. (1999). The effect of body size and water temperature on the results of intensive rearing of pikeperch (*stizostedion lucioperca* L.) fry under controlled conditions. *Archives of polish fisheries*, 7: 187-199.
- Zdzislaw Z., Demska-zakes K. (2009). Controlled reproduction of pikeperch (*sander lucioperca* L). A review. *Arch. Pol. Fish.* 17: 153-170.