

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
HÉLÈNE BERTHELOT

CROISSANCE DES ÉCOTYPES (0+) NAINS, NORMAUX ET LEURS
HYBRIDES CHEZ LE GRAND CORÉGONE (*COREGONUS*
CLUPEAIFORMIS, MITCHILL): IMPLICATIONS DANS LE
POLYMORPHISME TROPHIQUE.

DÉCEMBRE 2004

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

RÉSUMÉ

Le polymorphisme trophique se caractérise par la présence de formes au sein même d'un population. Il serait présent afin de diminuer la compétition intraspécifique chez une espèce donnée (Skúlason et Smith 1995). Chez certaines populations de grands corégones, la présence de formes se définit par des différences marquées au niveau de la taille (Chouinard et al. 1996). Les études se penchant sur cette différence de taille n'ont jamais abordé les mécanismes physiologiques impliqués dans la croissance chez des 0+. La présente étude a utilisé des indicateurs biochimiques tels que l'activité des enzymes lactate déshydrogénase (LDH) et pyruvate kinase (PK) impliquées dans le métabolisme énergétique. Ces indicateurs biochimiques sont bien corrélés à la croissance chez les poissons (Pelletier et al. 1993, 1994, 1995). Le rapport ARN/ADN, indice de la synthèse protéique et les niveaux d'IGF-I plasmatiques inclus dans l'axe hormonal de croissance, sont également considérés comme des indicateurs fiables de la croissance chez les poissons (Houlihan et al. 1993, Duan et al. 1995). L'étude s'est faite sur des formes naine, normale et leurs hybrides élevés dans des conditions expérimentales afin d'éliminer l'influence environnementale sur leur croissance. Toutes les analyses ont été effectuées à l'âge de quatre, huit et 12 mois, sauf pour les niveaux d'expression d'IGF-I où seuls les individus de 12 mois ont été étudiés. Nos résultats indiquent que l'activité enzymatique et le taux de croissance moyen (TCM) des individus nains sont plus élevés que les individus normaux et leurs hybrides. Les rapports ARN/ADN sont également plus élevés chez les individus nains à quatre mois, bien que cette différence s'estompe dès l'âge de huit mois. Aucune différence entre les individus nains, normaux et leurs hybrides âgés de 12 mois n'a été notée en ce qui concerne les niveaux d'IGF-I plasmatiques. Les enzymes impliquées dans le métabolisme énergétique pourraient soutenir un TCM plus important chez les individus nains que chez les individus normaux et hybrides. De plus, la croissance plus élevée chez les individus de la forme naine, au cours de leur première année de développement, serait en relation avec la théorie des cycles vitaux voulant que les organismes à croissance rapide ont une espérance de vie plus courte et une maturité plus précoce. L'ensemble de ces résultats révèle une expression différente des indicateurs biochimiques durant la croissance pouvant être

importante pour le développement du polymorphisme associé à la taille chez le grand corégone.

Mots-clés : Facteur de croissance analogue à l'insuline, foie, lactate déshydrogénase, muscle, polymorphisme, pyruvate kinase, rapport ARN/ADN, taux de croissance.

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord la docteur Hélène Glémet, directrice du mémoire, ainsi que les docteurs Pierre Magnan, Marco Rodriguez et Guy Samson qui ont été membres du comité d'évaluation. Un merci tout particulier à Fathia Boulemkahel associée de recherche. De plus, je tiens à remercier Derek Tardif pour l'assistance technique en regard du travail de laboratoire qu'il a effectué sur le rapport ARN/ADN, Martin Milot pour m'avoir aidée à la mise au point du protocole RIA ainsi que Claudia Cossette pour ses conseils lors des analyses statistiques.

AVANT-PROPOS

Le présent document renferme deux chapitres. Le premier se veut une revue de littérature et une problématique. Le second chapitre est un article non soumis, présenté sous forme de manuscrit et inclut tous les résultats obtenus. Il a été écrit selon les recommandations aux auteurs du périodique *Fish physiology and biochemistry*.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iv
AVANT-PROPOS.....	v
TABLE DES MATIÈRES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES ANNEXES.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
CHAPITRE 1 : REVUE DE LITTÉRATURE ET PROBLÉMATIQUE.....	1
1.1 Revue de littérature.....	1
1.1.1 Le polymorphisme trophique.....	1
1.1.1.1 La nature des différences.....	1
1.1.1.2 Le contexte écologique.....	4
1.1.1.3 Les mécanismes et les processus.....	5
1.1.1.4 Le processus de spéciation.....	7
1.1.2 Les aspects physiologiques de la croissance.....	8
1.1.2.1 Les enzymes glycolytiques.....	8
1.1.2.2 Le rapport ARN/ADN.....	10
1.1.2.3 Facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-I).....	11
1.1.2.3.1 L'IGF-I et ses actions biologiques.....	11
1.1.2.3.2 L'expression de l'IGF-I.....	13
1.2 Problématique.....	15
1.2.1 Objectifs de l'étude.....	16
1.2.2 Hypothèses de l'étude.....	16
1.3 Bibliographie.....	17

CHAPITRE 2 : MANUSCRIT. Croissance des écotypes (0+) nains, normaux et leurs hybrides chez le grand corégone (<i>Coregonus clupeaformis</i> , Mitchell) : implications dans le polymorphisme trophique.....	28
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES FUTURES.....	67

LISTE DES TABLEAUX

2.1	Poids, longueurs ainsi que les facteurs de condition chez les grands corégones, nains, normaux et leurs hybrides âgés de quatre, huit et 12 mois.....	60
2.2	Tableau des coefficients de la droite de régression simple.....	61
2.3	Poids, longueurs, facteurs de condition ainsi que les activités enzymatiques de la lactate déshydrogénase et de la pyruvate kinase chez deux familles d'hybrides grands corégones âgés de quatre et huit mois.....	62
2.4	Activités enzymatiques de la lactate déshydrogénase et de la pyruvate kinase dans le poisson entier âgé de quatre et huit mois et dans le muscle et le foie à 12 mois ainsi que le rapport ARN/ADN chez les grands corégones nains, normaux et leurs hybrides.....	63

LISTE DES FIGURES

2.1 Taux de croissance moyen chez les grands corégones nains, normaux et leurs hybrides	65
2.2 Niveaux d'IGF-I plasmatiques chez les formes naine et normale et leurs hybrides âgés de 12 mois.....	66

LISTE DES ANNEXES

1 RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS SELON LE JOURNAL <i>FISH PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY</i>	69
--	----

LISTE DES ABRÉVIATIONS

éd.	Édition
et al.	utilisé lorsqu'il y a plus de 2 auteurs dans un ouvrage
no	Numéro
p.	page, pages
vol.	Volume
IGF-I	facteur de croissance analogue à l'insuline
LDH	lactate déshydrogénase
PK	pyruvate kinase
ARNm	Acide ribonucléique messager
ARNr	acide ribonucléique ribosomal
TCM	taux de croissance moyen

CHAPITRE 1

REVUE DE LITTÉRATURE ET PROBLÉMATIQUE

1.1 Revue de littérature

1.1.1 Le polymorphisme trophique

1.1.1.1 La nature des différences

Le polymorphisme trophique est de plus en plus démontré chez les poissons. Il se définit comme étant l'évolution de formes vivant en sympatrie. Il se manifeste de plusieurs façons par des différences possibles au niveau morphologique, comportemental et/ou du cycle vital (Skúlason et Smith 1995, Smith et Skúlason 1996). La recherche courante suggère que le polymorphisme trophique joue un rôle important dans la divergence des populations et dans les étapes initiales du processus de spéciation (Skúlason et Smith 1995, Smith et Skúlason 1996). D'un point de vue écologique, le polymorphisme trophique serait provoqué par le partage des ressources, afin de réduire la compétition intraspécifique (Skúlason et Smith 1995).

Les différences phénotypiques entre les formes varient grandement parmi les taxa (Foote et al. 1989, Schluter et McPail 1993, Robinson et Wilson 1994, Schluter 1995). Chez les poissons présentant un polymorphisme trophique, les écotypes peuvent différer au niveau de la taille et de la forme de la mâchoire, de la forme et du nombre de branchiosténies ainsi que de la taille corporelle. D'autres structures externes et internes peuvent aussi être impliquées comme la taille et la forme des nageoires, la longueur de

la tête et la structure de l'intestin et de l'estomac (Skúlason et al. 1989, Schluter et McPail 1993, Taylor et Bentzen 1993, Robinson et Wilson 1994). Des différences dans le cycle vital, telles que le patron de croissance, l'âge à maturité, l'investissement reproductif, la fécondité et la taille des œufs sont particulièrement communes chez les formes appartenant à des espèces de salmonidés (Foote et al. 1989, Skúlason et al. 1989, Wood et Foote 1990, Hindar et Jonsson 1993). Des différences sont aussi remarquées dans le comportement et les techniques d'alimentation (Skúlason et al. 1993) ainsi que dans le comportement migratoire (Foote et al. 1989, Wood et Foote 1990).

Certaines différences entre les formes sont assez subtiles pour que la nature discrète des variations soit difficilement observable, bien que d'autres sont tellement flagrantes que les formes peuvent être considérées, à première vue, comme des espèces distinctes (Skúlason et Smith 1995). Des exemples de polymorphismes flagrants sont observés chez la truite arctique (*Salvelinus alpinus*), les cichlidés et le grand corégone (Meyer 1987, 1989, 1990, Bernatchez et Dodson 1990, Hindar et Jonsson 1993), tandis que l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) en lac démontre un polymorphisme subtile lié à la morphologie du corps et à la coloration (Bourke et al. 1997, Dynes et al. 1999).

Le grand corégone (*Coregonus clupeaformis* Mitchell), où des formes naine et normale vivent en sympatrie, s'avère une bonne espèce à étudier pour élucider les facteurs impliqués dans les stades initiaux de l'adaptation locale, en plus du processus de spéciation. Cette espèce, dont la distribution se concentre à l'hémisphère nord, est présente au Canada dans les provinces du Québec, de l'Ontario et du Nouveau-Brunswick ainsi que dans le sud du Yukon. Ces populations sont constituées de formes sympatriques qui

diffèrent au niveau de leur niche trophique et/ou du temps de fraye, du cycle vital (la croissance, la fécondité, l'âge à maturité et l'espérance de vie) et de la morphologie, notamment la taille (Kirkpatrick et Selander 1979, Fortin et Gendron 1990, Bodaly et al. 1991). À maturité, les individus nains possèdent une taille se situant entre 120-220 mm, tandis que les individus normaux ont une taille entre 350-550 mm (Chouinard et al. 1996). Ils utilisent des niches trophiques distinctes où les individus nains sont davantage associés à un habitat plus pélagique, tandis que les individus normaux sont associés à un habitat surtout benthique (Robinson et Wilson 1994). D'ailleurs, des différences ont été observées en laboratoire en ce qui à trait à la sélection de la profondeur, le nombre de changements directionnels et l'utilisation de la nage rapide chez ces formes (Rogers et al. 2002). Les individus nains utiliseraient la partie supérieure dans la colonne d'eau, feraient davantage de changements directionnels et seraient portés à se servir plus de la nage rapide que les individus normaux (Rogers et al. 2002). Ces différences comportementales seraient provoquées par une adaptation de chacune des formes à leur habitat respectif (Rogers et al. 2002).

Les individus nains et normaux à maturité diffèrent aussi significativement au niveau de leur taux de croissance, de l'âge de la reproduction et de l'espérance de vie, où la forme naine a un taux de croissance plus bas, mature plus tôt et a une espérance de vie plus courte comparée à la forme normale (Kirkpatrick et Selander 1979, Bodaly et al. 1991, Fortin et Gendron 1990). Les individus nains sont matures à l'âge de un ou deux ans et vivent rarement au-delà de leur quatrième année, tandis que la forme normale n'est pas mature avant quatre ans et peut atteindre un âge de 12 ans (Fenderson 1964). Les mécanismes physiologiques impliqués dans la divergence de la croissance chez les

formes naine et normale ont été peu étudiés jusqu'à maintenant. Par contre, une étude effectuée à partir de modèles bioénergétiques a estimé que la forme naine aurait des dépenses métaboliques plus importantes que la forme normale (Trudel et al. 2001). Selon ces mêmes auteurs, ces différences seraient provoquées par un métabolisme basal et des dépenses reliées à la nage et à la capture de proies plus élevés chez les individus nains (Trudel et al. 2001).

1.1.1.2 Le contexte écologique

Un nombre croissant d'études suggèrent que deux événements fondamentaux doivent survenir pour que l'on puisse voir apparaître le phénomène du polymorphisme trophique; l'absence d'une compétition interspécifique pour un habitat et une disponibilité de niches (Skúlason et Smith 1995). Dans plusieurs jeunes lacs des régions glacières de l'hémisphère nord, les poissons d'eau douce occupent typiquement des habitats benthique ou pélagique (Robinson et Wilson 1994, Schluter et McPhail 1993). Par exemple, les crapets-soleil (*Lepomis gibbosus*) et les crapets arlequins (*Lepomis macrochirus*) cohabitent dans des niches écologiques distinctes, les crapets arlequins adultes sont des généralistes, occupant la colonne d'eau et se nourrissant de zooplanctons, tandis que les crapets-soleil sont des spécialistes se nourrissant seulement d'escargots et occupant les eaux plus profondes (Skúlason et Smith 1995). Il a été démontré que lorsque les crapets-soleil sont seuls dans un lac, ils se différencient en deux formes : l'une qui mange des escargots et se retrouve dans les eaux plus profondes et l'autre qui est davantage dans la colonne d'eau et qui se nourrit de zooplanctons en plus d'avoir des arches branchiales modifiées (Robinson et al. 1996). La forme se situant

davantage dans la colonne d'eau occuperait la niche inoccupée par le crapet arlequin (Robinson et al. 1996). Une observation similaire fut documentée chez la truite arctique, où la compétition interspécifique pour la nourriture et l'habitat est faible ou absente et entraîne subséquemment l'évolution de différentes formes (Skúlason et al. 1989). Dans certaines circonstances, le polymorphisme trophique peut aussi apparaître dans des environnements déjà riches en espèces si des ressources alimentaires et des habitats particuliers sont sous utilisés (Skúlason et Smith 1995). Par contre, des traits spécifiques reliés à la morphologie, aux cycles vitaux ou au comportement sont requis, chez certains individus, pour leur utilisation (Skúlason et Smith 1995).

Pigeon et al. (1997) ont observé que l'apparition du polymorphisme chez le grand corégone était possible lorsqu'une niche trophique liée à un mode de vie davantage pélagique était disponible pour que l'écotype nain puisse s'exprimer. Lorsque la niche est occupée par le cisco de lac (*Coregonus artedii*), la forme naine n'apparaît pas dans ce lac.

1.1.1.3 Les mécanismes et les processus

La sélection divergente a un rôle probable à jouer dans le processus évolutif de formes sympatriques et/ou dans l'apparition de nouvelles espèces de poissons d'eau douce de l'hémisphère nord. Cette sélection est largement basée sur la réduction de la compétition intraspécifique entre des individus phénotypiquement similaires (Robinson et Wilson 1994, Schluter et McPhail 1993). Dans plusieurs lacs de la Colombie Britannique, les formes benthique et pélagique chez l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*),

hautement spécialisées et possédant des différences au niveau de leur morphologie, performent relativement mieux et exhibent une plus haute adaptation dans leur habitat respectif (Schluter et McPhail 1993, Schluter 1995). Subséquemment, l'augmentation de la divergence phénotypique des formes sympatriques a probablement réduit la compétition entre eux (Schluter et McPhail 1993). Ce renforcement des formes s'associant à un type d'habitat se reflète lorsque l'on observe le phénomène de sélection qui s'exerce contre les individus hybrides provenant de deux formes. Ce fait a été démontré chez le grand corégone, où les embryons hybrides élevés en laboratoire avaient un taux de mortalité journalier qui était de 2,4 à 4,7 fois plus élevé que chez les lignées pures (Lu et Bernatchez 1998).

Les mécanismes faisant la promotion du polymorphisme trophique peuvent s'effectuer dans un cadre de temps rapide (Skúlason et Smith 1995). Dans bon nombre de cas chez les poissons d'eau douce de l'hémisphère nord, leur ségrégation aurait pris place il y a moins de 15 000 ans suivant la dernière période glaciaire (Schluter et McPhail 1993). Chez certaines de ces espèces, les formes ont pu se former même à l'intérieur d'une génération (Meyer 1990), par exemple suite à un ensemencement ou à un événement d'invasion (Foote et al. 1989, Skúlason et al. 1989, Wood et Foote 1990, Hindar et Jonsson 1993).

Au niveau génétique, une condition essentielle à l'apparition du polymorphisme se veut la présence d'une variabilité génétique individuelle permettant aux formes de posséder une morphologie distincte (Wimberger 1992, Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Au moins trois hypothèses peuvent expliquer comment le polymorphisme

peut se maintenir au niveau des traits morphologiques : les formes appartiennent à des ensembles de gènes séparés; elles appartiennent à l'ensemble de gènes dans lequel le polymorphisme est génétiquement déterminé; elles sont produites par une variation environnementale ayant une action sur un ensemble de gènes à travers un développement conditionnel (Hindar et Jonsson 1993).

1.1.1.4 Le processus de spéciation

Une condition essentielle au processus de divergence d'une population et même de la spéciation est la réduction du flux génique entre les formes sympatriques (Foote et al. 1989, Wood et Foote 1990, Ferguson et Taggart 1991, Taylor et Bentzen 1993). Cela peut résulter de mécanismes post-zygotiques, comme une réduction de l'adaptation des individus hybrides (Schlüter 1995, Wood et Foote 1990), ou pré-zygotiques tels que la ségrégation spatiale et temporelle lors de l'accouplement, les différences dans le comportement d'accouplement ou dans le choix du partenaire au moment de l'accouplement (Sigurjónsdóttir et Gunnarsson 1989, Skúlason et al. 1989). De tels mécanismes isolateurs peuvent facilement co-évoluer avec des attributs phénotypiques, comme la taille et la couleur, ainsi qu'avec la ségrégation écologique qui se caractérise par les différentes adaptations qu'ont les formes face à leur niches trophiques respectives (Skúlason et al. 1989, Sigurjónsdóttir et Gunnarsson 1989).

Une divergence des populations et même un début de spéciation peut s'effectuer, dans certains cas, lorsque le flux de gènes peut être très peu réduit entre les formes sympatriques, tandis que dans d'autres cas, les formes peuvent apparaître partiellement

ou complètement isolées au niveau reproducteur (Foote et al. 1989, Wood et Foote 1990, Ferguson et Taggart 1991, Taylor et Bentzen 1993). Il serait d'ailleurs soutenu que la spéciation pourrait survenir en absence d'une divergence génétique complète (Rose et Doolittle 1983, Schulte et al. 2000). Les grands corégones sont considérés, à ce stade-ci de leur évolution, comme des unités reproductives distinctes (Kirkpatrick et Selander 1979, Bodaly et al. 1988, Bernatchez et Dodson 1990, Vuorinen et al. 1993), bien que le flux génique est encore variable d'un lac à l'autre (Vuorinen et al. 1993, Chouinard et al. 1996).

1.1.2 Les aspects physiologiques de la croissance

1.1.2.1 Les enzymes glycolytiques

L'une des voies métaboliques essentielles à la formation de l'énergie chez les vertébrés est la glycolyse (Tortora et Grabowski 1994). Cette voie métabolique est la première de trois voies (incluant le cycle du citrate et l'oxydation phosphorylante) permettant à une molécule organique, tel que le glucose, d'être transformée en ATP et à un organisme de croître et/ou de se maintenir en vie (Horton et al. 1994). La glycolyse s'effectue grâce à un ensemble d'enzymes et les produits finaux de cette voie sont le lactate ou le pyruvate en condition anaérobie ou aérobie respectivement (Horton et al. 1994). La pyruvate kinase (PK) et la lactate déshydrogénase (LDH) sont les enzymes responsables de la formation des produits de la voie glycolytique (Horton et al. 1994).

Les activités de certaines enzymes glycolytiques peuvent être utilisées dans les études sur la croissance chez les poissons et deviennent donc des indices biochimiques

indirectes de la croissance (Houlihan 1991, Pelletier et al. 1994, Pelletier et al. 1995). Pelletier et al. (1995) ont observé que chez la morue (*Gadus morhua*), la LDH et la PK sont bien corrélées au taux de croissance. Les enzymes glycolytiques sont beaucoup plus corrélées au taux de croissance comparativement aux enzymes mitochondrielles (Kiessling et al. 1991, Clarke et al. 1992, Arndt et al. 1994, Pelletier et al. 1994, Pelletier et al. 1995).

Le muscle blanc est vu comme le meilleur tissu pour l'étude du taux de croissance chez les poissons, puisque les taux de synthèse protéique dans ce tissu sont les plus importants chez de tels organismes (Arndt et al. 1994). Le muscle blanc squelettique constitue environ la moitié de la masse totale du poisson et 65 à 75 % de la synthèse protéique du muscle blanc est retenue pour la croissance (Arndt et al. 1994). Des études faites sur la truite arc-en-ciel (*Oncorhyncus mykiss*), le poisson scorpion (*Scorpaena gutata*) ainsi que sur des larves de vivaneau gazou (*Lutjanus synagris*) et d'ombrine tropicale (*Sciaenops ocellatus*) (Goolish 1989, Kiessling et al. 1990, Clarke et al. 1992, Yang et Somero 1993) ont démontré que lorsque les poissons ne sont pas alimentés, l'activité des enzymes glycolytiques dans le muscle blanc diminuait bien que cette diminution était moins marquée chez les poissons immatures (Kiessling et al. 1990, Clarke et al. 1992). Cette diminution de l'activité des enzymes a pour conséquence que la croissance du muscle blanc cesse immédiatement (Arndt et al. 1994). Subséquemment, il y a une hausse de la protéolyse du muscle et la concentration des protéines contractiles diminue. Inversement, lorsque la croissance est accrue, l'activité des enzymes glycolytiques augmente et permet une plus grande production de protéines

micro fibrilles qui contribue à une augmentation significative de la taille du poisson. (Arndt et al. 1994).

Des études de comparaisons interspécifiques chez les poissons ont indiqué que l'activité des enzymes glycolytiques dans le muscle blanc pouvait différer considérablement selon le mode de locomotion, la profondeur de l'habitat, la taille corporelle et l'alimentation (Sullivan et Somero 1980, Goolish 1991a, 1991b). Par exemple, l'activité de la LDH et de la PK dans le muscle blanc augmente avec la taille du corps chez les poissons (Somero et Childress 1980, 1985). Cette augmentation de la capacité glycolytique chez les plus grands poissons est nécessaire pour maintenir une capacité de nage constante et ce, afin de contrer la résistance rencontrée dans un milieu aqueux (Pelletier et al. 1993). Il a aussi été démontrée que la capture d'organismes pélagiques à nage rapide requérait une grande capacité de nage. L'activité de la LDH a d'ailleurs déjà été utilisée comme un indice de la capacité de nage rapide chez les poissons (Somero et Childress 1980).

1.1.2.2 Le rapport ARN/ADN

Le rapport ARN/ADN a été largement utilisé depuis les années 1970 comme un indice de croissance chez les poissons étudiés en nature et en laboratoire (Houlihan et al. 1993). Il a été démontré, chez les truites arc-en-ciel, que le rapport ARN/ADN était corrélé à la croissance (Valente et al. 1998, Burness et al. 1999). Cet indice de croissance a aussi été utilisé chez des larves de hareng (*Clupea harengus*) et de morue, où on a observé une relation positive entre le rapport ARN/ADN et la croissance (Clemmesen 1994, McNamara 1999).

L'ARN joue un rôle essentiel dans le processus de translation de l'ADN lors de la synthèse de protéines. Cet indicateur de croissance est basé sur l'affirmation voulant que la quantité d'ARN dans les cellules varie en proportion à la quantité de synthèse protéique, bien que la quantité d'ADN par cellule demeure constante à l'intérieur d'une espèce donnée (Bulow 1987). En fait, la mesure de l'ARN est une approximation du nombre de ribosomes dans le tissu, car environ 85 % de l'ARN cellulaire est ribosomal (Lied et Rosenlund 1984, Leipoldt et al. 1984, Loughna et Goldspink 1984, Foster et al. 1992). Ce rapport est considéré comme étant un indice plus précis de l'activité de la synthèse protéique comparativement à la concentration d'ARN seule, parce que le rapport n'est pas affecté par des différences dans le nombre de cellules (Bulow 1987). Les mesures du rapport ARN/ADN se font à partir du muscle blanc (Mathers et al. 1992, Foster et al. 1993, Houlihan et al. 1993, Mathers et al. 1993). Cela donne donc une information sur le statut nutritionnel et la croissance à court terme chez les poissons (Bulow 1987, Clemmesen 1994, Buckley et al. 1999, McNamara et al. 1999).

1.1.2.3 Facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-I)

1.1.2.3.1 L'IGF-I et ses actions biologiques

Les facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF-I et IGF-II) font partie d'une famille d'hormones peptidiques responsables de la promotion de la croissance (Drakenberg et al. 1989, Shambrott et Chen 1992, Koval et al. 1994). Des études ont clairement indiqué la présence de l'hormone IGF-I chez les poissons osseux (Duan et Hirano 1990, Duan et Inui 1990). Par contre, l'information sur l'aspect fonctionnel,

l'expression et la régulation d'IGF-II chez les poissons est relativement limitée (Cao et al. 1989, Shambrott et Chen 1992, Drakenberg et al. 1993, Reinecke et al. 1994, Duan 1998). Les séquences des nucléotides de l'ADN complémentaire de l'IGF-I ont été déterminées chez le saumon Coho (*Oncorhynchus kisutch*), le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*), le saumon Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), la truite arc-en-ciel, la carpe (*Cyprinus carpio*), le poisson-chat (*Ictalurus melas*), la daurade royale (*Sparus aurata*) et l'aiguillat commun (*Squalus acanthias*) (Cao et al. 1989, Shambrott et Chen 1992, Wallis et Devlin 1993, McRory et Sherwood 1994, Duguay et al. 1992, 1995, 1996, Duan 1998). Des comparaisons entre la séquence, la structure et les fonctions de l'IGF-I des poissons matures et ceux de la grenouille, du poulet, du rat et de l'humain indiquent que cette hormone a été hautement conservée à travers l'évolution des vertébrés (Duan et Hirano 1990, Gray et Kelly 1991, McCormick et al. 1992, Kelley et al. 1993, Argenton et al. 1993, Tsai et al. 1994, Cheng et Chen 1995, Takagi et Bjonsson 1996). Les récepteurs d'IGF-I au niveau tissulaire sont également présents chez les poissons et semblent avoir été conservés structurellement et fonctionnellement (Drakenberg et al. 1993, Gutierrez et al. 1995, Parrizas et al. 1995a et 1995b, Leibush et al. 1996, Moon et al. 1996). Enfin, les protéines transporteuses de l'IGF-I existent sous plusieurs formes (IGF-BP 1 à 4 chez les poissons) et sont présentes aussi bien dans le sang que dans plusieurs autres tissus du poisson (Kelley et al. 1992, Anderson et al. 1993, Niu et LeBail 1993, Siharath et al. 1995).

Les actions biologiques de l'IGF-I chez les poissons sont impliquées dans divers contrôles physiologiques. Tout d'abord, l'IGF-I joue un rôle essentiel au niveau de la synthèse des protéoglycans dans les os (Duan et Hirano 1990, 1992, Gray et Kelley

1991, McCormick et al. 1992, Kelley et al. 1993, Cheng et Chen 1995, Takagi et Bjornsson 1996) ainsi que dans la synthèse des protéines musculaires (Negatu et Meier 1995). Cela s'effectue par une stimulation de la croissance et de la multiplication des cellules, ce qui augmente directement la vitesse à laquelle les acides aminés pénètrent dans les cellules (Tortora et Grabowski 1994). Le métabolisme protéique est également sous le contrôle de l'IGF-I (Duan 1998) tout en étant un joueur important au niveau de la croissance somatique (Duan et Hirano 1992, Tsai et al. 1994).

De plus, une étude effectuée par Mack et Fernald (1993) indique que l'IGF-I peut jouer un rôle neuronal puisqu'il agit sur la régulation de la production de nouveaux neurones dans la rétine des poissons. L'osmorégulation, implique aussi la présence de l'IGF-I. En effet, l'injection d'IGF-I chez la truite arc-en-ciel prouve l'habileté de celle-ci à maintenir une osmolarité plasmatique ainsi que des niveaux de sodium adéquats (McCormick et al. 1991). l'IGF-I agit également directement sur les activités du Na^+/K^+ ATPase dans les branchies des saumons (Madsen et Bern 1993, McCormick 1996) et il est requis dans le contrôle de l'action d'osmorégularité de l'hormone de croissance chez les salmonidés (Bolton et al. 1987). L'IGF-I régule aussi la spermatogenèse et induit la maturation finale des oocytes chez les poissons (Kagawa et al. 1994, Holloway et Leatherland 1998).

1.1.2.3.2 L'expression de l'IGF-I

Chez tous les vertébrés incluant les poissons, la régulation de l'expression de l'IGF-I se fait par l'hormone de croissance (Daughaday et Rotwein 1989, Duan et Hirano 1990,

Duan et Inui 1990, Gray et Kelley 1991, Cohick et Clemmons 1993, Yamamoto et Kato 1993, Bjornsson 1997, Peng et Peter 1997). L'hormone de croissance est synthétisée par la glande hypophyse et sécrétée dans le sang (Farchi-Pisanty et al. 1995, Pérez-Sánchez et al. 1995). Cette hormone se lie à des récepteurs du foie (McCormick et al. 1992) provoquant une augmentation des niveaux d'ARNm de l'IGF-I (Cao et al. 1989, Duan et Hirano 1992, Duan et al. 1993, Duguay et al. 1994, 1996, Fauconneau et al. 1996). Une hausse des niveaux de peptides IGF-I en circulation dans le sang est alors observée (Niu et al. 1993, Moriyama et al. 1994) et ils sont transportés par des protéines (IGF-BP) jusqu'aux récepteurs cellulaires cibles de différents tissus (Duan et Hirano 1990, Gray et Kelley 1991, McCormick et al. 1992, Cheng et Chen 1995). L'IGF-I a été détecté dans une multitude de tissus chez les poissons (Berwert et al. 1995, Kagawa et al. 1995), mais le foie possède les plus hauts niveaux d'ARNm d'IGF-I, suggérant que cet organe est le site majeur de la production d'IGF-I entre autre chez les salmonidés (Duguay et al. 1992, Shambrott et Chen 1992, Duan et al. 1993).

Le statut nutritionnel a un profond effet sur le système axial «hormone de croissance/IGF-I». Chez les salmonidés tout comme chez plusieurs espèces de vertébrés, la privation alimentaire prolongée cause l'arrêt de la croissance tout en entraînant une élévation considérable des concentrations de l'hormone de croissance dans le sang (Sumpter et al. 1991) et une diminution des niveaux de peptides IGF-I plasmatiques (Moriyama et al. 1994). Cette augmentation de l'hormone de croissance plasmatique est associée à une diminution significative des sites de liaisons hépatiques à l'hormone de croissance (Gray et al. 1992, Niu et al. 1993). La production des protéines

de transport sanguin (IGF-BP), lesquelles affectent la disponibilité de l'IGF-1 aux tissus cibles, est également affectée par la diète (Duan 1998).

Le contenu protéique dans la diète chez les poissons ainsi qu'une augmentation de la ration alimentaire sont positivement corrélés aux concentrations d'IGF-I plasmatiques. Donc, la prise de protéines et d'énergie sont des facteurs critiques à la régulation et la circulation de l'IGF-I plasmatique (Pérez-Sánchez et al. 1995). Lorsque des espèces sélectionnées sur la base de la croissance sont comparées, les espèces qui croissent rapidement ont des niveaux d'IGF-I plasmatiques élevés (Pérez-Sánchez et al. 1995), entraînant par le fait même une augmentation de l'appétit (Johnsson et Björnsson 1994). Le taux de croissance spécifique est donc positivement corrélé aux rations alimentaires toujours par l'action initiale de l'hormone de croissance (Toguyeni et al. 1996, Johnsson et Björnsson 1994). Dans un même ordre d'idées, les niveaux d'ARNm d'IGF-I hépatique et la concentration de l'IGF-I dans le sang sont aussi fortement corrélés avec le taux de croissance (Duan et al. 1995).

1.2 PROBLÉMATIQUE

Comme l'une des différenciations majeures du polymorphisme chez le grand corégone se présente au niveau de la taille différant par un ordre de grandeur à maturité (Chouinard et al. 1996), cela suggère fortement que les bases physiologique et génétique impliquent des changements au niveau de la croissance et/ou du métabolisme énergétique. Ainsi, la croissance à maturité de l'écotype normal est plus élevée que celle des individus nains (Bodaly et al. 1991). La présente étude a examiné l'importance des

activités enzymatiques glycolytiques et de l'hormone IGF-I sur la croissance chez les deux écotypes et leurs hybrides. Ces facteurs physiologiques ont été mis en relation avec le taux de croissance déterminé pendant la première année de développement et un indice de croissance (le rapport ARN/ADN). L'identification des différences de croissance entre les formes durant la première année de développement permettra de mieux comprendre la détermination du polymorphisme trophique chez le grand corégone.

1.2.1 Objectifs de l'étude

- Déterminer le taux de croissance chez des individus nains, normaux et leurs hybrides durant leur première année de croissance (0+)
- Déterminer les activités des enzymes glycolytiques (LDH et PK), les rapports ARN/ADN et les niveaux de facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-I)

1.2.2 Hypothèses de l'étude

- Le taux de croissance moyen (TCM) est davantage élevé chez la forme normale, intermédiaire chez la forme hybride et plus faible chez la forme naine
- Les niveaux d'activités de la LDH et de la PK ainsi que les rapports ARN/ADN sont plus élevés chez les individus normaux, intermédiaires chez les individus hybrides et plus faibles chez la forme naine
- Les niveaux d'expression du facteur de croissance analogue à l'insuline-1 (IGF-I) sont plus hauts chez les individus normaux, intermédiaires chez les individus hybrides et plus bas chez la forme naine

1.3 BIBLIOGRAPHIE

- Anderson, T. A., Bennett, L. R., Conlon, M. A., Owens, P. C. (1993) Immunoreactivity and receptor-active insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein in blood plasma from the freshwater fish *Macquaria ambigua* (golden perch). *Journal of Endocrinology*, 136: 191-198.
- Arndt, S. K. A., Benfey, T. J., Cunjak R. A. (1994) A comparison of RNA concentrations and ornithine decarboxylase activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle tissue, with respect to specific growth rates and diel variations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13: 463-471.
- Argenton, F., Vianello, S., Bernardini, S., Jacquemin, P., Martial, J., Belayew, A., Colombo, L., Bortolussi, M. (1993) The transcriptional regulation of the growth hormone gene is conserved in vertebrate evolution. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 192: 1360-1366.
- Bernatchez, L., Dodson, J. J. (1990) Allopatric origin of sympatric populations of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) as revealed by mitochondrial-DNA restriction analysis. *Evolution*, 44: 1263-1271.
- Berwert, L., Segner, H., Reinecke, M. (1995) Ontogeny of IGF-I and the classical islet hormones in the turbot, *Scophthalmus maximus*. *Peptides*, 16: 113-122.
- Bjornsson, B. T. (1997) The biology of salmon growth hormone : from daylight to dominance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17: 9-24.
- Bodaly, R. A., Clayton, J. W., Lindsey, C. C. (1988) Status of the squanga whitefish, *Coregonus sp.*, in the Yukon Territory, Canada. *The Canadian Field Naturalist*, 102: 114-125.
- Bodaly, R. A., Vuorinen, J., MacIns, V. (1991) Sympatric presence of dwarf and normal forms of lake whitefish, *Coregonus clupeaformis*, in Como Lake, Ontario. *Canadian Field Naturalist*, 105: 87-90.
- Bolton, J. P., Collie, N. L., Kawauchi, H., Hirano, T. (1987) Osmoregulatory actions of growth hormone in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Endocrinology*, 112: 63-68.
- Bourke, P., Magnan, P., Rodriguez, M.-A. (1997) Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. *Journal of Fish Biology*, 51: 783-794.
- Buckley, L. J. Caldarone, E., Ong, T.-L. (1999) RNA-DNA ratios and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiologia*, 401: 265-277.

- Bulow, F. J. (1987) RNA-DNA ratios as indicators of growth in fish : a review. In the age and growth of fish. Pp. 45-64. Edited by R. C. Summerfelt and G. E. Hall. Iowa State University Press, Ames.
- Burness, G. P. and Leary, S. C. (1999) Allometric scaling of RNA, DNA and enzyme levels: an intraspecific study. *American Journal of Physiology*, 277: R1164-R1170.
- Cao, Q.-P., Duguay, S. J., Plisetskaya, E., Steiner, D. F., Chan, S. J. (1989) Nucleotide sequence and growth hormone-regulated expression of salmon insulin-like growth factor I mRNA. *Molecular Endocrinology*, 3: 2005-2010.
- Cheng, C. M., Chen, T. T. (1995) Synergism of GH and IGF-I in stimulation of sulphate uptake by teleostean branchial cartilage *in vitro*. *Journal of Endocrinology*, 147: 67-73.
- Chouinard, A., Pigeon, D., Bernatchez, L. (1996) Lack of specialization in trophic morphology between genetically differentiated dwarf and normal forms of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Michill) in lac de l'Est, Québec. *Canadian Journal of Zoology*, 74 : 1989-1998.
- Clarke, M. E., Calvi, C., Domeier, M., Edmonds, M., Wlash, P. J. (1992) Effects of nutrition and temperature on metabolic enzyme activities in larval and juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*, and lane snapper, *Lutjanus synagris*. *Marine biology*, 112: 31-36.
- Clemmesen., C. (1994) The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration. *Marine Biology*, 118: 377-382.
- Cohick, W. S., Clemons, D. R. (1993) The insulin-like growth factors. *Annual Review of Physiology*, 55: 131-153.
- Daughaday, W. H., Rotwein, P. (1989) Insulin-like growth factors I and II. Peptides, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocrine Reviews*, 10: 68-91.
- Drakenberg, K., Sara, V. R., Lindahl, K. I., Kewish, B. (1989) The study of insulin-like growth factors in Tilapia, *Oreochromus mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology*, 4: 173-180.
- Drakenberg, K., Sara, V. R., Falkmer, S., Gammeltoft, S., Maake, C., Reinecke, M. (1993) Identification of IGF-I in primitive vertebrates. *Regulatory Peptides*, 43: 73-81.
- Duan, C. (1998) Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish. *Journal of Nutrition*, 128: 306-314.

- Duan, C., Hirano, T. (1990) Stimulation of 35 S-sulphate uptake by mammalian insulin-like growth factor I and II in cultured cartilages of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Journal of experimental Zoology*, 256: 347-350.
- Duan, C., Hirano, T. (1992) Effects of insulin-like growth factor-I and insulin on the *in vitro* uptake of sulphate by eel branchial cartilage: evidence for the presence of independent hepatic and pancreatic sulphation factors. *Journal of Endocrinology*, 133: 211-219.
- Duan, C., Inui, Y. (1990) Evidences for the presence of a somatomedin-like plasma factor (s) in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *General and Comparative Endocrinology*, 79: 326-331.
- Duan, C., Duguay, S. J., Plisetskaya, E. M. (1993) Insulin-like growth factor I (IGF-I) mRNA expression in coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*): tissue distribution and effects of growth hormone/prolactin family peptides. *Fish Physiology and Biochemistry*, 11: 371-379.
- Duan, C., Plisetskaya, E. M., Dickhoff, W. W. (1995) Expression of insulin-like growth factor I in normally and abnormally developing Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Endocrinology*, 136: 446-452.
- Duguay, S. J., Park, L. K., Samadpour, M., Dickhoff, W. W. (1992) Nucleotide sequence and tissue distribution of three insulin-like growth factor I prohormones in salmon. *Molecular Endocrinology*, 6: 1202-1210.
- Duguay, S. J., Swanson, P., Dickhoff, W. W. (1994) Differential expression and hormonal regulation of alternatively spliced IGF-I mRNA transcripts in salmon. *Journal of Molecular Endocrinology*, 12: 25-37.
- Duguay, S. J., Chan, S. J., Mommsen, T. P., Steiner, D. F. (1995) Divergence of insulin-like growth factors I and II in the elasmobranch, *Squalus acanthias*. *Federation of European Biochemical Societies*, 371: 69-72.
- Duguay, S. J., Lai-Zhang, J., Steiner, D. F., Funkenstein, B., Chan, S. J. (1996) Developmental and tissue regulated expression of insulin-like growth factor I and II mRNA in *Sparus aurata*. *Journal of Molecular Endocrinology*, 16: 123-132.
- Dynes, J., Magnan, P., Bernatchez, L., Rodriguez, M. A. (1999) Genetic and morphological variation between two forms of lacustrine brook charr. *Journal of Fish Biology*, 54: 955-972.
- Fauconneau, B., Mady, M. P., LeBail, P. Y. (1996) Effect of growth hormone on muscle protein synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 15: 49-56.

- Farchi-Pisanty, O., Hackett, P. B., Moav, B. (1995) Regulation of fish growth hormone transcription. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 4: 215-223.
- Fenderson, O. C. (1964) Evidence of subpopulations of lake whitefish, *Coregonus clupeaformis*, involving a dwarf form. *Transactions of American Fisheries Society*, 93: 77-94.
- Ferguson, A., Taggart, J. B. (1991) Genetic differentiation among the sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biological Journal of the Linnean Society*, 43: 221-237.
- Fortin, R., Gendron, M. (1990) Reproduction, croissance et morphologie comparées des Grands Corégones (*Coregonus clupeaformis*) nains et normaux du réservoir Outardes-2 (Québec). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 68: 17-25.
- Foster, A. R., Houlihan, D. F., Halle, S. J., Burren, L. J. (1992) The effects of temperature acclimation on protein synthesis rates and nucleic acid content of juvenile cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Zoology*, 70: 2095-2102.
- Foster, A. R., Houlihan, D. F., Hall, S. J. (1993) Effects of nutritional regime on correlates of growth rate in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*): comparison of morphological and biochemical measurements. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 502-512.
- Foote, C. J., Wood, C. C., Withler, R. E. (1989) Biochemical genetic comparison of sockeye salmon and lolanee, the anadromous and nonanadromous forms of *Oncorhynchus nerka*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46 : 149-158.
- Goolish, E. M. (1989) The scaling of aerobic and anaerobic muscle power in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of experimental Biology*, 147: 493-505.
- Goolish, E. M. (1991a) Aerobic and anaerobic scaling in fish. *Biological Reviews*, 66: 35-56.
- Goolish, E. M. (1991b) Anaerobic swimming metabolism of fish : Sit-and-wait versus active forager. *Physiological Zoology*, 64: 485-501.
- Gray, E. S., Kelley, K. M. (1991) Growth regulation in the gobiid teleost, *Gillichthys mirabilis* : roles of growth hormone, hepatic growth hormone receptors and insulin-like growth factor I. *Journal of Endocrinology*, 131: 57-66.
- Gray, E. S., Kelley, K. M., Law, S., Tsai, R., Young, G., Bern, H.A. (1992) Regulation of hepatic growth hormone receptors in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, 88: 243-252.

- Gutierrez, J., Pàrrizas, M., Maestro, M. A., Navarro, I., Plisetskaya, E. M. (1995) Insulin and IGF-I binding and tyrosine kinase activity in fish heart. *Journal of Endocrinology*, 146: 35-44.
- Hindar, K., Jonsson, B. (1993) Ecological polymorphism in Arctic charr. *Biological Journal of the Linnean Society*, 48: 63-74.
- Holloway, A. C., Leatherland, J. F. (1998) Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion in teleost fishes with emphasis on the involvement of gonadal sex steroids. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 8 : 409-429.
- Houlihan, D. F. (1991) Protein turnover in ectotherms and its relationship to energetics. *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, vol. 7, ed. R Gilles, pp. 1-43. Berlin: Springer-Verlag.
- Houlihan, D. F., Mathers, E. M., Foster, A. (1993) Biochemical correlates of growth in fish. *In Fish Ecophysiology*, pp. 45-71. Edited by J. C. Rankin and F. B. Jensen. Chapman and Hall, London.
- Horton, R., Moran, L., Ochs, R., Rawn, J. D., Scrimgeour, G. K. (1994) Principes de biochimie. Édition De Boeck-Wesmael S. A., Bruxelles.
- Johnsson, J. J., Björnsson, B. T. (1994) Growth hormone increases growth rate, appetite and dominance in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Animal Behaviour*, 48: 177-186.
- Kagawa, H., Kobayashi, M., Hasegawa, Y., Aida, K. (1994) Insulin and insulin-like growth factors I and II induce final maturation of oocytes of red seabream, *Pagrus major*, *in vitro*. *General and Comparative Endocrinology*, 95: 293-300.
- Kagawa, H., Moriyama, S., Kawauchi, H. (1995) Immunocytochemical localization of IGF-I in the ovary of the red seabream, *Pagrus major*. *General and Comparative Endocrinology*, 99: 307-315.
- Kelley, K. M., Siharath, K., Bern, H. A. (1992) Identification of insulin-like growth factor-binding proteins in the circulation of four teleost fish species. *The Journal of Experimental Zoology*, 263: 220-224.
- Kelley, K. M., Gray, E. S., Siharath, K., Nicoll, C. S., Bern, H. A. (1993) Experimental diabetes mellitus in a teleost fish. II. Roles of insulin, growth hormone (GH), insulin-like growth factor-I, and hepatic GH receptors in diabetic growth inhibition in the goby, *Gillichthys mirabilis*. *Endocrinology*, 132: 2696-2702.
- Kiessling, A., Johansson, L., Kiessling, K.-H. (1990) Effects of starvation on rainbow trout muscle. I. Histochemistry, metabolism and composition of white and red muscle in mature and immature fish. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A Animal Science*, 40: 309-324.

- Kiessling, A., Johansson, L., Kiessling, K.-H. (1991) Effects of starvation on rainbow trout muscle. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A Animal Science*, 40: 309-324.
- Kirkpatrick, M., Selander, R. K. (1979) Genetics of speciation in lake whitefishes in the Allegash Basin. *Evolution*, 33: 478-485.
- Koval, A., Kulik, V., Duguay, S., Plisetskaya, E., Adamo, M. L., Roberts, C. T., Leroith, D., Kavsan, V. (1994) Characterization of a salmon insulin-like growth factor I promoter. *DNA and Cell Biology*, 13: 1057-1062.
- Leibush, B., Pàrrizas, M., Navarro, O., Lappova, Y., Maestro, M. A., Encinas, M., Plisetskaya, E. M., Gutièrrez, J. (1996) Insulin and insulin-like growth factor-I receptors in fish brain. *Regulatory Peptides*, 61: 155-161.
- Leipoldt, M., Kellner, H. G., Stark, S. (1984) Comparative analysis of ribosomal RNA in various fish and other vertebrate species : hidden breaks and ribosomal function in phylogenetically tetraploid species of Cyprinidae. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77B: 769-777.
- Lied, E., Rosenlund, G. (1984) The influence of the ratio of protein energy to total energy in the feed in the activity of protein synthesis *in vitro*, the level of ribosomal RNA and the RNA-DNA ratio in the white trunk muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77A: 489-494.
- Loughna, P. T., Goldspink, G. (1984) The effects of starvation upon protein turnover in red and white myotomal muscle of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 25: 223-230.
- Lu, G., Bernatchez, L. (1998) Experimental evidence for reduced hybrid viability between dwarf and normal ecotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchell). *Proceeding of the Royal Society of London*, 265: 1025-1030.
- Mack, A., Fernald, R. D. (1993) Regulation of cell division and rod differentiation in the teleost retina. *Developmental brain research*, 76: 183-187.
- Madsen, S. S., Bern, H. A. (1993) *In-vitro* effects of insulin-like growth factor-I on gill Na⁺, K⁺ ATPase in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Journal of Endocrinology*, 138: 23-30.
- Mathers, E. M., Houlihan, D. F., Cunningham, M. J. (1992) Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens* : growth-rate estimates of open-sea fish. *Marine Biology*, 112: 363-369.
- Mathers, E. M., Houlihan, D. F., McCarthy, I. D., Burren, L. J. (1993) Rates of growth and protein synthesis correlated with nucleic acid content in fry of rainbow trout,

Oncorhynchus mykiss : effects of age and temperature. *Journal of Fish Biology*, 43: 245-263.

McCormick, S. D. (1996) Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on salinity tolerance and Gill Na⁺, K⁺-ATPase in Atlantic salmon (*Salmo salar*) : interaction with cortisol. *General and Comparative Endocrinology*, 101: 3-11.

McCormick, S. D., Sakamoto, T., Hasegawa, S., Hirano, T. (1991) Osmoregulatory actions of insulin-like growth factor-I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Endocrinology*, 130: 87-92.

McCormick, S. D., Tsai, P., Kelley, K. M., Young, G., Nishioka, R. S., Bern, H. A. (1992) Stimulation of coho salmon growth by insulin-like growth factor I. *General and Comparative Endocrinology*, 86: 398-406.

McNamara, P. T., Calderone, E. M., Buckley, L. J. (1999) RNA/DNA ratio and expression of 18S ribosomal RNA, actin and myosin heavy chain messenger RNAs in starved and fed larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Marine Biology*, 135: 123-132.

McRory, J. E., Sherwood, N. M. (1994) Catfish express two forms of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 269 : 18588-18592.

Meyer, A. (1987) Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution*, 41: 1357-1369.

Meyer, A. (1989) Cost of morphological specialization : feeding performance of the two morphs in the trophically polymorphic cichlid fish, *Cichlasoma citrinellum*. *Oecologia*, 80: 431-436.

Meyer, A. (1990) Ecological and evolutionary consequences of the trophic polymorphism in *Cichlasoma citrinellum* (Pisces : Cichlidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 39 : 279-299.

Moon, T. W., Castejòn, C., Banos, N., Maestro, M. A., Plisetskaya, E. M., Gutiérrez, J., Navarro, I. (1996) Insulin and IGF-I binding in isolated trout cardiomyocytes. *General and Comparative Endocrinology*, 103: 264-272.

Moriyama, S., Swanson, P., Nishi, M., Takahashi, A., Kawauchi, H., Dickhoff, W. W., Plisetskaya, E. M. (1994) Development of a homologous radioimmunoassay for coho salmon insulin-like growth factor-I. *General and Comparative Endocrinology*, 96 : 149-161.

Negatu, Z., Meier, A. H. (1995) *In vitro* incorporation of [¹⁴C] glycine into muscle protein of gulf killifish (*Fundulus grandis*) in response to insulin-like growth factor-I. *General and Comparative Endocrinology*, 98: 193-201.

- Niu, P.-D., LeBail, P.-Y. (1993) Presence of insulin-like growth factor binding protein (PGF-BP) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) serum. The Journal of Experimental Zoology, 265: 627-636.
- Niu, P.-D., Pérez-Sánchez, J., LeBail, P.-Y. (1993) Development of a protein binding assay for teleost insulin-like growth factor (IGF)-like : relationship between growth hormone (GH) and IGF-like in the blood of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 11: 381-391.
- Parrizas, M., Plisetskaya, E. M., Planas, J., Gutiérrez, J. (1995a) Abundant insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor binding in fish skeletal muscle. General and Comparative Endocrinology, 98: 16-25.
- Parrizas, M., Maestro, M. A., Banos, N., Navarro, I., Planas, J., Gutiérrez, J. (1995b) Insulin/IGF-I binding ratio in skeletal and cardiac muscles of vertebrates : a phylogenetic approach. American Journal of Physiology, 269: R1370-R1377.
- Pelletier, D., Guderley, H., Dutil, J.-D. (1993) Effects of growth rate, temperature, season, and body size on glycolytic enzyme activities in the white muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). The Journal of Experimental Zoology, 265: 477-487.
- Pelletier, D., Dutil, J.-D., Blier, P., Guderley, H. (1994) Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. Journal Comparative Physiology, 164: 179-190.
- Pelletier, D., Blier, P. U., Dutil, J.-D., Guderley, H. (1995) How should enzyme activities be used in fish growth studies ? The Journal of Experimental Biology, 198: 1493-1497.
- Peng, C., Peter, R. (1997) Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion and growth in fish. Zoological Studies, 36: 79-89.
- Pérez-Sánchez, J., Martí-Palanca, H., Kaushik, S. J. (1995) Ration size and protein intake affect circulating growth hormone concentration, hepatic growth hormone binding and plasma insulin-like growth factor-I immunoreactivity in a marine teleost, the Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). Journal of Nutrition, 125: 546-552.
- Pigeon, D., Chouinard, A., Bernatchez, L. (1997) Multiple modes of speciation involved in the parallel evolution of sympatric morphotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, salmonidae). Evolution, 51: 196-205.
- Reinecke, M., Weimar, E., Maake, C., Drakenberg, K., Falkmer, S., Sara, V. R. (1994) IGF-2-like peptides are present in insulin cells of the elasmobranchian endocrine pancreas : an immunohistochemical and chromatographic study. General and Comparative Endocrinology, 102 : 365-371.

- Robinson, B. W., Wilson, D. S. (1994) Character release and displacement in fishes : a neglected literature. *The American Naturalist*, 144 : 596-627.
- Robinson, B. W., Wilson, D. S., Shea, G. O. (1996) Trade-offs of ecological specialization : an intraspecific comparison of pumpkinseed sunfish phenotypes. *Ecology*, 77: 170-178.
- Rogers, S. M., Gagnon, V., Bernatchez., L. (2002) Genetically based phenotype-environment association for swimming behavior in lake whitefish ecotypes (*Coregonus clupeaformis* Mitchell). *Evolution*, 56: 2322-2329.
- Rose, M. R., Doolittle, W. F. (1983) Molecular biological mechanisms of speciation. *Science*, 220: 157-162.
- Schulte, P., Glémet, H. C., Fiebig, A. A., Powers, D. A. (2000) Adaptive variation in lactate dehydrogenase-B gene expression : role of a stress-responsive regulatory element. *Proceedings of the National Academy of Science*, 97: 6597-6602.
- Schluter, D. (1995) Adaptive radiation in sticklebacks : trade-offs in feeding performance and growth. *Ecology*, 76: 82-90.
- Schluter, D., McPhail, J. D. (1993) Ecological character displacement and speciation in sticklebacks. *The American Naturalist*, 140: 85-108.
- Shambrott, M. J., Chen, T. T. (1992) Identification of a second insulin-like growth factor in a fish species. *Proceedings of the National Academy of Science*, 89: 8913-8917.
- Sigurjonsdottir, H., Gunnarsson, K. (1989) Alternative mating tactics of arctic charr, *Salvelinus alpinus*, in Thingvallavatn, Iceland. *Environmental Biology of Fishes*, 26: 159-176.
- Siharath, K., Nishioka, R. S., Madsen, S. S., Bern, H. A. (1995) Regulation of IGF-binding proteins by growth hormone in the striped bass, *Morone saxatilis*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 4: 171-178.
- Skúlason, S., Noakes, D. L. G., Snorrason, S. S. (1989) Ontogeny of trophic morphology in four sympatric morphs of arctic charr *Salvelinus alpinus* in Thingvallavatn, Iceland. *Biological Journal of the Linnean Society*, 38: 281-301.
- Skúlason, S., Snorrason, S. S., Ota, D., Noakes, D. L. G. (1993) Genetically based differences in foraging behaviour among sympatric morphs of arctic charr (Pisces : salmonidae). *Animal Behavior*, 45: 1179-1192.
- Skúlason, S., Smith, T. B. (1995) Resource polymorphism in vertebrates. *Trends in Ecology and Evolution*, 10: 366-370.

- Smith, T. B., Skúlason, S. (1996) Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians and birds. *Annual Review of Ecological System*, 27: 111-133.
- Somero, G. N., Childress, J. J. (1985) Scaling of oxidative and glycolytic enzyme activities in fish muscle. In : *Circulation, Respiration and Metabolism*. R. Gilles, ed., Springer, Berlin, pp. 250-262.
- Somero, G. N., Childress, J. J. (1980) A violation of the metabolism-size scaling paradigm: Activities of glycolytic enzymes increase in larger-size fish. *Physiological Zoology*, 53: 322-337.
- Sullivan, K. M., Somero, G. N. (1980) Enzyme activities of fish skeletal muscle and brain as influenced by depth of occurrence and habits of feeding and locomotion. *Marine Biology*, 60: 91-99.
- Sumpter, J.P., Le Bail, P. Y., Pickering, A. D., Pottinger, T. G., Carragher, J. F. (1991) The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentrations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 83: 94-102.
- Takagi, Y., Björnsson, B. Th. (1996) Regulation of cartilage glycosaminoglycan syntheses in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by 3, 3', 5-tri-iodo-L-thyronine and IGF-I. *Journal of Endocrinology*, 149: 357-365.
- Taylor, E. B., Bentzen, P. (1993) Evidence for multiple origins and sympatric divergence of trophic ecotypes of smelt (*Osmerus*) in Northeastern North America. *Evolution*, 47: 813-832.
- Toguyeni, A., Baroiller, J.-F., Fostier, A., Le Bail, P.-Y., Kühn, Mol, K. A., Fauconneau B. (1996) Consequences of food restriction on short-term growth variation and on plasma circulating hormones in *Oreochromis niloticus* in relation to sex. *General and Comparative Endocrinology*, 103: 167-175.
- Tortora, G. J., Grabowski, S. R. (1994) *Principes d'anatomie et de physiologie*. Édition CEC collégial et universitaire.
- Trudel, M., Tremblay, A., Schetagne, R., Rasmussen, J. B. (2001) Why are dwarf fish so small ? An energetic analysis of polymorphism in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58: 394-405.
- Tsai, P. I., Madsen, S. S., McCormick, S. D., Bern, H. A. (1994) Endocrine control of cartilage growth in coho salmon : GH influence *in vivo* on the response to IGF-I *in vitro*. *Zoological Science*, 11: 299-303.
- Valente, L. M. P., Gomes, E. F. S., Fauconneau, B. (1998) Biochemical growth characterization of fast and slow-growing rainbow trout strains : effect of cell proliferation and size. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 213-224.

Vuorinen, J. A., Bodaly, R. A., Reist, J. D., Bernatchez, L., Dodson, J. J. (1993) Genetic and morphological differentiation between dwarf and normal size forms of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) in Como lake, Ontario. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 50: 210-216.

Wallis, A. E., Delvin, R. H. (1993) Duplicate insulin-like growth factor-I genes in salmon display alternative splicing pathways. Molecular Endocrinology, 7: 409-422.

Wimberger, P. H. (1992) Plasticity of fish body shape: treatment effect of diel, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichildae). Biological Journal of the Linnean Society, 45: 197-218.

Wood, C. C., Foote, C. J. (1990) Genetic differences in the early development and growth of sympatric sockeye salmon and kokanee (*Oncorhynchus nerka*), and their hybrids. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 47: 2250-2260.

Yamamoto, H., Kato, Y. (1993) Relationship between plasma insulin-like growth factor I (IGF-I) levels and body mass index (BMI) in adults. Endocrine Journal, 40: 41-45.

Yang, T.-H., Somero, G. N. (1993) Effects of feeding and food deprivation on oxygen consumption, muscle protein concentration and activities of energy metabolism enzymes in muscle and brain of shallow-living (*Scorpaena gittata*) and deep-living (*Sebastolobus alascanus*) scorpaenid fishes. Journal of Experimental Biology, 181: 213-232.

CHAPITRE 2

MANUSCRIT

Croissance des écotypes (0+) nains, normaux et leurs hybrides chez le grand corégone (*Coregonus clupeaformis*, Mitchell) : implications dans le polymorphisme trophique

Statut de l'article : non soumis

Croissance des écotypes (0+) nains, normaux et leurs hybrides chez le grand corégone
(*Coregonus clupeaformis*, Mitchell) : implications dans le polymorphisme trophique

H. Berthelot et H. Glémet

Université du Québec à Trois-Rivières, c.p 500, Trois-Rivières, Québec, Canada. G9A
5H7

Correspondance : Hélène Glémet, Université du Québec à Trois-Rivières,
helene_glemet@uqtr.ca

Mots-clé : facteur de croissance analogue à l'insuline, foie, lactate déshydrogénase,
muscle, pyruvate kinase, rapport ARN/ADN

Résumé

Un polymorphisme trophique peut s'exprimer dans certaines populations de grand corégone (*Coregonus clupeaformis*, Mitchell) par une distribution binomiale de la taille. Afin de déterminer s'il y a des différences physiologiques sous-jacentes à la croissance dès la première année de développement, nous avons mesuré l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la pyruvate kinase (PK) et le rapport ARN/ADN. Ces analyses ont été effectuées à quatre, huit et 12 mois chez des formes naine, normale et leurs hybrides élevés sous des conditions expérimentales. Les niveaux d'expression du facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-I) ont été analysés à 12 mois seulement chez les deux formes et leurs hybrides. L'activité de la LDH est de 2,1 à 3,9 fois plus élevée chez les individus nains que les individus normaux, tandis que l'activité de la PK est de 1,4 à 2,1 fois plus grande chez la forme naine. Leurs hybrides ont une activité enzymatique intermédiaire. Les individus nains possèdent un taux de croissance moyen (TCM) plus élevé que les deux autres groupes. Le rapport ARN/ADN est plus élevé chez les individus nains à quatre mois, mais est similaire entre les groupes à partir de huit mois. Aucune différence n'a été signalée entre les trois groupes au niveau de l'IGF-I. L'ensemble de ces résultats suggère que comparés aux individus normaux, les individus nains possèdent une capacité métabolique supérieure supportant un TCM plus élevé. Ces caractéristiques leur permettraient d'atteindre leur maturité plus tôt et de mieux s'adapter à leur niche trophique spécifique.

Introduction

Le polymorphisme trophique est fréquent chez les poissons présents dans les lacs des zones tempérées et sub-arctiques (Robinson et Wilson 1994, Skúlason et Smith 1995). Il s'observe par l'apparition de formes différentant au niveau morphologique, comportemental ou du cycle vital (Skúlason et Smith 1995, Smith et Skúlason 1996). D'un point de vue écologique, le polymorphisme trophique serait provoqué par le partage des ressources, afin de réduire la compétition intraspécifique (Skúlason et Smith 1995).

Certaines espèces telles le grand corégone (*Coregonus clupeaformis*, Mitchell) peuvent présenter un polymorphisme trophique se caractérisant par une distribution binomiale de la taille (Bodaly et al. 1991). À maturité, la forme naine possède une taille allant de 120 à 220 mm de longueur et les individus normaux ont une taille se situant entre 350 et 550 mm (Chouinard et al. 1996). Outre la taille, les individus nains atteignent leur maturité plus tôt que les individus normaux, ont une espérance de vie plus courte et un taux de croissance plus bas en milieu naturel (Bodaly et al. 1991). Les écotypes nains et normaux se nourrissent de proies différentes à l'intérieur des habitats pélagique et benthique respectivement et on les retrouvent vivant en sympatrie dans certains lacs (Bernatchez et Dodson 1990, Robinson et Wilson 1994, Pigeon et al. 1997). De plus, des différences ont été observées en ce qui à trait à la sélection de la profondeur, le nombre de changements directionnels et l'utilisation de la nage rapide chez ces formes (Rogers et al. 2002). Ces différences comportementales seraient provoquées par une adaptation de chacune des formes à leur habitat respectif (Rogers et al. 2002).

La croissance des formes naine et normale chez le grand corégone a été peu étudiée jusqu'à maintenant. Trudel et al. (2001) ont récemment estimé, à l'aide de

modèles bioénergétiques, que les individus nains auraient une efficacité de croissance de deux à trois fois plus faible que celle des individus normaux dans leur habitat. Bodaly et al. (1991) ont également observé que l'écotype nain possédait une croissance plus lente que l'écotype normal en milieu naturel à l'âge adulte.

L'étude de la croissance chez les poissons peut être réalisée par l'utilisation d'indicateurs biochimiques (Pelletier et al. 1993, Buckley et al. 1999). L'activité d'enzymes impliquées dans le cycle de la glycolyse a souvent été considérée comme un bon indice de la croissance chez les morues (*Gadus morhua*), les truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et les perchaudes (*Perca flavescens*) (Pelletier et al. 1993, Burness et Leary 1999, Sherwood et al. 2002). Plus particulièrement, l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la pyruvate kinase (PK) du muscle blanc est fortement corrélée au taux de croissance chez les poissons (Pelletier et al. 1993, 1994, 1995). Ce tissu possède une grande concentration de fibres glycolytiques (Greer-Walker et Pull 1975). Au niveau du foie, certaines enzymes telles que la LDH, l'hexokinase, la glucose-6-phosphate déshydrogénase, la glutamate déshydrogénase ou la glutamate pyruvate transaminase, ont également été considérées comme des indicateurs du taux de croissance chez la morue, le poisson chat et la truite arc-en-ciel (Pelletier et al. 1994, Premakumari et Vijayaraghavan 1992, Walzem et al. 1991). Cet organe joue un rôle central dans la conversion et la distribution de l'énergie provenant de l'alimentation (Walzem et al. 1991).

Un autre indice biochimique de la croissance chez les poissons est le rapport ARN/ADN dans le muscle blanc. Largement utilisé depuis les années 1970 (Houlihan et al. 1993), il est considéré comme un bon indicateur (Houlihan et al. 1986), puisque la

quantité d'ARN dans les cellules reflète normalement le compte de synthèse protéique, alors que la quantité d'ADN par cellule demeure constante (Bulow 1987). Le muscle blanc est une bon tissu à utiliser pour l'étude du rapport ARN/ADN puisqu'il constitue 50 % du poids corporel chez un poisson et de 65 % à 75 % de la synthèse protéique s'effectue dans celui-ci (Houlihan et al. 1986, Arndt et al. 1994).

Le système hormonal de croissance n'a pas encore retenu l'attention face au développement du polymorphisme trophique chez le grand corégone. Des études ont déjà clairement indiqué la présence du facteur de croissance analogue à l'insuline-I (IGF-I) chez les poissons (Duan et Hirano 1990, Duan et Inui 1990) et son rôle essentiel en période de développement (Duan et al. 1995). En comparant différentes espèces de poissons sélectionnées sur la base de la croissance, il a été observé que celles qui croissent rapidement présentent également des niveaux d'IGF-I plasmatiques plus élevés (Pérez-Sánchez et al. 1995). De plus, cette hausse d'IGF-I plasmatique augmente l'appétit (Johnsson et Björnsson 1994). Dans un même ordre d'idée, les niveaux d'ARNm d'IGF-I hépatique et la concentration d'IGF-I dans le sang sont aussi fortement corrélés avec le taux de croissance chez les poissons (Duan et al. 1995).

Le but de cette étude est d'évaluer l'importance de l'activité d'enzymes glycolytiques et de la synthèse protéique dans le développement du polymorphisme chez le grand corégone. Pour se faire, les analyses de l'activité de la LDH et de la PK, des rapports ARN/ADN et des niveaux d'IGF-I plasmatiques ont été effectuées chez des individus nains, normaux et leurs hybrides âgés de quatre mois, huit mois et 12 mois et élevés en laboratoire sous les mêmes conditions. Ces résultats ont été mis en relation avec le taux de croissance moyen (TCM) déterminé pour chacun des groupes.

Matériel et méthodes

Origine des poissons

Les géniteurs de forme naine provenaient du lac Témiscouata (47°36'N, 68°45'O), à la frontière du Nouveau-Brunswick, tandis que les géniteurs de forme normale provenaient du lac Aylmer sur la côte ouest du Maine (45°50'N, 71°26'O). Bien que les deux formes soient présentes dans chacun des deux lacs, le choix de différents sites a été motivé par le fait que les individus nains du lac Témiscouata frayaient à la même période que les individus normaux du lac Aylmer. Cela était nécessaire afin de pouvoir obtenir des croisements réciproques d'individus hybrides. Des croisements de formes naine et normale de lignées pures ont également été effectués. Le sperme et les œufs ont été transportés sur glace du lac Témiscouata au lac Aylmer à l'intérieur de 24 heures pour faire les croisements hybrides (Lu et Bernatchez 1998). Les œufs fertilisés ont été par la suite rapportés au Laboratoire régional des sciences aquatiques (LARSA) de l'Université Laval.

Le croisement d'individus nains purs de la F₁ consistait en 20 femelles et 20 mâles, tandis que le croisement d'individus normaux purs a été fait avec trois femelles et trois mâles. Deux croisements d'individus hybrides en F₁ impliquaient 20 femelles naines et trois mâles normaux et un croisement réciproque de trois femelles normales et 20 mâles nains respectivement. Les poissons qui ont été utilisés dans la présente étude provenaient de la deuxième génération (F₂). Ce choix a été pris, car il était important de s'assurer que les lignées de formes naine et normale soient bel et bien pures et que certains caractères possibles chez les individus des différentes familles d'hybrides s'expriment. Les familles d'hybrides ont été produites en F₂ à partir d'une femelle naine

et d'un mâle normal (famille 1) et pour le croisement réciproque, d'une femelle normale avec un mâle nain (famille 2) en F_1 . Ce croisement réciproque permettait de vérifier si les mâles avaient un effet parental sur la croissance de la progéniture comme il l'a été démontré récemment chez le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*) (Garant et al. 2002).

Conditions d'élevage et d'échantillonnage

Les formes naine, normale et leurs hybrides ont été élevés séparément dans des bassins en fibre de verre circulaires avec double entrée d'eau de 56 cm de diamètre ayant un volume de 80 litres chacun. Les deux familles d'hybrides ont été gardées dans des bassins séparés jusqu'à l'âge de huit mois. Après huit mois, toutes les familles d'hybrides ont été placées dans un même bassin faute d'espace dans le laboratoire et aucune distinction n'a été faite entre les familles. Le système opérait en circuit fermé avec un contrôle de la température. La température de l'eau était maintenue à $12,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ et les poissons recevaient une repas de 72 repas/jour (un repas au 10 minutes sur une période de 12 heures), afin de favoriser une croissance maximale. L'oxygène dissous était maintenue à 100% de saturation. Les poissons étaient gardés en photopériode de 12 heures de clareté/12 heures de noirceur.

Les poissons étaient échantillonnés au LARSA à l'âge de quatre mois, huit mois et 12 mois. Ils étaient anesthésiés avec de l'eugénol puis pesés et mesurés à l'aide d'une balance électronique ($\pm 0,0001\text{ g}$) et d'un vernier ($\pm 0,01\text{ mm}$). Le facteur de condition des poissons (FC) était calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{FC} = (P \cdot (L^{-3})) \times 100$$

Où P est le poids (g) et L la longueur totale (cm) (Guderley et al. 2001).

Prélèvement des tissus

En ce qui concerne l'analyse des activités enzymatiques et le rapport ARN/ADN, les poissons entiers ont été utilisés à l'âge de quatre et huit mois puisque ces derniers étaient trop petits pour prélever des tissus. Pour les poissons âgés de 12 mois, le foie était prélevé ainsi qu'un morceau de muscle blanc situé en dessous de la nageoire dorsale et au-dessus de la ligne latérale. Le sang a été pris à l'aide d'un tube capillaire dans l'artère dorsale pour l'étude des niveaux d'IGF-I circulants. Le poisson était sacrifié par une section au niveau cervicale. Le muscle, le foie et le poisson entier étaient immédiatement congelés dans l'azote liquide et le sang gardé sur glace pour être transportés à l'Université du Québec à Trois-Rivières et entreposés à -80°C jusqu'aux analyses, sauf pour le sang qui a été placé à 4°C .

Dosage enzymatique

Le tissu prélevé ou le poisson entier était homogénéisé dans un volume de tampon imidazole 1 M (5 vol/poids). L'échantillon était homogénéisé (PowerGen 125) quatre fois pendant 10 secondes et un temps d'arrêt de 10 secondes était effectué entre chaque homogénéisation, le tout sur de la glace. L'échantillon était centrifugé une minute à 16 000 x g à 4°C . Le surnageant était prélevé et conservé sur glace jusqu'à l'analyse. Une dilution 1/5 de l'homogénat était utilisée pour les poissons de quatre mois. Pour les poissons de huit et 12 mois, la dilution pour les individus normaux et hybrides était de

1/10 tandis qu'elle était de 1/20 pour les individus nains. Le volume d'homogénat utilisé pour chaque réaction était de 20 µl.

L'activité enzymatique maximale était déterminée avec un spectrophotomètre à UV visible (Cary 100 Bio, Varian Canada) à une température de 20°C. L'activité enzymatique de la LDH et de la PK était mesurée en suivant la disparition du NADH à 340 nm ($\epsilon_{340} = 0,622$). Les activités enzymatiques étaient exprimées en unités (μmol de substrat converti en produit/min)/g de tissu ou de poisson entier. Les conditions de dosages enzymatiques étaient optimisées par l'ajustement de la concentration de substrat. Tous les dosages ont été faits en triplicata. Entre 16 et 20 individus par groupe ont été utilisés pour les activités enzymatiques des muscles et des poissons entiers. Pour le foie, entre 11 et 13 individus par groupe ont été utilisés. Les réactions étaient les suivantes :

Pyruvate kinase (PK; E.C.2.7.1.40); 50 mM imidazole, pH était ajusté à 7,4 pour 20°C, 2 mM de NADH, 40 mM d'ADP, 100 mM de MgCl_2 , 1000 mM de KCl, 5 mM de fructose 1,6-bisphosphate, de LDH en excès et 50 mM de phénol pyruvate utilisé comme substrat.

Lactate déshydrogénase (LDH; E.C.1.1.1.27); 50 mM d'imidazole, pH était ajusté à 7,4 pour 20°C, 2 mM de NADH et 10 mM de pyruvate utilisé comme substrat.

Rapport ARN/ADN

Le muscle blanc ou le poisson entier était homogénéisé (PowerGen 125) quatre fois pendant 10 secondes dans un volume d'eau distillée (dilution 1/5). Un temps d'arrêt de

10 secondes était observé entre chaque homogénéisation, le tout se faisant sur glace. Tous les dosages étaient faits en duplicita et huit individus par groupe étaient utilisés.

Les acides nucléiques ont été extraits et purifiés à partir de la méthode établie par Buckley et Bulow (1987). Un traitement à l'acide froid (HClO_4) permettait d'enlever les nucléotides libres, les acides aminés et d'autres composés de faible poids moléculaire en plus de précipiter l'ARN, l'ADN et les protéines. La séparation de l'ARN, de l'ADN et des protéines était faite par hydrolyse de l'ARN avec une base (KOH). La séparation de l'ADN des protéines était effectuée par l'hydrolyse de l'ADN grâce à un acide (HClO_4). La concentration d'ARN et d'ADN était déterminée par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance à 260 nm.

Niveaux d'IGF-I plasmatiques par la méthode RIA (radioimmunoessai)

Extraction des protéines IGF-I

Le sang a été placé à 4°C toute une nuit pour permettre la séparation du sérum. Une centrifugation a été effectuée par la suite et le sérum a été prélevé. Un volume de 40 μl de sérum a été additionné à une solution éthanol/acide et incubée à la température de la pièce pour 30 minutes. L'addition de la solution Tris base permettait la neutralisation des échantillons. Les échantillons ont alors été centrifugés et le surnageant recueilli. Cette extraction à l'éthanol/acide a été effectuée afin d'enlever les protéines transporteuses d'IGF-I et de récolter l'IGF-I purifié. Tous les dosages ont été faits en duplicita et contenaient 50 μl de fraction par essai. Un total de quatre à sept individus par groupe a été analysé.

Méthode RIA (radioimmunologique)

Les niveaux plasmatiques d'IGF-I ont été mesurés par la méthode radioimmunologique (RIA) à l'aide de la trousse commerciale 'Fish IGF-I RIA kit' (GroPep, Adelaide, Australie).

Dans des tubes de borosilicate, les échantillons ont été additionnés à un tampon RIA à pH 7,5 puis à une solution de blanc d'extraction à l'éthanol/acide, au premier anticorps marqué à l'iode 125 (I^{125}) (anti-barramundi IGF-I) et au traceur IGF-I (environ 20 000 cpm par tube). La courbe standard a été constituée d'IGF-I spécifique aux salmonidés (saumon/truite) et pour laquelle une dilution seriée 1/3 a été effectuée pour un total de 15 points. Une première incubation de 16 à 20 heures à 4°C a été effectuée pour être suivie par l'addition du deuxième anticorps et de l'immunoglobuline de type G (IgG). L'incorporation d'un second anticorps anti-lapin dirigé contre le premier anticorps a été nécessaire afin de compléter la formation de la molécule anticorps-antigène. Les tubes ont été ensuite incubés 45 minutes à 4°C. La solution de polyéthylèneglycol (PEG), permettant la précipitation des complexes anticorps-antigène, a ensuite été incorporée aux tubes et ces derniers ont été centrifugés à 4°C. Le surnageant a été éliminé et la quantité d'IGF-I contenue dans le culot a été estimée par un compteur gamma (Wallac, 1470 Wizard).

Quelques modifications au protocole ont été faites au niveau des standards où les trois points les plus concentrés ont été enlevés et remplacés par des dilutions moins

concentrées au début de la courbe standard. Cela a permis de maximiser la courbe standard aux concentrations attendues dans nos échantillons. De plus, lors de la deuxième journée de manipulation, le temps d'incubation a été de 45 minutes au lieu de 30 minutes comme décrit dans le protocole, pour augmenter les chances de récolter un maximum de complexes anticorps-anticorps.

Analyses statistiques

Afin de déterminer s'il y avait des différences dans le poids, la longueur et le facteur de condition des corégones entre les trois groupes (individus nains, normaux et hybrides), une analyse de variance (ANOVA) avec correction de Bonferroni a été appliquée. Par contre, l'activité enzymatique, le rapport ARN/ADN et les niveaux d'expression d'IGF-I ont été analysés à l'aide de l'ANCOVA avec le poids comme covariable, afin d'enlever l'effet du poids sur les variables.

Pour s'assurer des conditions de l'ANOVA et de l'ANCOVA, les valeurs aberrantes ont été identifiées, la relation entre la variable dépendante et la covariable (uniquement pour l'ANCOVA) a été examinée ainsi que l'homogénéité des variances et la normalité des distributions. Dans le cas où la normalité ou l'homogénéité des variances n'étaient pas respectées, une transformation logarithmique était effectuée.

Pour déterminer s'il y avait des différences dans le poids, la longueur et le facteur de condition entre les deux familles d'hybrides issues de croisements réciproques, un test du *t* de Student a été effectué. La normalité des distributions et l'homogénéité des variances ont été vérifiées.

Le taux de croissance moyen (TCM) pour chacun des trois groupes peut être reflété par l'augmentation du poids sur une période de temps donnée, selon l'équation suivante :

$$M_t = M_0 e^{gt} \text{ ou } \ln M_t = \ln M_0 + gt$$

Où « M_t » est le poids (g) en fonction du temps « t », « M_0 » est la masse initial, « e » est la base des logarithmes naturels et « g » représente le taux de croissance.

Afin de déterminer si les TCM étaient significativement différents entre les trois groupes, une analyse par modèle général linéaire (GLM) a été effectuée selon la relation suivante :

$$\ln(M_t) = \text{constante} + \ln(t) + \text{groupe} + (t \cdot \text{groupe})$$

Une différence significative entre les pentes de ces droites, c'est-à-dire à partir de la probabilité associée à la variable « $t \cdot \text{groupes}$ », indiquera une différence entre les groupes au sein des TCM lors de la première année de développement. Ensuite, afin de déterminer entre quels groupes les pentes sont différentes, le GLM a été répété avec seulement deux groupes à la fois. Une correction de Bonferroni a été appliquée à la valeur de P (0,05/3).

Résultats

Paramètres de croissance

Les poissons d'écotypes nain, normal et leurs hybrides âgés de quatre mois possédaient des poids semblables (ANOVA; valeur de $P = 0,1$) (Tableau 2.1). Par contre, à huit et 12 mois, les individus nains se distinguaient par leur poids plus important comparativement aux individus normaux (ANOVA; valeur de $P = 0,01$), bien que les individus hybrides

possédaient un poids intermédiaire aux deux autres groupes (ANOVA; valeur de $P = 0,01$). Les individus nains avaient une longueur plus élevée à quatre, huit et 12 mois, comparativement aux individus normaux (Tableau 2.1). La longueur des individus hybrides à quatre mois était semblable à celle des individus nains (ANOVA; valeur de $P = 1,0$) et plus grande que celle des individus normaux (ANOVA; valeur de $P = 0,001$). À huit mois, la longueur des individus hybrides ne différait pas de celle des individus normaux (ANOVA; valeur de $P = 0,1$) et était significativement plus petite que celle des individus nains (ANOVA; valeur de $P = 0,001$) (Tableau 2.1). À 12 mois, les individus hybrides avaient une longueur intermédiaire à celle des formes naine et normale (ANOVA; valeur de $P = 0,01$).

Des différences significatives ont été observées au niveau du facteur de condition (Tableau 2.1). Les écotypes nains possédaient un facteur de condition plus faible que les individus normaux et les individus hybrides pour les trois périodes de temps à l'étude (ANOVA; valeur de $P = 0,001$). Les poissons hybrides ont été intermédiaires entre les poissons nains et normaux (ANOVA; valeur de $P = 0,01$).

Les résultats du GLM ont indiqué que les TCM étaient significativement différents entre les formes naine, normale et leurs hybrides durant leur première année d'existence (GLM; valeur de $P = 0,001$) (Fig. 2.1). L'examen des coefficients de la droite de régression simple indiquait par les constantes, ainsi que par leurs intervalles de confiance, qu'au temps 0, les individus des trois formes possèderaient le même poids (Tableau 2.2). L'examen des pentes a souligné, quant à elles, que les individus nains ont un TCM plus rapide que les individus normaux (GLM; valeur de $P = 0,001$) et leurs

hybrides (GLM; valeur de $P = 0,01$). Par contre, le TCM des individus normaux était semblable à celui des individus hybrides (GLM; valeur de $P = 0,1$).

Chez les familles d'hybrides (famille 1 = mâle nain/femelle normale; famille 2 = mâle normal/femelle naine), il n'y avait aucune différence en ce qui concerne le poids, la longueur et le facteur de condition à quatre et huit mois (ANCOVA; valeur de $P = 1,0$) (Tableau 2.3). De plus, aucune différence n'a été observée au niveau des activités enzymatiques de la LDH et de la PK (ANCOVA; valeur de $P = 1,0$) (Tableau 2.3).

Activités des enzymes glycolytiques à quatre et huit mois

L'ANCOVA effectué sur les activités enzymatiques chez les poissons nains et normaux ont indiqué qu'il y avait une différence entre ces deux écotypes et ce, tant pour l'activité de la LDH que de la PK. Les poissons nains présentaient une activité enzymatique glycolytique plus élevée que les individus normaux à quatre et huit mois (ANCOVA; valeur de $P = 0,01$) (Tableau 2.4). Par contre, l'activité de ces enzymes chez les individus hybrides ne différait pas ni des individus nains (ANCOVA; valeur de $P = 0,1$) ni des individus normaux à quatre mois. Les activités de la LDH (ANCOVA; valeur de $P = 0,001$) et de la PK (ANCOVA; valeur de $P = 0,01$) à huit mois chez les individus hybrides étaient semblables à celles des individus nains (ANCOVA; valeur de $P = 1,0$), mais différentes de celles des individus normaux où ces derniers avaient des activités plus faibles que les poissons hybrides.

Activités des enzymes glycolytiques à 12 mois

Pour le muscle blanc, les formes naine et normale avaient des activités enzymatiques au niveau de la LDH et de la PK qui différaient significativement. La forme naine présentant une activité plus importante que la forme normale (ANCOVA; valeur de $P = 0,01$) (Tableau 2.4). Les individus hybrides avaient, quant à eux, une activité intermédiaire à celle des individus nains (ANCOVA; valeur de $P = 0,001$) et normaux (ANCOVA; valeur de $P = 0,001$) pour la LDH. L'activité enzymatique de la PK chez les individus hybrides différait aussi des formes naine (ANCOVA; valeur de $P = 0,01$) et normale (ANCOVA; valeur de $P = 0,03$) en étant intermédiaire aux deux autres groupes.

Pour le foie, les formes naine et normale âgés de 12 mois possédaient des différences importantes au niveau de l'activité de la LDH où les poissons nains avaient une activité plus faible que les poissons normaux (ANCOVA; valeur de $P = 0,02$) (Tableau 2.4). L'activité de cette enzyme chez les poissons hybrides démontrait une similarité avec celle observée chez les formes naine (ANCOVA; valeur de $P = 1,0$) et normale (ANCOVA; valeur de $P = 0,1$). Il n'existe aucune différence d'activité enzymatique en ce qui concerne la PK entre les trois groupes à l'étude (ANCOVA; valeur de $P = 1,0$) (Tableau 2.4).

Rapport ARN/ADN

À quatre mois, il a été possible d'observer des différences entre les individus nains et normaux, où les poissons nains possédaient un rapport plus élevé (ANCOVA; valeur de $P = 0,01$), bien que les individus hybrides n'étaient pas différents des deux formes (ANCOVA; valeur de $P = 0,5$). Il n'existe pas de différences au niveau des rapports

ARN/ADN entre les individus nains, normaux et leurs hybrides à huit et 12 mois (ANCOVA; valeur de $P = 0,5$) (Tableau 2.4).

Niveaux protéiques d'IGF-I plasmatiques à 12 mois

Les résultats au niveau des concentrations d'IGF-I dans le sang indiquaient qu'il n'y avait pas de différence entre les formes naine, normale et leurs hybrides à 12 mois (ANCOVA; valeur de $P = 0,5$) (Fig. 2.2).

Discussion

Activité des enzymes glycolytiques

Cette étude indique que l'activité des enzymes glycolytiques (LDH-PK) est plus élevée chez la forme naine que chez la forme normale et que cette activité est intermédiaire chez les individus hybrides. En fait, l'activité de la LDH chez la forme naine est de 2,1 à 3,9 fois plus élevée que chez la forme normale. La PK a une activité se situant entre 1,4 et 2,1 fois plus élevée également chez les individus nains. Des différences intraspécifiques du même ordre de grandeur, au niveau de l'activité des enzymes glycolytiques chez d'autres espèces de poissons, ont déjà été observées antérieurement. Pelletier et al. (1994) ont démontré que les activités de la LDH et de la PK, sous des conditions contrôlées, étaient plus de quatre fois plus élevées chez les morues ayant un taux de croissance plus grand que chez celles ne croissant pas. Une étude a aussi été effectuée sur deux groupes de saumons de l'Atlantique juvéniles où ces poissons étaient caractérisés par une croissance différente au cours de leur premier hiver en milieu naturel (Nathanailides et

Stickland 1996). Les auteurs ont observé que l'activité de la LDH chez les saumons à croissance rapide était 1,4 fois plus élevée que chez les saumons à croissance faible (Nathanailides et Stickland 1996). Des différences interspécifiques en ce qui concerne l'activité de la LDH et de la PK ont également été démontrées entre des grands corégones de taille normale et des ciscos de lac (*Coregonus artedii*) au cours de leur migration de reproduction (Guderley et al. 1986). Il est important de noter que les ciscos ont déjà été décrits comme ayant un cycle vital, une diète, une morphologie et un budget énergétique similaire au grand corégone de taille naine (Pigeon et al. 1997, Trudel et al. 2001). Les résultats indiquaient qu'avant même leur départ pour la migration, c'est-à-dire au moment où les deux espèces étaient en mesure de se nourrir encore et de croître, les activités de la LDH (1,5 X) et de la PK (1,3 X) étaient toujours plus grandes chez les ciscos que chez les grands corégones de taille normale (Guderley et al. 1986).

En plus d'observer une augmentation de l'activité des enzymes glycolytiques chez la forme naine, le TCM de cette forme était également plus élevé que chez les individus normaux et hybrides durant leur première année de vie. Il est maintenant bien établi que le taux de croissance est positivement corrélé à l'activité des enzymes glycolytiques chez les poissons. Les études effectuées entre autre sur la morue, le vivaneau gazou (*Lutjanus synagris*), l'ombrine tropicale (*Sciaenops ocellatus*) et la goberge (*Pollachius virens*) l'ont bien démontrées (Clarke et al. 1992, Mathers et al. 1992, Pelletier et al. 1993, 1994, 1995). Cette forte corrélation entre l'activité des enzymes glycolytiques et le taux de croissance a été notée surtout dans le muscle blanc. Ce tissu est considéré comme un bon indicateur de la croissance puisqu'il est composé principalement de fibres blanches glycolytiques (Greer-Walker et Pull 1975). Toutefois, bien qu'une corrélation positive

existe entre la capacité de tissus métaboliques tels que le muscle blanc et le taux de croissance, cela ne reflète pas une relation de cause à effet directe (Sullivan et Somero 1983). Effectivement, une augmentation de la synthèse protéique et par le fait même, le soutien d'un taux de croissance rapide chez un poisson n'est pas le facteur qui entraîne directement une augmentation de l'activité glycolytique. Une activité glycolytique élevée serait plutôt déterminée par la capacité de nage rapide qui ainsi influencerait à la hausse la consommation de proies et permettrait de soutenir un taux de croissance élevé (Sullivan et Somero 1983). D'ailleurs, l'activité de la LDH a fréquemment été utilisée comme un indice de la capacité de nage rapide chez les poissons (Somero and Childress 1980). Une étude effectuée en laboratoire par Rogers et al. (2002) a révélé qu'il existait des différences comportementales de nage entre les formes naine et normale. Entre autre, l'une de leurs conclusions indiquait que les individus nains utilisaient plus régulièrement la nage rapide que les individus normaux (Rogers et al. 2002). Cela pourrait donc impliquer que les mécanismes régulateurs de la croissance chez les formes soient en relation avec les activités enzymatiques comme semblent l'indiquer les résultats de la présente étude.

Contrairement aux activités glycolytiques du muscle blanc, nos résultats indiquent qu'au niveau du foie les activités de la LDH sont moins élevées chez les individus nains que chez les individus normaux et leurs hybrides. Cette observation a également été faite dans l'étude de Pelletier et al. (1994), où une corrélation négative existait entre l'activité des enzymes hépatiques et le taux de croissance chez les morues. Cela pourrait refléter une accumulation de lipide dans le foie chez les poissons à croissance rapide (Pelletier et al. 1994).

Il est probable que le TCM plus élevé chez la forme naine leur permettrait d'atteindre leur maturité plus rapidement que chez la forme normale. En effet, la forme naine est mature vers l'âge d'un an comparativement à quatre ans pour la forme normale (Bodaly et al. 1991). De plus, il a été démontré antérieurement que les individus nains possédaient une espérance de vie d'environ quatre ans comparativement à 12 ans pour les individus normaux (Bodaly et al. 1991). Ces résultats supportent la théorie des cycles vitaux prédisant que les individus à croissance rapide deviendraient matures plus tôt et posséderaient une espérance de vie plus courte (Roff 1984). Nos résultats indiquant que le taux de croissance soit plus élevé chez les individus nains que chez les individus normaux sont contraires aux études antérieures voulant que la croissance soit plus faible chez les individus nains que chez les individus normaux (Bodaly et al. 1991). Toutefois, ces études ont été effectuées soit en milieu naturel, à partir de modèles ou sur des individus de plus d'un an. La présente étude, quant à elle, a porté pour la première fois sur la détermination du taux de croissance chez des individus 0+. Il serait donc probable que la croissance plus élevée des individus de la forme naine dans cette étude soit en relation avec la théorie des cycles vitaux.

Influence parentale sur la croissance

La progéniture âgée de quatre et de huit mois provenant des croisements réciproques était semblable au niveau de leur poids, de leur longueur et de leurs activités glycolytiques, bien que les mâles géniteurs étaient soit des formes naine ou normale. Chez le saumon de l'Atlantique, le taux de croissance et la taille pouvaient être plus élevés chez la progéniture où le mâle était plus petit en terme de taille et plus précoce au niveau de la

maturité sexuelle (Garant et al. 2002). Ces différences chez le poisson mâle, peuvent être modulées en fonction des stratégies de reproduction afin d'augmenter leur valeur adaptative (Gross 1996) et seraient sous l'influence de composantes environnementales et héréditaires (Garant et al. 2002). Dans notre étude il n'y a pas eu d'effet parental.

Rapport ARN/ADN

Dans la présente étude, il a été observé que la forme naine possédait un rapport ARN/ADN plus important à quatre mois que la forme normale. Les individus hybrides ayant un rapport intermédiaire à ces deux formes. Une étude effectuée sur deux formes de truite arc-en-ciel (à croissance rapide et faible) a révélé que les truites à croissance rapide possédaient des concentrations d'acides nucléiques plus élevées au niveau du muscle blanc (Valente et al. 1998). Selon ces auteurs, les truites à croissance rapide avaient un métabolisme plus rapide et un taux de synthèse protéique plus élevé. Dans la présente étude, la forme naine en plus d'avoir un rapport ARN/ADN plus élevé, ont des activités enzymatiques, reflétant le métabolisme énergétique, également plus grandes que la forme normale.

Par contre, il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes à huit et 12 mois pour les rapports ARN/ADN. Un organisme peut croître sans être obligé d'augmenter le nombre d'ARNr. Les ribosomes possèdent une capacité maximale de synthèse leur permettant de répondre à la demande métabolique d'un organisme sans pour autant être obligés d'augmenter en nombre (Lied et al. 1983). Cette constatation pourrait expliquer l'absence de différence dans les rapports observés dans la présente étude à huit et 12 mois. Pelletier et al. (1994) ont également montré qu'il n'y avait pas de

relation entre la croissance et le rapport ARN/ADN ou la concentration d'ARN chez la morue. Il serait donc possible que le nombre d'ARNr n'augmente pas nécessairement lors de la synthèse protéique après l'âge de quatre mois.

Il a été démontré chez la truite arc-en-ciel possédant des différences intraspécifiques au niveau de la taille, que le total d'ARN et d'ADN présentait une corrélation avec la taille jusqu'à l'âge d'un an (Burness et Leary 1999). Par la suite, cette relation n'était plus existante (Burness et Leary 1999). Peragòn et al. (2001) ont aussi observé chez la truite arc-en-ciel que le rapport ARN/ADN augmentait rapidement de 14 à 28 semaines de vie pour ensuite diminuer. Les indices de condition, comme la quantité d'ARN et d'ADN, peuvent donc se modifier différemment dépendamment de l'âge et de la taille des poissons (Suthers et al. 1996). Cette modification de la quantité d'ARN et d'ADN est attribuable à la composition du muscle. La croissance de ce tissu implique à la fois une augmentation de la longueur et du diamètre des fibres musculaires préexistantes (hypertrophie) et la production de nouvelles fibres plus petites (hyperplasie) (Kiessling et al. 1991). Il serait possible de croire que la forme naine âgée de quatre mois possède une composition musculaire différente de celle des individus normaux et que cette différence s'estompe par la suite.

Niveaux d'expression d'IGF-I plasmatique

Du point de vue de l'axe hormonal de croissance observé par l'entremise de l'IGF-I, il appert qu'aucune différence n'a été notée. Ces observations pourraient suggérer qu'il n'y ait plus de différence observable entre les formes naine et normale à 12 mois, parce que les individus nains seraient sur le point de devenir matures sexuellement comme l'a déjà

démontré l'étude de Fenderson (1964) voulant que les poissons nains soient matures vers l'âge de deux ans.

Importance évolutive des morphotypes présents chez le grand corégone

Bien que cette étude a été effectuée sur des formes allopatriques, il est possible de suggérer que nos résultats pourraient être appliqués à un système sympatrique. Les poissons utilisés au cours de l'expérimentation provenaient de deux lacs où les formes naine et normale vivaient en sympatrie. Ils ont donc subi les mêmes pressions environnementales et une sélection naturelle s'est opérée de la même façon sur ces deux formes. Les poissons utilisés dans cette étude ont été élevés dans des conditions identiques pendant deux générations. La pression environnementale, exempte de toute influence sur la croissance de ces individus, porte à croire qu'il y a des différences génétiques au niveau de la croissance chez ces formes

Remerciements

Nous remercions mesdames Nancy Damphousse, Fatiha Boulemkahel Stéphanie Beauchesne et messieurs Derek Tardif et Sébastien Bigras qui nous ont assistés dans notre travail; ainsi que messieurs Raphaël Proulx, Sean Rogers, Marco Rodriguez, Guy Samson et madame Claudia Cossette pour les nombreux conseils tout au long du projet. Un remerciement tout particulier à monsieur Marc Trudel pour ses conseils très judicieux autant durant le travail de laboratoire que pour la rédaction de cet article.

Références

- Arndt, S.K.A., Benfey, T.J. and Cunjak, R.A. 1994. A comparison of RNA concentrations and ornithine decarboxylase activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle tissue, with respect to specific growth rates and diel variations. *Fish Physiol. Biochem.* 13: 463-471.
- Bernatchez, L. and Dodson, J.J. 1990. Allopatric origin of sympatric populations of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) as revealed by mitochondrial-DNA restriction analysis. *Evolution* 44: 1263-1271.
- Bodaly, R. A., Vuorinen, J. and Macins, V. 1991. Sympatric presence of dwarf and normal forms of the Lake Whitefish, *Coregonus clupeaformis*, in Como lake, Ontario. *Can. F. Nat.* 49: 769-779.
- Buckley, L.J. and Bulow, F.J. 1987. The age and growth of fish. Techniques for the estimation of RNA, DNA, and protein in fish. Pp. 345-354. Edited by Robert C. Summerfelt and Grodon E. Hall. The Iowa State University Press, Ames, Iowa 50010.
- Buckley, L.J., Calderone, E. and Ong, T.-L. 1999. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiol.* 401: 265-277.
- Bulow, F.J. 1987. RNA-DNA ratio as indicators of growth in fish : a review. In The age and growth of fish. Pp. 45-64. Edited by R. C. Summerfelt and G. E. Hall. Iowa State University Press, Ames.

- Burness, G.P. and Leary, S.C. 1999. Allometric scaling of RNA, DNA and enzyme levels: an intraspecific study. *Am. J. Physiol.* 277: R1164-R1170.
- Chouinard, A., Pigeon, D. and Bernatchez, L. 1996. Lack of specialization in trophic morphology between genetically differentiated dwarf and normal forms of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchell) in lac de l'Est, Québec. *Can. J. Zool.* 74: 1989-1998.
- Clarke, M.E., Calvi, C., Domeirer, M., Edmonds, M. and Walsh, P.J. 1992. Effects of nutrition and temperature on metabolic enzyme activities in larvae and juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*, and lanesnapper, *Lutjanus synagris*. *Mar. Biol.* 112: 31-36.
- Duan, C. and Hirano, T. 1990. Stimulation of 35 S-sulphate uptake by mammalian insulin-like growth factor I and II in cultured cartilages of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *J. Exp. Zool.* 256: 347-350.
- Duan, C. and Inui, Y. 1990. Evidences for the presence of a somatomedin-like plasma factor (s) in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 79: 326-331.
- Duan, C., Plisetskaya, E.M. and Dickhoff, W.W. 1995. Expression of insulin-like growth factor I in normally and abnormally developing Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Endocrinol.* 136: 446-452.
- Fenderson, O.C. 1964. Evidence of subpopulations of lake whitefish, *Coregonus clupeaformis*, involving a dwarf form. *Trans. Am. Fish. Soc.* 93: 77-94.

- Garant, D., Fontaine, P.-M., Good, S.-P. and Dodson, J.-J. 2002. The influence of male parental identity on growth and survival of offspring in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Evol. Ecol. Res.* 4: 537-549.
- Greer-Walker, M. and Pull, G. 1975. A survey of red and white muscle in marine fish. *J. Fish. Biol.* 7: 295-300.
- Gross, M.R. 1996. Alternative reproductive strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends Ecol. Evol.* 11: 92-98.
- Guderley, H., Blier, P. and Richard, L. 1986. Metabolic changes during reproductive migration of two sympatric coregonines, *Coregonus artedii* and *Coregonus clupeaformis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 1859-1865.
- Guderley, H., Houle Leroy, P. and Gagné, A. 2001. Thermal acclimation, growth, and burst swimming of threespine stickleback: enzymatic correlates and influence of photoperiod. *Physiol. and Biochem. Zool.* 74: 66-74.
- Houlihan, D.F., McMillan, D.N. and Laurent, P. 1986. Growth rates, protein synthesis, and protein degradation rates in rainbow trout; effects of body size. *Physiol. Zool.* 59: 482-493.
- Houlihan, D.F., Mathers, E.M. and Foster, A. 1993. Biochemical correlates of growth in fish. In *fish Ecophysiology*. Pp. 45-71. Edited by J. C. Rankin and F. B. Jensen. Chapman and Hall, London.
- Johnsson, J.J. and Björnsson, B.T. 1994. Growth hormone increases growth rate, appetite and dominance in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Anim. Behav.* 48: 177: 186.

- Kiessling, A., Johansson, L. and Kiessling, K.-H. 1991. Effects of starvation on rainbow trout muscle. *Acta Agric. Scand.* 40: 309-324.
- Lied, E., Rosenlund, G., Lund, B. and Von der Decken, A. 1983. Effect of starvation and refeeding on *in vitro* protein synthesis in white trunk muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.* 76B: 777-781.
- Lu, G. and Bernatchez, L. 1998. Experimental evidence for reduced hybrid viability between dwarf and normal ecotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchell). *Proc. R. Soc. Lond.* 265: 1025-1030.
- Mathers, E.M, Houlihan, D.F. and Cunningham, M.J. 1992. Nucleic acid concentration and enzymes activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: growth rate estimates of open-sea fish. *Mar. Biol.* 112: 363-369.
- Nathanailides, C. and Stickland, N.C. 1996. Activity of cytochrome *c* oxidase and lactate dehydrogenase in muscle tissue of slow growing (lower modal group) and fast growing (upper modal group) Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* 48: 549-551.
- Pelletier, D., Guderley, H. and Dutil, J.-D. 1993. Effects of growth rate, temperature, season, and body size on glycolytic enzyme activities in the white muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Exp. Zoo.* 265: 477-487.
- Pelletier, D., Dutil, J.-D., Blier, P. and Guderley, H. 1994. Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *J. Comp. Physiol.* 164: 179-190.
- Pelletier, D., Blier, P.U., Dutil, J.-D. and Guderley, H. 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies ? *J. Exp. Biol.* 198: 1493-1497.

- Peragón, J., Barroso, J.B., Garcia-Salguero, L., De La Higuera and M. Lupianez, J.A. 2001. Growth, protein-turnover rates and nucleic-acid concentration in the white muscle of rainbow trout during development. *Int. J. Biochem. Cell B.* 33: 1227-1238.
- Pérez-Sánchez, J., Martí-Palanca, H. and Kaushik, S. J. 1995. Ration size and protein intake affect circulating growth hormone concentration, hepatic growth hormone binding and plasma insulin-like growth factor-I immunoreactivity in a marine teleost, the Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *J. Nutri.* 125: 546-552.
- Pigeon, D., Chouinard, A. and Bernatchez, L. 1997. Multiple modes of speciation involved in the parallel evolution of sympatric morphotypes of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, salmonidae). *Evol.* 51: 196-205.
- Premakumari, R. and Vijayaraghavan, S. 1992. Metabolic responses of lactate and lactate dehydrogenase to the stress of starvation and refeeding in liver tissues of *Anabas testudineus* (Bloch). *J. Environ. Biol.* 13: 83-87.
- Robinson, B.W. and Wilson, D.S. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *Am. Nat.* 144: 596-627.
- Rogers, S.M., Gagnon, V. and Bernatchez, L. 2002. Genetically based phenotype-environment association for swimming behavior in lake whitefish ecotypes (*Coregonus clupeaformis* Mitchell). *Evol.* 56: 2322-2329.
- Roff, D.A. 1984. The evolution of life history parameters in teleost. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41: 989-1000.

- Sherwood, D.G., Kovacs, J., Hontela, A. and Rasmussen, J.B. 2002. Simplified food webs lead to energetic bottlenecks in polluted lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59: 1-5.
- Skúlason, S. and Smith, T.B. 1995. Resource polymorphism in vertebrates. *Trends Ecol. Evol.* 10: 366-370.
- Smith, T.B. and Skúlason, S. 1996. Evolutionary significance of resource polymorphism in fishes, amphibians and birds. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 111-133.
- Somero, G.N. and Childress, J.J. 1980. A violation of the metabolism-size scaling paradigm: Activities of glycolytic enzymes increase in larger-size fish. *Physiol. Zool.* 53: 322-337.
- Sullivan, K.M. and Somero, G.N. 1983. Size-and diet-related variations in enzymatic activity and tissue composition in the sablefish, *Anablepsoma fimbria*. *Biol. Bull.* 164: 315-326.
- Suthers, I.M., Cleary, J.J. Battaglene, S.C. and Evans, R. 1996. Relative RNA content as a measure of condition in larval and juvenile fish. *Mar. Fresh. Res.* 47: 301-307.
- Trudel, M., Tremblay, A., Schetagne, R. and Rasmussen, J. B. 2001. Why are dwarf fish so small ? An energetic analysis of polymorphism in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Can. J. Fish. Aquat. Sc.* 58: 394-405.
- Valente, L.M.P., Gomes, E.F.S. and Fauconneau, B. 1998. Biochemical growth characterization of fast and slow-growing rainbow trout strains: effect of cell proliferation and size. *Fish. Physiol. Biochem.* 18: 213-224.

Walzem, R.L., Storebakken, T., Hung, S.S.O. and Hansen, R.J. 1991. Relationship between growth and selected liver enzyme activities of individual rainbow trout. J. Nutr. 121: 1090-1098.

Tableau 2.1. Poids et longueurs ainsi que les facteurs de conditions chez les grands corégones nains, normaux et leurs hybrides à quatre, huit et 12 mois. Moyenne \pm écart-type. Différences significatives entre les moyennes ($P < 0,05$). N correspond au nombre de poissons par groupe.

	4 mois			8 mois			12 mois		
	Nain	Hybride	Normal	Nain	Hybride	Normal	Nain	Hybride	Normal
Poids (g)	0,12 \pm 0,05	0,12 \pm 0,06	0,11 \pm 0,06	1,94 \pm 0,73 ^a	1,35 \pm 0,57 ^b	1,44 \pm 0,62 ^c	6,62 \pm 2,14 ^a	5,12 \pm 1,97 ^b	3,56 \pm 1,80 ^c
Longueur (mm)	28,9 \pm 3,50 ^a	28,32 \pm 3,70 ^a	26,49 \pm 4,07 ^b	67,0 \pm 8,97 ^a	58,14 \pm 8,80 ^b	58,15 \pm 7,83 ^b	99,63 \pm 14,13 ^a	88,47 \pm 11,46 ^b	76,71 \pm 10,47 ^c
Facteur de condition	0,45 \pm 0,06 ^a	0,51 \pm 0,08 ^b	0,54 \pm 0,06 ^c	0,62 \pm 0,06 ^a	0,64 \pm 0,06 ^b	0,70 \pm 0,05 ^c	0,66 \pm 0,10 ^a	0,70 \pm 0,05 ^b	0,73 \pm 0,08 ^c
N	90	90	90	60	60	61	51	49	50

Tableau 2.2. Tableau des coefficients de la droite de régression simple.

Forme	Coefficient	Moyenne	Intervalle de confiance		R^2 ajusté	N
			Inférieur (95 %)	Supérieur (95 %)		
Naine	Constante	-4,167	-4,352	-3,983	0,901	201
	Pente	0,527	0,504	0,550		
Hybride	Constante	-4,003	-4,178	-3,828	0,900	197
	Pente	0,482	0,460	0,505		
Normale	Constante	-3,981	-4,188	-3,773	0,856	201
	Pente	0,459	0,433	0,485		

Tableau 2.3. Poids, longueurs, facteurs de conditions ainsi que l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la pyruvate kinase (PK) chez les poissons entiers dans les deux familles d'hybrides de grands corégones à quatre et huit mois. Moyenne \pm écart-type ($P < 0,05$). N correspond au nombre de poissons par groupe.

	4 mois		8 mois	
	Famille hybride 1	Famille hybride 2	Famille hybride 1	Famille hybride 2
Poids (g)	0,12 \pm 0,05	0,13 \pm 0,06	1,33 \pm 0,53	1,36 \pm 0,62
Longueur (mm)	28,03 \pm 3,38	28,61 \pm 4,01	58,29 \pm 8,21	58 \pm 9,45
Facteur de condition	0,49 \pm 0,09	0,52 \pm 0,06	0,64 \pm 0,04	0,65 \pm 0,08
N	45	45	29	31
LDH	0,38 \pm 0,20	0,27 \pm 0,18	0,12 \pm 0,05	0,09 \pm 0,04
PK	0,53 \pm 0,16	0,46 \pm 0,17	0,07 \pm 0,04	0,08 \pm 0,04
N	10	10	10	10

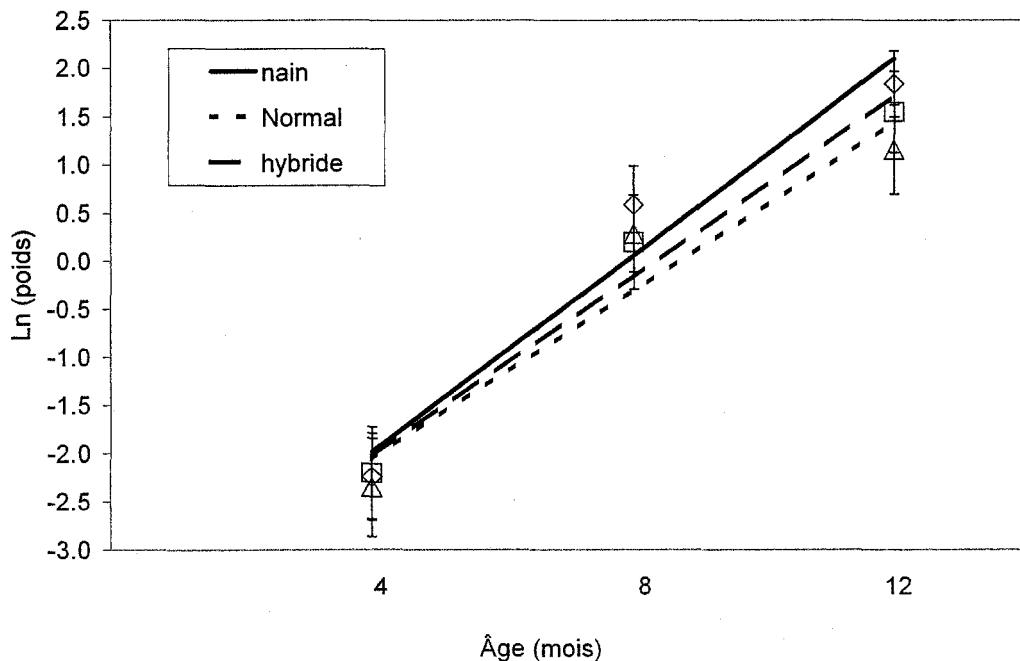
Tableau 2.4. Activités enzymatiques de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la pyruvate kinase (PK) chez les poissons entiers à quatre et huit mois et dans le muscle et le foie à 12 mois, ainsi que le rapport ARN/ADN chez les grands corégones nains, normaux et leurs hybrides. Moyenne écart-type. Différences significatives entre les moyennes ($P < 0,05$).

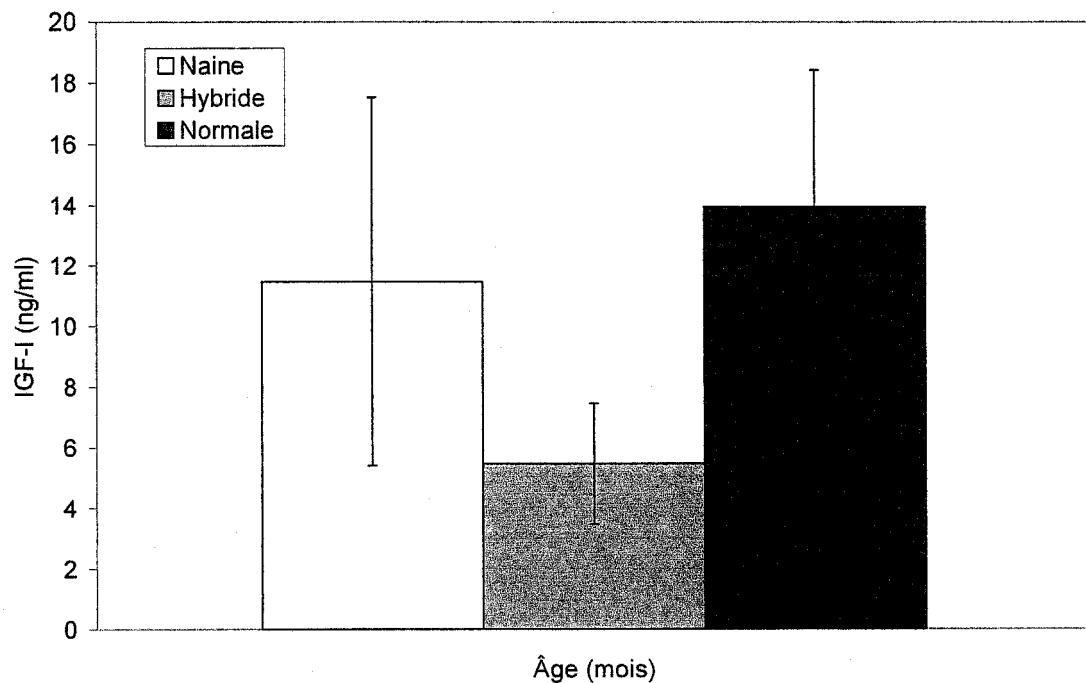
	4 mois			8 mois			12 mois			
	Nain	Hybride	Normal	Nain	Hybride	Normal	Tissus	Nain	Hybride	Normal
LDH	0,33 ±	0,32 ±	0,16 ±	0,14 ±	0,10 ±	0,06 ±	Muscle	2,17 ±	1,12 ±	0,57 ±
	0,19 ^a	0,20 ^{ab}	0,18 ^b	0,05 ^a	0,05 ^a	0,03 ^b		1,01 ^a	0,50 ^b	0,36 ^c
								1,90 ±	2,75 ±	3,65 ±
							Foie	1,12 ^a	1,65 ^{ab}	2,02 ^b
PK	0,59 ±	0,49 ±	0,44 ±	0,07 ±	0,08 ±	0,05 ±	Muscle	0,92 ±	0,55 ±	0,43 ±
	0,15 ^a	0,17 ^{ab}	0,19 ^b	0,03 ^a	0,04 ^a	0,02 ^b		0,43 ^a	0,36 ^b	0,23 ^c
								0,98 ±	0,58 ±	0,54 ±
							Foie	0,91	0,80	0,45
Rapport	3,85 ±	3,35 ±	3,04 ±	1,92 ±	1,83 ±	1,89 ±	Muscle	3,45 ±	3,41 ±	3,25 ±
ARN/ADN	0,53 ^a	0,88 ^{ab}	0,59 ^b	0,51	0,42	0,30		0,69	0,58	1,09

Légendes de la figure

Figure 2.1. Taux de croissance moyen (TCM) des grands corégones nains (\diamond), normaux (Δ) et leurs hybrides (\square).

Figure 2.2. Niveaux d'expression d'IGF-I plasmatiques chez les formes naine, normale et leurs hybrides âgés de 12 mois. Moyenne \pm écart-type.





CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES FUTURES

La présente étude a exploré les voies biochimiques pouvant être mises en relation avec la croissance chez les formes naine et normale du grand corégone afin de mieux comprendre les mécanismes entourant le processus du polymorphisme trophique. Les résultats obtenus ont permis d'observer que les mécanismes régulateurs de la croissance chez les formes étaient en relation avec l'activité des enzymes impliquée dans le cycle de la glycolyse. Il semble également qu'il y a des différences génétiques au niveau de la croissance entre les formes. Aussi, les formes possèdent une croissance différente au cours de leur première année de vie, où les poissons nains ont une croissance plus rapide que les individus normaux. Cela pourrait être expliqué par la théorie des cycles vitaux voulant que les individus à croissance rapide ont une maturité plus précoce et une espérance de vie plus courte.

Plusieurs questionnements peuvent être soulevés face à ces résultats puisque cette étude se veut la seule jusqu'à maintenant à s'être penchée sur l'observation de la croissance chez des formes 0+ à l'aide d'indicateurs biochimiques. Il serait intéressant dans le futur de se poser la question à savoir à quel moment le taux de croissance de la forme naine devient inférieur à la forme normale. Il serait aussi intéressant de voir comment les indicateurs biochimiques pourraient varier chez les formes à 1+, 2+, 3+, etc. et si ces indicateurs seraient représentatifs de la croissance chez ces formes comme l'ont été les activités de la glycolyse lors de leur première année de développement. L'observation de la performance natatoire chez les différentes formes durant leur première année de

développement serait aussi à envisager. Enfin, l'étude de la régulation des enzymes glycolytiques LDH et PK permettrait d'explorer leurs mécanismes moléculaires.

ANNEXE 1**RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS SELON LE JOURNAL**
FISH PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

An International Journal

Presentation and Preparation of the Manuscript

Manuscripts submitted for publication and communications concerning editorial matters should be sent to:

Journals Editorial Office

Fish Physiology and Biochemistry

Kluwer Academic Publishers

P.O. Box 990

3300 AZ Dordrecht

The Netherlands

Fax: 00 31 (0)78 6576904

No page charges are applicable, but prospective authors should condense their pages as much as possible.

Fish Physiology and Biochemistry welcomes research papers, review papers and proceedings of thematic symposia or workshops.

All aspects of the physiology and biochemistry of fishes are appropriate subjects for consideration, particularly papers having an experimental focus. Research fields dealing with the following topics are encouraged: gross and microanatomy related to the function of fishes; nutritional, osmotic, ionic respiratory, circulatory and excretory physiology; nerve and muscle physiology; endocrinology, reproductive physiology, including applied aspects of reproductive technology; energetics; immunology; biochemical and physiological effects of toxicants; molecular biology and biotechnology as it relates to the physiology or biochemistry of the organism.

Full papers describing original research should not exceed twenty pages of printed text, including tables, figures and references (one page of printed text = approximately 600 words). These will usually be published within five months of acceptance.

Short Communications should not exceed 5 printed pages in total. The format for a Short Communication should be the same as for a Full Paper.

Authors wishing to submit a Review Paper should contact the Editor prior to submission, and provide an outline of the content of the review.

Submission of the paper to the journal implies that it is original work, the intellectual property of the author(s), and not being considered for publication elsewhere. If the article is accepted for publication, the copyright of the article is transferred to the publisher; the copyright includes the exclusive rights to reproduce and distribute the article.

Papers already published or in press elsewhere will not be accepted. If any part of the subject matter or experiments included in a manuscript submitted to the journal has been the subject of any prior publication, this prior publication must be identified.

The journal encourages authors to submit a copy of the manuscript on floppy disk (see 'Preparing Manuscripts on Floppy Disk' below), together with conventional typed manuscripts (see below).

Manuscript Format

Manuscripts are to be written in correct English using a 10 or 12 point font size, double-spaced throughout on one side of A4 paper with margins of 3-5 cm.

All pages, including the tables, figures, legends and references, are to be numbered consecutively.

Submit four complete copies of the manuscript (the original plus three copies); the Editor and the Publisher can accept no responsibility for manuscripts, figures or floppy disks that are lost in the mail or not returned by the reviewers.

On the first page of the manuscript include the following information:

- Title (brief but informative)
- Author(s)'s initial and family name (if more than one author use 'and' before the last author's name, e.g., J. Smith, F.T. Jones and R. Edwards)
- Affiliations/Addresses of all authors (provide complete addresses, and a fax number and/or e-mail address for correspondence; also indicate to whom correspondence should be addressed)
- Key words (a maximum of 10, in alphabetical order, suitable for indexing; these should differ from words used in the title)

For the remaining manuscript use the main headings, as follows:

- Abstract (brief and informative; maximum 250 words)
- Abbreviations (listed alphabetically as a footnote to page 2; limit these to words that are not familiar and/or commonly used)
- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussion
- Acknowledgements

Use Roman bold font for the main headings, italic font for the subheadings, and Roman font for subsequent levels of section headings.

The approximate location of figures and tables should be indicated in the margin.

The first paragraph in each section should not be indented; subsequent paragraphs should be indicated by clear indentations.

The first text citation of the common name of a fish species should be accompanied by the Latin name, in italic font (e.g., rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*); thereafter, only the common name (rainbow trout) or the abbreviated Latin name (*O. mykiss*) is to be used consistently throughout the text.

Cite references in the text as follows: Smith (1998), (Smith 1998), Smith and Jones (1998), or Smith et al. (1998)

The References cited section is to be typed double-spaced and listed alphabetically; the format is to be as follows:
Periodicals:

Luizi, F., Korsgaard, B. and Petersen, I.M. 1997. Plasma lipoproteins in European eels (*Anguilla anguilla*): effects of estradiol. *Fish Physiol. Biochem.* 16: 273--280.

Books (edited by someone other than author of article):

Smith, E.L., Austem, B.M., Blumenthal, K.M. and Nye, J.F. 1975. In: *The Enzymes*. Vol. 11, pp. 293--367. Edited by P.D. Boyer. Academic Press, New York.

Books (monographs):

Hicks, C.R. 1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Rinehard and Winston, New York.

Begin the first line of each reference flush left, and indent the second and subsequent lines of each reference.

Avoid citations of conference abstracts or proceedings, unless they are published in recognised journals.

Abbreviate titles of periodicals according to the style of the Bibliography Guide for Editors and Authors Biosis, Chemical Abstract Service and Engineering Index, Inc. 1974.

Tables must be mentioned in the text and prepared as follows (tables may be edited by the publisher to permit more compact typesetting):

- type each Table on a separate page, and number it with Arabic numerals, followed by the title
- do not use abbreviations or units of measurement in the title
- horizontal rules are to be indicated, but do not use vertical lines
- footnotes should be marked with superscript numbers

Figures must be mentioned in the text and prepared as follows:

- they must be of high quality, numbered consecutively with Arabic numerals and the author's name should appear on the back of the Figure
- where multi-part figures are used, each part must be clearly identified in the legend
- line drawings must be in black ink on white paper or blue graph paper; avoid the use of extremely small type since Figures are often reduced in size
- halftone reproduction must be clear, well-contrasted black and white prints on glossy paper and mounted on card
- when several photographs are to be included on the same page they should be mounted immediately adjacent to one another without spaces and without tooling
- colour plates will be inserted only at the author's expense and quotes will be provided for each individual case
- draw bar scales directly on the Figure where magnification is to be given
- the figure legends should be typed as the last section of the manuscript

Abbreviations and units must be in the form of SI units [mg, g, m, cm, mm, ppm, cpm, l (liter), ml, s (second), min (minute), h (hour), mol, m⁻²], etc., throughout the text, tables and figures, and the minus index form [i.e., use mg l⁻¹, nog mg/l] is to be used throughout.

The author will be sent an offprint order form and proofs, which should be returned to the Editor without delay. If there are typesetting problems, it is the responsibility of the author to contact the Publisher and Editor by fax

(Publisher: (++) 31 78 63 92 555; Editor + 519 767 1540). The author is responsible for correcting errors in typesetting; alterations of the proofs must be kept to a minimum and the cost of making changes other than corrections of typesetting errors will be charged to the author. FIFTY OFFPRINTS WILL BE SUPPLIED FREE OF CHARGE.

Preparing Manuscripts on Floppy Disk

- Manuscripts typed on IBM-compatible computers with operating system MS DOS (version 3.1 or higher) and the word processing package WordPerfect (version 4.0 or higher) are preferred, although other word processing packages can be accepted.
- use only regular fonts, such as Courier, Times, Helvetica or standard Symbol.
- identify your file clearly on the label
- be absolutely consistent as regards the use of punctuation, abbreviations, capitals and lower case throughout the text
- do not underline words to indicate italics, use italic font instead
- for special characters that are not contained in the character set of the word processing package, key in a code between angle brackets,
- , and use this each and every time you want the character to appear; provide a list of the codes that you have used
- begin headings flush to the left with two line spaces above and one line space below; distinguish different levels of headings and be consistent; do not indent the first paragraph below each heading and subheading, but indent other paragraphs using the tabulation [TAB] key
- separate the columns using the tabulation [TAB] key, not with the space bar
- do not hyphenate words at the end of the line, let the word wrap feature of the word processing package set the line form, and do not use hard returns except when absolutely necessary [such as the end of a paragraph]

Further information is available from:

Kluwer Academic Publishers
P.O. Box 990
3300 AZ Dordrecht
The Netherlands
Tel: 00 31 78-6576000 or Fax: 00 31 78-6576904

Copyright © 2001, Kluwer Academic Publishers. All rights reserved.

Erreur! Nom du fichier non spécifié.Erreur! Nom du fichier non spécifié.