



Effet de la pêche sur le stress oxydant du gardon (*Rutilus rutilus*) et de la perche commune (*Perca fluviatilis*)

A. Degut

► To cite this version:

A. Degut. Effet de la pêche sur le stress oxydant du gardon (*Rutilus rutilus*) et de la perche commune (*Perca fluviatilis*). Sciences de l'environnement. 2012. hal-02598082

HAL Id: hal-02598082

<https://hal.inrae.fr/hal-02598082>

Submitted on 15 May 2020

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

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

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE

DEGUT Anaïs

Département de GENIE BIOLOGIQUE
Université Claude Bernard – Lyon 1

Année universitaire 2011/2012
Option A.B.B

RAPPORT DE STAGE DE DEUXIEME ANNEE

Effet de la pêche sur le stress oxydant du gardon (*Rutilus rutilus*)
et de la perche commune (*Perca fluviatilis*)



Université Lyon 1 la DOUA
8 Rue Raphael Dubois
Bâtiment Dubois
69622 Villeurbanne
Tél. : 04.72.43.28.88

UMR 5023- LEHNA
IRSTEA Aix-en-Provence

Maître de stage : Martin DAUFRESNE
Responsable du stage : Claire HEMMER
Stage du 10/05/2012
au 20/07/2012

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Martin DAUFRESNE de m'avoir accueillie en tant que stagiaire au sein de l'IRSTEA et de m'avoir permis de participer à cette étude.

Je remercie aussi tout particulièrement Claire HEMMER, doctorante, qui m'a encadrée tout au long de mon stage pour découvrir le monde du travail dans un domaine que j'affectionne particulièrement. Je lui souhaite une grande réussite pour sa thèse.

Je remercie également Caroline ROMESTAING, Maître de conférence au laboratoire LEHNA - UMR 5023, pour sa présence, son aide, sa patience et sa gentillesse durant cette période.

Et pour finir je remercie tout l'équipe du laboratoire de LEHNA de m'avoir accueillie et pour avoir veillé au bon déroulement de mon stage.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	2
ABRÉVIATIONS & SIGLES	4
INTRODUCTION	5
MATERIELS ET METHODES	8
ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES	8
DONNEES RECOLTEES	8
MATERIEL BIOLOGIQUE	8
METHODE TBARS : MESURE DES DEGATS SUR LES MEMBRANES	9
SOD ET GPX : MESURES DES DEFENSES ANTIOXYDANTES ENZYMATIQUES	11
DOSAGES DES PROTEINES	13
TEST STATISTIQUES	14
RESULTATS	15
TABLEAU BIBLIOGRAPHIQUE	15
ENZYMES ANTIOXYDANTES TOUTES ESPECES CONFONDUES	15
DEGATS OBSERVES SUR TOUTES ESPECES CONFONDUES – METHODES TBARS	17
RESULTATS COMPARATIFS ENTRE LES 2 ESPECES POUR LES ENZYMES ANTIOXYDANTES	17
RESULTATS COMPARATIFS ENTRE LES 2 ESPECES POUR LES DEGATS SUR LES MEMBRANES	19
DISCUSSION	21
CONCLUSION	24
BIBLIOGRAPHIE	26
ANNEXES	27
RESUME	36

ABRÉVIATIONS & SIGLES

ADN: Acide désoxyribonucléique

BHT: Butylated Hydroxytoluene

BSA: Bovine Serum Albumin (Solution d'Albumine Bovine)

DTT: Dithiothréitol

EDTA: Acide Ethylène Diamine Tétracétique

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène

GAR : Gardon

GPx: Glutathion Peroxydase

GSH: γ -Glutamyl-Cystéinnyl-Glycine

GSSG: Glutathion disulfite

MDA: Malonaldéhyde

NADP: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

PER: Perche

ROS: Reactive Oxygen Species

SDS: Sodium Dodecyl Sulfate

SOD: Superoxyde Dismutase

TBA: Acide Thiobarbiturique

INTRODUCTION

Afin de mieux étudier l'impact de l'homme sur les environnements aquatiques, et plus spécifiquement sur les communautés piscicoles (d'intérêt socio-économique), de nombreuses études utilisent des techniques de pêches diverses et variées. Les plus utilisées sont celles que nous allons étudier : la pêche électrique et la pêche au filet. La première est très utilisée en milieu lotique (type rivière) et consiste en l'application d'un champ électrique dans l'eau qui va dérouter les poissons sans les tuer, et ainsi faciliter leur capture. Les poissons vont remonter vers la surface où ils pourront être attrapés à l'aide d'une épuisette. La pêche électrique est controversée, jugée « trop facile » et pouvant causer de grave dommage aux poissons (Bracewell, 2004 (1)). En effet, une mauvaise utilisation du champ électrique peut causer des lésions internes aux poissons et agir sur leur fertilité ou sur la viabilité de leurs œufs.

La pêche au filet, quant à elle, est plus utilisée en milieu lentique (type lac), plus profond, et consiste à retenir « mécaniquement » les poissons. Elle est très variable puisque le filet utilisé peut être benthique ou pélagique, dérivant ou fixe, horizontaux ou verticaux, et les mailles peuvent être de différentes tailles (voir annexe). Ainsi, la taille des poissons capturés va dépendre de la taille de mailles utilisées. La pêche au filet peut créer des lésions externes aux poissons notamment parce qu'ils peuvent rester coincés au niveau des ouïes. De plus, la manipulation des poissons a pour effet une libération de mucus qui peut être délétère à un certain seuil. Après la pause du filet, il est d'usage d'attendre une douzaine d'heures avant de le relever. Les poissons capturés juste après la pause du filet se débattent donc pendant 12h. La plupart vont être blessés ou mourir dans ce laps de temps. L'effort physique intense et prolongé des poissons pendant la pêche au filet et le choc électrique qui fait varier le potentiel électrique des membranes cellulaires induit des conséquences physiologiques.

Pour ces 2 méthodes de pêche, il existe des normes récentes (Conseil supérieur de la pêche-INRA, 2006 (6)) qui précisent les conditions dans lesquelles les poissons utilisés à des fins expérimentales (issue d'un échantillonnage), doivent être pêchés. Ainsi, il est intéressant de se pencher sur les articles scientifiques pour voir si les études menées sur la perche et le gardon précisent la méthode de pêche utilisée. . Le premier

travail de ce stage sera d'établir un petit rapport bibliographique concernant ces techniques et la présence d'information en matériel et méthodes afin d'observer les possibles manques de la bibliographie.

Ensuite, il sera intéressant de comparer ces deux méthodes de pêche. Nous nous pencherons alors sur l'effet des 2 méthodes sur le stress oxydant chez nos deux poissons d'intérêt : la perche (*Perca fluviatilis*) et le gardon (*Rutilus rutilus*).

Qu'est-ce que le stress oxydant ?

Le stress oxydant est une agression chimique de l'organisme due aux radicaux libres¹ appelés Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO ou Reactive Oxygen Species= ROS, en anglais). Ces ERO sont des dérivés de l'oxygène qui n'est pas utilisé pour la respiration cellulaire. Ces ERO sont des produits oxydants, instables et toxiques pour les éléments cellulaires. Ils ont la capacité de dénaturer les protéines et donc d'inactiver les enzymes, ils oxydent les glucides, rendent inactifs les lipides, et peuvent induire des lésions sur l'ADN provoquant ainsi des mutations. En faible quantité, les ERO ont un rôle physiologique de messenger secondaire, notamment dans l'apoptose (Droge, 2002 (3) ; Thannickal, 2000 (9)). En grande quantité, ils peuvent être dangereux pour les cellules de l'organisme et provoquer une mort cellulaire prématurée (Tiwari, 2002 (10)). Ces caractéristiques en font les candidats les plus probables pour expliquer les processus de vieillissement (Finkel, 2000 (5)).

Pour lutter contre les effets néfastes de ces ERO, il existe des défenses composées d'antioxydants². Les ERO et les antioxydants sont en proportion plus ou moins équitables dans l'organisme, c'est ce que l'on appelle la balance oxydative (Chrousos, 1997 (2)). L'organisme est donc en état de stress oxydant lorsqu'il y a une production excessive d'ERO ou un déficit en antioxydants.

Pour déterminer les effets de la pêche sur la perche et le gardon, nous étudions les défenses qui ont été mises en place pour contrer les dégâts engendrés par le stress oxydant s'il a eu lieu. Pour cela, on dose, dans les muscles des poissons, les enzymes

¹ Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron libre sur sa couche externe, ce qui lui confère donc une grande réactivité avec les autres molécules. Ils sont formés le plus souvent à partir de l'O² grâce à un gain d'électron.

² Un antioxydant est une substance capable d'empêcher l'oxydation d'un substrat en entrant en compétition avec des radicaux libres, à faible concentration.

antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD) qui est en charge d'éliminer l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et la glutathion peroxydase (GPx) qui assure l'élimination du peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée (H_2O_2) (voir Fig. 1).

Enfin, pour déterminer l'état dégradé ou non des tissus, nous étudions, via la technique des TBARs, les dégâts causés par les ERO sur les membranes. Cette technique permet le dosage du malonaldéhyde (MDA), marqueur de l'oxydation des lipides membranaires.

En parallèle à cette comparaison des techniques de pêches sur le stress oxydatifs, j'étudierai l'effet "espèce". En effet, il serait intéressant d'observer si la pêche a les mêmes effets sur la perche et le gardon, espèces présentant des mœurs alimentaires différentes.

MATERIELS ET METHODES

ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

Vingt-trois articles concernant l'étude du gardon (*R.rutilus*) ou de la perche (*P.fluviatilis*), provenant de 18 revues ont été collectés. Les matériels et méthodes de chaque article ont été parcourus à la recherche d'information sur les méthodes de pêche utilisées pour récolter les poissons nécessaires à l'étude. Les articles datent de 1958 à 2011. Les facteurs d'impact³ de chaque revue ayant publié un article ont été recueillis.

DONNEES RECOLTEES

MATERIEL BIOLOGIQUE

L'étude porte sur deux espèces de poissons d'intérêt socio-économique : la perche et le gardon. La perche est un carnassier et le gardon, un omnivore, ils ne possèdent pas le même régime alimentaire et ne se trouvent donc pas au même niveau dans le réseau trophique. C'est pourquoi il est intéressant d'étudier l'impact du stress oxydant chez ces deux espèces de poissons, qui vivent aussi bien en rivière, qu'en lac.

Pour l'étude ont été utilisés 47 échantillons de muscles préalablement congelés provenant de 23 gardons (*Rutilus rutilus*) et 24 perches communes (*Perca fluviatilis*).

Les trois lots analysés, ont été pêchés au lac des Barriousses en octobre 2011 et quelques individus proviennent d'une pêche d'Avril 2012 sur le Rhône (pour compléter les données en sous effectif pour le lot "électricité"):

- Un lot pêché au filet et retrouvé mort au bout de 2 heures (filet maillant benthique norme CEN: 12 mailles différentes allant de 5 à 55 mm (biblio (6) + annexe)
- Un lot pêché au filet retrouvé vivant (mêmes filets)
- Un lot de poissons pêché à l'électricité (forte décharge envoyée pour les poissons provenant de la retenue des Barriousses (conductivité faible de l'eau = 30 $\mu\text{S}/\text{cm}$) et faible décharge pour ceux issus du Rhône en amont de la centrale du Bugey (conductivité plus forte de l'eau de l'ordre de 400 $\mu\text{S}/\text{cm}$))

³ Un facteur d'impact est l'équivalent d'une note donnée à une revue scientifique et qui définit un indice de visibilité. Il est révisé annuellement.

Les gardons avaient une taille variant entre 6 cm et 17,8 cm et une masse entre 3,02 grammes et 55,86 grammes. Les perches avaient une taille variant entre 6 cm et 15,8 cm et une masse entre 1,82 g et 57,3 g.

PRELEVEMENTS DES TISSUS

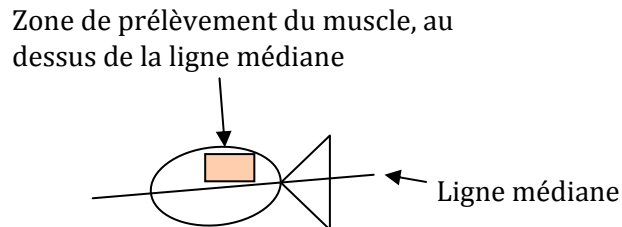


Fig. 2 : Présentation du prélèvement d'un échantillon de muscle sur le poisson.

Un échantillon de muscle a été prélevé sur le flan de chaque poisson au dessus de la ligne médiane à l'aide d'un scalpel (voir Fig. 2). La masse des muscles prélevée varie entre 226 g et 644 g. Les prélèvements ont tous été effectués le même jour après décongélation des individus. D'autres tissus, comme le foie et les ovaires, ont été prélevés lors de la dissection puis congelés pour des analyses ultérieures.

METHODE TBARS : MESURE DES DEGATS SUR LES MEMBRANES

La méthode TBARS est un dosage indirect. Le but de ce dosage est de mesurer les dégâts que provoque le stress oxydant sur les membranes cellulaires. En effet durant un stress oxydant, les lipides sont peroxydés. Les phospholipides qui composent les membranes cellulaires étant les lipides les plus abondants, ce sont les membranes qui vont subir le plus de dégâts dus à la peroxydation. Lors de cette réaction, il y a production de malondialdéhyde⁴ (MDA). C'est la présence de ce composé qui est dosé dans chaque échantillon. La réaction entre le MDA et l'acide Thiobarbiturique (TBA), à 90-100 °C et à pH faible, va créer un composé qui pourra être mesuré par colorimétrie (voir Fig. 3). La concentration du produit de l'addition de malondialdéhyde et de l'acide Thiobarbiturique est proportionnelle à la concentration de glutathion peroxydase présente initialement dans l'échantillon.

⁴ Le malondialdéhyde est un composé très mutagène. Lors d'un stress oxydant, il est produit par la réaction de peroxydation des lipides et va endommager l'ADN.

Réaction du dosage:

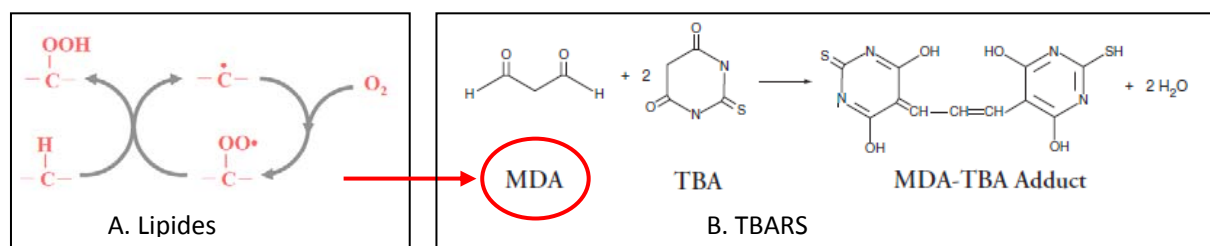


Fig. 3: Détermination de la peroxydation des lipides grâce à la méthode TBARS.

Environ 50 mg de muscles ont été prélevés pour le dosage des TBARS (de 39 à 102 mg). Ce tissu ont été broyé dans 750 μL de Tampon (KH_2PO_4 100 mM, BSA 0.05%, EDTA 10 mM, BHT 0.13 mM, Desferoxamine 0.13 mM, H_2O) pendant 2 minutes à 50 Hz en présence de 2 billes en inox. Puis 250 μL de tampon et refaire une phase de broyage pendant 2 minutes à 50 Hz toujours en présence des 2 billes. Après avoir retirés les billes et passé les échantillons à la centrifugeuse pendant 10 minutes à 4 °C et 1100 g, le surnageant est récupéré.

Les échantillons ainsi préparés sont placés au congélateur pour dosage ultérieur ou peuvent être dosés directement.

Puis on réalise une gamme qui nous servira de référence pour nos échantillons (voir Tableau I)

Tableau I. Tableau représentant la composition de la gamme étalon pour la méthode Tbars.

nmol de MDA	TEP (209 nmol/ml)	QSP H2O
0	0 μL	400 μL
1,045	5 μL	395 μL
2,09	10 μL	390 μL
3,135	15 μL	385 μL
4,18	20 μL	380 μL

Le mélange se prépare dans des tubes en verre pour supporter les étapes de chauffage (95°C pendant 1h) et les produits corrosifs utilisés (30 μL de SDS 8.1 %, 225 μL de solution acétique 20 %, et 225 μL d'acide Thiobarbiturique 0.8 %). Après refroidissement des tubes, 600 μL de mélange Butanol/Pyridine (15/1) sont ajoutés sous hotte aspirante du fait de la volatilité de ses composés. Après agitation pendant 10

minutes à température ambiante, les tubes sont centrifugés pendant 10 minutes à 2880 g à température ambiante. Enfin on récupère le surnageant et on dose par spectrométrie à 532 nm sur microplaque.

SOD ET GPX : MESURES DES DEFENSES ANTIOXYDANTES ENZYMATIQUES

La Superoxyde dismutase (SOD) et la Glutathion réductase (GPx) sont des enzymes antioxydantes. La superoxyde dismutase transforme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) très toxique en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). C'est ensuite la glutathion réductase qui va transformer le peroxyde d'hydrogène en eau (H_2O). Ces deux enzymes participent donc à la détoxification de l'organisme.

ETAPE DE BROUAGE

Aux échantillons de muscles prélevés précédemment sont ajoutés 1.5mL de tampon de broyage (KH_2PO_4 100 mM, DTT 1 mM, EDTA 2 mM, H_2O). L'étape de broyage se fait comme pour les TBARs 2 minutes à 50 Hz en présence de 2 billes en inox de 5 mm de diamètre. Après avoir enlevé les 2 billes, les échantillons sont centrifugés 10 minutes à 4°C à 5000 rpm (tour par minutes) pour obtenir le surnageant qui sera dosé.

A la fin des 2 broyages (pour les TBARs et pour les enzymes antioxydantes), 100 μ L de surnageant sont prélevés et sont à -80°C pour le dosage des protéines.

ETAPE DE DOSAGE

DOSAGE DE LA SOD

La mesure de l'activité de la SOD est une mesure spectrophotométrique indirecte. On mesure l'apparition de cytochrome c réduit. En effet, dans le milieu de réaction se trouve de la xanthine. On rajoute de la xanthine oxydase, enzyme qui va dégrader la xanthine en acide urique. Cette réaction va produire 2 anions superoxydes (voir Fig.4). Donc si l'échantillon de muscle contient de la SOD, celle-ci va éliminer l'anion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en eau. Le cytochrome présent dans le milieu sert d'indicateur coloré. En effet, si le cytochrome est réduit par

l'anion superoxyde, il change de couleur. Ainsi la quantité de cytochrome réduit apparue, est inversement proportionnelle à la quantité de superoxyde dismutase présente dans l'échantillon.

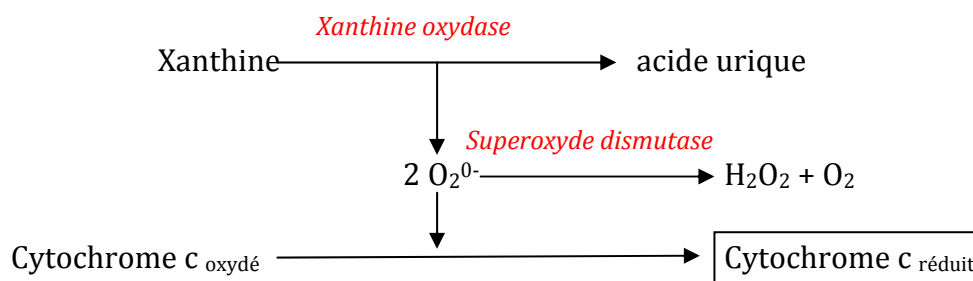


Fig. 4 : Réaction du dosage de la superoxyde dismutase (SOD).

Avant de commencer le dosage réel dans nos échantillons, il faut tester le volume de xanthine oxydase (Xanthine 5 mM, NaOH 0.01 N) nécessaire pour que la réaction se passe, dans 1mL de milieu de réaction SOD (Xanthine 5 mM, cytochrome c, KH₂PO₄ 50 mM, EDTA 0.1 mM, H₂O), pour que la pente de la densité optique mesurée pendant 180 secondes et lue à 550 nm soit environ égale à 0,025, dans les 2 cuves en plastiques (réplicats). Une fois le volume de xanthine oxydase déterminé, on crée une gamme d'étalonnage. Chaque point est effectué en double dans 2 cuves de spectrophotomètre. Le premier point est composé de 1 mL de milieu réactionnel SOD et X µL de xanthine oxydase (dosé précédemment). Le deuxième point est composé de 1 mL de milieu de réaction, X µL de xanthine oxydase et 10 µL de superoxyde dismutase. Le dernier point est composé de 1 mL de milieu de réaction, X µL de xanthine oxydase et 20 µL de superoxyde dismutase (SOD). Pour les échantillons, on remplace la SOD par 20 µL de nos surnageants. Le dosage se fait après avoir bien vortexé à une longueur d'onde de 550 nm pendant 180 secondes. On obtient alors une pente qui nous permettra de calculer l'efficacité de l'enzyme SOD (Calcul en annexe).

DOSAGE DE LA GPX

La mesure de l'activité du glutathion peroxydase est aussi une mesure indirecte. Dans ce dosage on mesure la disparition du NADPH (voir Fig. 5). Le peroxyde d'hydrogène présent dans le milieu de réaction (apporté par l'hydroperoxyde de cumène) va être éliminé par la GPx, si elle est présente dans l'échantillon. Le glutathion réduit (GSH) va servir de donneur d'électrons et être réduit en glutathion disulfite

(GSSG). La glutathion réductase va transformer le glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH). C'est le NADPH qui va être utilisé comme donneur d'électron pour cette dernière réaction, ce qui va faire apparaître le NADP.

Réaction du dosage :

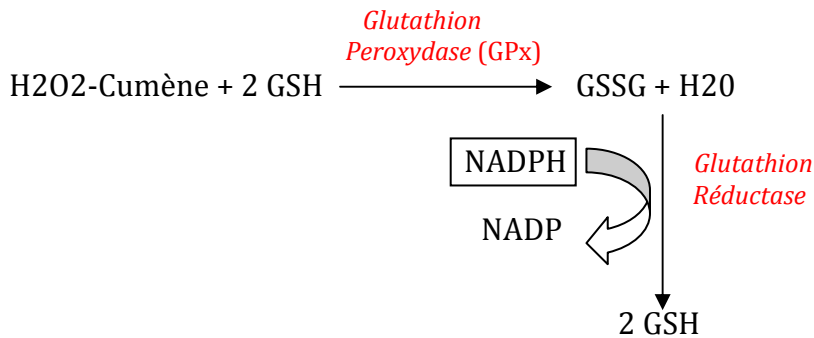


Fig. 5: Réaction du dosage du glutathion peroxydase (GPx).
(GSH = γ -glutamyl-cystéinnyl-glycine, GSSH = 2 GSH relié entre eux par un pont disulfure)

Pour ce dosage, chaque cuve est son propre blanc. On place 1mL de milieu de réaction GPx (Tris 5 mM, EDTA 0.1 mM, H₂O) avec 30 μ L de cumène hydroperoxyde. Le dosage s'effectue dans un spectrophotomètre à 180 nm pendant 180 secondes. On obtient une pente négative. (Calcul de la GPx en annexe).

DOSAGES DES PROTEINES

Le dosage des protéines a été réalisé à l'aide d'un kit : le BCA (Bicinchoninic Acid) Protein Assay Kit de Pierce®. Ce Kit permet un dosage quantitatif colorimétrique des protéines contenues dans un échantillon. Les protéines contenues dans l'échantillon à doser vont réduire, en milieu alcalin, les ions Cu²⁺ en ions Cu¹⁺. Le produit de cette réaction (l'ion Cu¹⁺), va former, avec l'acide bicinchoninique, un complexe coloré en pourpre. L'absorbance, lue à 562 nm au spectrophotomètre, est proportionnelle à la concentration de protéines dans l'échantillon.

Le réactif du dosage est réalisé grâce à 40 mL de solution A (Carbonate de sodium, Bicarbonate de sodium, Acide bicinchoninique et Tartrate de sodium) mélangé à 800 μ L de solution B (Sulfate cuprique 4 %) contenues dans le kit. Une gamme étalon, en double, est réalisée grâce à une solution d'albumine bovine BSA à 2 mg/mL.

Puis 2 μ L de chaque échantillon, préparé en double, sont ajoutés dans les puits d'une microplaque contenant 200 μ L de réactif préparé précédemment. La microplaque

est ensuite incubée 30 minutes à température ambiante (environ 20 °C). Pour finir, l'absorbance de chaque puit est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 562 nm.

TEST STATISTIQUES

Tous les tests statistiques ont été effectués sur le logiciel R®.

Dans un premier temps, on compare les 3 lots de poissons pêchés : à l'électricité (E), au filet avec les poissons retrouvés morts (FM) et au filet avec les poissons retrouvés vivants (FV), perche et gardon confondus, grâce au test non paramétrique (du fait de notre faible effectif) de comparaison de moyennes de plusieurs échantillons (Test de KRUSKAL-WALLIS).

Puis dans un second temps, les moyennes et les écart-types de chaque espèce (gardon et perche) en fonction de chaque méthode de pêche ont été calculés. Les deux espèces de poissons ont été confrontées grâce au test de comparaison de moyennes, non paramétrique : WILCOXON-MANN-WHITNEY.

Les résultats sont exprimés en comparaison de moyenne que l'on considérera comme significatif pour une valeur de p-value inférieure à 0.05.

RESULTATS

TABLEAU BIBLIOGRAPHIQUE

De notre étude bibliographique, il en ressort qu'environ 1 article sur 2 ne donne pas d'informations sur la méthode de pêche utilisée pour leurs échantillonnages (note = 0). De plus, lorsque l'on regarde la note attribuée en fonction du facteur d'impact des revues étudiées (figure en annexe), on observe que, plus l'article est paru dans une revue importante, moins la technique de pêche a été identifiée en matériel et méthodes. Toutefois, ces résultats sont à prendre à la légère et il serait judicieux de pousser plus loin cette étude bibliographique afin d'en retirer des résultats plus clairs (R^2 plus grand).

ENZYMES ANTIOXYDANTES TOUTES ESPECES CONFONDUES

Un graphique en nuage de point a été réalisé avec les résultats du dosage de la SOD exprimés par gramme d'échantillon de muscle en fonction des résultats du dosage de la SOD exprimés par milligramme de protéine (voir annexe Fig. 16). On remarque que la relation est très linéaire, et que le coefficient de variation (R^2) est proche de 1, et donc que la variance est faible. Le modèle étant linéaire, il n'est pas nécessaire d'exprimer les résultats par milligramme de protéine plutôt que par gramme d'échantillon. Il en est de même pour le dosage de la GPx et pour le dosage par la méthode TBARs (voir annexe Fig. 17 et 18). Par conséquent, tous les résultats présentés ci-dessous seront exprimés par gramme d'échantillon.

Dans un premier temps, des tests statistiques ont été réalisés avec les deux espèces de poissons confondus pour nous permettre d'avoir des effectifs plus grands afin de mieux repérer les effets de différentes méthode de pêche utilisée sur les

individus.

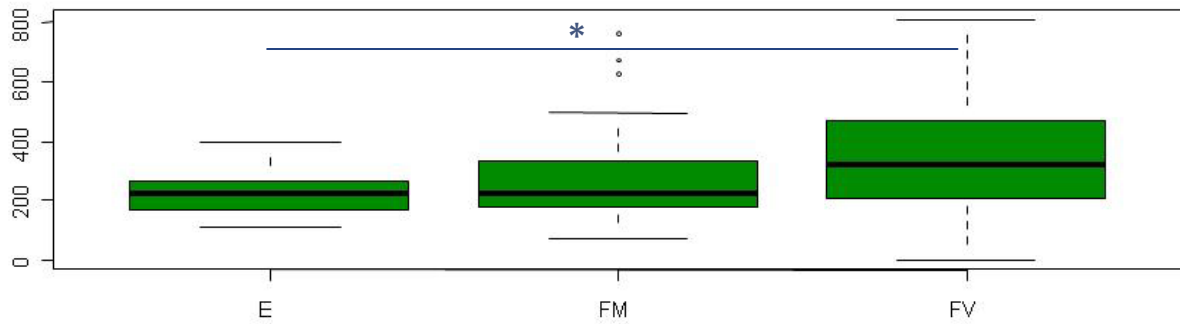


Fig. 6: **Dosage de la superoxyde dismutase** : UI de SOD / g d'échantillon, chez la perche et le gardon confondu, en fonction de la méthode de pêche utilisée (E = électricité, FM = Filet mort, FV = Filet vivant, n=17 (E), n=18 (FM), n=12 (FV))

On distingue une plus forte activité de la SOD dans les muscles des individus pêchés au filet et retrouvés vivants (FV) que dans les muscles des individus pêchés à l'électricité (E) et retrouvés mort sur le filet (FM) (voir Fig. 6). Le test de Kruskal-wallis ne montre pas de différences significatives entre ces 3 lots, mais on observe bien une tendance à la hausse des lots « E » vers « FM » (p-value > 0.05). En revanche lorsque l'on regarde les tests de comparaison de moyennes 2 à 2 (test de Mann-Withney), on note une légère différence entre les lots « E » et « FV » (p-value < 0.05 °).

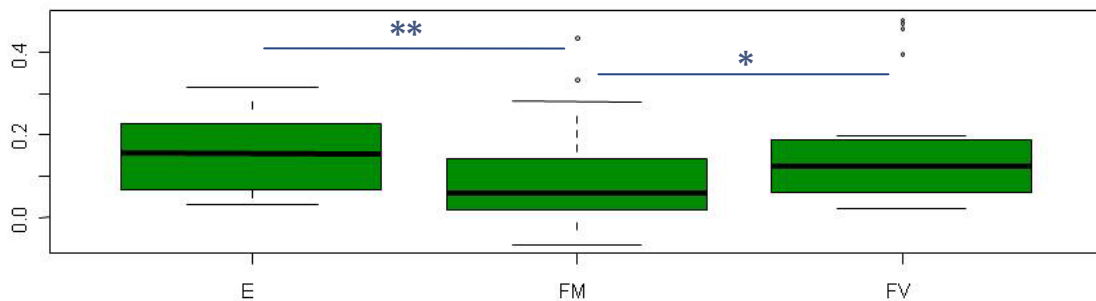


Fig. 7: **Dosage de la glutathion peroxydase** : μmol de GPx / g d'échantillon / minute, chez la perche et le gardon confondu, en fonction de la méthode de pêche utilisée (E = électricité, FM = Filet mort, FV = Filet vivant, n=17 (E), n=18 (FM), n=12 (FV))

Au niveau de la quantité de GPx retrouvé dans les muscles, on remarque qu'elle est différente d'un lot à l'autre (Kruskal-wallis : p-value < 0.05 *). Lorsque l'on regarde 2 à 2, on voit des différences significatives entre les lots « FM » vs « FV » (p-value = 0.05 °), et « FM » vs « E » (p-value < 0.05 **). L'activité GPx semble plus faible chez les individus pêchés et retrouvés morts (voir Fig. 7).

En conclusion, nous pouvons donc dire qu'il y a des différences dans la production de défenses antioxydantes en fonction de la technique de pêche utilisée pour récolter les deux espèces de poissons.

DEGATS OBSERVES SUR TOUTES ESPECES CONFONDUES – METHODES TBARS

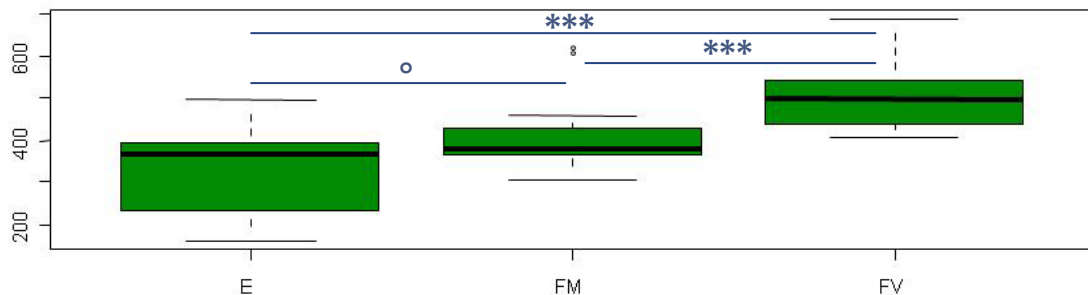


Fig. 8: **Mesure de la peroxydation des lipides** : nmol de MDA / g d'échantillon, chez la perche et le gardon confondus, en fonction de la méthode de pêche utilisée (E = électricité, FM = Filet mort, FV = Filet vivant, n=17 (E), n=18 (FM), n=12 (FV))

En ce qui concerne les résultats sur les dégâts causés par les ERO sur les membranes (méthode TBARS). On observe que les échantillons de poissons pêchés au filet ont statistiquement une plus grosse quantité de lipides peroxydés que ceux pêchés à l'électricité (E) et ceux pêchés au filet et retrouvés mort (voir Fig. 8) (Test de KW : p-value < 0.05 ***).

RESULTATS COMPARATIFS ENTRE LES 2 ESPECES POUR LES ENZYMES ANTIOXYDANTES

Pour la suite des tests statistiques, les deux espèces de poissons ont été séparées et comparées entre elles. On remarque alors, que les deux espèces de poissons ne réagissent pas de la même manière au niveau des défenses mises en place pour le contrer mais aussi au niveau des dégâts que provoque le stress oxydant.

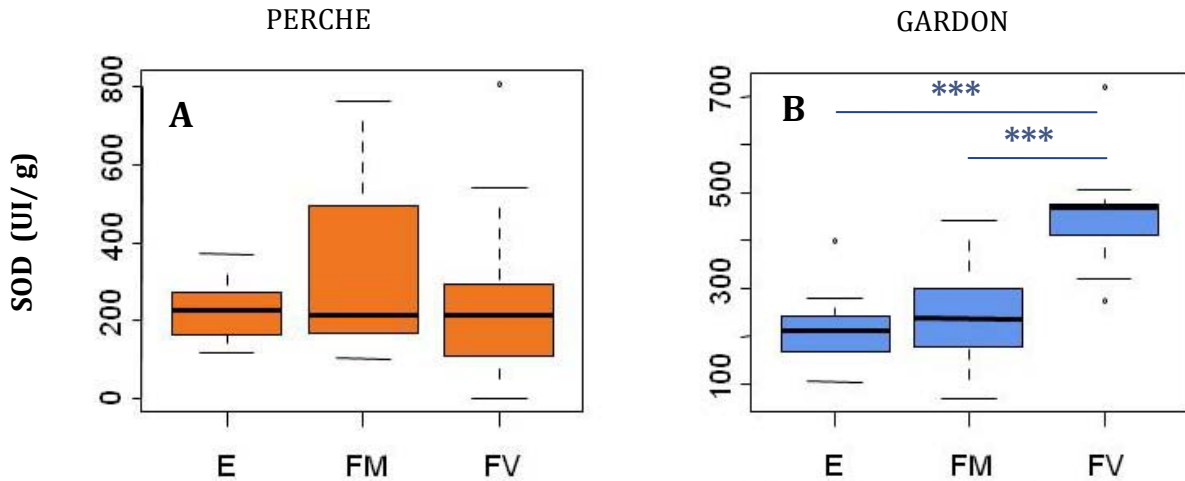


Fig. 9: **Dosage de la superoxyde dismutase** : UI de SOD/ g d'échantillon, chez la perche (A) et le gardon (B) en fonction de la méthode de pêche utilisée. (E = électricité, FM = Filet mort, FV = Filet vivant, n=10 (E PER), n=7 (FM PER), n=7 (FV PER), n=7 (E GAR), n=11 (FM GAR), n=5 (FV GAR))

En effet, chez la perche, l'activité de la SOD trouvée dans chaque échantillon de muscle n'est pas significativement différente selon la méthode de pêche utilisée (KW : p-value > 0.05) (Voir Fig. 9). En revanche, la quantité de SOD dosée dans les muscles du gardon pêché au filet et retrouvé vivant (FV) est plus élevée que la quantité de SOD dosée dans le muscle du gardon pêché à l'électricité (E) et celui pêché au filet et retrouvé mort (FM) (MW : 2 à 2, « E » vs « FV » : p-value < 0.05 *** et « FM » vs « FV » : p-value < 0.05 ***) (Voir Fig. 10).

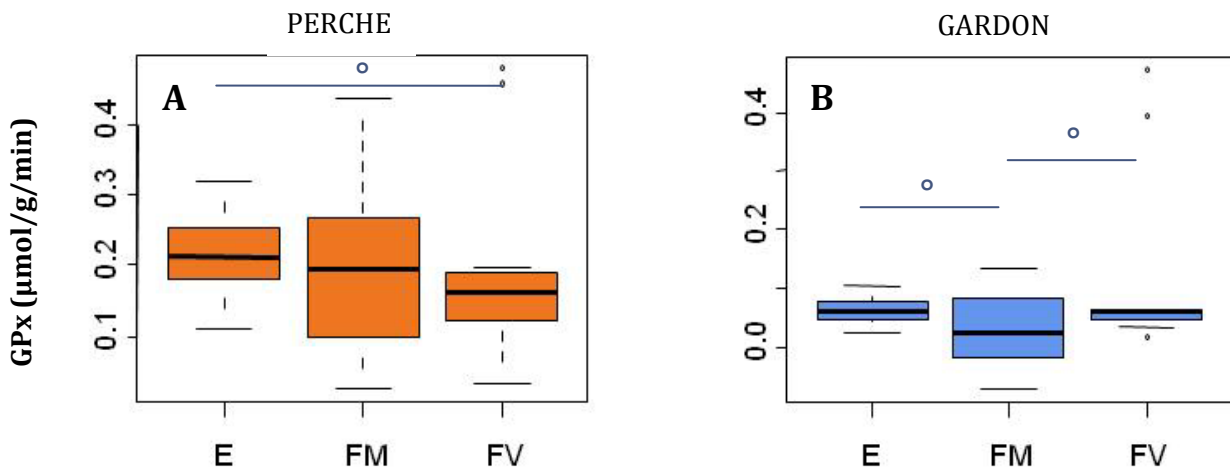


Fig. 10: **Dosage de la glutathion peroxydase** : μmol de GPx / g d'échantillon / minute, chez la perche (A) et le gardon (B) en fonction de la méthode de pêche utilisée. (E = électricité, FM = Filet mort, FV = Filet vivant, n=10 (E PER), n=7 (FM PER), n=7 (FV PER), n=7 (E GAR), n=11 (FM GAR), n=5 (FV GAR))

La quantité de GPx dosée dans les muscles des perches est beaucoup plus élevée que la quantité de GPx dosée dans les muscles du gardon. Cependant, cette quantité de GPx est sensiblement proche, pour la perche et pour le gardon, quelque soit la technique de pêche utilisée (voir annexe Tableau III à VI).

En conclusion, perches et gardons réagissent différemment pour l'activité SOD, et aussi pour l'activité de la GPx.

RESULTATS COMPARATIFS ENTRE LES 2 ESPECES POUR LES DEGATS SUR LES MEMBRANES

Pour le dosage par la méthode TBARS, on montre que la peroxydation des lipides est plus forte pour la perche et le gardon pêchés au filet. De plus, on remarque une différence entre les poissons pêchés au filet retrouvés morts et ceux pêchés au filet retrouvés vivants (MW : « E » vs « FM » : p-value < 0.05 * ; « E » vs « FV » : p-value < 0.05 *** ; « FM » vs « FV » : p-value < 0.05 ***). Ceux retrouvés vivants ayant une plus forte concentration de lipide peroxydés (voir Fig. 11).

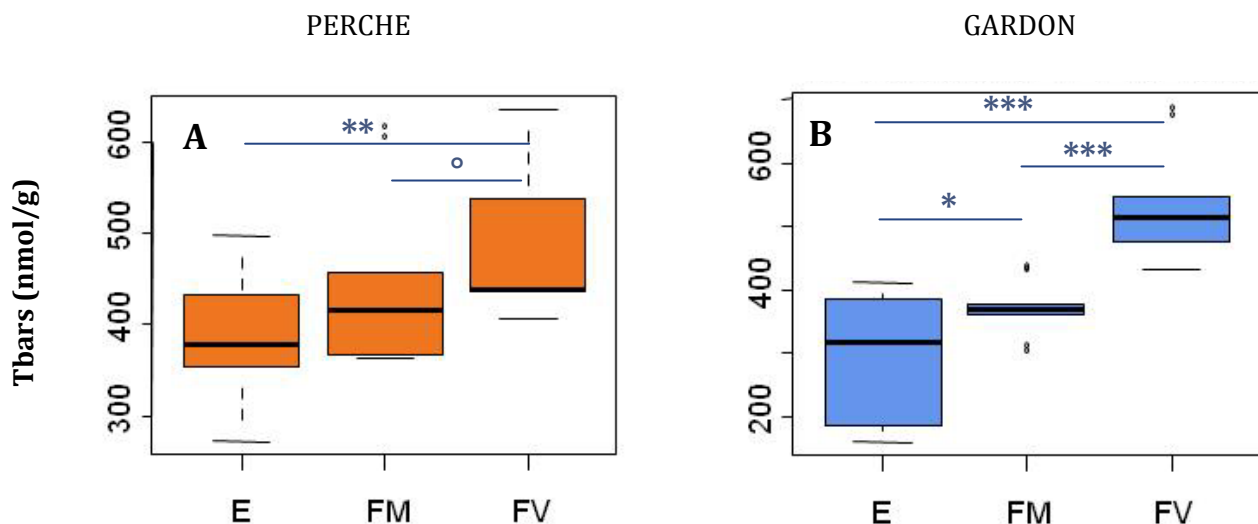


Fig. 11: **Mesure de la peroxydation des lipides (TBARS)** : nmol de MDA / g d'échantillon, chez la perche (A) et le gardon (B) en fonction de la méthode de pêche utilisée. (E = électricité, FM = Filet mort, FV = Filet vivant, n=10 (E PER), n=7 (FM PER), n=7 (FV PER), n=7 (E GAR), n=11 (FM GAR), n=5 (FV GAR))

D'après les résultats précédents, les tests statistiques effectués avec les deux espèces confondus ne peuvent donc pas être prise en compte puisque les espèces réagissent différemment face au stress oxydant.

Les modèles linéaires réalisés pour la quantité de SOD, la quantité de GPx et la peroxydation de lipides dosés dans chaque échantillon de muscle en fonction de la taille des poissons possèdent un coefficient de variation (R^2) très faible (voir annexe Fig. 12, 13 et 14). Pour un graphique en nuage de point, plus le R^2 d'une courbe de tendance est faible, plus la variance est grande. Ces modèles ne sont donc pas concluants. Ainsi, on ne peut pas conclure d'une relation entre taille/masse et l'activité des enzymes antioxydantes. De même pour les dégâts sur les membranes.

DISCUSSION

Les résultats obtenus pour notre analyse bibliographique indiquent qu'environ 50% des auteurs n'expriment pas clairement leur méthodes d'échantillonnage piscicole. Ce manque dans le matériel et méthodes peut avoir de lourdes conséquences sur les hypothèses émises, notamment lorsque les études se penchent sur de paramètres physiologiques pouvant être impactés par la méthode de pêche (Bracewell, 2004 (1)).

Récemment, Martinez-Alvarez et al. (2005 (8)) a condensé toutes les informations concernant le métabolisme oxydatif des poissons. Toutes les études citées dans son article n'ont très certainement pas utilisé les mêmes techniques d'échantillonnages ainsi on pourrait remettre en cause cette revue lorsque l'on regarde les différences en terme de physiologie oxydative de nos différents lots « E », « FM » et « FV ».

En effet, les résultats obtenus sur la physiologie oxydative en fonction de la méthode de pêche montre des différences. Il est vrai que lorsque l'on prend en compte les résultats pour les 2 espèces confondues on dénote peu de différences entre les méthodes, mais si l'on sépare chaque espèce on a toujours un effet plus important avec la méthode « au filet » surtout quand les individus sont récupérés vivants (FV).

Plus précisément, pour les enzymes antioxydantes on remarque que l'activité de la SOD est plus importante chez les gardons pêchés au filet et notamment pour ceux retrouvés vivants. Chez la perche, il n'y a pas de différences de production de SOD selon les techniques de pêches utilisées. Nous pouvons avancer plusieurs hypothèses concernant ces différences entre espèces : (i) tout d'abord, la perche ne subit peut être pas de stress oxydant ou dans une moindre mesure par rapport au gardon. Aussi (ii) il est également probable que la perche n'a pas eu le temps de produire des défenses antioxydantes, nécessaires pour contrer le stress. Aucunes études n'ayant aujourd'hui fait de comparaison fiable de la vitesse de production des enzymes antioxydantes, notamment chez les ectothermes, il est très difficile de définir si la perche n'a pas réagit au stress de la pêche au filet, ou si elle n'a tout simplement pas eu le temps de mettre en place ses processus detoxifiant. On peut toutefois penché plus en faveur de la deuxième hypothèse du fait de la forte part de lipides peroxydés (TBARs élevé en FV).

Cette forte activité antioxydante et ses dégâts importants en FV peut être liée au fait que les poissons débattent pendant au maximum 2 heures sur le filet et il est possible que l'effort prodigué soit l'origine du stress oxydant.

En ce qui concerne l'enzyme GPx, il semble, d'après les tests statistiques, que la production de GPx ne varie pas d'une méthode de pêche à l'autre (pour la perche et le gardon). Cependant, la perche produit beaucoup plus de GPx que le gardon. La perche produit donc peu de SOD et beaucoup de GPx. Au contraire, le gardon produit beaucoup de SOD, notamment pour le lot pêché au filet et retrouvé vivant, et peu de GPx. Ainsi, on voit naître ici deux stratégies différentes pour contrer l'effet délétère des ERO. La perche semble allouée plus d'énergie à la GPx, afin de transformer le peroxyde d'hydrogène produit par l'activité de la SOD. Cette stratégie devrait être plus payante en termes de protection que celle adoptée par le gardon consistant à allouer plus d'énergie dans la SOD. En effet, l'H₂O₂ produit par la SOD est toujours un ERO qui peut induire des dégâts et il est préférable de le transformer pour detoxifier en entier les cellules. Cependant, lorsque l'on observe les résultats de TBARs, on voit que perches et gardons présentent les mêmes taux de dégâts (cf test statistiques Tableau II à IV). Ainsi l'allocation d'énergie semble tout aussi efficace pour les 2 espèces et quelque soit la stratégie optée, les ERO font des dégâts sur les membranes en FV.

Les dégâts sur les membranes peuvent être liés au trop fort stress perçu par l'organisme. En effet, les ERO se sont peut-être déjà attaqués à l'ADN des individus (Lushchak, 2006, (7)), ainsi les enzymes antioxydantes seront préférentiellement allouées à la protection de l'ADN plutôt qu'aux membranes.

De nombreux facteurs peuvent entrer en compte et notamment le régime alimentaire des deux espèces et les conditions de vie (la perche est un prédateur contrairement aux gardons). Les poissons ont été pêchés en octobre, saison pendant laquelle les ressources s'amointrissent. La perche et le gardon n'ayant pas le même régime alimentaire, on pourrait expliquer cette différence de production de superoxyde dismutase par des carences alimentaires. Occasionnelles, elles pourraient invalider la perche ne lui permettant pas de produire l'enzyme antioxydante en grandes quantités (Ex : carences en acides aminés ou ion métallique nécessaire à la structure de l'enzyme *Cu, Mn, Zn*).

Enfin, les modèles linéaire entre taille/masse et activité antioxydante étant peu concluant, nous pouvons dire que les dommages provoqués par le stress oxydant et les défenses antioxydantes mises en place sont indépendantes de la taille et de la masse des poissons.

Au final, nous obtenons des dégâts, au niveau membranaire, plus importants chez les poissons pêchés au filet. De plus les défenses antioxydantes mises en place sont retrouvées en plus grandes quantités chez les gardons pêchés au filet. Nous en concluons que, les poissons pêchés au filet, et principalement les gardons, sont les poissons qui allouent le plus d'énergie dans le processus antioxydant mais qui malgré tout sont les plus affectés par les dégâts du stress oxydant. On peut supposer que la différence de stress oxydant selon la technique de pêche utilisée est due au temps du traitement. C'est-à-dire que la pêche à l'électricité ne dure que quelques secondes, le temps de la décharge électrique, tandis que la pêche au filet dure plusieurs heures (2h pour les individus vivants dans notre cas).

On pourrait croire que le choc électrique, lors d'une pêche à l'électricité, peut agir sur le potentiel membranaire (Emery, 1984 (4)) et ainsi induire un changement de perméabilité des membranes. Ce changement de perméabilité perturbe le gradient de concentration et ainsi l'entrée excessive de molécule d'oxygène dans les cellules qui induit un stress oxydant. Cependant, au vue de nos résultats, il semble que la pêche à l'électricité ne provoque pas de lésions internes (tout du moins au niveau du stress oxydant).

De plus on remarque que les résultats obtenus sur le lot de poissons pêchés au filet et retrouvés morts sont principalement toujours plus faibles que ceux obtenus sur le lot de poissons pêchés au filet et retrouvés vivants. On peut expliquer cela par le fait que, les enzymes se dégradent après la mort des individus. Les composants enzymatiques sont principalement protéiques et donc fragiles, qu'ils se dégradent donc assez vite après la mort. Il aurait été intéressant de discriminer l'heure de la mort de chaque individu pour corroborer ou non cette hypothèse. En estimant le temps pendant lequel le poisson s'est débattu dans le filet, on aurait pu savoir si la faible activité d'enzymes antioxydantes est due au fait que les cellules n'ont pas eu le temps d'être impactées par le stress oxydant ou si les enzymes se sont dégradés après la mort.

CONCLUSION

L'étude menée sur la perche et le gardon nous a permis de comparer les stress oxydants engendrés par différentes méthodes de pêche. Le but étant de savoir si la pêche à l'électricité provoque le même stress oxydant que la pêche au filet.

Les résultats obtenus nous indiquent que le stress oxydant apparaît plus important chez les individus pêchés au filet que ceux pêchés à l'électricité. En effet, nous observons, en moyenne, une plus forte production d'enzymes antioxydantes et de plus gros dégâts membranaires chez les spécimens pêchés au filet.

Le deuxième but de cette étude était de comparer les différences entre espèces, face au stress oxydant. Au vue des résultats obtenus, nous observons que le gardon produit plus de SOD lors d'une pêche au filet (avec les individus retrouvés vivants) que la perche dans les mêmes circonstances. La perche, elle, en revanche, va produire beaucoup plus de GPx que le gardon, que ce soit pour la pêche à l'électricité, ou la pêche au filet avec les individus retrouvés morts. Cependant, les dégâts engendrés par le stress oxydant sont statistiquement identiques chez la perche et le gardon en fonction des différentes techniques de pêche (cf tests statistiques en annexe, Tableau IV). Il semble donc que la perche et le gardon soit, tout deux, plus affectés par la pêche au filet (au niveau de stress oxydant) lorsqu'ils sont retrouvés vivants. Ils ne possèdent pas les mêmes niveaux de défenses, le gardon va plutôt produire de la SOD et peu de GPx contrairement à la perche qui, elle, va produire plutôt de la GPx et peu de SOD. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la perche et le gardon n'ont, ni le même régime alimentaire, ni les mêmes conditions de vie.

Au vue de nos résultats, nous pouvons dire que le facteur qui impact le stress oxydant du gardon et de la perche est la durée de la pêche et donc indirectement la méthode de pêche.

Après une recherche effectuée à partir de 23 articles portant sur l'étude de la perche et/ou du gardon, on remarque que dans 43 % des articles ne figurent pas la technique de pêche utilisée pour capturer les spécimens (voir annexe Tableau VI). Nous savons maintenant, grâce aux résultats obtenus précédemment, que les différentes

techniques de pêche étudiées provoquent des stress oxydants inégaux chez le gardon et la perche. Il se trouve que les dégâts engendrés par le stress oxydant, ou les défenses antioxydantes produites par les individus peuvent fausser ou invalider une étude. Les articles qui ne précisent pas la méthode utilisée pour pêcher les poissons ne peuvent être reproduits. En effet, pour obtenir des résultats équivalents il faut pouvoir travailler dans les mêmes conditions, et pour cela il est impératif de décrire la méthode de pêche utilisée le plus précisément possible. C'est d'ailleurs les articles rédigés dans les revues à plus haut facteur d'impact que les techniques sont volontairement ou non omises.

Cette étude nous permet de prouver que la description de la technique de pêche utilisée est une étape indispensable lors de la rédaction d'un article provenant d'une étude sur la perche et/ou le gardon.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Bracewell P., Cowx I. G. et Uglow R. F.** 2004. Effects of handling and electrifishing on plasma glucose and whole blood lactate of *Leuciscus cephalus*, Journal of Fish Biology. 64, 65-71
2. **Chrousos G. P.** 1997. Stressors, Stress, and Neuroendocrine Integration of the Adaptive Response. The Hans Selye Memorial Lecture.
3. **Droge W.** 2001. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, Physiol. Rev.
4. **Emery, L.,** 1984. The physiological effects of electrofishing.
5. **Finkel T. & Holbrook N. J.** 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature, 408, 239-247.
6. **Groupe de Travail Echantillonnage Cemagref (Irstea) - Conseil Supérieur de la Pêche - INRA,** 2006. Résumé et guide de lecture de la norme CEN prEN 14757. 15 pages
7. **Lushchak V. I.,** 2006. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress. Comparative biochemistry and physiology, part c, 143, 30-35
8. **Martinez-Alvarez et al.,** 2005. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 15, 75-88
9. **Thannickal V. J., Fanburg B. L.** 2000. Reactive oxygen species in cell signaling. Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. 279 :L1005-L1028.
10. **Tiwari B. S., Belenghi B. et Levine A.** 2002. Oxidative Stress Increased Respiration and Generation of Reactive Oxygen Species, Resulting in ATP Depletion, Opening of Mitochondrial Permeability Transition, and Programmed Cell Death. Plant Physiology. Vol. 128, pp. 1271-1281.

ANNEXES

Présentation des structures d'accueil :

Tutelle du stage:

Le Cemagref (**C**entre national du **m**achinisme agricole, du **g**énie **r**ural, des **e**aux et des **f**orêts) a été créé en 1981 et est depuis peu devenu l'Irstea (**I**nstitut **n**ational de **r**echerche en **s**ciences et **t**echnologies pour l'**e**nvironnement et l'**a**griculture). Il a acquis son statut d'établissement public à caractère scientifique et technologique (EPST) en 1986. Placé sous la tutelle d'Etat, confié conjointement au Ministère chargé de la Recherche et de l'Agriculture, il regroupe un total de neuf établissements répartis dans toute la France.

L'Irstea emploie environ 1 350 personnes dont 950 permanents (pour moitié chercheurs et ingénieurs), le tout réparti dans les 28 Unités de Recherche que comptent les neuf sites répartis en France.

Il a pour principal objectif de répondre aux questions concernant le domaine de la gestion durable des eaux et des territoires. Ses travaux portent essentiellement sur des systèmes environnementaux continentaux dans la perspective de la gestion durable des eaux et des territoires.

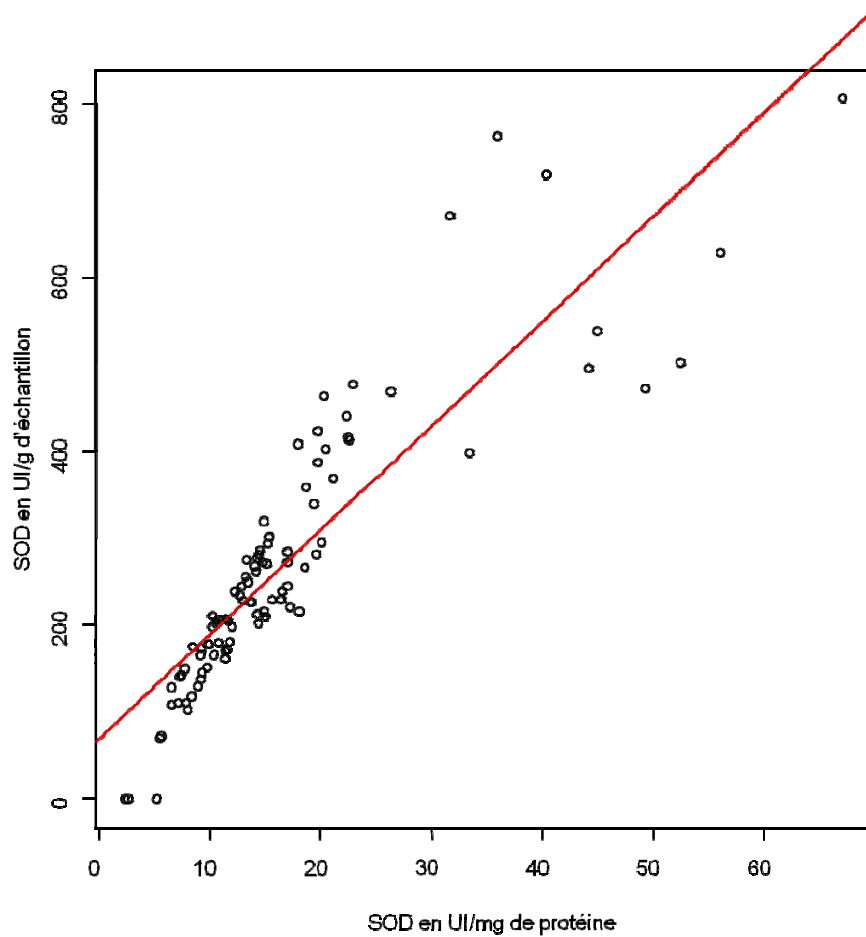
Le centre d'Aix-en-Provence regroupe 4 Unités de Recherche rattachées à 3 départements de l'Irstea, et emploie au total 80 permanents dont 42 ingénieurs et chercheurs.

L'UR Hydrobiologie (Unité HYAX) contribue aux recherches sur les hydro systèmes d'eau courante et lacustre en concevant des méthodes et des outils pour l'évaluation de leur état écologique, leur gestion durable ou la restauration d'espèces menacées.

Lieu des expérimentations et manipulations:

L'UMR 5023 est une unité du laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés (LEHNA) de l'Université Lyon 1.

Situé dans le bâtiment de physiologie de l'université, le laboratoire est une unité mixte de recherche CNRS. Il associe des équipes de l'Université Lyon 1, de l'ENTPE et de l'ISARA et se situe sur deux campus à Lyon.



*Fig. 12: **Modèle linéaire** représentant les résultats des dosages de la superoxyde dismutase, des perches et des gardons confondus, exprimés en UI de SOD/mg de protéine en fonction des résultats des dosages de la SOD exprimés en UI/g d'échantillon. $SOD (UI/g \text{ d'échantillon}) = f(SOD (UI/mg \text{ de protéine}))$*

Effet de la pêche sur le stress oxydant du gardon et de la perche

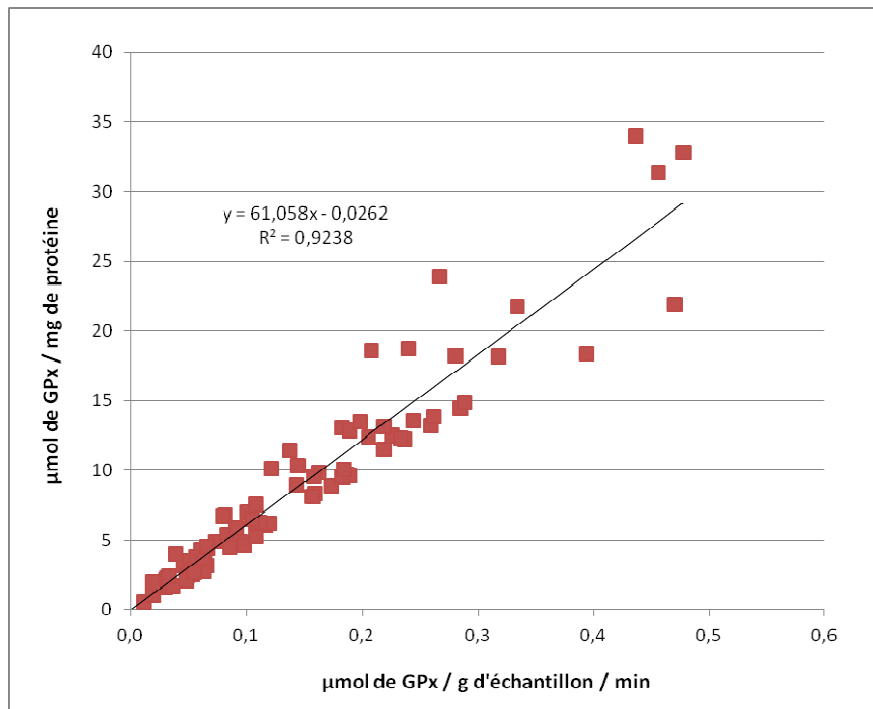


Fig. 13: Modèle linéaire représentant les résultats des dosages du glutathion peroxydase des perches et des gardons confondus, exprimés en μmol de GPx/g d'échantillon/minutes en fonction des résultats des dosages de la GPx exprimés en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine. $\text{GPx } (\mu\text{mol}/\text{mg}) = f(\text{GPx } (\mu\text{mol}/\text{g}/\text{min}))$

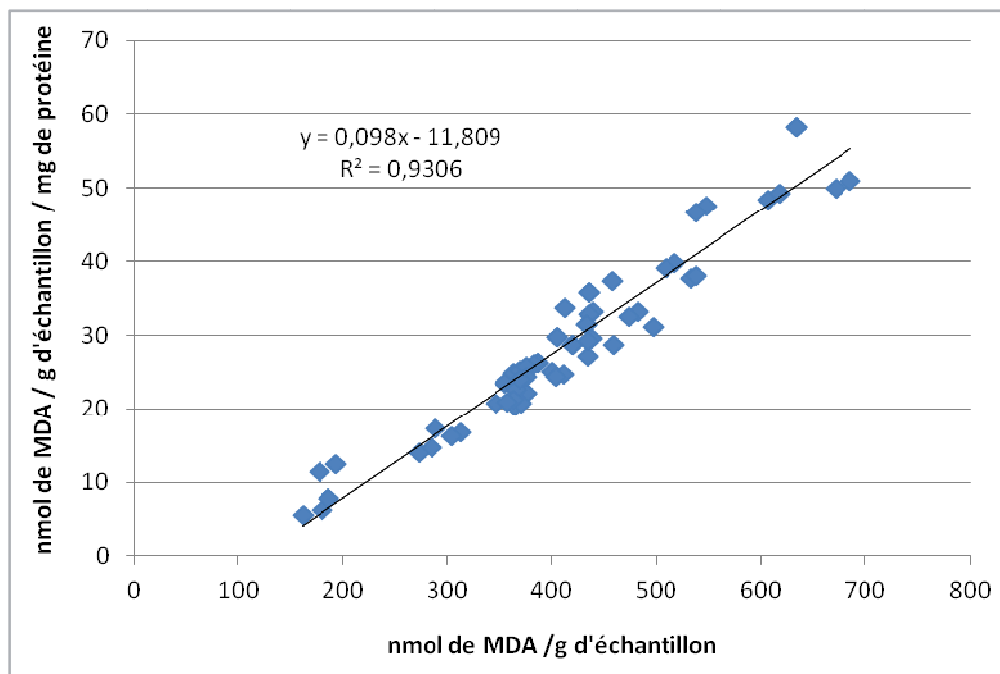


Fig. 14: Modèle linéaire représentant les résultats des dosages par la méthode Tbars des perches et des gardons confondus, exprimés en nmol de MDA/g d'échantillon en fonction des résultats des dosages par la méthode Tbars exprimés en nmol/g d'échantillon/mg de protéine. $\text{Tbars } (\text{nmol}/\text{g}/\text{mg}) = f(\text{Tbars } (\text{nmol}/\text{g}))$.

Effet de la pêche sur le stress oxydant du gardon et de la perche

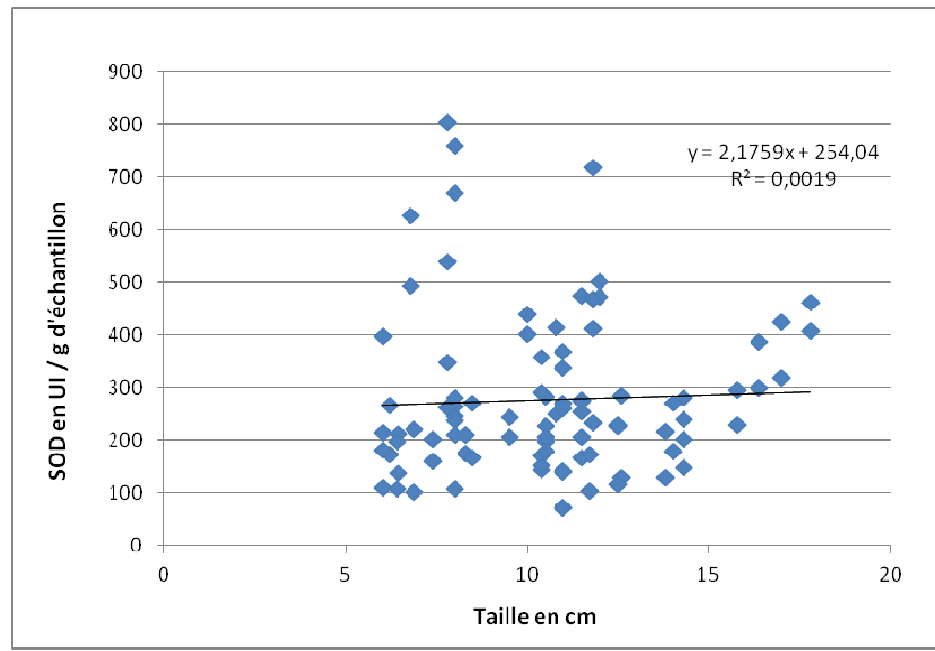


Fig. 15: **Dosage de la superoxyde dismutase** des perches et des gardons confondus, en fonction de la taille initial des individus analysés. Résultats exprimés en UI / g.

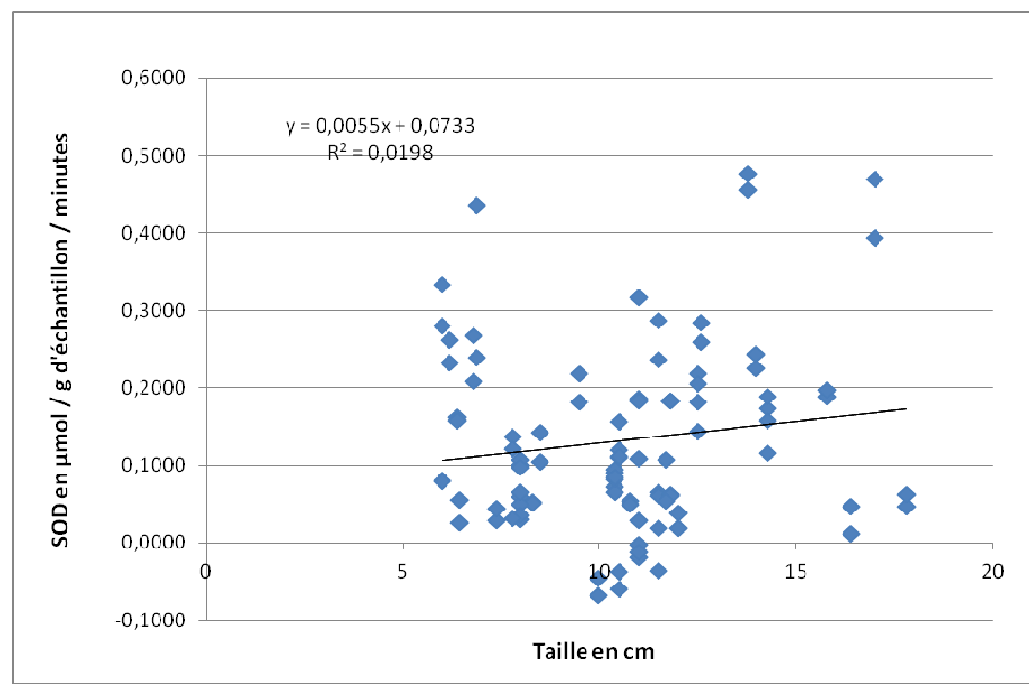


Fig. 16: **Dosage de la glutathion peroxydase** des perches et des gardons confondus, en fonction de la taille initial des individus analysés. Résultats exprimés en $\mu\text{mol/g/min}$.

Effet de la pêche sur le stress oxydant du gardon et de la perche

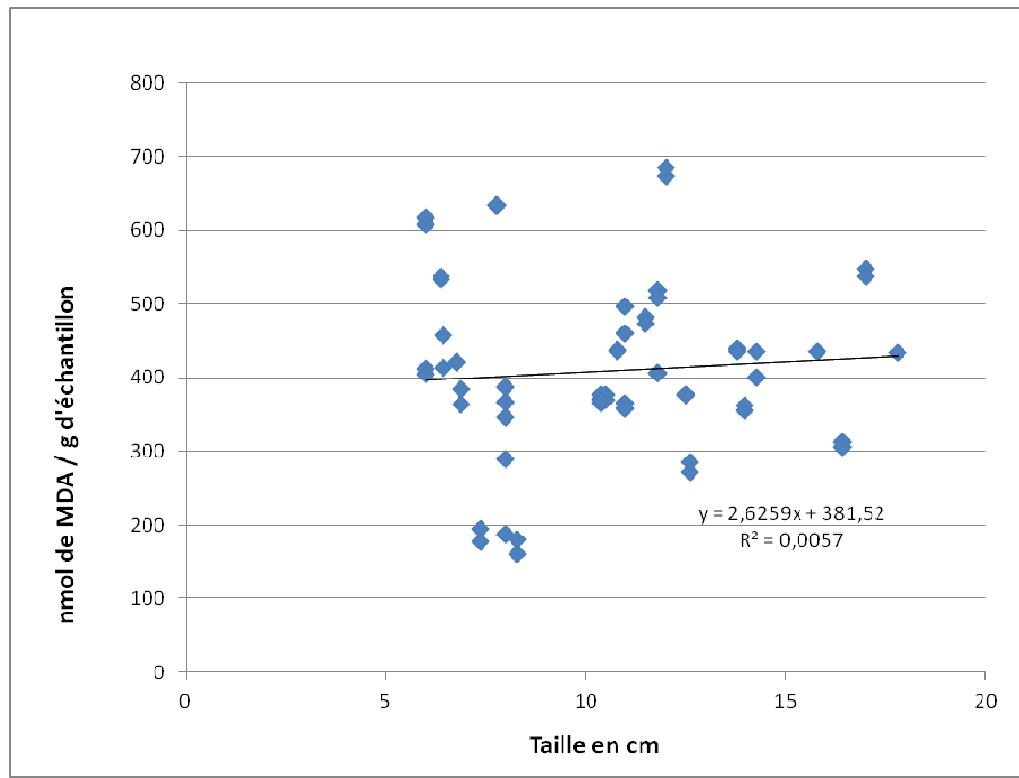


Fig. 17: **Mesure de la peroxydation des lipides (TBARs)** des perches et des gardons confondus, en fonction de la taille initiale des individus analysés. Résultats exprimés en nmol/g.

Tableau II. Résultats des tests statistiques de comparaison de moyenne (test wilcoxon-mann-whitney) pour le dosage de la superoxyde dismutase.

SOD (UI/g d'échantillon)	E GAR	FM GAR	FV GAR	E PER	FM PER	FV PER
E PER	0,6119				0,8749	0,6189
FM PER		0,8855		0,8749		0,4879
FV PER			0,008025	0,6189	0,4879	
E GAR		0,377	7,138.10-6			
FM GAR	0,377		2,697.10-5			
FV GAR	7,138.10-6	2,697.10-5				

(**PER** = Perche, **GAR** = Gardon, **E** = Pêche à l'électricité, **FM** = Pêche au filet avec les individus retrouvés morts, **FV** = Pêche au filet avec les individus retrouvés vivants)

Tableau III. Résultats des tests statistiques de comparaison de moyenne (test wilcoxon-mann-whitney) pour le dosage de la glutathion peroxydase.

GPx ($\mu\text{mol/g}$ d'échantillon/min)	E GAR	FM GAR	FV GAR	E PER	FM PER	FV PER
E PER	1,437.10 ⁻⁹				0,416	0,08664
FM PER		3,34.10 ⁻⁵		0,416		0,8271
FV PER			0,06726	0,08664	0,8271	
E GAR		0,066	0,9314			
FM GAR	0,066		0,05345			
FV GAR	0,9314	0,05345				

(**PER** = Perche, **GAR** = Gardon, **E** = Pêche à l'électricité, **FM** = Pêche au filet avec les individus retrouvés morts, **FV** = Pêche au filet avec les individus retrouvés vivants)

Tableau IV. Résultats des tests statistiques de comparaison de moyenne (test wilcoxon-mann-whitney) pour le dosage de la peroxydation des lipides (Méthodes Tbars).

Tbars (nmol/g d'échantillon)	E GAR	FM GAR	FV GAR	E PER	FM PER	FV PER
E PER	0,06494				0,632	0,008931
FM PER		0,08849		0,623		0,07555
FV PER			0,3243	0,008931	0,07555	
E GAR		0,04561	4,693.10 ⁻⁵			
FM GAR	0,04561		0,0003747			
FV GAR	4,693.10 ⁻⁵	0,0003747				

(**PER** = Perche, **GAR** = Gardon, **E** = Pêche à l'électricité, **FM** = Pêche au filet avec les individus retrouvés morts, **FV** = Pêche au filet avec les individus retrouvés vivants)

Tableau V. Légendes pour les résultats des tableaux II à IV.

° p-value < 0,1
* p-value < 0,05
** p-value < 0,01
*** p-value < 0,001

Tableau VI. Bibliographie et méthodes de pêches.

▪ Calculs pour le dosage de la SOD:

1) **Calcul pour la SOD TOTALE avec ΔDO mesurée**

$$A = \frac{\left(\frac{1}{\Delta DO}\right)}{(1000 + X_{\mu l \text{ de } XOx}) * (1000 + X_{\mu l \text{ de } XOx} + X_{\mu l \text{ d'échantillon}})}$$

2) **Calcul pour la SOD TOTALE en U / g de muscles**

$$B = \left[\frac{(A - \text{ordonnée à l'origine})}{\text{pente} * \left(\frac{\text{Volume homogénat} + \text{masse échantillon (mg)}}{\text{masse échantillon (mg)}} \right) * \frac{1}{\text{Volume échantillon} * 1000}} \right]$$

3) **Calcul de la SOD en g/ mg de protéines**

$$\left(\frac{B}{\text{masse de protéines en mg}} \right) * 1000$$

▪ Calculs pour le dosage de la GPx:

$$C = \Delta DO \text{ vrai} = (\Delta DP \text{ Test} - \Delta DO \text{ blanc}) * 1000$$

$$D = \frac{(1000 + \text{masse échantillon (mg)})}{\text{masse échantillon (mg)} * 1000}$$

$$\left[\frac{C}{6.22 * \left(\frac{\text{Volume en } \mu L \text{ dans la cuve}}{\text{Volume en } \mu L \text{ d'échantillon} * D} \right)} \right]$$



Fig. 18: Représentation d'un filet maillant benthique (filet de fond). www.fipec.qc.ca

Les filets maillants peuvent posséder plusieurs tailles de mailles sur un même filet comme sur la représentation ci-dessus. Les mailles de tailles différentes permettent de retenir des poissons de différentes tailles pour avoir un échantillonnage représentatif de la population de poisson. Le filet se compose de lestage pour le retenir au fond de l'eau et de flotteur pour repérer sa position à la surface.

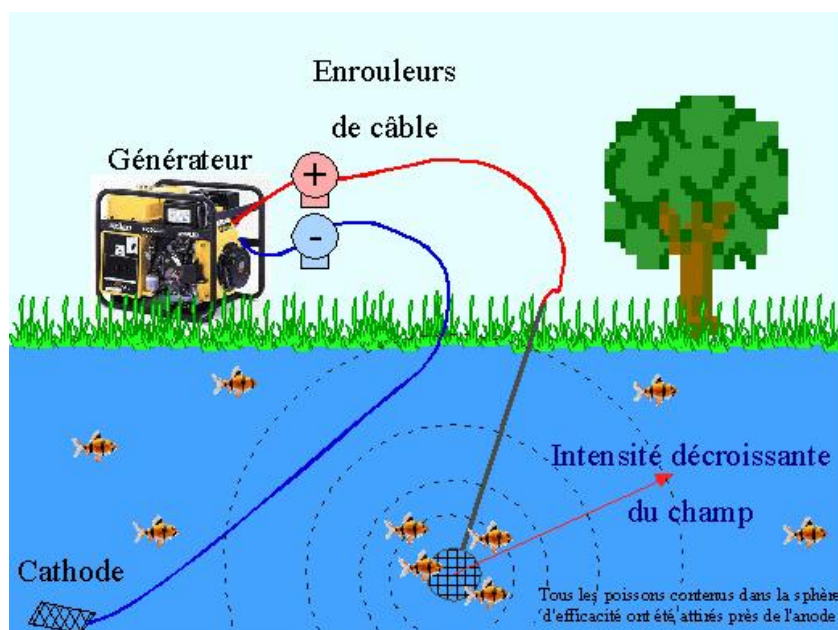


Fig. 19: Schéma de fonctionnement d'un dispositif de pêche à l'électricité. www.aappma-valdrouette.pagesperso-orange.fr

Fonctionnement de la pêche à l'électricité :

« Une pêche à l'électricité fonctionne selon le principe suivant : lorsqu'on plonge deux électrodes de charges opposées dans un cours d'eau, des lignes de force s'établissent et créent un champ électrique. Le courant se propage alors sur ces lignes de force, entre l'anode (pôle +) et la cathode (pôle -) [...] La phase négative est mise à l'eau via une grille métallique (cathode). La phase positive est connectée à une anode de pêche [...] qui va être manipulée par un opérateur. Une fois plongée dans l'eau, l'anode ferme le circuit électrique et le phénomène de pêche se produit. Un champ électrique sphérique d'intensité décroissante à mesure que l'on s'en éloigne, va rayonner autour de l'anode et influencer le comportement de tout poisson se trouvant à l'intérieur. Les terminaisons nerveuses présentes sur les flancs des poissons (les lignes latérales) sont des récepteurs sensibles à ce stimulus. La différence de potentiel appliquée à ces lignes latérales va déterminer une modification de comportement chez le poisson, qui va irrésistiblement nager vers le gradient de potentiel le plus élevé. C'est ce que l'on appelle la nage forcée. Une fois arrivé à proximité de l'anode, là où le champ électrique est le plus élevé, le poisson entre en électronarcose, une sorte de perte de connaissance, et est capturé dans une épuisette. »

Espèce étudiée	Habitat	Technique de pêche	Référence	IF*	Note
<i>Rutilus rutilus</i> , Cyprinidé	?	non indiquée	Anthony W.Coking, The effects of high temperatures on roach (<i>Rutilus rutilus</i>) , 1958	?	0
	Lac	non indiquée	Franz Koch et Wolfgang Wieser, Partitioning of Energy in Fish : Can Reduction of Swimming Activity Compensate for the Cost of Production ? , J. exp. Biol. 1983	2.72	0
	Lac, mer (?)	Filet maillant et filet en nasse	Tom Wiklund et <i>al</i> , Gonadal impairment in roacg <i>Rutilus rutilus</i> from Finnish coastal areas of the nothern Baltic Sea , Diseases of Aquatic	1.69	2
	?	non indiquée	M.C.Penlington et <i>al</i> , Isolation and characterisation of mRNA encoding the salmon and chicken II type gonadotropin-releasing hormones in the teleost fish <i>Rutilu rutilus</i> (Cyprinidae) , Journal of Molecular Endocrinology 1997	3.628	0
	Rivière	Pêche électrique et filet (selon conditions météorologique)	S. Jobling et <i>al</i> , Altered Sexual Maturation and Gamete Production in Wild Roach (<i>Rutilus rutilus</i>) Living in Rivers That Receive Treated Sewage Effluents , Biology of Reproduction 2002	3.870	1
	Lac	non indiquée	Jouni Taskinen and Raine Kortet, Dead and alive parasites : sexual ornaments signal resistance in the male fish, <i>Rutilus rutilus</i> , Evolutionary Ecology Research 2002	1.506	0
	Lac	Filet maillant	Raine Kortet et <i>al</i> , Sexual ornamentation, androgens and papillomatosis in male roach (<i>Rutilus rutilus</i>) , Evolutionary Ecology Research 2003	1.507	1
	Lac	Pêche à la ligne, épuisettes et filet maillant	Kortel R, et al, Parasitism, condition and number of front head breeding tubercles in roach (<i>Rutilus rutilus</i> L.) , Ecology of Freshwater Fish 2004	1.432	2
	Lac	Filet maillant	Raine Kortet et al, <i>In vitro</i> embryo survival and early viability of larvae in relation to male sexual ornaments end parasite resistance in roach, <i>Rutilus rutilus</i> L , Journal of Evolutionary Biology 2004	3.656	1
	Lac	non indiquée	V.Carter et <i>al</i> , The tapeworm <i>Liguala intestinalis</i> (Cestoda: Pseudophyllidea) inhibits LH expression and puberty in its teleost host, <i>Rutilus rutilus</i> , Reproduction Research 2005	3.049	0
<i>Perca fluviatilis</i> , Percidé	?	Filet maillant	Hans Erik Karlsen, The inner ear is responsible for detection of infrasound in the perch (<i>Perca fluviatilis</i>) , J. exp. Biol. 1992	2.72	1
	Lac	Huit filets maillants 1,8 x 30 m (maillage 12, 15, 20, 25, 30, 35, 45 et 60 mm de nœud à nœud). les filets de 2 à 4 m de profondeur pendant 18 à 24 heures, avec une alternance de petites et grandes mailles + des piège en mailles d'acier de 1 cm2	Jari Raitaniemi et <i>al</i> , The growth of perch, <i>Perca flubiatilis</i> L., in small Finnish lakes at different stages of acidification , Ann. Zool. Fennici 1988	1.085	5
	Lac	Filet maillant (mailles de 6, 7, 10 et 13 mm) et filet dérivant (de plusieurs profondeur)	Thomas Mehner et <i>al</i> , Intraguild predation and cannibalism in age-0 perch (<i>Perca fluviatilis</i>) : Intercations with zooplankton succession, prey fish availability and temperature , Finnish Zoological and Botanical Publishing Board 1996	1.084	4
	Lac	Pêche à la dynamite (20g dans une profondeur de 1 à 3 mètres)	Peter Karas, Basic abiotic conditions for production of perch (<i>Perca fluviatilis</i> L.) young-of-the-year in the Gulf of Bothnia , Finnish Zoological and Botanical Publishing Board 1996	1.085	3
	Lac	Filet maillant	Peter Eklöv, Effects of habitat complexity and prey abundance on the spatial and temporal distributions of perch (<i>Perca fluviatilis</i>) and pike (<i>Esox lucius</i>) , Can. J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 54, 1997		1
	?	non indiquée	Camilla Lothe Nesbo et <i>al</i> , Heteroplasmy, Lenght and Sequence Variation in the mtDNA Control Regions of Three Percid Fish Species (<i>Perca fluviatilis</i>, <i>Acerina cernua</i>, <i>Stizostedion lucioperca</i>) , Genetics Society of America 1998	4.283	0
	Rivière	non indiquée	Agata Korzelecka et <i>al</i> , Structure, size and spatial distribution of perch (<i>Perca fluviatilis</i> L.) egg components during incubation , Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 1998	?	0
	Lac	non indiquée	Victoria Tkatcheva et <i>al</i> , Heavy metals in perch (<i>Perca fluviatilis</i>) from the Kostomuksha (North-western Karelia, Russia) , Boreal Environment	1.62	0
	Lac	non indiquée	Dariusz Kucharczyk et <i>al</i> , Artificial spawning of eurasian perch, <i>Perca fluviatilis</i> L. using ovopel , Archives of Polish Fisheries 2001	?	0
	Lac	Piège à poisson (cage-traps)	Anna Faltynkova et <i>al</i> , Establishment and interspecific associations in two spices of <i>Ichtyocotylurus</i> (Trematoda) parasites in perch (<i>Perca fluviatilis</i>) , Parasites&Vectors 2011	2.13	1

	Lac	Piège à poisson (cage-traps)	Daniel Zarski et <i>al</i> , A new classification of a preovulatory oocyte maturation stage suitable for the synchronization of ovulation in controlled reproduction of Eurasian perch (<i>Perca fluviatilis</i>) , Original research 2011	2.405	1
	Lac	Piège à poisson et filet de senne	Faltynkova et <i>al</i> , Establishment and interspecific associations in two species of Ichthyocotylurus (<i>Trematoda</i>) parasites in perch (<i>Perca fluviatilis</i>) , Parasites & Vectors 2011	2.13	1
Autres Cyprinidés (<i>Cyprinus carpio</i>)	?	non indiquée	Takahiro Hoshita et <i>al</i> , Stero-Bile Acids and Bile Sterols, Studies on the Bile of the Family <i>Cyprinidae</i> , The Journal of Biochemistry , Vol. 56, No. 2,	3.226	0
<i>Cyprinus carpio</i>	?	non indiquée	R.R.Avtalion, Temperature Effect on Antibody Production and Immunological Memory, in Carp (<i>Cyprinus carpio</i>) Immunized Against Bovine Serum Albumin (BSA) , Immunology 1969	3.302	0
<i>Tinca tinca</i>	Lac	Filet maillant	Barham Sayyaf Dezfuli et <i>al</i> , Histological damage and inflammatory reponse elicited by <i>Monobothrium wagneri</i> (Cestoda) in the intestine of <i>Tinca tinca</i> (Cyprinidae) , Parasites&Vectors 2011	2.13	1
<i>Rhinichthys atratulus</i>	?	Pêche électrique	Michelle L. Tipton et <i>al</i> , Postglacial recolonization of eastern Blacknose Dace, <i>Rhinichthys atratulus</i> (Teleostei: Cyprinidae), through the gateway of New England , Ecology and Evolution 2011	2.398	3
<i>M.rutilus</i> et <i>M.glareolus</i>	Lac	non indiquée	Boratynski et <i>al</i> , Introgression of mitochondrial DNA among Myodes voles: consequences for energetics? , BMC Evolutionary Biology 2011	3.70	0
<i>Rutilus rutilus</i> , <i>Abramis brama</i> , <i>Salmo trutta</i> et <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Rivière	non indiquée	H. Rowley et <i>al</i> , Isolation and characterisation of rhabdovirus from wild common bream <i>Abramis brama</i> , roach <i>Rutilus rutilus</i>, farmed brown trout <i>Salmo trutta</i> and rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> en Northern Ireland , Diseases of Aquatic Organisms 2001	1.69	0
<i>Esox flaviae</i>	Mer	non indiquée	Livia Lucentini et <i>al</i> , Molecular and Phenotypic Evidence of a New Species of Genus <i>Esox</i> (Esocidae, Esociformes, Actinopterygii): The Southern Pike, <i>Esox flaviae</i> , Plos one 2011	4.351	0

*IF: Impact Factor (c'est à dire, la note attribuée au journal par l'Institute for Scientific Information (ISI). Ce Facteur d'Impact (en français) sert de critères d'évaluation des revues scientifiques)

RESUME

(A imprimer sur la 4^{ème} de couverture)

L'étude menée sur la perche (*Perca fluviatilis*) et le gardon (*Rutilus rutilus*), nous permet de comparer les stress oxydants engendrés par différentes méthodes de pêche. Le but étant de savoir si la pêche à l'électricité provoque le même stress oxydant que la pêche au filet.

Les analyses menées sur 3 lots de poissons, nous ont permises de mesurer les dégâts engendrés par le stress oxydant et les défenses enzymatiques antioxydantes mises en place pour le contrer.

Au vue de nos résultats, on remarque que le lot de poisson pêché au filet (Perche et Gardon) va subir un plus grand stress oxydant que le lot de poisson pêché à l'électricité. Malgré les différences de défenses antioxydantes mises en place entre les 2 espèces, ce sont les lots pêchés au filet et retrouvés vivants qui vont être le plus impactés par le stress oxydant. Ainsi, c'est la durée de la pêche qui va induire une différence de stress oxydant entre les différents lots et donc indirectement la technique de pêche utilisée.

Il en résulte que les articles scientifiques concernant une étude sur la perche et/ou le gardon doivent impérativement définir la méthode avec laquelle les individus ont été pêchés. La technique de pêche jouant un rôle prépondérant sur le stress oxydant des 2 espèces étudiées.