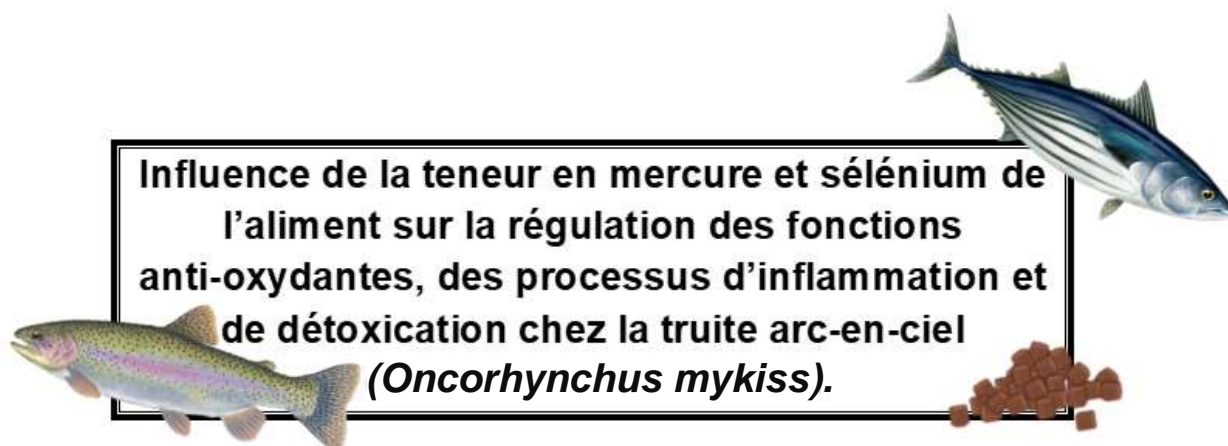




**AGROCAMPUS OUEST**

CFR Angers  CFR Rennes

<p>Année universitaire : 2020 -2021</p> <p>Spécialité : Agronomie</p> <p>Spécialisation (et option éventuelle) : Sciences halieutiques et aquacoles.</p> <p>Option AQUAculture</p>	<p><b>Mémoire de fin d'études</b></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> d'ingénieur d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de master d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de Montpellier SupAgro (étudiant arrivé en M2)</p> <p><input type="checkbox"/> d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



Par : Axelle Braun

**Soutenu à Agrocampus Ouest**

**le 15 septembre 2021**

**Devant le jury composé de :**

**Président :** Hervé Le Bris, enseignant-chercheur  
Agrocampus-Ouest

**Maître de stage :** Stéphanie Fontagné-Dicharry,  
chargée de recherche, NuMeA, INRAE

**Autres membres du jury :**

Vincent Rioux, enseignant-chercheur  
Marie-Agnès Coutellec, chercheuse

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation

«Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»

disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>





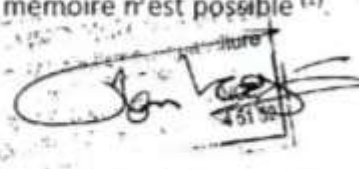
## Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

### Confidentialité

Non  Oui si oui :  1 an  5 ans  10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible <sup>(1)</sup>.

Date et signature du maître de stage <sup>(2)</sup> : 13 septembre 2021  
(ou de l'étudiant-entrepreneur)



**A la fin de la période de confidentialité**, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

### Droits d'auteur

L'auteur <sup>(3)</sup> Nom Prénom BRAUN Axelle

autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui  Non

Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement <sup>(4)</sup>

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

(Facultatif)  accepte de placer son mémoire sous licence Creative commons CC-By-Nc-Nd (voir Guide du mémoire Chap 1.4 page 6)

Date et signature de l'auteur : 17/09/21



### Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui  Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.


Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement <sup>(4)</sup>

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

17 septembre 2021 

(1) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(2) Signature et cachet de l'organisme

(3) Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(4) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé

## REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à sincèrement remercier ma maîtresse de stage, Stéphanie Fontagné-Dicharry, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce stage mais également pour m'avoir accordé sa confiance tout au long de ce projet. Merci de m'avoir accompagné et aidé avec tant de bienveillance, je ressors mûrie et plus perspicace grâce à tous tes conseils et à toutes ces connaissances que tu m'as transmises pendant ces 6 mois. Ce stage a été pour moi une merveilleuse expérience riche en connaissances et une découverte surprenante du domaine de la recherche qui n'a fait qu'augmenter mon attrait pour cette branche.

Je tiens également à remercier mon doctorant encadrant, Marius Bidon. Merci pour ton aide tout au long de ce stage, tu as toujours été là pour me guider et j'ai toujours pu compter sur toi. Je crois que je n'aurais pas pu rêver mieux comme encadrant pendant ce stage, tu as été exceptionnel (au boulot comme en dehors). Ce fut un réel bonheur de travailler à tes côtés sur ce projet. « C'était impeccable ! »

Je remercie toute l'équipe de INRAE de m'avoir intégrée au sein du labo, pour leur accueil chaleureux et leur bonne humeur quotidienne. Merci à tous ceux que j'ai pu côtoyer pendant mon passage dans le Pays Basque ! Venir travailler était un pur plaisir chaque jour ! Un merci tout particulier à Anne pour m'avoir enseigné toutes ces connaissances en biochimie (*et en botanique !*) et de m'avoir épaulée pendant toutes ces manips' !

Un grand merci à vous les Potes – Simon, Chloé, Laura, Marius et Élodie ! Je suis si heureuse d'avoir rencontré des amis tels que vous ! Vous êtes des personnes formidables, vous avez su égayer toutes mes journées (même pendant ces temps de crise !), merci pour tous ces instants passés à vos côtés ! Sans vous, ce stage n'aurait définitivement pas été le même !! Je garde de merveilleux souvenirs de cette courte mais intense période de ma vie. J'espère que nos chemins se recroiseront vite parce que je compte bien vous garder dans ma vie encore un bon moment !

Ce stage finalise ces 3 années de folie que j'ai pu vivre à l'Agro. Un grand merci à la promo 169 pour tous ces moments partagés ensemble, pour cette ambiance incroyable et pour toutes ces rencontres merveilleuses que j'ai eu la chance de faire. Ces années inoubliables resteront à jamais gravé dans mes meilleurs souvenirs ! Bref, merci à vous les copains, c'était une belle aventure !

Pour finir, je dédie ce mémoire à ma famille. Merci à toi Papa pour avoir cru en moi pendant tout ce temps et de m'avoir soutenue dans chacun des choix que j'ai pu faire tout au long de mon parcours. Merci à toi Maman pour avoir été là pour moi à chaque instant, ton soutien sans faille et tes mots ont su me faire avancer. Depuis toujours, tu as été mon plus grand modèle sur lequel je me suis appuyée afin de me surpasser perpétuellement pour avancer dans la vie. Merci à ma sœur Roxane, ma moitié, pour avoir été mon pilier et de m'avoir accompagnée pendant toutes ces années, sans toi, je ne serais pas la femme que je suis aujourd'hui. Malgré la distance qui nous sépare, vous avez toujours été là pour moi.

# Table des matières

<b>1. Introduction</b> .....	1
<b>1.1. Contexte et état des lieux de l'aquaculture mondiale</b> .....	1
<b>1.2. L'alimentation en élevage aquacole : les défis actuels et l'évolution possible</b> .....	1
<b>1.3. Le rôle du sélénium dans la physiologie des poissons</b> .....	2
<b>1.4. L'action toxique du mercure</b> .....	3
1.4.1. <i>Caractérisation du mercure</i> .....	3
1.4.2. <i>Le stress oxydant</i> .....	3
1.4.3. <i>L'inflammation</i> .....	3
<b>1.5. L'interaction entre le sélénium et le mercure</b> .....	4
1.5.1. <i>L'affinité sélénium-mercure</i> .....	4
1.5.2. <i>L'effet du sélénium sur le métabolisme du méthylmercure</i> .....	4
1.5.3. <i>Les défenses mises en place pour limiter la toxicité du mercure</i> .....	4
<b>1.6. Objectif</b> .....	5
<b>2. Matériels et Méthodes</b> .....	6
<b>2.1. Protocole expérimental</b> .....	6
2.1.1. <i>Régimes expérimentaux</i> .....	7
2.1.2. <i>Conditions d'élevage et prélèvements</i> .....	8
<b>2.2. Données zootechniques</b> .....	8
2.2.1. <i>Les performances de croissance</i> .....	8
2.2.2. <i>Les paramètres de consommation</i> .....	9
2.2.3. <i>La survie des individus</i> .....	9
<b>2.3. Détermination de la composition corporelle des poissons</b> .....	9

2.3.1. Détermination de la teneur en matière sèche .....	9
2.3.2. Lyophilisation des échantillons.....	10
2.3.3. Détermination de la teneur en cendres brutes.....	10
2.3.4. Détermination de la teneur en protéines brutes par la méthode Kjeldahl (1883)	10
2.3.5. Détermination de la teneur en lipides totaux par la méthode micro-Folch .....	10
2.3.6. Détermination de l'énergie brute par calorimétrie .....	10
2.3.7. Détermination de l'utilisation des nutriments par les juvéniles selon les régimes .....	11
<b>2.4. Analyse du transcriptome des poissons .....</b>	<b>11</b>
2.4.1. Extraction des ARN totaux .....	11
2.4.2. Rétrotranscription des ARN totaux en ADNc.....	11
2.4.3. PCR quantitative en temps réel de gènes cibles.....	12
2.4.4. Les gènes cibles étudiés.....	12
<b>2.5. Analyse statistiques .....</b>	<b>13</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1. Performances zootechniques des juvéniles selon les différents régimes expérimentaux .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2. Compositions corporelles et bilan de l'utilisation de l'aliment selon les différents régimes expérimentaux.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3. Effet de la supplémentation alimentaire en sélénium et mercure sur le niveau de transcrits des gènes cibles dans le cerveau et le foie des truites arc-en-ciel juvéniles exposées pendant 21 jours aux régime expérimentaux.</b>	<b>24</b>
3.3.1. Niveau d'expression du gène codant pour le marqueur neuronal RBFOX3 dans le cerveau.....	24
3.3.2. Niveau d'expression des gènes impliqués dans l'inflammation du cerveau.....	25

3.3.3. Niveau de transcription des gènes impliqués dans le stress et les défenses antioxydantes du cerveau.....	26
3.3.4. Niveau d'expression des gènes impliqués dans le stress et les défenses antioxydantes du foie.....	27
3.3.5. Niveau d'expression des gènes codant pour les sélénoprotéines dans le foie.....	28
<b>4. Discussion .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1. La supplémentation alimentaire en sélénium : bénéfique ou néfaste pour     l'élevage piscicole ? .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2. La teneur en mercure : quel impact observé chez les juvéniles ?     Interaction avec le sélénium ?.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3. Limites et perspectives de l'utilisation de coproduits de thon comme     remplacement des huiles et farines de poisson en alimentation aquacole .....</b>	<b>33</b>
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>35</b>

# GLOSSAIRE

**Aquaculture** : Elevage d'espèces aquatiques à des fins de commercialisation.

**Biodisponibilité** : Critère évaluant le taux et la vitesse d'absorption du principe actif d'un nutriment en fonction de son ingestion.

**Contaminant** : Substance polluante ou toxique qui rend un organisme impur/contaminé.

**Coproduit** : Matière créée intentionnellement au cours d'un processus de fabrication d'un produit principal.

**Efficacité alimentaire** : Gain de poids observé au cours d'une période en fonction de l'aliment ingéré.

**Enzyme** : Molécule organique dont le pouvoir catalyseur agit lors des réactions biochimiques.

**Formulation** : Choix des proportions de nutriments adaptées à une espèce dans un aliment.

**Gain** : Désigne le bénéfice apporté par un aliment.

**Gain de poids relatif** : Désigne le taux (en %) de gain de poids pendant une période donnée.

**Indice de consommation** : Consommation observée de l'aliment au cours d'une période donnée.

**Inflammation** : Ensemble de réactions qui se produisent au point de l'organisme irrité par un agent pathogène ou toxique.

**Ingestion** : Désigne l'acte d'absorber une substance nutritive.

**Métabolisme** : Réactions biologiques et biochimiques se produisant au sein d'un organisme.

**Micronutriment** : Nutriment indispensable au bon fonctionnement de l'organisme et qui n'apporte pas d'énergie.

**Oligo-élément** : Sel minéral nécessaire à la vie d'un organisme.

**Prise alimentaire journalière** : Quantité journalière d'aliment ingéré.

**Rétention** : Accumulation d'une substance biologique dans un organisme.

**Stress oxydant** : Déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ou radicaux libres) et les défenses antioxydantes. Ce type d'agression peut endommager les constituants cellulaires.

**Taux de croissance spécifique** : Représente l'augmentation de poids journalière d'un organisme.

**Taux de survie** : Représente la proportion (en %) d'individus ayant survécu.



# ABRÉVIATIONS

**Hg** : Mercure

**Se** : Sélénium

**oSe** : Sélénium organique

**iSe** : Sélénium inorganique

**supp** : Supplémenté

**IPREM** : Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux

**UMR** : Unité Mixte de Recherche

**INRAE** : Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement

**NuMÉA** : Nutrition, Métabolisme, Aquaculture

**IMR** : The Norwegian Institute of Marine Research

**TC** : Régime contrôle (sans supplémentation), à base de coproduits de thon

**TH** : Régime supplémenté en mercure seul, à base de coproduits de thon

**TI** : Régime supplémenté en sélénium inorganique seul, à base de coproduits de thon

**THI** : Régime supplémenté en mercure et en sélénium inorganique, à base de coproduits de thon

**TO** : Régime supplémenté en sélénium organique seul, à base de coproduits de thon

**THO** : Régime supplémenté en mercure et en sélénium organique, à base de coproduits de thon

**VC** : Régime contrôle (sans supplémentation), à base de végétaux

**VH** : Régime supplémenté en mercure seul, à base de végétaux

**VI** : Régime supplémenté en sélénium inorganique seul, à base de végétaux

**VHI** : Régime supplémenté en mercure et en sélénium inorganique, à base de végétaux

**VO** : Régime supplémenté en sélénium organique seul, à base de végétaux

**VHO** : Régime supplémenté en mercure et en sélénium organique, à base de végétaux

**THON** : regroupement de tous les régimes expérimentaux à base de coproduits de thon

**VÉGÉTAUX** : regroupement de tous les régimes expérimentaux à base de végétaux

**g** : Gramme

**L** : Litre

**mg** : Milligramme

**mL** : Millilitre

**µg** : Microgramme

**µL** : Microlitre

**kJ** : Kilojoules

**kg** : Kilogramme

**mg/kg** : Milligramme par kilogramme

**mg·L<sup>-1</sup>** : Milligramme par litre

**kJ·g<sup>-1</sup>** : Kilojoules par gramme

**j<sup>-1</sup>** : Par jour

**%** : Pour cent

**%. j<sup>-1</sup>** : Pourcentage par jour

**%MS** : Pourcentage de matière sèche

**%Protéine** : Pourcentage de protéines

**%Lipides** : Pourcentage de lipides

**%Cendres** : Pourcentage de cendres brutes

**H0** : Quantité de chaleur dégagée

**°C** : Degrés Celsius

**rpm** : Rotation par minute

**µFolch** : Micro Folch

**GPR** : Gain de poids relatif

**TCS** : Taux de croissance spécifique

**pmi** : Poids moyen initial

**pmf** : Poids moyen final

**IC** : Indice de consommation

**EA** : Efficacité alimentaire

**TS** : Taux de survie

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARNm** : Acide ribonucléique messager

**ARNt** : Acide ribonucléique de transfert

**ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique

**ADNc** : Acide désoxyribonucléique complémentaire

**PCR** : Réaction de polymérisation en chaîne

**IL-1 $\beta$**  : Interleukine 1 beta

**TNF $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumoral alpha

**HSP70** : Protéine de choc thermique 70

**SOD1** : Superoxyde dismutase 1

**CAT** : Catalase

**GST $\pi$**  : Glutathion S-transférase pi

**RBFox3** : Homologue 3 de la protéine de liaison à l'ARN fox-1

**SelPa1** : Sélénoprotéine Pa1

**MsrB3** : Méthionine sulfoxyde réductase B3

**GPXa1** : Glutathion peroxydase

**il1 $\beta$**  : Gène codant pour l'interleukine 1 beta

**tnfa** : Gène codant pour le facteur de nécrose tumoral alpha

**hsp70** : Gène codant pour la protéine de choc thermique 70

**sod1** : Gène codant pour la superoxyde dismutase 1

**cat** : Gène codant pour la catalase

**gst $\pi$**  : Gène codant pour la glutathion S-transférase pi

**rbfox3** : Gène codant pour l'homologue 3 de la protéine de liaison à l'ARN fox-1

**selpa1** : Gène codant pour la sélénoprotéine Pa1

**msrb3** : Gène codant la méthionine sulfoxyde réductase B3

**gpax1** : Gène codant la glutathion peroxydase a1

**ANOVA** : Analyse de variance

**ns** : non significatif

\* : significatif avec une p-value < 0,05

\*\* : significatif avec une p-value < 0,01

\*\*\* : significatif avec une p-value < 0,001

# LISTE DES FIGURES

Figure 1. Performances de croissance des truites arc-en-ciel nourries avec les 12 régimes expérimentaux au cours des 6 mois d'essai nutritionnel.

Figure 2. Courbe de survie des truites juvéniles tout au long de l'essai nutritionnel selon les groupes de régimes à base de coproduits de thon (THON) ou de végétaux (VÉGÉTAUX)

Figure 3. Courbe de survie des juvéniles tout au long de l'essai nutritionnel pour chaque régime expérimental

Figure 4. Rétention des protéines, lipides, énergie, sélénium et mercure calculées à J21 et J168

Figure 5. Niveau de transcrits de l'ARNm RBFOX3 dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 6. Niveau de transcrits de l'ARNm IL-1 $\beta$  dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 7 : Niveau de transcrits de l'ARNm TNF $\alpha$  dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 8. Niveau de transcrits de l'ARNm HSP70 dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 9. Niveau de transcrits de l'ARNm SOD1 dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 10. Niveau de transcrits de l'ARNm HSP70 dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 11. Niveau de transcrits de l'ARNm GST $\pi$  dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe

Figure 12. Niveau de transcrits de l'ARNm CAT dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 13. Niveau de transcrits de l'ARNm GPX $\alpha$ 1 dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 14. Niveau de transcrits de l'ARNm SelPa1 dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

Figure 15. Niveau de transcrits de l'ARNm MsrB3 dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX et du groupe THON

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Formulation et composition des différentes bases d'aliment

Tableau 2. Composition des différents régimes

Tableau 3. Noms des gènes cibles et séquences des amorces utilisées pour la RT-qPCR

Tableau 4a. Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 21 jours d'expérimentation selon leur base alimentaire

Tableau 4b. Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 21 jours d'expérimentation par régime expérimental du groupe THON

Tableau 4c. Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 21 jours d'expérimentation par régime expérimental du groupe VÉGÉTAUX

Tableau 5a. Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 6 mois d'expérimentation selon leur base alimentaire

Tableau 5b. Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 6 mois d'expérimentation par régime expérimental du groupe THON

Tableau 5c. Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 6 mois d'expérimentation par régime expérimental du groupe VÉGÉTAUX

Tableau 6. Composition corporelle des juvéniles en début (J21) et fin (J168) de l'essai nutritionnel, selon les 2 groupes de régimes (THON et VÉGÉTAUX)

Tableau 7a. Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe THON après 21 jours d'expérimentation

Tableau 7b. Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe THON après 168 jours d'expérimentation

Tableau 7c. Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe VÉGÉTAUX après 21 jours d'expérimentation

Tableau 7d. Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe VÉGÉTAUX après 168 jours d'expérimentation

# **LISTE DES ANNEXES**

Annexe I - Mécanismes des défenses antioxydantes des sélénoprotéines

Annexe II - Matériel utilisé

Annexe III – Protocole de détermination de la matière sèche

Annexe IV - Lyophilisation des échantillons

Annexe V – Protocole de détermination des cendres brutes

Annexe VI – Protocole de détermination des protéines par la méthode de Kjeldhal (1883)

Annexe VII - Protocole de détermination des lipides par méthode  $\mu$ Folch

Annexe VIII - Protocole de détermination l'énergie brute par combustion

Annexe IX - Protocole d'extraction des ARN totaux

Annexe X - Protocole de rétrotranscription des ARN en ADNc

Annexe XI - Protocole de la PCR en temps réel des ARN cibles

# 1. Introduction

## 1.1. Contexte et état des lieux de l'aquaculture mondiale

Dans les années 1950, la production aquacole ne dépassait pas 3% du tonnage total de production halieutique et aquacole avec moins de 600.000 tonnes produites pour 19 millions de tonnes issus de la pêche. La croissance démographique devenant de plus en plus importante à la fin du 20<sup>ème</sup> siècle, l'aquaculture s'est peu à peu développée. Depuis, ce secteur de production est en constante évolution (Cahu, 2013). En 2019, la population mondiale est estimée à 7,7 milliards de personnes et pourrait atteindre 9,7 milliards en 2050 (UN/DESA, 2019). Avec une population mondiale qui augmente de manière accélérée, tout comme la demande de denrées alimentaires, l'industrie piscicole a vu ces dernières années, sa production augmentée de 5,8% par an entre 2005 et 2014 (FAO, 2016). Ainsi, en 2014 l'industrie piscicole a produit plus de poisson d'élevage, destinés à la consommation humaine, que ceux pêchés en milieu naturel par l'industrie de la pêche. L'aquaculture représente actuellement 16,5% de la production carnée totale et 55% de la production de poissons de consommation mondiale (FAO, 2020). Avec une diminution importante des stocks de poissons dans les océans, combinée à une demande sans cesse croissante pour ces produits, l'essor de l'industrie piscicole a permis de répondre aux besoins des consommateurs ces dernières décennies. De ce fait, l'industrie piscicole est une industrie d'avenir au fort potentiel de croissance, qu'il est indispensable de pérenniser de manière durable dans le temps.

## 1.2. L'alimentation en élevage aquacole : les défis actuels et l'évolution possible

Le premier secteur de dépense pour cette industrie est l'alimentation destinée aux poissons d'élevage, avec une formulation à base d'huile et de farine de poissons pélagiques. Confrontée à la stagnation de cette production issue de la pêche minotière, l'aquaculture devra relever des défis à la fois environnementaux, sociaux et économiques (WWF, 2018). Ces dernières années, d'importants efforts ont été faits pour réduire l'utilisation de farine et huile de poisson dans les aliments aquacoles, remplacées par des aliments à base végétale, au coût environnemental et financier réduit (Ytrestoyl et al., 2015). Le passage à des ingrédients végétaux impacte la composition nutritionnelle des aliments, réduisant les niveaux de micronutriments essentiels tels que les vitamines et les minéraux qui sont naturellement présents en grande quantité dans les farines et huiles de poisson (Sissener et al., 2013). Ces nouveaux aliments piscicoles ne couvrent pas tous les besoins nutritionnels des poissons, notamment des espèces carnivores et ne permettent pas d'obtenir des performances de production aquacole aussi efficaces que celles obtenues avec des aliments piscicoles conventionnels. La substitution des huiles et des farines de poissons par des nouvelles matières premières est à étudier en lien avec les besoins nutritionnels des différentes espèces de poissons ciblés (Mourente & Bell, 2006 ; De Francesco et al., 2007 ; Hardy, 2010).

Par exemple, ces nouveaux aliments piscicoles à base végétale ne couvrent pas suffisamment les besoins des poissons en sélénium (Combs, 2001), un micronutriment essentiel et nécessaire au maintien optimal du statut redox des cellules pour leur assurer un fonctionnement physiologique normal (Rayman, 2000). Pour faire face à ces défauts, il est possible d'envisager la mise au point de nouveaux aliments piscicoles, comme des aliments à base de coproduits de thon. Le thon est le poisson le plus pêché dans le monde pour la consommation humaine. Les conserveries de thon jettent la majeure partie du thon, car seul le filet est destiné à la vente pour la consommation humaine. Ces parties non commercialisables pourraient être valorisées et utilisées pour la conception de nouveaux aliments piscicoles prometteurs (Tekinay et al., 2009).

Cependant, le défaut majeur que présentent l'utilisation des coproduits de thon en pisciculture est la présence de contaminants, qu'il est possible d'y retrouver, notamment avec la présence de mercure, sous sa forme la plus toxique, le méthylmercure (Kim et al., 2019).

Une molécule intéressante afin de lutter contre les effets toxiques du mercure est le sélénium, un oligo-élément essentiel, retrouvé en forte quantité dans les coproduits de thon. En effet, le sélénium possède des effets multiples dans la lutte contre les effets toxiques du mercure. Cependant, l'interaction qu'il existe entre ces deux molécules est loin d'être totalement comprise (Wang et al., 2001). Ainsi afin de déterminer la possible utilisation des coproduits de thon en pisciculture, il est indispensable de mieux comprendre l'interdépendance entre ces molécules chez la truite arc-en-ciel, la première espèce piscicole produite en France, qui en fait un modèle de choix pour cette étude.

### **1.3. Le rôle du sélénium dans la physiologie des poissons**

Le sélénium est un oligoélément essentiel pour la physiologie des poissons. Il participe en effet à la croissance, à la reproduction et aux défenses antioxydantes. Cet élément impacte également les propriétés organoleptiques de la chair, diminuant sa qualité en cas de carence (Rayman, 2008 ; Khan et al., 2017).

Le sélénium existe sous différentes formes : inorganique (sélénite, sélénate) et organique (sélénométhionine, sélénocystéine et sélénonéine). Le sélénium est incorporé de manière non spécifique dans les protéines sous forme de sélénométhionine ou de manière spécifique sous forme de sélénocystéine (Behne & Kyriakopoulos, 2001). Les protéines dans lesquelles une sélénocystéine est retrouvée sont appelées des sélénoprotéines. Ils existent de nombreuses sélénoprotéines chez le poisson, la majorité d'entre elles sont impliquées dans les défenses antioxydantes, la lutte contre le stress, la détoxification de certains xénobiotiques et dans le maintien du statut redox cellulaire optimal (Ketterer et al., 1983 ; Steinbrenner et al., 2006 ; Papp et al., 2007). C'est notamment le cas pour la MsrB (méthionine sulfoxyde réductase B) (**Annexe I, Figure 1**), la GPx (glutathion peroxydase) ou encore la SelP (sélénoprotéine P) (**Annexe I, Figure 2**). Cette dernière a pour rôle de distribuer et de maintenir des concentrations en sélénium correctes dans les différents organes.

Cependant, à forte dose, l'effet du sélénium s'inverse et il devient toxique. Cela se traduit par une diminution de la croissance et l'apparition d'une calcinose rénale (NRC, 2011). Selon sa forme, le sélénium présente une biodisponibilité et une marge carence-toxicité différente. L'étude de Berntssen et al. (2018) a montré que la forme inorganique du sélénium est plus toxique que la forme organique, avec une répartition dans l'organisme inégale : le sélénite s'accumulant majoritairement dans le foie alors que la sélénométhionine est distribuée dans le muscle et dans le poisson entier. Cette accumulation préférentielle du sélénium organique par rapport au sélénite est dû à la différence de métabolisme, la sélénométhionine étant plus biodisponible (Fontagne Dicharry et al., 2015 ; Khan et al., 2017).

Le stress oxydatif a été identifié comme une action toxique principale pour les expositions alimentaires excessives au sélénium. Il existe une fourchette étroite entre les effets toxiques et les effets bénéfiques de cet oligo-élément et plusieurs études ont mis en avant une relation dose-réponse graduée du sélénium organique ou inorganique pour diverses espèces de poissons. Ces recherches ont déjà pu mettre en avant un seuil limite à une toxicité chronique avec des teneurs comprises entre 5 et 15 mg par kg d'aliment pour le sélénite pour les salmonidés (Hilton et al., 1980 ; Berntssen et al., 2018). Quant à la forme organique, n'étant pas définie clairement, seule l'étude de Berntssen et al. (2018) a pu observer une toxicité à partir de 21 mg par kg d'aliment pour le saumon Atlantique. Une exposition prolongée de cet oligo-élément à travers un régime alimentaire peut ainsi entraîner une rétention et une toxicité du sélénium. La supplémentation des aliments aquacoles avec du sélénium nécessite une évaluation toxicologique pour protéger la santé des poissons (Hilton & Hodson., 1983 ; Wang & Lovell, 1997 ; Teh et al., 2004 ; Han et al., 2011 ; Lee et al., 2016 ; Berntssen et al., 2017). Ainsi, avec une dose bien étudiée, ses activités antioxydantes et sa forte affinité avec le mercure font du sélénium une molécule idéale dans la lutte contre la toxicité du mercure.

## **1.4. L'action toxique du mercure**

### **1.4.1. Caractérisation du mercure**

Le mercure est un métal lourd, non essentiel pour les organismes et toxique. Il s'est avéré être un agent causal de divers types de troubles, notamment neurologiques, immunologiques, cardiaques, moteurs, reproductifs et même génétiques (Yabanli et al., 2014). Chez les poissons, ce dernier peut s'accumuler en grande quantité dans divers organes comme le foie ou le cerveau. C'est sous sa forme organique, le méthylmercure,  $[\text{CH}_3\text{Hg}]^+$ , qu'il est le plus néfaste (Canty et al., 1981). Dans les systèmes aquatiques, ce cation organométallique est produit par des bactéries. La toxicité du mercure est dû à un excès de radicaux libres induisant un stress oxydant et une réaction inflammatoire, elle est connue pour être fortement dépendante de sa forme chimique (Strapáč et al., 2012). Selon Olsvik et al. (2014), le stress oxydatif et l'apoptose semblent être les principaux mécanismes cibles du méthylmercure chez les poissons. Le cerveau est l'organe cible majeur du mercure, c'est à ce niveau-là que la plus forte toxicité est observée (Farina et al., 2011 ; Ni et al., 2012 ; Morcillo et al., 2017).

### **1.4.2. Le stress oxydant**

Le stress oxydant se produit lorsque des espèces radicalaires sont produites en excès par rapport aux capacités antioxydantes de l'organisme. Les espèces radicalaires sont définies comme des molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leurs couches externes, ce qui rend ces molécules extrêmement réactives au milieu environnant et entraînent divers dommages biomoléculaires. L'impact des espèces radicalaires sur les macromolécules sont divers : oxydation des lipides membranaires qui forment des peroxydes lipidiques (Wagner et al., 1994) et diminuent la fluidité membranaire (Bruch & Thayer, 1983), altération de l'ADN qui engendre des mutations (Cadet & Wagner, 2013), oxydation des protéines qui altère leurs activités enzymatiques (Ha & Lee, 2001) et peuvent par la suite être reconnues comme étrangères de l'organisme et activer le système immunitaire (Fei et al., 2003). A terme, le stress oxydant impacte grandement le fonctionnement cellulaire normal et peut même conduire à l'apoptose de la cellule (Chen et al., 2008).

Il existe diverses enzymes et protéines pour lutter contre le stress oxydant tels que les sélénoprotéines présentées plus haut ou encore des enzymes qui ne sont pas des sélénoprotéines comme la superoxyde dismutase (SOD) ou la catalase (CAT) qui ont un rôle clé dans la défense de l'organisme contre le stress oxydatif. Ces 2 enzymes exercent un rôle signal grâce à l'élimination des radicaux libres entraînant ainsi une régulation de l'état redox cellulaire (Gagné, 2014 ; Tsang et al., 2014).

Le mercure possède une forte affinité pour les groupements sélénoles, présents notamment au niveau des séléno-cystéines, retrouvées dans les sélénoprotéines au rôle antioxydant. Ainsi en fixant ces groupes, le mercure engendre un changement de leur conformation stérique et peut altérer leur activité enzymatique et favoriser un stress oxydant (Makino et al., 2015 ; Cavecci-Mendonça et al., 2020). Certaines sélénoprotéines voient ainsi leurs activités catalytiques diminuer sous l'influence du mercure, c'est le cas pour les glutathion peroxydase (GPx) et les sélénoprotéines P (SelP) impliquées dans les fonctions anti-oxydantes (Gajdosechova et al. 2016 ; Cardoso et al. 2017). Du fait de l'altération de l'environnement redox de la cellule, le mercure induit aussi un stress cellulaire entraînant une détoxification de phase II. Grâce à l'action de certaines protéines, telles que la glutathion S transférase (GST) et la protéine de choc thermique (HSP70), des réactions de conjugaison des voies d'excrétion sont alors mises en place afin de diminuer la toxicité du mercure et faciliter son élimination.

### **1.4.3. L'inflammation**

Le mercure engendre également une réaction inflammatoire, qui lorsqu'elle dure dans le temps peut engendrer le développement de maladies chroniques et altérer de l'état de santé global



des poissons (Mela et al. 2007 ; Abu Zeid et al., 2021). Cette réaction immunitaire est favorisée par la production de cytokines pro-inflammatoires comme le facteur de nécrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ou encore l'interleukine 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) afin de mettre en place une réaction immunitaire importante pour lutter contre l'agent pathogène ou le xénobiotique (tel que le mercure) pour l'éliminer rapidement de l'organisme (Cai et al., 2005 ; Raida & Buchmann, 2009).

Codé par le gène *rbfox3*, l'homologue 3 de la protéine de liaison à l'ARN fox-1 (RBFox3) est une protéine spécifique des neurones. Aussi connu sous le nom de protéine nucléaire neuronale, elle est souvent désignée comme un biomarqueur des neurones qui permet d'évaluer l'état fonctionnel de ces derniers en norme et en pathologie selon son expression (Gusel'nikova, & Korzhevskiy, 2015).

Ainsi un stress oxydant associé à une réaction inflammatoire durable dans le temps vont provoquer des effets délétères sur la santé des poissons, qu'il est indispensable de diminuer notamment en utilisant du sélénium.

## **1.5. L'interaction entre le sélénium et le mercure**

### **1.5.1. L'affinité sélénium-mercure**

Des recherches antérieures ont mis en avant une affinité de liaison élevée entre le sélénium et le mercure (Wang et al., 2001 ; Cusack et al., 2016). Cette forte affinité conduit à la formation d'un précipité de séléniure de mercure, [HgSe], aussi connu sous le nom de tiemannite. Ce composé stable et inerte rend le sélénium et le mercure insoluble compromettant ainsi la biodisponibilité de ces 2 éléments (Lailson-Brito et al., 2012). De cette manière, le sélénium retarde l'accumulation de mercure dans l'organisme. Mais il existe une hypothèse de la déplétion en sélénium par le mercure à prendre en compte : la forte affinité de ces 2 composés peut induire un épuisement subséquent des réserves de sélénium et induire une inhibition de la régénération des sélénoprotéines impactant le statut redox cellulaire optimal (Spiller, 2018).

### **1.5.2. L'effet du sélénium sur le métabolisme du méthylmercure**

Le sélénium est connu comme un agent efficace pour détoxifier le mercure et protéger l'organisme face à ce contaminant. Les mécanismes exacts expliquant l'antagonisme apparent entre le mercure et le sélénium sont encore flous et plusieurs voies sont étudiées : grâce à la formation du complexe tiemannite (Wang et al., 2001), grâce aux activités opposées du mercure et du sélénium (Cusack et al., 2016) ou grâce à l'impact des sélénoprotéines sur le mercure (Ulusoy et al., 2019).

La formation du complexe inerte et insoluble Hg-Se va permettre l'inactivation plus rapide du mercure. Également, de par ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, le sélénium peut contrer les effets pro-oxydants et pro-inflammatoires du mercure. Cependant cette réaction dépend des formes chimiques du mercure et du sélénium ainsi que de leurs rapports molaires, qui peut varier selon l'organisme étudié (Cuvin-Aralar & Furness 1991 ; Spiller, 2018). Un autre mécanisme de détoxification, se déroulant dans le foie, se base sur la capacité de certaines protéines à fixer les ions Hg et ainsi permettre d'empêcher le mercure de réagir avec d'autres composants cellulaires. Parmi ces protéines, les sélénoprotéines, qui vont permettre la détoxification du mercure par la fixation des ions Hg sur leur site actif. Cette réaction entraîne des modifications de conformation stérique et ces protéines auront leur activité enzymatique altérée, impactant fortement leur rôle de défenses anti-oxydantes (Olsvik et al., 2014).

### **1.5.3. Les défenses mises en place pour limiter la toxicité du mercure**

Le mercure engendre un stress oxydant qui va augmenter l'activité d'enzymes et de protéines antioxydantes. Ces dernières vont déclencher plusieurs réponses immunitaires engageant les différentes protéines et enzymes vues plus haut. La lutte contre le mercure se divise en plusieurs étapes, avec d'abord une déméthylation du mercure organique en mercure inorganique permettant

ainsi une redistribution des ions Hg dans les organes cibles afin de permettre la formation du complexe Hg-Se. Ce composé stable et inerte va engendrer une diminution du stock de sélénium qui devra être réapprovisionné afin de restaurer l'activité des sélénoprotéines pour rééquilibrer le statut redox cellulaire (Spiller, 2018).

En conclusion le mercure diminue les capacités antioxydantes de l'organisme et induit un stress oxydant, mais cette toxicité peut être contrée par une supplémentation adaptée en sélénium, avec dose et forme adéquates, qui sera utilisé pour détoxifier le mercure à travers l'action des sélénoprotéines et la formation de complexe tiemannite.

## **1.6. Objectif**

Ainsi le but de ce travail a été de mieux comprendre l'interaction entre le sélénium et le mercure dans les aliments piscicoles sur divers paramètres zootechniques (performances de croissance, survie...) et sur la composition corporelle des juvéniles. Pour cela, nous nous sommes intéressés à déterminer la rétention des nutriments en fonction du régime expérimental ainsi qu'à l'assimilation du sélénium sous l'influence du mercure dans l'aliment et vice-versa.

Nous nous sommes attachés à caractériser une éventuelle mise en place d'un stress oxydant et d'une réaction inflammatoire par le mercure et comment le sélénium pouvait potentiellement l'éviter par la mesure d'expression de gènes dans le foie et dans le cerveau.

Ce travail se base sur les résultats d'un essai nutritionnel de 6 mois sur des juvéniles de truites arc-en-ciel nourris avec différents régimes à base de coproduits de thon ou à base de végétaux supplémentés ou non en sélénium et en mercure. Le but a été d'identifier les limites et les perspectives du remplacement des huiles et farine de poisson par l'utilisation des coproduits de thon.

Améliorer nos connaissances sur l'interaction entre le sélénium et le mercure permettra, dans des conditions optimisées, la formulation de nouveaux aliments piscicoles dans le but d'améliorer la croissance en respectant le bien-être et la santé des poissons.

L'objectif de la valorisation des coproduits de thon dans des aliments alternatifs est de réduire l'impact environnemental de la formulation des aliments aquacoles actuels tout en améliorant la durabilité et la compétitivité de l'industrie aquacole.

## 2. Matériels et Méthodes

Mon stage de Master 2 s'appuie sur des résultats d'expérimentations issues d'une thèse réalisée dans le cadre du projet ANR Mersel. Ce projet est porté par des chimistes de l'IPREM (Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux) de Pau et associe des biologistes issus des unités de recherche NuMéA (Nutrition, Métabolisme et Aquaculture) de Saint-Pée-sur-Nivelle, ainsi que de l'IMR (The Norwegian Institute of Marine Research) de Bergen, en Norvège dans le cadre du réseau européen RISE Merfish.

L'objectif de ce projet multidisciplinaire européen est de faire progresser la compréhension des voies métaboliques du mercure (Hg) dans des organismes vivants de référence (ici des poissons, mammifères marins et humains) en accordant une attention particulière au rôle de détoxification du mercure par son antagoniste le sélénium (Se). Avec pour but d'améliorer la connaissance autour du traitement de la toxicité du mercure, ce projet cherche également à répondre à plusieurs questions environnementales, toxicologiques et biologiques sur la problématique de ce polluant. Le projet Mersel s'inscrit également dans un contexte de développement durable de l'aquaculture car la consommation de poisson représente la principale source de contamination au mercure pour l'homme<sup>1</sup>.

Ainsi ce projet contient une partie de chimie analytique qui a été réalisée par les chimistes de l'IPREM de Pau, qui se sont penchés sur l'analyse du Hg et du Se et ainsi analyser la toxicité, l'excrétion et l'absorption de ces éléments selon leurs isotopes et leurs formes. En parallèle, une partie plus centrée autour de la biologie a été réalisée dans l'UMR NuMéA, à l'INRAE de Saint-Pée-sur-Nivelle, qui a travaillé sur l'impact et l'influence du Hg et du Se sur un poisson modèle d'aquaculture, la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Dans ce mémoire, je vais me concentrer sur la partie du projet qui a pour but d'évaluer la faisabilité du remplacement de farine et d'huile de poisson dans l'alimentation des poissons d'élevage, par des coproduits de thon contenant naturellement du Hg et du Se, afin d'étudier les effets de ces composants chez la truite arc-en-ciel.

Un essai nutritionnel de 6 mois sur des juvéniles de truite a été mis en place afin d'exposer les poissons à différentes formes et quantités de Hg et de Se au niveau de leur alimentation, permettant ainsi d'observer et d'identifier la réaction métabolique et évaluer le risque de toxicité chez la truite dans des conditions contrôlées. Ces essais sur les poissons ont été réalisés dans le dispositif expérimental de la pisciculture INRAE de Donzacq (Landes, France).

### 2.1. Protocole expérimental

L'expérimentation a été effectuée conformément aux lois françaises et européennes concernant la protection et le bien-être des animaux utilisés à des fins scientifiques (Directive 2010/63/EU). Le protocole expérimental a été soumis à un comité d'éthique (autorisation APAFIS#27846-2020102812241350 v2).

Le matériel utilisé lors de ces manipulations est détaillé dans l'**Annexe II**.

---

<sup>1</sup> <https://anr.fr/Project-ANR-18-CE34-0004>

### 2.1.1. Régimes expérimentaux

L'essai nutritionnel comportait 12 régimes différents, supplémentés ou non en Hg et en Se, afin d'observer et d'analyser l'impact de ces 2 éléments sur le métabolisme de la truite. Les 12 régimes testés se divisaient en 2 groupes distincts : 6 régimes à base de protéines végétales (**V**) et 6 régimes à base de farine de coproduits de thon (**T**). Ces 6 régimes sont différenciés par une supplémentation en mercure seul (**-H**), une supplémentation en sélénium inorganique seul (**-I**), une supplémentation en sélénium organique seul (**-O**) ou une supplémentation en mercure et en sélénium inorganique (**-HI**), une supplémentation en mercure et en sélénium organique (**-HO**) et enfin un régime contrôle sans aucune supplémentation (**-C**). Les ingrédients et la composition des régimes sont présentés respectivement dans le **Tableau 1** et le **Tableau 2**.

**Tableau 1 : Formulation et composition des différentes bases d'aliment**

Régimes à base de végétaux		Régimes à base de coproduits de thon	
Ingrédients	%	Ingrédients	%
Farines végétales à partir de gluten de blé & maïs	73,8	Farine de poisson à partir de coproduits du thon	60,0
Mélange d'acides aminés cristallins	3,2	Farine de pois décortiqué	10,8
Lécithine de colza	2,0	Blé complet	15,0
Huile végétale et huile de poisson	16,0	Huile végétale et huile de poisson	12,0
Prémélange de vitamines	1,0	Prémélange de vitamines	1,0
Prémélange de minéraux sans Se	4,0	Prémélange de minéraux sans Se	1,2
Composition	Aliment Végétal	Composition	Aliment Thon
Matière sèche (%)	97,4	Matière sèche (%)	97,7
Protéines brutes (%)	49,3	Protéines brutes (%)	51,2
Lipides totaux (%)	22,0	Lipides totaux (%)	19,1
Énergie brute (kJ/g)	24,8	Énergie brute (kJ/g)	24,1
Amidon (%)	8,2	Amidon (%)	11,6
Cendres brutes (%)	6,7	Cendres brutes (%)	7,8
<b>Sélénium total (µg/g)</b>	<b>0,3</b>	<b>Sélénium total (µg/g)</b>	<b>8,1</b>
<b>Mercure total (µg/g)</b>	<b>-</b>	<b>Mercure total (µg/g)</b>	<b>0,2</b>

**Tableau 2 : Composition des différents régimes**

**Base végétale :** *premix à base de farines végétales avec supplémentation ou non de Hg et Se*

**Base thon :** *coproduits de thon + premix avec supplémentation ou non de Hg et Se*

Régime	[Hg]	[Se]	Régime	[Hg]	[Se]
Végétal contrôle : <b>VC</b>	0	0,3	Thon contrôle : <b>TC</b>	0,3	8
Végétal / Hg : <b>VH</b>	2,6 (supp 2,5)	0,3	Thon/ Hg : <b>TH</b>	2,1 (supp 2)	7,8
Végétal / iSe : <b>VI</b>	0	3,5 (supp 2)	Thon/ iSe : <b>TI</b>	0,2	10,3 (supp 2)
Végétal / Hg / iSe : <b>VHI</b>	2,5 (supp 2,5)	2,3 (supp 2)	Thon/ Hg / iSe : <b>THI</b>	2,2 (supp 2)	11,2 (supp 2)
Végétal / oSe : <b>VO</b>	0	2,3 (supp 2)	Thon/ oSe : <b>TO</b>	0,2	10,5 (supp 2)
Végétal / Hg / oSe : <b>VHO</b>	2,5 (supp 2,5)	2,2 (supp 2)	Thon/ Hg / oSe : <b>THO</b>	2 (supp 2)	10,3 (supp 2)

[Hg] : concentration en mercure en mg/kg d'aliment

[Se] : concentration en sélénium en mg/kg d'aliment

**Abréviations :** Hg = mercure ; iSe = sélénium inorganique ; oSe = sélénium organique ; Supp = supplémentation

**Unités :** mg/kg d'aliment

### 2.1.2. Conditions d'élevage et prélèvements

Un lot total de 1800 juvéniles de truites arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, a été produit et élevé en conditions et températures naturelles dans la pisciculture expérimentale de Donzacq. Au début de l'expérience (Novembre 2020), les truites juvéniles ( $26 \pm 1$  g) ont été réparties aléatoirement dans 36 bassins extérieurs (50 poissons par bassin) et nourries avec les 12 régimes expérimentaux (3 bassins par aliment). Six groupes ont ainsi été nourris avec les régimes à base de protéines végétales, supplémentés ou non en Hg et Se (VC, VI, VO, VH, VHI et VHO) et 6 groupes ont été nourris avec les régimes à base de coproduits de thon, supplémentés ou non en Hg et Se (TC, TI, TO, TH, THI et THO).

Pendant 24 semaines, les juvéniles ont été nourris à la main 2 fois par jour à satiété visuelle. Un total de 6 prélèvements a été réalisé au cours de cet essai nutritionnel : lors du premier jour de la mise en place de l'expérience (**J0**), 2 jours après (**J2**), une semaine après (**J7**), 21 jours après (**J21**), 3 mois après le début de l'essai nutritionnel (**J84**) et un dernier prélèvement après 6 mois d'essai sur les truites juvéniles (**J168**) clôturant cette expérience. Lors de chaque temps de prélèvement, 8 juvéniles par bac ont été sacrifiés après sédation dans un bain de benzocaïne à  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  puis euthanasiés par surdose anesthésique dans un bain de benzocaïne à  $90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Pour 6 d'entre eux, le cerveau, le foie, le rein, le muscle et le sang ont été prélevés puis congelés pour analyses biochimiques, moléculaires et physiologiques. Les 2 poissons restants ont été conservés et congelés entiers pour analyse de composition corporelle. Après le dernier prélèvement à J168, les fèces des poissons restants (entre 3 et 10 poissons par bassin) ont été récoltées dans l'intestin après euthanasie des truites.

## 2.2. Données zootechniques

Les biomasses totales par bassin, les quantités d'aliment distribuées et les taux de survie ont été relevés toutes les 3 semaines durant les 24 semaines d'essai.

Les pesées de contrôle de biomasse ont été réalisées sur des poissons mis à jeun 24h auparavant. Pour ces pesées, une lessiveuse est remplie de 20 litres d'eau, posée sur une balance et tarée. Les poissons sont pêchés grâce à une épuisette et placés dans la lessiveuse. Le poids est relevé et les poissons sont remis dans leurs bassins respectifs. Les individus morts ont été comptés, pesés et enregistrés quotidiennement. La quantité d'aliment distribué a également été mesurée toutes les 3 semaines.

### 2.2.1. Les performances de croissance

Les différents indicateurs de croissance ont été déterminés par comparaison entre les différentes pesées et exprimés par le gain de poids relatif GPR% en  $\% \cdot \text{j}^{-1}$  (**équation 1**) et par le taux de croissance spécifique TCS en  $\text{j}^{-1}$  (**équation 2**).

$$GPR = \frac{(pmf - pmi) \times 100}{pmi \times \Delta t} \quad (1)$$

$$TCS = \frac{\ln pmf - \ln pmi}{\Delta t \times 100} \quad (2)$$

$$pmi = \frac{\text{biomasse totale initiale}}{\text{nombre total d'individus}} \quad (3)$$

$$pmf = \frac{\text{biomasse totale finale}}{\text{nombre total d'individus}} \quad (4)$$

Avec **pmi** (équation 3) : le poids moyen avant l'essai (en grammes) ; **pmf** (équation 4) : le poids moyen à la fin de l'essai (en grammes) et  $\Delta t$  : la durée de la période considérée (en jours).

### 2.2.2. Les paramètres de consommation

Les paramètres de consommation ont été déterminés pour l'indice de consommation **IC** (équation 5) et l'efficacité alimentaire **EA** (équation 6) grâce au gain de poids vif observé en fonction de la quantité d'aliment distribuée au cours d'une période donnée.

$$IC = \frac{\text{quantité d'aliment distribuée}}{(\text{biomasse}_f + \text{biomasse}_{prel} + \text{biomasse}_m) - \text{biomasse}_i} \quad (5)$$

$$EA = \frac{(\text{biomasse}_f + \text{biomasse}_{prel} + \text{biomasse}_m) - \text{biomasse}_i}{\text{quantité d'aliment distribuée}} \quad (6)$$

Avec **biomasse<sub>f</sub>** : la biomasse totale finale (en grammes) ; **biomasse<sub>prel</sub>** : la biomasse des individus prélevés (en grammes) ; **biomasse<sub>m</sub>** : la biomasse des individus morts (en grammes) et **biomasse<sub>i</sub>** : la biomasse totale initiale (en grammes).

### 2.2.3. La survie des individus

La mortalité au cours de l'essai nutritionnel a été suivi par le comptage du nombre d'individus morts en fonction du nombre d'individus restants. Ainsi on a pu calculer un taux de survie **TS** (équation 7) en %.

$$TS = \frac{(nbi - nbmort) \times 100}{nbi} \quad (7)$$

Avec **nbi** : le nombre de poissons initial et **nbmort** : le nombre d'individus morts après l'essai.

## 2.3. Détermination de la composition corporelle des poissons

L'analyse de la composition corporelle a été effectuée sur les juvéniles prélevés entiers et conservés à -20°C. Pour chaque bac, 2 poissons ont été prélevés permettant donc de faire les analyses biochimiques avec 6 poissons par régime expérimental (2 poissons x 3 bassins). Les différents paragraphes ci-dessous expliquent les méthodes utilisées et leurs principes. Les détails des différents modes opératoires se trouvent dans les **Annexes III à VIII**.

### 2.3.1. Détermination de la teneur en matière sèche

Les teneurs en matière sèche ont été déterminées à partir de la mesure de perte d'eau des échantillons après dessiccation en étuve à 105°C pendant 24h. Le pourcentage de la matière sèche (%MS) contenu dans chaque échantillon a été déterminé par différence de masse (**Annexe III**). Les mesures ont été faites en duplicat, sur les échantillons frais et lyophilisés.

### 2.3.2. Lyophilisation des échantillons

La lyophilisation se déroule en 3 étapes clés : la congélation (passage de l'eau sous forme liquide à l'état solide), la sublimation (passage de l'eau sous forme de glace à l'état gazeux) et enfin une étape permettant de désorber (l'élimination des gaz) les échantillons sans altérer leurs caractéristiques physiques, chimiques et biologiques (**Annexe IV**).

### 2.3.3. Détermination de la teneur en cendres brutes

La teneur en cendres brutes a été déterminée par incinération des lyophilisats de chaque échantillon dans un four à cendres. Le pourcentage des cendres brutes (%Cendres) contenu dans chaque échantillon a été déterminé par différence de masse (**Annexe V**).

### 2.3.4. Détermination de la teneur en protéines brutes par la méthode Kjeldahl (1883)

L'azote organique dans l'organisme est majoritairement présent sous forme de protéines (16% d'azote en moyenne dans les protéines). Afin d'en déterminer la teneur dans chaque échantillon, la méthode de Kjeldhal (Kjeldhal, 1883) a été utilisée. Cette technique consiste à transformer l'azote organique (R-NH<sub>2</sub>) en azote minéral (ion ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en présence d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à haute température. Cette réaction va former du gaz (du dioxyde de carbone CO<sub>2</sub>, dioxyde de soufre SO<sub>2</sub> et monoxyde de carbone CO) ainsi que du sulfate d'ammonium, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. C'est sous cette forme que l'azote va réagir avec une solution d'hydroxyde de sodium, NaOH, ce qui va permettre la formation d'ammoniac gazeux, NH<sub>3</sub>. Ce gaz, mis en contact avec de l'acide borique, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, va provoquer la formation de borate d'ammonium, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub>, qui va ainsi pouvoir être dosé par titrage à l'acide chlorhydrique HCl et au vert de bromocrésol (C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S). La teneur en protéines peut ainsi être calculée car la quantité de borate d'ammonium est proportionnelle à la quantité d'azote organique dans l'échantillon. La réaction détaillée avec les équations sont présentés en **Annexe VI**, en plus de la description plus précise de la méthode de Kjeldhal (1883).

### 2.3.5. Détermination de la teneur en lipides totaux par la méthode micro-Folch

La technique microFolch découle de la méthode d'extraction et de purification des lipides de Folch permettant d'isoler et de purifier les lipides totaux contenus dans les tissus animaux (Folch et al., 1957). La méthode se base sur une homogénéisation d'un échantillon dans un solvant de dichlorométhane-méthanol permettant l'obtention d'une solution monophasique, constituée de lipides dissous et de contaminants aqueux. Grâce à l'ajout d'une solution saline, l'homogénat se sépare en biphasique avec la phase organique inférieure contenant le dichlorométhane et les lipides totaux qui peuvent être isolés par évaporation. Ainsi par différence de masses, la teneur en lipides peut être calculé. Le protocole détaillé est en **Annexe VII**.

### 2.3.6. Détermination de l'énergie brute par calorimétrie

L'énergie brute (H<sub>0</sub>) aussi appelée pouvoir calorifique ou chaleur de combustion, représente l'énergie thermique produite lors de la combustion d'un échantillon par le dioxygène O<sub>2</sub>. Cette énergie calorifique a été quantifiée à l'aide du calorimètre à bombe adiabatique, à partir de la quantité de chaleur produite lors de la combustion complète de l'échantillon. La chaleur dégagée est transformée en énergie calorifique H<sub>0</sub> qui peut être calculée pour déterminer la teneur en énergie brute de l'échantillon. Le protocole et le principe de cette méthode sont détaillés en **Annexe VIII**.

### 2.3.7. Détermination de l'utilisation des nutriments par les juvéniles selon les régimes

Les paramètres d'ingestion, de rétention et de gain ont été calculés pour les protéines, les lipides et l'énergie à partir des résultats obtenus lors des analyses biochimiques.

$$Ingestion = \frac{\text{quantité de X dans l'aliment \%} \times \text{quantité d'aliment distribuée}}{100} \quad (8)$$

$$Gain = \frac{\text{qte de X dans le poisson fin.} \times pf - \text{qte de X dans le poisson ini.} \times pi}{100} \quad (9)$$

$$Retention = \frac{Gain}{Ingestion} \times 100 \quad (10)$$

Avec **X** : la quantité de matière sèche, protéines, lipides, énergie, cendre, sélénium ou mercure digestible en pourcentage de matière fraîche (en %) ; **pf** : la biomasse finale restante à la fin de l'expérimentation, avec la prise en compte des individus morts et individus prélevés au cours de l'essai nutritionnel (en gramme) et **pi** : la biomasse initiale au début de l'expérimentation (en gramme).

## 2.4. Analyse du transcriptome des poissons

Les analyses moléculaires ont été effectuées sur différents tissus de la truite : le cerveau et le foie. Des échantillons provenant des 12 régimes expérimentaux ont été analysés. Les organes ont été prélevés lors de chaque temps de prélèvement, 24 heures après le dernier repas. Les données moléculaires ont pu être récupérées grâce aux méthodes décrites ci-dessous. Le détail de ces différentes techniques et leurs modes opératoires sont expliqués plus précisément en **Annexes IX à XI**.

### 2.4.1. Extraction des ARN totaux

L'extraction des acides ribonucléiques totaux a été réalisée selon la méthode de Chomczynski et Sacchi datant de 1987 (**Annexe IX**). Le broyage mécanique des tissus et l'action chimique permettent la lyse des membranes ainsi qu'une dissolution des composants cellulaires. Cette technique extrait l'information génétique tout en préservant son intégrité. Une première étape de broyage dans le tampon TRIzol® Reagent va libérer le matériel génétique dans un mélange de composés cellulaires dissous. Une séparation de phases et une étape de lavage sont réalisées pour séparer les acides nucléiques dissous des autres éléments cellulaires. L'ajout d'isopropanol va permettre d'isoler par précipitation les ARN totaux, suivi d'une purification supplémentaire. Les ARN sont ensuite dissous dans de l'eau pure et les échantillons sont stockés à -20°C pour analyses d'expression de gènes.

### 2.4.2. Rétrotranscription des ARN totaux en ADNc

La transcription inverse permet de synthétiser des ADNc à partir d'ARN messagers (ARNm), des ARN de transfert (ARNt) et des ARN ribosomiques (ARNr) grâce à une enzyme transcriptase inverse. Précédée d'une étape de dénaturation, la rétrotranscription nécessite l'élimination de la structure secondaire de l'ARN pour permettre la fixation aléatoire des amorces aux brins dénaturés. Les ARN totaux dénaturés liés à leurs amorces sont ensuite soumis à une rétrotranscription par l'enzyme transcriptase inverse SuperScript III. De l'ARN de luciférase non présent dans les échantillons de truite a été ajouté en quantité contrôlée dans nos échantillons d'ARN de truite afin



de constituer un contrôle externe d'efficacité de la RT-PCR quantitative. L'**Annexe X** explique, plus en détail, le principe et le protocole de la rétrotranscription des ARN en ADNc.

#### 2.4.3. PCR quantitative en temps réel de gènes cibles

La PCR (de l'anglais « *Polymerase Chain Reaction* ») est une technique analytique se basant sur l'amplification de l'ADNc, afin de le quantifier au cours de la réaction dans le temps et ainsi de suivre l'expression d'un gène d'intérêt. Cette méthode se base sur le principe de réplication de l'ADNc avec une étape de dénaturation de sa structure bicaténaire, une étape d'hybridation des amorces et une étape d'élongation grâce à une enzyme ADN polymérase (**Annexe XI**). Grâce à l'utilisation d'un couple d'amorces spécifiques, seule une portion de l'ADNc spécifique est amplifiée (amplicons).

La PCR quantitative en temps réel (qPCR) est une méthode d'amplification qui se réalise en présence d'un agent intercalant fluorescent, le SYBR Green, qui se lie aux double brins d'ADNc. Lorsque le nombre d'amplicons augmente de façon exponentielle lors des cycles PCR successifs, la fluorescence émise par ce marqueur d'amplification dessine une cinétique d'expression directement proportionnelle à la quantité d'ADNc présente dans l'échantillon. Après traitement par un logiciel, l'intensité de la fluorescence est transformée en valeurs quantitatives donnant la concentration d'ADNc présents dans l'échantillon et le nombre de cycles PCR nécessaire avant de pouvoir observer la fluorescence. Ainsi, plus le nombre de cycles est faible, plus la quantité d'ADNc est élevée.

#### 2.4.4. Les gènes cibles étudiés

Les transcrits dont les expressions ont été quantifiées sont : l'interleukine 1 beta et le facteur de nécrose tumoral  $\alpha$  (**IL-1 $\beta$** , **TNF $\alpha$** ), la heat shock protein 70 kilodalton (**HSP70**), la superoxide dismutase 1 (**SOD1**) et la protéine nucléaire neuronale (**RBFOX3**) dans le cerveau ; et la 70 heat shock protein kilodalton (**HSP70**), la catalase (**CAT**), la glutathion S-transférase pi (**GST $\pi$** ), la sélénoprotéine P (**SeIPa1**) et la méthionine sulfoxyde réductase (**Msrb3**) et la glutathion peroxydase (**GPXa1**) dans le foie.

Ainsi, les gènes codants **IL-1 $\beta$**  et **TNF $\alpha$**  permettent de suivre l'inflammation, **HSP70**, **SOD1**, **CAT** et **GST $\pi$**  permettent de suivre la réponse face au stress oxydatif, les paralogues **SeIPa1**, **Msrb3** et **GPXa1** vont permettre de suivre l'activité des sélénoprotéines et **RBFOX3** permet de suivre des potentielles lésions neuronales dans le cerveau des truites juvéniles selon les différents régimes expérimentaux. Les séquences des amorces qui ont été utilisées se trouvent dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3** : Noms des gènes cibles et séquences des amorces utilisées pour la RT-qPCR

		Gènes	Amorce sens (5'-3')	Amorce anti-sens (3'-5')
<b>Cerveau</b>	Inflammation	<i>il_1<math>\beta</math></i>	AGTGTTGGAGTTGGAGTCGG	CATCAGGACCCAGCACTTGT
		<i>tnfa</i>	AATCTTCCGCTGACACCGT	CGAAGAAGAGCCCAGTGTGT
	Stress oxydant	<i>hsp70</i>	GGCCGAAAGTTCAACGATCA	CCTCATCTTACCAGGACCA
		<i>sod1</i>	TGGTCTGTGAAGCTGATTG	TTGTCAGCTCCTGCAGTCAC
	Marqueur cellulaire	<i>rbfox3</i>	ACGCCACTGTCAACTGTATGA	TCACTCTGCATGCTGTCACA

<b>Foie</b>	Stress oxydant	<i>hsp70</i>	GGCCGAAAGTTCAACGATCA	CCTCATCTTCACCAGGACCA
		<i>cat</i>	AATGCAGGTCTGCCAATAC	CTGATGTGTGCAGGAGTCGT
		<i>gstπ</i>	AGAAATACAGGGGCGACGTT	GCATCTCCGCAAACCTGAGAG
	Sélénoprotéines	<i>selpa1</i>	CAGCCACCTGGTTGGAGTAT	CCTGGAGTAGGGCCACCA
		<i>msrb3</i>	TCAGGTTGGCCTTCCTTCTA	CGAGGTGAGAACCACACTGA
		<i>gpxa1</i>	AATGTGGCGTCACTCTGAGG	CAATTCTCTGATGGCCAAA

Les données ont été normalisées avec les gènes de référence (EF1α et luciférase) et comparées au groupe calibrateur : VC. Les résultats découlent d'ANOVA 2 voies avec test post hoc de Tukey, le seuil de significativité était considéré lorsque la p-value < 0,05 (n=9 par régime).

Les études des niveaux d'expression de ces gènes ont été faites pour les juvéniles de la période J21. Seule la première période a été prise en compte car les résultats pour la période J84 étaient incomplets et ceux de la période J168 n'étaient pas encore réalisés pendant l'écriture de ce rapport.

## 2.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels R et SigmaStat. Les données ont été représentées par leur moyenne et leur écart type standard.

La normalité des distributions et l'homogénéité des variances ont respectivement été vérifiées avec un test de Shapiro-Wilk et un test de Bartlett pour une probabilité de 0,05. Si les conditions de normalité et d'homoscédasticité étaient vérifiées, alors les données ont été analysées, d'abord par test ANOVA (analyse de variance) à un facteur pour mesurer l'effet et comparer les 2 groupes distincts des différents régimes expérimentaux (**THON** et **VÉGÉTAUX**) sur les paramètres zootechniques considérés, la composition corporelle, la rétention des différents nutriments et l'expression des gènes cibles. Ensuite, un test ANOVA à deux facteurs a été réalisé pour mesurer l'impact de la supplémentation en Sélénium et en Mercure dans chaque groupe de régimes (comparaison entre les différents régimes de chacun des 2 groupes). En cas de différence significative, une comparaison multiple était faite entre les différents régimes expérimentaux grâce au test de Tukey. Les différences significatives ont été considérées statistiquement différentes lorsque la p-value était inférieure à 0,05, rejetant ainsi l'hypothèse d'égalité H0.

### 3. Résultats

#### 3.1. Performances zootechniques des juvéniles selon les différents régimes expérimentaux

Les performances de croissance des truites juvéniles sont représentées dans les **Tableaux 4** (a, b et c) et **5** (a, b et c) ainsi que sur la **Figure 1**, qui illustre l'évolution du poids moyen, pour les 12 régimes, au cours des 6 mois et la **Figure 2** représentant la courbe de survie des truites pendant toute la durée de l'expérience.

**Tableau 4a** : Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 21 jours d'expérimentation selon leur base alimentaire.

Groupe	<i>pmi</i> (g)	<i>pmf</i> (g)	TCS (%/j)	GPR (%/J)	IC	EA	TS (%)
<b>THON</b>	27 ± 1	41 ± 2 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	0,79 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	99 ± 1
<b>VÉGÉTAUX</b>	26 ± 1	42 ± 2 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	99 ± 2
<b>significativité</b>	<b>ns</b>	<b>*</b>	<b>*</b>	<b>*</b>	<b>*</b>	<b>**</b>	<b>ns</b>

THON : moyenne de tous les différents régimes à base de coproduits de thon, VÉGÉTAUX : moyenne de tous les différents régimes à base de végétaux ; *pmi*, poids moyen initial ; *pmf*, poids moyen final ; TCS, taux de croissance spécifique ; GPR, gain de poids relatif ; IC, indice de consommation ; EA, efficacité alimentaire et TS, taux de survie. Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 1 voie (effet de la base des régimes).

Après 21 jours d'essai, on peut voir sur le **Tableau 4a**, que plusieurs paramètres ont présenté des différences significatives : le poids moyen final, le taux de croissance spécifique, le gain de poids relatif et l'indice de consommation (ANOVA 1 voie,  $p < 0,05$ ) ainsi que l'efficacité alimentaire (ANOVA 1 voie,  $p < 0,01$ ). Au cours de cette première période de 3 semaines, les poissons nourris avec les régimes végétaux ont eu une meilleure croissance et une préférence pour ces aliments par rapport aux aliments à base de coproduits de thon. Avec un poids moyen final plus élevé, on peut voir qu'à court terme les poissons ont été plus gros lorsqu'ils ont été nourris avec des aliments à base d'ingrédients végétaux. À contrario, dès cette première période, l'efficacité alimentaire a tout de même eu un meilleur ratio avec les régimes à base de coproduits de thon. Concernant le taux de survie à court terme, il n'y a pas eu de distinction entre chacun des régimes.

**Tableau 4b** : Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 21 jours d'expérimentation par régime expérimental du groupe THON.

21 Jours	TC	TH	TI	THI	TO	THO	Hg	Se	Hg x Se
<b><i>pmi</i> (g)</b>	27 ± 1	27 ± 1	27 ± 0	26 ± 1	26 ± 1	26 ± 1	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b><i>pmf</i> (g)</b>	43 ± 1	42 ± 1	39 ± 4	41 ± 0	41 ± 1	39 ± 2	<b>ns</b>	<b>*</b>	<b>ns</b>
<b>TCS (%/j)</b>	2,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>*</b>
<b>GPR (%/j)</b>	2,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	2,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>*</b>
<b>IC</b>	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>EA</b>	1,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>*</b>
<b>TS (%)</b>	99 ± 1	99 ± 1	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	99 ± 1	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>

TC, TH, TI, THI, TO et THO les régimes alimentaires à base de coproduits de thon supplémentés ou non en sélénium inorganique ou organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; *pmi*, poids moyen initial ; *pmf*, poids moyen final ; TCS, taux de croissance spécifique ; GPR, gain de poids relatif ; IC, indice de consommation ; EA, efficacité alimentaire et TS, taux de survie. Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

En se penchant plus précisément sur les performances des poissons nourris avec les 6 régimes compris dans le groupe THON (**Tableau 4b**), seul un effet de la supplémentation en

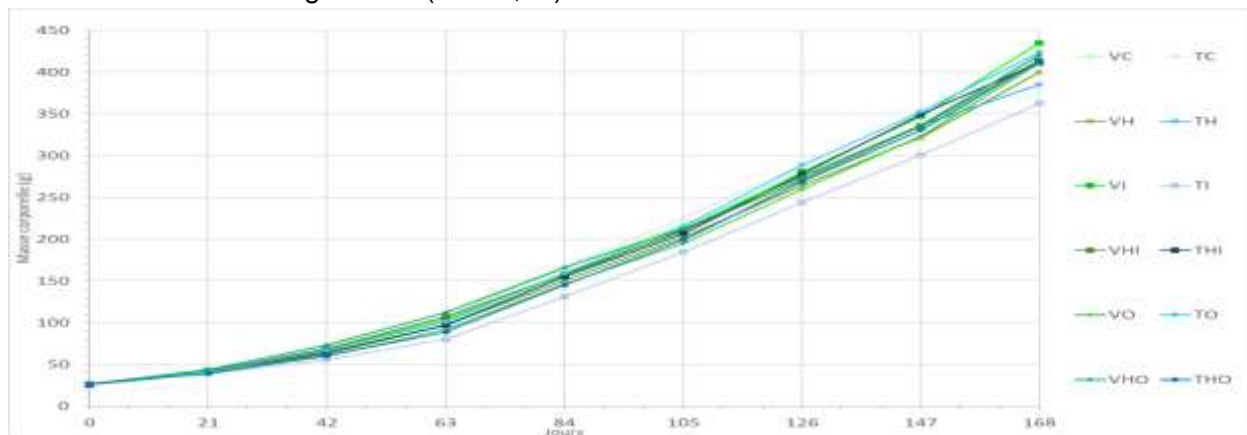
sélénium a été détecté par l'ANOVA 2 voies sur le poids moyen final mais le test post-hoc n'a pas permis de différencier les 3 groupes : non supplémenté en Se (pmf = 43 ± 1 g), supplémenté en Se inorganique (pmf = 40 ± 2 g) et supplémenté en Se organique (pmf = 40 ± 1 g). De même des interactions significatives entre Hg et Se ont été notées mais les moyennes n'ont pas pu être distinguées par le test de Tukey.

**Tableau 4c** : Taux de survie, paramètres biométriques et performances de croissance des juvéniles après 21 jours d'expérimentation par régime expérimental du groupe VEGETAUX.

21 Jours	VC	VH	VI	VHI	VO	VHO	Hg	Se	Hg x Se
<b>pmi (g)</b>	27 ± 1	26 ± 1	26 ± 1	26 ± 1	27 ± 1	27 ± 0	ns	ns	ns
<b>pmf (g)</b>	44 ± 1 <sup>a</sup>	39 ± 3 <sup>b</sup>	43 ± 2 <sup>a</sup>	43 ± 1 <sup>a</sup>	42 ± 3 <sup>a</sup>	44 ± 1 <sup>a</sup>	ns	ns	*
<b>TCS (%/j)</b>	2,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>ab</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>ab</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>ab</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>ab</sup>	ns	ns	**
<b>GPR (%/j)</b>	3,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>ab</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>ab</sup>	2,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>	3,0 ± 0,2 <sup>ab</sup>	ns	ns	*
<b>IC</b>	0,8 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>ab</sup>	0,8 ± 0,0 <sup>ab</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>ab</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>ab</sup>	ns	ns	*
<b>EA</b>	1,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>ab</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>ab</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>ab</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>ab</sup>	ns	ns	*
<b>TS (%)</b>	99 ± 2	98 ± 2	97 ± 3	99 ± 1	100 ± 0	99 ± 1	ns	ns	ns

VC, VH, VI, VHI, VO et VHO les régimes alimentaires à base d'ingrédients végétaux supplémentés ou non en sélénium inorganique or organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; pmi, poids moyen initial ; pmf, poids moyen final ; TCS, taux de croissance spécifique ; GPR, gain de poids relatif ; IC, indice de consommation ; EA, efficacité alimentaire et TS, taux de survie. Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

Dans le cas du groupe VÉGÉTAUX (**Tableau 4c**), les performances de croissance (pmf, TCS et GPR) ainsi que l'indice de consommation et l'efficacité alimentaire ont été impactés significativement par l'interaction entre la supplémentation en Hg et celle en Se. Tous les paramètres ont montré un effet similaire avec des performances plus faibles pour le régime supplémenté en mercure seul (VH) par rapport au régime contrôle (VC), sauf pour l'indice de consommation ou cet effet est inversé avec des poissons nourris avec le régime VH (IC = 0,90) qui mangeaient plus que ceux nourris avec le régime VC (IC = 0,82).



Les courbes vertes correspondent aux régimes à base de végétaux (VC, VH, VI, VHI, VO et VHO) et les courbes bleues aux régimes à base de coproduits de thon (TC, TH, TI, THI, TO et THO). Les différentes pesées ont été réalisées à 0, 21, 42, 63, 84, 105, 126, 147 et 168 jours. Chaque point représente la moyenne du poids des truites pour chaque régime (3 bacs par régime).

**Figure 1** : Performances de croissance des truites arc-en-ciel nourries avec les 12 régimes expérimentaux au cours des 6 mois d'essai nutritionnel.

Au bout de 168 jours d'expérimentation, les tests statistiques indiquent qu'il n'existe pas de différence significative (ANOVA 1 voie, p>0,05) pour la croissance pondérale entre les régimes à

base de thon et les régimes à base de végétaux (**Figure 1**). Les paramètres des performances de croissance (TCS et GPR) montrent la même conclusion avec des différences qui n'existent plus après 6 mois d'essai nutritionnel (**Tableau 5a**).

**Tableau 5a** : Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 6 mois d'expérimentation selon leur base alimentaire.

Groupe	<i>pmi</i> (g)	<i>pmf</i> (g)	TCS (%/j)	GPR (%/j)	IC	EA	TS (%)
<b>THON</b>	27 ± 1	403 ± 18	1,6 ± 0,0	8,4 ± 0,4	0,87 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,15 ± 0,02 <sup>a</sup>	91 ± 4 <sup>b</sup>
<b>VÉGÉTAUX</b>	26 ± 1	417 ± 31	1,6 ± 0,1	8,8 ± 0,7	0,94 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,03 <sup>b</sup>	97 ± 3 <sup>a</sup>
<i>significativité</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	***	***	**

THON : moyenne de tous les différents régimes à base de coproduit de thon, VÉGÉTAUX : moyenne de tous les différents régimes à base de végétaux ; *pmi*, poids moyen initial ; *pmf*, poids moyen final ; TCS, taux de croissance spécifique ; GPR, gain de poids relatif ; IC, indice de consommation ; EA, efficacité alimentaire et TS, taux de survie. Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle *ns* (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 1 voie.

Seuls l'indice de consommation d'aliment et l'efficacité alimentaire présentent des différences significatives entre les régimes végétaux et les régimes thon (ANOVA 1 voie,  $p < 0,001$ ). Ce sont les poissons nourris avec les régimes à base de végétaux qui présentent une consommation plus élevée par rapport aux poissons nourris avec les régimes à base de thon. Cependant, comme observé après 21 jours, ce sont encore les poissons nourris avec les régimes à base de coproduits de thon qui ont une meilleure efficacité alimentaire avec une moyenne de 1,15 kg de poids frais produit par kg d'aliment donné, contre moins de 1,07 kg de poids frais produit pour les aliments des régimes à base d'ingrédients végétaux. Comparé aux résultats obtenus à court terme, la différence des taux de survie en fin d'essai nutritionnel était flagrante entre les régimes expérimentaux, avec une moyenne de 97% de survie des juvéniles nourris avec des aliments à base d'ingrédients végétaux contre seulement 91% de survie en moyenne pour ceux nourris avec les aliments à base de coproduits de thon.

**Tableau 5b** : Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 6 mois d'expérimentation par régime expérimental dans le groupe THON.

6 mois	TC	TH	TI	THI	TO	THO	Hg	Se	Hg x Se
<i>pmi</i> (g)	21 ± 1	27 ± 1	27 ± 0	26 ± 1	26 ± 1	26 ± 1	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
<i>pmf</i> (g)	420 ± 11 <sup>a</sup>	385 ± 21 <sup>ab</sup>	363 ± 27 <sup>b</sup>	411 ± 16 <sup>a</sup>	424 ± 19 <sup>a</sup>	413 ± 15 <sup>a</sup>	<i>ns</i>	*	**
TCS (%/j)	1,6 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>ab</sup>	1,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,0 <sup>a</sup>	<i>ns</i>	*	**
GPR (%/j)	8,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	7,9 ± 0,7 <sup>ab</sup>	7,3 ± 0,7 <sup>b</sup>	8,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	9,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	8,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	<i>ns</i>	*	**
IC	0,85 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,90 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,86 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,84 ± 0,01 <sup>b</sup>	<i>ns</i>	*	**
EA	1,18 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,15 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,16 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,19 ± 0,01 <sup>a</sup>	<i>ns</i>	*	**
TS (%)	96 ± 2	92 ± 7	90 ± 1	90 ± 6	94 ± 0	84 ± 9	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

TC, TH, TI, THI, TO et THO les régimes alimentaires à base de coproduits de thon supplémentés ou non en sélénium inorganique ou organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; *pmi*, poids moyen initial ; *pmf*, poids moyen final ; TCS, taux de croissance spécifique ; GPR, gain de poids relatif ; IC, indice de consommation ; EA, efficacité alimentaire et TS, taux de survie. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle *ns* (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

A l'intérieur du groupe THON (**Tableau 5b**), le poids moyen final, le taux de croissance spécifique ainsi que le gain de poids relatif ont été impactés par la supplémentation en Se (ANOVA 2 voies,  $p < 0,01$ ). En effet, la supplémentation en Se organique a induit une meilleure croissance (régimes TO ou THO, *pmf* = 418 ± 17 g, TCS = 1,65 ± 0,03%/j, GPR = 8,9 ± 0,4%/j) par rapport à une supplémentation en sélénium sous forme inorganique (régimes TI et THI, *pmf* = 387 ± 33 g, TCS = 1,59 ± 0,03%/j, GPR = 8,1 ± 0,4%/j), les régimes non supplémentés en sélénium donnant une croissance intermédiaire pour le poids moyen final et le taux de croissance spécifique et plus

faible pour le gain de poids relatif (régimes TC et TH, pmf = 403 ± 24 g, TCS = 1,61 ± 0,03%/j, GPR = 8,3 ± 0,5%/j). Cet effet de la supplémentation en Se est visible dans les groupes non supplémentés en Hg (régimes TC, TI et TO). On peut également noter une différence de croissance entre les 2 régimes supplémentés en Se inorganique (régimes TI et THI) avec un poids moyen final plus faible dans le groupe non supplémenté en Hg.

L'indice de consommation et l'efficacité alimentaire ont également été impactés par la supplémentation en Se de l'aliment avec, comme pour la croissance, un meilleur indice de consommation et une meilleure efficacité dans le groupe supplémenté en Se organique (IC = 0,85 ± 0,01 et EA = 1,18 ± 0,02) par rapport au groupe supplémenté en Se inorganique (IC = 0,89 ± 0,02 et EA = 1,13 ± 0,03), le groupe non supplémenté en Se présentant un indice de consommation et une efficacité alimentaire intermédiaires (IC = 0,87 ± 0,02 et EA = 1,15 ± 0,02). Un effet du mercure est observé dans les régimes non supplémentés en Se avec un meilleur indice de consommation et une meilleure efficacité alimentaire dans le groupe TC contrôle par rapport au groupe TH supplémenté en mercure seul.

**Tableau 5c** : Performances de croissance et taux de survie des juvéniles après 6 mois d'expérimentation par régime expérimental dans le groupe VÉGÉTAUX.

6 mois	VC	VH	VI	VHI	VO	VHO	Hg	Se	Hg x Se
pmi (g)	27 ± 1	26 ± 1	26 ± 1	26 ± 1	27 ± 1	27 ± 0	ns	ns	ns
pmf (g)	423 ± 19	400 ± 23	435 ± 49	414 ± 40	411 ± 21	420 ± 32	ns	ns	ns
TCS (%/j)	1,7 ± 0,0	1,6 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,0	1,6 ± 0,1	ns	ns	ns
GPR (%/j)	8,9 ± 0,7	8,5 ± 0,6	9,2 ± 0,83	8,8 ± 0,9	8,66 ± 0,56	8,8 ± 0,9	ns	ns	ns
IC	0,91 ± 0,01	0,93 ± 0,06	0,96 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,91 ± 0,02	0,95 ± 0,05	ns	ns	ns
EA	1,10 ± 0,01	1,07 ± 0,07	1,04 ± 0,01	1,05 ± 0,01	1,09 ± 0,02	1,06 ± 0,05	ns	ns	ns
TS (%)	95 ± 4	98 ± 2	97 ± 3	97 ± 3	96 ± 4	98 ± 2	ns	ns	ns

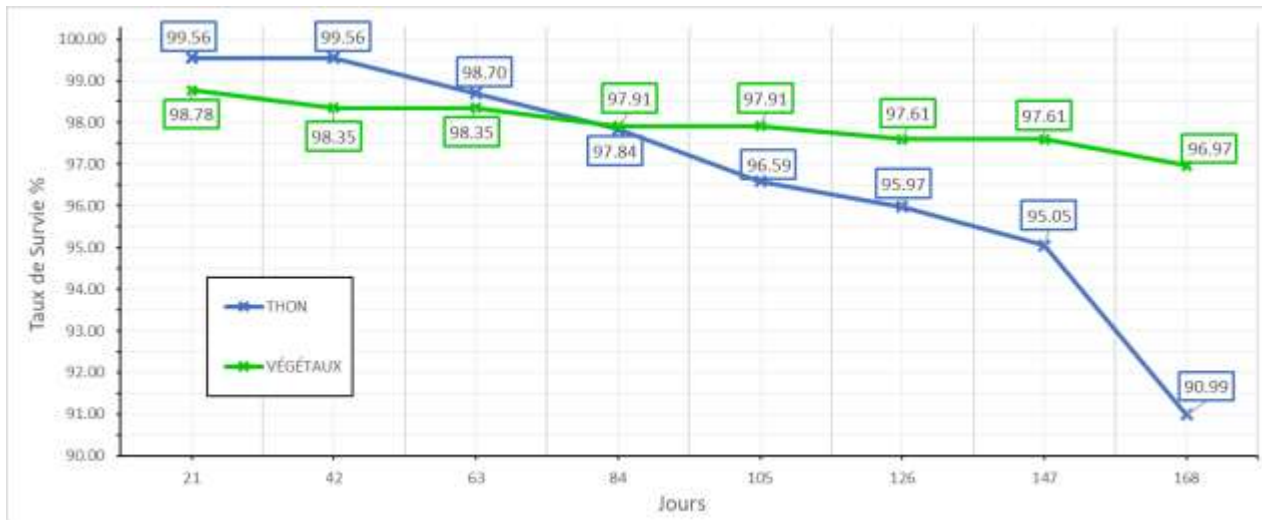
VC, VH, VI, VHI, VO et VHO les régimes alimentaires à base d'ingrédients végétaux supplémentés ou non en sélénium inorganique ou organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; pmi, poids moyen initial ; pmf, poids moyen final ; TCS, taux de croissance spécifique ; GPR, gain de poids relatif ; IC, indice de consommation ; EA, efficacité alimentaire et TS, taux de survie. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

Après 6 mois d'alimentation, aucune différence significative de performance de croissance liée à une supplémentation en mercure ou sélénium n'a été observée dans le groupe VÉGÉTAUX (Tableau 5c).

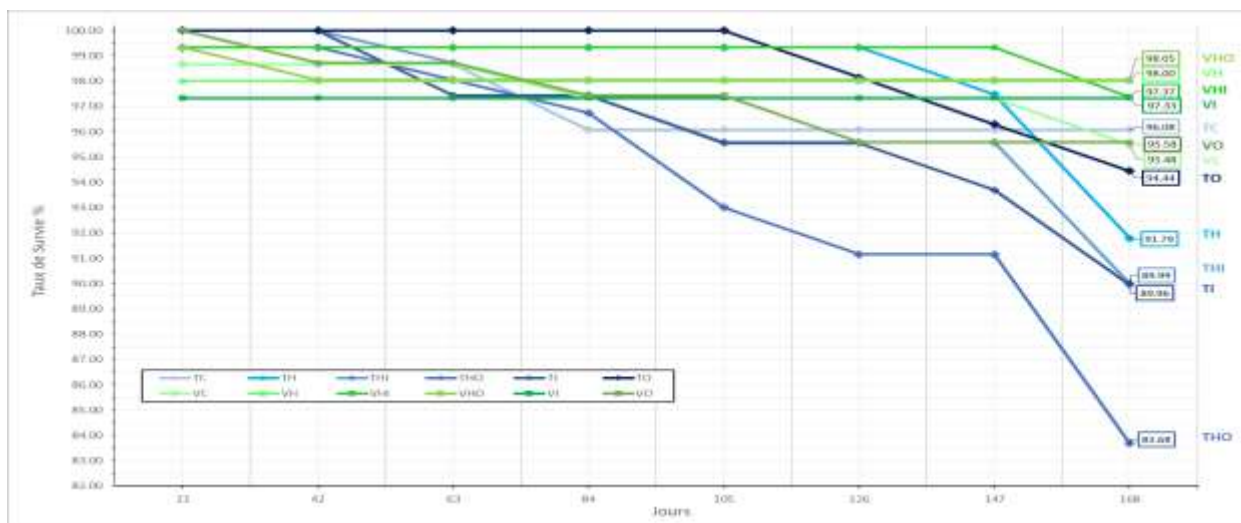
La courbe de survie (Figure 2) montre une baisse continue du taux de survie pour les truites nourries avec les régimes à base de coproduits de thon avec une diminution plus marquée au cours de la 3<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> période de J42 à J63 et de J84 à J105 et surtout lors de la dernière période de J147 à J168. Pour les truites alimentées avec les régimes à base d'ingrédients végétaux, une diminution de leur taux de survie a également été observée, mais de façon bien plus douce (avec un écart de seulement -1,8% entre le début et la fin de l'essai nutritionnel) avec plusieurs paliers de stagnation du taux de survie. Les statistiques montrent qu'en début d'expérience, à J42, le taux de survie des juvéniles nourries avec ces régimes VÉGÉTAUX était significativement inférieur à celui des juvéniles élevés avec des aliments à base de THON (ANOVA 1 voie, p<0,01). Le taux de survie des truites nourries avec les régimes THON est devenu significativement inférieur à celui des juvéniles nourries avec les régimes VEGETAUX à partir de J147 à cause en particulier de la forte chute de survie chez les truites nourries avec les régimes THON lors de la dernière période, de J147 à J168 (ANOVA 1 voie, p<0,05).



En se penchant plus précisément sur les différents régimes inclus dans les 2 groupes distincts (**Figure 3**), les taux de survie des truites juvéniles dans le groupe THON et VÉGÉTAUX n'ont pas présenté de différences significatives en fonction de la supplémentation en mercure ou en sélénium des régimes.



**Figure 2 :** Courbe de survie des truites juvéniles tout au long de l'essai nutritionnel selon les groupes de régimes à base de coproduits de thon (THON) ou de végétaux (VÉGÉTAUX).



Les courbes bleues correspondant aux régimes alimentaires à base de coproduits de thon supplémentés ou non en sélénium et mercure (TC, TH, TI, THI, TO et THO) ; et les courbes vertes correspondant aux régimes alimentaires à base de végétaux supplémentés ou non en sélénium et mercure (VC, VH, VI, VHI, VO et VHO).

**Figure 3 :** Courbe de survie des juvéniles tout au long de l'essai nutritionnel pour chaque régime expérimental.

### 3.2. Compositions corporelles et bilan de l'utilisation de l'aliment selon les différents régimes expérimentaux

Les compositions corporelles (Matière sèche, Protéines, Lipides, Energie, Cendres, Sélénium et Mercure) des juvéniles nourris avec les 2 groupes de régimes différents (THON et VÉGÉTAUX) sont présentés dans le **Tableau 6**. Chaque valeur présentée a été exprimée par rapport à sa teneur en poids frais respective afin de retrouver la quantité exacte de ces nutriments dans le poisson.

**Tableau 6** : Composition corporelles des juvéniles en début (J21) et fin (J168) de l'essai nutritionnel, selon les 2 groupes de régimes (THON et VÉGÉTAUX).

	Régime	MS (%)	Protéines (%)	Lipides (%)	Énergie (kJ/g)	Cendres (%)	Sélénium (µg/g)	Mercure (µg/g)
J21	THON	30,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	16,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	12,1 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1
	VÉGÉTAUX	31,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	15,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	13,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	9,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,3
		***	**	***	***	**	***	ns
J168	THON	33,4 ± 1,0 <sup>b</sup>	16,9 ± 0,3	14,8 ± 1,2 <sup>b</sup>	9,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,1 ± 0,2	1,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,4
	VÉGÉTAUX	35,6 ± 1,2 <sup>a</sup>	16,9 ± 0,2	17,0 ± 1,2 <sup>a</sup>	10,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,1	0,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	0,7 ± 0,7
		***	ns	***	***	ns	**	ns

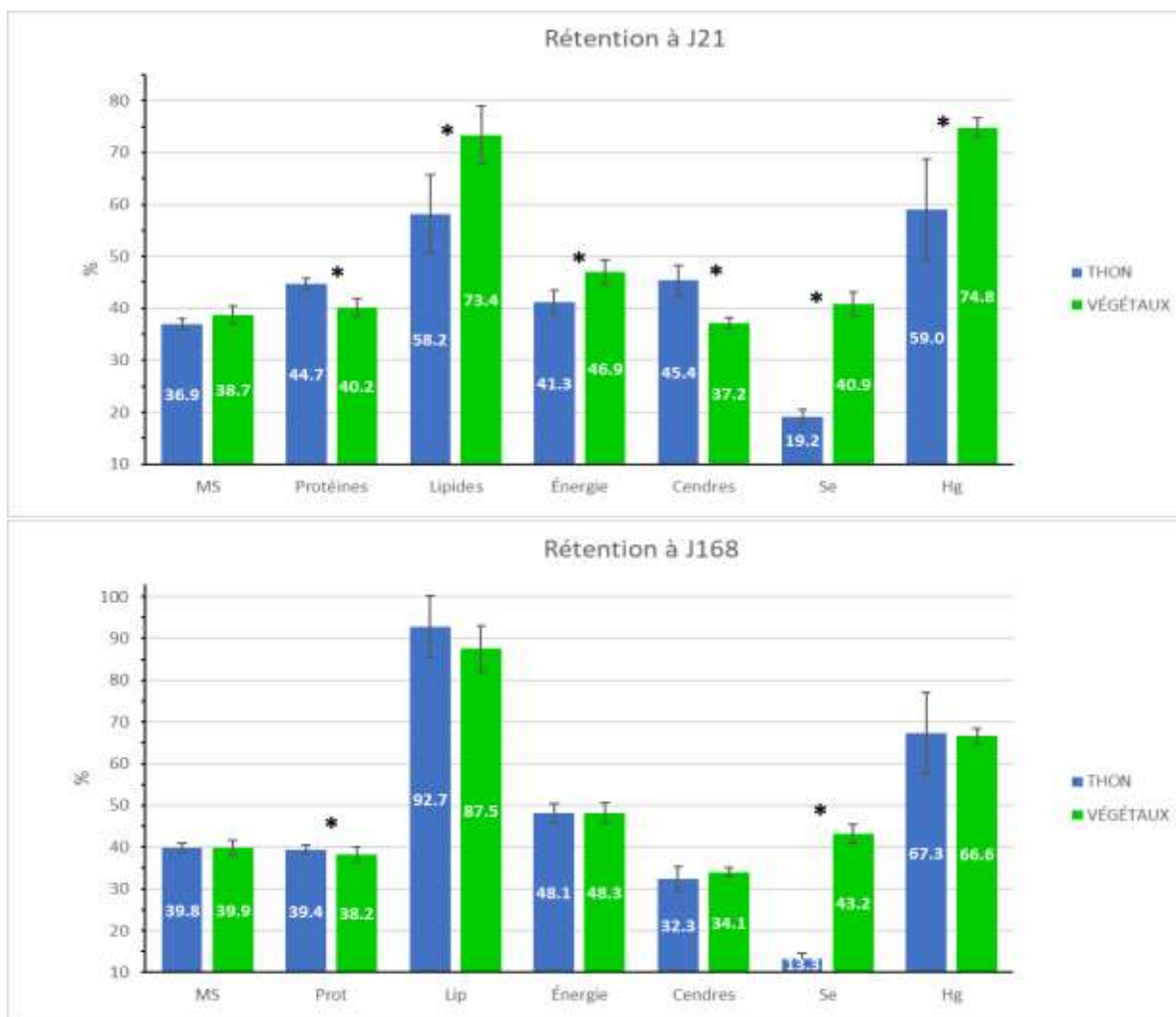
THON : moyenne des 6 régimes à base de coproduit de thon, VÉGÉTAUX : moyenne des 6 régimes à base de végétaux ; MS (%) : teneur en matière sèche (g/100 g de poids frais) ; Protéines (%) : teneur corporelle en protéines brutes (g/100 g de poids frais) ; Lipides (%) : teneur corporelle en lipides totaux (g/100 g de poids frais) ; Énergie (kJ/g) : teneur corporelle en énergie brute (kJ par gramme de poids frais) ; Cendres (%) : teneur corporelle en cendres brutes (g/100 g de poids frais) ; Sélénium (µg/g) : teneur corporelle en sélénium (µg par gramme de poids frais) ; Mercure (µg/g) : teneur corporelle en mercure (µg par gramme de poids frais). La composition corporelle est exprimée en pourcentage. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 1 voie.

L'analyse statistique a pu mettre en évidence des différences en début (J21) et en fin d'expérimentation (J168). A J21, les teneurs en matière sèche (%), lipides (%) et énergie (kJ/g) ont été significativement plus importantes dans le lot de poissons nourris avec des aliments à base de végétaux, alors que les teneurs en protéines (%), minéraux (cendres) et sélénium (µg/g) étaient plus élevées dans les poissons nourris avec des aliments à base de coproduit de thon. Lors de la première période, seule la quantité de mercure (µg/g) n'a montré aucune différence significative entre les lots, en relation avec la composition des aliments (présentée dans la partie Matériel et Méthode dans le **Tableau 1**). En effet, les aliments à base de végétaux étaient plus gras que ceux à base de thon, ainsi les poissons nourris avec les régimes du groupe VÉGÉTAUX ont ingéré plus de lipides et ont donc été plus gras que les poissons nourris avec les régimes du groupe THON qui ont ingéré plus de protéines et ont donc eu des teneurs en protéines plus élevées.

En fin de période (J168), l'analyse statistique montre toujours des différences de teneurs entre les 2 lots : les teneurs en matière sèche, lipides et énergie qui ont augmenté entre J21 et J168 étaient toujours en plus élevées chez les poissons nourris avec les régimes VÉGÉTAUX. La différence de teneur en protéines et en minéraux (cendres) n'a plus été retrouvée entre les régimes THON et VÉGÉTAUX après 168 jours. En revanche, la teneur en sélénium qui a augmenté entre J21 et J168, est restée plus élevée chez les poissons nourris avec des aliments à base de coproduits de thon. A la fin de l'essai nutritionnel, la teneur corporelle en mercure des poissons n'était toujours pas significativement différente selon les groupes THON ou VÉGÉTAUX.

Les valeurs d'ingestion (g), de gain (g) et de rétention des nutriments (%) ont été calculées pour la matière sèche, les protéines, les lipides, l'énergie, les cendres, le sélénium et le mercure. L'utilisation des nutriments contenus dans les aliments à base de thon et les aliments à base de végétaux sont présentés dans la **Figure 4**. La rétention des nutriments pour chacun des 6 régimes de chaque groupe (THON et VÉGÉTAUX) est présentée dans le **Tableau 7** (7a et 7b pour J21 ; 7c et 7d pour J168).





**Figure 4 :** Répartition des protéines, lipides, énergie, sélénium et mercure calculées à J21 et J168.

Concernant l'utilisation des nutriments selon les 2 groupes de régimes, après 21 jours d'essai, les analyses statistiques ont montré des différences significatives pour les rétentions de 6 éléments nutritifs sur les 7 étudiés : pour les lipides, l'énergie, le sélénium et le mercure, ce sont les poissons alimentés avec des aliments à base de végétaux qui renaient mieux ces nutriments. Les protéines et les minéraux (*cendres*) ont été mieux retenues chez les poissons nourris à base de coproduits de thon (**Figure 4**). La différence de rétention des protéines entre les truites élevées avec les régimes à base d'ingrédients végétaux par rapport aux truites élevées avec les régimes à base de coproduits de thon, peut s'expliquer par la nature carnivore de la truite qui digère mieux les protéines animales par rapport aux protéines végétales, en plus de la quantité différente de protéines apportées entre les régimes à base de coproduits de thon et ceux à base d'ingrédients végétaux. Donc les poissons alimentés avec les coproduits de thon ont eu un meilleur gain protéique que ceux nourris avec une base végétale. Après 3 semaines, la matière sèche est le seul paramètre qui ne présentait aucune différence significative entre ces 2 groupes.

En fin d'essai nutritionnel, la capacité de rétention des lipides a augmenté dans les 2 groupes de régimes et notamment de manière importante pour les truites nourries avec les régimes à base de coproduits de thon. Ainsi, la différence de rétention des lipides et de l'énergie n'a plus été significative entre les 2 groupes de régimes (ANOVA 1 voie,  $p > 0,05$ ). A l'inverse, la capacité de

rétenion du mercure a diminué entre J21 et J168 pour les truites du groupe VÉGÉTAUX et donc la différence de rétenion du mercure n'est plus significative entre les 2 groupes de régimes (ANOVA 1 voie,  $p > 0,05$ ). Seules les rétenions des protéines et du sélénium ont présenté une différence encore significative avec une meilleure rétenion protéique chez les truites du groupe THON, et une meilleure rétenion du sélénium chez les truites du groupe VÉGÉTAUX, comme observé dans la première période, alors que les protéines et le sélénium étaient présents en plus forte quantité dans les aliments à base de coproduits de thon.

**Tableau 7a** : Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe THON après 21 jours d'expérimentation.

21 jours	TC	TH	TI	THI	TO	THO	Hg	Se	Hg x Se
<b>Rétention</b>									
<i>matière sèche</i>	40 ± 4	39 ± 1	34 ± 9	38 ± 4	38 ± 3	33 ± 2	ns	ns	ns
<i>protéines</i>	47 ± 4	44 ± 1	42 ± 2	47 ± 2	44 ± 1	45 ± 6	ns	ns	ns
<i>lipides</i>	69 ± 8	65 ± 8	55 ± 28	58 ± 12	62 ± 17	40 ± 12	ns	ns	ns
<i>énergie</i>	45 ± 4	41 ± 7	42 ± 10	41 ± 6	44 ± 6	35 ± 3	ns	ns	ns
<i>cendres</i>	48 ± 7	59 ± 24	40 ± 5	38 ± 12	47 ± 4	39 ± 5	ns	ns	ns
<i>Se</i>	17 ± 1	16 ± 2	18 ± 1	16 ± 1	25 ± 3	22 ± 2	*	***	ns
<i>Hg</i>	55 ± 5 <sup>b</sup>	57 ± 2 <sup>b</sup>	75 ± 3 <sup>a</sup>	40 ± 4 <sup>c</sup>	66 ± 13 <sup>ab</sup>	60 ± 5 <sup>b</sup>	***	ns	***

TC, TH, TI, THI, TO et THO les régimes alimentaires à base de coproduits de thon supplémentés ou non en sélénium inorganique ou organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; Se, sélénium ; Hg, mercure. La rétenion est exprimée en pourcentage du poids frais. Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle *ns* (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

Après les 3 premières semaines d'essai nutritionnel, pour les régimes à base de coproduits de thon (**Tableau 7a**), les analyses statistiques ont pu mettre en évidence un effet significatif du mercure et du sélénium sur la rétenion du sélénium. Le Se était ainsi mieux retenu en absence de supplémentation de son antagoniste Hg (rétenion de 18 ± 3% vs. 20 ± 4%, ANOVA 2 voies,  $p < 0,05$ ). De même, une rétenion du Se plus élevée a été notée dans le groupe supplémentation en Se organique (rétenion de 23 ± 3%) que dans les groupes supplémentés en Se inorganique (rétenion de 17 ± 2%) ou non supplémentés en Se (rétenion de 17 ± 1%). Cette différence s'explique par un gain en Se plus élevé chez les poissons nourris avec les régimes supplémentés en Se organique, permettant ainsi de démontrer que la sélénométhionine est plus biodisponible pour les truites que le sélénium inorganique apporté sous forme de sélénite de sodium.

Les analyses statistiques ont également mis en évidence un effet de la supplémentation en mercure sur sa rétenion, avec un effet négatif de la supplémentation en mercure sur la rétenion de cet élément (ANOVA 2 voies,  $p < 0,001$ ). Cet effet négatif de la supplémentation en mercure sur sa propre rétenion est visible uniquement lorsque les aliments sont supplémentés en sélénium inorganique (TI vs. THI). En revanche, une meilleure rétenion en mercure est observée lorsque les aliments sont supplémentés uniquement en sélénium inorganique (régime TI) par rapport aux 5 autres régimes.

**Tableau 7b** : Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe THON après 168 jours d'expérimentation.

6 mois	TC	TH	TI	THI	TO	THO	Hg	Se	Hg x Se
<b>Rétention</b>									
<i>matière sèche</i>	41 ± 2	39 ± 0	39 ± 1	39 ± 0	40 ± 1	40 ± 2	ns	ns	ns
<i>protéines</i>	40 ± 1	38 ± 1	38 ± 2	39 ± 1	41 ± 1	41 ± 0	ns	*	ns
<i>lipides</i>	97 ± 13	86 ± 0	94 ± 11	95 ± 3	93 ± 9	90 ± 9	ns	ns	ns
<i>énergie</i>	49 ± 4	46 ± 1	48 ± 2	48 ± 1	49 ± 3	49 ± 3	ns	ns	ns
<i>cendres</i>	34 ± 4	42 ± 3	30 ± 2	30 ± 3	29 ± 4	29 ± 1	ns	***	ns
<i>Se</i>	10 ± 0	11 ± 1	11 ± 1	12 ± 2	17 ± 2	19 ± 2	ns	***	ns
<i>Hg</i>	59 ± 5	58 ± 5	97 ± 36	55 ± 1	80 ± 3	54 ± 8	**	ns	ns

TC, TH, TI, THI, TO et THO les régimes alimentaires à base de coproduits de thon supplémentés ou non en sélénium inorganique et organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; Se, sélénium ; Hg, mercure. La rétention est exprimée en pourcentage. Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\* p<0,05 ; \*\* p<0,01 ; \*\*\* p<0,001) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

En fin d'essai nutritionnel (J168), les régimes du groupe THON (**Tableau 7b**) ont présenté une rétention des protéines impactée par la supplémentation en Se, avec une meilleure rétention protéique dans le groupe supplémenté en Se organique (rétention protéique = 41 ± 1%) que dans le groupe supplémenté en Se inorganique (rétention protéique = 39 ± 2%), le groupe non supplémenté en Se étant intermédiaire (39 ± 1%).

La supplémentation en sélénium dans l'aliment a également impacté la rétention des minéraux (*cendres*) avec une meilleure rétention dans le groupe non supplémenté en Se (rétention en cendres brutes = 38 ± 1%) que dans les 2 autres groupes supplémentés en Se inorganique et organique (rétention en cendres brutes = 30 ± 2% et 29 ± 3%).

Comme à J21, à J168, la rétention en Se a également été influencée par la supplémentation de l'aliment en Se avec une meilleure rétention en Se dans le groupe nourri avec du sélénium organique (rétention en Se = 18 ± 2%) que dans le groupe non supplémenté (rétention en Se = 10 ± 1%) ou supplémenté avec du sélénium inorganique (rétention en Se = 12 ± 1%).

La supplémentation en mercure a impacté de façon négative la rétention en Hg avec une rétention en mercure réduite (rétention en Hg = 56 ± 5%) dans les groupes supplémentés en mercure par rapport aux groupes non supplémentés en Hg (rétention en Hg = 79 ± 25%).

**Tableau 7c** : Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe VÉGÉTAUX après 21 jours d'expérimentation.

21 Jours	VC	VH	VI	VHI	VO	VHO	Hg	Se	Hg x Se
<b>Rétention</b>									
<i>matière sèche</i>	41 ± 2	37 ± 4	36 ± 3	38 ± 3	41 ± 5	39 ± 4	ns	ns	ns
<i>protéines</i>	40 ± 1	41 ± 4	38 ± 3	40 ± 1	42 ± 4	41 ± 1	ns	ns	ns
<i>lipides</i>	81 ± 13	65 ± 18	74 ± 3	67 ± 9	79 ± 19	74 ± 14	ns	ns	ns
<i>énergie</i>	50 ± 4	44 ± 5	46 ± 3	44 ± 3	50 ± 9	48 ± 8	ns	ns	ns
<i>cendres</i>	39 ± 10	31 ± 8	35 ± 7	46 ± 18	43 ± 6	30 ± 8	ns	ns	ns
<i>Se</i>	14 ± 12	24 ± 14	33 ± 1	38 ± 11	66 ± 16	67 ± 6	ns	***	ns
<i>Hg</i>	/	74 ± 10	/	74 ± 3	/	76 ± 3	/	/	/

VC, VH, VI, VHI, VO et VHO les régimes alimentaires à base de végétaux supplémentés ou non en sélénium inorganique ou organique (régimes I ou O) et mercure organique (régimes H) ; Se, sélénium ; Hg, mercure. La rétention est exprimée en pourcentage. Les données

sont représentées par la moyenne  $\pm$  erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

Après les 3 premières semaines d'essai nutritionnel, pour les régimes à base d'ingrédients végétaux (**Tableau 7c**), seule la rétention du sélénium a été impactée selon sa forme d'apport dans l'aliment avec le Se organique qui était retenu de manière plus importante (rétention en Se =  $23 \pm 3\%$ ) que le Se inorganique ( $17 \pm 2\%$ ) ou le Se présent en très faible quantité dans les ingrédients végétaux des aliments non supplémentés en Se ( $17 \pm 1\%$ ).

**Tableau 7d** : Bilan de l'utilisation des nutriments dans les 6 aliments expérimentaux du groupe VÉGÉTAUX après 168 jours d'expérimentation.

6 mois	VC	VH	VI	VHI	VO	VHO	Hg	Se	Hg x Se
<b>Rétention</b>									
matière sèche	$38 \pm 4$	$39 \pm 2$	$41 \pm 0$	$39 \pm 1$	$41 \pm 2$	$41 \pm 2$	ns	ns	ns
protéines	$39 \pm 3$	$39 \pm 2$	$38 \pm 2$	$37 \pm 0$	$39 \pm 1$	$37 \pm 2$	ns	ns	ns
lipides	$78 \pm 8$	$85 \pm 4$	$93 \pm 4$	$84 \pm 5$	$90 \pm 8$	$94 \pm 4$	ns	*	ns
énergie	$45 \pm 4$	$48 \pm 3$	$51 \pm 1$	$47 \pm 1$	$50 \pm 3$	$49 \pm 2$	ns	ns	ns
cendres	$38 \pm 2^a$	$28 \pm 0^c$	$34 \pm 1^b$	$35 \pm 0^b$	$34 \pm 2^b$	$35 \pm 2^b$	***	ns	***
Se	$46 \pm 3$	$49 \pm 6$	$23 \pm 1$	$33 \pm 2$	$49 \pm 2$	$59 \pm 1$	***	***	ns
Hg	/	$59 \pm 3$	/	$69 \pm 2$	/	$72 \pm 1$	/	/	/

VC, VH, VI, VHI, VO et VHO les régimes alimentaires à base de végétaux supplémentés ou non en sélénium inorganique ou organique (régimes I ou O) et mercure organique (régime H); Se, sélénium; Hg, mercure. La rétention est exprimée en pourcent %. Les données sont représentées par la moyenne  $\pm$  erreur standard SD. Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies.

En fin d'essai nutritionnel (J168), la rétention des lipides a été affectée significativement par la supplémentation en sélénium des aliments VÉGÉTAUX (**Tableau 7d**) avec une meilleure rétention en lipides dans le groupe supplémenté en Se organique (rétention lipidique =  $92 \pm 6\%$ ) que dans le groupe non supplémenté en Se (rétention lipidique =  $82 \pm 7\%$ ), le groupe supplémenté en Se inorganique présentant une rétention lipidique intermédiaire (rétention lipidique =  $89 \pm 7\%$ ).

La rétention des minéraux (cendres) a été significativement plus élevée dans les groupes VÉGÉTAUX non supplémentés en mercure (rétention en cendres brutes =  $36 \pm 2\%$ ) que dans les groupes supplémentés en mercure (rétention en cendres brutes =  $33 \pm 3\%$ ). Cet effet du mercure sur la rétention corporelle des minéraux (cendres) est particulièrement visible dans les régimes non supplémentés en Se (régime contrôle VC par rapport au régime VH supplémenté en mercure seul). En effet, la supplémentation en sélénium de l'aliment dans les régimes non supplémentés en Hg (régimes VI et VO vs. VC) diminue la rétention des minéraux (cendres) alors que la supplémentation en Se dans les régimes supplémentés en Hg (régimes VHI et VHO vs. VH) améliore la rétention en minéraux (cendres).

Concernant la rétention de l'élément sélénium, les analyses statistiques ont pu mettre en évidence un impact de la supplémentation en Hg qui favorisait la rétention du Se (rétention en Se =  $39 \pm 13\%$  vs.  $47 \pm 12\%$ ), mais également un impact du Se sur sa propre rétention, avec une rétention en Se plus élevée dans le groupe supplémenté avec du sélénium organique (rétention en Se =  $54 \pm 5\%$ ) que dans le groupe contrôle non supplémenté en Se (rétention en Se =  $48 \pm 4\%$ ) qui avait une lui-même une rétention en Se supérieure à celle observée dans le groupe supplémenté en sélénium inorganique (rétention en Se =  $28 \pm 6\%$ ).

En conclusion, les résultats pour les régimes du groupe THON et ceux du groupe VÉGÉTAUX, que ce soit pour la période J21 ou J168, mettent en évidence une meilleure rétention

du Se lorsque celui-ci est apporté dans l'aliment sous sa forme organique par rapport à une supplémentation sous sa forme inorganique. Concernant uniquement le groupe THON, les résultats obtenus au cours des 2 périodes ont mis en évidence une rétention du Hg plus faible pour les régimes supplémentés en mercure (TH, THI et THO) que pour les régimes non supplémentés (TC, TI et TO), ce qui suggère que le mercure contenu dans les coproduits de thon est mieux retenu que le chlorure de méthylmercure apporté dans l'aliment.

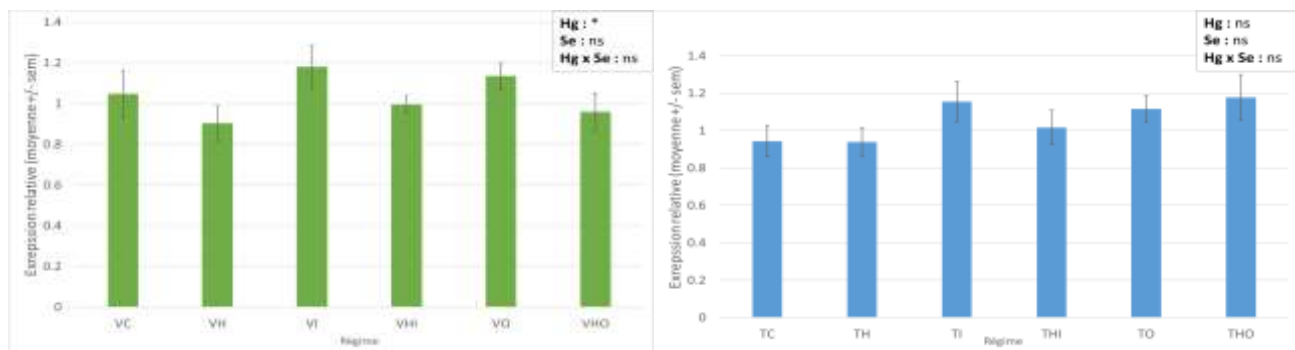
### 3.3. Effet de la supplémentation alimentaire en sélénium et mercure sur le niveau de transcrits des gènes cibles dans le cerveau et le foie des truites arc-en-ciel juvéniles exposées pendant 21 jours aux régime expérimentaux

Pour l'analyse des données moléculaires sur le foie, il n'a pas été possible de trouver un transcrit qui soit stable entre les deux groupes THON et VÉGÉTAUX et qui puisse donc être utilisé comme gène de référence pour normaliser les résultats. De ce fait, les niveaux d'expression pour les gènes du groupe THON et ceux du groupe VÉGÉTAUX n'ont pas pu être comparés et seules les comparaisons entre régimes d'un même groupe THON ou VÉGÉTAUX seront présentées ci-dessous sur une sélection de gènes.

Pour étudier l'effet de la supplémentation en Se et en Hg de l'aliment, ce sont les niveaux d'ARN messagers impliqués dans l'inflammation (*il-1 $\beta$* , *tnfa*), le stress et les fonctions antioxydantes (*hsp70*, *gst $\pi$* , *sod1*, *cat*), exercées par certaines sélénoprotéines (*gpx1a*, *selpa1*, *msrb3*) qui ont été mesurés dans le cerveau ou dans le foie des truites juvéniles après 3 semaines d'essai nutritionnel. Un biomarqueur neuronal (*rbfox3*) a également été évalué dans le cerveau. Les résultats des niveaux d'expression des 10 gènes sélectionnés sont présentés dans les **Figures 5 à 15**.

#### 3.3.1. Niveau d'expression du gène codant pour le marqueur neuronal RBFOX3 dans le cerveau

Dans le cerveau, les niveaux de transcrits de *rbfox3* (**Figure 5**), un marqueur neuronal, ont été impactés par la supplémentation en Hg chez les poissons nourris avec les régimes VÉGÉTAUX avec une baisse du niveau d'expression dans le cerveau des truites supplémentées en Hg (expression relative =  $1,1 \pm 0,1$  vs.  $1,0 \pm 0,0$ ). Cet effet de la supplémentation alimentaire en Hg n'a pas été observé dans le groupe THON.



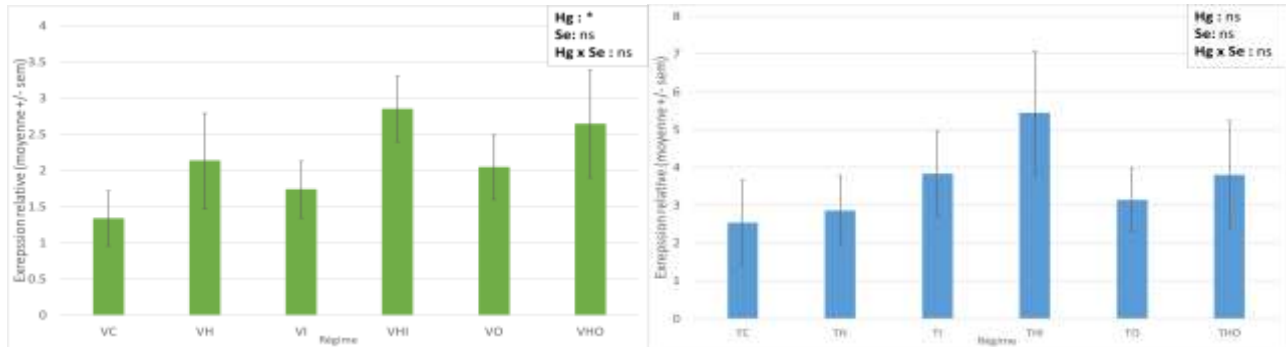
Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 5** : Niveau de transcrit de l'ARNm RBFOX3 dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).



### 3.3.2. Niveau d'expression des gènes impliqués dans l'inflammation du cerveau

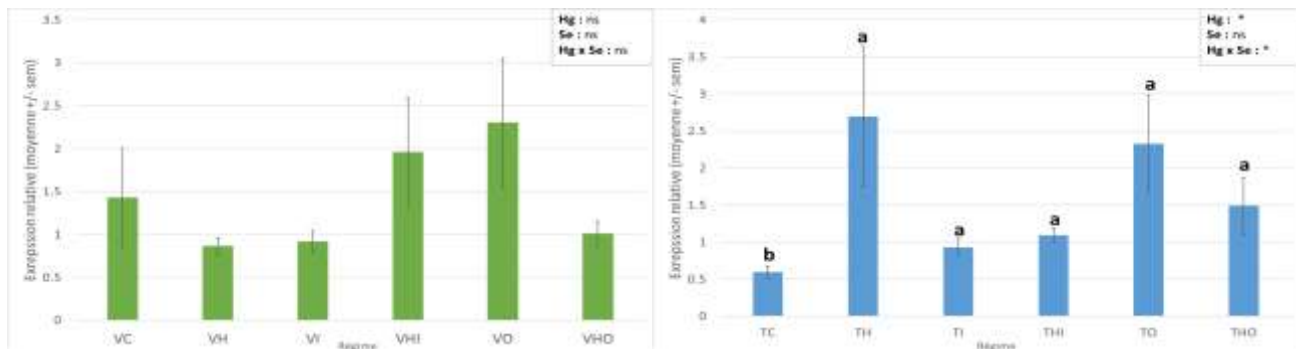
De même que pour *rbfox3*, l'expression de la cytokine pro-inflammatoire *il-1β* (**Figure 6**), a été impactée significativement dans le groupe de poisson nourris avec les régimes à base d'ingrédients végétaux. En effet, une teneur en transcrits *il-1β* plus élevée a été notée dans le cerveau des truites supplémentées en Hg par rapport à celles non supplémentées en Hg (expression relative =  $2,5 \pm 0,5$  vs.  $1,7 \pm 0,1$ ). En revanche, aucune différence significative d'expression cérébrale d'*il-1β* n'a été notée entre les régimes à base de coproduits de thon.



Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 6 :** Niveau de transcrit de l'ARNm IL-1β dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

L'expression de *tnfa* (**Figure 7**), une autre cytokine pro-inflammatoire, a elle aussi été induite de manière significative dans le cerveau des truites par la supplémentation en mercure dans les régimes à base de coproduits de thon (expression relative  $1,9 \pm 0,2$  vs.  $1,5 \pm 0,2$ ) mais pas dans le cerveau des truites du groupe VÉGÉTAUX.

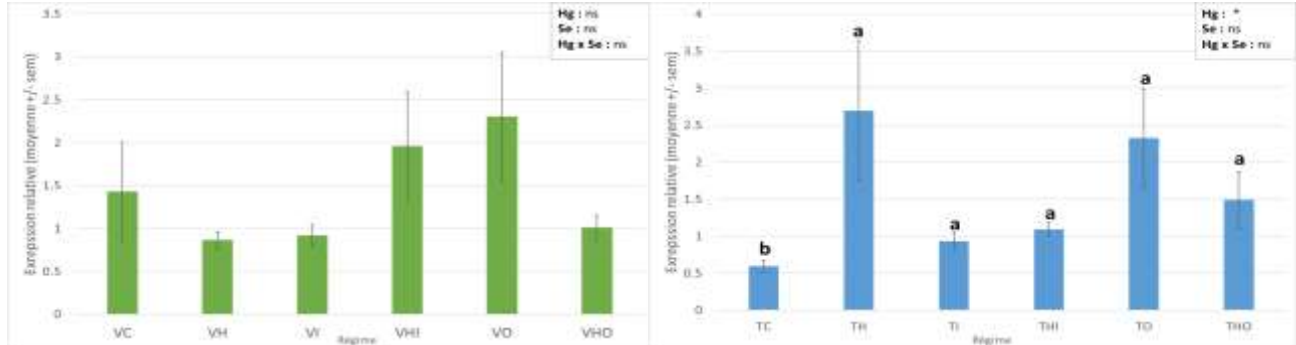


Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 7 :** Niveau de transcrit de l'ARNm TNFα dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

### 3.3.3. Niveau de transcription des gènes impliqués dans le stress et les défenses antioxydantes du cerveau

La supplémentation alimentaire en Hg a induit *hsp70* dans le cerveau des poissons issus du groupe THON (expression relative =  $1,3 \pm 0,2$  vs.  $1,8 \pm 0,3$ ) alors qu'aucun effet significatif n'a été observé dans le groupe VÉGÉTAUX (**Figure 8**).

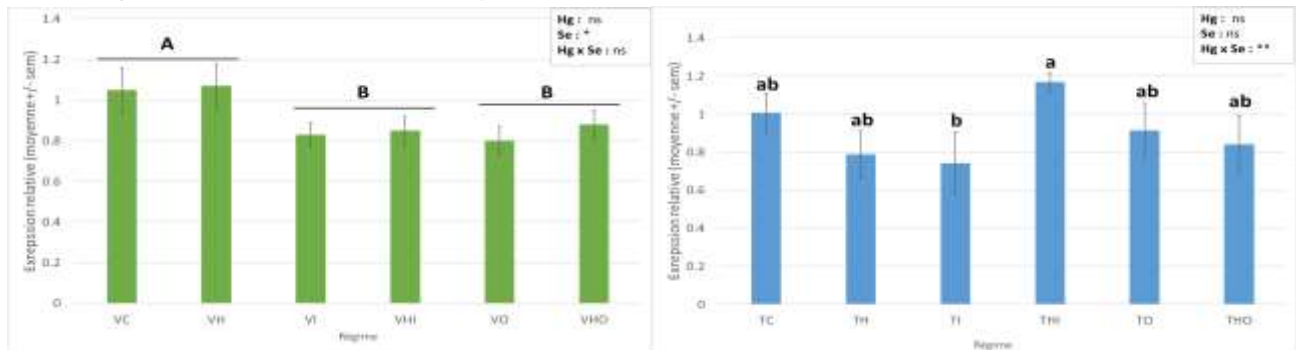


Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 8** : Niveau de transcrite de l'ARNm HSP70 dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

Un effet de l'interaction entre le Hg et le Se a été observé sur le niveau de transcrits de *sod1* des poissons nourris avec des régimes à base de coproduits de thon (**Figure 9**) avec une induction par la supplémentation en Hg mais seulement chez les poissons supplémentés en Se inorganique (régimes TI et THI, expression relative =  $0,7 \pm 0,1$  vs.  $1,2 \pm 0,1$ ).

Un effet de la supplémentation en Se a également été retrouvé pour *sod1*, mais cette fois-ci dans le groupe VÉGÉTAUX avec une expression supérieure dans les groupes non supplémentés en Se (régimes VC et VH, expression relative =  $1,1 \pm 0,1$ ) par rapport aux groupes supplémentés en Se organique (régimes VI et VHI, expression relative =  $0,8 \pm 0,0$ ) ou inorganique (régimes VO et VHO, expression relative =  $0,8 \pm 0,0$ ).

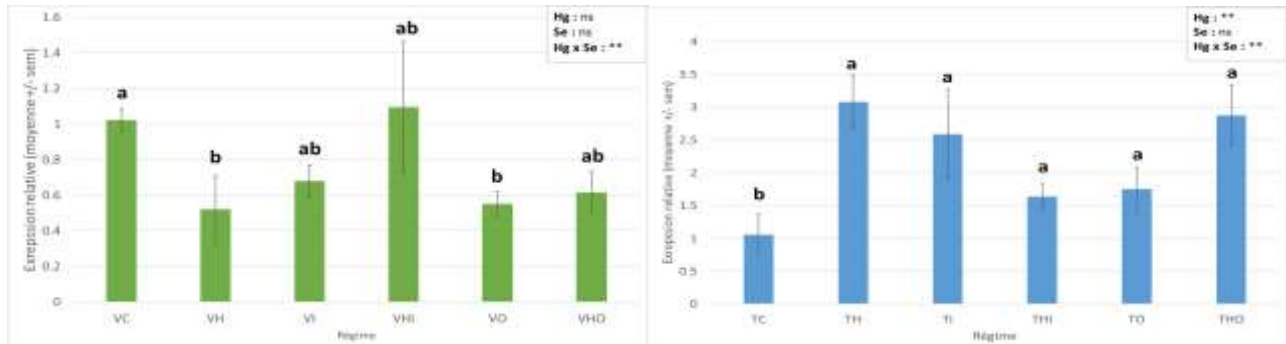


Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 9** : Niveau de transcrite de l'ARNm SOD1 dans le cerveau de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

### 3.3.4. Niveau d'expression des gènes impliqués dans le stress et les défenses antioxydantes du foie

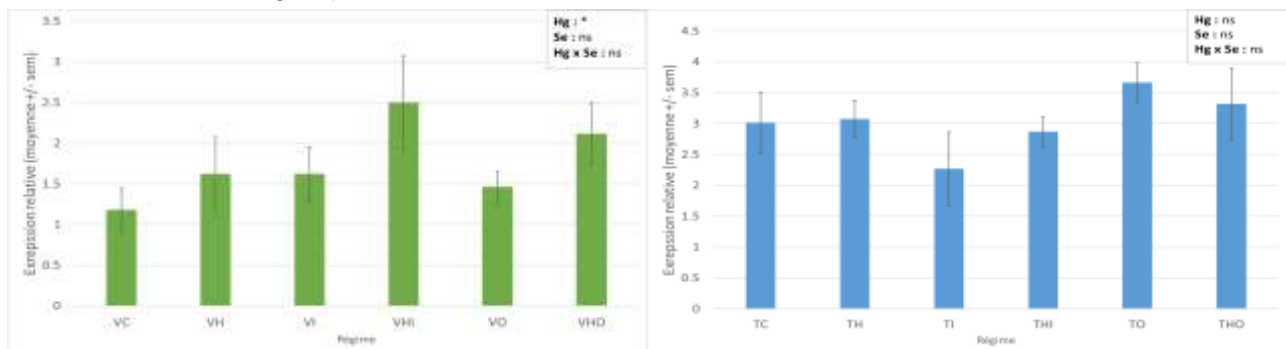
L'effet de la supplémentation en Hg sur l'expression du gène *hsp70* a également été retrouvé au niveau du foie des truites du groupe THON (**Figure 10**) avec une induction d'*hsp70* dans le foie des truites supplémentés en Hg (expression relative =  $2,5 \pm 0,2$  vs.  $1,8 \pm 0,3$ ) comme cela a été observé pour le cerveau. Dans le groupe VÉGÉTAUX, une interaction Hg x Se significative a permis de mettre en évidence cet effet de la supplémentation en Hg uniquement dans le foie des groupes non supplémentés en Se (régimes VC et VH) mais avec un effet inverse, c'est-à-dire une réduction du niveau de transcrits d'*hsp70* chez les truites supplémentées en Hg (expression relative =  $1,0 \pm 0,1$  vs.  $0,5 \pm 0,2$ ).



Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 10 :** Niveau de transcrit de l'ARNm HSP70 dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

Dans le groupe VÉGÉTAUX, l'apport de Hg a néanmoins augmenté les niveaux de transcrits de *gstπ* (**Figure 11**) codant pour l'enzyme glutathion S-transférase  $\pi$  dans le foie des truites (expression relative =  $1,4 \pm 0,2$  vs.  $2,1 \pm 0,3$ ). Cet effet sur le niveau de transcrits de *gstπ* n'a pas été observé dans le groupe THON.



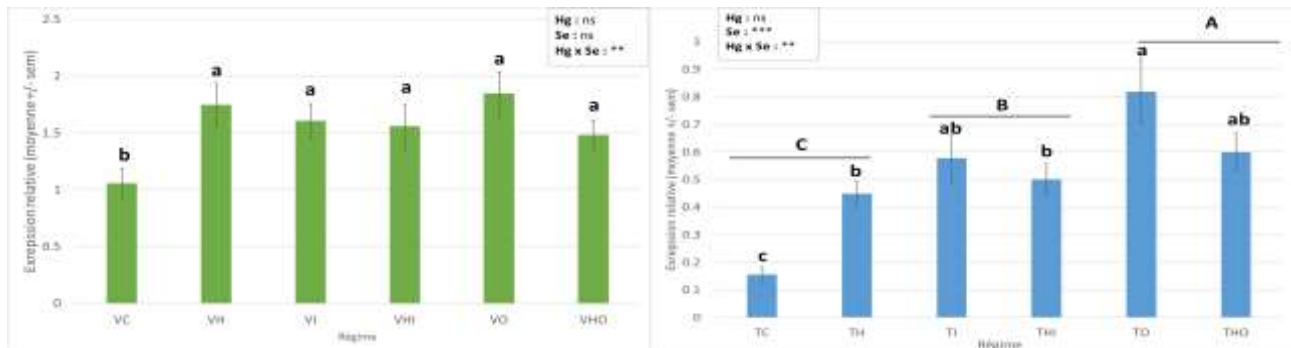
Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 11 :** Niveau de transcrit de l'ARNm GST $\pi$  dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

Un effet de l'interaction entre le Hg et le Se a été observé sur le niveau de transcrits de *cat* chez les poissons nourris avec des régimes à base d'ingrédients végétaux et de coproduits de thon (**Figure 12**) avec une induction de *cat* par la supplémentation en Hg mais seulement chez les poissons non supplémentés en Se (régimes VC et VH, expression relative =  $1,1 \pm 0,1$  vs.  $1,7 \pm 0,2$  et régimes TC et TH, expression relative =  $0,2 \pm 0,0$  vs.  $0,4 \pm 0,0$ ).



Un effet de la supplémentation alimentaire en Se sur le niveau de transcrits hépatiques *cat* a également été observé pour les poissons du groupe THON (**Figure 12**). Une expression de *cat* plus élevée a été observée dans le foie des truites supplémentées en Se organique (régimes TO THO, expression relative =  $0,7 \pm 0,1$ ) par rapport à celles supplémentées en Se inorganique (régimes TI et THI, expression relative =  $0,5 \pm 0,0$ ) qui était elle-même plus élevée que celles des truites non supplémentées en Se (régimes TC et TH, expression relative =  $0,3 \pm 0,0$ ). Dans le groupe VÉGÉTAUX, cet effet du Se sur le niveau de transcrits de *cat* a été observé uniquement en l'absence de mercure dans les aliments avec une expression plus élevée dans les groupes supplémentés en Se organique (régime VO, expression relative =  $1,8 \pm 0,2$ ) et inorganique (régime VI, expression relative =  $1,6 \pm 0,2$ ) que dans le groupe contrôle non supplémenté (régime VC, expression relative =  $1,1 \pm 0,1$ ).

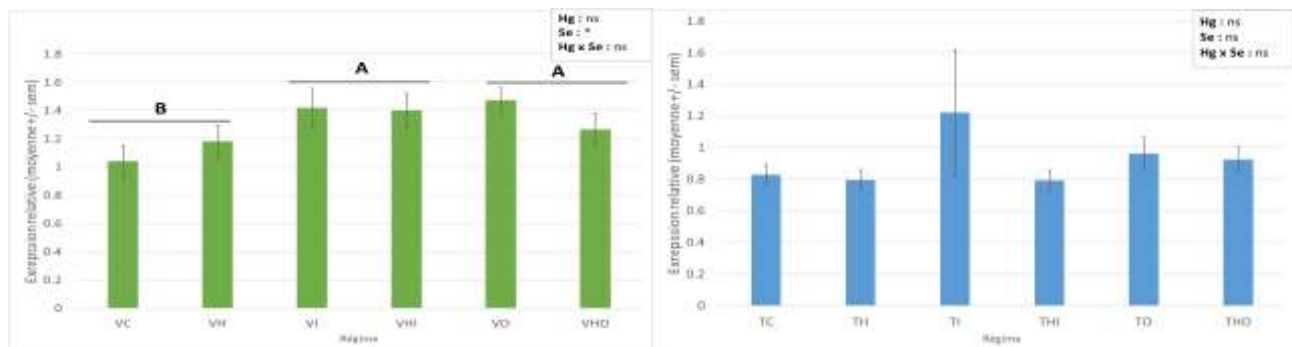


Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 12** : Niveau de transcrit de l'ARNm CAT dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

### 3.3.5. Niveau d'expression des gènes codant pour les sélénoprotéines dans le foie

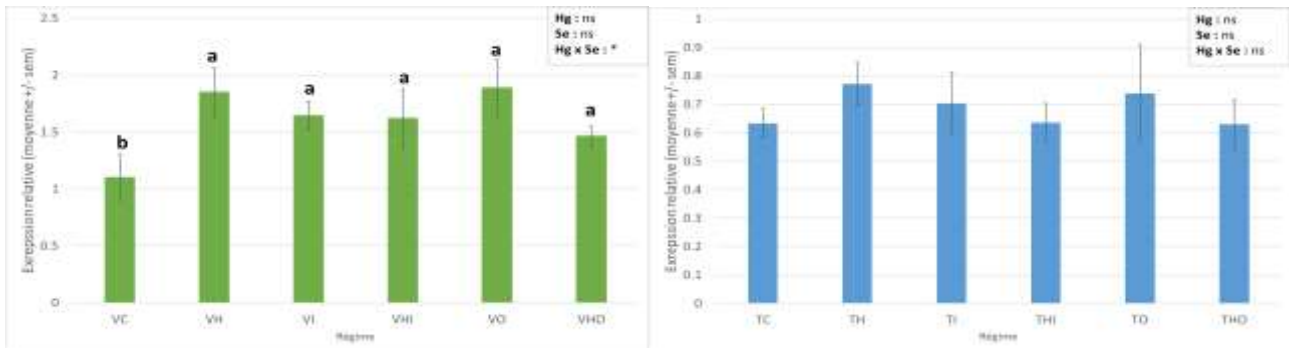
Un effet de la supplémentation en Se a également été noté pour le niveau de transcrits de la sélénoprotéine *gpx1a* dans le groupe VÉGÉTAUX (**Figure 13**), avec une expression plus élevée dans le foie des truites supplémentées en Se organique (régimes VO et VHO, expression relative =  $1,4 \pm 0,1$ ) ou inorganique (régimes VI et VHI, expression relative =  $1,4 \pm 0,1$ ) que dans le foie des truites non supplémentées en Se (régimes VC et VH, expression relative =  $1,1 \pm 0,1$ ).



Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle **ns** (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 13** : Niveau de transcrit de l'ARNm GPX1 dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu).

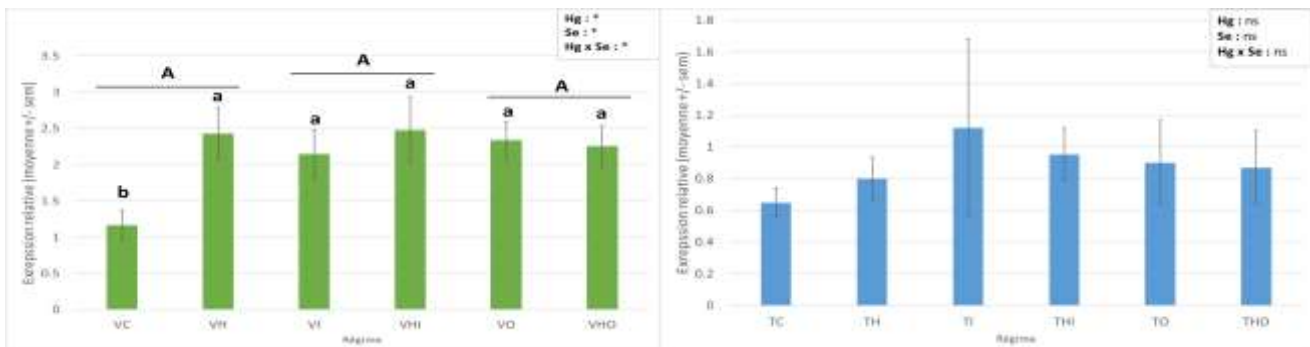
Un effet significatif de l'interaction entre le Hg et le Se a été observé sur le niveau de transcrits de la sélénoprotéine P *selpa1* chez les poissons du groupe VÉGÉTAUX (Figure 14). La supplémentation en Se organique ou inorganique a induit *selpa1* mais seulement chez les poissons non supplémentés en Hg (régimes VO et VI, expression relative =  $1,9 \pm 0,3$  et  $1,6 \pm 0,1$  vs.  $1,1 \pm 0,2$  pour le régime VC) et la supplémentation en Hg a induit *selpa1* mais seulement chez les poissons non supplémentés en Se (régimes VC et VH, expression relative =  $1,1 \pm 0,2$  vs.  $1,8 \pm 0,2$ ).



Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 14 :** Niveau de transcrit de l'ARNm *SelPa1* dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu) :

Un effet de la supplémentation en Hg et en Se sur l'expression de *msrb3* (Figure 15) a également été noté dans le groupe VÉGÉTAUX avec une induction de *msrb3* par la supplémentation en Hg (expression relative =  $1,9 \pm 0,2$  vs.  $2,4 \pm 0,2$ ). Le test post hoc n'a pas permis de distinguer les 3 groupes avec différentes supplémentations en Se mais l'interaction significative a mis en évidence une induction de *msrb3* par la supplémentation en Se organique ou inorganique dans les régimes non supplémentés en Hg (régimes VO et VI, expression relative =  $2,3 \pm 0,3$  et  $2,1 \pm 0,3$  vs.  $1,2 \pm 0,2$  pour le régime VC).



Les différences significatives statistiquement sont indiquées par des astérisques (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ) ou avec le sigle ns (non significatif) et ont été estimés par des tests ANOVA 2 voies (effet de la supplémentation en mercure : Hg, effet de la supplémentation en sélénium : Se et effet de l'interaction entre mercure et sélénium : Hg x Se).

**Figure 15 :** Niveau de transcrit de l'ARNm *MsrB3* dans le foie de truites juvéniles exposées pendant 21 jours aux différents régimes du groupe VÉGÉTAUX (vert) et du groupe THON (bleu) :

## 4. Discussion

### 4.1. La supplémentation alimentaire en sélénium : bénéfique ou néfaste pour l'élevage piscicole ?

Les captures minotières fournissant huiles et farines de poisson pour l'alimentation aquacole ont atteint leurs limites durables (Pike & Barlow, 2003). La nécessité de développer des aliments aquacoles alternatifs, à base de nouvelles matières premières, devient un enjeu de plus en plus important. La substitution avec des farines végétales a déjà été envisagée mais malheureusement cette alternative présente une carence importante en micronutriments dont le sélénium (Sissener et al. 2013). Le sélénium est un micronutriment essentiel et nécessaire à la croissance, au développement et aux défenses antioxydantes (Han et al., 2011). Cependant le sélénium peut être bénéfique comme il peut être néfaste dans certains cas. Une carence en sélénium peut entraîner une perte d'appétit, une diminution de la croissance, des dommages peroxydatifs cellulaires, une réduction des défenses immunitaires pouvant même entraîner la mort (Koller & Exon, 1986 ; Felton et al., 1996 ; Pedrero & Madrid, 2009). Alors qu'en quantité excessive, le sélénium peut devenir toxique engendrant une croissance réduite, des calcinoses, des lésions tissulaires et une mortalité accrue (Hilton & Hodson, 1983 ; Hamilton et al., 1990 ; Lemly, 2002). L'impact du sélénium sur le métabolisme du poisson dépend également de sa spéciation. Il a déjà été montré que la forme organique du sélénium, tel que la sélénométhionine, présente des bénéfices supérieurs à ceux apportés par les formes inorganiques (Mohsen et al., 2007 ; Fontagne-Dicharry et al., 2015). Dans leur étude, Wang et Lovell (1997) et Fontagné-Dicharry et al. (2020) ont montré que le sélénium organique présente une digestibilité et une biodisponibilité plus élevées que le sélénium inorganique. Cette différence s'explique par une meilleure absorption de sa forme organique ainsi qu'un transport intact de la forme organique du sélénium vers les tissus du corps entier. Cette facilité de diffusion rend la sélénométhionine attribuable à l'incorporation non spécifique dans les protéines (Rider et al., 2010). À contrario, le sélénite ne suivra que la voie normale du métabolisme du sélénium et se verra assimilé majoritairement dans le foie le rendant ainsi moins biodisponible pour les autres organes du poisson.

Les résultats obtenus dans cette étude soulignent bien ces conclusions avec une meilleure croissance lorsque le sélénium a été supplémenté sous sa forme organique que sous sa forme inorganique. Une meilleure rétention des protéines et des lipides a également été observée en présence de sélénium sous sa forme organique confirmant l'effet positif sur le développement des juvéniles. Sur toute la durée de l'essai nutritionnel et dans les 2 groupes de poissons (ceux nourris avec les régimes à base de coproduits de thon et ceux nourris avec les régimes à base de végétaux), le même bilan a été observé : le sélénium était mieux retenu sous forme organique que sa forme inorganique, confirmant les affirmations concernant la variation de la biodisponibilité du sélénium selon sa forme. Un impact négatif pouvant découler d'un excès trop important de sélénium (supplémentation en sélénium inorganique seul dans les régimes à base de co-produits de thon) a pu être observé au bout de 6 mois d'alimentation des truites juvéniles, il faut donc retenir qu'un surplus de sélénium dans l'alimentation des poissons peut engendrer une toxicité chronique.

Les sélénoprotéines sont impliquées dans diverses fonctions physiologiques telles que les défenses antioxydantes, la réduction de l'inflammation, la synthèse d'ADN, la fertilité et la reproduction (Rayman, 2000). Les glutathion peroxydases (GPX), les méthionine sulfoxyde réductases (MSR) et les sélénoprotéines P (SeIP) jouent un rôle essentiel contre les lésions oxydatives cellulaires et la protection face un stress oxydatif. Ayant comme composant le sélénium, une carence dans l'alimentation de cet oligo-élément peut influencer l'activité des sélénoprotéines, voire induire des changements dans les niveaux d'expression de leurs gènes (Hesketh, 2008). De ce fait, si l'apport en sélénium est trop faible, la fonction de ces sélénoprotéines sera impactée entraînant une altération du métabolisme. Les expressions de GPX1a, SeIPa et MsrB3 SeIP se sont

avérées être de bons marqueurs du statut de sélénium chez les poissons, avec une réduction de leur expression en cas de carence en sélénium (Oien & Moskovitz, 2009 ; Fontagné-Dicharry et al., 2015).

Les résultats sur le niveau d'expression des sélénoprotéines sont en corrélation avec la bibliographie : dans cette étude, pour le cas des régimes végétaux, la teneur en ARNm hépatiques codant les 3 sélénoprotéines étudiées s'est vue augmenter de manière significative suite à une supplémentation en sélénium (organique en particulier) en comparaison au régime contrôle (régime non supplémenté donc carencé en sélénium). Par conséquent, les sélénoprotéines peuvent être un bon marqueur quant à la teneur en sélénium.

L'impact de la supplémentation en sélénium sur l'expression des gènes impliqués dans les défenses antioxydantes autres que les sélénoprotéines telles que *cat* et *sod1* pose question sur l'origine de cette stimulation, à savoir si elle est due à un effet pro-oxydant du sélénium ou pas. Des analyses complémentaires telles que la mesure du niveau d'oxydation cellulaire sont nécessaires pour pouvoir répondre à cette question sur le rôle bénéfique ou préjudiciable de la supplémentation en sélénium dans l'alimentation de la truite arc-en-ciel.

Ainsi, dans des régimes carencés en sélénium, il est nécessaire de supplémenter afin de répondre aux besoins alimentaires et maintenir un bon statut antioxydant des poissons. Mais il faut garder en tête que la supplémentation en sélénium est limitée en raison d'une fenêtre étroite entre les besoins et la toxicité et est donc à bien étudier en fonction de l'espèce et de ses besoins, de la teneur de base des ingrédients et de l'état d'oxydation de l'aliment avec la présence d'autres éléments pro-oxydants tels que le mercure.

#### **4.2. La teneur en mercure : quel impact observé chez les juvéniles ? Interaction avec le sélénium ?**

Le mercure et ses composés dérivés font partie de polluants répandus de l'environnement aquatique. Les poissons sont connus pour stocker facilement une grande quantité de ce contaminant. En trop grande quantité, chez le poisson, cet élément peut engendrer une cascade d'événements cellulaires pouvant créer des détériorations de la physiologie cellulaire normale, une altération du système immunitaire, une induction d'un stress oxydant pouvant même aller jusqu'à l'apoptose (Ceccatelli et al., 2010 ; Olsvik et al., 2014). De par ses propriétés pro-oxydantes, le mercure altère le système antioxydant, notamment en engendrant une distorsion dans les activités de la glutathion peroxydase (GPx), des modifications de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et de la glutathion S-transférase (GST). Ces altérations vont impacter de façon significative l'expression des gènes des enzymes antioxydantes *sod*, *cat*, *gst*, et *gpx* entraînant une oxydation des lipides et des protéines. Les activités SOD et CAT sont augmentées dans le foie, un des principaux organes détoxifiants (Jeferson et al., 2009). Le stress oxydatif induit par le mercure représente un événement critique qui provoque par la suite des effets neurotoxiques. Cet impact sur le système nerveux peut s'observer avec une régulation à la hausse des cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumoral alpha (TNF $\alpha$ ) et de l'interleukine 1-beta (IL-1 $\beta$ ) (Morcillo et al., 2017).

Dans cette étude, l'impact observé du mercure sur l'expression des différents gènes étudiés valide les informations vues dans la bibliographie. Une forte augmentation de la teneur en ARNm pour IL-1 $\beta$  et TNF $\alpha$  mettent en avant l'expression de facteurs pro-inflammatoires et la diminution de l'expression du gène *rbfox3*, biomarqueur de l'état fonctionnel des neurones, mettent bien en avant la neurotoxicité du mercure qui induit une réaction inflammatoire chez la truite arc-en-ciel. En parallèle, l'induction de la catalase, la superoxyde dismutase 1 et la glutathion S transférase  $\pi$  valide bien l'activation du système antioxydant pour lutter contre la toxicité du mercure. Les effets du mercure sur l'enzyme SOD sont visibles chez les juvéniles nourris avec des aliments à base de coproduits de thon, alors pour la GST $\pi$  les effets sont visibles chez les juvéniles nourris avec des

régimes végétaux. Le cas de l'augmentation d'expression de l'enzyme CAT est observé dans les 2 groupes, concluant bien sur le même résultat : la mise en place d'une défense face à un stress oxydatif induit par le mercure.

Il existe des interactions antagonistes entre le sélénium et le mercure liées à l'accumulation et à la détoxification de cet élément par le sélénium. L'effet bénéfique du sélénium contre cette toxicité implique une variété de processus biochimiques et toxicologiques (Wang et al., 2001). Un des processus se base sur les sélénoprotéines, qui ont des rôles importants dans la détoxification du mercure en affectant la redistribution et en induisant la formation d'un complexe inerte. Grâce à leur groupement séléniol hautement réactif, les sélénoprotéines peuvent lier le mercure et ainsi former un complexe inerte (Spiller, 2018). Aussi connues pour leur propriétés antioxydantes, les sélénoprotéines peuvent aussi jouer un rôle dans la protection contre la toxicité du mercure en contrant les effets pro-oxydant de ce dernier (García-Sevillano et al., 2015). L'ajout de sélénium, pour contrer la toxicité du mercure, va impacter à la hausse les activités de certaines protéines impliquées dans la défenses antioxydantes telle que SOD et GST (Štajn et al., 1997).

Les résultats de l'analyse de la teneur en transcrit ont pu mettre en avant l'existence d'interaction entre mercure et sélénium pour certains gènes étudiés. La sélénoprotéine P avait une expression à la hausse pour les poissons nourris avec des aliments à base de végétaux et supplémentés en mercure et en sélénium. Cette différence significative par rapport au régime non supplémenté met en avant une surexpression de cette protéine afin qu'elle puisse être utilisée dans la détoxification du mercure en liant cet élément sur son site actif, et en permettant le réapprovisionnement de cette sélénoprotéine pour son rôle de base dans le transport du sélénium dans l'organisme ainsi que dans les défenses antioxydantes. Des résultats similaires ont pu être observés avec la méthionine sulfoxyde réductase B3 et la glutathion peroxydase 1a qui ont vu leurs teneurs en ARNm augmentées avec un impact positif du mercure et du sélénium. L'expression à la hausse de ces sélénoprotéines montrent bien leur implication dans la détoxification. Pour les poissons nourris à base de coproduits de thon, une interaction mercure-sélénium a pu être observée sur l'expression des gènes codant les protéines de défense contre le stress oxydatif CAT et HSP70. Leur teneur en transcrit a été augmentée de façon significative par rapport au régime contrôle, validant bien la bibliographie concernant l'activation du système de défenses antioxydantes lors d'une intoxication au mercure.

La toxicité du mercure a également pu être observée sur les paramètres zootechniques, avec une croissance à court terme (3 semaines) plus faible des poissons nourris avec des aliments à base de végétaux lorsque ces derniers n'étaient supplémentés qu'en mercure seul. Cependant avec une supplémentation en sélénium en parallèle, cet impact sur la croissance n'était plus significatif, prouvant bien encore une fois la diminution de la toxicité du mercure en présence de sélénium.

La toxicité du mercure impacte grandement le bon développement des juvéniles selon divers mécanismes, biochimiques ou moléculaires. À long terme, le mercure est stocké en trop grande quantité dans le poisson entraînant une toxicité chronique (Handy & Penrice, 1993 ; Niimi & Kissoon, 1994). Le problème majeur se situe surtout dans la quantité de mercure qui va se retrouver dans les muscles qui peut être au-dessus du seuil légal pour la consommation humaine et donc aboutir à un produit qui ne pourra être commercialisé. Grâce à son profil détoxifiant, le sélénium peut être une bonne solution pour contrer les impacts du mercure : en limitant l'absorption et l'accumulation du mercure et en contrant son action toxique, le sélénium apparait comme un candidat idéal afin de réduire la toxicité du mercure. Cependant comme observé dans cette étude et validé par la bibliographie, le sélénium est également un élément présentant une toxicité importante s'il est fourni en excès dans l'alimentation du poisson. Ainsi la définition des besoins nutritionnels de la truite arc-en-ciel et la composition des différentes matières premières doivent être préalablement étudiées afin de formuler un aliment en adéquation avec les besoins du poisson et les contaminations potentielles au mercure.

### **4.3. Limites et perspectives de l'utilisation de coproduits de thon comme remplacement des huiles et farines de poisson en alimentation aquacole**

Les déchets générés par l'industrie de la conserve de thon, représentant jusqu'à 65 % du matériau d'origine, peuvent être utilisés comme sous-produits de poisson de grande valeur, car ils représentent une source précieuse de protéines et d'énergie de haute qualité (Hernández et al., 2014). Plusieurs études ont pu mettre en avant un potentiel élevé de l'utilisation des coproduits de thon comme source alternatives d'apport en nutriment essentiels dans les élevages aquacoles (Tekinay et al., 2009 ; Jeon et al., 2014 ; Kim et al., 2019). Malheureusement, avec son haut niveau trophique, le thon est connu pour accumuler de grandes quantités de métaux lourds, dont le mercure, dans ses organes et ses muscles. Ce contaminant est fortement absorbé et facilement transmis à d'autres espèces piscivores situées plus haut dans la chaîne trophique. Giblin et Massaro (1973) ont montré que le muscle semblait fonctionner comme un réservoir de mercure chez la truite arc-en-ciel par rapport à d'autres organes étudiés. Le règlement (CE) n° 629/2008 de la Commission Européenne (modifiant le règlement n° 1881/2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires) déclare que la teneur totale en mercure dans les parties comestibles des produits de la pêche ne doit pas dépasser 0,5 ppm de produit frais (soit 0,5 mg par kg de poids frais). Ainsi, le mercure impacte non seulement les écosystèmes aquatiques mais également les humains de par sa bioaccumulation dans la partie consommable des poissons (Ceccatelli et al., 2010).

Les résultats de cette étude ont pu mettre en avant des différences entre poissons élevés avec les régimes à base de coproduits de thon et ceux nourris avec les régimes à base de végétaux, permettant ainsi de proposer des hypothèses et des perspectives quant à la substitution des huiles et farines de poisson par cette matière première alternative. Le taux de survie a été significativement impacté par l'alimentation à base de coproduits de thon, avec une forte diminution tout au long de l'expérience par rapport au régime contrôle (régime à base de végétaux non supplémenté). Ces résultats peuvent supposer l'existence d'une toxicité des coproduits de thon pour la truite. La croissance a elle aussi été impactée à la baisse, avec une croissance significativement supérieure pour les poissons nourris à base de végétaux lors de la première période de l'expérience. Cette différence peut, peut-être, s'expliquer par une préférence des juvéniles pour les aliments à base de végétaux, qu'ils consommaient en plus grande quantité. Cependant une meilleure efficacité alimentaire été observée chez les poissons nourris avec les aliments à base de coproduits de thon.

Concernant la rétention des différents nutriments, les protéines ont été accumulées de manière plus efficace chez les juvéniles nourris à base de coproduits de thon, validant bien la bibliographie vue plus haut qui affirme que les coproduits de thon sont une source de protéines de haute qualité. La problématique du transfert de mercure a également été observée dans cette : les poissons nourris avec des aliments à base de coproduits de thon ont présenté une teneur corporelle en mercure en lien avec la quantité retrouvée dans l'aliment. Avec une teneur de 0,3 mg de mercure par kg d'aliment à base de coproduits de thon, la teneur de ce contaminant dans les juvéniles nourris avec cette alimentation était supérieure à celle des poissons nourris avec des aliments à base végétale. Les données chimiques de la répartition du mercure dans le corps des juvéniles après 21 jours d'expérimentation ont pu mettre en avant une distribution importante du mercure dans le muscle avec 0,1 mg de mercure par kg de muscle alors, qu'en moyenne sur le corps entier, la teneur de mercure était de 0,05 mg par kg. Ces résultats confirment l'étude de Giblin et Massaro (1973). La quantité de mercure retrouvée dans ces poissons a augmenté entre les 2 périodes, passant de 0,05 mg de mercure retrouvé par kg à 0,13 mg par kg de poisson entier. Ainsi avec l'échelle observée pour J21, l'hypothèse serait qu'en fin d'expérience les juvéniles nourris avec des aliments à base de coproduit de thon aient une teneur de 0,26 mg de mercure par kg dans le muscle. Cette hypothèse met en avant qu'une trop longue alimentation de la truite arc-en-ciel avec des coproduits de thon pourrait entraîner le dépassement du seuil légal de la teneur en mercure rendant les poissons impropres à la consommation humaine ((CE) n° 629/2008).

Une autre difficulté rencontrée lors de cette expérience est la forte teneur en sélénium observée dans les aliments à base de coproduits de thon. Avec une teneur de 8 mg de sélénium par kg d'aliment non supplémenté, cette quantité importante se situe au-dessus du seuil limite présenté par Berntssen et al. (2018) dans son étude sur la toxicité du sélénium inorganique, impliquant que cette alimentation peut induire une toxicité chronique à long terme suivant la forme du sélénium présent dans les coproduits de thon. L'étude de Ruelas-Inzunza et al. (2018) explique que la distribution du sélénium n'est pas homogène chez le thon et que les plus fortes teneurs de cet oligo-élément se situent dans le foie avec des teneurs à plus de 30 mg de sélénium par kg, dépassant totalement la valeur seuil limite. L'impact principal du sélénium dans le foie est l'altération du métabolisme de la truite arc-en-ciel, induisant la mise en place d'un stress oxydant qui peut engendrer une croissance limitée, une qualité de chair réduite et surtout une mortalité accrue sur le long terme (Hilton & Hodson, 1983 ; Koller & Exon, 1986). Ces données peuvent expliquer l'impact négatif du sélénium, observé tout au long de l'expérimentation sur les juvéniles nourris avec les aliments à base de coproduits de thon. Les résultats de cet essai pourraient être liés à la fabrication de la farine de coproduits de thon utilisée dans les régimes expérimentaux à partir de viscères et de foie de thon.

Ainsi, des perspectives quant à l'utilisation de coproduits de thon dans l'alimentation aquacole peuvent être envisagées, en imaginant une formulation d'aliment avec une base mixant coproduits de thon avec une autre source de protéines alternatives, dans l'idée d'améliorer l'appétence des aliments afin de trouver un équilibre entre la consommation et l'efficacité alimentaire. Cette hypothèse repose également sur la possibilité de réduire la toxicité qui découle de la teneur élevée en mercure et en sélénium : en mixant les coproduits de thon à une autre source protéique, les teneurs de ces éléments seront plus faibles diminuant ainsi les impacts négatifs observés dans ce projet. D'autres farines de coproduits de thon peuvent être envisagées, avec une formulation utilisant des parties du thon qui présentent moins de sélénium réduisant ainsi l'établissement d'une toxicité chronique à long terme.



## 5. Conclusion

L'objectif de ce stage était de mieux comprendre les interactions entre le mercure et le sélénium chez la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, dans le but d'évaluer la possibilité de substituer les farines et huiles de poissons issus de la pêche minotière dans les aliments aquacoles par des coproduits de thon.

Dans les conditions de l'étude, les résultats concernant les différents paramètres zootechniques et l'utilisation des différents nutriments ont montré que la forme organique du sélénium était plus avantageuse que sa forme inorganique et que les interactions du sélénium avec le mercure pouvaient permettre de diminuer la toxicité de ce contaminant. Les résultats moléculaires obtenus dans ce travail ont également montré qu'un apport en mercure et en sélénium pouvait induire une modification du métabolisme de la truite, avec un impact négatif du mercure qui a réduit la transcription de certains gènes responsables de la protection antioxydante, et un impact positif du sélénium qui a restauré certaines de ces défenses antioxydantes altérées.

De plus, la comparaison entre les résultats obtenus après une alimentation à base de coproduits de thon ou une alimentation à base de végétaux, a pu mettre en avant un meilleur apport protéique lorsque les poissons étaient nourris avec des protéines animales plutôt que végétales mais que la survie de ces poissons a chuté par rapport aux poissons nourris avec une base végétale. Ces résultats ont pu montrer une toxicité à la fois du mercure et du sélénium dans les aliments à base de coproduits de thon et peut-être d'autres contaminants tels que le cadmium.

Afin d'approfondir ces résultats obtenus, il serait intéressant de mieux étudier l'interaction entre le sélénium et le mercure pour mettre en évidence les mécanismes exacts mis en jeu et la localisation de ces réactions. Il serait aussi instructif de déterminer la répartition de ces 2 éléments dans les différents organes de la truite arc-en-ciel ainsi que leur forme de stockage chez la truite et leur forme d'apport dans les coproduits de thon.

Une étude plus longue pourrait être concevable afin de mieux observer les effets de l'utilisation des coproduits de thon à long terme. Une nouvelle expérience a été initiée afin d'étudier l'impact de l'utilisation de coproduits de thon dans l'alimentation des géniteurs dans le but d'identifier les potentiels effets de ces aliments alternatifs sur la descendance.

Globalement, les résultats obtenus après 6 mois d'essai montrent que l'utilisation de sous-produits de la pêche thonière comme sources de nutriments dans les aliments destinés à la pisciculture commerciale, peut être une option viable à condition de prendre en compte, préalablement à la formulation de l'aliment, la concentration de base en sélénium afin d'élaborer une alimentation aquacole en accord avec les besoins et le maintien d'une bonne santé des poissons.



## BIBLIOGRAPHIE

Abu Zeid, E.H., Khalifa, B.A., Said, E.N., Arisha, A.H., Reda, R.M., 2021. Neurobehavioral and immune-toxic impairments induced by organic methyl mercury dietary exposure in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, *Aquatic Toxicology*, Volume 230, 105702, ISSN 0166-445X,

Behne, D., Kyriakopoulos, A., 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21, 453–473.

Berntssen, M.H.G., Betancor, M., Caballero, M.J., Hillestad M., Rasinger, J., Hamre, K., Sele, V., Amlund, H., Ørnsrud, R., 2018. Safe limits of selenomethionine and selenite supplementation to plant-based Atlantic salmon feeds, *Aquaculture*, Volume 495, 2018, Pages 617-630, ISSN 0044-8486.

Berntssen, M.H.G., Sundal, T.K., Olsvik, P.A., Amlund, H., Rasinger, J.D., Sele, V., Hamre, K., Hillestad, M., Buttle, L., Ornsrud, R., 2017. Sensitivity and toxic mode of action of dietary organic and inorganic selenium in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquat.Toxicol.* 192, 116–126.

Bruch, R.C., Thayer, W.S., 1983. Differential effect of lipid peroxidation on membrane fluidity as determined by electron spin resonance probes, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, Volume 733, Issue 2, Pages 216-222, ISSN 0005-2736.

Cadet, J., Wagner, J.R., 2013. DNA base damage by reactive oxygen species, oxidizing agents, and UV radiation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 5

Cahu, C., 2013. Les grands défis de l'aquaculture en France et dans le monde. In *Annales des Mines ; Responsabilite et environnement*. No. 2, pp. 24-30.

Cai, X., Luo, L., Xue, M., Wu, X., Zhan, W., 2005. Growth performance, body composition and phosphorus availability of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) as affected by diet processing and replacement of fishmeal by detoxified castor bean meal. *Aquacult. Nutr.*, 11 (4): 293-299

Canty, A. J., Narongsak, C., Gatehouse, B.M., George, E. E., Hayhurst, G., 1981. Coordination chemistry of methylmercury(II). Synthesis, hydrogen-1 NMR, and crystallographic studies of cationic complexes of Me Hg(II) with ambidentate and polydentate ligands containing pyridyl and N-substituted imidazolyl donors and involving unusual coordination geometries. *Inorganic Chemistry*. 20 (8): 2414–2422.

Cardoso, B.R., Hare, D.J., Bush, A.I., Roberts, B. R., 2017. Glutathione Peroxidase 4: A New Player in Neurodegeneration? *Molecular Psychiatry* 22 (3)

Cavecci-Mendonça, B., Cavalcante de Souza Vieira, J., Monteiro de Lima, P., Leite, A.L., Buzalaf, M.A.R., Zara, L.F., De Magalhães Padilha, P., 2020. Study of proteins with mercury in fish from the Amazon region, *Food Chemistry*, Volume 309, 125460, ISSN 0308-8146.

Ceccatelli, S., Daré, E., Moors, M., 2010. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis. *Chemico-Biological Interactions*, 188 (2), pp. 301-308.

Chen, Y., McMillan-Ward, E., Kong, J., Israels S.J., Gibson, S.B., 2008. Oxidative stress induces autophagic cell death independent of apoptosis in transformed and cancer cells. *Cell Death Differ* 15, 171–182.

Chomczynski, P., Sacchi, N., 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.*, 162 (1987), pp. 156-159

Combs, G.F., 2001. Selenium in global food systems. *Br. J. Nutr.* 85, 517–547.

Cusack, L.K., Eagles-Smith, C., Harding, A.K., Kile, M., Stone, D., 2016. Selenium: Mercury Molar Ratios in Freshwater Fish in the Columbia River Basin: Potential Applications for Specific Fish Consumption Advisories. *Biol Trace Elem Res* (2017) 178:136–146

- Cuvin-Aralar, M.L.A., Furness, R.W., 1991. Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicol Environ Saf* 21:348–364
- De Francesco, M., Parisi, G., Pérez-Sánchez, J., Gómez-Réqueni, P., Médale, F., Kaushik, S. j., Mecatti, M., Poli, B. m., 2007. Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. *Aquaculture Nutrition* 13, 361–372.
- FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016, Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020, Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome.
- Farina, M., Aschner, M., Rocha, J.B.T., 2011. Oxidative Stress in MeHg-Induced Neurotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology, Environmental Chemicals and Neurotoxicity*, 256 (3): 405-17.
- Fei, W.D., Hu, M., Yao, C.K., 2003. Thermal expansion and thermal mismatch stress relaxation behaviors of SiC whisker reinforced aluminum composite, *Materials Chemistry and Physics*, Volume 77, Issue 3, Pages 882-888.
- Felton, S. P., Landolt, M. L., Grace, R., Palmisano, A., 1996. Effects of selenium dietary enhancement on hatchery-reared coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), when compared with wild coho: Hepatic enzymes and seawater adaptation evaluated. *Aquaculture Research* 27 (2):135–42.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- Fontagne-Dicharry, S., Godin, S., Liu, H.K., Prabhu, P.A.J., Bouyssiere, B., Bueno, M., Tacon, P., Medale, F., Kaushik, S.J., 2015. Influence of the forms and levels of dietary selenium on antioxidant status and oxidative stress-related parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Br. J. Nutr.* 113, 1876–1887.
- Fontagné-Dicharry, S., Véron, V., Larroquet, L., Godin, S., Wischhusen, P., Aguirre, P., Terrier, F., Richard, N., Bueno, M., Bouyssi re, B., Prabhu, P.A.J., Tacon, P., Kaushik, S.J., 2020. Effect of selenium sources in plant-based diets on antioxidant status and oxidative stress-related parameters in rainbow trout juveniles under chronic stress exposure, *Aquaculture*, Volume 529, 735684, ISSN 0044-8486.
- Gagn e, F., 2014. *Biochemical Ecotoxicology: Principles and Methods*. Academic Press, Chapter 6 - Oxidative Stress, Pages 103-115, 2014. 1-257.
- Gajdosechova, Z., Lawan, M.M., Urgast, D.S., Raab, A., Scheckel, K.G., Lombi, E., Kopittke, P.M., 2016. In Vivo Formation of Natural HgSe Nanoparticles in the Liver and Brain of Pilot Whales. *Scientific Reports* 6 (1): 34361.
- García-Sevillano, M.A., Rodríguez-Moro, G., García-Barrera, T., Navarro, F., Gómez-Ariza, J.L., 2015. Biological interactions between mercury and selenium in distribution and detoxification processes in mice under controlled exposure. Effects on selenoprotein, *Chemico-Biological Interactions*, Volume 229, Pages 82-90, ISSN 0009-2797.
- Giblin, F.J., Massaro, E.J., 1973. Pharmacodynamics of methyl mercury in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Tissue uptake, distribution and excretion, *Toxicology and Applied Pharmacology*, Volume 24, Issue 1, Pages 81-91, ISSN 0041-008X.
- Gusel'nikova, V.V., Korzhevskiy, D.E., 2015. NeuN As a Neuronal Nuclear Antigen and Neuron Differentiation Marker. *Acta naturae*, 7(2), 42–47.
- Ha, H., Lee, H.B., 2001. Oxidative stress in diabetic nephropathy: Basic and clinical information. *Curr Diab Rep* 1, 282–287.
- Hamilton, S.J., Buhl, K.J., Faerber, N.L., Wiedmeyer, R.H., Bullard, F.A., 1990. Toxicity of organic selenium in the diet to Chinook salmon. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9, pp. 347-358

Han, D., Xie, S., Liu, M., Xiao, X., Liu, H., Zhu, X., Yang, Y., 2011. The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquac. Nutr.* 17, E741–E749.

Handy, R.D., Penrice, W.S., 1993. The influence of high oral doses of mercuric chloride on organ toxicant concentrations and histopathology in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Compd. Biochem. Physiol.*, 106C, pp. 717-724

Hardy, R.W., 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac. Res.* 41, 770–776.

Hernández, C., Hardy, R., Contreras-Rojas, D., López-Molina, B., González-Rodríguez, B., & Domínguez-Jimenez, P. (2014). Evaluation of tuna by-product meal as a protein source in feeds for juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Aquaculture Nutrition*, 20(6), 574– 582.

Hesketh, J., 2008. Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. *Ann Rev Nutr* 28, 157–177.

Hilton, J.W., Hodson, P.V., Slinger, S.J., 1980. The Requirement and Toxicity of Selenium in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *The Journal of Nutrition*, Volume 110, Issue 12, December 1980, Pages 2527–2535.

Hilton, J.W., Hodson, P.V., 1983. Effect of Increased Dietary Carbohydrate on Selenium Metabolism and Toxicity in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *The Journal of Nutrition*, 113(6), 1241–1248.

Jeferson L.F., Posser, T., Dunkley, P.R., Dickson, P.W., Mattos, J.J., Martins, R., Bainy, A.C.D., Marques, M.R., Dafre, A.L., Farina, M., 2009. Methylmercury neurotoxicity is associated with inhibition of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase, *Free Radical Biology and Medicine*, Volume 47, Issue 4, Pages 449-457, ISSN 0891-5849.

Jeon, G. H., Kim, H. S., Myung, S. H., & Cho, S. H. (2014). The effect of the dietary substitution of fishmeal with tuna by-product meal on growth, body composition, plasma chemistry and amino acid profiles of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture Nutrition*, 20, 753–761.

Ketterer, B., Coles, B., Meyer, D. J., 1983. The role of glutathione in detoxication. *Environ Health Perspect.* 49 (1983), pp. 59-69

Khan, K.U., Zuberi, A., Fernandes, J.B.K., Ullah, I., Sarwar, H., 2017. An overview of the ongoing insights in selenium research and its role in fish nutrition and fish health. *Fish Physiol Biochem* 43, 1689–1705.

Kim, K., Park, Y., Je, H.W., Seong, M., Hyacinth Damusaru, J., Kim, S., Jung, J.Y., Bai, S.C., 2019. Tuna Byproducts as a Fish-Meal in Tilapia Aquaculture. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172 : 364-72.

Kjeldahl, J. 1883. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Fresenius, Zeitschrift f. anal. Chemie* 22, 366–382.

Koller, L.D., Exon, J.H., 1986. The two faces of selenium-deficiency and toxicity – are similar in animals and man. *Can.n J. Vet. Res.*, 50, 297–306

Lailson-Brito, J., Cruz, R., Dorneles, P. R., Andrade, L., Azevedo, A., Fragoso, A. B., Vidal, L. G., Costa, M. B., Bisi, T. L., Almeida, R., Carvalho, D. P., Bastos, W. R., & Malm, O., 2012. Mercury-selenium relationships in liver of Guiana dolphin: the possible role of Kupffer cells in the detoxification process by tiemannite formation. *PloS one*, 7(7), e42162.

Lee, S., Nambi, R.W., Won, S., Katya, K., Bai, S.C., 2016. Dietary selenium requirement and toxicity levels in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 464, 153–158.

Lemly, A.D., 2002. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. *Aquat. Toxicol.*, 57, 39–49.

- Makino, Y., Abe, H., Yokoyama, M., Torimitsu, S., Chiba, F., Yokota, H., Oka T., Iwase, H., 2015. Mercury embolism of the lung and right ventricle revealed by postmortem computed tomography and X-ray analytic microscopy. *Forensic Sci Med Pathol* 11, 464–46.
- Mela, M., M. A. F. Randi, D. F. Ventura, C. E. V. Carvalho, E. Pelletier, et C. A. Oliveira Ribeiro. 2007. Effects of Dietary Methylmercury on Liver and Kidney Histology in the Neotropical Fish *Hoplias Malabaricus* ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68 (3): 426-35.
- Mohsen A.T., Mamdouh, A.A.M., Fayza E.A., 2007. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity, *Aquaculture*, Volume 272, Issues 1–4, Pages 335-345, ISSN 0044-8486.
- Morcillo, P., Esteban, M.A., Cuesta, A., 2017. Mercury and its toxic effects on fish. *AIMS Environ. Sci.* 4: 386-402.
- Mourente, G., Bell, J.G., 2006. Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long-term growth study: Effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 145, 389–399.
- Ni, M., Li, X., Rocha, J.B.T., Farina, M., Aschner, M., 2012. Glia and methylmercury neurotoxicity. *J. Toxicol. Environ. Health A* 75: 1091-1101
- Niimi, A.J., Kisson, G.P., 1994. Evaluation of the critical body burden concept based on inorganic and organic mercury toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26, 169–178.
- NRC, National Research Council, 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. The National Academies Press, Washington DC.
- Oien, D.B., Moskovitz, J., 2009. Selenium and the Methionine Sulfoxide Reductase System *Molecules* 14, no. 7: 2337-2344.
- Olsvik, P.A., Amlund, H., Sæle, Ø, Ellingsen, S., Skjaerven, K.H., 2014. Impact of dietary selenium on methylmercury toxicity in juvenile Atlantic cod: A transcriptional survey. *Chemosphere* 120 (2015) 199–205.
- Papp, L.V., Lu, J., Holmgren, A., Khanna, K.K., 2007. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid. Redox Signal.* 9, 775–806.
- Pedrero, Z., Madrid, Y., 2009. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: a review. *Anal. Chim. Acta*, 634, 135–152.
- Pike, I.H., Barlow, S.M., 2003. Impact of fish farming on fish stocks. *Int. Aquafeed Dir. Buy. Guide* (2003), pp. 24-29
- Raida, M.K., Buchmann, K., 2009. Innate Immune Response in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) against Primary and Secondary Infections with *Yersinia Ruckeri* O1. *Developmental & Comparative Immunology* 33 (1): 35-45.
- Rayman, M.P., 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet* 356, 233–241.
- Rayman, M. P., 2008. Food-Chain Selenium and Human Health: Emphasis on Intake. *British Journal of Nutrition* 100 (2): 254-68.
- Rider, S.A., Davies, S.J, Jha, A.N., Clough, R., Sweetman, J.W., 2010. Bioavailability of co-supplemented organic and inorganic zinc and selenium sources in a white fishmeal-based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. *J Anim Physiol Anim Nutr* 94, 99–110.

- Ruelas-Inzunza, J., Šlejkovec, Z., Mazej, D., Fajon, V., Horvat, M., Ramos-Osuna, M., 2018. Bioaccumulation of As, Hg, and Se in tunas *Thunnus albacares* and *Katsuwonus pelamis* from the Eastern Pacific: tissue distribution and As speciation. *Environ Sci Pollut Res* 25, 19499–19509.
- Sissener, N.H., Julshamn, K., Espe, M., Lunestad, B.T., Hemre, G.I., Waagbo, R., Mage, A., 2013. Surveillance of selected nutrients, additives and undesirables in commercial Norwegian fish feeds in the years 2000-2010. *Aquac. Nutr.* 19, 555–572.
- Spiller, H.A., 2018. Rethinking mercury: the role of selenium in the pathophysiology of mercury toxicity, *Clinical Toxicology*, 56:5, 313-326.
- Štajn, A., Žikić, R.V., Ognjanović, B., Saičić, Z.S., Pavlović, S.Z., Kostić, M.M., Petrović, V.M., 1997. Effect of Cadmium and Selenium on the Antioxidant Defense System in Rat Kidneys, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, Volume 117, Issue 2, Pages 167-172, ISSN 0742-8413.
- Steinbrenner, H., Alili, L., Bilgic, E., Sies, H., Brenneisen, P., 2006. Involvement of selenoprotein P in protection of human astrocytes from oxidative damage, *Free Radical Biology and Medicine*, Volume 40, Issue 9, 2006, Pages 1513-1523,
- Strapáč, I., Sokol, J., Žatko, D., Baranová, M., 2012. Mercury and selenium concentrations in muscle tissue of different species of predatory freshwater fish and correlation between these elements, *Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance*, 5:3, 194-199
- Tekinay, A. A., Deveciler, E., & Guroy, D., 2009. Effect of dietary tuna by-products on feed intake and utilization of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fisheries International*, 4, 8–12.
- Teh, S.J., Deng, X., Deng, D.F., Teh, F.C., Hung, S.S.O., Fan, T.W.M., Liu, J., Higashi, R.M., 2004. Chronic effects of dietary selenium on juvenile Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). *Environ. Sci. Technol.* 38, 6085–6093.
- Tsang, C.K., Liu, Y., Thomas, J., Zhang, Y., Zheng, X.F.S., 2014. Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance. *Nat Commun* 5, 3446.
- Ulusoy, Ş., Mol, S., Karakulak, F.S., Kahraman, A.E., 2018. Selenium-Mercury Balance in Commercial Fish Species from the Turkish Waters. *Biological Trace Element Research* (2019) 191:207–213.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2019. *World Population Prospects 2019: Highlights*. ST/ESA/SER.A/423.
- Wagner, B.A., Buettner, G.R., Burns, C.P., 1994. Free Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Cells: Oxidizability Is a Function of Cell Lipid bis-Allylic Hydrogen Content. *Biochemistry* 1994, 33, 4449-4453
- Wang, C.L., Lovell, R.T., 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 152, 223–234
- Wang, A., Barber, D., Pfeiffer, C.J., 2001. Protective effects of selenium against mercury toxicity in cultured Atlantic spotted dolphin (*Stenella plagiodon*) renal cells. *Arch Environ Contam Toxicol.* 41(4):403-9
- WWF, 2018. *Evaluating Europe course to sustainable fisheries by 2020 – Report*. World Wildlife Fund
- Yabanli, M., Yozukmaz, A., Alparslan, Y., Acar, Ü, 2014. Evaluation of heavy metals and selenium contents in the muscle tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) in Western Anatolia. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.12 (2): 165-168. 2014
- Ytrestoyl, T., Aas, T.S., Asgard, T., 2015. Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture* 448, 365–374.

# ANNEXES

## Annexe I : Mécanismes des défenses antioxydantes des sélénoprotéines

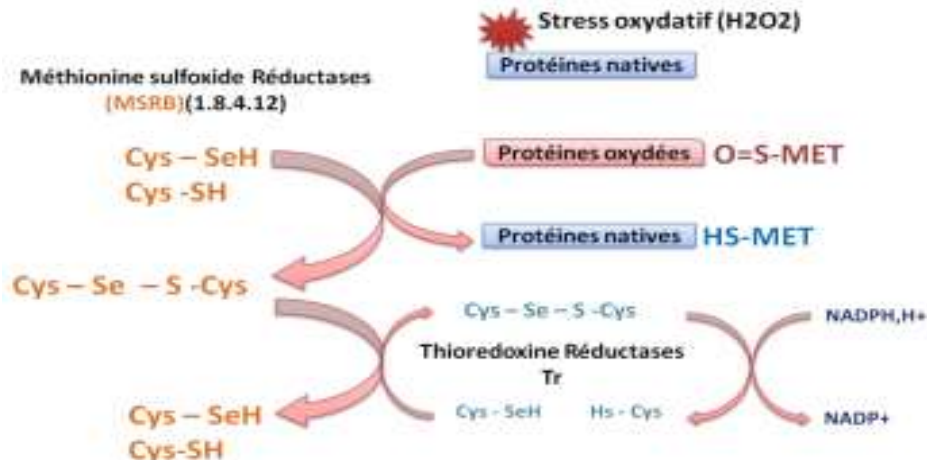


Figure 1. Rôle des méthionine sulfoxyde réductases B (MsrB) dans la régulation de l'état redox du protéome.

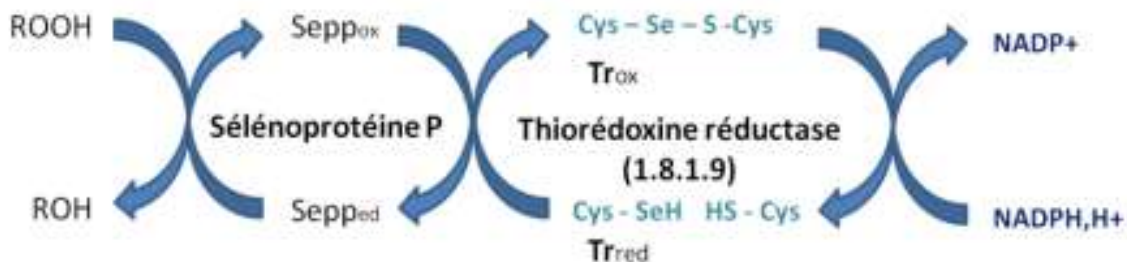


Figure 2 : Rôle des sélénoprotéines P dans les défenses antioxydantes extracellulaires. La thiorédoxine réductase utilise le pouvoir réducteur du NADPH, H<sup>+</sup> afin de régénérer le potentiel redox des sélénocystéines des sélénoprotéines P qui réduisent les espèces oxydantes.

## Annexe II : Matériel utilisé

Pour les pesées : la balance de précision SARTORIUS ENTRIS® 224 I, d = 10<sup>-4</sup>

Pour la lyophilisation : le lyophilisateur SERAIL® CS5-0,4

Pour l'évaporation de l'humidité : l'étuve thermostatée ventilée Modèle 100-800 MEMMERT®

Pour la dessiccation : le dessiccateur en verre à joint sec 250-028 JENCONS®

Pour l'incinération : le four à moufle LENTON FURNACES®

Pour le dosage de protéines : la rampe à minéralisation Digester 40 Auto 2540 , le récupérateur de vapeur Scrubber Tecator et l'appareil Kjeltec 8400

Pour le dosage des lipides : la centrifugeuse Avanti J-20 XP avec portoir swing JS-5.3 BECKMANN COULTER® et thermostat à bloc métallique évaporateur à azote EVTF-200-60-16 LIEBISCH LABORTECHNIK®.

Pour le dosage de l'énergie brute : le calorimètre à bombe adiabatique IKA C4000 et des capsules en amidon IKA WERKE STAUFEN® (réf. : 4500046481)

Pour l'extraction d'ARN : des tubes Précellys, des tubes Falcon, des tubes Ependorf, la centrifugeuse HERAEUS MEGAFUGE® 16 R, le Précellys 24 BERTIN®, NanoDrop® ND1000

Pour la rétrotranscription des ARN : des barrettes de tube PCR, Random primers PROMEGA® C1181, dNTPs PROMEGA® C1145, ARN de luciférase, RNase OUT Invitrogen, TBE tampon 5X, l'enzyme transcriptase inverse Superscript III Invitrogen, thermocycler T100 de marque BIO RAD®.

Pour la qPCR des ADNc : Light Cycler 480SY SYBR® Green Master (Roche diagnostics®), eau stérile Nuclease-free Water PROMEGA® P1195, plaque PCR jupée 384 puits Dutscher 4TI 0381, Centrifugeuse à Godets BECKMAN COULTER® Allegra X-22 Centrifuge, thermocycler Lightcycler® 480 II Roche

### **Annexe III : Protocole détermination de la matière sèche**

Principe : détermination de la perte d'eau d'un échantillon par différence de pesées avant et après le passage pendant 24 heures dans une étuve thermostatée et ventilée à  $103 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Protocole : Des coupelles en aluminium ont été préalablement annotées et pesées (**m0**). Les juvéniles entiers congelés ont ensuite été broyés dans un hachoir à viande. Environ 5 grammes de broyat, pour chaque échantillon, ont été disposés dans leurs coupelles puis l'ensemble a été pesé individuellement (**m1**). Les coupelles ont ensuite été placées à l'étuve à  $103 \pm 1^\circ\text{C}$  durant 23 heures minimum. Afin de refroidir les échantillons pour la dernière pesée, les coupelles ont été refroidies dans un dessiccateur à vide en présence de pentoxyde de phosphore ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) pour éviter une réhumidification des broyats. Une fois à température ambiante, les coupelles contenant les échantillons ont été pesées individuellement (**m2**). Pour chaque échantillon, 2 mesures sont réalisées.

Le pourcentage de matière sèche (%MS) contenu dans chaque échantillon a été déterminé par différence de masses (**équation X**).

$$\%MS = \frac{m2 - m0}{m1 - m0} \times 100$$

Avec **m0** : la masse de la coupelle vide (en grammes), **m1** : la masse de la coupelle et de l'échantillon humide (en grammes) et **m2** : la masse de la coupelle et de l'échantillon sec (en grammes).

### **Annexe IV : Lyophilisation des échantillons**

Les juvéniles conservés à  $-20^\circ\text{C}$  pour la réalisation des analyses corporelles, ont été broyés grâce à un hachoir à viande. Les broyats ont été disposés dans des fines barquettes en aluminium, puis placés dans le lyophilisateur durant 34 heures. À la fin de la lyophilisation, les échantillons sont à nouveau broyés et conservés en chambre froide ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) dans des petits pots hermétiques pour analyses.



		Température	Temps (min)	Caractéristiques	
<b>Etape 1</b> Basse pression	Congélation	1A	-45°C	30	L'eau contenue dans l'échantillon passe rapidement de la température ambiante à -45°C, ce qui permet la formation de petits cristaux de glace. La température est ensuite maintenue jusqu'à l'étape 2.
		1B	-45°C	30	
		1C	-45°C	60	
<b>Etape 2</b> Sous vide	Sublimation (dessiccation primaire)	2A	-45°C	60	La mise sous vide de l'appareil provoque le début de la sublimation. La vapeur d'eau émise est récupérée dans un compresseur. La compression de la vapeur d'eau va provoquer un échauffement et la chaleur sera redistribuée afin de réchauffer les échantillons. Durant la sublimation, la température des échantillons augmente progressivement et ces derniers perdent leur eau. A la fin de la sublimation, les échantillons ne contiennent plus que 3 à 6 % d'humidité.
		2B	-30°C	60	
		2C	-15°C	60	
		2D	0°C	60	
		2E	+10°C	60	
		2F	+20°C	60	
<b>Etape 3</b> Vide poussé	Désorption (dessiccation secondaire)	3A	+23°C	60	Le maintien des échantillons sous un vide poussé et à la température maximale de non détérioration, permet de provoquer le départ des molécules d'eau retenue par absorption.
		3B	+25°C	60	
		3C	+25°C	60	

Figure 1 : Cycle de lyophilisation utilisé dans l'appareil SERAIL CS5-0,4.

#### Annexe V : Protocole détermination des cendres brutes

**Principe :** détermination, avec précision, le pourcentage de matière minérale contenu dans un échantillon par différence de pesées avant et après le passage pendant environ 17 heures dans un four à moufle à haute température : 570°C.

**Protocole :** Des coupelles en porcelaine vides sont préalablement pesées (**m0**). Environ 500mg de lyophilisat sont placés dans ces coupelles et l'ensemble est d'abord placées à l'étuve pendant 24h puis pesé (**m1**). Enfin, les coupelles avec échantillons sec sont mises dans le four à cendre pour être incinérées durant 17 heures à 570°C. Une pesée finale est faite (**m2**) après que les coupelles aient été mises à refroidir dans le dessiccateur à vide. Chaque échantillon est analysé en duplicat.

Le pourcentage de cendres brutes (%Cendres) contenu dans chaque échantillon a été déterminé par différence de masses (**équation X**).

$$\%Cendres = \frac{m2 - m0}{m1 - m0} \times 100$$

Avec **m0** : la masse de la coupelle vide (en grammes), **m1** : la masse de la coupelle et du lyophilisat sec (en grammes) et **m2** : la masse de la coupelle contenant les cendres brutes (en grammes).

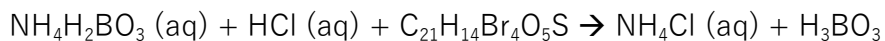
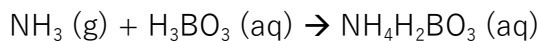
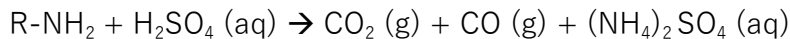


## **Annexe VI : Protocole détermination des protéines par la méthode de Kjeldhal (1883)**

**Principe :** L'azote organique est oxydé par de l'acide sulfurique concentré, à chaud en présence de catalyseur, permettant au carbone et à l'hydrogène de se dégager sous forme de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O. Puis l'azote est fixé par l'acide sous forme de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>. L'ammoniac est libéré par une solution de soude NaOH, puis entraîné par un courant de vapeur d'eau afin d'être recueilli dans une solution tampon d'acide borique pour être titré par une solution d'acide sulfurique de molarité exactement connue.

**Protocole :** Pour chaque échantillon, environ 300mg de lyophilisat ont été pesées et disposés dans des matras de minéralisation (*tube Kjeldhal*). Après ajout de catalyseur (*pastilles Kjeltabs Se/3,5 composées de sulfate de potassium et de sélénium*) et de 5mL d'acide sulfurique à 95%, l'ensemble des échantillons est disposé sur une rampe à minéralisation munie d'un bloc chauffant et d'un récupérateur de vapeurs. Après un cycle thermique de 3h15 composé de 6 étapes de digestion des protéines allant de 100°C à 430°C, les échantillons sont placés dans la machine KJELTEC 8400 qui va permettre de doser les protéines dans chaque échantillon selon le principe de mesure d'ammoniac gazeux par titrage à l'acide chlorhydrique. La quantité d'ammoniac gazeux capté est proportionnel à la teneur en protéines de l'échantillon. Chaque mesure est faite en duplicat.

### **Réactions mise en jeu :**



## **Annexe VII : Protocole détermination des lipides par méthode $\mu$ Folch**

**Principe :** Cette technique découle du même principe que la méthode de Folch et al. (1956). C'est une méthode simple qui a pour but l'extraction des lipides purs totaux à partir de divers tissus. Elle consiste à homogénéiser et extraire les lipides contenus dans les tissus organiques avec un mélange dichlorométhane-méthanol puis un lavage avec une solution saline appropriée. Le mélange se sépare en deux phases, une phase polaire et une phase apolaire, permettant la récupération de l'extrait lipidique pur total situé dans la phase inférieure (phase apolaire hydrophobe).

**Protocole :** Pour chaque échantillon, environ 200mg de lyophilisat ont été pesés et disposés dans des tubes en plastique contenant des microbilles en Zirconium. Après ajout de 4mL d'un mélange de solvants, composé de 2 volumes de dichlorométhane pour un volume de méthanol, les tubes sont mis à la centrifugeuse afin d'extraire les composants lipidiques présents dans les échantillons solides. Le surnageant est récupéré dans des tubes coniques séparés et cette étape est répétée 3 fois afin d'extraire la totalité des lipides. Après obtention d'une solution monophasique composée de lipides dissous mais également de contaminants aqueux, 2,75mL de chlorure de sodium à 0,73% sont ajoutés afin de provoquer la séparation du mélange en 2 phases distinctes. Pour chaque échantillon, la phase inférieure organique, comprenant le dichlorométhane et les lipides totaux, est récupérée dans des flacons en verre, préalablement pesés, qui sont ensuite placés

dans un bain marie à sec avec azote à 40°C afin de faire évaporer le solvant et ne récupérer que les lipides totaux. Puis les échantillons sont mis au dessiccateur en présence de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pendant 12h afin d'éliminer l'humidité restante. Les extractions ont été réalisées en duplicat.

Le pourcentage de la teneur en lipide de chaque échantillon (%Lipides) a été déterminé par différence de masses (**équation X**).

$$\%Lipides = \frac{m2 - m1}{m0} \times 100$$

Avec *m0* : la masse de la prise d'échantillon (en grammes), *m1* : la masse du flacon en verre seul (en grammes) et *m2* : la masse du flacon en verre contenant les lipides totaux (en grammes).

### **Annexe VIII : Protocole détermination l'énergie brute par combustion**

Principe : Il s'agit de déterminer l'élévation de température, ΔT°, provoquée par la combustion d'une masse connue d'échantillon afin de déterminer l'énergie calorifique de ce produit

Protocole : Pour chaque échantillon, environ 250mg de lyophilisat ont été pesés et disposés dans des capsules en amidon préalablement pesées. Chaque capsule a été placée dans le calorimètre à bombe adiabatique pour suivre l'énergie dégagée par la combustion. Cette réaction se fait sous une pression de 25 atmosphères avec une bombe calorimétrique saturée en dioxygène, O<sub>2</sub>.

La teneur en énergie brute de chaque échantillon a été déterminée par la mesure de la quantité de chaleur dégagée (H<sub>0</sub>) en kilojoules par gramme d'échantillon (**équation X**).

$$H_0 = - \frac{C \times \Delta T^\circ - Q1 - Q2}{m}$$

Avec *C* : la capacité calorifique du calorimètre/constante de bombe (en kilojoules par gramme), ΔT° : l'augmentation de la température mesurée suite à la combustion (en °C), *Q1* : la somme des quantités de chaleurs parasites (en kilojoules par gramme), *Q2* : la quantité de chaleur dégagée par la gélule en amidon vide (en kJ·g<sup>-1</sup>) et *m* : la masse sèche de l'échantillon étudié (en grammes).

### **Annexe IX: Protocole d'extraction des ARN totaux**

Principe : Technique décrite pour la première fois en 1987 par Chomczynski & Sacchi. L'extraction des ARN se base sur un couplage d'une action chimique (Trizol - Invitrogen) et une action mécanique (broyage) tout en préservant l'intégrité des ARN. Après une lyse des cellules et la dissolution des composants cellulaires par traitement au Trizol, l'ARN est extrait grâce à une séparation en plusieurs phases de la solution finale et à la récupération de la phase aqueuse comprenant les ARN totaux.

Protocole : Dans un tube Precellys contenant des billes de Zirconium, les morceaux de tissus à étudier ont été ajoutés puis mis en suspension dans 1000μL de TRIzol® Reagent – Invitrogen (solution monophasique de phénol et d'isothiocyanate de guanidine). Les échantillons sont alors broyés individuellement grâce au broyeur-homogénéiseur Precellys® (5500 rpm pendant 40 secondes). Après cette étape, les broyats ont été centrifugés à 4°C pendant 10 minutes à 12000rpm. Le surnageant a été aliquoté dans des tubes Falcon de 2 mL puis 200μL de chloroforme ont été ajoutés suivi d'une centrifugation de 15 minutes à 12000rpm. Le surnageant

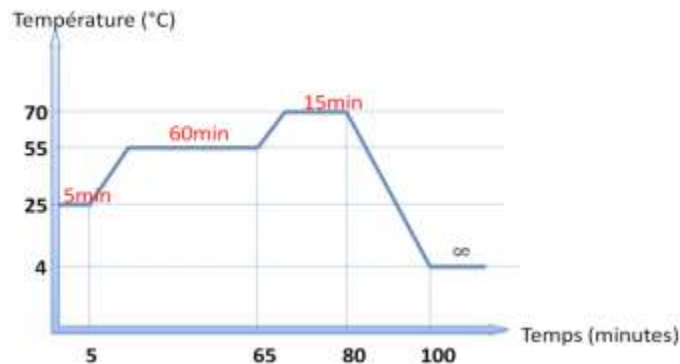
obtenu (suspension des acides nucléiques, ADN et ARN) a été mélangé à 500 $\mu$ L d'isopropanol afin de faire précipiter les ARN dans le culot après centrifugation (10 minutes à 12000rpm à 4°C). S'en est suivi une étape de lavage à l'éthanol 75% (800 $\mu$ L) puis une dissolution des ARN purs, situés dans le culot, dans 100 $\mu$ L d'eau stérile.

L'évaluation qualitative des ARN totaux prélevés a été faite grâce à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1%, et la vérification de la quantité finale extraite a pu se faire par spectrophotométrie microvolume au NanoDrop. Les échantillons extraits ont été conservés au congélateur -20°C.

### **Annexe X : Protocole de la rétrotranscription de l'ARN en ADNc**

**Principe :** La rétrotranscription (RT) est une technique permettant la synthèse d'ADN complémentaire (ADNc) à partir des ARN totaux, grâce à l'enzyme transcriptase inverse. Cette méthode se base sur une étape de dénaturation de l'ARN, suivi d'une fixation de l'enzyme à l'ARN simple brin pour synthétiser des brins d'ADNc grâce à des désoxyribonucléotides libres.

**Protocole :** À partir des concentrations connues en ARN totaux, 2 $\mu$ g de chaque échantillon ont été dilués dans de l'eau stérile pour un volume final de 20 $\mu$ L. Puis 2 $\mu$ L d'amorces aléatoires (random primers) et d'amorces oligodT (spécifiques de la queue polyA des ARN messagers), 2 $\mu$ L de désoxyribonucléotides libres (dNTP) et 1 $\mu$ L d'ARN luciférase, à 2 pg $\cdot\mu$ L<sup>-1</sup>, sont ajoutés. Deux réactions contrôles ont été réalisés afin de mettre en évidence une éventuelle contamination des réactifs : un blanc ADN à partir de 1  $\mu$ g d'ARN totaux dans un volume total de 10  $\mu$ l et un blanc RT à partir de 10,5  $\mu$ l d'eau stérile. Les mêmes volumes d'amorces et de dNTPs sont ajoutés à chacun de deux blancs sans ARN luciférase. Ces échantillons sont ensuite passés au thermocycleur T100 dans le but de dénaturer, pendant 5 minutes à 65°C, les ARN totaux puis le volume récupéré est divisé en 2 réplicats de 8 $\mu$ L. De ces échantillons sont rajoutés : 1,5  $\mu$ L d'eau pur, 4 $\mu$ L de tampon 5X (qui contient les éléments nécessaires à la stabilité et à l'activité de l'enzyme Reverse Transcriptase), 1 $\mu$ L de Dithiothreitol (qui est un agent réducteur évitant la formation de ponts disulfures intra et intermoléculaires stabilisant les RNases), 1 $\mu$ L de RNase OUT (qui est un inhibiteur de ribonucléases) et enfin 0,5 $\mu$ L de l'enzyme transcriptase inverse : Superscript III d'Invitrogen (sauf pour le blanc RT). L'ensemble des échantillons a été passé au thermocycleur T100 pour l'étape de rétrotranscription en 3 phases thermiques (5 minutes à 25°C, 60 minutes à 55°C et 15 minutes à 70 °C). La transcription inverse des ARN totaux extraits s'est réalisé en barrettes en duplicat.



**Figure 1 :** Programme de rétrotranscription.

## **Annexe XI : Protocole de la qPCR en temps réel des ARN cibles**

Principe : La PCR quantitative en temps réel (qPCR de « *quantitative polymerisation chain reaction* ») est une technique analytique qui permet d'amplifier de l'ADN de façon exponentielle. Cette technique se base sur une polymérisation en chaîne permettant de dupliquer une séquence spécifique et de suivre la quantité d'ADNc en temps réel au cours de chaque cycle de PCR. C'est grâce à l'utilisation du marqueur d'amplification, le SYBR Green (qui est un agent intercalent fluorescent), qu'il est possible de suivre la fluorescence émise qui est proportionnelle à la quantité d'ADNc amplifié.

Ainsi, cette méthode permet de quantifier l'expression des ARN messenger et d'évaluer le niveau de transcription d'un gène cible en fonction de la quantité d'amplicon obtenue. Le principe de l'amplification repose sur la répétition de trois phases : - La dénaturation des deux brins d'ADN à température élevée (95°C) afin d'obtenir des molécules d'ADN monocaténaïres. - L'hybridation d'amorces oligonucléotidiques complémentaires d'une séquence de l'ADN monocaténaïre cible (la température est alors ramenée à une valeur comprise entre 60°C et 67°C afin de permettre une bonne fixation des amorces). - La réaction d'élongation par une enzyme ADN polymérase thermostable à partir des amorces, réalisée à température optimale de 72°C. À chaque cycle le nombre de copies du fragment d'ADN est théoriquement doublé.

Protocole : Les ADNc des échantillons ont été récupérés après la RT et dilués au 40<sup>ème</sup> dans de l'eau pure et conservés à 4°C. Une gamme étalon a ensuite été faite à partir d'un pool d'ADNc dilué en cascade de façon à ce que les échantillons se situent en milieu de gamme. Ainsi les dilutions choisies sont celles au 10<sup>ème</sup>, au 20<sup>ème</sup>, au 40<sup>ème</sup>, au 80<sup>ème</sup> et au 160<sup>ème</sup>. La gamme standard permet d'estimer l'efficacité de la réaction.

Les amplifications ont été réalisées sur des plaques PCR 384 puits avec des mélanges comportant 2µL d'échantillon d'ADNc dilué, 0,24µL de chaque amorce (Forward et Reverse) qui permet d'étudier l'expression d'un gène d'intérêt, 3µL de SYBR Green et 0,52µL d'eau stérile. Chaque qPCR a été effectuée pour les produits de rétrotranscription, les blancs et les points de gamme. Après avoir filmé la plaque PCR et mise à la centrifugeuse pendant 5 minutes, la plaque est mise dans le thermocycleur et le programme PCR a été initié à 95°C pendant 10 minutes (afin de dénaturer l'ADNc et d'activer l'enzyme polymérase) suivi de 45 cycles d'amplification composés chacun de deux étapes thermiques successives (10 secondes à 60°C ; 15 secondes à 72°C). Une fois le programme fini, les résultats obtenus ont été traités avec le logiciel LightCycler® 480 SW 1.5 (Roche Diagnostics). Les résultats ont été exprimés en valeurs de cycle seuil de fluorescence (Ct) qui ont pu être traduits en concentrations d'ADNc. Une normalisation des gènes a été faite avec le gène du facteur d'élongation 1α (EF1α) ou le gène codant la luciférase (LUC).

 	<p><b>Diplôme</b> : Ingénieur Agronome</p> <p><b>Spécialité</b> : Sciences Halieutiques et aquacoles</p> <p><b>Spécialisation / option</b> : Aquaculture</p> <p><b>Enseignant référent</b> : Hervé Le Bris</p>
<p><b>Auteur(s)</b> : Axelle Braun</p>	<p><b>Organisme d'accueil</b> : UMR NuMeA de l'INRAE de Saint Pée sur Nouvelle</p>
<p><b>Date de naissance</b> : 04/06/1997</p>	<p><b>Adresse</b> : 173 Route de Saint-Jean-de-Luz, 64310 Saint-Pée-sur-Nouvelle</p>
<p><b>Nb pages</b> : 35      <b>Annexe(s)</b> : 8</p>	<p><b>Maître de stage</b> : Stéphanie Fontagné-Dicharry</p>
<p><b>Année de soutenance</b> : 2021</p>	
<p><b>Titre français</b> : Influence de la teneur en mercure et sélénium de l'aliment sur la régulation des fonctions anti-oxydantes, des processus d'inflammation et de détoxification chez la truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).</p>	
<p><b>Titre anglais</b> : Influence of the mercury and selenium content in the diet on the regulation of anti-oxidant functions, inflammation and detoxification processes in rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).</p>	
<p><b>Résumé</b>: Du fait de la forte baisse de production issue de la pêche minière, d'importants efforts ont été réalisés dans la formulation des aliments aquacoles pour substituer huiles et farines de poissons et l'utilisation de coproduits de thon apparait comme une alternative intéressante. Cependant, le thon est connu pour accumuler de grande quantité de métaux lourds toxiques, comme le mercure. Son antagoniste, le sélénium, peut détoxifier ce contaminant via diverses interactions. La présente étude a consisté à évaluer la possibilité d'utiliser des coproduits de thon en remplacement de la farine de poisson, en analysant l'interaction du sélénium et du mercure sur la croissance et le métabolisme de la truite arc-en-ciel. Un essai nutritionnel de 6 mois a été réalisé avec des régimes à base de coproduits de thon ou de végétaux, supplémentés en sélénium et mercure. Nos résultats ont montré que le sélénium organique était plus avantageux, en permettant une meilleure croissance et en renforçant les défenses antioxydantes. La supplémentation en mercure a produit une toxicité et l'apport en sélénium a permis de la diminuer. Les résultats des régimes à base de coproduits thon ont pu démontrer qu'une trop grande teneur en sélénium pouvait devenir tout aussi toxique que le mercure. Cette expérimentation ouvre des perspectives intéressantes concernant l'utilisation de coproduits de thon dans le développement d'aliments aquacoles alternatifs en prenant préalablement en compte la teneur en sélénium et mercure des ingrédients.</p>	
<p><b>Abstract</b>: Due to the sharp drop in production from industrial fishing, significant efforts have been realized in the formulation of aquaculture feeds to replace fish oils and meals, and the use of tuna byproducts appears to be an interesting alternative. However, tuna is known to accumulate large amounts of toxic heavy metals, such as mercury. Its antagonist, selenium, can detoxify this contaminant through various interactions. The present study assessed the feasibility of using tuna byproducts as a replacement for fish oils and meals, by analyzing the interaction between selenium and mercury on the growth and metabolism of rainbow trout juveniles. A 6-month feeding trial was carried out using diets based on tuna byproducts or plant ingredients, supplemented with selenium and mercury. Our results showed that organic selenium was more beneficial, allowing better growth and strengthening the antioxidant system. Mercury supplementation produced toxicity and selenium intake allows to reduce it. The results of diets based on tuna byproducts have shown that large amounts of selenium can become just as toxic as mercury. This experiment opens up interesting perspectives concerning the use of tuna byproducts in the development of alternative aquaculture feeds, when taking into account the selenium and mercury content of ingredients.</p>	
<p><b>Mots-clés</b> : Truite arc-en-ciel, Mercure, Sélénium, Détoxification, Stress oxydant, Inflammation, Coproduits de thon, Alimentation Aquacole, Durabilité.</p>	
<p><b>Key Words</b>: Rainbow trout, Mercury, Selenium, Detoxification, Oxidative stress, Inflammation, Tuna by-products, Aquaculture feed, Sustainability</p>	