

Université du Québec
Institut national de la recherche scientifique
Centre Eau Terre Environnement

BIOLOGIE DE REPRODUCTION COMPARÉE DES ANGUILLES DE L'ATLANTIQUE EN DÉCLIN

Par
Audrey MOFFETT
Biologiste, B.Sc. – sciences de l'eau, M. Sc.

Thèse présentée pour l'obtention du grade de
Philosophiæ doctor (Ph.D.) en sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Examinatrice externe	Catherine Pasqualini-Lâm Institut des Neurosciences Paris-Saclay CNRS – Université Paris Sud, Gif-sur-Yvette
Examinatrice externe	Céline Audet Institut des sciences de la mer de Rimouski Université du Québec à Rimouski, Rimouski
Examinatrice interne	Valérie Langlois INRS – Eau Terre Environnement, Québec
Directeur de recherche	Patrice Couture INRS – Eau Terre Environnement, Québec
Codirectrice de recherche	Sylvie Dufour CNRS – Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris

Dépôt final – Avril 2019

AVANT-PROPOS

Il y a une dizaine d'années, la communauté scientifique s'était rassemblée pour parler des stratégies internationales à adopter afin d'améliorer les connaissances sur la situation des stocks et des pêcheries relatives à l'anguille dans le monde et en particulier dans le contexte de leur déclin. Les 19 espèces/sous-espèces d'*Anguillidae* ont un cycle de vie rattachant la majeure partie de leur vie en eaux continentales et se terminant par une reproduction en mer. Les migrateurs sont des anguilles *argentées* prépubères (par opposition aux anguilles *jaunes* juvéniles) acquérant la capacité à se reproduire (puberté) pendant ou à la fin de leur voyage en mer. Seule la progéniture migrera à son tour vers le continent. Hormis les raisons continentales et océaniques mises à contribution pour expliquer le déclin des populations d'anguilles, il s'avère crucial d'améliorer l'état des connaissances sur la santé reproductive des migrateurs, c.-à-d. la capacité des géniteurs à se reproduire, ou leurs «qualités» pour se rendre au lieu de reproduction et engendrer une progéniture viable. Or, les acquis sur la biologie de reproduction des anguilles en milieu naturel sont limités par l'accessibilité aux migrateurs qui délaissent le continent dans un état encore prépubère, et découlent majoritairement de techniques orientées vers la reproduction artificielle. Cela est particulièrement vrai pour les anguilles des zones tempérées qui effectuent de plus longues migrations de reproduction, à commencer par les deux seules espèces de l'Atlantique dont la répartition s'étend essentiellement à l'échelle de l'Amérique du Nord (pour l'anguille d'Amérique, *Anguilla rostrata*) et de l'Europe (pour l'anguille d'Europe, *A. anguilla*), mais l'aire de reproduction, en pleine mer des Sargasses dans le Sud-Ouest de l'Atlantique Nord. Les informations concernant l'état de maturité de l'anguille d'Amérique migrante demeurent par ailleurs insuffisantes, voire, incomparables avec la littérature existante chez les autres congénères.

Il est de l'avis de l'auteure que l'étude sur la biologie de reproduction des anguilles de l'Atlantique (c.-à-d. les anguilles d'Amérique et d'Europe) et des *Anguillidae* en général se bonifierait à être davantage considérée comme un tout. Cette thèse démontre entre autres les bénéfices d'une approche comparative directe entre les anguilles d'Amérique et d'Europe capturées aux fins de cette étude tout en les situant suivant la littérature existante chez les autres *Anguillidae*. La caractérisation du développement ovarien et de maints acteurs neuroendocriniens gonadotropes associés génère, chez l'anguille d'Amérique, de toutes nouvelles informations contribuant à améliorer l'état général des connaissances sur la biologie de reproduction des *Anguillidae*. Cette thèse s'intéresse non seulement à mettre en contraste, de manière étayée, les caractéristiques mesurées chez les anguilles de l'Atlantique migrantes lors de la dévalaison, mais également à comparer leur réponse des suites d'un traitement de maturation artificielle de même durée et selon des conditions expérimentales mimant, de manière simplifiée, le milieu naturel de migration océanique (courant, salinité, température). Ce dernier exercice a permis d'observer, chez l'anguille d'Amérique, des spécimens en état de se reproduire ou en voie de l'être, et de souligner certaines caractéristiques prometteuses dans l'identification des géniteurs potentiels. Elle fait également ressortir des généralités possiblement applicables aux autres *Anguillidae* selon l'état de développement ovarien observé au moment de la migration. Les recommandations finales devraient être testées à plus grande échelle et/ou chez d'autres *Anguillidae* pour pouvoir être intégrées aux programmes de conservation d'une espèce en particulier, notamment pour un suivi plus complet des populations intégrant leur potentiel reproducteur, ou en vue de la reproduction artificielle.

*À mes parents, Jean Moffett et Marie Thibault
À ceux qui ont su m'inspirer et me supporter
À ces incroyables et fascinantes créatures*

REMERCIEMENTS

Je remercie mon directeur de recherche, Patrice Couture, de m'avoir offert de réaliser ce projet où j'ai eu l'occasion, au fil des ans, de vivre toutes sortes d'expériences, de faire des rencontres déterminantes, et de m'affirmer comme chercheuse. L'aventure a été longue, remplie de défis attendus et inattendus, et enfin, a donné lieu à une fin heureuse. Entre temps, j'ai vieilli un peu trop, mais j'en sors plus forte, et éternellement liée d'amitié avec un extraordinaire poisson.

Je remercie ma codirectrice de recherche, Sylvie Dufour, de m'avoir ouvert les bras de l'autre côté de l'Atlantique. J'ai appris aux côtés d'une équipe formidable, rigoureusement et assidûment, tout en y découvrant des personnes et de chaleureuses traditions. Mon passage à Paris m'aura certes insufflé une nouvelle dynamique, ouvert des horizons et transmis un modèle de formule gagnante.

Je tiens à saluer tous les partenaires qui ont donné vie à ce projet et l'ont outillé de fructueuses collaborations et de services inestimables : INRS-ETE (équipes P. Couture, Peter G.C. Campbell), MFFP (équipe Guy Verreault, Caroline Côté, Johanne Dussureault), LARSA (équipe Serge Higgins, Jean-Christophe Therrien, Jade Larivière), Université Laval (équipes Louis Bernatchez, Julian J. Dodson), UMass Dartmouth (équipe Kenneth Oliveira), MNHN (équipes S. Dufour, Coralie Martin), Station expérimentale IRSTEA (équipe Patrick Lambert), Station marine d'Arcachon (équipe Magalie Baudrimont, Fabien Pierron), LPTC (équipe Hélène Budzinski, Pierre Labadie), PHIC (équipe Françoise Gaudin), tous les collaborateurs du projet franco-québécois IMMORTEEL, incluant, à mes débuts dans l'univers des anguilles, Catherine M. Couillard (MPO), Yves Mailhot (MFFP), et toutes les personnes associées à l'échantillonnage des anguilles en milieu naturel et éventuellement en bassin. Je suis reconnaissante envers tous ceux que j'ai côtoyés et qui ont partagé certains de mes défis pendant le doctorat : échantillonnages expérimentaux, collecte et maturation artificielle des anguilles, gestion des anguilles malades, transport international des échantillons, travail en laboratoire, et analyse d'image et statistique, ainsi qu'envers mes quelques mentors, mes collègues, et mes coéquipiers « anguille ». Je pense à Alain Rousseau pour ses encouragements soutenus, et à tout mon jury d'évaluation de thèse, P. Couture, S. Dufour, Valérie Langlois, Catherine Pasqualini-Lâm et Céline Audet, pour le regard que vous avez posé sur mes travaux et sur les pages de cette consécration. Je voudrais souligner l'apport des organismes subventionnaires pour la réalisation de ce projet, le CRSNG du Canada et l'ANR de France, et pour le soutien financier que j'ai reçu pendant les premières années de mon doctorat, de même que l'apport apprécié de mes bourses de mobilisation (MEQ/INRS, CNRS) et de soutien (Fonds anonyme FUQ).

Merci spécialement à Sarah Bureau du Colombier pour avoir réalisé la maturation artificielle de l'anguille d'Europe, à Françoise Gonnert pour ta contribution aux préparations histologiques d'ovaires, à Sylvie Baloche pour ta contribution aux dosages immuno-enzymatiques des stéroïdes sexuels, à Gersende Maugars et Anne-Gaëlle Lafont, en particulier pour avoir réalisé les PCR et démarches menant à la connaissance de nouvelles séquences nucléotidiques chez l'anguille d'Amérique, à la plateforme PHIC qui m'a gracieusement permis d'utiliser un numériseur à haute résolution pour la capture d'image des lames histologiques d'ovaires, à Charles Gignac pour ta contribution à l'analyse des images ovariennes et la détermination du stade de maturité des anguilles, de même que pour ta contribution au langage R associé aux analyses statistiques, à Eloïse Lemaire pour ta contribution aux dosages colorimétriques des lipides dans les petits échantillons et la préparation de ces derniers, et finalement, à Géraldine Patey, Antoine Caron, Pauline Pannetier, Mariem Fadhlouï, Julie Grasset, Maikel Rosabal R., Dominic Ponton, Jérémy Gaudin et Lucie Baillon pour votre bonne collaboration à un moment ou un autre de mon doctorat, et à tous, pour les amitiés partagées, au Québec comme en France. J'apprécie particulièrement l'accueil reçu à Paris, St-Pair-sur-Mer, Cestas, St-Seurin-sur-l'Isle, Arcachon, Dartmouth, Bainsville, Trois-Rivières, Québec, Rivière-du-Loup, Mont-Joli et Gaspé ; vous avez tous et toutes enrichi mon expérience.

Merci à tous ceux qui m'ont épaulée pendant toutes ces années, ma famille, en particulier mes parents, Jean et Marie, qui m'ont transmis la persévérance, la passion et le sérieux nécessaires à l'accouchement de cette thèse, et mon conjoint, Charles, mon fort dans la tempête, toujours à mes côtés malgré mes élucubrations et ma voix chantante par-dessus les flots de la vie, tu m'auras aidé d'innombrables manières. Merci à mes amis de France, à tous les proches avec qui j'ai conservé de beaux liens d'amitiés, mais également à ceux qui se sont joints en cours de route, autour d'un verre, d'une table, d'un chant ou d'une escapade. Vous avez été compréhensifs quand j'étais trop occupée et vous m'avez aidé à saisir le jour. Voici enfin le fruit de mes efforts.

RÉSUMÉ

Peu d'informations sont disponibles sur la biologie de reproduction des deux espèces d'anguilles de l'Atlantique (c.-à-d. les anguilles d'Amérique et d'Europe) même après avoir suscité plus d'un siècle de recherches scientifiques au sein de la très ancienne famille des *Anguillidae*, 19 espèces/sous-espèces étant aujourd'hui presque toutes en voie d'extinction ou menacées de l'être. Isolées des espèces de l'Indo-Pacifique et de l'Océanie, les anguilles d'Amérique (*Anguilla rostrata*) et d'Europe (*A. anguilla*) sont les seules à grandir dans les eaux continentales bordant l'océan Atlantique. Après avoir vécu quelques années à quelques décennies, elles acquièrent, pendant ou vers la fin d'un long et sinueux voyage effectué jusque dans la mer des Sargasses et en étant à jeun, la capacité à se reproduire, puis elles meurent. Mis à part les différentes raisons documentées comme ayant contribué au déclin, l'état des géniteurs est considéré avec grande importance puisqu'il pourrait faire partie des raisons. Or, les connaissances sur la biologie de reproduction se limitent à quelques stades de maturité accessibles par espèce selon l'avancement des migrateurs, tous immatures, ou à ceux issus de la maturation artificielle en bassin. La présente thèse a donc entrepris d'améliorer l'état des connaissances sur la biologie de reproduction des migrateurs lors de la dévalaison et en réponse à la maturation induite en utilisant 11 injections intrapéritonéales hebdomadaires (extrait hypophysaire) par le biais d'une approche comparative directe entre des anguilles d'Amérique et d'Europe. Les anguilles de l'Atlantique ont été échantillonnées pendant la période de dévalaison dans le fleuve Saint-Laurent au Québec (2012) et dans l'estuaire de la Gironde et le bassin d'Arcachon en France (2013). Plusieurs acteurs impliqués dans la neuroendocrinologie de l'axe gonadotrope et le développement des ovaires ont été mesurés dans le plasma sanguin (dosages immuno-enzymatiques) ou *via* le niveau de la transcription de gènes dans plusieurs tissus (PCR quantitative en temps réel) : les gonadolibérines cérébrales (*gnrh1*, *gnrh2*), les hormones gonadotropes hypophysaires (*fshβ*, *lhβ*), la vitellogénine hépatique (*vlg1* et *vlg2* dosés ensemble), le récepteur nucléaire à estrogène (*esr1*) des tissus correspondants, et les stéroïdes sexuels plasmatiques majeurs (testostérone (T), 11-cétotestostérone (11KT), 17β-estradiol (E2)). Cette thèse laisse surtout place à la comparaison interspécifique de ces acteurs, mais elle fait également ressortir l'importance de variables biologiques clés dans le contexte du développement sexuel des anguilles, telles que l'âge des migrateurs, et d'autres variables biologiques quantifiées aux fins de l'étude : le stade de maturité ovarien (observation histologique des ovocytes) et la teneur corporelle en lipides totaux (la portion mesurée dans le foie, la masse musculaire, les ovaires et leur somme). La vue d'ensemble des relations prenant place entre les variables de l'axe gonadotrope et les autres variables biologiques pendant la maturation sexuelle contribue à caractériser, pour la première fois et de manière directement comparable à la biologie de reproduction de l'anguille d'Europe (ayant déjà été étudiée sous divers angles), celle de l'anguille d'Amérique, pour laquelle les informations disponibles demeuraient insuffisantes et incomparables avec les autres congénères. Cette thèse démontre à plusieurs niveaux que l'état des migrateurs de l'anguille d'Amérique du Saint-Laurent est clairement plus avancé que chez l'anguille d'Europe de Gironde et Arcachon, et qu'il rejoint, pour quelques spécimens, l'état des migrateurs de l'espèce la plus avancée de toutes, l'anguille de Nouvelle-Zélande (*A. dieffenbachii*). Cette thèse avait donc pour défi de mettre en contraste l'espèce la moins avancée (*A. anguilla*) à la deuxième plus avancée de toutes (*A. rostrata*). L'ensemble des résultats suggère davantage d'implication de la GnRH2 (non pas seulement celle de la GnRH1) dans le développement sexuel de l'anguille en accord avec un axe GnRH-LH et des rétrocontrôles positifs spécifiques à l'E2 (ESR1). La thèse vient également corroborer l'influence de la 11KT et l'E2 sur le stade de maturité avant/jusqu'à et à partir de la vitellogenèse, respectivement, et elle s'ajoute aux études s'intéressant à l'élaboration d'outils minimalement invasifs pour identifier les géniteurs potentiels en vue de la reproduction artificielle. S'ajoutant à la littérature existante au sein des *Anguillidae*, les résultats suggèrent que l'âge et la condition (indice de «rondeur»/«bien-être») des anguilles soient des caractéristiques d'histoire de vie clés pour ces deux périodes développementales, respectivement. La comparaison de la biologie de reproduction des anguilles de l'Atlantique à l'étude est un défi en partie dû à leur différence de taille et d'âge, et possiblement en lien, à la différence dans le stade de maturité atteint lors de la migration de dévalaison et après une maturation artificielle de même durée (11 semaines de traitement). Cette thèse pourra servir de référence pour élaborer des études à plus grande échelle chez l'anguille d'Amérique ou chez d'autres espèces en vue de suivre les géniteurs potentiels et mieux évaluer l'état des stocks d'anguilles en déclin.

Mots-clés : *Anguilla* ; axe gonadotrope ; développement ovarien ; géniteur ; maturation ; ovocyte ; régulation neuroendocrinienne ; stade de maturité ; stéroïde sexuel ; vitellogenèse.

ABSTRACT

Little is known on the reproductive biology of the two Atlantic eel species (*i. e.* American and European eels), even after more than a century of scientific research among the ancient *Anguillidae* family, 19 species/subspecies being almost all endangered or threatened. Isolated from other Indo-Pacific and Oceania species, only American (*Anguilla rostrata*) and European (*A. anguilla*) eels inhabit continental waters ashore off the Atlantic Ocean. Eels of both species, after having grown for years or decades in their habitat, reach puberty during or at the end of a long and sinuous journey up to the Sargasso Sea where they reproduce and die. Furthermore, the state of the spawners is thought to be one of many reasons why eel populations have declined. Yet, knowledge on their reproductive biology is limited to the few available stages of maturity depending on species and state of ovary in downstream migrants, all immature, or to those derived from controlled artificial maturation. This thesis has undertaken to improve the state of knowledge on reproductive biology in downstream migrants as well as in response to induced maturation with 11 weekly intraperitoneal injections (pituitary extract) through a direct comparative approach between American and European eels. Atlantic eels were sampled during their downstream migration along the St. Lawrence River in Quebec (2012) and in the Gironde Estuary and Arcachon Lagoon in France (2013). Several actors involved in gonadotropic axis neuroendocrinology and ovary development were measured in blood plasma (enzyme immunoassays) or through transcript level of genes in various tissues (quantitative real-time PCR): brain gonadotropin-releasing hormones (*gnrh1*, *gnrh2*), pituitary gonadotropic hormones (*fsh β* , *lh β*), liver vitellogenin (*vtg1* and *vtg2* assayed as one), nuclear estrogen receptor (*esr1*) in the corresponding tissues, and major plasma sex steroids (testosterone (Y), 11-ketotestosterone (11KT), estradiol-17 β (E2)). This thesis mainly articulates interspecific comparisons of the latter actors, but in the context of eel sexual development, it also focuses on key biological variables such as age of migrants and additional biological variables quantified for the purpose of this study: ovarian stage of maturity (histological observation of oocytes) and body content in total lipids (from liver, muscle mass, ovary and their sum). Overview of relationships taking place between gonadotropic axis variables and other biological variables during sexual maturation helps to characterize, for the first time and in a comparable manner to the reproductive biology of the European eel (that was studied from various angles before), that of the American eel, for which the available information was still insufficient and incomparable to other congeners. This thesis demonstrates at several levels that the state of St. Lawrence American eel migrants was clearly more advanced than in European eels from Gironde and Arcachon, and that it reached, for a few specimens, that in migrants of the most advanced species of all, the New-Zealand eel (*A. dieffenbachii*). This thesis had therefore to rise to the challenge of contrasting the least advanced species (*A. anguilla*) to the second most advanced species of all (*A. rostrata*). Overall results suggest GnRH2 (and not only GnRH1) as more involved in eel sexual development, in agreement with a GnRH-LH axis and positive E2-specific feedbacks (ESR1). The thesis also corroborates the influence of 11KT and E2 on stage of maturity prior/up to and from vitellogenesis, respectively, and adds up to studies interested in finding minimally invasive tools towards identification of potential spawners for artificial reproduction. Adding to the existing body of literature on *Anguillidae* eels, the results suggest age and condition (an index of “plumpness”/“well-being”) as key life history characteristics for the two developmental periods, respectively. Comparing the reproductive biology of Atlantic eels under study is a challenge partly due to their differing size and age, and possibly related, to their contrasting stage of maturity at downstream migration and after artificial maturation of the same duration (11 weeks of treatment). This thesis can serve as a baseline for developing larger-scale studies on the American eel or other species in monitoring potential spawners and better assess the state of eel stocks.

Key words: *Anguilla*; gonadotropic axis; maturation; neuroendocrine regulation; oocyte; ovarian development; sex steroid; spawner; stage of maturity; vitellogenesis.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	iii
REMERCIEMENTS.....	vii
RÉSUMÉ.....	ix
ABSTRACT.....	xi
TABLE DES MATIÈRES	xiii
LISTE DES FIGURES.....	xvii
LISTE DES TABLEAUX	xix
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xxi
1 INTRODUCTION	1
1.1 Anguilles de l'Atlantique	1
1.1.1 Aire de répartition géographique.....	1
1.1.2 Groupe de l'Atlantique	2
1.2 Cycle et histoire de vie	2
1.2.1 Périodes larvaire et juvénile	6
1.2.2 Argenture et prépuberté	8
1.2.3 Migration, puberté et reproduction	10
1.3 Déclin	13
1.3.1 État de la situation	13
1.3.2 Importance de la biologie de reproduction	13
2 OBJECTIFS ET ORGANISATION DE LA THÈSE.....	17
2.1 Objectif 1 — Comparer l'état des anguilles de l'Atlantique au moment de la migration de reproduction.....	17
2.1.1 Sous-objectif 1.1 — Comparer le développement des ovaires.....	18
2.1.2 Sous-objectif 1.2 — Comparer la neuroendocrinologie associée.....	18
2.2 Objectif 2 — Comparer la réponse des anguilles de l'Atlantique migrantes à la maturation sexuelle induite	19
2.2.1 Sous-objectif 2.1 — Comparer le développement des ovaires.....	20
2.2.2 Sous-objectif 2.2 — Comparer la neuroendocrinologie associée.....	20
2.3 Objectif 3 — Déterminer les implications pour la compréhension de la biologie de reproduction au sein des Anguillidæ	20
2.3.1 Sous-objectif 3.1 — Intégrer la dimension biologique et environnementale	20
2.3.2 Sous-objectif 3.2 — Déterminer les facteurs les plus influents	21
2.3.3 Sous-objectif 3.3 — Élaborer des recommandations pour le suivi du potentiel reproducteur	21
3 BIOLOGIE DE REPRODUCTION CHEZ LES ANGUILLIDÆ.....	23
3.1 Développement des ovaires.....	23
3.2 Régulation neuroendocrinienne	29
4 MATÉRIEL ET MÉTHODES	39
4.1 Sites géographiques et spécimens capturés.....	39
4.1.1 Anguilles du fleuve Saint-Laurent et de l'estuaire moyen	39
4.1.2 Anguilles de l'estuaire de la Gironde et du bassin d'Arcachon	39
4.1.3 Déroulement de l'acclimatation en bassin et conditions expérimentales	41

4.2	Design expérimental et maturation artificielle	42
4.2.1	Facteurs, groupes et effectifs de l'étude	43
4.2.2	Modalités des traitements administrés.....	43
4.3	Collecte des tissus et mesures biométriques.....	43
4.3.1	Mesures et prélèvements	43
4.3.2	Indices calculés.....	44
4.4	Détermination de l'âge.....	46
4.4.1	Préparation des otolithes et prise d'images	46
4.4.2	Estimation de l'âge	47
4.5	Quantification des lipides	47
4.5.1	Teneur en lipides et en eau des gros échantillons.....	47
4.5.2	Teneur en lipides et en eau des petits échantillons	47
4.6	Évaluation du stade de maturité	48
4.6.1	Préparation histologique des ovaires et prise d'images.....	48
4.6.2	Stades ovocytaires et méthode de quantification.....	49
4.6.3	Mesures additionnelles et approche de validation	51
4.7	Détermination de la teneur en stéroïdes sexuels.....	51
4.8	Quantification des produits de la transcription de gènes	52
4.8.1	Extraction d'ARN.....	52
4.8.2	Synthèse d'ADN complémentaire	52
4.8.3	Amplification et clonage des séquences partielles d'ADN complémentaire	53
4.8.4	Amorces pour PCR quantitative en temps réel.....	53
4.8.5	PCR quantitative en temps réel	54
4.9	Analyses statistiques.....	56
4.9.1	Analyse de la variance factorielle.....	56
4.9.2	Matrices de corrélations bivariées et classification ascendante hiérarchique.....	57
5	BIOLOGIE DE REPRODUCTION COMPARÉE DES ANGUILLES DE L'ATLANTIQUE ARGENTÉES MIGRANTES À L'ÉTUDE	59
5.1	Mesures biométriques et âge	59
5.1.1	État des migrateurs (×0).....	59
5.1.2	Réponse à la maturation artificielle (×11).....	61
5.2	Stade de maturité	62
5.2.1	État des migrateurs (×0).....	62
5.2.2	Réponse à la maturation artificielle (×11).....	62
5.3	Teneur en stéroïdes sexuels	64
5.3.1	État des migrateurs (×0).....	68
5.3.2	Réponse à la maturation artificielle (×11).....	68
5.4	Teneur en produits de la transcription de gènes	70
5.4.1	État des migrateurs (×0).....	70
5.4.2	Réponse à la maturation artificielle (×11).....	70
5.5	Structure relationnelle des variables à l'étude	72
5.5.1	Variables de l'axe gonadotrope et entourant le développement ovarien	74
5.5.2	Variables biologiques potentiellement influentes.....	74
6	PORTÉE DE L'ÉTUDE POUR LA COMPRÉHENSION DE LA BIOLOGIE DE REPRODUCTION AU SEIN DES ANGUILLIDÆ	77
6.1	État des anguilles argentées au moment de la migration	77
6.1.1	Développement ovarien.....	77
6.1.2	Biologie et environnement.....	78

6.1.3	Axe gonadotrope.....	80
6.2	Réponse des anguilles argentées migrantes à la maturation sexuelle induite.....	84
6.2.1	Développement ovarien	84
6.2.2	Biologie et environnement.....	85
6.2.3	Axe gonadotrope.....	87
6.3	Biologie de reproduction des anguilles en cours de maturation sexuelle	90
6.3.1	Approche intégrée.....	90
6.3.2	Potentiel de reproduction.....	91
7	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	93
7.1	État des migrateurs et implications	93
7.2	Réponse à la maturation et implications	94
7.3	Recommandations finales et perspectives à développer	97
8	BIBLIOGRAPHIE.....	111
9	ANNEXES	139
9.1	Annexe I – Limitations et perspectives d’automatisation de la méthode de quantification du stade de maturité des anguilles en lien avec la thèse	139
9.1.1	La préparation histologique	139
9.1.2	L’analyse d’image	140
9.2	Annexe II – Données supplémentaires pour les anguilles de l’Atlantique à l’étude	143
9.2.1	Mesures biométriques	143
9.2.2	Stade de maturité et paramètres associés.....	146
9.2.3	Teneurs en stéroïdes et en produits de la transcription de gènes de l’axe gonadotrope	147
9.2.4	Ensemble des relations entre les différentes variables	148
9.3	Annexe III – Articles en préparation.....	153
9.3.1	Article 1 – Histological and neuroendocrine characterization of the reproductive state in female American eel (<i>Anguilla rostrata</i>) during downstream migration and comparison to its sister species, the European eel (<i>A. anguilla</i>).....	153
9.3.2	Article 2 – Response of brain-pituitary-gonadal axis in migrating female American eels during artificial maturation and ovarian transfer of metallic and organic contaminants	153
9.3.3	Article 3 – Potential impact of organic and inorganic contaminants on the vitellogenic response of migrating female European eels under artificial maturation	153

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1.1	Aire de répartition géographique des anguilles de l'Atlantique et des autres <i>Anguillidæ</i>	2
FIGURE 1.2	Classification phylogénétique des espèces d' <i>Anguillidæ</i> et groupes géographiques.....	3
FIGURE 1.3	Cycle de vie de l'anguille	4
FIGURE 1.4	Distribution des larves et estimation du lieu de reproduction des anguilles de l'Atlantique.....	5
FIGURE 1.5	Régulation neuroendocrinienne des changements ontogéniques/métamorphoses des vertébrés	9
FIGURE 1.6	Relief de l'océan Atlantique Nord	12
FIGURE 1.7	Évolution des stocks d'anguilles de l'Atlantique et du Japon	14
FIGURE 3.1	Séquence de développement ovocytaire survenant chez l'anguille	26
FIGURE 3.2	Contrôles majeurs de l'axe gonadotrope pour un ovocyte d'anguille sous vitellogenèse	30
FIGURE 3.3	Voies majeures de la stéroïdogenèse dans les cellules folliculaires en développement de l'anguille...	33
FIGURE 4.1	Engins de pêche à anguille utilisés dans le cadre de la thèse.....	40
FIGURE 4.2	Origine des anguilles d'Amérique et d'Europe considérées dans la thèse	41
FIGURE 4.3	Régressions utilisées pour calculer la masse prédite des anguilles en fonction de la longueur	45
FIGURE 5.1	Gamme d'ovocytes observés chez les anguilles d'Amérique (G-M) et d'Europe (A-F) à l'étude	65
FIGURE 5.2	Données relatives au développement ovarien des anguilles d'Amérique et d'Europe à l'étude	66
FIGURE 5.3	Ovocyte en vitellogenèse intermédiaire d'une anguille d'Amérique avant maturation artificielle.....	67
FIGURE 5.4	Teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels des anguilles d'Amérique et d'Europe à l'étude	69
FIGURE 5.5	Teneurs tissulaires en produits de la transcription des anguilles d'Amérique et d'Europe à l'étude	71
FIGURE 5.6	Structure relationnelle des variables pour les anguilles d'Amérique et d'Europe à l'étude	73
FIGURE 7.1	Teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels des anguilles à l'étude selon le stade de maturité.....	98
FIGURE 7.2	Teneurs tissulaires en produits de la transcription des anguilles à l'étude selon le stade de maturité	99
FIGURE 7.3	Valeurs seuil associées aux géniteurs à fort potentiel de reproduction chez l'anguille d'Amérique ...	101
FIGURE 7.4	Structure des variables à l'étude chez l'anguille d'Amérique incluant les contaminants tissulaires	103
FIGURE 7.5	Structure des variables à l'étude chez l'anguille d'Europe incluant les contaminants tissulaires	104
FIGURE 7.6	Transfert des métaux dans les ovaires des anguilles sous maturation artificielle	106
FIGURE 7.7	Transfert des contaminants organiques dans les ovaires des anguilles sous maturation artificielle ...	107

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 2.1	Répertoire des stades de maturité ovocytaire considérés pour la réalisation de la thèse	18
TABLEAU 2.2	Répertoire des acteurs de l'axe gonadotrope examinés pour la réalisation de la thèse	19
TABLEAU 2.3	Répertoire des principales variables biologiques retenues pour la réalisation de la thèse	21
TABLEAU 4.1	Évaluation du stade de maturité ovocytaire des anguilles et autres paramètres quantifiés	50
TABLEAU 4.2	Renseignements sur les amorces de PCR (A) et qPCR (B) des gènes retenus dans la thèse	54
TABLEAU 5.1	Âge et mesures biométriques des anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude	60
TABLEAU 5.2	Stade de maturité et paramètres associés des anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude	63

LISTE DES ABRÉVIATIONS

τ_b	Coefficient tau-b de Kendall
$\times 0$	Aucune injection (sacrifice au temps initial)
$\times 11$	11 injections hebdomadaires (sacrifice au temps final)
11KT	11-Cétotestostérone (<i>11-Ketotestosterone</i>)
AA	<i>Anguilla anguilla</i> Schrank, 1798 (anguille d'Europe)
ACT β	Isoforme β de l'actine
AD	<i>Anguilla dieffenbachii</i> Gray, 1842 (anguille à longues nageoires de Nouvelle-Zélande)
AJ	<i>Anguilla japonica</i> Temminck et Schlegel, 1846 (anguille du Japon)
AR	<i>Anguilla rostrata</i> Le Sueur, 1817 (anguille d'Amérique)
AU	<i>Anguilla australis</i> Richardson, 1841 (anguille à courtes nageoires d'Australie)
BD	Épaisseur du corps (<i>Body Depth</i>)
BL	Longueur totale du corps (<i>Body Length</i>), syn. taille
BW	Masse totale du corps (<i>Body Weight</i>)
BW'	BW prédite selon BL d'après la relation de puissance BW(g) – BL(cm) de la population
CAP	Phase « capacité à se reproduire » (cycle reproductif)
CCC	Coefficient de corrélation cophénétique
CF	Cellules folliculaires entourant l'ovocyte
CL	Coalescence des VL dans l'ovocyte
C _p	Pourcentage de paires d'observations concordantes (association positive)
CPE	PE de carpe (<i>Carp Pituitary Extract</i>)
Ctrl	Contrôle
CV	Coalescence des VV dans l'ovocyte
DEV	Phase « développement » (cycle reproductif)
D _p	Pourcentage de paires d'observations discordantes (association négative)
DSI	Rapport tube digestif-somatique (<i>Digestive tract-somatic Index</i>)
E2	17 β -Estradiol
E _a	Écart absolu (MIN–MAX)
ED	Diamètre de l'œil (<i>Eye Diameter</i>) horizontal (ED _h), vertical (ED _v) ou moyen (ED _m)
E _i	Écart interquartile (Q1–Q3)
EI	Indice de l'œil (<i>Eye Index</i>)
ESR1	Forme 1 du récepteur nucléaire à estrogène (<i>Estrogen Nuclear Receptor</i>)
EV	Enveloppe vitelline de l'ovocyte
FI	Indice de la nageoire (<i>Fin Index</i>)
FSH β	Sous-unité β de l'hormone folliculo-stimulante (<i>Follicle-Stimulating Hormone</i>)
FSI	Rapport lipido-somatique (<i>Fat-somatic Index</i>) total, hépatique, musculaire ou ovarien
GDO	Plus grand diamètre de l'ovocyte (passant par le centre du noyau)

GH	Hormone de croissance ou somatotrope (<i>Growth Hormone</i> ou <i>Somatotropin</i>)
GnRH1, 2	Formes 1 et 2 de la gonadolibérine (<i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i>)
GR	Groupe issu de la combinaison des facteurs expérimentaux SP et TR (parfois SA)
GSi	Rapport gonadosomatique (<i>Gonadosomatic Index</i>)
GTH	Hormones gonadotropes (<i>Gonadotropic hormones</i>) FSH et LH
GW	Masse totale des gonades (<i>Gonad Weight</i>)
H&E	Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine
HSI	Rapport hépato-somatique (<i>Hepatosomatic Index</i>)
HYD	Hydratation de l'ovocyte
IGF	Facteurs de croissance analogues à l'insuline (<i>Insulin-like Growth Factors</i>)
IMM	Phase « immaturité » (cycle reproductif)
K	Indice de condition (<i>Condition factor</i>) utilisant $[BW_{(g)}/(BL^3_{(cm)})]$
K'	Indice de condition (<i>Condition factor</i>) remplaçant BW par BW'
K _n	Indice de condition relative (<i>Relative condition factor</i>) utilisant $[BW/BW']$
LDM	Limite de détection de la méthode
LHβ	Sous-unité β de l'hormone lutéinisante (<i>Luteinizing Hormone</i>)
LW	Masse totale du foie (<i>Liver Weight</i>)
Ma	Médiane (Q2)
MIH	Hormone d'induction de la maturation DHP (17α,20β-Dihydroxy-4-prégnen-3-one)
M _y	Moyenne
OM	Maturation de l'ovocyte (<i>Oocyte maturation</i>) couvrant les stades 4
PBO	Solution placebo (sans PE)
PDO	Plus petit diamètre de l'ovocyte (passant par le centre du noyau)
PE	Solution à base d'extrait hypophysaire (<i>Pituitary extract</i>)
POF	Follicules post-ovulatoires (<i>Postovulatory Follicles</i>)
Q1, 2, 3	1 ^{er} , 2 ^e et 3 ^e quartile
qPCR	PCR quantitative en temps réel (<i>Quantitative real-time PCR</i>)
RDNO	Ratio de diamètre du noyau sur l'ovocyte
RSL	Ratio de surface des VL
RSV	Ratio de surface des VV
S18	ARN ribosomique S18
SA	Facteur expérimental « Temps d'échantillonnage » (<i>Sampling time</i>) : ×0 ou ×11
SP	Facteur expérimental « Espèce » (<i>Species</i>) : AR ou AA
SPE	PE de saumon (<i>Salmon Pituitary Extract</i>)
Stade	Stade de maturité ovocytaire le plus avancé par anguille à moins d'avis contraire
Stade 1-PG1	Croissance primaire précoce (<i>Early Primary Growth</i>)
Stade 1-PG2	Croissance primaire avancée (<i>Late Primary Growth</i>)
Stade 2-PV1	Pré-vitellogenèse précoce (<i>Early Pre-Vitellogenesis</i>)

Stade 2-PV2	Pré-vitellogenèse avancée (<i>Late Pre-Vitellogenesis</i>)
Stade 3-VTG1	Vitellogenèse précoce ou primaire (EV, <i>Early Vitellogenesis</i>)
Stade 3-VTG2	Vitellogenèse intermédiaire ou secondaire (MV, <i>Mid Vitellogenesis</i>)
Stade 3-VTG3	Vitellogenèse avancée ou tertiaire (LV, <i>Late Vitellogenesis</i>)
Stade 4-GVM1	Migration précoce du noyau (<i>Early Germinal Vesicle Migration</i>)
Stade 4-GVM2	Migration avancée du noyau (<i>Late Germinal Vesicle Migration</i>)
Stade 4-GVBD	Dissolution du noyau (<i>Germinal Vesicle Breakdown</i>)
Stade 5-OV	Ovulation de l'œuf mature (<i>Ovulation of mature egg</i>)
Stade CA	Alvéoles corticales (<i>Cortical alveoli</i>) pour la plupart des téléostéens, syn. PV
Stade CN	Nucléus et condensation de la chromatine (<i>Chromatine nucleolus</i>), syn. PG1
Stade MN	Migration du noyau (<i>Migratory nucleus</i>), syn. GVM
Stade OD	Gouttelettes lipidiques (<i>Oil Droplet</i> ou <i>Lipid droplet</i>) chez les <i>Anguillidae</i> , syn. PV
Stade PN	Nucléoles en périphérie du noyau (<i>Perinucleolus</i>), syn. PG2
T	Testostérone
TR	Facteur expérimental « Traitement » (<i>Treatment</i>) : Ctrl×0, PE×11 ou PBO×11
TSH	Hormone thyroïdienne (<i>Thyrotropin</i>)
USLR–LO	Région tout en amont du fleuve St-Laurent <i>Upper St. Lawrence River–Lake Ontario</i>
VGP	Vésicules de glycoprotéines de l'ovocyte
VL	Vésicules de lipides de l'ovocyte
VV	Vésicules de vitellus de l'ovocyte
VTG	Vitellogénine

1 INTRODUCTION

Les 19 espèces/sous-espèces d'anguilles du genre *Anguilla* Schrank, 1798, forment à elles seules la famille des *Anguillidæ*, une des plus anciennes lignées de poissons téléostéens (63 ordres, 469 familles et plus de 29 500 espèces d'après NELSON et coll. (2016)) encore représentée aujourd'hui, donnant accès, par le fait même, à tout un patrimoine d'informations ancestrales (AOYAMA, 2009; WATANABE et coll., 2009, 2013). Tous les poissons anguilliformes (19 familles, plus de 800 espèces) vivent principalement en milieu marin, à l'exception de cette famille de poissons migrateurs (semelpares) retournant en pleine mer mais seulement au moment de se reproduire (INOUE et coll., 2010). L'ultime période de transition marine correspond également au moment où les anguilles acquièrent la capacité à se reproduire (leur puberté), une aptitude primordiale, surtout dans le contexte de leur déclin mondial. **La présente thèse mettra l'emphase sur les seules espèces réparties autour de l'océan Atlantique, les anguilles d'Amérique (AR, *Anguilla rostrata* Le Sueur, 1817) et d'Europe (AA, *A. anguilla* Linnæus, 1758), pour lesquelles le déclin est considérablement documenté, mais la biologie de reproduction doit encore se baser sur des techniques de reproduction artificielle ou sur des congénères plus avancés lors de la migration. L'état d'avancement sexuel d'AA est très peu avancé lors de la migration alors que celui d'AR est très peu documenté et n'a jamais été évalué de manière comparable à celui des autres *Anguillidæ*. Cette thèse constitue donc, en ce sens, une toute première caractérisation de la biologie de reproduction d'AR, une première étude comparative entre les espèces de l'Atlantique, et une nouvelle contribution aux connaissances chez les *Anguillidæ* dans leur ensemble.**

1.1 Anguilles de l'Atlantique

1.1.1 Aire de répartition géographique

Les anguilles sont largement réparties dans le monde, dans plus de 150 pays et à peu près partout en zones tempérées et tropicales, à l'exception des côtes bordant l'Atlantique Sud et l'ouest des Amériques (AOYAMA, 2009; JACOBY et coll., 2015). Les anguilles AR et AA occupent une grande partie de l'aire de répartition mondiale des *Anguillidæ*, mais plus distinctement, elles sont isolées géographiquement des 17 autres espèces/sous-espèces d'*Anguillidæ*, dans les eaux continentales avoisinant l'Atlantique Nord (FIGURE 1.1). Leur biogéographie, en partant du nord vers le sud, s'étend du sud du Groenland à l'est du Venezuela (et l'île de Trinité) pour AR, et du nord de la Norvège au sud du Maroc (et aux îles Canaries) pour AA (BENCHETRIT et MCCLEAVE, 2015; TESCH, 2003).

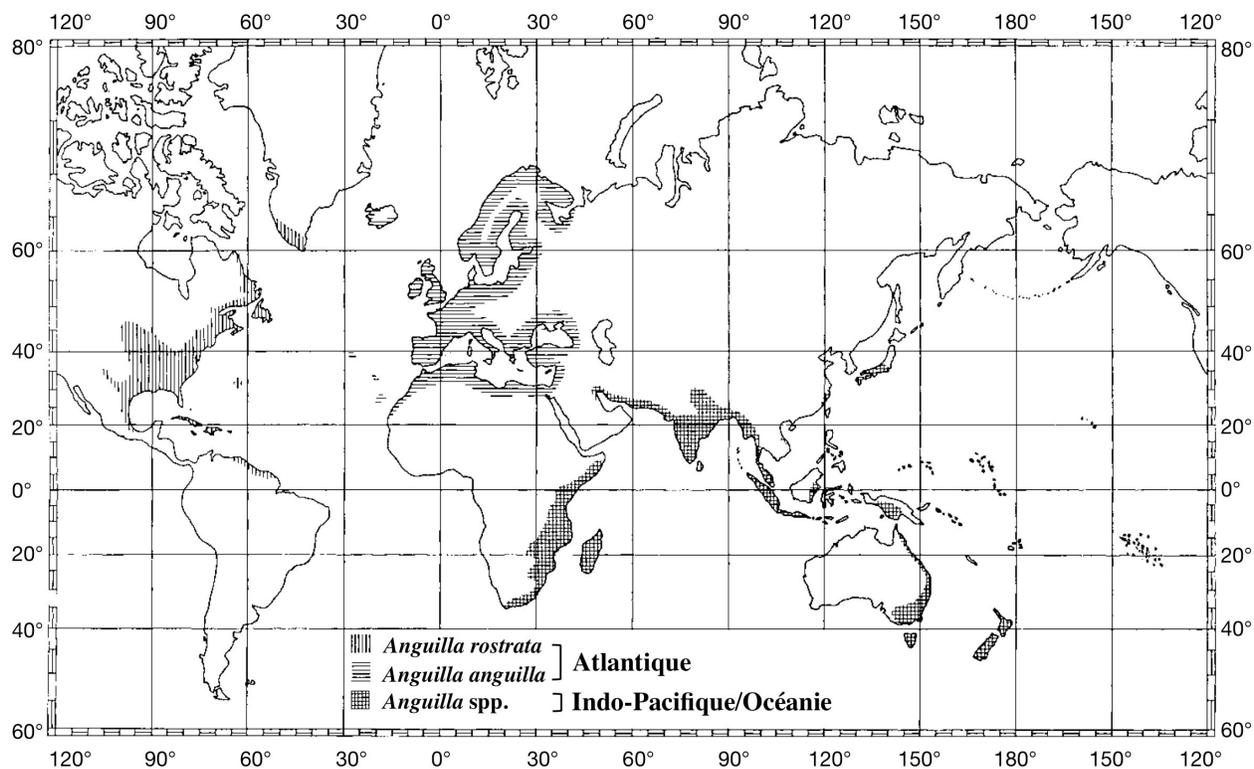


FIGURE 1.1 Aire de répartition géographique des anguilles de l'Atlantique et des autres *Anguillidæ*
Image adaptée de [TESCH \(2003\)](#).

1.1.2 Groupe de l'Atlantique

Les deux seules espèces vivant à proximité de l'océan Atlantique forment également, au niveau phylogénétique, un groupe distinct au sein des plus anciennes espèces d'*Anguillidæ* (**FIGURE 1.2**), en plus de représenter les deux espèces les plus proches génétiquement ([WATANABE, 2003](#)) et de partager une aire de reproduction partiellement commune ([MCCLEAVE, 2003](#) ; [SCHMIDT, 1923](#)). Les anguilles de l'Atlantique comptent même des hybrides situées aux confins de leur aire de répartition, presque exclusivement en Islande ([ALBERT et coll., 2006](#) ; [ALS et coll., 2011](#) ; [AVISE, 2003](#) ; [PUJOLAR et coll., 2014](#)).

1.2 Cycle et histoire de vie

Le remarquable cycle de vie des poissons du genre *Anguilla* débute par une longue période larvaire en mer (larve leptocéphale) précédant leur métamorphose en jeunes anguilles (les civelles), puis leur entrée dans divers plans d'eaux continentaux, où elles grandiront pendant quelques années à quelques décennies (en tant

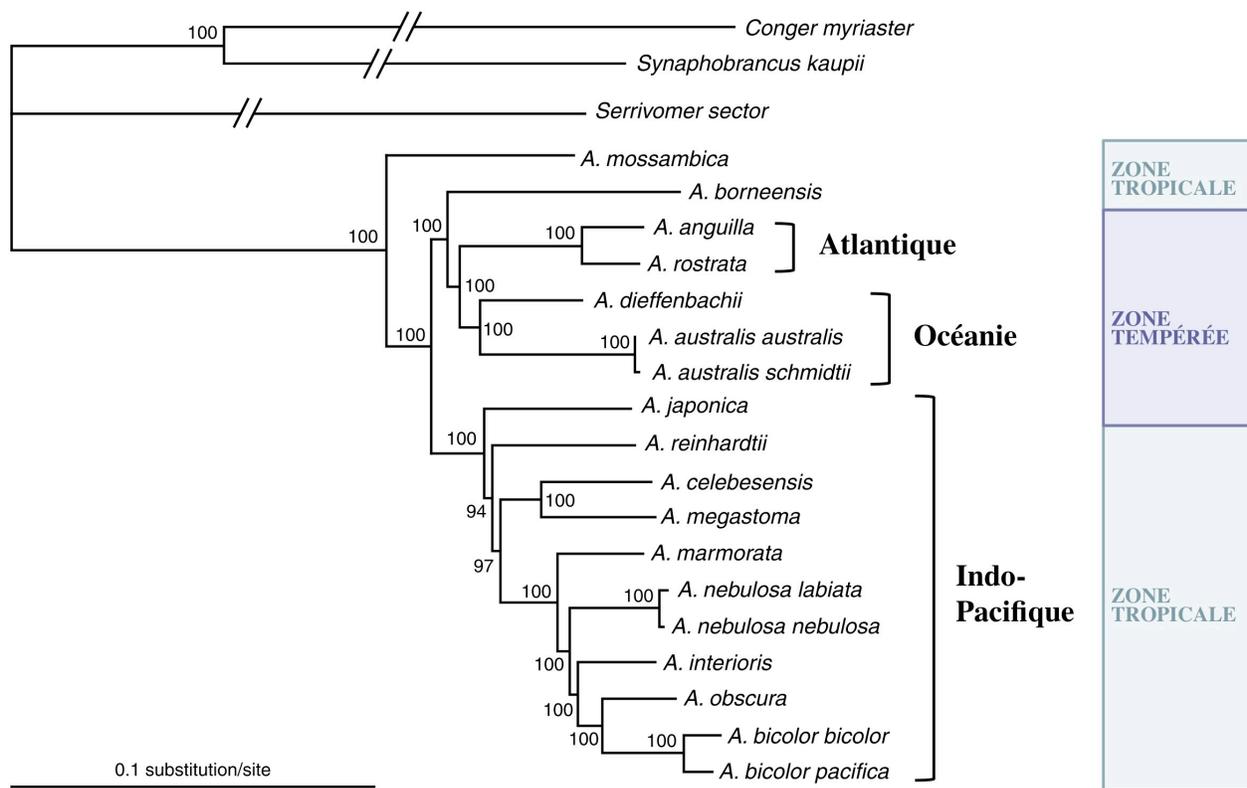


FIGURE 1.2 Classification phylogénétique des espèces d'Anguillidae et groupes géographiques

Les pourcentages indiqués avec les divisions représentent les probabilités de relation basées sur 9001 reconstitutions obtenues à partir du génome mitochondrial entier. D'autres anguilliformes sont présentés (*Conger myriaster*, *Synaphobranchus kaupii*) avec le plus proche parent des *Anguillidae* (*Serrivomer sector*) et l'espèce actuellement considérée comme étant ancestrale (*Anguilla mossambica*). Le clade des groupes en zone tempérée (Atlantique, Océanie) avec l'espèce endémique de l'île de Bornéo (*Anguilla Borneensis*) se distingue clairement du clade des autres espèces localisées en zone tropicale (Indo-Pacifique). Toutefois, l'espèce tropicale *A. reinhardtii* (EGE, 1939) a également été répertoriée en zone tempérée (JELLYMAN et coll., 1996; SLOANE, 1984). L'espèce de Bornéo serait la première à avoir divergé de l'ancêtre commun, et les groupes de l'Atlantique et de l'Océanie se seraient séparés par la suite. Une nouvelle espèce localisée en zone tropicale au nord des Philippines, *A. luzonensis*, a été identifiée quelques années après ces travaux (WATABANE et coll., 2009, 2013), expliquant son absence de l'arbre phylogénétique. Image adaptée de MINEGISHI et coll. (2005).

qu'anguilles jaunes) avant de boucler la boucle (une fois devenues anguilles argentées) dans l'océan (FIGURE 1.3). Le lieu précis de reproduction des anguilles de l'Atlantique n'a par contre jamais été tout à fait démystifié, mais dès les années 1904 à 1921, le biologiste danois Johannes Schmidt a réussi à circonscrire ce lieu alors qu'il effectuait des relevés de navigation en suivant des larves de plus en plus petites hors de la mer Méditerranée (SCHMIDT, 1923), au Sud-Ouest de l'océan Atlantique Nord, en mer des Sargasses (FIGURE 1.4A). Cette aire, et en particulier la localisation des larves plus petites que 10 mm, fût raffinée pendant les années 1979 à 1989 (FIGURE 1.4B) puis un peu plus tard (FIGURE 1.4C-D) grâce à des expéditions menées cette fois par Tesch et McCleave et leurs collaborateurs allemands et américains,

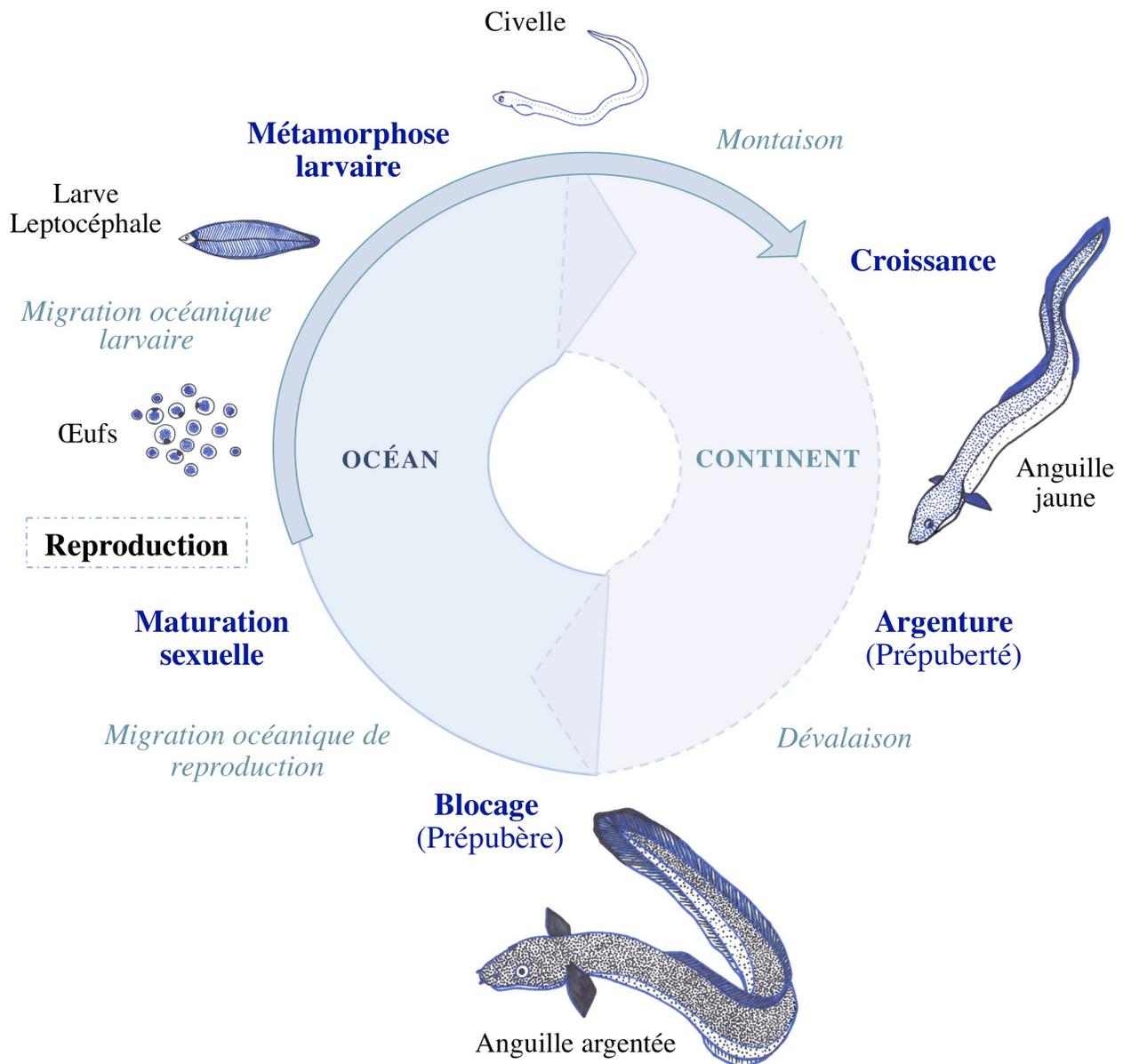


FIGURE 1.3 Cycle de vie de l'anguille

respectivement (MCCLEAVE, 2003 ; MILLER et CASSELMAN, 2014 ; MILLER et coll., 2015). Les informations recueillies ont permis de comprendre que l'aire de reproduction devait se situer dans les eaux chaudes du front de température de la zone de convergence subtropicale de manière analogue aux conditions trouvées au lieu de reproduction l'anguille du Japon (AJ, *A. japonica* Temminck et Schlegel, 1846) dans le Sud-Ouest de l'océan Pacifique Nord (AOYAMA, 2009 ; MILLER, 2003, 2009 ; TSUKAMOTO, 1992, 2009). Les expéditions de Tsukamoto et leurs collaborateurs japonais auront par ailleurs mené à la première découverte d'œufs (TSUKAMOTO et coll., 2011) et anguilles en état de se reproduire (majoritairement AJ avec quelques spécimens d'*A. marmorata* Quoy et Gaimard, 1824) (CHOW et coll., 2009), à l'ouest de la fosse

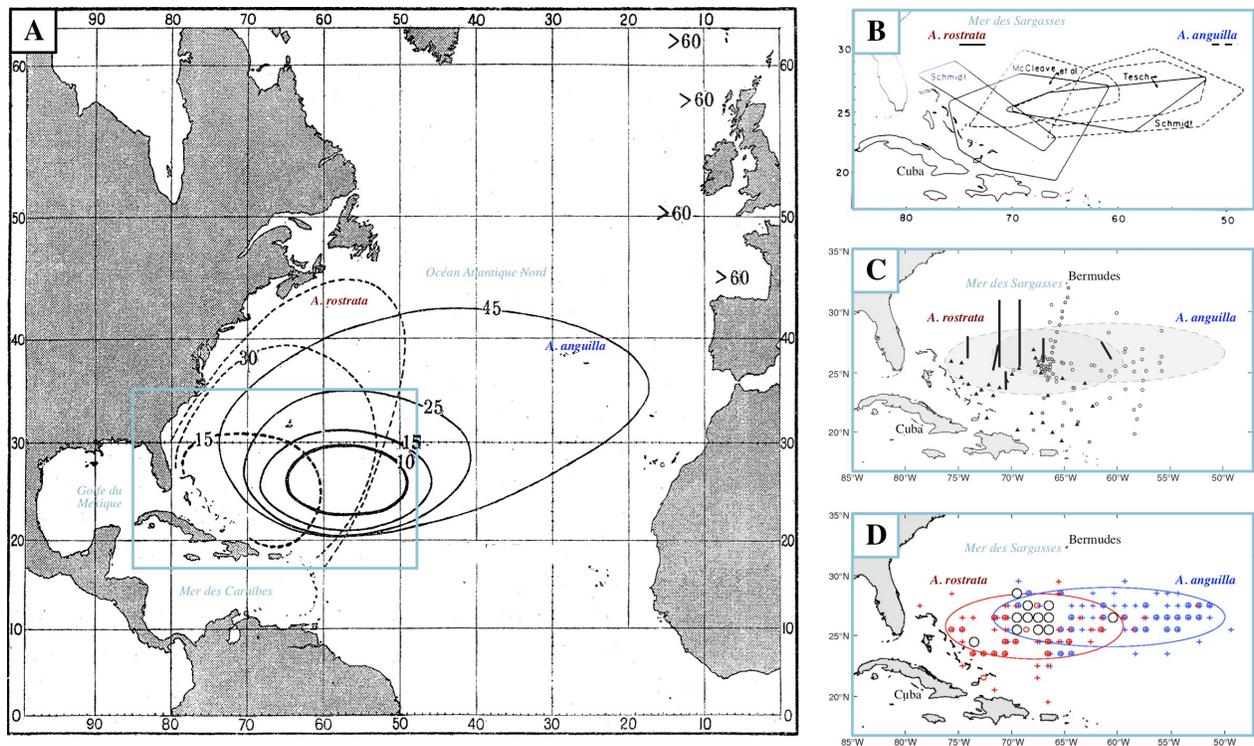


FIGURE 1.4 Distribution des larves et estimation du lieu de reproduction des anguilles de l'Atlantique

Distribution présentant la taille larvaire des deux espèces d'anguille (< 10, 15, 25, 45, et > 60 mm) à partir des principales collections (de 1920) et spécimens (env. 7000) examinés par Schmidt [A], distribution mise en commun des larves plus petites que 10 mm montrant la contribution des équipes danoise (Schmidt), américaine (McCleave) et allemande (Tesch) de 1979 à 1985 [B] et avec quelques ajustements postérieurs [C,D]. En [C], les occurrences sont montrées selon les équipes américaines (triangles et lignes en noir) et allemandes (cercles en blanc et en gris), et la distribution des larves plus petites que 6 mm selon des zones pointillées basées sur l'ensemble des trois équipes avec des adaptations jusqu'en 2007 (travaux danois) de Miller et Casselman. En [D], les mêmes zones sont encerclées par un trait continu et coloré, les principales aires de reproduction estimées par des cercles blancs, et les occurrences subdivisées par la taille des larves : de 3,0 à 5,9 mm (petits cercles colorés) et de 6,0 à 10,9 mm (petites croix colorées), avec des adaptations jusqu'en 2010 (travaux allemands) de Miller et collaborateurs. Images adaptées de SCHMIDT (1923), MCCLEAVE (2003), MILLER et CASSELMAN (2014), et MILLER et coll. (2015), respectivement.

des Mariannes et de l'arc insulaire immergé (près de hauts fonds sous-marins), derrière un front de salinité, sous la limite supérieure de la thermocline (qui se situait à 150 m de profondeur), et pendant des nuits de nouvelle lune. Les auteurs de l'étude ont émis l'hypothèse que la reproduction devait se dérouler dans les eaux de surface chaudes de l'océan (dans le contexte de leur étude) à 200-260 m de profondeur (TSUKAMOTO et coll., 2011), ce qui concorde de manière générale avec les observations sur la répartition de surface des larves chez les autres *Anguillidae* (MILLER, 2003, 2015 ; MILLER et coll., 2015 ; MUNK et coll., 2010). L'hypothèse est fondée sur la concentration en très jeunes larves (et en œufs) observée sous la limite supérieure de la thermocline (à 160 m de profondeur uniquement), la présence d'adultes (en cours de

dégénérescence) à 160-300 m uniquement (sur des captures ratissant 130-760 m), la température préférentielle d'AJ pour 18-22 °C (pour se reproduire) (DOU et coll., 2008), le synchronisme spatio-temporel observé à travers les captures d'œufs, larves et adultes lors des nuits de nouvelle lune, et la connaissance préalable des remontées nocturnes réalisées par les anguilles argentées migrantes de l'Océanie (JELLYMAN et TSUKAMOTO, 2005) et éventuellement de l'Atlantique (AARESTRUP et coll., 2009 ; BÉGUER-PON et coll., 2015). Des repères géomorphologiques, géomagnétiques, hydrologiques, olfactifs, lumineux, thermiques et/ou salins contribuant à synchroniser l'acte de reproduction et/ou favoriser la survie (adultes, œufs, larves) pourraient être en cause (MILLER, 2015 ; TSUKAMOTO et coll., 2011).

1.2.1 Périodes larvaire et juvénile

Une fois l'œuf fécondé, l'embryon des *Anguillidae* ne transite pas directement à la période juvénile mais passe par une période larvaire incluant une métamorphose (OTAKE, 2003 ; ROUSSEAU et DUFOUR, 2012) avant que la jeune anguille (devenue civelle) ne colonise les eaux du continent atteint (FIGURE 1.3). La larve leptocéphale des anguilles, présente chez tous les poissons *Elopomorpha* (quatre ordres, dont celui des anguilliformes), possède des caractéristiques ancestrales (petite tête, corps allongé/compressé en forme de feuille et composé d'une matrice gélatineuse transparente) remarquablement adaptées pour la longue migration océanique vers le continent (CHEN et coll., 2014 ; INOUE et coll., 2004 ; MOCHIOKA, 2003 ; OTAKE, 2003 ; TSUKAMOTO et coll., 2009). Ce n'est que vers la fin de la métamorphose que la larve complète le développement de maints tissus, organes (cerveau, muscles, système digestif, reins, et vessie natatoire) et de sa colonne vertébrale (ossification) pour devenir apte à coloniser le continent (OTAKE, 2003 ; YAMANO, 2012). Comme pour les autres vertébrés ayant conservé une transition indirecte entre la période embryonnaire et juvénile (LAUDET, 2011), la *métamorphose larvaire*, chez les anguilles, est principalement contrôlée par l'axe neuroendocrinien thyroïdienne ou *cerveau-hypophyse-thyroïde* (ROUSSEAU et DUFOUR, 2012 ; YAMANO, 2012). La durée de la période larvaire avant la transition en civelle et l'âge de recrutement diffèrent selon les espèces, en plus de présenter beaucoup de variabilité interindividuelle, à l'instar d'autres caractéristiques d'histoire de vie chez les populations d'anguilles, telles que les patrons de croissance, et l'âge et la taille lors de la migration de reproduction (JESSOP, 2010 ; KUROKI et coll., 2017 ; VAN GINNEKEN et MAES, 2005 ; YAMANO, 2012). Les études sur le sujet s'accordent par contre sur un point : plus le trajet à parcourir entre le lieu de naissance et lieu de colonisation est long, plus l'âge et la taille de recrutement sont également grandes, ce qui expliquerait que les valeurs soient plus importantes pour les anguilles des zones tempérées que pour celles des zones tropicales, mais également pour AA vis-à-vis AR (AOYAMA, 2009 ; MARUI et coll., 2001 ; MILLER et coll., 2015 ; OTAKE, 2003 ; TABETA et MOCHIOKA, 2003 ; YAMANO, 2012). La microstructure et la microchimie des otolithes indiquent un âge de recrutement moyen, en zone littorale et/ou estuarienne, de 206-284 jours chez AR versus 216-468 jours chez AA (ARAI et coll., 2000 ; LECOMTE-FINIGER, 1992 ; WANG et TZENG, 1998, 2000), alors que leur taille larvaire maximale approche les 70 et 90 mm, respectivement (AOYAMA, 2009 ; MILLER et coll., 2015).

Avec la progression de la pigmentation des jeunes civelles d'abord transparentes (FIGURE 1.3), les *civelles pigmentées* (TABETA et MOCHIOKA, 2003) colonisant les eaux continentales (montaison) passent d'une alimentation planctonique à principalement benthique et omnivore (MILLER, 2015; MORIARTY 2003; TESCH, 2003). Elles s'alimentent de petits crustacés, de copépodes et de larves de *Chironomidae*, mais également de vers polychètes, oligochètes, de larves d'insectes et de détritus. Éventuellement, les *anguilles jaunes* incorporent à leur régime des insectes adultes présents à la surface de l'eau, de plus gros vers, bivalves et crustacés, et des poissons (principalement petits et de fond), mais leur alimentation demeure généralement benthique et majoritairement composée d'invertébrés. Les anguilles jaunes sont trouvées à toutes profondeurs d'eau, sur les substrats de fond, voire, dans la boue (TESCH, 2003). La notion de catadromie facultative demeure un concept récent chez cette famille de poissons encore parfois trop simplement dénommés anguilles *catadromes* ou d'*eau douce*. Les *Anguillidae* colonisent les eaux intérieures (en *eau douce*), mais également les eaux littorales (en *eau salée* ou *saumâtre*), que certains fréquenteront pour toute leur période juvénile (croissance), mais d'autres transiteront seulement lors de déplacements (TSUKAMOTO et coll., 1998; TZENG et coll., 2000; TSUKAMOTO et ARAI, 2001; DAVERAT et coll., 2006; THIBAUT et coll., 2007). Avant que la maturation sexuelle des mâles et des femelles différenciés ne débute (argenteure) avec la dernière période de transition vers l'océan (dévalaison), la croissance des anguilles de l'Atlantique dure 3-20 ans en moyenne (JESSOP, 2010; VØLLESTAD, 1992) mais peut atteindre plus de 40 ans (AOYAMA et MILLER, 2003). Les déplacements saisonniers d'une dizaine de kilomètres chez les anguilles jaunes ne sont donc pas bénins car ils peuvent impliquer un ou maints changements d'habitat au cours d'une vie (THIBAUT et coll., 2007). Les juvéniles se déplacent également à l'échelle journalière et lunaire (FEUNTEUN et coll., 2003). Leurs déplacements sont influencés par des facteurs abiotiques tels que la saison, le moment de la journée et l'intensité lumineuse, la phase lunaire et les marées, le courant, le niveau d'eau, la pression, la température, la salinité, la qualité et la taille des cours d'eau (FEUNTEUN et coll., 2003; TESCH, 2003), mais également par des facteurs biotiques (préférences olfactives, alimentaires, d'habitat, densité de nourriture et d'anguilles en cours d'eau, ratio mâle/femelle) (DAVEY et JELLYMAN, 2005; FEUNTEUN et coll., 2003; HUERTAS et coll., 2008; MORIARTY, 2003; SCHMUCKER et coll., 2016). Chez les civelles comme chez les anguilles jaunes, deux niveaux d'activité (types de comportement) ont notamment été répertoriés comme étant parallèlement associés à l'axe thyroïdienne : actif (migrateur) et non actif (sédentaire) (CASTONGUAY et coll., 1990; EDELINE et coll., 2004; IMBERT et coll., 2008). Les caractéristiques d'histoire de vie des *Anguillidae* sont par ailleurs très variables (comportement, habitat, alimentation, croissance, taille, âge, ratio mâle/femelle). Néanmoins, les mâles sont clairement plus petits et plus nombreux en eaux littorales et en aval des bassins versants (ratio mâle/femelle élevé) alors que les femelles sont beaucoup plus nombreuses en amont des bassins versants (ratio mâle/femelle faible), et ce, jusque dans les sections les plus reculées (MORIARTY, 2003).

1.2.2 Argenture et prépuberté

Après environ une demi-dizaine à plusieurs dizaines d'années passées à grandir dans les eaux continentales (AOYAMA et MILLER, 2003 ; JESSOP, 2010 ; VØLLESTAD, 1992), les anguilles de l'Atlantique mâles et femelles qui entament la migration de retour vers la mer des Sargasses (dévalaison) sont encore loin d'être sexuellement matures et demeurent dans un état de *prépuberté* associée à l'*argenture* (FIGURE 1.3). Cette transition des *anguilles argentées* vers une pigmentation dorso-ventrale contrastée (gris foncé sur blanc) est coordonnée avec l'aboutissement de préadaptations morphologiques, physiologiques et comportementales pour la migration prolongée en milieu pélagique (revu dans LOKMAN et coll. (2003) et ROUSSEAU et coll. (2012)). La peau s'épaissit et produit davantage de mucus (meilleure résistance à l'abrasion) en plus de son argenture (meilleur camouflage pour la vie en eaux pélagiques), le diamètre des yeux et de la rétine s'accroissent et la composition de la rétine se modifie (meilleure sensibilité aux rayons lumineux pour la vie en eaux profondes), la composition de la vessie natatoire et son afflux sanguin rendent plus efficace l'excrétion des gaz (meilleure flottabilité et adaptabilité face aux variations de pression hydrostatique), le métabolisme énergétique des fibres musculaires s'adapte pour la longue migration en eaux profondes (meilleure efficacité de nage), la composition des cellules branchiales s'adapte aux changements de salinité (capacités d'osmorégulation), et celle des systèmes olfactif et digestif se réorganise (arrêt de l'alimentation et de la croissance) en plus du métabolisme (réaffectation des ressources) pour de nouvelles priorités (migration et reproduction).

Les changements associés à l'argenture des *Anguillidae* ont traditionnellement été assimilés à la notion de *métamorphose secondaire* par association avec ceux observés lors de la smoltification des *Salmonidae* avant leur période de croissance en mer (ROUSSEAU et coll., 2012). La transformation permet à ces deux familles de poissons diadromes de passer d'un milieu de vie à un autre (continent → océan), mais elle n'a pas du tout la même incidence que celle de la *métamorphose larvaire* (uniquement présente au sein de la première famille, c.-à-d. chez les anguilles) dont l'aboutissement permet à la forme larvaire d'acquérir la forme adulte et de passer au prochain stade de vie (larve → juvénile). La métamorphose larvaire et la smoltification des *Salmonidae* sont néanmoins régulées toutes deux par l'axe thyroïdienne, au contraire de l'argenture des *Anguillidae* qui est contrôlée principalement par l'axe gonadotrope (FIGURE 1.5). Les différents changements associés à l'argenture, à l'exemple de tous les vertébrés, sont en fait assimilables au début de la maturation sexuelle pour l'avènement de la *puberté* (juvénile → adulte), une transformation reproductible *via* l'effet de stéroïdes sexuels tels que la testostérone et la 11-cétotestostérone (AROUA et coll., 2005 ; SUDO et coll., 2012) en lien avec les importants rétrocontrôles qu'ils exercent sur l'axe gonadotrope (DUFOUR et coll., 2003 ; ROUSSEAU et coll., 2014). **L'état de développement ovarien observé chez les femelles des zones tempérées en cours de dévalaison se limite toutefois, dépendamment de l'espèce, aux stades précédant la vitellogenèse ou à ses premiers stades (HAN et coll., 2003a ; JENG et coll., 2014 ; LOKMAN et coll., 1998 ; PALSTRA et coll., 2010a ; PÉREZ et coll., 2011 ; TODD, 1981), et ce, jusqu'à ce qu'elles aient poursuivi leur trajet migratoire hors du continent, d'où la notion, chez l'anguille argentée, de**

AXES NEUROENDOCRINIENS

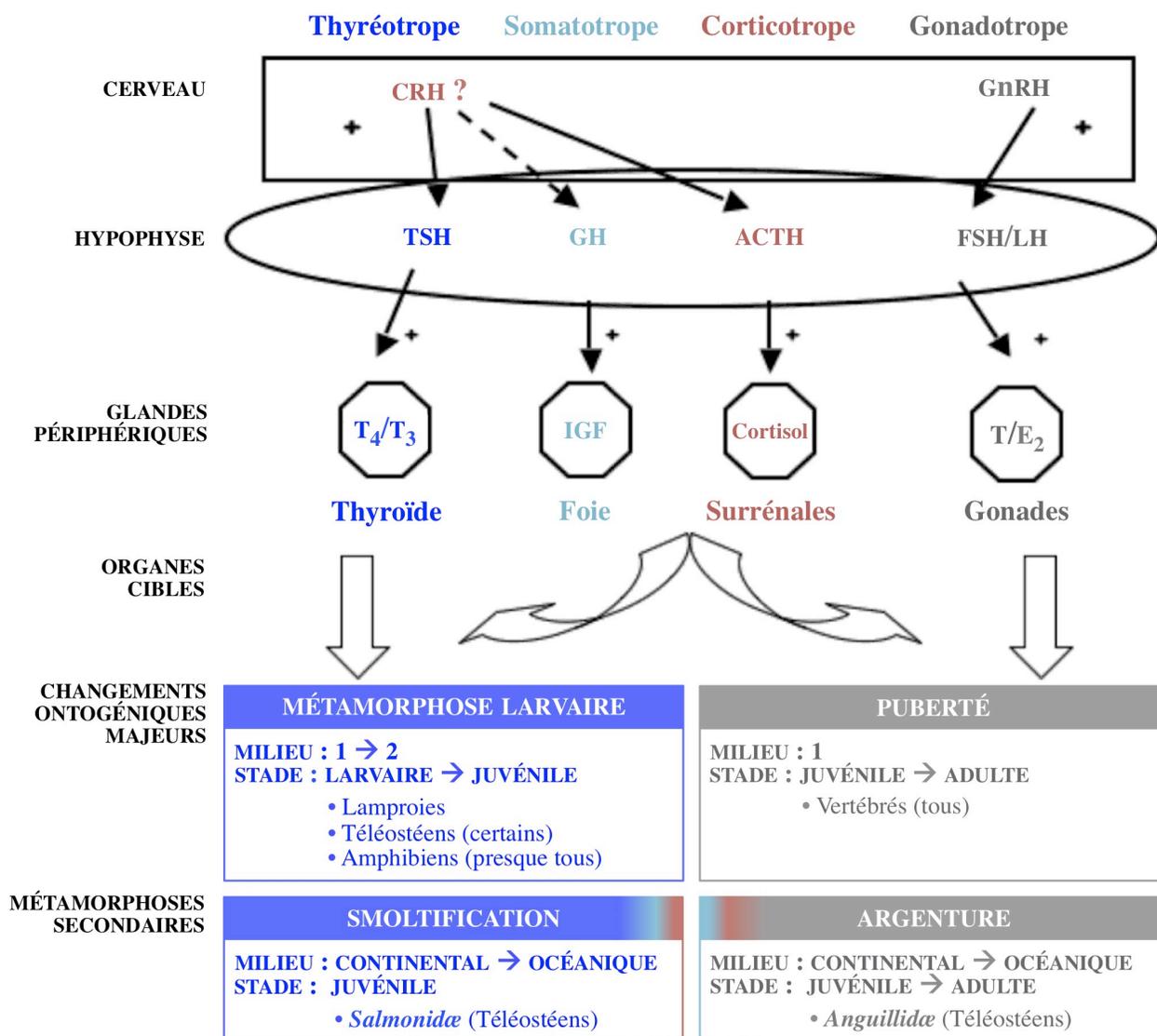


FIGURE 1.5 Régulation neuroendocrinienne des changements ontogéniques/métamorphoses des vertébrés

La smoltification (chez les poissons *Salmonidae*) et l'argenture (chez les poissons *Anguillidae*) sont stimulées par l'axe thyroéotrope (en bleu à gauche) et gonadotrope (en gris à droite), respectivement, à l'instar des changements ontogéniques majeurs existant chez certains vertébrés (avec la métamorphose larvaire) ou tous (en référence à la puberté), et la différence près de la métamorphose des lamproies qui est contrôlée de manière négative. La métamorphose secondaire est également influencée, mais dans une moindre mesure, par l'axe somatotrope (en turquoise au centre) et corticotrope (en rouge au centre), alors que la métamorphose larvaire est spécifiquement activée par la CRH* (axe corticotrope et thyroéotrope). Chez les poissons téléostéens, la métamorphose larvaire coexiste au sein d'anciens ordres d'*Elopomorpha* (incluant les *Anguillidae*) et de plus récents (Pleuronectiformes, Perciformes), mais elle n'est pas présente au sein des *Salmonidae*. Les deux métamorphoses présentes dans le cycle de vie des *Anguillidae* sont donc remarquables en ce qu'elles permettent de transiter à deux reprises entre des milieux de vie distincts ou *écophases* (DUFOUR et ROUSSEAU, 2007). Qui plus est, l'argenture, en contraste avec la smoltification qui ne présente que des préadaptations homologues à la vie prolongée en milieu océanique (dévalaison, rhéotaxie, osmorégulation, couleur de peau, vision), représente également la transition du stade juvénile vers le stade adulte (acquérant la capacité à se reproduire), ce qui, au même titre que chez le reste des vertébrés, en fait un événement *pubertaire* (AROUA et coll., 2005). *CRH, corticolibérine (*Corticotropin-Releasing Hormone*); GnRH, gonadolibérine (*Gonadotropin-Releasing Hormone*); TSH, hormone thyroéotrope

(*Thyrotropin*); GH, hormone somatotrope (*Somatotropin*); ACTH, hormone corticotrope (*Corticotropin*); FSH, hormone folliculo-stimulante (*Follicle-Stimulating Hormone*); LH, hormone lutéinisante (*Luteinizing Hormone*); T4, thyroxine; T3, triiodothyronine; IGF, facteurs de croissance analogues à l'insuline (*Insulin-like Growth Factors*); T, testostérone; E2, 17 β -estradiol. Image modifiée de ROUSSEAU et DUFOUR (2012).

prépuberté, voire, de blocage prépubère (FIGURE 1.3). Ce dernier est d'autant plus marqué pour AA, l'espèce dont le développement sexuel est le moins avancé de toutes (en pré-vitellogenèse), et celle dont les causes du phénomène ont été approfondies depuis le début des années 1980 (DUFOUR et coll., 2010; ROUSSEAU et coll., 2014). Du côté d'AR, les éléments de preuve suggèrent que le développement ovarien correspondant soit en vitellogenèse (COTTRILL et coll., 2001; COUILLARD et coll., 1997; WENNER et MUSICK, 1974), cependant, son niveau d'avancement (p. ex. précoce, intermédiaire, avancé) n'a jamais été évalué, et encore moins comparé avec celui des autres *Anguillidæ* (ADACHI et coll., 2003; KAYABA et coll., 2001; LOKMAN et coll., 1998; PÉREZ et coll., 2011). La biologie de reproduction des anguilles de l'Atlantique doit donc encore se baser, au-delà de ces acquis, sur les informations provenant des congénères plus avancés lors de la migration de reproduction ou sur des techniques de reproduction artificielle.

1.2.3 Migration, puberté et reproduction

Le trajet océanique des anguilles de l'Atlantique jusqu'à l'aire de reproduction et certaines caractéristiques migratoires telles que la profondeur, la température et la vitesse de nage, ont pour la première fois été examinés grâce à une technologie de marquage électronique employée avec des anguilles argentées émigrant du continent (AARESTRUP et coll., 2009; BÉGUER-PON et coll., 2015). Une fois le dispositif de marquage PSAT (*Pop-up Satellite Archival Tag*) remonté à la surface de l'eau dû à son détachement final (programmation à date fixe, mort/prédation de l'anguille, fixation défectueuse), les différentes données enregistrées sont récupérées *via* retransmission satellitaire. Tout comme cela avait été démontré pour la première fois chez une espèce de l'Océanie (AD, *A. dieffenbachii* Gray, 1842) (JELLYMAN et TSUKAMOTO, 2002, 2005, 2010) puis chez plusieurs espèces de l'Indo-Pacifique (MANABE et coll., 2011; SCHABETSBERGER et coll., 2013), les anguilles de l'Atlantique effectuent des migrations journalières verticales au cours de leur migration océanique de reproduction, en descendant jusqu'à des profondeurs d'env. 700-1200 m en journée et en remontant vers la surface pendant la nuit (AARESTRUP et coll., 2009; BÉGUER-PON et coll., 2015; WYSUJACK et coll., 2015). Les données disponibles montrent qu'en fin de voyage, les températures s'abaissent jusqu'à 12-14 °C selon la profondeur diurne atteinte et atteignent souvent 22-25 °C en remontée nocturne, avec une salinité située entre 35 et 37 ‰ et une vitesse de nage avoisinant les 50 km par jour (BÉGUER-PON et coll., 2015).

Le parcours effectué avant la pleine mer peut différer en termes de conditions de migration. Chez AR, l'anguille en partance de la région canadienne USLR–LO (*Upper St. Lawrence River–Lake Ontario*) vers le Sud de Terre-Neuve peut notamment parcourir 2000 km (JESSOP, 2010; BÉGUER-PON et coll., 2016) avant de dépasser la plate-forme continentale (FIGURE 1.6), ce qui est également parfois le cas, à titre indicatif, chez AA pour l'anguille quittant l'Ouest suédois vers la mer de Norvège et le fossé de Rockall (WESTERBERG et coll., 2014). Les premières données de télémétrie acoustique acquises à grande échelle dans le fleuve Saint-Laurent ont montré qu'AR a une préférence pour la migration nocturne (de même que pour la marée descendante et les courants forts), et qu'elle se déplace plus rapidement avec la progression de la saison, le raccourcissement des jours et le refroidissement de température (BÉGUER-PON et coll., 2014). La vitesse de nage associée est très variable ($0,3-89 \text{ km}\cdot\text{j}^{-1}$) mais vraisemblablement plus faible (moyenne $20 \text{ km}\cdot\text{j}^{-1}$) que dans l'océan Atlantique (voir ci-bas), de manière similaire à celle des anguilles quittant l'Ouest suédois (moyenne $26-27 \text{ km}\cdot\text{j}^{-1}$) (WESTERBERG et coll., 2014). En secteur plus profond, les premières migrations verticales ne sont pas aussi démarquées pendant la journée qu'elles le deviendront plus tard au cours du trajet océanique (BÉGUER-PON et coll., 2015), et la profondeur associée (du moins pour l'anguille d'Europe des travaux susmentionnés) est influencée par la longitude sans égard à la température encourue (WESTERBERG et coll., 2014). En pleine mer, dans l'océan Atlantique, la vitesse de nage des anguilles demeure variable (moyenne $< 10-57 \text{ km}\cdot\text{j}^{-1}$) mais évolue avec un gradient de température (moyenne $< 10-16 \text{ }^\circ\text{C}$) et de salinité (moyenne $32-35 \text{ ‰}$) qui s'accroît avec la progression des migrations journalières verticales, pour éventuellement rejoindre les conditions rencontrées en mer des Sargasses (AARESTRUP et coll., 2009; BÉGUER-PON et coll., 2015, 2016; WYSUJACK et coll., 2015).

Chez les espèces d'*Anguillidae* spécifiquement, ce type de comportement migratoire vertical est associé à une hypothèse largement citée dans la littérature (AARESTRUP et coll., 2009; MANABE et coll., 2011; BÉGUER-PON et coll., 2015, 2016), celle du compromis entre la protection contre les prédateurs et la thermorégulation en vue de répondre à deux besoins physiologiques en apparence contradictoires pour un organisme poïkilotherme migrateur : maintenir une performance de nage à long terme tout en favorisant une lente progression du développement des gonades (voir le détail dans VAN GINNEKEN et MAES (2005), JELLYMAN et TSUKAMOTO (2010), et SCHABETSBERGER et coll. (2013)). Il est important de garder en tête, cependant, que maints facteurs internes et environnementaux rencontrés pendant la migration océanique sont déjà connus pour influencer le développement sexuel et l'avancement des gonades des anguilles argentées en milieu contrôlé même s'ils n'entraînent pas l'avènement de la puberté à eux seuls (blocage prépubère) (revus dans ROUSSEAU et coll., 2014). Parmi ces derniers figurent l'activité de nage (PALSTRA et VAN DEN THILLART, 2010; VAN GINNEKEN et coll., 2007a), la température (MAZZEO et coll., 2014; PÉREZ et coll., 2011; SATO et coll., 2006; SUDO et coll., 2011), la pression hydrostatique (SÉBERT et coll., 2007) et les stimuli associés à la photopériode et la mélatonine (PARMEGGIANI et coll., 2015; SÉBERT et coll., 2008a).

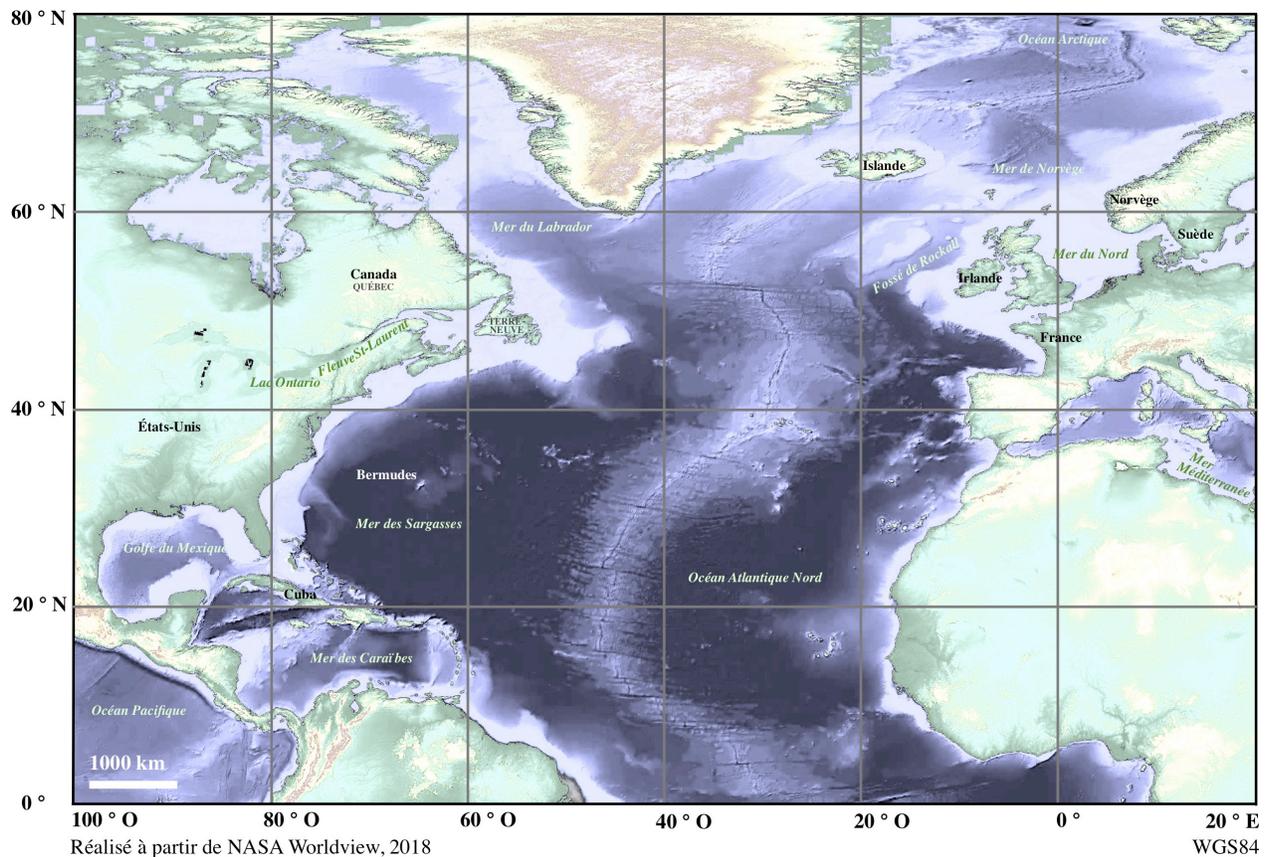


FIGURE 1.6 Relief de l’océan Atlantique Nord

Le passage de la plate-forme continentale (représentée ici en bleu pâle) à la pleine mer (au-delà de 200 m de profondeur) est indiqué par l’évolution vers des teintes de bleu plus foncé augmentant avec la profondeur océanique. Les endroits les plus profonds (6-7 km) sont principalement situés en mer des Sargasses. Pour une meilleure résolution bathymétrique, voir BÉGUER-PON et coll. (2016).

Le plein développement des gonades résulte de l’interaction complexe d’un ensemble de facteurs avec l’axe neuroendocrinien gonadotrope, une combinaison unique à la longue migration qu’effectuent les anguilles, et dont les rouages demeurent inconnus (DUFOUR et coll., 2003 ; VAN GINNEKEN et MAES, 2005). Par ailleurs, très peu d’informations en lien avec l’acte de reproduction sont disponibles. Ce dernier serait le plus vraisemblablement déclenché de manière synchronisée par des phéromones (HUERTAS et coll., 2008 ; VAN GINNEKEN et MAES, 2005) au cours d’une remontée nocturne en eau de surface (SECTION 1.2). **Le caractère impraticable de suivre le développement des gonades des géniteurs au-delà du continent — et la biologie associée — indique à lui seul pourquoi la majorité des connaissances disponibles s’appuie sur des techniques de reproduction artificielle, ne serait-ce que dans la quête nécessaire d’améliorer le portrait sur la situation des (nombreuses) populations d’*Anguillidæ* en déclin.**

1.3 Déclin

Les anguilles ont longtemps contribué à l'essor économique (pêcheries, aquaculture) et social (nourriture, culture) des populations humaines avant de faire partie des préoccupations politiques d'aujourd'hui du point de vue de leur conservation (JACOBY et coll., 2015; KUROKI et coll., 2014a; PROSEK, 2010; SCHWEID, 2002; TSUKAMOTO et KUROKI, 2014).

1.3.1 État de la situation

Pendant que les stocks majeurs d'anguilles ont atteint leur plus bas (FIGURE 1.7), les préoccupations pour la conservation de toutes les espèces d'Anguillidae font maintenant surface, à commencer par les espèces des zones tropicales maintenant ciblées pour palier au déclin des stocks de juvéniles nécessaires aux besoins aquicoles croissants de l'Asie du Sud-Est – l'aquaculture ne s'étant pas encore affranchi de la dépendance en juvéniles sauvages (ARAI, 2014; DEKKER et coll., 2003; JACOBY et coll., 2015). D'après les informations fournies par l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN) et le Ministère de la conservation de la Nouvelle-Zélande (*Te Papa Atawhai*), il s'avère que plus de la moitié des espèces d'anguilles sont déjà en voie d'extinction ou d'être menacées (11), ont une quantité insuffisante de données pour pouvoir être évaluées (3) ou n'ont pas encore été évaluées (1) (JACOBY et coll., 2015; GOODMAN et coll., 2014). AR et AA sont respectivement catégorisées comme étant menacées et gravement menacées d'extinction. Le déclin des stocks majeurs d'*Anguillidae* (recrues, juvéniles, anguilles argentées) résulte de la synergie entre diverses menaces continentales et océaniques : surpêche (consommation, aquaculture, braconnage), modification de l'habitat (détérioration, obstacles, pertes cumulatives), turbines hydroélectriques (mortalité directe), pollution, maladies (parasites), prédation naturelle, changements dans les courants océaniques, changements climatiques et changements globaux (DROUINEAU et coll., 2018; JACOBY et GOLLOCK, 2014a, 2014b; JACOBY et coll., 2015, 2017). **La « qualité » des géniteurs s'avère également, au-delà du caractère exhaustif et complexe de cette problématique, un enjeu crucial dans la compréhension du déclin des populations d'anguilles (CIEM-CECPI, 2006, 2009a) puisqu'elle se rapporte directement à l'avènement de la reproduction et à la biologie sous-jacente.**

1.3.2 Importance de la biologie de reproduction

Les anguilles de l'Atlantique ont un cycle de vie aux multiples facettes se terminant par une période de reproduction unique en mer des Sargasses (semelparité) après des milliers de kilomètres parcourus à jeun. Les géniteurs laisseraient s'opérer « les lois de la nature » par la suite. En effet, les travaux de VAN GINNEKEN et coll. (2005) ont montré qu'il n'y avait pas de soins parentaux après la libération des gamètes en bassin.

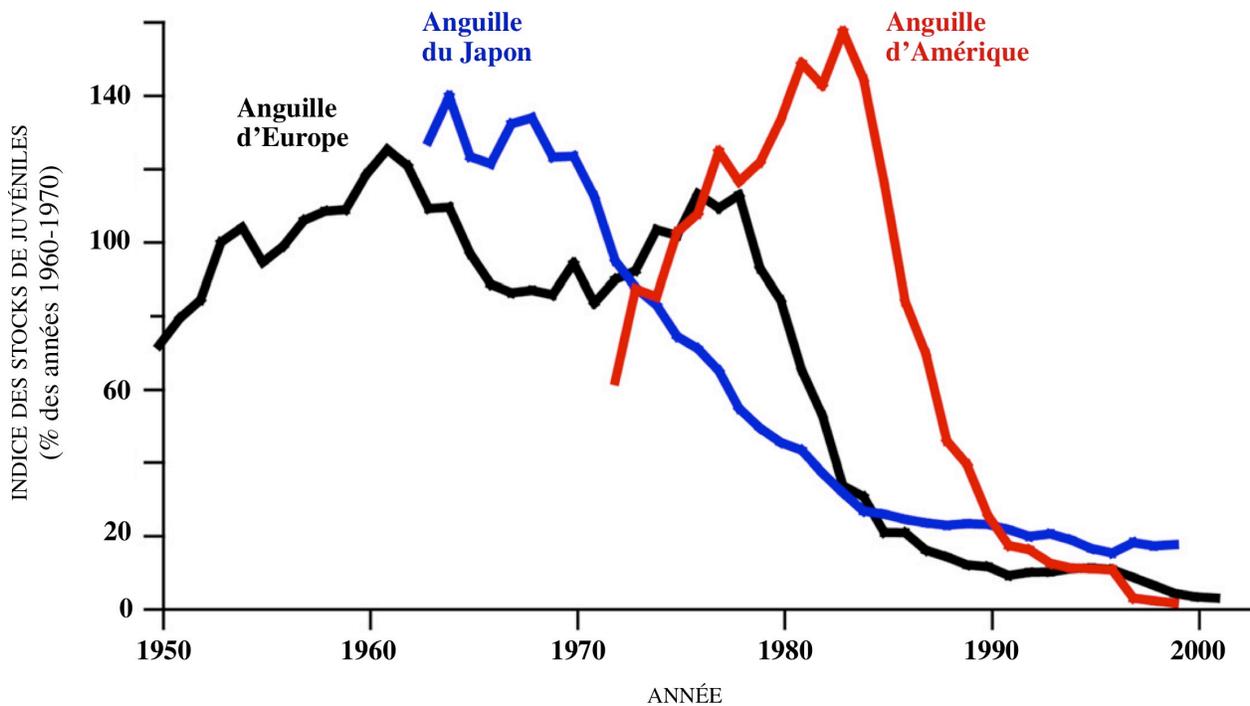


FIGURE 1.7 Évolution des stocks d’anguilles de l’Atlantique et du Japon

Depuis la fin du siècle dernier, les prises de civelles ont diminué d’environ 99 et 80 % sur l’ensemble de la répartition de l’anguille d’Europe (*A. anguilla*) et du Japon (*A. japonica*), respectivement, et le recrutement de l’anguille d’Amérique (*A. rostrata*) en amont du fleuve Saint-Laurent (lac Ontario) a pratiquement disparu (DEKKER et coll., 2003). Ce déclin de recrues aux confins de l’aire de répartition de l’anguille d’Amérique, un important bassin de géniteurs femelles, revêt une importance capitale puisqu’il refléterait l’ampleur du déclin global de l’espèce ayant été documenté le long du fleuve Saint-Laurent et en d’autres endroits du Canada et des États-Unis (CASSELMAN, 2003; DE LAFONTAINE et coll., 2010; MACGREGOR et coll., 2009). Le dénombrement des anguilles au barrage Moses-Saunders (1958) lors de la montaison vers le lac Ontario n’est disponible que depuis 1974 (après l’implantation d’une passe migratoire), mais il s’agit du plus important historique de suivi du stock pour le bassin hydrographique du fleuve Saint-Laurent. À ce stade de la montaison, déjà 4 années en moyenne se sont écoulées depuis que les recrues ont atteint le continent (CASTONGUAY et coll., 1994a). Une fois l’indice d’abondance rétrocalculé pour correspondre au recrutement des civelles en eaux continentales, le début du déclin des anguilles d’Amérique et d’Europe montre une remarquable correspondance (CASTONGUAY et coll., 1994b). L’indice de recrutement des civelles de l’anguille d’Europe, en contraste, est fondé sur un siècle d’observations dans une trentaine de pays (DEKKER, 2003a, 2003b). Image adaptée de ARAI (2014) d’après les données de Dekker ayant originellement été rapportées dans DEKKER et coll. (2003).

Bien que les deux espèces puissent se caractériser différemment selon leur origine au sein de leur vaste distribution respective (JESSOP, 2010; VØLLESTAD, 1992), l’entière population (chez AR comme chez AA) demeure considérée comme ayant les mêmes chances de contribuer à la prochaine génération de recrues (panmixie) sans attribution à un bassin géographique en particulier (ALS et coll., 2011; CÔTÉ et coll., 2013), quoiqu’à l’autre bout, la plus grande « participation » potentielle au succès de reproduction des géniteurs de certaines régions – même si ouverte au débat – ne doit pas être perdue de vue (CASSELMAN, 2003; JACOBY et coll., 2017; MACGREGOR et coll., 2009).

La capacité des géniteurs à se reproduire, c.-à-d. produire des œufs de qualité et engendrer une progéniture viable après avoir été aptes à se rendre au lieu de reproduction, est déterminante pour le maintien des populations d'anguilles et un facteur potentiel dans leur déclin. Les connaissances sur les anguilles de l'Atlantique participant à la reproduction – les *réels* géniteurs ou individus matures – doivent encore être inférées à partir d'anguilles argentées migrantes – les géniteurs *potentiels* ou individus immatures –, ou d'autres stades de vie accessibles également en eaux continentales, ce qui pose tout un défi pour la gestion de leur conservation, ne serait-ce que pour obtenir davantage de données d'abondance ou d'autre nature en vue d'améliorer l'évaluation de leur situation (JACOBY et GOLLOCK, 2014a, 2014b ; JACOBY et coll., 2017 ; VAN DEN THILLART et coll., 2009).

2 OBJECTIFS ET ORGANISATION DE LA THÈSE

Cette thèse a pour but général d'améliorer l'état des connaissances sur la biologie de reproduction des géniteurs potentiels d'*Anguillidæ* en se basant sur les deux espèces de l'Atlantique – les anguilles d'Amérique (AR, *A. rostrata*) et d'Europe (AA, *A. Anguilla*) – et en mettant à l'avant-plan AR, pour laquelle le niveau d'avancement des ovaires n'a jamais été évalué de manière comparable aux autres congénères, et encore moins la régulation neuroendocrinienne associée à l'axe gonadotrope.

Un traitement de maturation artificielle sous conditions simplifiées de migration (courant, salinité, température) a donc été administré à des femelles émigrant du Sud-Est du Canada (amont du fleuve Saint-Laurent et estuaire moyen) et du Sud-Ouest de la France (amont de l'estuaire de la Gironde et du bassin d'Arcachon) visant à être comparées d'abord dans leur état d'émigration (**OBJECTIF 1**) et ensuite dans leur réponse à la maturation induite (**OBJECTIF 2**).

Étant une toute première caractérisation de la biologie de reproduction d'AR et une première étude comparative avec AA en ce sens, la présente étude vise également à intégrer des considérations d'ordre biologique et environnemental en vue de mettre en perspective les principaux facteurs influençant le cours de la maturation sexuelle et les caractéristiques prometteuses dans l'identification des géniteurs potentiels d'AR et des autres *Anguillidæ* (**OBJECTIF 3**).

Le contenu et les constats issus de cette recherche trouveront leur place dans les secteurs relatifs à la gestion des stocks de poissons diadromes et à l'aquaculture (reproduction artificielle) dans l'optique d'intégration de nouveaux outils facilitant l'identification et le suivi de la qualité des géniteurs femelles, et en particulier, pour l'avancement des connaissances et la conservation des populations d'*Anguillidæ* en déclin. Ils ciblent également la communauté s'intéressant aux domaines de la physiologie qui intègrent l'expression quantitative et la régulation neuroendocrinienne relatives au développement des gonades et issues de designs multifactoriels.

2.1 Objectif 1 – Comparer l'état des anguilles de l'Atlantique au moment de la migration de reproduction

Dans un premier temps, la présente thèse compare l'état d'avancement sexuel d'AR et AA au moment où les anguilles migrent pour se reproduire, et cela, d'un point de vue développemental (**SOUS-OBJECTIF 1.1**) et neuroendocrinien (**SOUS-OBJECTIF 1.2**).

2.1.1 Sous-objectif 1.1 — Comparer le développement des ovaires

Ce développement correspond au stade de maturité des cellules sexuelles femelles, les ovocytes. Puisqu'il n'y a pas de méthode standard pour différencier les stades ovocytaires pendant le développement sexuel des poissons et des anguilles en particulier, **une méthode originale a été élaborée** (SECTION 4.6) **de manière à permettre la comparaison des stades trouvés chez les anguilles de l'Atlantique** (SECTIONS 4.9.1-5.2.1) **avec celui des autres espèces d'Anguillidae** (SECTION 6.1). Les stades de maturité considérés dans cette thèse (TABLEAU 2.1) et autres paramètres associés tiennent compte des **connaissances préalablement établies dans la littérature pour les poissons téléostéens et les anguilles** (SECTION 3.1).

TABLEAU 2.1 Répertoire des stades de maturité ovocytaire considérés pour la réalisation de la thèse

Stade	Terminologie d'usage	Correspondance	Période développementale
Croissance primaire			
PG1 [†]	<i>Primary Growth, early</i>	Croissance primaire, précoce	1- Croissance primaire
PG2 ^{††}	<i>Primary Growth, late</i>	Croissance primaire, avancée	
Croissance secondaire			
PV1 [§]	<i>Pre-Vitellogenesis, early</i>	Pré-vitellogenèse, précoce	2- Pré-vitellogenèse
PV2 [§]	<i>Pre-Vitellogenesis, late</i>	Pré-vitellogenèse, avancée	
VTG1	<i>Vitellogenesis, early (EV)</i>	Vitellogenèse, précoce	3- Vitellogenèse
VTG2	<i>Vitellogenesis, mid (MV)</i>	Vitellogenèse, intermédiaire	
VTG3	<i>Vitellogenesis, late (LV)</i>	Vitellogenèse, avancée	
GVM1	<i>Germinal Vesicle Migration, early</i>	Migration du noyau, précoce	4- Maturation (OM)
GVM2	<i>Germinal Vesicle Migration, late</i>	Migration du noyau, avancée	
GVBD	<i>Germinal Vesicle Breakdown</i>	Dissolution du noyau	
Ovulation			
OV	<i>Ovulation of mature egg</i>	Ovulation de l'œuf mature	5- Œuf mature/Ovulation

† Sous-stade du nucléus et condensation de la chromatine (CN, *Chromatine nucleolus stage*); †† Sous-stade des nucléoles en périphérie du noyau (PN, *Perinucleolus stage*); § Stade PV qui souvent est référé chez l'anguille au stade des gouttelettes lipidiques (OD, *Oil droplet* ou *Lipid droplet stage*) mais chez les autres poissons plutôt à celui des alvéoles corticales (CA, *Cortical alveoli stage*).

2.1.2 Sous-objectif 1.2 — Comparer la neuroendocrinologie associée

Le développement des ovaires est principalement régulé par l'axe gonadotrope ou *cerveau-hypophyse-gonade* qui s'allie du *foie* chez les femelles (vitellogenèse). Cette thèse intègre la détermination de la teneur

en stéroïdes sécrétés par les ovaires, mais également la quantification de produits de la transcription de gènes exprimés dans le foie, l'hypophyse et le cerveau de manière comparée entre les espèces de l'Atlantique (SECTIONS 4.9.1-5.3.1-5.4.1), et leur incidence sur le développement ovarien (SECTION 6.1). Une revue de littérature sur la régulation neuroendocrinienne associée au développement des gonades et aux changements qui y sont associés viendra d'abord mettre en contexte ces différents acteurs de l'axe gonadotrope (TABLEAU 2.2) (SECTION 3.2) et les méthodes ayant été mises au point pour les dosages (SECTIONS 4.7-4.8).

TABLEAU 2.2 Répertoire des acteurs de l'axe gonadotrope examinés pour la réalisation de la thèse

Acteur	Terminologie d'usage	Correspondance	Dosage
Produits de la transcription			
GnRH1	<i>Gonadotropin-Releasing Hormone, 1</i>	Gonadolibérine, forme 1	Cerveau
GnRH2	<i>Gonadotropin-Releasing Hormone, 2</i>	Gonadolibérine, forme 2	
ESR1	<i>Estrogen nuclear Receptor, 1</i>	Récepteur nucléaire à estrogène, forme 1	
FSHβ	<i>Follicle-Stimulating Hormone, β-subunit</i>	Hormone folliculo-stimulante, sous-unité β	Hypophyse
LHβ	<i>Luteinizing Hormone, β-subunit</i>	Hormone lutéinisante, sous-unité β	
ESR1	<i>Estrogen nuclear Receptor, 1</i>	Récepteur nucléaire à estrogène, forme 1	
VTG[†]	<i>Vitellogenin</i>	Vitellogénine	Foie
ESR1	<i>Estrogen nuclear Receptor, 1</i>	Récepteur nucléaire à estrogène, forme 1	
Concentration en hormone			
T	<i>Testosterone</i>	Testostérone	Plasma sanguin
E2	<i>Estradiol-17β</i>	17 β -Estradiol	
11KT	<i>11-Ketotestosterone</i>	11-cétotestostérone	

† Les gènes *vtg1* et *vtg2* ont été dosés ensemble (*vtgAa* et *vtgAb*, respectivement, d'après FINN et KRISTOFFERSEN (2007)).

2.2 Objectif 2 — Comparer la réponse des anguilles de l'Atlantique migrantes à la maturation sexuelle induite

Dans un deuxième temps, cette étude compare l'état d'avancement sexuel d'AR et AA en réponse à la maturation induite, et cela, également d'un point de vue développemental (SOUS-OBJECTIF 2.1) et neuroendocrinien (SOUS-OBJECTIF 2.2).

2.2.1 Sous-objectif 2.1 — Comparer le développement des ovaires

La méthode d'évaluation des stades de maturité (TABLEAU 2.1) élaborée dans le cadre de cette thèse (SECTION 4.6) permet également de comparer la réponse d'AR avec celle d'AA (SECTIONS 4.9.1-5.2.2) en plus de les situer par rapport aux autres congénères (SECTION 6.2). **Encore aujourd'hui, l'état des connaissances sur la complétion de la vitellogenèse et des stades subséquents se base uniquement, chez les *Anguillidæ*, sur leur réponse à la maturation artificielle (SECTION 3.1).**

2.2.2 Sous-objectif 2.2 — Comparer la neuroendocrinologie associée

Les méthodes ayant été mises au point (SECTIONS 4.7-4.8) pour quantifier les différents acteurs de l'axe gonadotrope (TABLEAU 2.2) ont également servi à comparer la réponse des deux espèces de l'Atlantique (SECTIONS 4.9.1-5.3.2-5.4.2) et ajouter un niveau supplémentaire d'information à la compréhension de leur développement ovarien (SECTION 6.2).

2.3 Objectif 3 — Déterminer les implications pour la compréhension de la biologie de reproduction au sein des *Anguillidæ*

D'autres variables et facteurs ont été considérés en vue de mieux comprendre l'état de maturation sexuelle des anguilles de l'Atlantique (développement des ovaires, neuroendocrinologie) (SOUS-OBJECTIF 3.1) et pouvoir cerner, dans la mesure du possible, les plus influents (SOUS-OBJECTIF 3.2). La démarche sert également à entrevoir une méthode qui permettrait d'identifier les géniteurs potentiels et suivre la santé reproductive des populations d'anguilles en déclin (SOUS-OBJECTIF 3.3).

2.3.1 Sous-objectif 3.1 — Intégrer la dimension biologique et environnementale

Plusieurs variables biologiques ont été mesurées (SECTIONS 4.3-4.4), puis suivies et comparées (SECTIONS 4.9.1-5.1) dans cette étude (TABLEAU 2.3) parallèlement à la maturation sexuelle des anguilles (développement des ovaires, neuroendocrinologie). **Certaines d'entre elles sont connues pour être associées ou contribuer au développement sexuel des anguilles et constituer d'importantes caractéristiques physiologiques ou d'histoire de vie, à l'instar d'autres facteurs internes et environnementaux (SECTION 3.2).** Leur portée est discutée, mais ce, dans la mesure de l'effectif d'anguilles de cette thèse et d'autres aspects propres à son contexte méthodologique (SECTIONS 6.1.2-6.2.2).

TABLEAU 2.3 Répertoire des principales variables biologiques retenues pour la réalisation de la thèse

Variable	Terminologie d'usage	Correspondance	Référence
Paramètres biométriques			
Age	<i>Age</i>	Âge	TARDIF, 2012
BW	<i>Body Weight</i>	Masse totale du corps	DURIF et coll., 2006
BL	<i>Body Length</i>	Longueur totale du corps	
BD	<i>Body Depth</i>	Épaisseur du corps	
Indices biométriques			
K _n	<i>Relative condition factor</i>	Indice de condition relative	LE CREN, 1951
EI	<i>Eye Index</i>	Indice de l'œil	PANKHURST, 1982
FI	<i>Fin Index</i>	Indice de la nageoire	DURIF et coll., 2005
HSI	<i>Hepatosomatic Index</i>	Rapport hépato-somatique	
DSI	<i>Digestive tract-somatic Index</i>	Rapport tube digestif-somatique	
GSI	<i>Gonadosomatic Index</i>	Rapport gonadosomatique	
FSI	<i>Fat-somatic Index</i>	Rapport lipido-somatique	Cette étude

2.3.2 Sous-objectif 3.2 — Déterminer les facteurs les plus influents

Une approche globale a été mise en œuvre en vue de détecter les différences et les changements dans les variables à l'étude (SECTION 4.9.1), les relations et la structure existant entre les variables d'intérêt (développement des ovaires, neuroendocrinologie) et autres variables suivies (SECTION 4.9.2), ainsi que de les présenter le plus clairement possible (SECTION 5.5) en appui aux hypothèses avancées (**quels sont les facteurs les plus influents**) pour expliquer la progression de la maturation sexuelle des anguilles de l'Atlantique (SECTION 6.3.1).

2.3.3 Sous-objectif 3.3 — Élaborer des recommandations pour le suivi du potentiel reproducteur

La mise en perspective de l'ensemble des variables et des contributeurs potentiels à la maturation sexuelle des anguilles de l'Atlantique a permis de faire ressortir, dans la limite des méthodes employées, des **caractéristiques prometteuses pour le suivi du potentiel reproducteur de ces populations et des aspects à améliorer et poursuivre dans les recherches futures sur les *Anguillidæ* en déclin** (SECTION 6.3.2).

3 **BIOLOGIE DE REPRODUCTION CHEZ LES *ANGUILLIDÆ***

Les stratégies de reproduction sont diverses chez les vertébrés et tout particulièrement chez les poissons (34 000 espèces d'après FROESE et PAULY (2018)) : modèles de reproduction sexuée/asexuée, de semelparité/itéroparité, en eau douce/de mer, de développement des gonades de manière synchrone/asynchrone (stades de maturité), de fécondation interne/externe, de développement embryonnaire interne/externe, de soins parentaux ou non, de flottabilité et d'adhérence des œufs ou non, et ce, avec l'influence de l'environnement à maints niveaux (détermination du sexe selon le modèle mâle/femelle – ou autre –, différenciation des cellules sexuelles, gonadogenèse, fécondité, qualité des gamètes, comportement sexuel) (GENTEN et coll., 2011 ; JALABERT, 2005 ; LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a ; MYLONAS et coll., 2010 ; NORRIS et LOPEZ, 2011 ; TYLER et SUMPTER, 1996 ; WOYNAROVICH et HORVÁTH, 1981).

Le développement des gonades s'est donc vu évalué selon différents systèmes de classification et une terminologie s'étant démultipliée au fil du temps, ce qui a fini par amener une certaine confusion et entre autres, un besoin d'universalisation dans l'effort d'améliorer les connaissances sur la biologie de reproduction des poissons et la gestion durable des ressources halieutiques (BROWN-PETERSON et coll., 2011 ; LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a). Ce raisonnement est d'autant plus à propos pour les *Anguillidæ*, considérant la diversité des approches et des terminologies répertoriées au sein des espèces des zones tempérées uniquement (chez AR : COUILLARD et coll., 1997, 2014 ; OLIVEIRA et HABLE, 2010, chez AA : COLOMBO et coll., 1984 ; GEFFROY et coll., 2013 ; PALSTRA et coll., 2005, 2007, 2010a ; PÉREZ et coll., 2011, chez AJ : ADACHI et coll., 2003 ; KAGAWA et coll., 2009 ; KAYABA et coll., 2001 ; YAMAMOTO et coll., 1974, chez les deux espèces présentes en Nouvelle-Zélande, AD et AU (*A. australis* Richardson, 1841) : LOKMAN et coll., 1998, 2001), et en particulier dans le contexte de leur déclin.

Hormis le développement ovarien à proprement parler, cette revue de littérature fait le pont avec la régulation neuroendocrinienne qui en est responsable, et s'applique au final à bien mettre en contexte, spécifiquement chez les anguilles, les différentes variables à l'étude.

3.1 **Développement des ovaires**

Malgré toute cette diversité présente chez les poissons, la très grande majorité des espèces (notamment celles dont la fécondation des œufs est externe) partage ces caractéristiques : les grandes *phases* du cycle reproductif, les *périodes* clé du développement des cellules sexuelles, et la structure des gonades et des gamètes. Dans l'ordre, les *phases* correspondent à l'immaturation (IMM), au développement (DEV), à la

capacité à se reproduire (CAP), la régression (RSS) et la régénération (RÉG). Chez les femelles, les *périodes* s'y superposant réfèrent à la formation de l'ovocyte, la croissance primaire et la croissance secondaire de l'ovocyte, ces deux dernières incluant la pré-vitellogenèse, la vitellogenèse et la maturation «finale» de l'ovocyte — tous divisibles en *stades* de maturité (BROWN-PETERSON et coll., 2011; GENTEN et coll., 2011; LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a, 2011b).

Chez la quasi totalité des poissons téléostéens, les ovaires se présentent en une paire d'organes allongés qui sont situés dans la cavité abdominale du corps. Ils sont composés de cellules germinales et d'ovocytes (en général, de différentes périodes développementales et stades de maturité à la fois), mais également, de cellules folliculaires, de soutien (paroi externe musculaire et stroma interne composé de tissu conjonctif vascularisé et de ramifications nerveuses), et d'adipocytes (GENTEN et coll., 2011; LE MENN et coll., 2007; URBATZKA et coll., 2011; SELMAN et WALLACE, 1989), ces dernières cellules étant très souvent visibles chez l'anguille à partir de coupes histologiques d'ovaires en phase DEV (LOKMAN et coll., 1998, 2001; NOWOSAD et coll., 2015; PARMEGGIANI et coll., 2015; STØTTRUP et coll., 2013; TONGNUNUI et coll., 2016; WENNER et MUSICK, 1974).

L'ovocyte des poissons est délimité par l'enveloppe vitelline (EV), une zone acellulaire formée de protéines fibreuses et de glycosaminoglycanes – très fréquemment dénommée *zona radiata* dans la littérature – et dont la (micro) structure a déjà été examinée chez l'anguille en cours de développement sexuel (BURZAWA-GÉRARD et coll., 1994; KAYABA et coll., 2001). Le terme *follicule* réfère quant à lui à l'ovocyte ainsi qu'aux couches de cellules folliculaires (CF) qui l'entourent jusqu'à l'ovulation, où l'ovocyte, alors, s'en détache (GENTEN et coll., 2011; LUBZENS et coll., 2010; TYLER et SUMPTER, 1996). Ces couches sont notamment constituées (de l'ovocyte vers le reste du stroma ovarien) d'épaisses cellules de la granulosa, puis de larges et fines cellules de la thèque.

La dynamique du développement des ovocytes, leur taille et leur nombre, varient toutefois énormément au sein des diverses espèces de poissons (GENTEN et coll., 2011; KAMLER, 1992; LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a). Cette dynamique s'effectue notamment selon une stratégie synchrone ou asynchrone des stades ovocytaires qui se développent en même temps jusqu'à maturité. En dépit du fait que les poissons semelpares soient traditionnellement associés à la stratégie synchrone (ponte de tous les œufs en même temps, tous étant à maturité) jusqu'à ce que cela soit démontré (ce qui s'est avéré être le cas pour le saumon du Pacifique, notamment), de récents éléments de preuve suggèrent que les anguilles femelles pourraient être en mesure de pondre plusieurs fois (stratégie asynchrone avec un groupe d'ovocytes matures à la fois) au cours de leur unique saison de reproduction (LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a; TSUKAMOTO et coll., 2011).

Il n'existe pas à proprement parler de ressources visant à documenter, chez les *Anguillidæ*, le développement des ovocytes (stades de maturité), et encore moins à guider la reconnaissance des caractéristiques visuelles associées aux préparations histologiques sur lesquelles se basent l'état de la connaissance. Cette sélection d'ouvrage aura donc été d'une grande valeur pour la réalisation de la thèse et pourrait être utile à l'intéressé, chez les poissons téléostéens : BROWN-PETERSON et coll. (2011), GENTEN et coll. (2011), LE MENN et coll. (2007), LOWERRE-BARBIERI et coll. (2011a, 2011b), LUBZENS et coll. (2010), PATIÑO et SULLIVAN (2002), SELMAN et WALLACE (1989), TYLER et SUMPTER (1996), URBATZKA et coll. (2011), et les *Anguillidæ* en particulier : ADACHI et coll. (2003), COLOMBO et coll. (1984), KAGAWA et coll. (2009), KAYABA et coll. (2001), LOKMAN et coll. (1998, 2001), PALSTRA et coll. (2007), PÉREZ et coll. (2011), YAMAMOTO et coll. (1974).

Le développement des ovocytes (et des follicules) débute après leur formation au stade d'anguille jaune (FIGURE 3.1), ou autrement dit, la différenciation *directe* (GEFFROY et coll., 2013) des cellules germinales primordiales (CGP) en cellules femelles, les *ovogonies*, de même que leur multiplication par mitoses à côté des cellules pré-folliculaires, se produit bien avant l'argenture des anguilles. L'*ovocyte primaire* est en fait bloqué en prophase I de la méiose (jusqu'au stade de la migration du noyau où elle est redémarrée), ce qui marque le début de la **croissance primaire, soit le stade maximal observé pendant la phase IMM** (BROWN-PETERSON et coll., 2011), **toujours au stade d'anguille jaune** (ADACHI et coll., 2003 ; AROUA et coll., 2005 ; COLOMBO et coll., 1984). La croissance primaire est divisible en deux stades : celui du nucléus et condensation de la chromatine (ci-après 1-PG1, *early primary growth*) suivi des nucléoles en périphérie du noyau (ci-après 1-PG2, *late primary growth*) (ADACHI et coll., 2003 ; WALLACE et SELMAN, 1981 ; YAMAMOTO et coll., 1974). Elle est [la croissance primaire] le siège de la réplication de l'ADN, de synthèse d'ARN, de rassemblement des organites dans le cytoplasme (corps de Balbiani), de la folliculogénèse (les CF autour de l'ovocyte), du début de la stéroïdogénèse qui l'accompagne dans les CF (FIGURE 3.3), et de la formation de l'EV. Le cytoplasme est alors très basophile, ce qui lui confère une teinte foncée contrastant avec celle du noyau en coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) et en d'autres types de coloration (COLOMBO et coll., 1984 ; KARAKULAK et coll., 2016 ; LOKMAN et coll., 1998). Un contraste similaire permet de distinguer les structures lipidiques apparaissant avec l'entrée en pré-vitellogénèse (voir prochain paragraphe).

Les ovaires commencent à prendre de l'ampleur pendant la phase DEV (FIGURE 3.1). Cette dernière inclut une partie de la période de **croissance secondaire** de l'ovocyte correspondant à ce qui est observé chez l'anguille argentée capturée en cours de dévalaison (toutes espèces confondues), c.-à-d. que le développement n'atteint jamais la fin de la vitellogénèse (le stade le plus avancé lors de la migration étant la vitellogénèse intermédiaire, voir LOKMAN et coll., 1998) et laisse place aux premiers stades de la vitellogénèse (BROWN-PETERSON et coll., 2011). La croissance secondaire commence avec la **pré-vitellogénèse (PV)**, qui chez la plupart des téléostéens peut être standardisée aux stades (précoce ou avancé) des alvéoles corticales (« *cortical alveolus stage* », CA), mais se réfère plutôt, pour les ovocytes d'*Anguillidæ*, à ceux (précoce

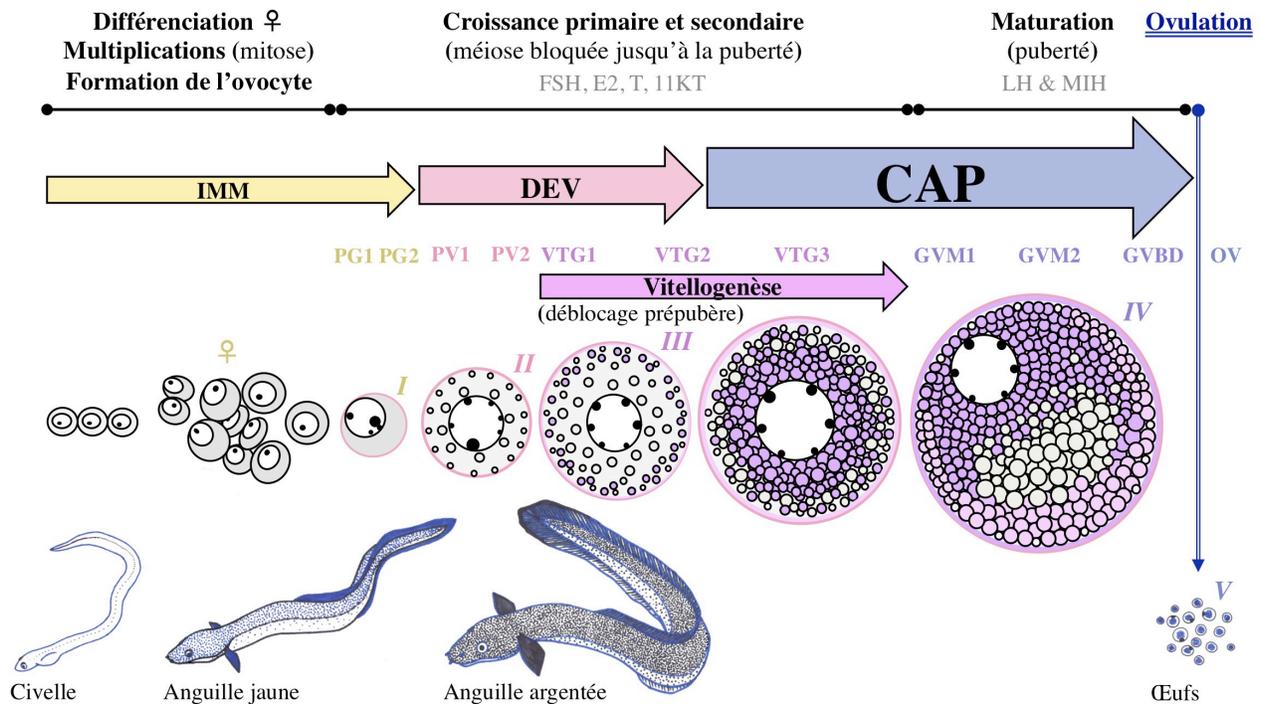


FIGURE 3.1 Séquence de développement ovocytaire survenant chez l'anguille

Périodes clés du développement ovocytaire (formation de l'ovocyte, croissance primaire et secondaire de l'ovocyte, cette dernière incluant la maturation « finale » de l'ovocyte, puis, ovulation) avec la correspondance aux grandes phases du cycle reproductif chez les poissons (IMM, DEV, CAP) ainsi qu'aux stades de maturité les plus avancés pouvant être observés, tout dépendamment de l'espèce, une fois l'ovocyte formé chez l'anguille jaune (I : PG1 et PG2, II : PVI), pendant la transition en anguille argentée ayant entamé la migration de reproduction vers l'océan (II : PV1 et PV2, III : VTG1 et VTG2), ou avec la progression de la maturation artificielle en bassin (II : PV1 et PV2, III : VTG1, VTG2, VTG3, IV : GVM1, GVM2, GVBD, V : OV). L'ovulation peut être détectée histologiquement par l'observation de follicules post-ovulatoires. Les références supplémentaires à l'axe gonadotrope sont liées soit à une phase critique pour l'anguille argentée (déblocage prépubère survenant avec la progression de la vitellogenèse), soit aux contrôles majeurs mais non uniques fournis par certains acteurs lors de la période de croissance (FSH, E2, T, 11KT) et de maturation (LH, MIH). CAP, capacité à se reproduire ; DEV, développement ; E2, 17 β -estradiol ; FSH, hormone folliculo-stimulante ; GVM1-2, migration précoce à avancée du noyau ; GVBD, dissolution du noyau ; IMM, immaturité ; LH, hormone lutéinisante ; MIH, hormone d'induction de la maturation (voir DHP en [FIGURE 3.3](#) ; OV, ovulation ; PG1-2, croissance primaire précoce à avancée ; PV1-2, pré-vitellogenèse précoce à avancée ; VTG1-3, vitellogenèse précoce à avancée.

ou avancé) des gouttelettes lipidiques («*oil droplet stage*», OD) puisque la séquence d'apparition de ces structures cytoplasmiques se retrouve à être inversée ([ADACHI et coll., 2003](#) ; [KAYABA et coll., 2001](#)). Le même phénomène d'inversion est présent chez d'autres poissons marins et migrateurs tels l'espadon ([CORRIERO et coll., 2004](#)) et différentes espèces de thon ([ABASCAL et MEDINA, 2005](#) ; [KARAKULAK et coll., 2016](#) ; [MEDINA et coll., 2007](#)). L'apparition des vésicules de lipides (stade OD) marque donc, pour ces poissons, le début de la PV, à l'instar des vésicules de glycoprotéines (stade CA) pour la majorité des téléostéens, des vésicules dont le rôle est par contre tout autre (voir prochain paragraphe) ([LE MENN et coll., 2007](#) ; [LUBZENS et coll., 2010](#) ; [SELMAN et WALLACE, 1989](#)). La fonction de cette période vient ici

primer, dans sa nomenclature, sur les nouvelles composantes observées dans l'ovocyte, c.-à-d. que **la PV couvre les stades rendant possible la vitellogenèse**. Elle apparaît en outre chez des poissons marins qui, typiquement, poursuivront en phase CAP; la PV (voire, la fin de la croissance primaire dans certains cas) permettrait d'identifier les poissons ayant les réserves suffisantes et ayant reçu les stimuli appropriés pour terminer le cycle reproductif [la migration de reproduction] (KJESBU et coll., 2011 ; LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a, 2011b; WRIGHT, 2007). Elle est également la première période à devenir dépendante des hormones secrétées en amont de l'axe gonadotrope (hypophysaires) bien que d'autres facteurs puissent entrer en jeu pour le passage en PV (LUBZENS et coll., 2010). Chez l'anguille, les réserves de lipides neutres qui commencent à s'accumuler dans les ovocytes en PV (stade OD) serviront plus tard (tout comme les composantes apportées par le vitellus) de réserves nutritives à l'embryon et la larve en développement (BROOKS et coll., 1997; OHKUBO et coll., 2008). L'anguille produit des œufs matures petits, à l'instar des poissons marins, mais exceptionnellement riches en contenu énergétique ($30,1 \text{ J}\cdot\text{mg}^{-1}$, masse sèche (m. s.)) comme pour le thon rouge de l'Atlantique ($30,1 \text{ J}\cdot\text{mg}^{-1}$) et le bar rayé ($30,9 \text{ J}\cdot\text{mg}^{-1}$, m. s.) qui sont d'autres espèces migratrices (revu dans KAMLER, 1992, 2005). Les vésicules de lipides neutres (stade OD) – par opposition aux vésicules de vitellus (voir prochain paragraphe) – en seraient vraisemblablement la source principale (ELDRIDGE et coll., 1982, 1983; KAMLER, 1992; OHKUBO et coll., 2008). En plus de servir de nutriment essentiel aux embryons et larves en développement (IBÁÑEZ et coll., 2003, 2008), le contenu des vésicules de lipides (VL) pourrait servir aux larves qui reposent sur une alimentation «incertaine» en colonne d'eau et contribuer en partie à leur bonne flottabilité (CERDÀ et coll., 2007; ELDRIDGE et coll., 1983; KAMLER, 1992; TSUKAMOTO et coll., 2009). Chez ces espèces dont les VL fusionnent ensemble lors de la maturation finale, les VL sont composées de diverses proportions d'un ou plusieurs types de lipides neutres – des triglycérides et autres esters de cire et de stéryle (conjugués de stérols) – similairement à d'autres formes de vie marine (ELDRIDGE et coll., 1983; WIEGAND, 1996). Pendant la PV de l'anguille, **les VL occupent de plus en plus l'ooplasmе (circulairement autour du noyau) jusqu'à le remplir** (PALSTRA et coll., 2007; STØTTRUP et coll., 2013). Selon le niveau d'avancement, la PV peut être divisée en plusieurs stades, minimalement deux (précoce et avancé, ci-après 2-PV1 et 2-PV2) (ADACHI et coll., 2003; PALSTRA et coll., 2007; STØTTRUP et coll., 2013), quoique certains auteurs s'en tiennent au stade dans sa globalité (KAYABA et coll., 2001; LOKMAN et coll., 1998; YAMAMOTO et coll., 1974), regroupent ensemble tous les stades précédant la vitellogenèse (PÉREZ et coll., 2011), voire, la PV avec la vitellogenèse confondues (COTTRILL et coll., 2001; COUILLARD et coll., 1997). En PV, **le cytoplasme des ovocytes est devenu moins basophile et l'EV a continué à se développer** (BURZAWA-GÉRARD et coll., 1994; KAYABA et coll., 2001). L'incorporation de VL dans les ovocytes se poursuit également au cours des stades ultérieurs (vitellogenèse) (DIVERS et coll., 2010; IBÁÑEZ et coll., 2003, 2008).

Les stades précoce et intermédiaire de la vitellogenèse (ci-après 3-VTG1 et 3-VTG2, respectivement) viennent ensuite finaliser la phase DEV (la vitellogenèse avancée faisant partie de la phase CAP) (BROWN-PETERSON et coll., 2011) (FIGURE 3.1). Chez l'anguille, les préparations histologiques classiques observées en

microscopie optique ne permettent généralement pas d'observer les vésicules de glycoprotéines (VGP) (c.-à-d. les alvéoles corticales du stade CA de maintes espèces) avant le début de la vitellogenèse (ADACHI et coll., 2003) bien que cela ait été rapporté grâce à la microscopie électronique (KAYABA et coll., 2001). Ces vésicules (glycoprotéines de ≥ 200 kDa et enzymes associées), chez l'anguille, se restreignent essentiellement à la périphérie de l'ooplasmе (ADACHI et coll., 2003; KAYABA et coll., 2001). Plus tard, avec la fécondation de l'œuf mature et sa « réaction corticale », le contenu des VGP est expulsé dans l'espace périvitellin (entre la membrane plasmique de l'ovocyte et l'EV), induisant notamment le durcissement de l'EV (formation du chorion) et l'activation de l'œuf (LE MENN et coll., 2007; LUBZENS et coll., 2010; SELMAN et WALLACE, 1989; TYLER et SUMPTER, 1996). **Chez l'anguille argentée, les premières vésicules de vitellus (VV) observées en périphérie de l'ovocyte (vitellogenèse précoce ou primaire, ci-après 3-VTG1) deviennent donc visibles, généralement, avec les VGP.** Le principal précurseur du vitellus, la vitellogénine (VTG), est une phospholipoglycoprotéine d'origine hépatique à taille variable (200-600 kDa) (PATIÑO et SULLIVAN, 2002; VERNONNEN et coll., 2004) contribuant également de manière essentielle – parallèlement aux VL – aux réserves nutritives de l'embryon et de la larve en développement (BROOKS et coll., 1997; OHKUBO et coll., 2008). La VTG est une source majeure de protéines (acides aminés), de phospholipides (chez le bar rayé ils représentent 80 % de la portion lipidique du vitellus), et dans une moindre mesure, de lipides neutres (ELDRIDGE et coll., 1983; WIEGAND, 1996), mais également, de minéraux (notamment en calcium, magnésium, zinc et fer) et vitamines (rétinoïdes) (BABIN et coll., 2007; LUBZENS et coll., 2010). La VTG contribue de manière essentielle à la flottabilité de l'œuf dont les mécanismes sont mis en place vers la fin de la maturation ovocytaire (voir prochain paragraphe). **Avec l'avancement de la vitellogenèse (incorporation de VTG dans l'ovocyte), l'ooplasmе est visiblement de plus en plus occupé par les VV (vitellogenèse intermédiaire ou secondaire, ci-après 3-VTG2) et l'EV plus épaisse,** et les couches de cellules folliculaires deviennent plus nombreuses avec le gain de taille substantiel de l'ovocyte (ADACHI et coll., 2003; KAYABA et coll., 2001; URBATZKA et coll., 2011).

Enfin, la poursuite **en phase CAP, avec la complétion de la vitellogenèse (avancée, ci-après 3-VTG3) et des stades de la maturation (4 ou OM), permet aux anguilles d'arriver à pleine maturité et de se reproduire** (BROWN-PETERSON et coll., 2011) (FIGURE 3.1). La méiose est redémarrée avec le stade de la migration du noyau (ci-après 4-GVM1), et une fois le noyau migré au pôle animal (ci-après 4-GVM2) et l'enveloppe nucléaire dissoute (ci-après 4-GVBD) (première division méiotique et élimination du corps polaire sous l'enveloppe vitelline (EV)), la méiose est nouvellement bloquée en métaphase II jusqu'à la fécondation de l'œuf mature expulsé en mer [l'ovocyte secondaire] venant avec l'ovulation (ci-après 5-OV), **qui dans les préparations histologiques, est détectable par la présence de follicules post-ovulatoires (POF, postovulatory follicles)** (LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a, 2011b). C'est avec la fécondation de l'œuf par un spermatozoïde que finalement se produit la réaction corticale associée aux vésicules de glycoprotéines, menant, avec l'hydratation de l'œuf et la modification de l'EV, à son imperméabilité (formation du chorion). Une récente revue des événements liés à la maturation de l'ovocyte et l'ovulation de l'œuf mature

est disponible dans [URBATZKA et coll., \(2011\)](#). L'hormone d'induction de la maturation est notamment nécessaire à l'avènement des différents stades de l'OM sous la régulation de l'axe gonadotrope (voir [FIGURE 3.3](#)). **Parallèlement aux événements de maturation du noyau et à l'arrêt concomitant des échanges vitellins à travers l'EV, se produisent les événements de maturation de l'ooplasmе.** Pendant la migration du noyau, les vésicules de lipides fusionnent (coalescence des VL, ci-après CL), elles se déplacent au centre de l'ovocyte, et les vésicules de vitellus fusionnent également de manière partielle (coalescence des VV, ci-après CV). La lyse de leurs protéines et la libération conjointe des acides aminés (FAA, *free amino acids*) conduisent finalement à la clarification de l'ooplasmе (laissant une couche périphérique visiblement plus claire), à une importante hydratation de l'ovocyte (ci-après HYD) et à un important gain de taille de l'ovocyte avant son détachement des cellules folliculaires. Chez les poissons marins, le processus d'hydratation finale est principalement dû à la pression osmotique causée par les FAA et aux aquaporines situées temporairement dans la membrane plasmique et l'EV (il est associé à la présence d'ions inorganiques mais dans une bien moindre mesure) ([CERDÀ et coll., 2007](#) ; [CERDÀ, 2009](#) ; [FINN et KRISTOFFERSEN, 2007](#)). L'anguille produit de petits œufs hautement hydratés (78-93 % g eau·g⁻¹, masse fraîche) par rapport à ceux de la plupart des poissons marins ([BOËTIUS et BOËTIUS, 1980](#) ; [KAMLER, 1992](#) ; [SEOKA et coll., 2003](#) ; [UNUMA et coll., 2005](#)). La VTG [VV] est donc un acteur crucial menant à la flottabilité de l'œuf et à l'acquisition d'un réservoir d'eau essentiel pour l'embryon *via* l'hydratation finale qu'elle propulse ([FINN et KRISTOFFERSEN, 2007](#) ; [MATSUBARA et coll., 2003a](#) ; [SEOKA et coll., 2003](#)). L'importance de la bonne flottabilité des œufs expulsés en mer, une caractéristique ayant été associée chez l'anguille à une densité s'apparentant à l'eau de mer ([UNUMA et coll., 2005](#) ; [TSUKAMOTO et coll., 2009](#)), confère donc à la VTG un rôle inestimable pour la qualité des œufs produits, en plus des réserves de VV dont elle est le principal précurseur et des réserves de VL, toutes des sources essentielles de nutriments pour l'embryon et la larve à venir ([FINN et KRISTOFFERSEN, 2007](#) ; [MYLONAS et coll., 2010](#) ; [OHKUBO et coll., 2008](#) ; [TSUKAMOTO et coll., 2009](#)).

3.2 Régulation neuroendocrinienne

Le développement des *gonades* est contrôlé par des stimuli intégrés au complexe cérébro-hypophysaire principalement *via* l'axe *gonadotrope* ou *cerveau-hypophyse-gonade* ([FIGURE 3.2](#)). Chez l'anguille, lorsque les stimuli intégrés au complexe cérébro-hypophysaire sont appropriés, des neurones provenant du cerveau antérieur, et passant par une jonction hypothalamus-hypophyse caractéristique des poissons téléostéens ([FIGURE 3.2](#)) ([KAH et DUFOUR, 2011](#)), sécrètent la gonadolibérine (GnRH, *gonadotropin-releasing hormone*) à proximité des cellules gonadotropes de l'adénohypophyse qu'elles innervent (directement). Ces neurohormones décapeptidiques stimulent à leur tour la synthèse et la libération des hormones gonadotropes (GTH), c.-à-d. l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH), qui sont alors mises en circulation dans le système sanguin. Les GTH produisent leurs effets en se liant spécifiquement aux cellules d'organes cibles (complexes hormone-récepteur), ce qui conduit, avec les stimuli appropriés (notamment avec

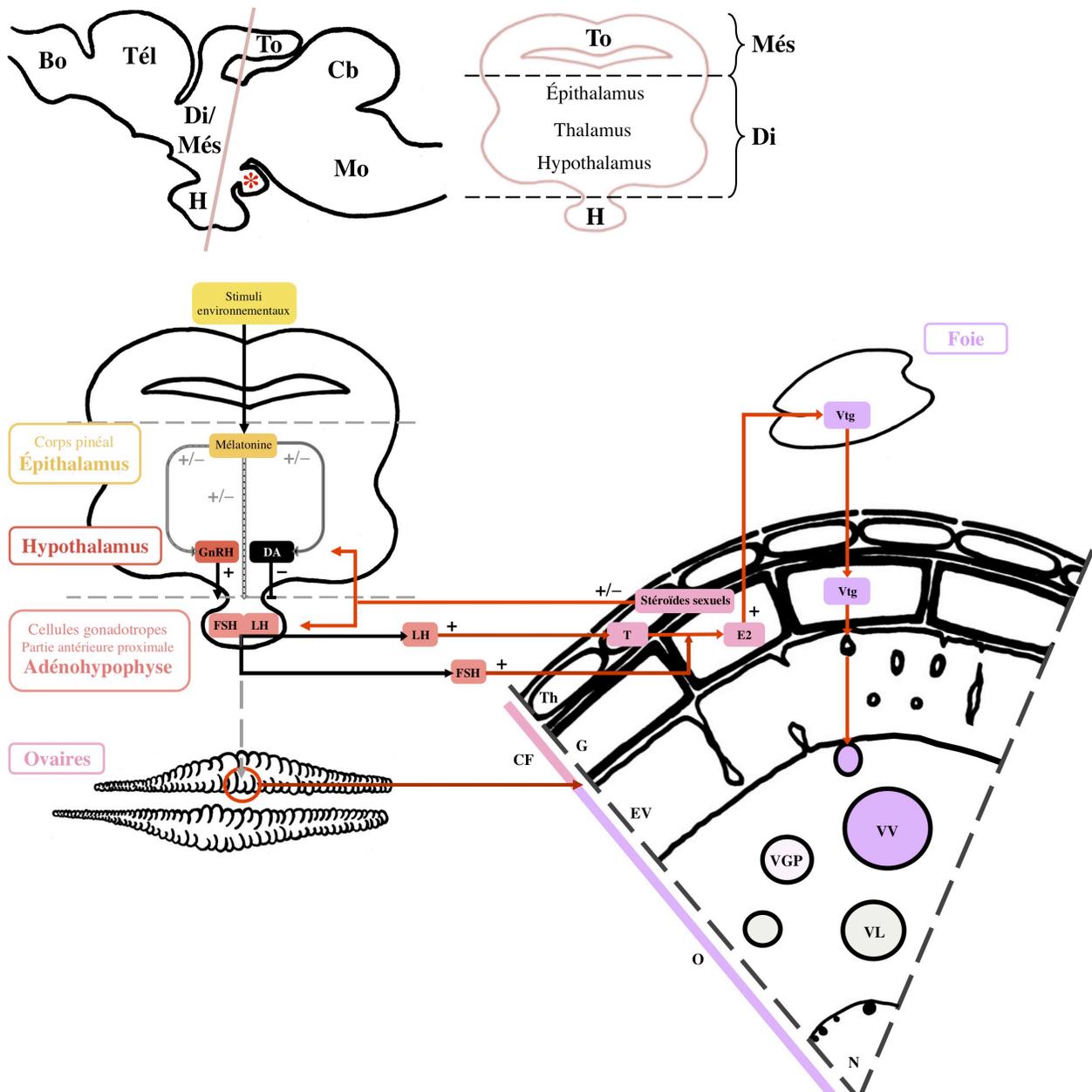


FIGURE 3.2 Contrôles majeurs de l'axe gonadotrope pour un ovocyte d'anguille sous vitellogenèse

Vue sagittale du cerveau de l'anguille (antérieur/moyen : Bo, Tél, To, Bi/Més, *; postérieur : Cd, Mo) avec coupe coronale passant par l'hypophyse (H) permettant de situer la région où se situe la jonction hypothalamus-hypophyse, siège des contrôles majeurs situés en amont de l'axe gonadotrope dans le complexe cérébro-hypophysaire, et agissant, chez les femelles, jusque dans les ovaires et le foie, avec la contribution des stéroïdes sexuels, qui exercent, à leur tour, d'importants rétrocontrôles en amont de l'axe. Le schéma du quartier d'ovocyte n'est pas à l'échelle. D'autres acteurs de l'axe gonadotrope entrent également en jeu. La stéroïdogénèse est détaillée en FIGURE 3.3. Bo, bulbe olfactif; Cb, *corpus*; CF, cellules folliculaires; DA, dopamine; Di/Més, di-/mésencéphale (incluant le corps pinéal); E2, 17 β -estradiol; EV, enveloppe vitelline; FSH, hormone folliculo-stimulante; G, cellules de la granulosa; GnRH, gonadolibérine; LH, hormone lutéinisante; Mo, *medulla oblongata*; N, noyau; O, ovocyte; T, testostérone; Th, cellules de la thèque; VGP, vésicule de glycoprotéines; VL, vésicule de lipides; Vtg, vitellogénine; VV, vésicule de vitellus; *, *saccus vasculosus*.

les rétrocontrôles qu'exercent les stéroïdes sexuels et leurs récepteurs) et l'aide d'autres acteurs (notamment avec le principal précurseur du vitellus qui est synthétisé dans le foie), au plein développement des ovaires et à la capacité de se reproduire. Les principaux acteurs de l'axe gonadotrope, et essentiellement ceux quantifiés dans cette thèse, seront abordés dans la présente section selon une logique de pas à pas.

Deux types de neurones à GnRH sont présentes chez l'anguille (KAH et DUFOUR, 2011 ; ROUSSEAU et coll., 2014). Ceux sécrétant la **GnRH1** (codée par le gène *gnrh1*) (ancienne nomenclature : mGnRH) réfèrent aux cellules neuronales en provenance de l'épithélium olfactif et migrant jusqu'à l'aire pré-optique et l'hypothalamus. À différence d'une grande partie des vertébrés, chez les tétrapodes, pour lesquels les terminaisons axonales des neurones hypophysiotropes se projettent à la base de l'hypothalamus (éminence médiane), celles des neurones à GnRH1 se projettent, chez les poissons téléostéens, jusque dans la partie glandulaire de l'hypophyse (adénohypophyse). La GnRH1 est considérée comme étant la forme majoritairement sécrétée pour la régulation fonctionnelle [stimulation] des GTH. Chez les téléostéens et en particulier l'anguille, une régulation opposée [inhibition] est exercée par la dopamine parallèlement au contrôle stimulateur de la GnRH (FIGURE 3.2). Les neurones sécrétant la **GnRH2** (codée par le gène *gnrh2*) (ancienne nomenclature : cGnRH-II) réfèrent quant à eux aux cellules neuronales dérivées du mésencéphale dont une plus petite proportion innerve également l'hypophyse chez l'anguille, sans en général avoir été associées aux fonctionnalités hypophysiotropes de la GnRH, du moins chez les juvéniles (OKUBO et coll., 1999a, 1999b) et les femelles ayant été examinées à l'issue de la maturation artificielle (DUFOUR et coll., 1993 ; MONTERO et coll., 1994, 1995). Plus récemment, trois récepteurs à GnRH (GnRHr) ont été identifiés chez l'anguille (PEÑARANDA et coll., 2013). Ces derniers étaient exprimés dans différentes parties du cerveau, dans l'hypophyse et maints tissus périphériques, en particulier dans les gonades, le rein et les branchies. Les données issues de la maturation artificielle ont ensuite démontré que chez les femelles, la régulation transcriptionnelle différait selon les récepteurs et spécifiquement avec l'entrée en vitellogenèse (dans le cerveau antérieur/moyen) et sa progression (dans l'hypophyse).

La FSH et la LH (ancienne nomenclature : GTH-I et GH-II, respectivement), chez l'anguille comme chez les poissons téléostéens en général, sont des **hormones glycoprotéiques produites par des cellules glandulaires distinctes de l'hypophyse**, à la différence des mammifères chez lesquels les deux hormones sont produites par les mêmes cellules (KAH et DUFOUR, 2011 ; SCHMITZ et coll., 2005). La FSH et la LH partagent une sous-unité α commune entre elles et avec l'hormone thyroïdienne (TSH), mais l'autre sous-unité β leur confère des fonctionnalités distinctes *via* les récepteurs FSHr et LHR dont la régulation, chez l'anguille, est connue pour être modulée à la hausse dans les ovaires en réponse à la maturation artificielle (JENG et coll., 2007). Les récepteurs à FSH et LH sont aussi détectables dans le cerveau antérieur et les branchies, et à une bien plus faible abondance, dans d'autres parties du cerveau, dans l'hypophyse et dans d'autres organes périphériques (KAZETO et coll., 2012). La hausse de la transcription ovarienne des récepteurs est par ailleurs

associée à l'avènement de la vitellogenèse pour la FSH β et à la complétion de la vitellogenèse pour les deux GTH (KAZETO et coll., 2012). Plus récemment, un récepteur à FSH mais deux récepteurs à LH ont été identifiés chez l'anguille ainsi que chez d'autres téléostéens (MAUGARS et DUFOUR, 2015). La modulation naturelle de l'expression des deux GTH avec l'avancement sexuel associé à l'argenture (AROUA et coll., 2005; MARCHELIDON et coll., 1999) pourrait désormais être davantage suivie, chez l'anguille, à partir de prélèvements sanguins (MINEGISHI et coll., 2012). **La régulation transcriptionnelle des GTH en réponse à des traitements de maturation artificielle à l'extrait hypophysaire de poisson est quant à elle bien connue pour être modulée de manière opposée chez l'anguille, à la baisse pour la FSH β et à la hausse pour LH β** (HUANG et coll., 2009; JENG et coll., 2007; PÉREZ et coll., 2011; SAITO et coll., 2003; SCHMITZ et coll., 2005; SUETAKE et coll., 2002, 2003).

Les stéroïdes sexuels exercent d'importants rétrocontrôles au niveau du complexe cérébro-hypophysaire de l'axe gonadotrope, et ce, tout au long du développement ovocytaire (AROUA et coll., 2009; ROUSSEAU et coll., 2014; PATIÑO et SULLIVAN, 2002; SELMAN et WALLACE, 1989; TYLER et SUMPTER, 1996; URBATZKA et coll., 2011). **Les stéroïdes sexuels sont principalement synthétisés dans les cellules folliculaires entourant les ovocytes dès la fin de la croissance primaire (stade 1-PG) et sous la stimulation même de l'axe gonadotrope (FIGURE 3.3) (KAZETO et coll., 2011; LUBZENS et coll., 2010; NAGAHAMA et YAMASHITA, 2008; TYLER et SUMPTER, 1996). Les poissons femelles dépendent de l'estrogène majoritairement présent chez les vertébrés, la 17 β -estradiol (E2) qui est produite par l'aromatase de la testostérone (T), entre autres pour la synthèse hépatique de la vitellogénine (VTG, principal précurseur du vitellus) qui est ensuite incorporée dans l'ovocyte sous vitellogenèse (FIGURE 3.2). Mais chez les *Anguillidæ* femelles en particulier, d'importants rétrocontrôles sont exercés au niveau cérébro-hypophysaire par l'E2 (SCHMITZ et coll., 2005), mais également la T (SCHMITZ et coll., 2005; VIDAL et coll., 2004) et un androgène qui n'est pas aromatisable, la 11-cétotestostérone (11KT) (FIGURE 3.3) (SETIAWAN et coll., 2012a).** Les mécanismes d'action des stéroïdes peuvent être examinés via leurs récepteurs spécifiques. Bien que des mécanismes non génomiques soient maintenant connus pour expliquer l'action des stéroïdes *via* des récepteurs membranaires à la surface des cellules (REVELLI et coll., 1998), les mécanismes d'action classiques impliquant l'activation de récepteurs intracellulaires (nucléaires ou cytosoliques) et l'induction de la transcription de gènes sont beaucoup mieux caractérisés au sein des poissons téléostéens (KAH et DUFOUR, 2011). Deux types majeurs de récepteurs nucléaires à estrogène ont été rapportés chez *Anguilla* spp. : ESR1 et ESR2 (ancienne nomenclature : ER α et ER β , respectivement) (PALSTRA et coll., 2010a; TODO et coll., 1996). Ils sont exprimés dans différentes régions du cerveau des anguilles avec l'hypophyse (JENG et coll., 2012) et dans plusieurs organes périphériques tels que le cœur, les yeux et le muscle (LAFONT et coll., 2016). Mais en considérant tous les récepteurs (même membranaires), **le récepteur ESR1 est le seul dont la régulation transcriptionnelle augmente dans l'hypophyse, le foie et les ovaires en réponse à la maturation artificielle** et de manière spécifique à l'E2 (courbe dose-réponse) lorsque des cellules hépatiques sont exposées de manière *in vitro* (LAFONT et coll., 2016). Le récepteur ESR2 ou chacune de ses formes (ESR2a et ESR2b) soit ne répondait pas à la maturation soit était sous-exprimé (cerveau, hypophyse, ovaires, foie) (JENG et coll., 2012; LAFONT et coll., 2016).

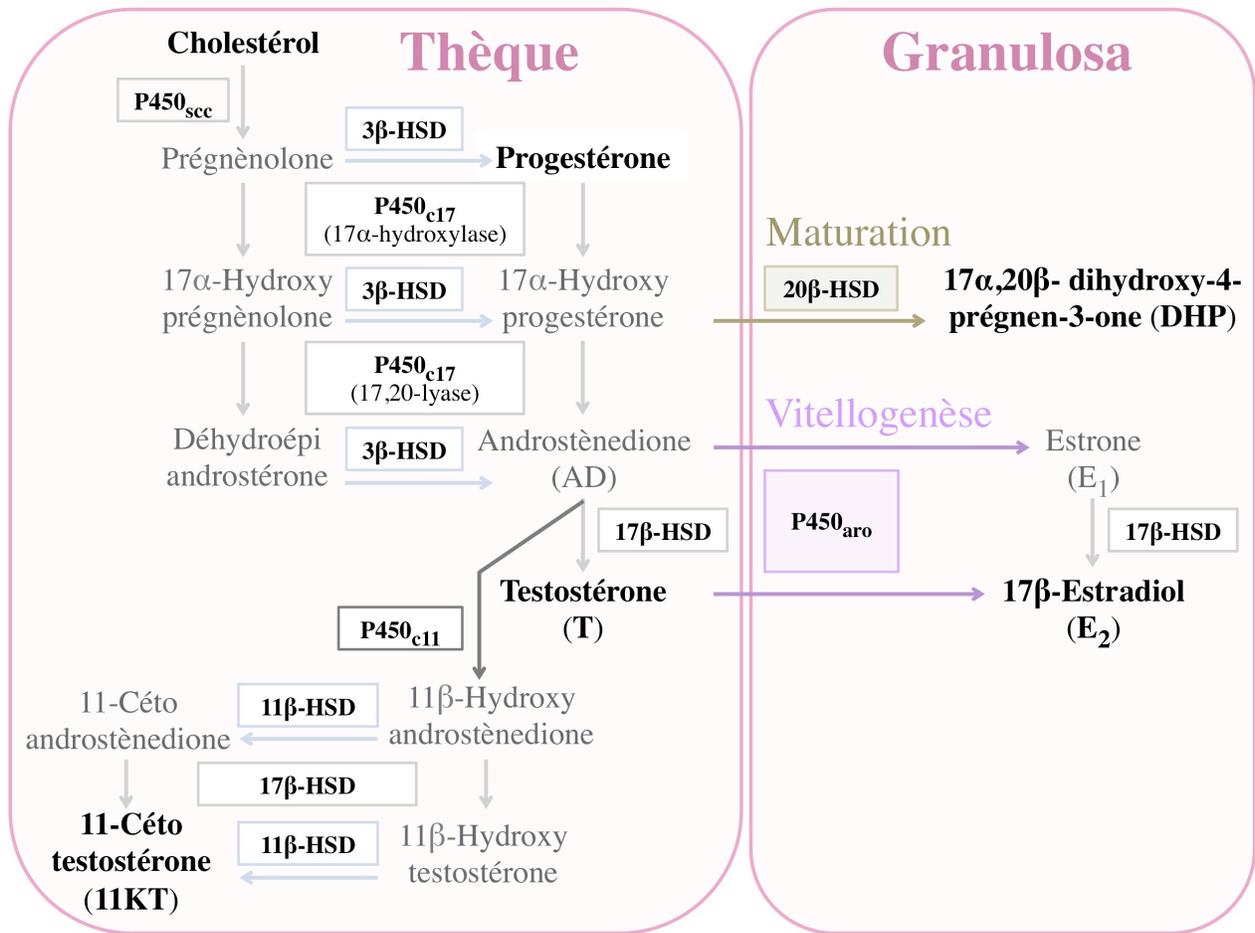


FIGURE 3.3 Voies majeures de la stéroïdogénèse dans les cellules folliculaires en développement de l'anguille. Plusieurs enzymes participent à la biosynthèse des stéroïdes sexuels dans les cellules folliculaires, et ce, à partir de la croissance primaire de l'ovocyte : P450_{aro}, cytochrome P450 aromatasé ; P450_{c11}, cytochrome P450 11β-hydroxylase ; P450_{c17}, cytochrome P450 à activité 17α-hydroxylase ou C17,20-lyase ; P450_{scc}, cytochrome P450 de clivage de la chaîne latérale du cholestérol (*side-chain cleavage*) ; 3β-HSD, 11β-HSD, 17β-HSD et 20β-HSD, les différentes β-hydroxystéroïde déshydrogénases, cette dernière, 20β-HSD, catalysant la réaction à l'origine de l'hormone d'induction de la maturation (DHP) qui est requise pour que l'ovocyte en développement, sous la régulation de l'axe gonadotrope (notamment *via* la hausse pré-ovulatoire en LH et la contribution d'un réseau local de facteurs peptidiques incluant le système activine/follistatine), acquière la compétence de maturation et donc puisse réinitier la méiose jusqu'en métaphase II (de la migration à la dissolution du noyau où elle est nouvellement bloquée jusqu'à la fécondation de l'œuf mature expulsé en mer).

Il faut savoir que les traitements de maturation artificielle à l'extrait hypophysaire de poisson sont employés pour palier à la déficience de production et de sécrétion en GTH des anguilles argentées maintenues en bassin (*blocage prépubère*). Ce blocage résulte du double contrôle cérébral des GTH hypophysaires par la (+) GnRH et la (-) dopamine (un manque de stimulation de la GnRH et une trop forte inhibition de la dopamine) conjointement à leur manque de sensibilité à la GnRH (DUFOUR et coll., 1983a, 1983b, 2003; ROUSSEAU et coll., 2014; VIDAL et coll., 2004). Deux récepteurs à dopamine (D2Ar et D2Br) ont été caractérisés chez l'anguille (PASQUALINI et coll., 2009) et associés à son contrôle inhibiteur de manière *in vitro* et surtout *via* D2Br. Pour accéder à une revue des systèmes dopaminergiques de l'anguille voir SÉBERT et coll. (2008b). Les GTH hypophysaires sont directement sensibles à la dopamine (DA) et plus particulièrement la LH β (JOLLY et coll., 2016). La hausse normalement associée à la LH β avec la maturation artificielle des anguilles peut être observée en réponse à des traitements *in vivo* à l'extrait hypophysaire (JENG et coll., 2007) et de manière spécifique à l'E2 seul, mais pas à la T (AROUA et coll., 2007; JENG et coll., 2007; SCHMITZ et coll., 2005). La production hypophysaire de LH β et sa libération plasmatique avec celle de la VTG n'a toutefois été rendue possible que par l'administration conjointe d'un agoniste de la GnRH (GnRH α) et d'un antagoniste de la dopamine (pimozide) en présence de T (VIDAL et coll., 2004). Il est important de garder en tête que c'est l'intégration de multiples signaux au complexe cérébro-hypophysaire et l'activation appropriée de l'axe gonadotrope, qui au final, régule le développement ovarien des anguilles femelles (FIGURE 3.2). Parmi les signaux connus chez l'anguille se trouvent également ceux associés à la modulation de la mélatonine (SÉBERT et coll., 2008a) et à l'influence du système kisspeptine sur la GnRH et la LH β (PASQUIER et coll., 2011, 2012, 2014, 2018). Bien d'autres signaux associés au métabolisme énergétique (réserves corporelles, hormone de croissance, cortisol, et autres biorégulateurs), au comportement et à l'environnement des anguilles (activité de nage, température, photopériode, pression hydrostatique, salinité, qualité de l'habitat) peuvent être impliqués directement ou indirectement (FIGURE 1.5) dans le contrôle de l'axe gonadotrope au cours du développement sexuel naturel ou induit, et de ce fait, influencer la qualité de la progéniture (DUFOUR et coll., 2010; DURIF et coll., 2006; MIGAUD et coll., 2010; MYLONAS et coll., 2010; ROUSSEAU et coll., 2014; TARANGER et coll., 2010; URBATZKA et coll., 2011; ZOHAR et coll., 2010). **Le développement des gonades résulte d'une combinaison unique de stimuli vécus par les anguilles argentées ayant entamé le long voyage à jeun tout en étant empreintes de leurs propres caractéristiques d'histoire de vie, d'où la pertinence, lors des expériences de maturation artificielle, de simuler le plus de facteurs possibles de manière analogue au milieu naturel (courant, salinité, température, photopériode, pression hydrostatique, etc.) où se produit la pleine maturation et la reproduction.**

Le plein développement sexuel des anguilles a pu être observé pour la première fois grâce aux travaux pionniers de Maurice Fontaine et de ses collaborateurs français à partir de mâles (FONTAINE, 1936) puis de femelles (FONTAINE et coll., 1964) grâce à l'utilisation d'extrait urinaire de femme enceinte (contenant l'hormone gonadotrope chorionique humaine (HGC)) puis d'extrait hypophysaire de carpe, respectivement. Ce fût donc le premier indice du blocage prépubère de l'anguille argentée en lien probable avec un trouble

de la fonction hypophysaire de l'axe gonadotrope (ROUSSEAU et coll., 2014). **Les premières expériences de maturation artificielle d'anguilles femelles à l'extrait hypophysaire de poisson réalisées chez AA auront représenté le début de nombreuses investigations élargies à la biologie de reproduction des autres espèces d'Anguillidae.** La fécondation artificielle et l'éclosion des premières larves a été obtenue d'abord chez AJ en utilisant de l'**extrait hypophysaire de saumon** (YAMAMOTO et YAMAUCHI, 1974; YAMAMOTO et coll., 1976), puis le taux de réussite amélioré grâce à l'utilisation de l'hormone d'induction de la maturation (YAMAUCHI, 1990) (FIGURE 3.3) pour la maturation « finale » et l'ovulation, ce qui a permis d'élaborer une méthode améliorée (OHTA et coll., 1996, 1997). L'utilisation de **méthodes similaires (résumées dans OKAMURA et coll., 2014)** aura enfin mené à l'obtention d'embryons ou larves chez AU et AD (LOKMAN et YOUNG, 2000), AA (PEDERSEN 2003, 2004; PALSTRA et coll., 2005) et AR (OLIVEIRA et HABLE, 2010). La viabilité des larves a ensuite été améliorée jusqu'au début du stade leptocéphale chez AJ (TANAKA et coll., 2001) et AA (RINDOM et coll., 2014; TOMKIEWICZ, 2012), puis chez AJ, poursuivie jusqu'à l'obtention de civelles (TANAKA et coll., 2003) et jusqu'à l'élevage complet du cycle de vie et la génération F2 (MASUDA et coll., 2012). **Aujourd'hui, la recherche en reproduction artificielle vise essentiellement à améliorer la qualité et la viabilité des œufs et des larves produites afin d'accéder à une aquaculture autosuffisante, c.-à-d. n'ayant plus besoin de recourir aux stocks sauvages de civelles pour la production d'anguilles à grande échelle** (IJIRI et coll., 2011; KUROKI et coll., 2014b; OKAMURA et coll., 2014; RINDOM et coll., 2014). La progression dans l'atteinte de cet ultime objectif diffère toutefois selon l'espèce considérée et elle nécessitera de toute part le soutien continu de la recherche scientifique. Une aquaculture autosuffisante devrait permettre de relâcher la pression exercée sur les stocks mondiaux de civelles et les populations d'*Anguilla* en déclin. Les efforts actuels sont donc également orientés vers la meilleure compréhension du milieu océanique où s'opèrent le plein développement sexuel et la reproduction des anguilles matures et la biologie sous-jacente (SECTION 1.2.3). L'influence de divers stimuli internes (hormone de croissance, réserves corporelles, activité de nage, cortisol, etc.) et externes (photopériode et autres stimuli associés à la mélatonine, pression hydrostatique, température, etc.) a commencé à être caractérisée en milieu contrôlé même s'ils n'entraînent pas à eux seuls l'avènement de la puberté (revus dans ROUSSEAU et coll., 2014).

Parmi les facteurs internes pouvant interagir avec l'axe gonadotrope pendant le développement ovarien des poissons, de plus en plus d'études suggèrent l'implication de l'axe somatotrope (URBATZKA et coll., 2011). Chez l'anguille, une hausse plasmatique en hormone de croissance (GH alias hormone somatotrope en FIGURE 1.5) a été détectée chez des anguilles en cours d'argenture (pré-migrateurs) avant sa baisse subséquente de manière conjointe à une hausse en LH β (DURIF et coll., 2005). Cet enchaînement est en accord avec le contrôle exercé *in vitro* par les facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF) sur la libération hypophysaire de LH β (HUANG et coll., 1998) et leur rétrocontrôle négatif sur la GH hypophysaire (ROUSSEAU et coll., 1998). L'effet *in vitro* de l'IGF-I a également été documenté chez l'anguille jaune (en début de pré-vitellogenèse) comme ayant un rôle stimulateur sur la croissance des ovocytes (diamètre) au même titre que l'ajout seul de lipides ou de 11KT (LOKMAN et coll., 2007). L'axe somatotrope pourrait être

associé à l'initiation de l'argenteure de manière similaire à ce qui est observé avec l'avènement de la puberté chez les mammifères (ROUSSEAU et coll., 2012). Les travaux de LARSSON et collaborateurs (1990) suggéraient que le début de l'argenteure soit enclenché avec l'atteinte d'un certain seuil de réserves corporelles en lipides en lien avec la longue migration de reproduction à venir et des besoins pour le développement ovarien. Les **réserves corporelles** de l'anguille argentée sont principalement constituées de lipides à l'instar d'autres poissons très gras qui les accumulent dans le muscle (BOËTIUS et BOËTIUS, 1980, 1985). La teneur ovarienne lipidique des anguilles argentées peut accroître en moyenne d'un facteur 10 avec la pleine maturation artificielle (PALSTRA et coll., 2006). L'**activité de nage** réalisée pendant la migration de reproduction nécessiterait toutefois presque deux fois plus de lipides que la quantité nécessaire au plein développement ovarien chez l'anguille d'Europe parcourant 5000-6000 km jusqu'à l'aire de reproduction (VAN DEN THILLART et coll., 2007). Cette activité est en fait un des facteurs internes qui pourrait interférer avec l'axe gonadotrope en lien avec l'axe somatotrope et le **métabolisme énergétique**. Quelques semaines de simulation de migration (en eau douce) suffisent pour voir apparaître une évolution du développement ovarien chez des anguilles jaunes sauvages ou en cours d'argenteure classées surtout en stade de croissance primaire (1-PG1) avant l'activité de nage (PALSTRA et coll., 2007). Deux à six semaines (14 à 42 jours de nage) ont eu pour effet d'accroître le diamètre ovocytaire lorsque la moitié des anguilles terminaient en début de pré-vitellogenèse (1-PV1) et d'accroître le GSI lorsque la majorité des anguilles passaient en fin de croissance primaire (1-PG2) ou en début de pré-vitellogenèse (2-PV1). Mais après une nage prolongée de 20 à 30 semaines (173 jours), le diamètre ovocytaire des anguilles jaunes d'élevage avait toutefois augmenté de manière bien plus claire (mais pas le GSI) que chez les anguilles n'ayant pas nagé, en accord avec une plus forte accumulation de vésicules de lipides dans leurs ovocytes en pré-vitellogenèse (VAN GINNEKEN et coll., 2007a). Leur production hypophysaire en LH β était par ailleurs plus élevée que dans le groupe contrôle initial (mais pas significativement du groupe contrôle final), de même que leur sécrétion plasmatique en cortisol (qui était toutefois inférieure significativement au groupe contrôle final n'ayant pas nagé). L'**axe corticotrope** est l'autre grand axe pour lequel les données cumulées chez l'anguille démontrent une interaction avec l'axe gonadotrope (FIGURE 1.5). Chez les poissons téléostéens, le cortisol est le corticoïde majoritairement présent et il assume la fonction de minéralocorticoïde (transport du sodium à travers les branchies, la muqueuse intestinale et les reins) et de glucocorticoïde (maintien de la néoglucogénèse et équilibre entre le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides). L'alimentation comme le jeûne peuvent stimuler sa sécrétion, de même que des facteurs environnementaux tels que la température (NORRIS et CARR, 2013). Les travaux de HUANG et collaborateurs (1999) ont montré que le cortisol stimulait la production de LH β hypophysaire de manière *in vitro* et *in vivo* de même que sa libération *in vitro*, et que cela était spécifique à sa fonction de glucocorticoïde. Leurs travaux ont également démontré que le cortisol et la testostérone (T) pouvaient tout autant stimuler la régulation transcriptionnelle que la production *in vitro* de LH β et que ces deux derniers pouvaient agir en synergie (HUANG, 1998; SBAIHI, 2001).

Du côté des facteurs externes pouvant interagir avec l'axe gonadotrope pendant la migration de reproduction est également répertoriée la photopériode et les autres stimuli environnementaux (dont la

température, la salinité, et la pression hydrostatique) ou internes (p. ex. le statut d'alimentation) pouvant être intégrés au complexe cérébro-hypophysaire via la modulation de la mélatonine. Une revue plus exhaustive de sa régulation chez les poissons est accessible dans [DUFOUR et coll. \(2010\)](#), [MIGAUD et coll. \(2010\)](#) et [SERVILI et coll. \(2010\)](#). La mélatonine est une hormone indolamine (à l'instar de la sérotonine) principalement synthétisée et sécrétée par le corps pinéal, une formation glandulaire provenant d'une évagination de la surface supérieure du diencephale située près du tectum optique sous des tissus transparents de la lucarne du crâne et contenant des cellules photoréceptrices et neurones (**FIGURE 3.2**) ([TSUKADA et coll., 2007](#); [ZACHMANN et coll., 1992](#)). La mélatonine [un *zeitgeber* interne] est sécrétée en réponse à l'obscurité et sa modulation au rythme des cycles journaliers et saisonniers. Cinq mois d'exposition *in vivo* à la mélatonine d'anguilles argentées capturées pendant la dévalaison n'ont pas modifié leur développement ovarien (GSI et stade de maturité en pré-vitellogenèse équivalent au groupe contrôle final), toutefois, le traitement a eu pour effet d'abaisser les teneurs plasmatiques en 11KT de même que le niveau de la transcription des GTH hypophysaires tout en induisant une hausse dans le niveau de la transcription de la tyrosine hydroxylase (TH) de plusieurs sections du cerveau (antérieur et moyen), c.-à-d. l'enzyme limitante à la formation de dopamine (**FIGURE 3.2**) ([SÉBERT et coll., 2008a](#)). Puisque le niveau de la transcription des GnRH cérébrales est resté équivalent au groupe contrôle final, ces travaux suggèrent que la mélatonine avait une action inhibitrice sur l'axe gonadotrope spécifiquement via le système dopaminergique. Dans des conditions tout à fait différentes où des anguilles argentées ont d'abord été alimentées puis traitées avec un traitement de maturation à dosage progressif (la dose augmentait dans le temps), un groupe laissé dans le noir a été comparé à un groupe où l'alternance journalière avec une luminosité de jour était conservée ([PARMEGGIANI et coll., 2015](#)). À la fin des 13 semaines expérimentales, le développement ovarien (le GSI mais pas le stade de maturité) était significativement plus élevé chez le groupe qui était dans le noir, de même que les teneurs plasmatiques en T et en E2 des anguilles. Considérant toutes les variations associées aux conditions expérimentales (l'influence potentielle de plusieurs d'entre elles sur la production de mélatonine) et l'absence de la pleine maturation, il est toutefois difficile d'apporter des hypothèses précises dans cette étude en lien avec l'effet de la photopériode sur l'axe gonadotrope. Une récente étude a notamment démontré qu'avec l'application journalière de noirceur pendant la nuit, la 11KT était directement impliquée dans l'activité de locomotion des anguilles jaunes en lien probable avec le déclenchement de la migration de reproduction sans lien apparent avec l'état de développement sexuel ([SUDO et TSUKAMOTO, 2015](#)).

L'effet de la **pression hydrostatique** associée aux profondeurs vécues par les anguilles argentées dans l'océan a fait objet de recherche encore récemment parmi les facteurs associés à la longue migration qui pourraient influencer la maturation sexuelle. Pour un historique plus complet sur ce facteur voir [ROUSSEAU et coll. \(2014\)](#). Après trois semaines d'exposition à une pression de 101 ATA en chambre hyperbare (en eau douce), le diamètre ovocytaire des femelles était significativement plus élevé que celui mesuré chez les anguilles demeurées avec la pression atmosphérique (1 ATM = 1 ATA) même si leur développement ovarien en cours de pré-vitellogenèse était équivalent ([SÉBERT et coll., 2007](#)). Qui plus est, les teneurs plasmatiques en E2, 11KT et VTG étaient également plus importantes de même que le ratio LHβ/FSHβ au niveau de la

régulation transcriptionnelle. Ces travaux suggèrent fortement l'implication de la pression hydrostatique dans le développement ovarien des anguilles effectuant la migration de reproduction. Les températures sélectionnées dans les protocoles de maturation artificielle de l'anguille sont couramment utilisées en condition d'eau de mer puisque cela représente bien le milieu naturel, mais la **salinité** seule est un facteur semblant avoir été très peu investigué jusqu'à maintenant (ROUSSEAU et coll., 2014). La modulation de la **température** a démontré que le début du développement sexuel des anguilles était favorisé par des températures plus fraîches (10-15 °C). Sans traitement de maturation artificielle et en eau douce, l'abaissement sur 50 jours de la température jusqu'à 15 °C (pour simuler le début de la migration de reproduction) a induit un développement ovarien supérieur des anguilles par rapport au groupe resté à 25 °C (plus grand diamètre des ovocytes et stade avancé de pré-vitellogenèse au lieu de précoce), des teneurs plasmatiques supérieures en E2 et 11KT mais de plus faibles niveaux de la transcription de la FSH β et la LH β (SUDO et coll., 2011). Sous un traitement de maturation artificielle en eau de mer, 56 jours (8 semaines) de température entamée à 10 °C puis haussée jusqu'à 15 °C (pour vérifier si les protocoles de maturation utilisant une température constante de ~20 °C semblaient une bonne option) a induit un développement ovarien supérieur des anguilles par rapport au groupe resté à 20 °C (plus grand GSI et toutes en vitellogenèse intermédiaire), des teneurs plasmatiques supérieures en E2 et de plus importants niveaux de la transcription de la FSH β (PÉREZ et coll., 2011). La température optimale d'ovulation spontanée des anguilles en cours de maturation en eau de mer est quant à elle plus élevée (18-22 °C) (DOU et coll., 2008), ce qui pourrait expliquer la plus grande facilité des expériences de maturation artificielle réalisées en conditions similaires à compléter la vitellogenèse, atteindre la phase finale de maturation finale et l'ovulation lorsque la température est augmentée seulement dans un deuxième temps à 17-20 °C (MAZZEO et coll., 2014; PÉREZ et coll., 2011; SATO et coll., 2006). **Ce genre d'investigation est de grand intérêt dans la quête d'obtenir une progéniture de meilleure qualité, un meilleur succès de reproduction artificielle et une meilleure viabilité des larves jusqu'en fin de cycle de vie, notamment en vue d'une aquaculture autosuffisante, mais elle pourrait l'être également pour les programmes de conservation qui s'intéressent à l'élevage des jeunes anguilles pour l'ensemencement des milieux naturels où les populations sont en déclin.** Dans le même ordre d'idées, l'ovulation en bassin effectuée de manière spontanée entre les mâles et les femelles, comparée à l'ovulation effectuée manuellement dans les protocoles de maturation artificielle, laisse place aux stimuli naturels associés à la reproduction tels que les phéromones, ce qui inclut notamment l'hormone d'induction de la maturation (HUERTAS et coll., 2006, 2008) (FIGURE 3.3). D'après la comparaison des résultats issus des deux techniques d'ovulation, la méthode spontanée semble également représenter une avenue de recherche prometteuse (OKAMURA et coll., 2014).

4 MATÉRIEL ET MÉTHODES

Toutes les manipulations entreprises avec les anguilles dans le cadre de cette thèse ont au préalable été autorisées par les instances légales et réglementaires locales (octroi de permis scientifiques pour les captures, de certificats de bons soins aux animaux, et approbation des protocoles expérimentaux standardisés entre les deux pays). Les démarches supplémentaires réalisées pour mettre fin aux mortalités survenues en bassin avant le début des maturations artificielles ont également été recommandées par le vétérinaire local en concertation avec les instances locales.

4.1 Sites géographiques et spécimens capturés

Des anguilles femelles d'AR et AA en cours de dévalaison (FIGURE 1.3) ont été capturées et collectées (aux alentours d'octobre 2011 et décembre 2012, respectivement) **par des pêcheurs professionnels** au moyen de verveux ou d'engins de pêche similaires (FIGURE 4.1). Pour AR, cette étape a été réalisée de pair avec la collaboration du *Ministère de la Forêt, de la Faune et des Parcs* du Québec (MFFP, Rivière-du-Loup, Québec).

4.1.1 Anguilles du fleuve Saint-Laurent et de l'estuaire moyen

Les spécimens d'AR (928 mm et 1,6 kg de médiane; 711–1112 mm et 0,7–2,6 kg d'étendue) en provenance du sud-est du Canada (FIGURE 4.2) ont été transférés au *Laboratoire de recherche en sciences aquatiques* (LARSA, Université Laval, Québec) pour l'acclimatation en bassin.

4.1.2 Anguilles de l'estuaire de la Gironde et du bassin d'Arcachon

Les spécimens d'AA (570 mm et 307 g de médiane; 472–730 mm et 156–689 g d'étendue) provenant du sud-ouest de la France (FIGURE 4.2) ont été transportés jusqu'à l'*Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture* (IRSTEA, St-Seurin-sur-l'Isle, France) pour la période d'acclimatation.

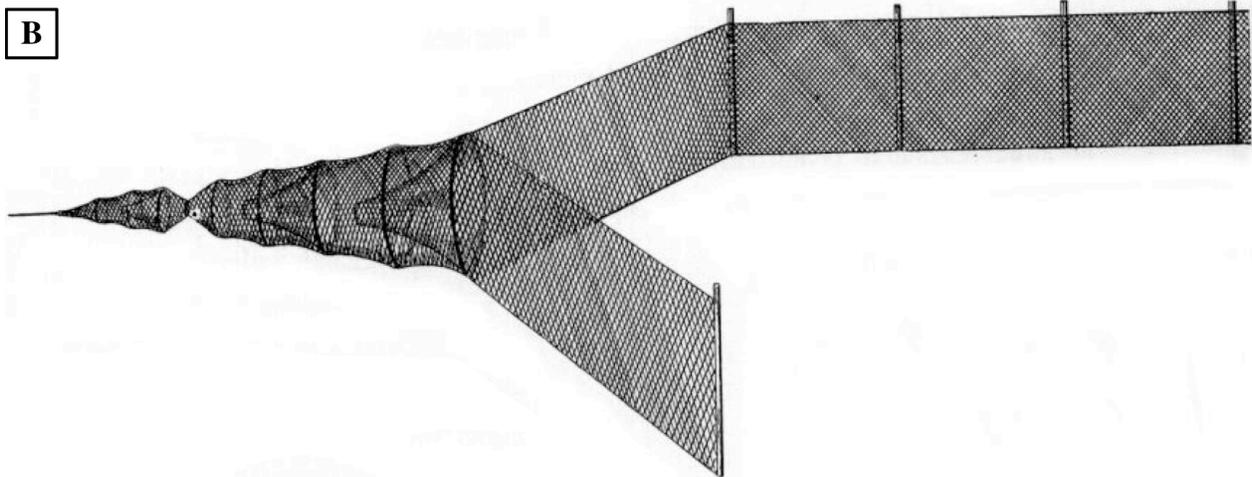


FIGURE 4.1 Engins de pêche à anguille utilisés dans le cadre de la thèse

[A] Les anguilles argentées prenant le large avec la marée descendante suivent la structure en forme de v inversé. Similairement au verveux (voir B), les sections contiguës de la structure érigée vers le large laissent passer l'eau à travers le filet mais deviennent plus étroites. Les anguilles restent prises au piège dans la section finale et sont récoltées par les pêcheurs au moment de la marée basse. Cet engin a été utilisé dans l'estuaire moyen du fleuve St-Laurent à la pointe de Rivière-Ouelle (voir FIGURE 4.2). [B] Verveux avec des ailes. Seule la nasse (section finale constituant le piège où sont récoltées les anguilles tel qu'en A) a été utilisée dans l'estuaire de la Gironde (voir FIGURE 4.2). Les sites de capture sont décrits en FIGURE 4.2. Images de Judith Douville (MMV, 2016) et du Ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et des Pêcheries du Danemark (RINDOM et coll., 2014), respectivement.

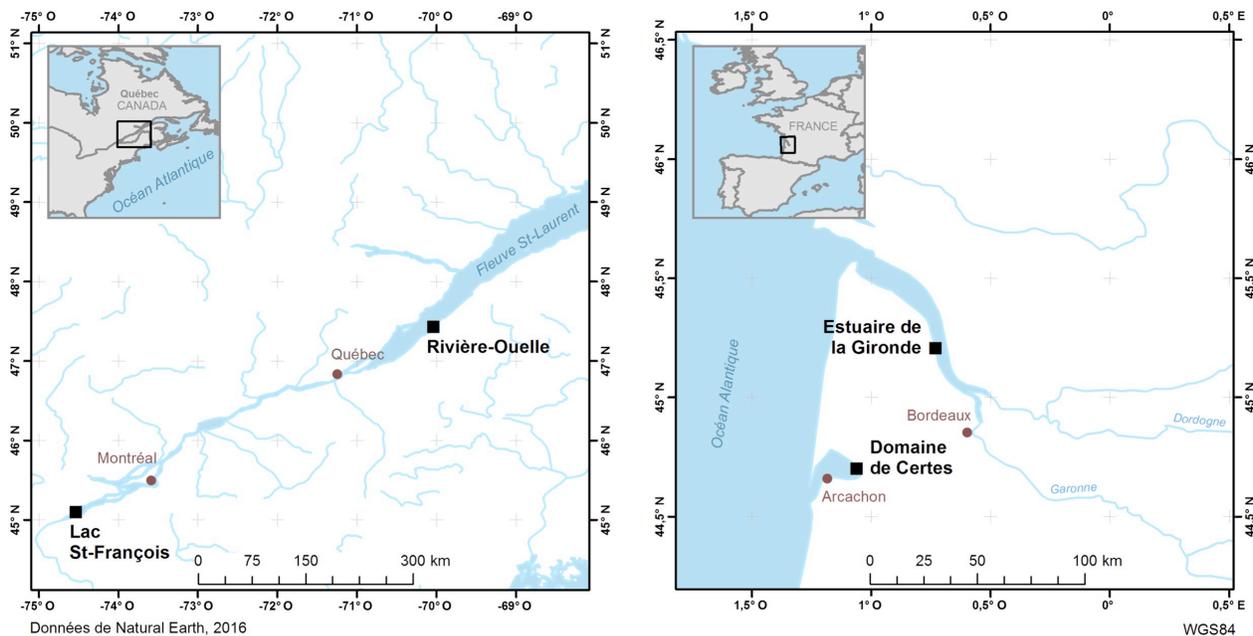


FIGURE 4.2 Origine des anguilles d’Amérique et d’Europe considérées dans la thèse

Les anguilles d’Amérique proviennent d’un élargissement du tronçon fluvial (eau douce) du fleuve St-Laurent au lac St-François (à 100 km maximum en amont de Montréal), ainsi que de l’estuaire moyen sur la pointe de Rivière-Ouelle (eau salée) (à 120 km en aval de Québec). Le bassin hydrographique du fleuve St-Laurent (1 610 000 km²) reçoit 7 000 à 16 000 m³·s⁻¹ d’eau douce par jour en amont de l’estuaire en provenance des Grands Lacs (ECCC, 2017; PASL, 2014). Les plus faibles effets journaliers de la marée remontent jusque dans le Lac St-Pierre (l’élargissement située à 100-150 km en aval de Montréal), cependant, les effets moins fréquents se font sentir jusqu’à Montréal (MATTE, 2014). Les Anguilles d’Europe ont été capturées dans le bassin d’Arcachon (eau saumâtre/salée) au Domaine de Certes (à 10-15 km en amont d’Arcachon) ainsi qu’en amont de l’estuaire de la Gironde (eau saumâtre) (à 40 km au nord de Bordeaux) au sein du bassin hydrographique Adour-Garonne (117 650 km²) (AEAG, 2017; SMIDDEST, 2004). L’estuaire de la Gironde reçoit 200 à 2 000 m³·s⁻¹ d’eau douce par jour des sous-bassins de la Dordogne et de la Garonne (80 500 km², 70 % du bassin) (LE MOINE, 2013; LÉVÊQUE, 2011), tandis que le sous-bassin d’Arcachon (4138 km²) reçoit en moyenne 12 à 33 m³·s⁻¹ d’eau douce de l’Eyre, son principal apport direct (il apporte 70 % de cette eau à partir de 2 141 km²) (AUBY et coll., 1999). Les effets journaliers de la marée remontent jusqu’au fond du bassin d’Arcachon avec des effets moins fréquents perçus jusque dans la Leyre (CAILLON et coll., 2013; LE MOINE, 2013) alors que pour l’estuaire de la Gironde les effets journaliers remontent jusqu’à environ 100 km en amont du Bec d’Ambès (la confluence de la Garonne et la Dordogne) (LÉVÊQUE, 2011). **L’origine géographique exacte des anguilles ne peut être inférée sauf pour celles provenant du lac St-François.** Ces anguilles ont fait partie d’un suivi de capture–marquage–recapture du MFFP et d’autres collaborateurs. Les spécimens ont été recapturés aux alentours de Rivière-Ouelle (sur la pointe ou jusqu’à 35 km en aval, c.-à-d. dans Kamouraska) après avoir été marqués au lac St-François entre 1998 et 2010.

4.1.3 Déroulement de l’acclimatation en bassin et conditions expérimentales

Les anguilles ont été installées en bassins circulaires (1-3 m³, 700-1 000 L) dans un système de recirculation fermée avec une aération, une filtration, un traitement aux ultraviolets, une teneur en oxygène ≥ 9 mg·L⁻¹ et un pH $\geq 7,5$ pour une période d’acclimatation d’au moins deux semaines. La totalité des

manipulations ont été exécutées sans utilisation d'anesthésique puisque cela aurait interféré avec notre étude (RENAULT et coll., 2011). Les anguilles n'ont par ailleurs été alimentées à aucun moment puisqu'elles sont naturellement à jeun pendant la migration de reproduction. Le marquage musculaire des anguilles près de la zone d'insertion de la nageoire dorsale a permis le suivi expérimental de chacune d'entre elles grâce à la technologie intégrée des transpondeurs passifs (PIT). **La température, la salinité et le courant de l'eau ont progressivement été amenés dans la gamme des moyennes journalières rapportées pour les anguilles argentées migrantes** (AARESTRUP et coll., 2009) à 15 °C, 30 ‰, et 0,14-0,16 m·s⁻¹ (12-14 km·j⁻¹) avec une photopériode de 12 h de jour et 12 h de nuit. Tous les animaux ont reçu des traitements antibiotiques dû à l'apparition de mortalité avant le début de la maturation artificielle. La mortalité a frappé 51 % et 43 % de notre échantillon d'anguilles chez AR et AA, respectivement. Ensemble, les démarches entreprises (nécropsies, investigations découlant de grattages cutanés, suivi anatomopathologiques) et le succès des traitements administrés¹ chez les spécimens restants d'AR suggèrent qu'une infection double par l'ectoparasite *Trichodina* spp. et la bactérie interne *Aeromonas* spp. en était responsable. Une infection multiple a également été identifiée pour les spécimens d'AA (*Aeromonas sobria*, *Flavobacterium* spp., *Vibrio* spp.). Finalement, la prévalence du parasite de la vessie natatoire *Anguillicola crassus* a été suivie dans les deux pays (PATEY et coll., 2017). Le parasite était absent de l'échantillon d'AR, mais en revanche, il était présent dans celui d'AA à une prévalence de 18 % et 27 % chez les spécimens morts et ceux restants pour les maturations artificielles, respectivement.

4.2 Design expérimental et maturation artificielle

Les deux principaux facteurs présentés dans cette étude reflètent le design expérimental ayant servi à structurer la maturation artificielle de nos échantillons d'anguilles et les variables de la thèse qui en découlent : le **traitement (TR)** et l'**espèce (SP)**. Dans le cas des quelques variables biométriques externes seulement (TABLEAU 2.3) s'ajoute le temps d'échantillonnage (SA, *sampling time*) (SECTION 4.3.1 et SECTION 4.9.1). Les **six principaux groupes (GR)** considérés dans ce document résultent des différentes **combinaisons possibles entre ces deux facteurs** (SECTION 4.2.1).

¹ Chez AR, l'infection externe (*Trichodina* spp.) a été traitée dans un premier temps au moyen d'un bain ponctuel au formol (167 mg·L⁻¹, 1 h), puis l'infection interne (*Aeromonas* spp.) a été traitée dans un deuxième temps. Une approche par bain continu au sulfaméthoxazole/triméthoprime a été adoptée (16 mg·L⁻¹, 9 j), puis éventuellement renforcée (23 mg·L⁻¹, 7 j) et adjointe d'injections ponctuelles de triméthoprime/sulfadiazine (30 mg·kg⁻¹) en début et fin de cet ajustement. Une démarche similaire a été réalisée chez AA, par bain continu à la Chloramine T (10 mg·L⁻¹, 3 j), renforcée à l'oxytétracycline (20 mg·L⁻¹, 8 j), puis adjointe d'injections répétées de florfénicol (Nuflor[®], 0,1-0,5 ml aux 3 j).

4.2.1 Facteurs, groupes et effectifs de l'étude

Les anguilles ont été assignées aléatoirement à l'un des trois TR selon un design factoriel répété tenant compte de leurs différentes origines géographiques : « **contrôle** » (**Ctrl**) pour les anguilles sacrifiées au temps initial et n'ayant reçu **aucune d'injection** ($\times 0$), « **extrait hypophysaire** » (**PE**, d'après *pituitary extract*) pour celles ayant reçu les **injections hebdomadaires pour la stimulation du développement ovarien**, et « **placebo** » (**PBO**) pour les anguilles ayant reçu les **injections hebdomadaires de solution saline sans extrait hypophysaire**, chacun pour un total de **11 semaines** ($\times 11$). Au total, 35 et 37 spécimens d'AR et AA ont été utilisés aux fins de la thèse, respectivement, formant six GR à travers les deux SP : **AR-Ctrl** (n = 15), **AR-PE** (n = 12), **AR-PBO** (n = 8), **AA-Ctrl** (n = 13), **AA-PE** (n = 18), et **AA-PBO** (n = 6).

4.2.2 Modalités des traitements administrés

Pour les anguilles AR-PE, une solution saline à l'**extrait hypophysaire de saumon (SPE)** (*Argent Chemical Laboratories*, Redmond, États-Unis) a été administrée à une dose équivalente à 10 mg de poudre par anguille selon une **méthode ayant porté ses fruits chez AR** ([OLIVEIRA et HABLE, 2010](#)), alors que pour les anguilles AA-PE, une solution saline à l'**extrait hypophysaire de carpe (CPE)** (*Catvis*, 's-Hertogenbosch, Pays-Bas) a été préparée suivant une **méthode bien rodée chez AA** et utilisant une dose équivalente à 20 mg de poudre par kg ([DURIF et coll., 2006](#) ; [PIERRON et coll., 2008, 2014](#)). Les injections hebdomadaires étaient intrapéritonéales. Le changement dans la masse totale des spécimens d'AR et dans leur forme corporelle a été considéré hebdomadairement afin d'anticiper l'état pré-ovulatoire des ovaires ([OLIVEIRA et HABLE, 2010](#)). L'entrée dans cette phase finale de maturation a pu être détectée en exécutant quelques biopsies hebdomadaires sur les 2-3 anguilles les plus avancées à l'aide d'une seringue de solution saline munie d'une aiguille 16 G et d'observations microscopiques le jour même. Au total, 11 injections hebdomadaires ont été administrées chez AR et l'échantillonnage final réalisé une semaine après le dernier traitement reçu. La même durée de traitement a été appliquée chez AA ([BUREAU DU COLOMBIER et coll., 2015](#)).

4.3 Collecte des tissus et mesures biométriques

4.3.1 Mesures et prélèvements

La **masse (BW, Body Weight)** et la **longueur (BL, Body Length)** totale du corps, le diamètre vertical (ED_v , *vertical Eye Diameter*) et horizontal (ED_h , *horizontal Eye Diameter*) de l'œil, la longueur de la nageoire pectorale gauche (**FL, Fin Length**) et l'**épaisseur du corps (BD, Body Depth)** à la zone d'insertion de la nageoire dorsale ([DURIF et coll., 2006](#)) ont été mesurés une fois (Ctrl $\times 0$) ou de manière répétée (PE $\times 0$,

PE×11, PBO×0, PBO×11) pour l'obtention des paramètres (TABLEAU 2.3) et des indices biométriques externes retenus dans la thèse (SECTION 4.3.2). Les anguilles (Ctrl, PE, PBO) ont été sacrifiées par décapitation, le sang collecté avec un tube hépariné, centrifugé, et le plasma conservé à -20 °C jusqu'à l'étape suivante (SECTION 4.7) (PIERRON et coll., 2008). Après dissection du cerveau antérieur et moyen (bulbe olfactif, tél-, di- et mésencéphale, tectum optique, et *saccus vasculosus*) et de l'hypophyse (FIGURE 5.5) et excision d'un morceau de foie, les tissus ont été individuellement conservés dans une solution de conservation de l'ARN (*RNA later*[®]) (Ambion, Austin, États-Unis) à -20 °C jusqu'à l'étape suivante (SECTION 4.8). La masse du foie (LW, *Liver Weight*), du tube digestif (DTW, *Digestive Tract Weight*) et des gonades (GW, *Gonad Weight*) ont également été mesurées pour l'obtention des indices biométriques internes (SECTION 4.3.2). Une section centrale de l'ovaire droit a été conservée dans une solution tampon de formaldéhyde 4 % jusqu'à l'étape suivante (SECTION 4.6.1), et la plus grande paire d'otolithes (*sagittae*) retirée du crâne, essuyée et conservée au sec jusqu'à la procédure suivante (SECTION 4.4). Finalement, ≤1 g de foie, ≥35 g d'ovaire gauche et ≥35 g de tronçon de muscle ont été récoltés et conservés à -20 °C jusqu'à l'étape suivante (SECTION 4.5).

4.3.2 Indices calculés

L'indice de l'œil (EI, *Eye Index*), de la nageoire (FI, *Fin Index*) et de condition relative (Kn) ont été calculés à partir des paramètres externes selon les formules suivantes :

$$EI = \left[\frac{\left(\frac{ED_v + ED_h}{4} \right)^2 \times \pi}{BL} \right] \times 100 \quad (\text{PANKHURST, 1982}),$$

$$FI = \left[\frac{FL}{BL} \right] \times 100 \quad (\text{DURIF et coll., 2005}),$$

$$Kn = \frac{BW}{BW'} \quad \text{où } BW' = a \times BL^b \quad (\text{LE CREN, 1951}).$$

À l'instar de la démarche expliquée dans CARON et coll. (2016), la masse prédite (BW') d'une anguille en fonction de sa longueur a été calculée à partir de la régression de puissance des valeurs associées à sa population avec les BW en ordonnée (g), les BL en abscisse (cm), l'ordonnée à l'origine (**a**) et la pente (**b**) qui en découlent (FIGURE 4.3).

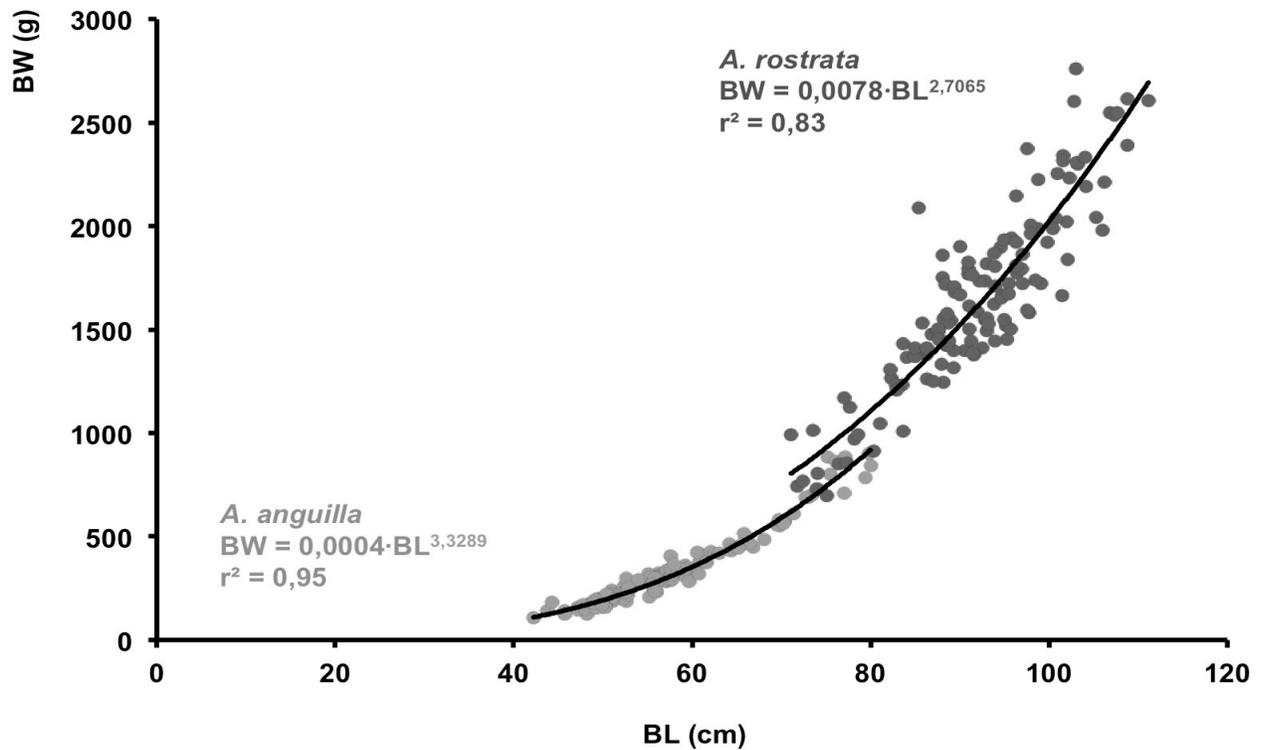


FIGURE 4.3 Régressions utilisées pour calculer la masse prédite des anguilles en fonction de la longueur

Les régressions de puissance ont été réalisées sur les valeurs de masse (BW) et de longueur (BL) totale du corps des anguilles argentées ayant été capturées pour l'anguille d'Amérique (*A. rostrata* : $a=0,0078$ et $b=2,7065$) et l'anguille d'Europe (*A. anguilla* : $a=0,0004$ et $b=3,3289$) dans le cadre du projet.

Les **rapports hépato-somatique (HSI, Hepatosomatic Index)**, **tube digestif-somatique (DSI, Digestive tract-somatic Index)** et **gonadosomatique (GSI, Gonadosomatic Index)** ont ensuite été calculés à partir des paramètres internes intégrés aux équations suivantes :

$$HSI = \left[\frac{LW}{BW} \right] \times 100 \quad (\text{DURIF et coll., 2005}),$$

$$DSI = \left[\frac{DTW}{BW} \right] \times 100 \quad (\text{DURIF et coll., 2005}),$$

$$GSI = \left[\frac{GW}{BW} \right] \times 100 \quad (\text{DURIF et coll., 2005}).$$

Finalement, suivant l'estimation de la masse lipidique hépatique, musculaire et ovarienne pour chaque anguille AR (n = 35) et AA (n = 37), le **rapport lipido-somatique total (FSI, Fat-somatic Index)** et associé à chacune des trois fractions a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{FSI} = \left[\frac{\text{FW}}{\text{BW}} \right] \times 100 \quad (\text{Cette étude}).$$

La masse totale de lipides (FW, *Fat Weight*) n'inclut pas la fraction résiduelle de la carcasse puisqu'elle provient de la somme de chaque fraction (foie, masse musculaire, ovaires) ayant été échantillonnée pour la quantification des lipides (SECTION 4.5). La masse totale des lipides de chaque fraction a été calculée en utilisant la teneur en lipides rapportée par la masse fraîche (g lipides·g⁻¹ tissu frais) multipliée par la masse totale (g tissu frais) du tissu correspondant (pour la masse musculaire, voir le prochain paragraphe). La somme (g) de ces masses lipidiques (FW) a ensuite été pondérée spécifiquement à la masse du corps (BW) afin de fournir une valeur comparable par anguille (FSI). Le rapport lipido-somatique a également été investigué par fraction : le FSI du foie, du muscle ou des ovaires ayant pour seul numérateur la masse lipidique totale du tissu correspondant en remplacement de FW. En plus de permettre la comparaison entre AR et AA, les valeurs de FSI et de leurs fractions tissulaires permettent de détecter le transfert ou la perte potentielle de lipides chez les anguilles soumises aux conditions de maturation artificielle.

La masse musculaire totale a été déduite par soustraction de la masse des prélèvements et de la carcasse à la partir de la masse totale (BW), puis, elle a été ajustée par une correction pour tous les spécimens de la thèse. La correction était nécessaire pour palier au fait que chez certains d'entre eux la masse de la carcasse n'était que partielle dû à l'oubli d'une partie de la carcasse lors de la pesée. Les autres spécimens (GSI < 2–49 %) ont servi à établir la régression linéaire entre la masse musculaire déduite et la masse totale de la carcasse (r² = 0,9961). Pour ces spécimens, l'écart entre la masse musculaire estimée par la régression et la masse musculaire déduite (toutes pondérées en % de BW) était de 0 à 6 % maximum.

4.4 Détermination de l'âge

La préparation des otolithes et l'estimation de l'âge qui en résulte pour AR et AA ont été réalisées par le MFFP (Rivière-du-Loup, Québec) et l'IRSTEA (St-Seurin-sur-l'Isle, France), respectivement.

4.4.1 Préparation des otolithes et prise d'images

La méthode du ponçage-polissage des otolithes (*grinding-polishing*) et des étapes additionnelles de décalcification (*etching*) et de coloration ont été réalisées tel que rapporté auparavant par le CIEM-CECPI (2009b,

2009c), CÔTÉ et coll. (2013), et TARDIF (2012). Les otolithes ont successivement été nettoyés avec de l'hypochlorite de sodium (2,5 %), de l'eau et de l'éthanol (70 %), laissés à sécher, puis enrobés dans une résine époxy. Ces derniers ont par la suite été sectionnés avec une scie de précision dans le plan transversal, sablés jusqu'au noyau dans le plan sagittal, et polis avec de la poudre d'alumine. La révélation des *annuli* a été réalisée grâce à un procédé de décalcification à l'EDTA (5 %) et de coloration au bleu de toluidine (0,01-0,1 %). L'image des sections d'otolithes colorés a ensuite été capturée grâce à un appareil photo numérique monté sur un microscope binoculaire.

4.4.2 Estimation de l'âge

La lecture des lignes annuelles d'*arrêt* de croissance (*annuli* d'hiver) a été effectuée par un minimum de deux à trois personnes expérimentées tel que recommandé par CIEM-CECPI (2009b, 2009c), CÔTÉ et coll. (2013), et TARDIF (2012). L'estimation de l'âge rapportée dans cette thèse pour AR (n = 32) et AA (n = 37) ne dénombre pas la première ligne située à l'extérieur du noyau (ligne «zéro» ou âge 0+) puisqu'elle marque le *début* de la croissance en eaux continentales (transition en civelle).

4.5 Quantification des lipides

4.5.1 Teneur en lipides et en eau des gros échantillons

La teneur en lipides totaux des échantillons de muscle et d'ovaire d'AR (n = 35) et AA (n = 31) a été dosée par le *Laboratoire de Physico et Toxico Chimie de l'environnement* (LPTC, Université de Bordeaux, France) selon la méthode gravimétrique rapportée dans TAPIE et coll. (2008, 2011). Les tissus ont individuellement été pesés avant et après lyophilisation, puis les tissus secs résultants, traités au dichlorométhane avec un procédé d'extraction assistée par micro-ondes (MAE). Après filtration et évaporation de chaque extrait, la masse de lipides a été pesée puis exprimée par rapport à la masse sèche (m. s.) du tissu correspondant avant d'être transposée selon sa masse fraîche (m. f.) puis convertie en masse totale de lipides pour calcul du FSI (SECTION 4.3.2). La transposition était rendue possible *via* la teneur en eau individuelle de chaque tissu ($[(m. f. - m. s.) / m. f.]$) ayant été obtenue grâce à la lyophilisation.

4.5.2 Teneur en lipides et en eau des petits échantillons

La teneur en lipides totaux de tous les échantillons de foie (n = 72) et des échantillons de muscle et d'ovaire restants (n = 6 trop petits pour la méthode gravimétrique) a été dosée à partir de la méthode colorimétrique

à l'acide sulfurique décrite par DE COEN et JANSSEN (2003) après extraction au mélange 1 : 1 de chloroforme : méthanol (BLIGH et DYER, 1959). Les tissus ont été pesés, homogénéisés 1/10 (g/g) dans de l'eau ultra pure glaciale à 24 000 tr·min⁻¹ avec un homogénéiseur rotor-stator *Janke & Junkel Ultra-Turrax® T25* (IKA-Labortechnik, Staufen, Allemagne), et extraits 1 : 2 dans le mélange de solvants. Après centrifugation, la phase méthanol a été jetée puis la phase chloroforme (extrait lipidique) préparée pour le dosage colorimétrique.

La concentration d'un extrait lipidique dilué était obtenue relativement à celui d'une courbe standard (10 points de courbe allant de 0 à 3,2 µg·mL⁻¹) réalisée à partir de tripalmitine T5888 (*Sigma-Aldrich*, Oakville, Canada). Une fois toutes les dilutions préparées dans du chloroforme (échantillons, blanc et points de courbe), elles ont été transférées individuellement dans des tubes de verre avec de l'acide sulfurique 70 % (5 : 1), incubées 15 minutes à 200 °C, laissées à refroidir, puis diluées avec de l'eau ultra pure (15 : 1). Tous les échantillons préparés ont été déposés en duplicata de 250 µL selon une dilution entrant dans la courbe puis l'absorbance lue à 375 nm au spectrophotomètre UV/Visible à microplaque *Cary 50* (*Varian Inc.*, Walnut Creek, États-Unis). La précision minimale était de <10 % d'écart par duplicata. La concentration en lipides a été exprimée par rapport à la masse fraîche des tissus avant d'être convertie en masse totale de lipides pour calcul du FSI (SECTION 4.3.2). La teneur en eau individuelle des petits échantillons a été obtenue grâce à la lyophilisation des tissus frais.

4.6 Évaluation du stade de maturité

4.6.1 Préparation histologique des ovaires et prise d'images

Les sections d'ovaires préalablement fixées au formaldéhyde ont été rincées brièvement avec de l'eau, de manière répétée avec des bains d'éthanol (70 %), puis déshydratées avec une teneur croissante en éthanol et des bains finaux en butanol et en toluène. Les tissus ont alors été inclus pendant 24 heures dans la paraffine et montés en blocs. Une fois bien durcis, les blocs ont été sectionnés au microtome, et les rubans de sections (5 µm) collés sur lame de verre. La paraffine a été retirée avec du toluène, et les tissus, réhydratés avec une teneur décroissante en éthanol. Les tissus ont été colorés selon une méthode de routine à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) (GAMBLE, 2008), rincés à l'eau, déshydratés selon la méthode susmentionnée, puis recouverts d'une lamelle avant l'observation au microscope. Cette étape a servi au contrôle de la qualité et à la sélection d'une seule lame par anguille pour la prise d'images (n = 70) et l'évaluation subséquente du stade de maturité chez AR (n = 33) et AA (n = 37). Les images ont été capturées grâce à un numériseur à balayage muni d'un appareil photo de haute définition (0,23 µm/pixel) à trois dispositifs à transfert de charge (*Hamamatsu Photonics*, Hamamatsu, Japon).

4.6.2 Stades ovocytaires et méthode de quantification

Le stade de maturité des anguilles a été quantifié selon plusieurs critères (TABLEAU 4.1) en utilisant les logiciels *NDP.view2* (Hamamatsu Photonics) et *ArcGIS* (ESRI, Californie, États-Unis) à partir d'un sous-échantillonnage aléatoire des 25 plus gros ovocytes dont le noyau était visible (là où applicable) par lame pour une totalité de 1750 ovocytes (n = 70). L'extension logicielle *SamplingTool10* de la *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA, Washington, États-Unis) a été utilisée à cette fin à partir de l'échantillonnage préalable des 50 plus gros ovocytes (LOKMAN et coll., 1998; PÉREZ et coll., 2011). L'automatisation de la méthode a d'abord été tentée selon différentes approches d'analyse d'image dont le seuillage des pixels par la couleur et la segmentation par objet, mais en raison de la complexité de ce type d'analyse et de la contrainte de temps, toutes les données générées dans le cadre de cette thèse en lien avec le stade de maturité ont été obtenues de façon manuelle².

Le changement d'un stade de maturité à l'autre et les critères qui en sont déterminants se résument à ce qui suit : stade 1-PG avec cytoplasme basophile, précoce (1-PG1 : sous-stade CN, du nucléus et condensation de la chromatine) ou avancé (1-PG2 : sous-stade PN, des nucléoles en périphérie du noyau); stade 2-PV équivalent au stade des gouttelettes lipidiques (OD) chez les *Anguillidae* ou des alvéoles corticales (CA) pour la majeure partie des poissons, précoce (2-PV1 : < 50 % de la surface occupée par les VL) ou avancé (2-PV2 : > 50 % de la surface occupée par les VL); stade 3-VTG, précoce (3-VTG1 : quelques vésicules jusqu'à 25 % de la surface occupée par les VV en périphérie avant tout), intermédiaire (3-VTG2 : 25-50 % de la surface occupée par les VV jusqu'au noyau, les VL sont moins abondantes ou également abondantes au climax du stade) ou avancé (3-VTG3 : > 50 % de la surface occupée par les VV étendues partout, les VL sont moins abondantes); stade 4-GVM, précoce (4-GVM1 : avec la coalescence des VL (CL)) ou avancé (4-GVM2 : avec la coalescence des VV (CV) et l'hydratation); stade 4-GVBD (dissolution du noyau) et stade 5-OV (lorsque des follicules post-ovulatoires (POF) sont visibles). Cette classification des stades est en accord avec les descriptions publiées par ADACHI et coll. (2003), KAYABA et coll. (2001), LOKMAN et coll. (1998, 2001), LOWERRE-BARBIERI et coll. (2011a, 2011b) et PÉREZ et coll. (2011). Le stade de maturité des ovocytes a été compilé de deux manières, soit selon le stade (1) le plus abondant et (2) le plus avancé par anguille. La deuxième approche a ensuite été adoptée (voir la validation des stades au prochain paragraphe), et ce faisant, a permis l'attribution d'une seule valeur par anguille.

² Ceci dit, l'automatisation de la reconnaissance des critères visuels pour le classement des stades de maturité ovocytaires demeure une voie très intéressante. Les limitations et les perspectives futures sont rapportées en ANNEXE I.

TABLEAU 4.1 Évaluation du stade de maturité ovocytaire des anguilles et autres paramètres quantifiés

Variable	Définition	Niveau	Critère(s) semi-quantitatif(s)
Paramètres sous-jacents au stade de maturité			
PN	Position du noyau	Centré = C Intermédiaire = I Périphérique = P	PN-C PN-I PN-P
RSL	Ratio de surface des VL	0 % = 0 0-10 % = 1 10-25 % = 2 25-50 % = 3 ≥50 % = 4	RSL-0 RSL-1 RSL-2 RSL-3 RSL-4
RSV	Ratio de surface des VV	0 % = 0 0-10 % = 1 10-25 % = 2 25-50 % = 3 ≥50% = 4	RSV-0 RSV-1 RSV-2 RSV-3 RSV-4
PV	Position des VV (RSV ≠ 0)	Périphérique = P Intermédiaire = I Centré = C	PV-P PV-I PV-C
CL	Coalescence des VL		CL
CV	Coalescence des VV		CV
HYD	Hydratation de l'ovocyte		HYD
DN	Dissolution du noyau		DN
POF	Follicule post-ovulatoire		POF
Stade de maturité			
PG1	1-Croissance primaire précoce	1,0	PN-C · RSL-0 · RSV-0 · NC
PG2	1-Croissance primaire avancée	1,8	PN-C · RSL-0 · RSV-0 · NP
PV1	2-Pré-vitellogenèse précoce	2,0	PN-C · RSL-1 à 3 · RSV-0
PV2	2-Pré-vitellogenèse avancée	2,8	PN-C · RSL-4 · RSV-0
VTG1	3-Vitellogenèse précoce	3,0	PN-C · RSL-3 à 4 · PV-P · RSV-1 à 2 · RSL > RSV
VTG2	3-Vitellogenèse intermédiaire	3,4	PN-C · RSL-3 à 4 · PV-I à C · RSV-3 · RSL ≥ RSV
VTG3	3-Vitellogenèse avancée	3,8	PN-C · RSL-2 à 3 · PV-C · RSV-4 · RSL < RSV
GVM1	4-Migration précoce du noyau	4,0	PN-I · RSL-2 à 4 · PV-C · RSV-3 à 4 · CL
GVM2	4-Migration avancée du noyau	4,4	PN-P · RSL-2 à 4 · PV-C · RSV-3 à 4 · CL · CV · HYD
GVBD	4-Dissolution du noyau	4,8	DN · RSL-2 à 4 · PV-C · RSV-3 à 4 · CL · CV · HYD
OV	5-Ovulation	5,0	POF
Paramètres quantitatifs associés			
GDO	Grand diamètre de l'ovocyte		Valeur continue (µm)
PDO	Petit diamètre de l'ovocyte		Valeur continue (µm)
RDNO	Ratio de diamètre du noyau sur l'ovocyte		Valeur continue (%)

Le caractère gras avec changement de couleur a été utilisé pour mettre les critères déterminants en évidence. GDN, grand diamètre du noyau (µm) ; NC, nucléus et condensation de la chromatine ; NP, nucléoles en périphérie du noyau ; VL, vésicules de lipide ; VV, vésicules de vitellus; RDNO = (GDN/GDO) × 100.

4.6.3 Mesures additionnelles et approche de validation

Les autres variables ayant été explorées en parallèle englobent le **diamètre des ovocytes (DO)** passant par le centre du noyau – dans son plus **grand (GDO)** et plus **petit axe (PDO)** – ainsi que le ratio qu’y occupe le noyau dans son plus grand axe (**TABLEAU 4.1**). Il est à noter que la déformation rencontrée dans les structures histologiques n’a pas été tenue en compte pour la quantification des diamètres et que les valeurs utilisées dans la thèse sont les **valeurs originales non modifiées**. Il est donc possible que les ovocytes des stades de maturité où la perméabilité était favorisée (p. ex. lorsque l’ovocyte en phase finale de maturation est en cours d’hydratation) soient représentés par des valeurs de diamètre quelque peu sous-estimées dû à la nature même du type de préparation histologique des tissus ayant été utilisée (**GRIZZLE et coll., 2008**; **LOKMAN et coll., 2007**).

Le stade de maturité le plus abondant et le plus avancé par anguille a été corrélé pour chaque espèce avec différentes représentations du diamètre des ovocytes (GDO, PDO, valeurs médianes et valeurs maximales par anguille) ainsi qu’avec le GSI. **Au final, seul le stade le plus avancé était corrélé significativement avec ces variables chez les deux espèces, ce qui en a fait une approche de choix pour la thèse.** Les valeurs maximales du GDO par anguille offraient également les valeurs de corrélation les plus satisfaisantes à la fois parmi les représentations de diamètre ovocytaire et pour le GSI.

Les valeurs de corrélation avec le GSI étaient les suivantes :

Stade = 0,846 et **GDO** = 0,849 (0,888 entre eux) chez AR et

Stade = 0,664 et **GDO** = 0,706 (0,794 entre eux) chez AA.

Où les valeurs représentent le pourcentage d’observations concordantes entre deux variables jusqu’à un maximum possible de 1 (100 % des observations, c.-à-d. la relation parfaite). Ces valeurs proviennent du coefficient tau-b de Kendall (**SECTION 4.9.2**). Les données sont disponibles en **FIGURE 5.2**.

4.7 Détermination de la teneur en stéroïdes sexuels

La concentration en T, E2 et 11KT a été quantifiée dans le plasma sanguin des anguilles à partir de dosages immuno-enzymatiques colorimétriques de type compétitif. Les teneurs en T et E2 ont été dosées conformément aux instructions fournies par les kits n^{os} EUDNOV002 et DNOV003 de *Eurobio AbCys* (Les Ulis, France), respectivement, alors que celles en 11KT ont été mesurées à l’aide du kit n^o 582751 de

Cayman Chemical (Ann Harbor, États-Unis) tel que rapporté dans les études connexes (MAZZEO et coll., 2014; PÉREZ et coll., 2011; SBAIHI et coll., 2009). Tous les échantillons ont été déposés en duplicata avec une courbe standard et un blanc selon une dilution entrant dans la courbe : 0-16 ng·mL⁻¹ et 0-2000 pg·mL⁻¹ déposés dans 25 µL pour la T et l'E2, respectivement, et 0-100 pg·mL⁻¹ déposés dans 50 µL pour la 11KT. L'absorbance a été lue à 450 (T, E2) ou 405 nm (11KT) grâce à un spectrophotomètre à microplaque *CERES UV 900C* (*BioTek Instruments Inc.*, Winooski, États-Unis) ou *Apollo 11 LB 913* (*Berthold Technologies*, Bad Wildbad, Allemagne).

4.8 Quantification des produits de la transcription de gènes

Les produits de la transcription de tous les gènes dosés dans la thèse (gènes d'intérêt de l'axe gonadotrope et gènes de référence) ont été obtenus par PCR quantitative en temps réel (qPCR) une fois passées les différentes étapes de préparation des échantillons et de validation nécessaires.

4.8.1 Extraction d'ARN

L'ARN total du cerveau, de l'hypophyse et du foie a été extrait dans du réactif *TRIzol*[®] selon les instructions du fabricant (*Ambion*). Pour ce faire, l'homogénéisation des tissus – suivie d'une centrifugation visant à éliminer l'excédant de lipides – été effectuée à l'aide d'un vibro-broyeur à billes *TissueLyser II* (*Qiagen*, Hilden, Allemagne), à l'exception des petites hypophyses d'AA. Ces dernières ont été homogénéisées par sonication grâce à un appareil *Vibra Cell 72434* (*Bioblock Scientific*, Illkirch, France). Pour toutes les hypophyses, la récupération des culots d'ARN a été réalisée par coprécipitation avec du *GlycoBlue*[™] (*Ambion*), et pour tous les tissus, l'étape de resuspension de l'ARN a été remplacée par une étape de digestion de l'ADN génomique avec l'enzyme *DNase I recombinant* selon les instructions du fabricant (*Roche Diagnostics*, Mannheim, Allemagne). Cette étape de purification a été réalisée en remplaçant l'eau par un diluant de conservation de l'ARN appelé *RNA Storage Solution* (*Ambion*) à l'aide de l'appareil *T100 Thermal Cycler* (*Bio-Rad*, Hemel Hempstead, Royaume-Uni).

4.8.2 Synthèse d'ADN complémentaire

L'ADN simple brin complémentaire (ADNc) a été synthétisé à partir de 500 ng d'ARN total, 50 ng d'amorces aléatoires et 1 µL de transcriptase inverse *SuperScript*[™] *III* déposés dans un volume final de 20 µL en suivant les instructions du fabricant (*Invitrogen*, Carlsbad, États-Unis).

4.8.3 Amplification et clonage des séquences partielles d'ADN complémentaire

Les séquences partielles d'ADNc de la GnRH1 et GnRH2 (*gnrh1*, *gnrh2*), de la sous-unité β de la FSH (*fsh β*) et de la forme 1 du récepteur nucléaire à estrogène ESR (*esr1*), inconnues chez AR, ont été amplifiées par PCR à partir du cerveau, de l'hypophyse et du foie d'AR³, respectivement, pour s'assurer que les amorces de qPCR déjà conçues pour les séquences d'AA conviendraient. Les séquences de *gnrh1*, *gnrh2*, *fsh β* et *esr1* déjà caractérisées chez AA ont servi à élaborer les amorces de PCR (*Eurofins Genomics*, Ebersberg, Allemagne) à partir du logiciel *Primer3* (KORESSAAR et REMM, 2007; UNTERGRASSER et coll., 2012). Les PCR ont été réalisées en utilisant le mélange *GoTaq[®] GreenMaster Mix* (*Promega*, Fitchburg, États-Unis) avec une étape de dénaturation (3 min à 94 °C), 40 à 50 cycles d'amplification (30 s de dénaturation à 94 °C, 30 s d'appariement à 55-60 °C et 1 min d'élongation à 72 °C) et une étape finale d'élongation (5 min à 72 °C). Les produits amplifiés ont été envoyés à séquencer (*QATC Biotech*, Constance, Allemagne) soit en ayant été directement préparés avec le kit de purification *QIAquick[®]* (*Quiagen*, Vento, Pays-Bas), soit en ayant d'abord été séparés sur gel d'agarose, traités avec le kit d'extraction pour gel *QIAquick[®]* (*Quiagen*), puis clonés avec le système *pGEM[®]-T Easy Vector* (*Promega*). Les nouvelles séquences ont été publiées dans *GenBank* (BENSON et coll., 2018). Les autres séquences d'intérêt (*lh β* , sous-unité β de la LH; *vtg*, VTG) et de gènes de référence (*act β* , isoforme β de l'actine; *s18*, ARN ribosomique S18) étaient déjà connues chez AR et AA. Voir le TABLEAU 4.2 pour accéder aux différentes informations associées aux amorces de PCR.

4.8.4 Amorces pour PCR quantitative en temps réel

Les amorces de qPCR (TABLEAU 4.2) pour *gnrh1*, *fsh β* , *lh β* , *vtg*, *esr1* et *act β* avaient déjà été conçues pour AA. Le design des amorces sens et antisens de qPCR pour *gnrh2* et *s18* a toutefois dû être élaboré (avec le logiciel *Primer3*) pour la première fois sur différents exons afin d'éviter toute contamination potentielle avec de l'ADN génomique. Au préalable, toutes les séquences nucléotidiques ont été alignées entre les espèces, et la spécificité de toutes les amorces de qPCR (*Eurofins*) validée par séquençage des produits amplifiés. La similarité entre les séquences d'AR et AA des différents gènes d'intérêt était de :

gnrh1 = 99,7%; *gnrh2* = 98,3%; *fsh β* = 100,0%; *lh β* = 94,1%; *vtg* = 97,9%; et *esr1* = 99,9%.

Puisque les séquences d'AR et AA sont identiques, le même jeu d'amorces a été utilisé afin de réaliser les dosages qPCR pour les deux espèces (TABLEAU 4.2).

³ Cerveau : *gnrh1* et *gnrh2* (mélange des échantillons Ctrl, PE, et PBO); hypophyse : *fsh β* (mélange des échantillons Ctrl et PBO); foie : *esr1* (mélange des échantillons PE).

TABLEAU 4.2 Renseignements sur les amorces de PCR (A) et qPCR (B) des gènes retenus dans la thèse

Gène	Amorce	Séquence 5' – 3'	Produit [†]	Conception	Séquence ^{††}	
Gènes d'intérêt						
(A)	<i>gnrh1</i>	sens antisens	AGA ACG CAA CTT CTG CCG CC TCC GTC CAG TTT CTC TGT CAG CC	304	Cette étude	AR LN913078 AA GU332301
	<i>gnrh2</i>	sens antisens	GAG CTC TGA CAT CCA CAC AG AGC CGG GCG ATG TCA CTT CC	479	Cette étude	AR LN913079 AA GU332293
	<i>fshβ</i>	sens antisens	CAC CTT GCT TGG TAT CTG AC CAG TTG TGT GTG TGT GGT TC	449	Cette étude	AR LN913077 AA AY169722
	<i>esr1</i>	sens antisens	GCT CCA AGC AGA AGC ACA G GGG AGT GCA GTC TGT GGG	672	LAFONT et coll., 2016	AR Non publiée AA LN879034
(B)	<i>gnrh1</i>	sens antisens	ACT GGT GTG TCA GGG ATG CT TGC AGC TCC TCT ATA ATA TCT TGC	111	SÉBERT et coll., 2008a	AR LN913078 AA GU332301
	<i>gnrh2</i>	sens antisens	ACC GCC GAG GTA TTG GAC GA ACT TCC TCT TCC TCT GGA ACT CCC	133	Cette étude	AR LN913079 AA GU332293
	<i>fshβ</i>	sens antisens	TCT CGC CAA CAT CTC CAT C AGA ATC CTG GGT GAA GCA CA	100	AROUA et coll., 2007	AR LN913077 AA AY169722
	<i>lhβ</i>	sens antisens	TCA CCT CCT TGT TTC TGC TG TAG CTT GGG TCC TTG GTG ATG	150	AROUA et coll., 2007	AR AF395606 AA X61039
	<i>vtg</i> [§]	sens antisens	CCT ACC ACC AGC TTA CCT TAT G CGC TGG GAG TGC GGA A	220	PIERRON et coll., 2008	AR Non publiée AA AM076793
	<i>esr1</i>	sens antisens	GCC ATC ATA CTG CTC AAC TCC CCG TAA AGC TGT CGT TCA GG	76	LAFONT et coll., 2016	AR Non publiée AA LN879034
	Gènes de référence					
	<i>βact</i>	sens antisens	CAG CCT TCC TTC CTG GGT AGT ATT TGC GCT CGG GTG	226	AROUA et coll., 2007	AR Non publiée AA DQ493907
	<i>s18</i>	sens antisens	CTC AAC ACG GGA AAC CTC AC AGA CAA ATC GCT CCA CCA AC	118	Cette étude	AR FM946071 AA FM946070

† Nombre de paires de bases du produit amplifié ; †† N° d'accès de la séquence dans *GenBank* ; § Les gènes *vtg1* et *vtg2* ont été dosés ensemble (*vtgAa* et *vtgAb*, respectivement, d'après FINN et KRISTOFFERSEN (2007)).

4.8.5 PCR quantitative en temps réel

Le niveau de produits de la transcription des différents gènes d'intérêt et de référence a été quantifié en utilisant le kit *LightCycler® FastStart DNA Master^{PLUS} SYBR Green I* conformément aux instructions du fabricant pour utilisation conjointe avec la technologie de carrousel de l'appareil *LightCycler® 2.0* (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne). Le niveau d'un échantillon d'ADNc dilué était obtenu relativement à celui d'une courbe standard (une large gamme de dilutions en série) provenant d'un mélange d'échantillons d'ADNc servant à tous les dosages de même tissu et espèce. Avec (1) tout échantillon déposé en 4 µL était fourni un milieu réactionnel de 10 µL de volume final incluant : (2) les amorces sens et antisens du gène à doser selon une concentration finale de 500 nM ainsi (3) qu'un mélange optimisé par le

fabricant qui contenait une ADN polymérase thermostable [Taq] et un composé fluorochrome [SYBR Green I] activé par sa liaison aux doubles brins d'ADN formés à chaque cycle d'élongation. Le suivi de l'absorbance émise par ce composé à la fin de chacun des cycles d'élongation a donc permis de quantifier le niveau de produits amplifiés de chaque gène ciblé par essai de qPCR. Chaque qPCR incluait une étape d'activation de l'ADN polymérase (10 min à 95 °C), 41 à 51 cycles d'amplification (10 s de dénaturation de l'ADN à 95 °C, 5 s d'appariement des amorces à 60 °C et 10 s d'élongation de l'ADN à 72 °C) et une étape finale d'analyse de la courbe de fusion (séparation des doubles brins d'ADN amplifié) où s'accroissait progressivement la température de 68 à 95 °C (0,1 °C·s⁻¹) avec enregistrement en continu de la diminution associée de l'absorbance. Cette dernière étape, en fournissant la température où les doubles brins se séparaient, a permis d'**exclure tout produit non spécifique potentiellement amplifié (dimères d'amorces)**.

Tous les échantillons qui suivent ont été dosés individuellement en duplicata. À l'instar d'une série d'études connexes (AROUA et coll., 2007, 2012; LAFONT et coll., 2016; PASQUIER et coll., 2011, 2012; SÉBERT et coll., 2008a; WELTZIEN et coll., 2005), **l'efficacité de la qPCR a dans le cadre de cette thèse été validée pour chaque espèce et gène (voir ci-bas) par la réalisation d'une courbe standard, puis assurée pour chaque carrousel en y ajoutant un point calibrateur de courbe et un blanc (où l'ADNc était substitué par de l'eau). Pour rendre la comparaison interspécifique possible, un point calibrateur d'AR a également été ajouté à chacune des qPCR réalisées pour AA.** L'efficacité de la qPCR (E) a été calculée grâce à la pente formée par la régression linéaire connue ($r^2 = 1$) entre les cycles seuil d'amplification (Ct, *Cycle threshold*) placés en ordonnée et la concentration relative (Cr) des points de courbe portée en logarithme sur l'abscisse :

$$E = \left[\left(10^{\frac{-1}{\text{PENTE}}} \right) - 1 \right] \times 100 \quad \text{où } E(\%) = \begin{array}{cccccccccc} \textit{gnrh1} & \textit{gnrh2} & \textit{fsh\beta} & \textit{lh\beta} & \textit{vtg} & \textit{esr1} & \textit{act\beta} & \textit{s18} & & \\ 93,8 & 101,7 & 103,4 & 95,1 & 99,4 & 103,8 & 95,9 & 98,8 & \text{chez AR et} & \\ 95,8 & 106,4 & 99,2 & 97,9 & 102,3 & 103,4 & 90,5 & 102,0 & \text{chez AA.} & \end{array}$$

La qPCR d'un échantillon était par ailleurs reprise si jamais l'écart de Ct (ΔCt) d'un duplicata dépassait 0,2 ($\Delta Ct > 0,2$). La qualité des résultats inclus dans la thèse est finalement appuyée par le **choix des gènes de référence** ayant servi à normaliser la Cr mesurée pour les gènes d'intérêt. Pour le **cerveau** et l'**hypophyse** des anguilles, la Cr de tous les gènes d'intérêt (*gnrh1*, *gnrh2*, *fsh β* , *lh β* , *esr1*) a individuellement été normalisée par celle du gène **act β** des tissus correspondants puisque l'écart de Ct entre les moyennes des traitements expérimentaux (TR) était inférieur à 1,0 pour ce gène de référence ($\Delta Ct_{TR} < 1$). Pour le **foie**, cependant, cette condition de stabilité entre les TR n'était pas respectée ($\Delta Ct_{TR} > 1$). Différents gènes de référence ont donc été testés (*rplp0*, «*ribosomal protein lateral stalk subunit P0*»; *rpl8*, «*ribosomal protein L8*»; *eef1a1*, «*elongation factor1- α 1*»; et *s18*) avant d'arriver à satisfaction avec le gène **s18** qui était le **seul à répondre au critère de sélection** ($\Delta Ct_{TR} \leq 0,16$ chez AR et $\leq 0,35$ chez AA). La combinaison de gènes de référence (en faisant la moyenne entre plusieurs) ne s'est

en outre pas avérée avantageuse ($\Delta Ct TR > 1$). La Cr des gènes d'intérêt du foie (*vfg*, *esr1*) a donc été normalisée par celle de *s18* uniquement. Le niveau en produits de la transcription de tous les gènes présentés dans la thèse est exprimé en unités arbitraires (u.a.).

4.9 Analyses statistiques

Toutes les données ont été traitées avec le logiciel R (R CORE TEAM, 2016), et seules les différences entre groupes et les relations bivariées qui étaient significatives sont considérées dans la thèse.

4.9.1 Analyse de la variance factorielle

Pour toutes les variables, une analyse de variance à deux facteurs de type **non paramétrique** a été utilisée pour détecter les différences entre espèces (2 niveaux de SP : AR, AA) et traitements (3 niveaux de TR : Ctrl, PE, PBP) avec le produit *ARTool* (KAY et WOBROCK, 2016). Après maints types de transformations, les données ne convenaient pas à l'utilisation de tests paramétriques de plusieurs variables à l'étude dû au manque de normalité et d'homogénéité de la variance entre les groupes à l'étude (2 SP \times 3 TR = 6 GR). Suivant l'analyse non paramétrique, les valeurs marginales prédites et les contrastes ont été estimés à l'aide du produit *lsmeans* (LENTH, 2016), excepté lorsque des effets d'interaction entre les facteurs étaient présents. Le cas échéant, les effets principaux n'étaient pas considérés et les comparaisons par paire examinées parmi les 6 GR (AR-Ctrl, AR-TE, AR-PBO, AA-Ctrl, AA-PE, AA-PBO). Une analyse complémentaire à trois facteurs intégrant le temps d'échantillonnage (2 niveaux de SA : $\times 0$, $\times 11$) a été réalisée afin de vérifier si le traitement avait influencé les variables biométriques externes ré-échantillonnées pour les anguilles ayant reçu des injections hebdomadaires (AR-PE $\times 0$, AR-PE $\times 11$, AR-PBO $\times 0$, AR-PBO $\times 11$, AA-PE $\times 0$, AA-PE $\times 11$, AA-PBO $\times 0$, AR-PBO $\times 11$). Lorsque des variables obtenues par dosage n'étaient pas détectées chez certaines anguilles (niveaux de la transcription de gènes ou concentrations en hormones), les valeurs n'étaient pas exclues des analyses mais substituées par la moitié de la limite de détection de la méthode (LDM). À moins d'indication contraire, la significativité des tests a été acceptée lorsque $P < 0,05$.

La distribution des données a été représentée en diagrammes des quartiles par GR (la boîte y englobe 50 % des données autour de la ligne médiane (**Ma**), c.-à-d. du 1^{er} (**Q1**) au 3^e (**Q3**) quartile, et les valeurs minimales (**MIN**) ou maximales (**MAX**) atypiques (extrêmes) y apparaissent en points externes) ou tables équivalentes de valeurs par GR (avec dans l'ordre **Md** (**Q2**), **Q1–Q3** (**Ei**), **MIN–MAX** (**Ea**) et le nombre d'observations (**n**), où **Ei** est l'écart interquartile et **Ea** l'écart absolu). Lorsque la distribution est normale, l'**Ei** et la **Md** correspondent exactement à l'écart-type et à la moyenne (**My**), respectivement.

4.9.2 Matrices de corrélations bivariées et classification ascendante hiérarchique

Pour chaque espèce, les matrices de corrélations bivariées ont été exécutées à l'aide du produit *Corrplot* (TAIYUN et SIMKO, 2016) d'après le **coefficient tau-b de Kendall** (τ_b) qui convient à n'importe quel type de distribution, en présence de petits échantillons et de valeurs extrêmes (XU et coll., 2013), et permet d'exprimer le **pourcentage de concordance** (C_p) ou **discordance** (D_p) parmi toutes les paires d'observations (GIBBONS et CHAKRABORTI, 2003; RAKOTOMALA, 2015) à partir de :

$$\tau_b = C_p - D_p, \quad \text{d'où} \quad C_p = \frac{\tau_b + 1}{2}$$

$$\text{et} \quad D_p = 1 - C_p.$$

Pour une valeur τ_b de **0**, la probabilité de concordance est **NULLE** et les deux variables indépendantes car autant de points sont associés positivement ou négativement ($0,5 - 0,5 = 0$). Pour une valeur τ_b de **1** ou **-1**, la probabilité de concordance ou de discordance est **CERTAINE** et les deux variables en parfaite relation puisque 100 % des points sont associés positivement ($1 - 0 = 1$) ou négativement ($0 - 1 = -1$). Lorsqu'au minimum 75 % des points sont associés positivement (**0,75** - $0,25 = 0,5$) ou négativement ($0,25$ - **0,75** = $-0,5$), la probabilité sera considérée comme étant **FORTE** (**60** - **<75 % MODÉRÉE**, **50** - **<60 % FAIBLE**). La significativité des tests a été acceptée lorsque $P < 0,05$.

Les matrices de corrélations ont été réorganisées avec une approche de **classification ascendante hiérarchique (CAH)** sur distances euclidiennes entre groupements, conjointement avec le dendrogramme correspondant et le **coefficient de corrélation cophénétiq**ue (CCC) ayant permis d'évaluer la qualité d'ajustement (*goodness of fit*) des patrons de corrélations (LESSIG, 1972; SARAÇLI et coll., 2013). Au terme d'une analyse ayant inclus diverses approches pondérées ou non suivant les dissemblances minimales, maximales, moyennes, centroïdes, ou leurs variances minimales, c'est l'**approche pondérée de MCQUITTY (1966) utilisant les moyennes arithmétiques** «*Weighted Pair-Group Method using Arithmetic averages*» (WPGMA) (SNEATH et SOKAL, 1973) qui s'est avérée la plus fiable pour comparer les patrons d'AR (n=35) et AA (n=37). Cette approche était pour les deux espèces celle qui permettait d'obtenir le plus fort CCC tout en conservant les groupements stables ou «formes fortes» au fil des tests, c.-à-d. les variables toujours réunies dans la même classe finale (ROUX, 2006). Ces groupements stables n'ont pas été testés uniquement à travers les différentes approches mais également lorsque de nouvelles variables étaient ajoutées aux matrices.

5 BIOLOGIE DE REPRODUCTION COMPARÉE DES ANGUILLES DE L'ATLANTIQUE ARGENTÉES MIGRANTES À L'ÉTUDE

5.1 Mesures biométriques et âge

5.1.1 État des migrateurs (×0)

Notre échantillon d'AR était plus imposant (BW, BL, BD) et âgé que celui d'AA, ce qui se transposait en différences statistiques autant au niveau des anguilles Ctrl×0 (TABLEAU 5.1) que des anguilles PE×0 et PBO×0 (ANNEXE II). Les spécimens d'AR avaient une bien plus grande taille (Md 928 mm, Ei 874–990 mm, Ea 711–1112 mm, 63 % ≥ 900 mm, n 35) que ceux d'AA de notre étude (Md 570 mm, Ei 524–591 mm, Ea 472–730 mm, 16 % ≥ 600 mm, n 37) et une masse médiane cinq fois plus élevée. L'indice de condition des anguilles, en utilisant $K' = [BW' / (BL^3)]$ au lieu de la condition relative K_n pour laquelle les valeurs ne pouvaient pas être comparées entre espèces puisque la relation BW–BL différait (b_{AR} 2,7065; b_{AA} 3,3289) (SECTION 4.3.2), était ≥ 0,2 pour toutes les anguilles AR (Md 0,21; Ei 0,20–0,21; Ea 0,20–0,22; n 35) avant l'administration des injections (et significativement plus élevé que celui des anguilles AA), un seuil qui n'a pas été atteint chez les anguilles AA de notre étude (Md 0,15; Ei 0,15–0,15; Ea 0,14–0,16; n 37). AR avait également des valeurs deux fois plus grandes que AA pour le GSI (TABLEAU 5.1; FIGURE 5.2) et plus élevées pour le HSI, mais plus faibles pour le DSI et l'EI (TABLEAU 5.1). Comme l'ED_m (mean Eye Diameter) ($[ED_v + ED_h] / 2$) ne différait pas significativement entre AR (Md 8,0 mm; Ei 7,0–9,0 mm; Ea 5,0–10,5 mm; n 35) et AA (Md 7,8 mm; Ei 7,1–8,5 mm; Ea 6,1–9,8 mm; n 37), les petites valeurs d'EI observées chez AR devaient provenir de leur grande taille. Le FSI total chez AR-Ctrl était par contre plus faible (Md 13 %; Ei 12–14 %; Ea 9–17 %) que chez AA-Ctrl (Md 18 %; Ei 17–20 %; Ea 14–24 %), ce qui devait être dû au FSI du muscle (également plus faible), puisque le FSI du foie était similaire, et celui des ovaires, trois à quatre fois plus élevé chez AR-Ctrl (Md 1,6 %; Ei 1,2–2,0 %; Ea 1,0–2,3 %) que chez AA-Ctrl (Md 0,4 %; Ei 0,4–0,6 %; Ea 0,2–0,8 %) (TABLEAU 5.1). Finalement, les spécimens d'AR étaient substantiellement plus âgés (Md 15 ans, Ei 11–28, Ea 4–38 ans, 57 % ≥ 15 ans, n 32) que ceux d'AA (Md 10 ans, Ei 8–11 ans, Ea 6–19 ans, 54 % ≥ 10 ans, n 37). Pour plus d'information sur le développement ovarien (GSI) ainsi que sur les variables biométriques additionnelles, incluant le temps d'échantillonnage initial (×0) et la composition des tissus en lipides et en eau, voir la SECTION 5.2.1 et l'ANNEXE II, respectivement.

TABEAU 5.1 Âge et mesures biométriques des anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude

Groupe	(A) <i>Anguilla rostrata</i>			(B) <i>Anguilla anguilla</i>			Effet significatif
	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	
n	15	12	8	13	18	6	
Âge & Paramètres biométriques							
Age¹ (années)	18 10 – 29 6 – 38	15 13 – 26 5 – 30	16 11 – 29 4 – 31	9 8 – 11 7 – 19	11 9 – 13 8 – 19	8 6 – 9 6 – 10	SP
BW (g)	1750 1510 – 2011 990 – 2343	1553 1477 – 1832 993 – 2086	1681 1429 – 2040 731 – 2550	309 276 – 314 179 – 331	277 224 – 303 139 – 558	246 189 – 420 170 – 611	SP
BL (mm)	964 896 – 1016 711 – 1062	890 857 – 929 735 – 963	963 932 – 1018 740 – 1088	571 551 – 577 486 – 596	555 524 – 564 457 – 695	550 514 – 636 491 – 714	SP
BD² (mm)	60 55 – 64 49 – 68	64 61 – 72 56 – 91	57 53 – 60 41 – 69	34 28 – 34 25 – 37	35 31 – 39 24 – 47	30 29 – 39 29 – 46	SP×SA TR×SA
Indices biométriques							
K_n³	0,97 AB 0,90 – 1,05 0,84 – 1,23	1,07 A 0,94 – 1,16 0,89 – 1,58	0,92 B 0,87 – 0,96 0,82 – 1,03	1,04 AB 1,00 – 1,08 0,95 – 1,27	1,07 A 1,03 – 1,13 0,83 – 1,23	1,00 B 0,96 – 1,02 0,95 – 1,04	SP TR
EI (%)	4,5 B 3,6 – 5,3 3,0 – 8,1	7,6 A 5,4 – 9,0 4,6 – 12	5,5 B 5,2 – 5,7 4,2 – 6,2	8,8 B 7,6 – 9,6 5 – 13	9,5 A 8,5 – 10 7,7 – 15	8,7 B 7,3 – 9,4 6,6 – 10	SP TR
FI¹ (%)	4,9 b 4,7 – 5,3 4,0 – 6,3	4,9 b 4,8 – 5,0 4,5 – 5,5	4,8 b 4,2 – 4,9 4,2 – 5,1	5,1 b 4,9 – 5,2 4,4 – 5,4	5,7 a 5,3 – 6,1 4,8 – 6,4	5,6 a 5,4 – 5,8 5,1 – 6,1	SP×TR
HSI (%)	1,5 a 1,4 – 1,7 1,1 – 2,0	1,6 a 1,5 – 1,8 1,3 – 2,2	1,1 bc 1,0 – 1,3 0,9 – 1,8	1,0 c 1,0 – 1,2 0,9 – 1,4	1,7 a 1,6 – 1,9 1,3 – 2,1	1,6 ab 1,3 – 1,6 1,1 – 2,3	SP×TR
DSI (%)	0,8 A 0,6 – 0,9 0,4 – 1,2	0,3 B 0,3 – 0,4 0,05 – 0,5	0,6 A 0,6 – 0,7 0,6 – 0,9	1,0 A 1,0 – 1,1 0,5 – 1,6	0,7 B 0,6 – 0,8 0,4 – 1,6	1,3 A 1,2 – 1,3 0,9 – 1,6	SP TR
GSI (%)	4,3 b 3,8 – 4,7 3,2 – 6,1	25 a 17 – 35 13 – 49	4,6 b 4,1 – 4,7 2,9 – 4,8	1,8 c 1,6 – 2,1 1,3 – 2,4	5,8 b 4,0 – 7,1 1,4 – 9,3	1,6 c 1,5 – 1,9 1,0 – 2,5	SP×TR
FSI TOTAL^{4,5} (%)	13 b 12 – 14 9,0 – 17	11 b 9,4 – 12 7,3 – 16	11 b 9,2 – 12 8,6 – 13	18 a 17 – 20 14 – 24	17 a 16 – 18 4,5 – 24	7,3 b 5,1 – 14 3,8 – 18	SP×TR
FSI⁵ FOIE (%)	0,17 ab 0,15 – 0,24 0,10 – 0,36	0,14 b 0,11 – 0,21 0,07 – 0,29	0,14 b 0,10 – 0,17 0,05 – 0,25	0,15 b 0,12 – 0,17 0,09 – 0,28	0,22 a 0,19 – 0,33 0,08 – 0,44	0,23 ab 0,16 – 0,31 0,12 – 0,48	SP×TR
FSI⁵ MUSCLE (%)	11 b 9,9 – 12 6,8 – 15	6,8 c 5,6 – 8,0 3,2 – 13	9,2 bc 7,8 – 11 7,2 – 11	17 a 17 – 20 13 – 23	15 a 15 – 16 3,8 – 23	6,7 bc 4,2 – 13 3,3 – 18	SP×TR
FSI⁵ OVAIRES (%)	1,6 b 1,2 – 2,0 1,0 – 2,3	3,6 a 3,4 – 3,9 2,6 – 4,7	1,7 b 1,4 – 1,9 1,0 – 2,0	0,4 d 0,4 – 0,6 0,2 – 0,8	1,0 c 0,8 – 1,3 0,2 – 2,0	0,3 d 0,3 – 0,4 0,1 – 0,6	SP×TR

Les valeurs par groupe sont présentées suivant la **MÉDIANE** (Q2), l'**ÉCART INTERQUARTILE** (Q1–Q3) et l'**ÉCART ABSOLU** (MIN–MAX). Les différences d'après **SP** (valeurs plus élevées en gras), **TR** (lettres majuscules en couleur), **SA** (valeur soulignée du temps initial) ou leur **INTERACTION** (lettres minuscules en gras) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). **1.** Les valeurs de **n** par groupe sont dans l'ordre de 14, 11, 7, 13, 18 et 6 pour l'âge et 14, 12, 8, 13, 18 et 6 pour le FI; **2.** La valeur soulignée est significativement plus grande qu'au temps initial ($\times 0$) selon la procédure à trois facteurs; **3.** Les valeurs de **Kn** sont différentes entre **SP** mais ne peuvent être comparées directement puisqu'elles proviennent de relations BW–BL distinctes (SECTION 4.3.2); **4.** La masse lipidique totale provient des fractions hépatique, musculaire et ovarienne additionnées et n'inclut pas les fractions résiduelles de la carcasse (SECTION 4.3.2); **5.** Les valeurs en **g LIPIDES·kg⁻¹ ANGUILLE** peuvent être obtenues en multipliant les valeurs indiquées par un facteur de 10 (13 % équivalent à 130 g·kg⁻¹).

5.1.2 Réponse à la maturation artificielle ($\times 11$)

Le traitement PE a induit un développement significatif des ovaires (GSI) chez les deux espèces (FIGURE 5.2). **La réponse médiane du GSI à la maturation était environ deux fois plus importante chez les anguilles AR-PE** ($5,7 \times$ AR-Ctrl; $5,4 \times$ AR-PBO) **que chez les anguilles AA-PE** ($3,2 \times$ AA-Ctrl; $3,5 \times$ AA-PBO). Le GSI médian des anguilles AR-PE était quant à lui quatre fois plus grand (**Ma** 24,6 %) que celui des anguilles AA-PE (**Ma** 5,8 %), qui en fait, était statistiquement équivalent à celui des anguilles AR-Ctrl (**Ma** 4,3 %) et AR-PBO (**Ma** 4,6 %) (TABLEAU 5.1; FIGURE 5.2). Pour plus d'information sur le développement ovarien (GSI) voir la SECTION 5.2.2. Chez les anguilles PE seulement, il y a eu une hausse de l'**EI** et une baisse du **DSI**, mais les valeurs de **Kn** dépassaient uniquement celles des anguilles PBO dû à l'**effet du traitement** (TABLEAU 5.1). Les différences interspécifiques initiales étaient encore présentes après avoir reçu les injections (âge, BW, BL, Kn, EI, DSI) excepté pour le FI, le HSI et la BD. Cela est dû pour le FI et le HSI à une hausse entre les anguilles AA-Ctrl et AA-PE (pour le HSI au même niveau que les anguilles AR-PE et pour le FI jusqu'à des valeurs supérieures), mais pour la BD, à une hausse spécifique aux anguilles AR-PE seulement (TABLEAU 5.1). **Le transfert ovarien des lipides en réponse à la maturation était comparable** entre les deux espèces puisque le FSI médian des ovaires était deux à trois fois plus élevé chez les anguilles PE que chez les anguilles Ctrl et PBO (équivalents entre eux) **pour chaque espèce considérée séparément** (TABLEAU 5.1). Les valeurs de **FSI ovarien**, similairement à la différence interspécifique initiale, **étaient trois à quatre fois plus élevées chez AR-PE** (**Ma** 3,6 %; **Ei** 3,4–3,9 %; **Ea** 2,6–4,7 %) **que chez AA-PE** (**Ma** 1,0 %; **Ei** 0,8–1,3 %; **Ea** 0,2–2,0 %). Un transfert hépatique de lipides en réponse à la maturation s'est par ailleurs produit chez AA-PE (vis-à-vis AA-Ctrl) dont les valeurs venaient à dépasser celles d'AR-PE et AR-PBO. Une perte en lipides musculaires est survenue chez AR-PE (vis-à-vis AR-Ctrl) mais également AA-PBO (vis-à-vis AA-Ctrl et AA-PE) qui s'est retrouvé au même niveau qu'AR. **Les valeurs du FSI total d'AA-PE** (**Ma** 17 %; **Ei** 16–18 %; **Ea** 5–24 %) **dépassaient au final celles d'AR-PE** (**Ma** 11 %; **Ei** 9–12 %; **Ea** 7–16 %) et AR-PBO (**Ma** 11 %; **Ei** 9–12 %; **Ea** 9–13 %) similairement à l'écart initial, mais également AA-PBO (**Ma** 7 %; **Ei** 5–14 %; **Ea** 4–18 %) qui est devenu équivalent aux anguilles AR (TABLEAU 5.1). Bien que chez AR des changements en réponse à la maturation soient survenus dans les fractions ovariennes et musculaires du FSI, ils ne se sont pas répercutés au niveau du FSI total.

5.2 Stade de maturité

Dans l'ensemble, l'observation histologique des ovaires des deux espèces a permis d'identifier des ovocytes passant de la croissance primaire (stade 1-PG) à secondaire (stades 2-PV, 3-VTG, 4-GVM et GVBD) et même à l'ovulation (stade 5-OV) (FIGURE 5.1-5.2; TABLEAU 5.2). **Le stade de maturité présenté dans cette thèse est toutefois fondé sur le stade le plus avancé par anguille** (SECTION 4.5.3), ce qui correspond au stade le plus abondant par anguille excepté pour 50 % et 28 % des anguilles AR-PE et AA-PE pour lesquelles le stade de maturité présenté dans la thèse est supérieur au plus abondant (TABLEAU 5.2). Le stade des anguilles Ctrl d'une espèce est par ailleurs comparable à celui des anguilles PBO correspondantes (SECTION 5.2.2). **Au final, le stade de maturité était toujours plus avancé chez AR que chez AA pour les anguilles de traitement équivalent, en accord général avec le GSI** (FIGURE 5.2; TABLEAU 5.2). **Toute une série de variables semi-quantitatives de même que le diamètre des ovocytes** (FIGURE 5.2) **viennent appuyer davantage les informations sur le stade de maturité** des anguilles présentées dans le cadre de la thèse (TABLEAU 5.2; ANNEXE II).

5.2.1 État des migrateurs (× 0)

La majorité des anguilles AR-Ctrl (n = 12) était en stade **3-VTG1** (FIGURE 5.1G), à l'exception de deux anguilles déjà en stade **3-VTG2** (FIGURE 5.3), alors que chez les anguilles AA-Ctrl, le stade **2-PV2** (FIGURE 5.1D) était prédominant (n = 12) sauf pour une anguille encore au stade **2-PV1** (FIGURE 5.1B-C). Cela est en accord avec le GSI des anguilles AR-Ctrl (Md 4,3 %; Ei 3,8–4,7 %; Ea 3,2–6,1 %) qui était deux fois plus important que celui des anguilles AA-Ctrl (Md 1,8 %; Ei 1,6–2,1 %; Ea 1,3–2,4 %) (TABLEAU 5.1) mais également avec les différences significatives présentes dans les données d'abondance des stades, des valeurs de stade maximal, et du diamètre (GDO) maximal des ovocytes (FIGURE 5.2; TABLEAU 5.2). **À l'instar des différences présentes pour le GSI, le stade de maturité et le GDO maximal, le GDO médian était plus grand chez les anguilles AR-Ctrl** (Md 188 mm; Ei 180–206 mm; Ea 167–236 mm) **que chez les anguilles AA-Ctrl** (Md 143 mm; Ei 135–161 mm; Ea 123–176 mm). Les données supplémentaires incluant le stade le plus abondant et le GDO médian sont disponibles en ANNEXE II.

5.2.2 Réponse à la maturation artificielle (× 11)

La majorité des anguilles AR-PE (n = 8) était avancée en stade **3-VTG3** (FIGURE 5.1I), et les anguilles restantes soit en stade **3-VTG2** (n = 1) (FIGURE 5.1H), en stade **4-GVM1** (n = 2) (FIGURE 5.1J-K) ou en stade **4-GVBD** (n = 1) avec occurrence de POF (anguille classée en stade **5-OV**) (FIGURE 5.1M).

TABLEAU 5.2 Stade de maturité et paramètres associés des anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude

Groupe	(A) <i>Anguilla rostrata</i>			(B) <i>Anguilla anguilla</i>			Effet significatif
	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	
n	14	12	7	13	18	6	
Stade de maturité							
Stade¹	3,0 b 3,0 – 3,0 3,0 – 3,4	3,8 a 3,8 – 3,9 3,4 – 5,0	3,0 b 3,0 – 3,0 3,0 – 3,0	2,8 d 2,8 – 2,8 2,0 – 2,8	2,8 c 2,8 – 3,0 2,0 – 3,0	2,8 cd 2,8 – 2,8 2,8 – 2,8	SP×TR
PG1² (%)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	
PG2² (%)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	
PV1² (%)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 0 – 4 0 – 100	0 0 – 0 0 – 100	0 0 – 0 0 – 4	SP
PV2² (%)	0 0 – 0 0 – 40	0 0 – 0 0 – 8	16 8 – 26 4 – 80	100 96 – 100 0 – 100	92 65 – 100 0 – 100	100 100 – 100 96 – 100	SP
VTG1² (%)	100 a 75 – 100 8 – 100	2 bc 0 – 25 0 – 28	84 a 74 – 92 20 – 96	0 c (n.d.)	0 b (n.d.) 0 – 31 0 – 100	0 bc (n.d.)	SP×TR
VTG2² (%)	0 b 0 – 0 0 – 92	38 a 6 – 61 0 – 100	0 b (n.d.)	0 b (n.d.)	0 b (n.d.)	0 b (n.d.)	SP×TR
VTG3² (%)	0 b (n.d.)	18 a 12 – 40 0 – 68	0 b (n.d.)	0 b (n.d.)	0 b (n.d.)	0 b (n.d.)	SP×TR
GVM1² (%)	0 (n.d.)	0 0 – 0 0 – 88	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	
GVM2² (%)	0 (n.d.)	0 0 – 0 0 – 72	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	
GVBD² (%)	0 (n.d.)	0 0 – 0 0 – 28	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	0 (n.d.)	
Paramètres associés							
GDO³ (µm)	221 c 218 – 245 201 – 278	577 a 501 – 631 467 – 839	259 bc 236 – 282 210 – 304	184 d 171 – 190 158 – 214	336 b 282 – 376 173 – 461	178 d 172 – 182 159 – 193	SP×TR
PDO³ (µm)	167 c 163 – 184 134 – 209	458 a 420 – 536 329 – 615	202 bc 174 – 204 146 – 218	133 d 124 – 144 92 – 157	235 b 187 – 265 139 – 363	126 d 124 – 136 122 – 162	SP×TR
RDNO^{3,4} (%)	40 ab 37 – 44 30 – 70	28 c 26 – 31 24 – 38	35 bc 32 – 39 31 – 41	47 a 44 – 48 41 – 68	33 b 31 – 41 26 – 56	49 a 46 – 52 46 – 54	SP×TR
RSL⁵	4,0 A 4,0 – 4,0 3,0 – 4,0	4,0 B 4,0 – 4,0 4,0 – 4,0	4,0 AB 4,0 – 4,0 4,0 – 4,0	4,0 A 4,0 – 4,0 2,0 – 4,0	4,0 B 4,0 – 4,0 2,0 – 4,0	4,0 AB 4,0 – 4,0 4,0 – 4,0	TR
RSV⁵	2,0 b 2,0 – 2,0 1,0 – 3,0	4,0 a 4,0 – 4,0 3,0 – 4,0	1,0 b 1,0 – 1,5 1,0 – 2,0	0 d (n.d.)	0 c 0 – 1,0 0 – 1,0	0 cd (n.d.)	SP×TR

Les valeurs par groupe sont présentées suivant la **MÉDIANE** (Q2), l'**ÉCART INTERQUARTILE** (Q1–Q3) et l'**ÉCART ABSOLU** (MIN–MAX). Les différences d'après **SP** (valeurs plus élevées en gras), **TR** (lettres majuscules en couleur), **SA** (valeur soulignée du temps initial) ou leur **INTERACTION** (lettres minuscules en gras) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). **1.** Stade le plus avancé par anguille : **PG1=1,0; PG2=1,8; PV1=2,0; PV2=2,8; VTG1=3,0; VTG2=3,4; VTG3=3,8; GVM1=4,0; GVM2=4,4; GVBD=4,8; OV=5,0**; **2.** Abondance par anguille pour chaque stade; **3.** Basé sur les valeurs maximales par anguille; **4.** L'effet de **SP × TR** était marginal ($p = 0,0620$); **5.** Ratio de surface : **0 % = 0, 0–10 % = 1, 10–25 % = 2, 25–50 % = 3, 50–100 % = 4.** n.d., non détecté.

En contraste, les anguilles **AA-PE** les plus avancées étaient en **3-VTG1** ($n = 7$) (**FIGURE 5.1F**) alors que la majorité n'avait pas dépassé le stade **2-PV2** ($n = 10$) (**FIGURE 5.1E**) et qu'une anguille était en **2-PV1**. Les **VV** étaient en fait (là où applicable) systématiquement plus difficiles à visualiser chez les anguilles **AA-PE** (très faible abondance, petite taille, faible intensité de couleur, manque de netteté) que chez les anguilles **AR-Ctrl** (**FIGURE 5.1G**), ce qui va dans le même sens que la différence statistique présente entre la valeur semi-quantitative de leur stade et le diamètre de leurs ovocytes (**FIGURE 5.2**; **TABLEAU 5.2**). Cela est aussi **en accord avec les valeurs médianes de GSI qui étaient au final quatre fois plus importantes chez les anguilles AR-PE** (Md 24,6 %; Ei 17,0–34,8 %; Ea 12,9–49,4 %) **que chez les anguilles AA-PE** (Md 5,8 %; Ei 4,0–7,1 %; Ea 1,4–9,3 %). En contraste avec les anguilles **PE**, les anguilles **PBO** avaient un développement qui se comparait à celui des anguilles **Ctrl** (**FIGURE 5.1-5.2**). Les anguilles **AR-PBO** étaient en stade **3-VTG1** ($n = 8$) alors que les anguilles **AA-PBO** étaient en stade **2-PV2** ($n = 6$), **en accord avec leur GSI médian respectif de 4,6 %** (Ei 4,1–4,7 %; Ea 2,9–4,8 %) **et 1,6 %** (Ei 1,5–1,9 %; Ea 1,0–2,5 %), **et le stade prédominant chez les anguilles AR-Ctrl (3-VTG1) et AA-Ctrl (2-PV2)**, respectivement (**SECTION 5.2.1**). **Des ovocytes en résorption (atrésie) ont également été trouvés systématiquement chez les anguilles PBO uniquement**, ce qui est en accord avec les données d'abondance des stades par rapport aux anguilles **Ctrl** de la même espèce (**TABLEAU 5.2**).

5.3 Teneur en stéroïdes sexuels

La teneur plasmatique des stéroïdes sexuels étudiés dans cette thèse a été **détectée pour la totalité des anguilles dans le cas de 11KT uniquement**. Dans le cas de **T** et **E2** dont la **LDM** était respectivement de $0,15 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ et $17,6 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (**FIGURE 5.4**), les valeurs ont été détectées pour toutes les anguilles appartenant à **AR-Ctrl** et **AR-PE** uniquement (des valeurs non détectées étaient présentes chez **AR-PBO**, **AA-Ctrl**, **AA-PE** et **AA-PBO**). La totalité des valeurs mesurées pour **T**, **E2** et **11KT** est disponible en **ANNEXE II**.

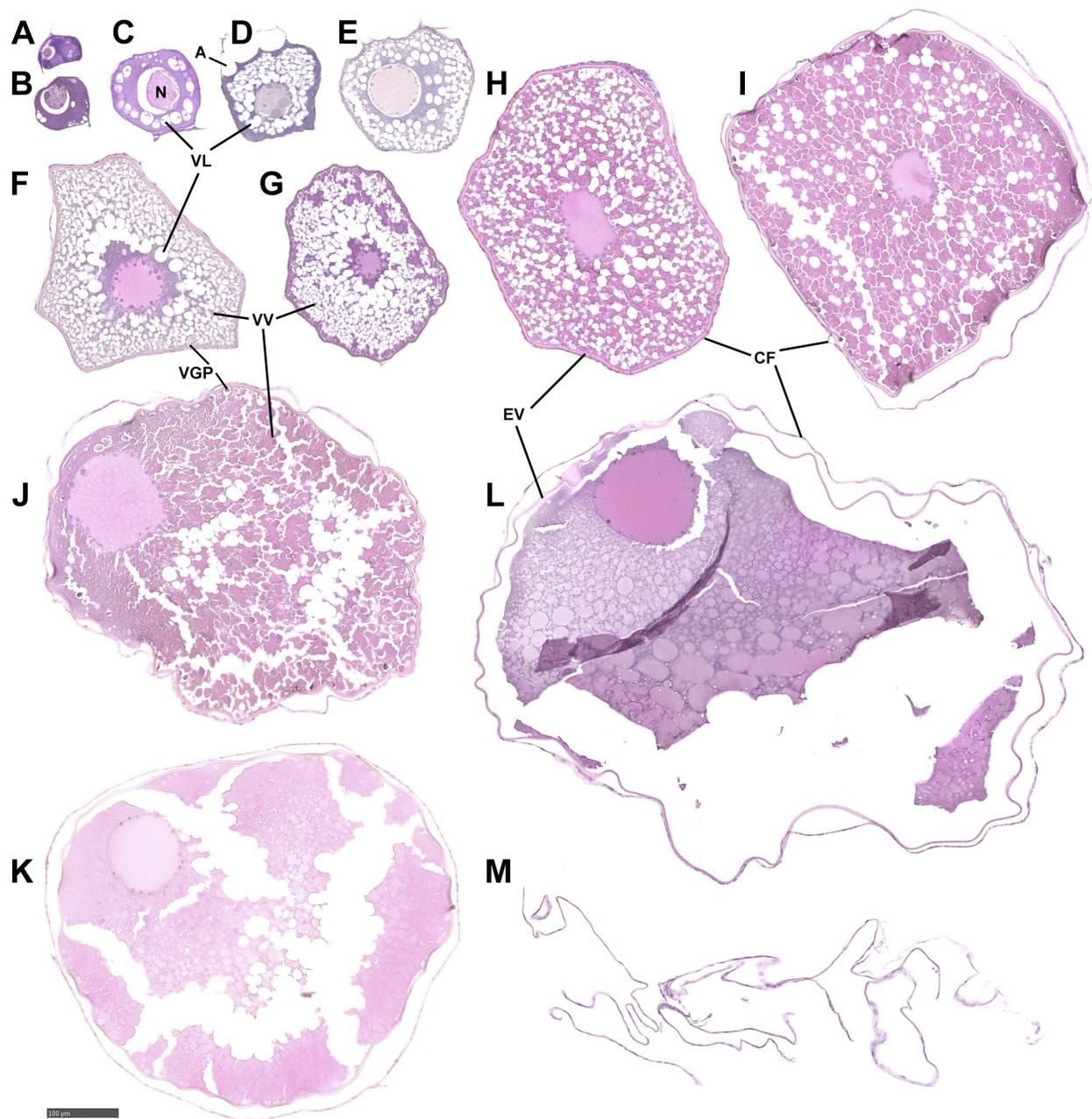
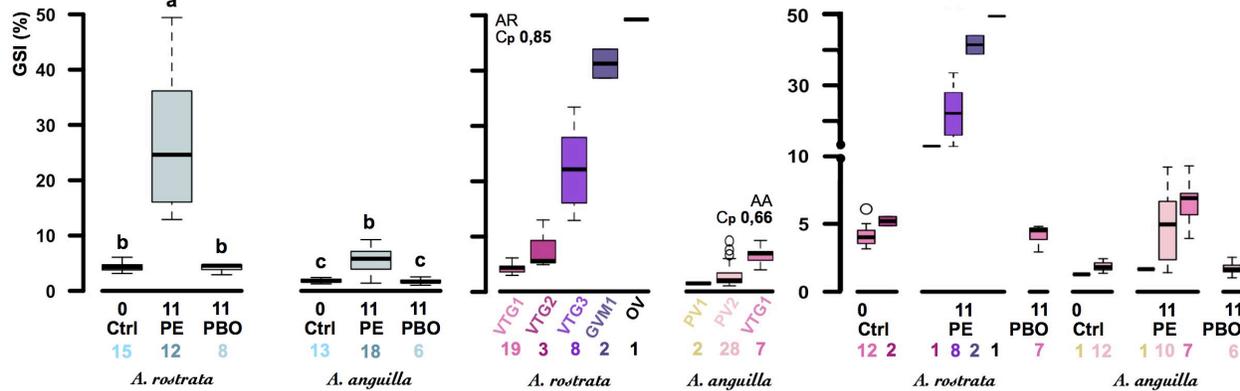


FIGURE 5.1 Gamme d'ovocytes observés chez les anguilles d'Amérique (G-M) et d'Europe (A-F) à l'étude

Les images ont été capturées grâce à un numériseur à balayage muni d'un appareil photo à haute définition (0,23 µm) à partir de coupes histologiques d'ovaires préparées sur lame avec une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine. La sélection correspond à des anguilles Ctrl [A-D, G] n'ayant pas reçu d'injection ou à des anguilles PE [E-F, H-M] ayant reçu 11 injections pour la maturation artificielle (GSI (%): 1,4 [A-B]; 1,3 [C]; 1,6 [D]; 1,4 [E]; 7,3 [F]; 5,5 [G]; 13,0 [H]; 33,5 [I]; 38,8 [J]; 44,0 [K]; 49,4 [L-M]). A, 1-Croissance primaire avancée PG2; B-C, 2-Pré-vitellogenèse précoce PV1; D-E, 2-Pré-vitellogenèse avancée PV2; F-G, 3-Vitellogenèse précoce VTG1; H, 3-Vitellogenèse intermédiaire VTG2 au climax; I, 3-Vitellogenèse avancée VTG3; J-K, 4-Migration précoce du noyau GVM1 avec coalescence des lipides; L, 4-Migration avancée du noyau GVM2 avec coalescence du vitellus et hydratation; M, 5-Ovulation OV avec la présence de follicules post-ovulatoires POF. A, adipocyte; CF, cellules folliculaires; EV, enveloppe vitelline; N, noyau; VGP, vésicules de glycoprotéines; VL, vésicules de lipides; VV, vésicules de vitellus. Barre d'échelle : 100 µm.

Rapport gonadosomatique

OVAIRES



Stade de maturité

Diamètre des ovocytes

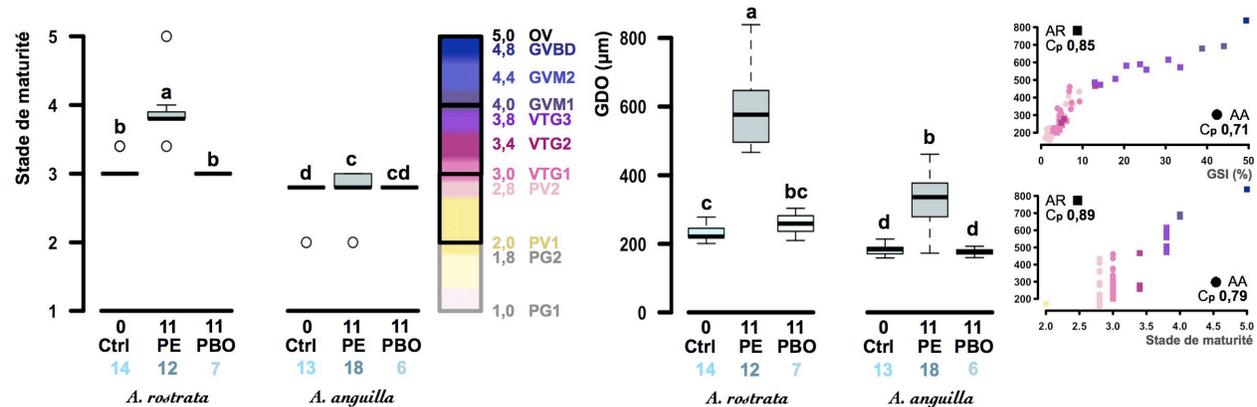


FIGURE 5.2 Données relatives au développement ovarien des anguilles d'Amérique et d'Europe à l'étude

La boîte des diagrammes de quartiles englobe 50 % des données réparties autour de la ligne médiane (du 1^{er} au 3^e quartile) et les points externes aux lignes pointillées représentent les valeurs minimale ou maximale atypiques (< 1 % des données), avec tout en bas de l'abscisse le nombre d'observations. Les différences d'après l'INTERACTION de SP et TR (lettres minuscules) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). Les différentes représentations du stade de maturité symbolisent le stade le plus avancé par anguille (SECTION 4.6.3). La corrélation entre le GSI et le stade de maturité, et entre le GSI et le GDO, était forte (respectivement de 0,85 et 0,85) pour l'anguille d'Amérique (AR, *A. rostrata*) et modérée (respectivement de 0,66 et 0,71) pour l'anguille d'Europe (AA, *A. anguilla*), alors qu'entre le stade de maturité et le GDO elle était forte pour AR (0,89) et AA (0,79). Toutes ces corrélations étaient significatives ($P < 0,05$). Les trois variables mises ensemble viennent corroborer le développement ovarien des anguilles en fonction du groupe mais également du stade. Cp, % de paires d'observations concordantes.



FIGURE 5.3 Ovocyte en vitellogenèse intermédiaire d'une anguille d'Amérique avant maturation artificielle

L'image a été capturée dans les mêmes conditions qu'en **FIGURE 5.1** chez cette anguille Ctrl n'ayant pas reçu d'injection (GSI (%): 5,5) et dont les ovocytes les plus avancés (et les plus abondants) se classent au stade de la vitellogenèse intermédiaire 3-VTG2. Ce classement correspond bel et bien aux critères définis (SECTION 4.6.2) pour la 3-VTG2 (25-50 % de la surface occupée par les VV jusqu'au tour du noyau avec les VL moins abondantes ou également abondantes au climax du stade) et dépasse clairement les critères de la vitellogenèse précoce 3-VTG1 (quelques vésicules jusqu'à 25 % de la surface occupée par les VV en périphérie avant tout). Ce classement correspond à un état situé entre ceux montrés en **FIGURE 5.1G** et **5.1H**. VL, vésicules de lipides; VV, vésicules de vitellus. Barre d'échelle : 100 μm.

5.3.1 État des migrateurs (× 0)

Les concentrations plasmatiques en stéroïdes sexuels (T, E2, 11KT) étaient systématiquement plus élevées chez AR-Ctrl que chez AA-Ctrl et les différences interspécifiques les plus distinctes (dont les E_a se chevauchaient le moins) étaient $11KT > T > E2$ (FIGURE 5.4). Pour T, les concentrations médianes étaient 43 fois plus élevées chez AR-Ctrl (M_d 3,2 ng·mL⁻¹; E_i 2,5–5,8 ng·mL⁻¹; E_a 1,0–16 ng·mL⁻¹) que chez AA-Ctrl ($M_d \leq 0,2$ ng·mL⁻¹; $E_i \leq 0,2$ –0,4 ng·mL⁻¹; $E_a \leq 0,2$ –1,8 ng·mL⁻¹), pour 11KT, 14 fois plus importantes chez AR-Ctrl (M_d 845 pg·mL⁻¹; E_i 440–2·10³ pg·mL⁻¹; E_a 162–6·10³ pg·mL⁻¹) que chez AA-Ctrl (M_d 59 pg·mL⁻¹; E_i 37–77 pg·mL⁻¹; E_a 24–107 pg·mL⁻¹) et pour E2, sept fois plus grandes chez AR-Ctrl (M_d 507 pg·mL⁻¹; E_i 356–792 pg·mL⁻¹; E_a 175–2·10³ pg·mL⁻¹) que chez AA-Ctrl (M_d 73 pg·mL⁻¹; E_i 22–122 pg·mL⁻¹; $E_a \leq 18$ –508 pg·mL⁻¹).

5.3.2 Réponse à la maturation artificielle (× 11)

La réponse à la maturation artificielle des stéroïdes sexuels plasmatiques (T, E2, 11KT) différait selon l'espèce (FIGURE 5.4). Chez les anguilles AR-PE, les valeurs médianes ont augmenté pour E2 seulement (6×AR-Ctrl) et n'ont pas régressé significativement (T, 11KT) tel qu'observé chez les anguilles AR-PBO pour E2 (AR-Ctrl/8, AR-PE/45), T (AR-Ctrl/10, AR-PE/16), et 11KT (AR-Ctrl/13, AR-PE/20). Chez les anguilles AA-PE, les valeurs médianes ont augmenté significativement pour 11KT seulement (2,5×AA-Ctrl) ou n'ont pas régressé significativement (T, E2) tel que constaté chez les anguilles AA-PBO pour 11KT (AA-PE/7) et E2 (AA-Ctrl/8). Après avoir reçu le traitement PE, les concentrations médianes en stéroïdes (T, E2, 11KT) sont demeurées plus élevées chez AR et les différences les plus distinctes (dont les E_a se chevauchaient le moins) se sont reconfigurées selon $E2 > 11KT > T$ (FIGURE 5.4). Pour E2, les concentrations médianes étaient 80 fois plus élevées chez AR-PE (M_d 3·10³ pg·mL⁻¹; E_i 2·10³–4·10³ pg·mL⁻¹; E_a 521–18·10³ pg·mL⁻¹) que chez AA-PE (M_d 36 pg·mL⁻¹; $E_i \leq 18$ –128 pg·mL⁻¹; $E_a \leq 18$ –401 pg·mL⁻¹), pour T, 18 fois plus grandes chez AR-PE (M_d 5,0 ng·mL⁻¹; E_i 2,0–9,4 ng·mL⁻¹; E_a 0,9–33,0 ng·mL⁻¹) que chez AA-PE (M_d 0,3 ng·mL⁻¹; $E_i \leq 0,2$ –1,6 ng·mL⁻¹; $E_a \leq 0,2$ –26,1 ng·mL⁻¹), et pour 11KT, 9 fois plus importantes chez AR-PE (M_d 1320 pg·mL⁻¹; E_i 755–2·10³ pg·mL⁻¹; E_a 585–4·10³ pg·mL⁻¹) que chez AA-PE (M_d 146 pg·mL⁻¹; E_i 84–333 pg·mL⁻¹; E_a 32–889 pg·mL⁻¹).

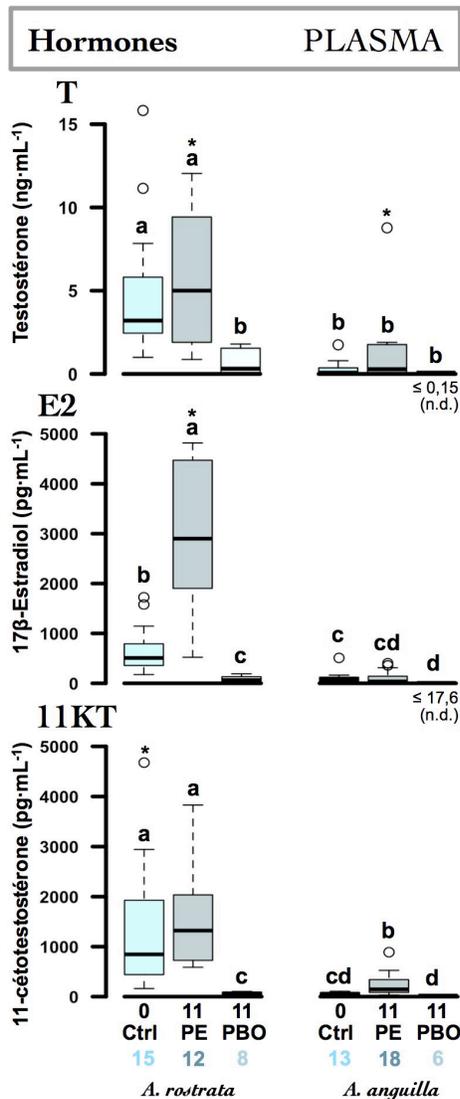


FIGURE 5.4 Teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels des anguilles d'Amérique et d'Europe à l'étude

Les teneurs en hormones stéroïdiennes ont été mesurées dans le plasma sanguin des anguilles à partir de dosages immuno-enzymatiques colorimétriques de type compétitif. La boîte des diagrammes de quartiles englobe 50 % des données réparties autour de la ligne médiane (du 1^{er} au 3^e quartile) et les points externes aux lignes pointillées représentent les valeurs minimale ou maximale atypiques (<1 % des données), avec tout en bas de l'abscisse le nombre d'observations. L'astérisque indique la présence d'une valeur atypique à l'extérieur de la gamme de valeurs présentées. Les différences d'après l'INTERACTION de SP et TR (lettres minuscules) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). n.d., non détecté d'après la limite de détection de la méthode qui était de 0,15 ng·mL⁻¹ et 17,6 pg·mL⁻¹ pour T et E2, respectivement.

5.4 Teneur en produits de la transcription de gènes

La teneur en produits de la transcription des gènes examinés dans cette thèse a été détectée **dans tous les cas excepté pour la *vtg* de certaines anguilles AA** et spécialement parmi AA-Ctrl et AA-PBO. Toutes les données obtenues par gène amplifié sont disponibles en **ANNEXE II**.

5.4.1 État des migrateurs (×0)

Le niveau des produits de la transcription de tous les gènes à l'étude était **plus élevé dans les tissus des anguilles AR-Ctrl que dans ceux des anguilles AA-Ctrl (FIGURE 5.5) à l'exception de la *fshβ* hypophysaire et de l'*esr1* hépatique** pour lesquels aucune différence interspécifique n'était présente avant la maturation artificielle. **Les différences interspécifiques les plus distinctes étaient *vtg* > *lhβ* > (*gnrh1*, *gnrh2*, et *esr1* cérébral et hypophysaire)** d'après un ordre de grandeur de **30·10³, 10, et 2 fois plus grand chez AR-Ctrl que chez AA-Ctrl, respectivement.**

5.4.2 Réponse à la maturation artificielle (×11)

La réponse des produits de la transcription des gènes à la maturation différait selon l'espèce (FIGURE 5.5) **excepté pour les *gnrh1* et *gnrh2* pour lesquelles aucun effet de traitement n'a pu être identifié *a posteriori*.** Chez les anguilles AR-PE, les valeurs médianes ont augmenté pour la *vtg* (122×AR-Ctrl), la *lhβ* (51×AR-Ctrl) et l'*esr1* hépatique (5×AR-Ctrl) et n'ont pas diminué significativement (*gnrh1*, *gnrh2*, *esr1* cérébral et hypophysaire) tel qu'observé chez les anguilles AR-PBO pour la *lhβ* (AR-Ctrl/7, AR-PE/371) et l'*esr1* cérébral (AR-Ctrl/2, AR-PE/2) et hypophysaire (AR-Ctrl/3). **Les valeurs de la *fshβ* ont été abaissées significativement chez les anguilles AR-PE (AR-Ctrl/31) et dans une moindre mesure chez AR-PBO (AR-Ctrl/3) mais au même niveau que celui observé chez les anguilles AA-PBO (FIGURE 5.5).** Chez les anguilles AA-PE, les niveaux ont augmenté pour la *vtg* (8×AA-Ctrl), la *lhβ* (3×AA-Ctrl) et l'*esr1* hypophysaire (2×AA-Ctrl) et ont diminué pour la *fshβ* (AA-Ctrl/54). De plus, tous les niveaux mesurés chez les anguilles AA-PBO étaient statistiquement équivalents à ceux des anguilles AA-Ctrl. En dépit des réponses à la maturation susmentionnées, **les différences présentes initialement entre les espèces de l'Atlantique ont augmenté de 15 à 20 fois pour la *vtg* et la *lhβ* et ont disparu pour la *gnrh1* et l'*esr1* hypophysaire, alors que le niveau initialement équivalent entre AR et AA a changé de manière équivalente entre elles pour la *fshβ* mais au contraire, pour l'*esr1* hépatique, l'égalité interspécifique a disparu dû à une augmentation observée chez AR-PE seulement. Au final, les différences les plus distinctes se sont réorganisées selon *vtg* > *lhβ* > *esr1* hépatique > (*gnrh2* et *esr1* cérébral) selon un ordre de grandeur de **400·10³, 200, 3 et 2 fois plus grand chez AR-PE que chez AA-PE.****

5.5 Structure relationnelle des variables à l'étude

Les patrons de corrélations des variables de l'axe gonadotrope et leurs associations significatives ont été examinés en relation avec les autres variables biologiques à l'étude **afin de faire ressortir les facteurs ayant pu contribuer à l'état d'avancement sexuel de notre échantillon d'anguilles** tout en permettant la comparaison entre AR (CCC 0,86) et AA (CCC 0,89) (FIGURE 5.6). Pour ce faire, les variables BW et BL ayant servi à pondérer les indices biométriques ont été exclues des matrices de corrélations bivariées, l'indice de condition relative K_n a été conservé puisqu'associé ni à BW ni à BL, et les fractions séparées du FSI (hépatique, musculaire et ovarienne), incluses sans considérer le FSI total qui au final était plus confondant qu'informatif (SECTIONS 5.1.1-5.1.2). Le FSI total était par ailleurs corrélé très fortement et uniquement avec sa fraction musculaire, autant chez AR (C_p 0,94) que chez AA (C_p 0,97). Il est également à noter qu'avant l'ajout des trois fractions de FSI (foie, muscle, ovaires) aux matrices de corrélations, la qualité d'ajustement des patrons était supérieure et pratiquement identique entre AR (CCC 0,91) et AA (CCC 0,90). Mais visuellement, il n'y a aucune différence, si ce n'est l'ajout des trois variables. La démarche avait d'abord été réalisée en incluant BW et BL (avec les paramètres biométriques et non les indices), mais par la suite délaissée au profit de l'inclusion de K_n uniquement (avec les indices biométriques), puisque le CCC, en réponse à ces deux variables (paramètres biométriques), était nettement moins explicatif (de $\geq 10\%$), et qu'au contraire de K_n , la structure plaçait BW et BL dans un regroupement exclu de l'axe gonadotrope et du GSI. Le **pourcentage d'observations concordantes C_p (+, association positive) ou discordantes D_p (-, association négative)** est disponible pour l'ensemble des variables à l'étude en ANNEXE II.

La structure globale des deux dendrogrammes est similaire en ce sens que les variables se divisent en quelques groupements dégagant des similarités (en dépit des différences présentes entre les deux espèces), tant au niveau de l'axe gonadotrope que du positionnement exact des autres variables biologiques dont certaines variables clés (GSI, GDO, stade, K_n , FSI, âge) : (1) le **cœur** du dendrogramme ou *premier groupement* renferme les **variables qui répondent le plus fortement et positivement à la maturation** (FIGURES 5.4-5.5) avec la plus forte concordance envers les paramètres ovariens dont le GSI et le GDO (TABLEAU 5.1 ; FIGURE 5.2) et la **plus haute densité de significativité**, alors que (2) la **branche la plus distante** de la majorité du dendrogramme ou *dernier groupement* présente également des **variables répondant fortement à la maturation dont le DSI et la $fsh\beta$ mais de manière négative** et en discordance significative avec les paramètres ovariens (FIGURE 5.6). Bien que le CCC de la structure d'AR soit un peu moindre que celui d'AA, les corrélations significatives plus fortes et nombreuses d'AR rendent sa structure finale plus convaincante.

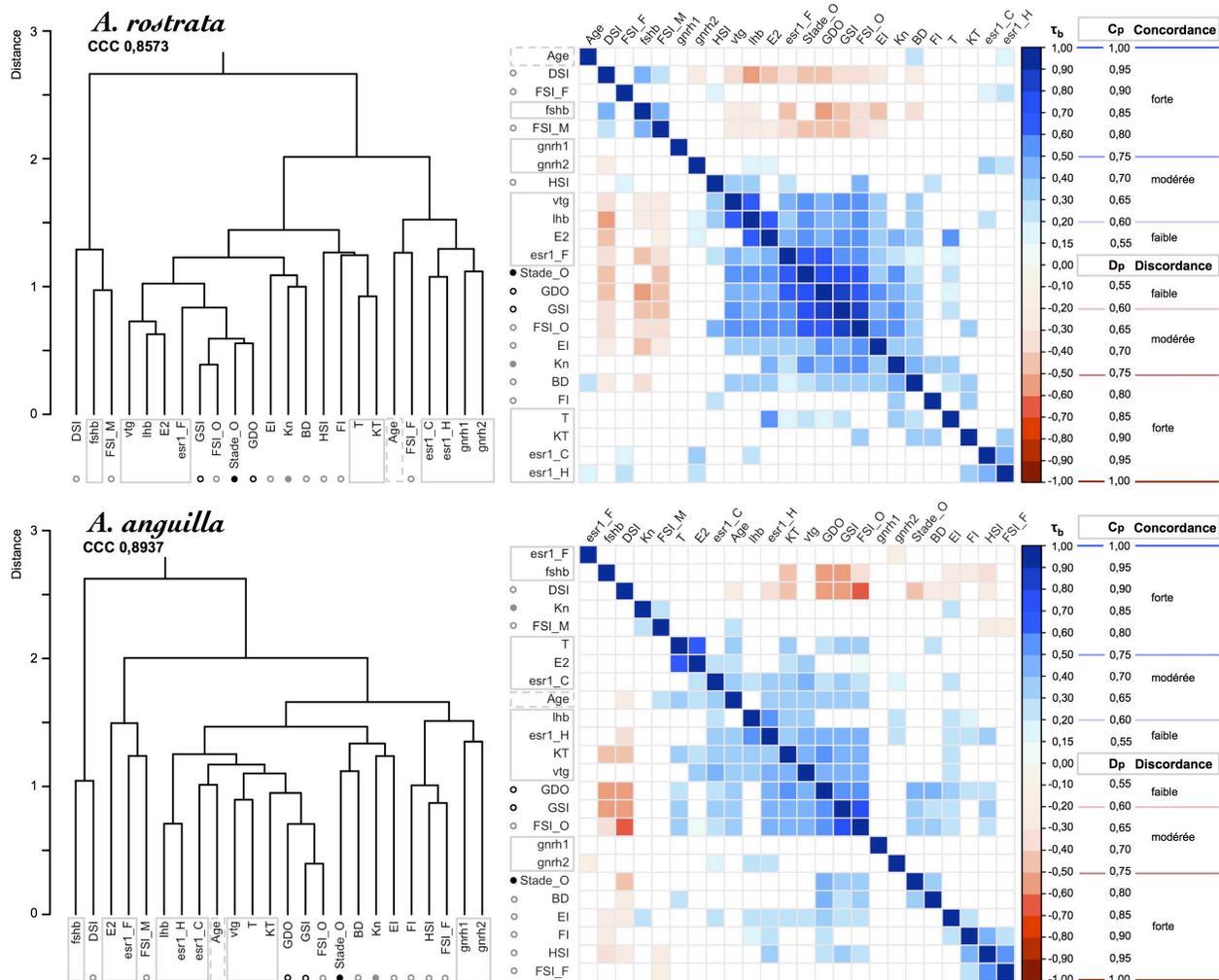


FIGURE 5.6 Structure relationnelle des variables pour les anguilles d’Amérique et d’Europe à l’étude

Les dendrogrammes ont été produits en utilisant la distance euclidienne présente entre les variables des matrices de corrélations réorganisées selon l’approche de classification ascendante hiérarchique pondérée utilisant les moyennes arithmétiques WPGMA (*Weighted Pair-Group Method using Arithmetic averages*). Le coefficient de corrélation cophénétique (CCC) indique à quel point le rendu du dendrogramme préserve ces distances. La qualité d’ajustement est similaire chez AR (n=35) et AA (n=37) puisque les CCC respectifs sont de 0,86 et 0,89. L’ensemble du dendrogramme doit être vu comme un mobile suspendu où chaque jonction peut pivoter. Les relations les plus semblables ont les plus faibles distances de regroupement en ordonnée avec une hiérarchie de similarité qui va de manière ascendante, c.-à-d. du bas vers le haut vers lequel s’accroît la dissemblance entre les relations. Ces relations sont fondées sur le coefficient tau-b de Kendall (τ_b) qui résulte d’une différence de probabilité entre les paires d’observations concordantes C_p (association positive) et discordantes D_p (association négative) prises au hasard. Une valeur de τ_b s’approchant de +1 (100 %) indique une probabilité de concordance s’approchant de la certitude absolue puisque le nombre de paires d’observations concordantes tend vers la totalité possible ($C_p = 100\%$ et $D_p = 0\%$). En revanche, une valeur de τ_b s’approchant de 0 (0 %) indique une probabilité de concordance s’approchant de la nullité puisqu’un nombre éventuellement égal de paires d’observations sont concordantes et discordantes ($C_p = 50\%$ et $D_p = 50\%$). L’accroissement du nombre de paires d’observations concordantes C_p et discordantes D_p est respectivement représenté en tons de bleu et de rouge s’intensifiant ($P < 0,05$). C, cerveau; F, foie; fshb, *fshβ*; H, hypophyse; KT, 11KT; lhb, *lhβ*; M, muscle; O, ovaires.

5.5.1 Variables de l'axe gonadotrope et entourant le développement ovarien

Pour les deux espèces, les variables de l'axe gonadotrope sont réparties dans quatre grands groupements. **L'organisation des patrons suggère d'après le premier groupement que le processus de maturation implique principalement chez AR les acteurs d'origine hépatique *vtg* et *esr1*, ovarienne *E2* et hypophysaire *lhβ* (*fshβ*),** alors qu'il évoque plutôt **chez AA les acteurs d'origine hépatique *vtg*, ovarienne 11KT (T), et cérébro-hypophysaire *esr1* (*lhβ*, *fshβ*) (FIGURE 5.6).** **Chez AR, le stade de maturité est au centre de ce processus en forte association avec les (+) paramètres ovariens (GSI = GDO > FSI ovarien) alors que chez AA, bien que le stade soit modérément associé à ces (+) derniers (GDO > FSI ovarien > GSI), il n'est pas du tout au cœur du processus (aucune corrélation avec l'axe gonadotrope), ce qui vient expliquer la position beaucoup plus distante du stade chez AA (FIGURE 5.6).** ***E2* est par ailleurs fortement associée au (+) développement ovarien (GSI > Stade > GDO) chez AR uniquement et en contrepartie 11KT est corrélée avec le (+) développement ovarien fortement (GDO) ou modérément (GSI) chez AA seulement.** **Finalement, le FSI ovarien est corrélé chez les deux espèces avec ces deux stéroïdes, mais plus fortement avec *E2* pour AR (C_p 0,80) et davantage avec 11KT pour AA (C_p 0,71).**

5.5.2 Variables biologiques potentiellement influentes

Chez AR, le développement ovarien (GSI, GDO, stade) et l'axe gonadotrope sont clairement associés à la condition des anguilles, principalement via le FSI (+) ovarien/(-) musculaire et le (+) K_n et dans une moindre mesure (axe gonadotrope uniquement) le (+) HSI et le (+) FSI hépatique (loin devant l'âge, BW et BL, qui pourtant sont tous corrélés positivement entre eux). **Chez AA, l'âge est placé au cœur du processus de maturation (loin devant BW ou BL avec lesquels l'âge n'est pas relié) en association avec le (+) développement ovarien (GSI, GDO), le FSI (+) ovarien (le HSI est impliqué mais sans lien à l'âge) et éventuellement (+) musculaire, qui en retour est associé à la condition relative (+) K_n des anguilles.** **Avant le début des maturations artificielles, le développement ovarien (GW) était quand à lui associé à BW et BL chez les deux espèces, mais toujours plus fortement chez AR (BL : C_p 0,76 (AR) et 0,63 (AA); BW : C_p 0,87 (AR) et 0,72 (AA)).**

Chez les anguilles AA seulement, l'âge était associé au GSI (C_p 0,68), au GDO (C_p 0,66) et au FSI ovarien (C_p 0,66) et musculaire (C_p 0,64), et cette fraction musculaire, également associée à la condition relative K_n des anguilles selon la même probabilité (C_p 0,64). **Chez les anguilles AR seulement, l'âge était plutôt associé à BW (C_p 0,73) et BL (C_p 0,71), la BL associée en retour au FSI musculaire (C_p 0,71), et la condition relative K_n des anguilles, au GSI (C_p 0,79), au FSI ovarien (C_p 0,76), au stade de maturité (C_p 0,75) et au**

GDO (C_p 0,72). Avant la maturation artificielle, le FSI ovarien des anguilles AR était associé fortement au GSI (C_p 0,82) et au GDO (C_p 0,76), ce qui concorde avec les grandes valeurs des deux anguilles AR-Ctrl en stade VTG2, mais sans lien à K_n , BW, BL ou à l'âge. Les deux spécimens avaient de forts paramètres ovariens (voir prochain paragraphe) dont de grandes valeurs de GDO médian de 226 et 236 mm, respectivement (M_d 188 mm; E_i 180–206 mm; E_a 167–236 mm; n 14) et de GDO maximal de 257 et 278 mm, respectivement (M_d 221 mm; E_i 218–245 mm; E_a 201–278 mm; n 14).

La BL des anguilles AR était associée négativement aux paramètres ovariens, la plus forte relation étant avec (-) le stade de maturité (D_p 0,72). Avant la maturation artificielle, ces relations n'étaient toutefois pas présentes chez AR, à l'exception notable du stade de maturité (et de GW mentionné plus tôt), qui était fortement associé à (-) BL (D_p 0,75). La taille d'échantillon du stade de maturité étant faible chez les anguilles AR-Ctrl considérées seules, **la relation semble principalement due aux deux migrateurs classés en stade 3-VTG2** car ils faisaient partie des plus petites anguilles du groupe (n 14). Ces spécimens avaient une longueur de 711 et 811 mm et une masse de 990 et 1044 g, respectivement, conduisant aux valeurs de condition K' avant maturation artificielle de 0,22 et 0,21, respectivement, parmi les plus élevées des anguilles AR-Ctrl mais se conformant davantage à l'ensemble des valeurs avant maturation artificielle (M_d 0,21; E_i 0,20–0,21; E_a 0,20–0,22; n 35). Les deux spécimens faisaient partie des plus jeunes anguilles AR (6 ans), ils avaient des teneurs ovariennes en lipides (FSI ovarien) parmi les plus élevées avant maturation artificielle selon 2,1 et 2,3 % de la masse totale (M_d 1,6 %; E_i 1,2–2,0 %; E_a 1,0–2,3 %; n 15), respectivement, mais des teneurs totales (FSI total) parmi les plus faibles de tous avant maturation artificielle selon 9,4 et 9,0 % de la masse totale (M_d 13 %; E_i 12–14 %; E_a 9–17 %; n 15), respectivement. Leur GSI était de 4,9 % et 5,5 % (M_d 4,3 %; E_i 3,8–4,7 %; E_a 3,2–6,1 %; n 15), respectivement.

6 PORTÉE DE L'ÉTUDE POUR LA COMPRÉHENSION DE LA BIOLOGIE DE REPRODUCTION AU SEIN DES ANGUILLIDÆ

Cette étude apporte de toutes nouvelles informations sur la biologie de reproduction des anguilles d'Amérique femelles (AR, *A. rostrata*) sur le plan développemental et neuroendocrinien, et pour la première fois d'une manière comparable aux anguilles d'Europe (AA, *A. anguilla*) et aux autres travaux portant sur *Anguilla* spp. Les résultats de la thèse montrent que les anguilles d'Amérique échantillonnées dans le fleuve Saint-Laurent quittent les eaux continentales à un état de développement sexuel plus avancé (au niveau du stade de maturité, du diamètre des ovocytes et du rapport gonadosomatique, de même que des teneurs en hormones stéroïdiennes et en produits de la transcription de gènes impliqués dans l'axe gonadotrope) que celui des anguilles d'Europe récoltées dans l'estuaire de la Gironde et le bassin d'Arcachon. Cet état est en outre à un niveau intermédiaire atteignant pour quelques spécimens le niveau plus avancé des anguilles à longues nageoires de Nouvelle-Zélande (AD, *A. dieffenbachii*). Les résultats montrent également que les anguilles d'Amérique du fleuve Saint-Laurent répondent mieux à la maturation artificielle que les anguilles d'Europe de cette étude similairement aux homologues des zones tempérées. Après un examen approfondi du jeu de données, des informations disponibles dans la littérature, et leur intégration ci-après à la discussion, la compréhension des acteurs impliqués dans l'axe gonadotrope des anguilles à l'étude prend tout son sens lorsque le stade de maturité ovocytaire est pris en considération, qu'il soit, ou non, un artéfact potentiel de la maturation artificielle. Des analyses plus poussées en ce sens sont donc encouragées pour les études futures. La contribution potentielle des variables biologiques (âge, taille, condition, stade de maturité lors de la migration, aspects liés à la santé immunitaire/endocrine) et d'autres sources de variabilité (échantillon, traitement, mortalité) fait également partie de la discussion. La comparaison de la biologie de reproduction des deux espèces de l'Atlantique représente tout un défi provenant en partie de la différence énorme de taille (et d'âge) des anguilles à l'étude, et possiblement en lien, de la différence du stade de maturité atteint lors de la dévalaison et après une maturation artificielle de même durée. Cette thèse émet finalement l'hypothèse que la réponse des anguilles au traitement de maturation employé dépend de l'âge et de la condition des anguilles, et que l'avènement de la vitellogenèse pourrait être un point tournant à l'importance de leur contribution.

6.1 État des anguilles argentées au moment de la migration

6.1.1 Développement ovarien

Le GSI des anguilles AR-Ctrl de cette étude (Md 4,3 % ; Ea 3,2–6,1 %) rejoint ce qui a été rapporté par la majorité des études (My 2,5–5,9 % ; Ea 1,6–8,7 %) sur les anguilles argentées capturées au Canada (BOËTIUS et

coll., 1962; COTTRILL et coll., 2001, 2002; COUILLARD et coll., 1997; JESSOP, 1987, 2018), aux États-Unis (WENNER, 1973; WENNER et MUSICK, 1974) et au Groenland (BOËTIUS, 1985). **Cette étude est par contre la toute première, chez AR, à montrer l'état de développement ovocytaire naturellement sous vitellogénèse des migrateurs en ayant inclus une caractérisation de l'avancement au stade précoce, intermédiaire, ou avancé.** Les anguilles AR de cette étude avaient un développement ovarien plus avancé que celui des anguilles AA en concordance avec leur plus grand GSI. Chez les anguilles AR-Ctrl, le stade 3-VTG1 (vitellogénèse précoce) prévalait à l'exception de deux anguilles sous stade 3-VTG2 (vitellogénèse intermédiaire), alors que les anguilles AA-Ctrl étaient toutes en stade 2-PV2 (pré-vitellogénèse avancée ou gouttelettes lipidiques avancées «*late oil droplet stage*») sauf une anguille en stade 2-PV1 (pré-vitellogénèse précoce). Le GSI des anguilles AA-Ctrl (M_y 1,8 %; E_a 1,3–2,4 %) correspond également aux valeurs publiées pour les anguilles argentées sauvages d'Europe qui supportaient principalement un développement ovarien sous pré-vitellogénèse lors de la migration (AROUA et coll., 2005; DURIF et coll., 2005; MAZZEO et coll., 2014; NOWOSAD et coll., 2015; PALSTRA et coll., 2010a; PARMEGGIANI et coll., 2015; PÉREZ et coll., 2011; ROJO-BARTOLOMÉ et coll., 2017).

Tel que revu par AOYAMA et MILLER (2003), LOKMAN et coll. (1998), OKAMURA et coll. (2014) et TODD (1974, 1981), il a été montré que le GSI des autres congénères des zones tempérées dépasse celui d'AA (M_y ~1,5–1,7 %; E_a 1,0–2,7 %), en commençant respectivement par celui des anguilles AJ (M_y ~2,0–2,6 %; E_a 1,0–4,3 %; AJ, *A. japonica*) et à courtes nageoires d'Australie (M_y 3,3–3,8 %; E_a 1,2–5,6 %; AU, *A. australis* Richardson, 1841), qui cependant est encore loin derrière celui des anguilles AD (M_y 7,2–8,6 %; E_a 2,2–11,5 %). Suivant le même ordre, les migrateurs sauvages en dévalaison ont été observés pour les anguilles AJ comme allant du stade 2-PV au stade 3-VTG1 (HAN et coll., 2003a, 2003b; JENG et coll., 2014; RUPIA et coll., 2014), alors que les espèces AU et AD (toutes deux présentes en Nouvelle-Zélande) sont connues pour avoir des ovocytes en stade 3-VTG1, mais seulement dans le cas des anguilles AD, également en stade 3-VTG2 (LOKMAN et coll., 1998; TODD, 1974, 1981). **Cette étude est donc la première à apporter des éléments de preuve montrant que le développement ovarien des migrateurs sauvages en dévalaison d'AR (avec un stade 3-VTG1 prédominant et quelques spécimens en 3-VTG2) est à un état intermédiaire atteignant celui d'AD.**

6.1.2 Biologie et environnement

L'état de développement ovarien plus avancé chez les anguilles AR-Ctrl est davantage mis en lumière lorsque sont considérés également leur taille qui est beaucoup plus grande et leur âge qui est plus avancé par rapport aux anguilles AA-Ctrl. **Chez les deux espèces de l'Atlantique, la plus grande taille lors de la migration de dévalaison a par le passé été associée aux plus grandes distances à l'aire de reproduction**

(latitudinales et/ou en eaux côtières/intérieures), un phénomène largement reconnu chez *Anguilla* spp. comme étant lié aux femelles dû à leur plus grande taille vis-à-vis les mâles et au fait que contrairement à eux, elles habitent communément l'amont des bassins versants jusque dans les sections les plus reculées (JESSOP, 2010; MORIARTY 2003; VÉLEZ-ESPINOS et KOOPS, 2010; VØLLESTAD, 1992). La longueur (BL) et la masse (BW) des anguilles Ctrl était associée à celle des ovaires (GW) mais toujours plus fortement chez AR, ce qui est cohérent avec l'idée que les femelles de plus grande taille ont davantage d'ovaires, une plus grande fécondité, et adoptent une stratégie maximisant la taille à la migration qui pourrait être le résultat d'un contrôle génétique, d'adaptation, ou d'une réponse à l'environnement (BOËTIUS et BOËTIUS, 1980; DURIF et coll., 2006; JESSOP, 2010, 2018; TODD, 1981; VØLLESTAD, 1992; VØLLESTAD et JONSSON, 1986; WENNER et MUSICK, 1974). Dans cette étude, les plus grandes anguilles AR étaient également plus âgées, une relation qui n'était pas présente pour les anguilles AA, en accord avec des études de beaucoup plus grande envergure en termes de nombre d'individus suivis mais également de territoire couvert (JESSOP, 2010; VØLLESTAD, 1992). Il est probable qu'une portion des anguilles AR capturées dans notre étude, avec des tailles parmi les plus grandes dans la gamme répertoriée pour l'espèce (63 % \geq 900 mm, jusqu'à 1112 mm) et qui sont aussi des plus âgées (57 % \geq 15 ans, jusqu'à 38 ans), serait issue de la région plus reculée (à 5000-6000 km de l'aire de reproduction) du USLR-LO (*Upper St. Lawrence River-Lake Ontario*) (BYER et coll., 2013a, 2013b; COTTRILL et coll., 2002; COUILLARD et coll., 1997; JESSOP, 2010). Il est également probable qu'une fraction des anguilles AA ayant été capturées dans cette étude faisait partie des plus âgées de la gamme trouvée pour l'espèce (54 % \geq 10 ans, jusqu'à 19 ans), mais leur taille (16 % \geq 600 mm, à partir de 472 mm), par contre, ne semblait pas appartenir aux plus grandes tailles qui sont trouvées dans les sections les plus reculées de la répartition de l'espèce (JESSOP, 2010; VØLLESTAD, 1992). Les plus grandes anguilles AA (celles de 750-900 mm en moyenne et pouvant atteindre 1000 mm) associées à de tels endroits (Grèce, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Suède) n'ont toutefois pas un plus grand GSI que les anguilles AA de cette étude (NOWOSAD et coll., 2015; STØTTRUP et coll., 2013; VAN GINNEKEN et coll., 2007b) même si elles peuvent atteindre des valeurs de fécondité similaires à celles trouvées chez AR et chez des congénères de taille similaire (DĘBOWSKA et coll., 2015; MACNAMARA et coll., 2016; TODD, 1981; WENNER et MUSICK, 1974). De plus, chez AA, les anguilles les plus âgées sont connues pour être localisées dans les sections les moins distantes (5000-6000 km) de l'aire de reproduction (JESSOP, 2010; VØLLESTAD, 1992) à l'instar des anguilles capturées dans cette étude en estuaire de la Gironde et en bassin d'Arcachon (PATEY et coll., 2018). Les anguilles argentées les plus avancées sexuellement au moment de la dévalaison (AD), qui seraient issues des eaux intérieures reculées des îles de la Nouvelle-Zélande (JELLYMAN, 2003, 2014) et se reproduiraient dans les eaux plus nordiques du Bassin des Fidji et du courant sud-équatorial (JELLYMAN et BOWEN, 2009; JELLYMAN et TSUKAMOTO, 2010; MARUI et coll., 2001; TESCH, 2003), sont aussi parmi les plus grandes (81 % \geq 1200 mm, jusqu'à 1580 mm ou plus) et âgées (M_y 42 ans, E_a 27-61 ans ou plus) ayant jamais été répertoriées chez *Anguilla* spp. (BOUBÉE et coll., 2001; JELLYMAN, 2014). Tel que récemment discuté pour les études de plus grande envergure, l'âge des femelles lors de la dévalaison pourrait être un facteur aussi important que la taille (la

longueur étant le «*product of ages and growth rates* (produit de l'âge et du taux de croissance)» (JESSOP, 2010) puisque davantage corrélé à la distance de migration ou latitudinale et que la variation est beaucoup plus grande pour l'âge que la taille. Cela est spécialement vrai à la plus petite échelle d'un bassin versant (JESSOP, 2010), en accord avec le coefficient interquartile relatif ($[(E_i/M_d) \times 100]$) rencontré chez les anguilles AR (âge 113 %, longueur 12 %) et AA (âge 30 %, longueur 12 %) à l'étude. La raison pour laquelle **les femelles poursuivent leur croissance jusqu'à un âge avancé** pourrait résider dans leur capacité à entreposer suffisamment de **réserves corporelles** pour la migration de reproduction et la maturation sexuelle qui y est associée, mais aussi pour acquérir la **capacité à mener à bien la vitellogenèse et produire des œufs de qualité** (DURIF et coll., 2006; LARSSON et coll., 1990; PALSTRA et VAN DEN THILLART, 2009; PALSTRA et coll., 2009; VØLLESTAD, 1992). Les anguilles plus âgées sont également plus grandes chez AR, en accord avec les données de cette thèse, ce qui suggère une autre stratégie d'histoire de vie ou d'autres caractéristiques liées à l'âge et à l'environnement que celles présentes chez AA (JESSOP, 2010, 2018). La raison pour laquelle **certaines anguilles effectueraient la migration de reproduction à un plus jeune âge ou à une plus petite taille** serait par ailleurs associée aux **conditions environnementales hostiles à la croissance** des anguilles (JESSOP, 2018; YOKOUCHI et coll., 2018). Les **réserves totales en lipides** des anguilles de cette étude étaient **plus faibles chez AR-Ctrl** (Ma 13 %, Ea 9–17 %) que chez AA-Ctrl (Ma 18 %, Ea 14–24 %) en accord avec la contribution de leur masse musculaire, ce qui va dans le même sens que les comparaisons effectuées entre les deux espèces de l'Atlantique (COUILLARD et coll., 2014). Cela pourrait être lié au fait que les anguilles AR capturées en cours de dévalaison avaient **déjà transféré une partie des réserves dans leurs ovaires** (Ma 16 et Ea 10–23 g LIPIDES·kg⁻¹ ANGUILE) en contraste avec les anguilles AA (Ma 4 et Ea 2–8 g LIPIDES·kg⁻¹ ANGUILE), et en concordance avec leur état de maturité nettement plus avancé et leur plus grand diamètre ovocytaire (médian comme maximal). Ce raisonnement est aussi en accord avec le **besoin énergétique** global nécessaire à la migration de reproduction qui **semble différer entre les deux espèces de l'Atlantique** (BÉGUER-PON et coll., 2016).

6.1.3 Axe gonadotrope

L'état de développement ovarien plus avancé des anguilles AR-Ctrl est cohérent avec les concentrations plasmatiques en stéroïdes sexuels (T, E2, 11KT) qui étaient toutes plus élevées que celles des anguilles AA-Ctrl. **Cette thèse représente en outre, au niveau des androgènes, la toute première caractérisation des teneurs plasmatiques chez AR, avec chez les migrateurs, spécifiquement, des valeurs allant de 1 à 16 ng·mL⁻¹ (Ma 3,2 ng·mL⁻¹) pour T et de 0,16 à 6,34 ng·mL⁻¹ (Ma 0,85 ng·mL⁻¹) pour 11KT.** Les teneurs plasmatiques en E2 allant chez AR-Ctrl de 0,18 à 1,72 ng·mL⁻¹ étaient tout à fait comparables (Ma 0,51 et Ei 0,36–0,79 pg·mL⁻¹) à celles répertoriées pour des migrateurs capturés en aval du lac St-Laurent (c.-à-d. en amont du lac St-François) et dans le fleuve St-Laurent à la hauteur de Québec et de Rivière-Ouelle près de Kamouraska (COTTRILL et coll., 2001). Les niveaux mesurés dans le plasma des

anguilles AA-Ctrl pour T ($E_a < 0,15-1,75 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 11KT ($E_a 0,02-0,11 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) et E2 ($E_a < 0,02-0,51 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) étaient également similaires à ceux ayant été dosés pour un groupe contrôle («T0») ayant également été classé en 2-PV (MAZZEO et coll., 2014). **La hausse des teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels a déjà été documentée avec l'argenture des migrateurs femelles** des zones tempérées en cours de dévalaison jusqu'au stade 2-PV, 3-VTG1 et 3-VTG2 dépendamment de l'espèce (AROUA et coll., 2005; COTTRILL et coll., 2001; HAN et coll., 2003c; LOKMAN et coll., 1998; SUDO et coll., 2012), **de même que chez les anguilles en cours de maturation artificielle** jusqu'à un climax du stade 3-VTG3 à 5-OV (ADACHI et coll., 2003; BURGERHOUT et coll., 2016; LOKMAN et coll., 2001; MATSUBARA et coll., 2003b, 2005). La différence interspécifique la plus claire ayant été trouvée parmi les différents stéroïdes était celle de la **11KT**, ce qui concorde bien avec la différence au niveau du stade de maturité prédominant en 2-PV2 chez AA-Ctrl et 3-VTG1 chez AR-Ctrl, considérant que cet androgène non aromatisable a récemment été découvert comme étant associé, notamment, à une hausse du GSI, du diamètre des ovocytes, de leur surface en lipides (VL) et de la teneur en lipides ovariens du stade 2-PV à 3-VTG1 (DIVERS et coll., 2010; ENDO et coll., 2011; LOKMAN et coll., 2007). La hausse plasmatique en **E2** est depuis plus longtemps connue pour stimuler la vitellogenèse *via* un mécanisme spécifique au récepteur à estrogène ESR1 qui est exercé dans le foie (KAH et DUFOUR, 2011), mais déjà pendant la transition de l'argenture, une première phase de cette hausse en E2 survient avant le stade 2-PV2 (AROUA et coll., 2005).

Les niveaux de produits de la transcription mesurés dans le foie, plus élevés chez AR-Ctrl pour *vtg* mais en équivalence à AA-Ctrl pour *esr1*, correspondraient bien, d'après la littérature, aux stades des deux espèces sous vitellogenèse et pré-vitellogenèse, respectivement. Plus d'une étude a montré que ces gènes étaient régulés à la hausse avec l'accroissement des teneurs plasmatiques en **E2** et en **VTG** lors de la transition du stade 2-PV à 3-VTG1 (la «vitellogenèse ovarienne»), après quoi *esr1* était régulé à la baisse (PALSTRA et coll., 2010a; PÉREZ et coll., 2011), similairement à ce qui pourrait être inféré des anguilles AA-Ctrl en stade 2-PV (précoce à) avancé et AR-Ctrl en stade 3-VTG1 (à VTG2) à l'étude. L'exposition *in vitro* de cellules hépatiques à l'E2 a récemment fourni des éléments de preuve démontrant que l'expression des deux gènes était sous rétrocontrôle positif spécifique à l'E2 chez *Anguilla* spp., et *esr1*, possiblement l'acteur principal de la «vitellogenèse hépatique» (LAFONT et coll., 2016).

Les produits de la transcription hypophysaires, plus élevés chez AR-Ctrl pour *lhβ* et *esr1* mais similaires à AA-Ctrl pour *fshβ*, concordent avec le stade plus avancé des migrateurs chez AR. **La hausse naturelle des deux hormones gonadotropes (GTH), conjointement à celle des stéroïdes sexuels (et de la VTG dans le plasma), a déjà été démontrée chez les autres espèces des zones tempérées (AA, AJ, AU et AD) avec la transition d'anguille jaune à argentée** (AROUA et coll., 2005; HAN et coll., 2003a, 2003b, 2003c; SAITO et coll., 2003; SETIAWAN et coll., 2012a, 2012b), suggérant un lien avec l'évolution du développement ovocytaire. Cette hypothèse est supportée par la hausse parallèle des produits de la transcription des deux

GTH hypophysaires et du GSI chez les migrateurs femelles d'AJ progressant du stade 2-PV à 3-VTG1 lors de l'argenture (JENG et coll., 2014). Les études comparant l'évolution de l'expression des GTH en les rapportant spécifiquement au stade ovocytaire sont rares, elles proviennent principalement d'anguilles issues de la maturation artificielle, et ne concordent pas quant au(x) stade(s) où la régulation différentielle de la FSH β et la LH β (à la baisse pour la FSH β et à la hausse pour la LH β) se produit, une régulation qui de toute façon diffère probablement des contrôles naturels (HUANG et coll., 2009; PÉREZ et coll., 2011; SAITO et coll., 2003; SUETAKE et coll., 2002, 2003). Chez l'anguille comme chez les autres poissons téléostéens, le rôle de la FSH β dans le développement ovarien surviendrait tôt dans son contrôle par l'axe gonadotrope, notamment pendant les stades de croissance ovocytaire, alors que celui de la LH β serait important plus tard et particulièrement pendant les derniers stades (4-OM) (ROUSSEAU et coll., 2014; URBATZKA et coll., 2011). **Les résultats de cette thèse pour la FSH β sont en accord avec ce paradigme puisque le niveau similaire des produits de transcription pour les anguilles AA-Ctrl en stade 2-PV2(1) et AR-Ctrl en stade 3-VTG1(2) suggère que la régulation à la baisse ne doit pas être survenue avant le stade VTG2, du moins pour AR, ce qui est en accord avec les seules autres données provenant d'anguilles sauvages (AD) (SAITO et coll., 2003), mais également de maturations artificielles (HUANG et coll., 2009; PÉREZ et coll., 2011; SUETAKE et coll., 2002).** Les niveaux plus élevés ayant été dosés chez AR-Ctrl (par rapport à AA-Ctrl) pour la LH β et ESR1 suggèrent en contraste que la régulation à la hausse de l'hormone gonadotrope serait survenue avec le stade 3-VTG1 et qu'elle pourrait être associée à un rétrocontrôle positif de l'E2. Une telle régulation a déjà été observée au niveau de la transcription avec la hausse parallèle du contenu plasmatique en LH β lors de l'argenture (AROUA et coll., 2005). La régulation à la hausse et à la baisse de la LH β et la FSH β , respectivement, a également été au moins partiellement attribuée à l'effet stimulateur et inhibiteur de l'E2 et de la T, respectivement, d'après des expositions *in vivo* d'anguilles AA aux stéroïdes sexuels (SCHMITZ et coll., 2005), en accord avec des résultats similaires chez d'autres congénères (JENG et coll., 2007; SETIAWAN et coll., 2012a). Chez l'espèce la moins avancée de toutes sexuellement (AA), quatre semaines seulement de traitement PE étaient suffisantes pour induire une hausse de transcription de la LH β en parallèle au GSI (alors qu'en contraste 16 semaines étaient nécessaires pour diminuer la transcription de la FSH β), ce qui suggère un investissement de transcription pour la synthèse de l'hormone tôt dans le développement ovocytaire, et qui alors, pourrait servir de «réserve» en vue de la libération pré-ovulatoire qui survient bien plus tard avec les stades 4-OM (SCHMITZ et coll., 2005; URBATZKA et coll., 2011). Dans cette thèse, les niveaux de *lh β* étaient fortement associés de manière positive aux teneurs plasmatiques en E2 chez les anguilles les plus avancées (AR) alors que ceux de la *fsH β* l'étaient de manière négative avec la 11KT chez les anguilles les moins avancées (AA). **En comparaison avec les seules données disponibles pour des anguilles sauvages (AD) qui montraient un niveau de transcription relativement bas pour la LH β , puisqu'il n'y avait pas d'augmentation significative entre le stade PN de la croissance primaire (1-PG2) et 3-VTG2 (SAITO et coll., 2003), les niveaux de transcription pour les gènes hypophysaires mesurés chez les anguilles AR (*lh β* , *esr1*) démontrent une fois de plus que leur développement ovarien est plus avancé que celui des anguilles AA, et ils renforcent l'état intermédiaire des anguilles AR suivant de près celui des anguilles AD les plus avancées de toutes.**

Les niveaux plus élevés de la transcription dans le cerveau des anguilles AR-Ctrl (*gnrh1*, *gnrh2*, *esr1*) concordent également avec leur stade de maturité plus avancé. Chez les poissons téléostéens, la **GnRH1** (et 3) est produite par des neurones provenant du cerveau antérieur qui se projettent jusqu'aux cellules hypophysaires à GTH, alors que les neurones à **GnRH2** se restreignent en général à la partie dorsale du cerveau moyen di- et mésencéphale (incluant le corps pinéal). Des investigations plus approfondies suggèrent la GnRH1 (ou 3) comme étant la forme majeure qui contrôle la stimulation de la libération des GTH chez les téléostéens, alors que la fonction de la GnRH2, une forme hautement conservée, demeure plutôt inconnue, mais pourrait être associée à la synchronisation du comportement sexuel ou à divers processus du cycle reproductif susceptibles d'être modulés par la mélatonine (KAH et DUFOUR, 2011; MIGAUD et coll., 2010; MILLAR, 2005; SÉBERT et coll., 2008a; SERVILI et coll., 2010; TEMPLE et coll., 2003; ZOHAR et coll., 2010). Chez les *Anguillidae*, une des plus anciennes lignées de téléostéens, certaines terminaisons axonales de neurones à GnRH2 innervent également l'hypophyse, mais dans une bien moindre mesure que celles des neurones à GnRH1 (MONTERO et coll., 1994). Le contenu en GnRH1 et sa transcription au niveau de l'hypophyse sont connus pour être plus importants chez les anguilles immatures et les migrateurs (DUFOUR et coll., 1993; OKUBO et coll., 1999a, 1999b) et pour être associés à une hausse en GnRH1 se produisant au niveau du cerveau antérieur et moyen lors de la maturation artificielle, alors que la GnRH2, parallèlement, n'était pas détectée dans l'hypophyse et diminuait avec la maturation artificielle dans le cerveau. La régulation opposée des deux formes a donc été proposée (DUFOUR et coll., 1993) conjointement à l'effet stimulateur et inhibiteur *in vivo* de l'E2 et des androgènes, respectivement, et potentiellement leur synergie (MONTERO et coll., 1995). L'expression, la synthèse et la libération de la GnRH1 et 2, l'effet synergique des deux formes, la sensibilité de leurs récepteurs et la réponse des GTH doit par contre évoluer tout au long du développement sexuel des poissons, de même que la réponse de l'axe gonadotrope aux rétrocontrôles endogènes exercés par les stéroïdes sexuels (ZOHAR et coll., 2010). **La plus importante transcription de *gnrh1* et *gnrh2* à environ le même niveau dans le cerveau des anguilles AR-Ctrl montre une certaine similarité dans la hausse de leur régulation par rapport aux anguilles AA-Ctrl, ce qui suggère une plus forte implication des deux formes dans la maturation des anguilles, au moins du stade 2-PV2 à 3-VTG1.** L'évolution dans l'expression de la GnRH chez les anguilles AR à l'étude, avec celle de ESR1 dans le cerveau et l'hypophyse, de LH β , et des niveaux plasmatiques de E2 et des androgènes, est **en accord avec l'hypothèse d'un axe GnRH1–LH régulé positivement par un rétrocontrôle spécifique à l'E2**, mais ne supporte pas directement celui d'un axe GnRH2–FSH qui dépendrait du rétrocontrôle négatif des androgènes (AROUA et coll., 2009). Cela n'exclut toutefois pas la possibilité que des effets synergiques liés à l'E2 et aux androgènes ou aux GnRH1 et 2 aient pu se produire au niveau du complexe cérébro-hypophysaire. **Cette étude est la toute première à comparer l'évolution de l'expression de la GnRH (1 et 2) avec le stade de maturité d'anguilles argentées migrantes, ce qui fait ressortir le besoin d'obtenir des données sur davantage d'acteurs impliqués dans l'axe gonadotrope tels que la GnRH.**

6.2 Réponse des anguilles argentées migrantes à la maturation sexuelle induite

6.2.1 Développement ovarien

Après 11 semaines de traitement, les anguilles AR-PE avaient des GSI similaires (Md 24,6 %; Ea 12,9–49,4 %) à ceux obtenus chez d'autres anguilles ayant reçu un traitement PE chez AR (EDEL, 1975) mais également chez des congénères au développement ovarien comparable (LOKMAN et coll., 2001, 2003; MATSUBARA et coll., 2003b; NOWOSAD et coll., 2015; SUETAKE et coll., 2002), ce qui suggère l'importance de prendre en considération le stade de maturité lorsque des études comparatives se réfèrent au GSI des anguilles. Peu d'essais avaient jusqu'à maintenant tenté de réaliser la maturation artificielle chez AR (BOËTIUS et coll., 1962; EDEL, 1975; GHITTINO et coll., 1975; SORENSEN et WINN, 1984), et la seule étude à l'avoir réalisé avec succès (OLIVEIRA et HABLE, 2010) avait plutôt pour finalité d'utiliser les œufs matures à des fins de fécondation, et de caractériser le développement de l'embryogenèse jusqu'aux larves de quelques jours. **Cette thèse est donc la toute première, chez AR, à rapporter des valeurs de GSI associées à la caractérisation précise des stades de maturité issus de la maturation artificielle.** La plupart des anguilles AR-PE étaient en cours de vitellogenèse en stade 3-VTG3 (vitellogenèse avancée), sauf une en 3-VTG2, alors que deux anguilles étaient en phase finale de maturation (OM) soit en stade 4-GVM1 (migration précoce du noyau) ou en stade 4-GVBD (dissolution du noyau) avec la présence de follicules post-ovulatoire (classement en stade 5-OV). L'état le plus avancé observé chez les anguilles AA-PE était, en contraste, le stade 3-VTG1 alors que la majorité des anguilles était encore en stade 2-PV2 (et une en 2-PV1), ce qui concordait avec leur plus faible GSI (Md 5,8 %; Ea 1,4–9,3 %). Comparativement à un nombre d'études ayant caractérisé de manière précise l'évolution du stade de maturité selon le nombre d'injections hebdomadaires reçues (traitement PE) chez AA, l'état d'avancement observé chez les anguilles AA-PE à l'étude après 11 injections semble faible. Les études en question obtiennent un pourcentage élevé d'anguilles en stade 3-VTG1 après seulement quatre semaines de traitement PE (~40 à 70 % n'incluant pas une fraction trouvée en stade 3-VTG2 : MAZZEO et coll., 2014; ~80 à 100 % : PALSTRA et coll., 2010a; PEÑARANDA et coll., 2013; PÉREZ et coll., 2011). D'autres études mentionnent toutefois que certaines anguilles ne répondent pas bien à la maturation même après 12 semaines de traitement PE (voire plus) et demeurent en stade 2-PV avec un GSI inférieur à 1,6–3 % (BURGERHOUT et coll., 2016; DIRKS et coll., 2014). Il est par contre intéressant de noter que le GSI et de stade de maturité des anguilles AA-PE à l'étude après avoir reçu 11 injections de traitement PE sont à un état développemental intermédiaire entre ceux trouvés après huit et 18 semaines de maturation artificielle dans des conditions où la migration océanique était également simulée (PIERRON et coll., 2008).

Des études connexes ont déjà montré que six à 18 semaines de traitement PE étaient suffisantes pour que les anguilles des zones tempérées, incluant AR, complètent la vitellogenèse et obtiennent des œufs matures (LOKMAN et YOUNG, 2000; LOKMAN et coll., 2015; OHTA et coll., 1996, 1997; OLIVEIRA et HABLE, 2010),

alors que pour AA spécifiquement, cet intervalle est décalé de 11 à 29 semaines (MORDENTI et coll., 2013; PALSTRA et coll., 2005; PARMEGGIANI et coll., 2015; PEDERSEN, 2004), ce qui est cohérent avec les résultats de la thèse, mais vient par contre souligner l'existence d'une importante variabilité dans la réponse au traitement PE au sein des *Anguilla*, avec, de surcroît, une bien plus faible réponse chez AA, l'espèce la moins avancée de toutes lors de la migration de dévalaison.

6.2.2 Biologie et environnement

D'emblée, certains pourraient faire valoir que la plus faible réponse auprès des anguilles AA ait été exacerbée, dans cette étude, par la différence de traitement PE encourue entre AR et AA pour la réalisation des expériences de maturation artificielle. Il est donc d'intérêt de rappeler que les protocoles ont été harmonisés entre les deux pays avant la réalisation des expériences, mais également, que **les conditions contrôlées étaient identiques pour les deux espèces (forme des bassins, température, salinité, photopériode, direction circulaire et vitesse du courant, design) à l'exception près de la méthode employée pour les traitements PE reçus 11 semaines d'affilée** : chez AR, une dose équivalente à 10 mg de poudre par anguille provenant de saumon (SPE) (OHTA et coll., 1996, 1997 (20 mg); OLIVEIRA et HABLE, 2010 (10 mg)), et chez AA, une dose équivalente à 20 mg de poudre par kg d'anguille issue de carpe (CPE) (DURIF et coll., 2006; PALSTRA et coll., 2005; PIERRON et coll., 2008). En plus de constituer **des méthodes bien établies et ayant permis de mener à bien la maturation artificielle chez les anguilles des zones tempérées et chez AA, respectivement**, il semble à propos d'ajouter que des **traitements hebdomadaires « croisés »** avec une « faible » dose de CPE (12 mg par anguille) et une « forte » dose de SPE (18,2–20 mg par anguille ou kg) ont déjà été administrés **chez AR et AA, respectivement**, et ont fourni **des résultats équivalents, c.-à-d. avec un intervalle de temps bien plus court (donc une moindre dose requise) pour compléter la maturation artificielle chez AR (EDEL, 1975) que chez AA (BURGERHOUT et coll., 2016; BUTTS et coll., 2014; LAFONT et coll., 2016; PEDERSEN, 2004)**. D'autres études harmonisant leurs protocoles devraient toutefois être menées afin d'écarter l'effet possible d'une différence de traitement PE lorsque plusieurs espèces des zones tempérées sont comparées entre elles et particulièrement vis-à-vis AA.

D'un autre côté, **le développement ovarien chez *Anguilla* spp. peut résulter de l'interaction de divers facteurs** inhérents à leurs caractéristiques d'histoire de vie (taille, âge et stade de maturité lors de la migration de dévalaison) et à leur comportement/environnement (activité de nage, température, photopériode, pression hydrostatique, salinité, qualité de l'habitat) par le biais de signaux intégrés au complexe cérébro-hypophysaire *via* l'axe gonadotrope (SECTION 6.2.3), et pouvant être influencés par des signaux associés au métabolisme énergétique (hormone de croissance, cortisol, réserves corporelles) dont la compréhension est encore à ses débuts (DURIF et coll., 2006; ROUSSEAU et coll., 2014; TARANGER et coll., 2010; URBATZKA et

coll., 2011). Pour les anguilles PBO des deux espèces ayant vécu 11 semaines de traitement sans recevoir de PE, le développement ovocytaire est resté statistiquement identique (stade de maturité, GSI, diamètre des ovocytes, FSI ovarien) à celui observé chez les anguilles Ctrl de même espèce. Toutefois, l'observation systématique d'atrésie chez les anguilles PBO (seulement), conjointement à leur plus faible K_n par rapport aux anguilles PE (et à un plus faible HSI et FSI musculaire/total que les autres anguilles chez AR et AA, respectivement), suggère que leur stade de maturité aurait pu être en cours de régression en lien avec le jeûne prolongé, les conditions sous-optimales de maturation, et l'arrêt de la stimulation de la vitellogenèse vécue lors de la véritable migration de reproduction (DURIF et coll., 2005; LOKMAN et coll., 2001; LOWERRE-BARBIERI et coll., 2011a; LUBZENS et coll., 2010; MYLONAS et coll., 2010). **Pour les anguilles AR-PE, il semble également probable que la réponse deux fois plus grande de leur GSI à la maturation par rapport aux anguilles AA-PE provienne de leur état initial de maturité plus avancé** (BURGERHOUT et coll., 2016; OKAMURA et coll., 2014). L'âge plus avancé des anguilles AR, et initialement, leur plus grande taille, leur plus grande quantité de lipides ovariens et leur plus grand foie (en lien avec une vitellogenèse hépatique active), ont pu jouer un rôle dans leur plus grande réponse à la maturation induite (DURIF et coll., 2006; PALSTRA et VAN DEN THILLART, 2009; PASLTRA et coll., 2009). Le facteur de condition K' , un indice de «rondeur» (FROESE, 2006) ou «bien-être» général (LE CREN, 1951) étant $\geq 0,2$ chez toutes les anguilles AR avant la maturation artificielle leur aurait valu la qualification de «*high reproductive potential spawners* (générateurs à fort potentiel de reproduction)» selon les travaux réalisés par DURIF et coll. (2006). Ces derniers ont montré, chez AA, que les plus grandes classes de tailles (600–900 mm) développaient plus de gonades relativement à la taille, et qu'il y avait une classe optimale de tailles (700 mm) où les anguilles ayant une condition initiale (K') dépassant 0,2 répondaient mieux à la maturation artificielle. Dans cette thèse, seulement les anguilles AR avaient initialement atteint ce seuil, ce qui est en accord avec leur plus grand gabarit (BL, BW, BD) et leur plus forte réponse à la maturation. Puisque la condition relative des anguilles était également associée (+) fortement au développement ovarien chez AR seulement (stade, GSI, GDO, FSI ovarien), **cette thèse vient indirectement appuyer davantage l'hypothèse que la réponse des anguilles en voie de maturation au traitement PE serait favorisée par l'état initial d'avancement sexuel, au moins du stade 3-VTG1 à VTG3**. Les anguilles AA de cette étude étaient plus petites, plus jeunes et en plus faible condition que les anguilles AR (malgré leur plus grande teneur initiale en lipides musculaires), et potentiellement pour cette raison, leur stade 2-PV2 a prévalu du début à la fin des traitements PE. Certaines des anguilles AA les plus âgées ont par contre mieux répondu à la maturation (association positive avec le GSI, le GDO et le FSI ovarien), en accord avec des travaux antérieurs chez l'espèce (DURIF et coll., 2006; PALSTRA et VAN DEN THILLART, 2009; PASLTRA et coll., 2009), mais au contraire des anguilles AR, et malgré le fait qu'elles avaient une plus grande teneur en lipides musculaires, les anguilles AA plus âgées n'étaient pas forcément plus grandes ou en meilleure condition (aucune association significative).

Finalement, certaines informations additionnelles rapportées dans cette étude, telles que la **prévalence du parasite de la vessie natatoire *Anguillicola crassus*** et les **cas de mortalité**, pourraient s'avérer être liées à une

question de **santé immunitaire**, et le cas échéant, avoir pu prendre part aux différences interspécifiques observées entre les deux échantillons d'anguilles. La plus faible réponse à la maturation des anguilles AA pourrait être associée aux effets néfastes d'*A. crassus* (SZÉKELY et coll., 2009; CLEVESTAM et coll., 2011) qui était présent uniquement chez cette espèce. Cependant, la mortalité n'était pas plus élevée chez AA et la prévalence du parasite dans les spécimens morts d'AA non plus. Malheureusement, cette étude n'avait pas les outils pour détecter si les causes de la mortalité étaient le résultat direct d'agents stressants associés à l'environnement en bassins, ou pouvaient résulter de circonstances plus complexes liant la santé immunitaire au système endocrinien, pour laquelle très peu d'information est disponible chez l'anguille et les espèces semelpares (FUZZEN et coll., 2011; NIELSEN et ESTEVE-GASSENT, 2006). **Il a notamment été suggéré que le système immunitaire des anguilles encourait une période de transition majeure au cours de la maturation sexuelle (CHURCHER et coll., 2014; DIRKS et coll., 2014) et que cela pourrait être associé à d'autres circonstances aggravantes** telles que la remise en circulation des contaminants bioaccumulés et leur impact lorsque les réserves corporelles sont redirigées pour la migration de reproduction et le développement ovarien (GEERAERTS et BELPAIRE, 2010). Ce genre de préoccupation est justement au cœur des intérêts que manifestent les grandes instances internationales pour mieux comprendre le développement sexuel des anguilles en déclin et leur capacité à se reproduire (CIEM–CECPI, 2009a). Les résultats issus du **projet international IMMORTEEL** (*Impacts of Metallic and ORganic contaminations of the Gironde and St. Lawrence systems on two Threatened species, the European and American EELs*) dans lequel s'insère cette thèse apportent de nouvelles informations sur la bioaccumulation et les effets des contaminants organiques et inorganiques chez les anguilles de l'Atlantique des mêmes bassins hydrographiques, mais principalement à l'état de juvéniles (un bref résumé est fourni dans PATEY et coll., 2017). **La toute prochaine étape vise à examiner, chez les anguilles argentées à l'étude, dans quelle mesure les contaminants musculaires et hépatiques préalablement accumulés sont transférés aux ovaires pendant la maturation, et si ce transfert peut être associé à une perturbation du développement ovarien des migrateurs et de la neuroendocrinologie sous-jacente de l'axe gonadotrope.**

6.2.3 Axe gonadotrope

La plus forte réponse à la maturation des anguilles AR-PE (par rapport aux anguilles AA-PE) en termes de GSI et de stade avancé majoritairement en 3-VTG3 (Ea 3-VTG2 à 5-OV) est en accord avec celle des teneurs plasmatiques en E2 (ADACHI et coll., 2003; BURGERHOUT et coll., 2016; LOKMAN et coll., 2001; MATSUBARA et coll., 2003b, 2005), le seul stéroïde pour lequel une hausse significative a été observée avec la maturation chez cette espèce, mais également celui pour lequel la différence interspécifique était la plus claire en réponse à la maturation. **Ensemble, les résultats de la thèse soulignent, chez l'anguille, l'importance de l'E2 jusqu'à la fin de la vitellogenèse, et ils suggèrent ce stéroïde et son augmentation comme étant le meilleur indicateur du développement sexuel avancé et de la sensibilité à la maturation parmi ceux ayant été examinés**

dans la thèse. À cela s'ajoute de récents travaux ayant conclu qu'une hausse « précoce » des niveaux d'E2 dans le plasma d'anguilles AA classées du stade ~2-PV au stade 3-VTG2 (après avoir reçu 4–12 traitements PE) était un fort indicateur prévisionnel de l'état « final » de maturation (après avoir reçu 18 traitements PE ou atteint le stade 5-OV) du stade ~3-VTG1 au stade 3-VTG3 ou 5-OV (BURGERHOUT et coll., 2016). En contraste, les anguilles AA de cette thèse avaient des valeurs de GSI et de GDO associées aux teneurs plasmatiques en 11KT qui allaient dans le même sens que sa hausse significative en réponse à la maturation induite (la 11 KT est le seul stéroïde à y avoir été sensible chez AA), bien qu'au final, seulement une proportion des anguilles AA-PE ait été classée en stade 3-VTG1 et que la majorité demeurait en stade 2-PV2 (Ea 2-PV1 à 3-VTG1). Ces résultats sont par ailleurs cohérents avec la hausse en 11KT ayant plus tôt été inférée entre les valeurs plus faibles des anguilles AA-Ctrl et plus élevées des anguilles AR-Ctrl, des migrateurs ayant été classés principalement en stade 2-PV2 et 3-VTG1, respectivement (SECTION 6.1.3). **Ensemble, les résultats de cette thèse apportent davantage d'éléments supportant la 11KT et sa hausse comme étant un indicateur de développement sexuel précoce menant à la vitellogenèse.** Avec les études connexes, cette thèse contribue à améliorer l'état des connaissances sur le comportement des teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels selon le stade de maturité des migrateurs ou issu de la maturation induite. Ce faisant, elle apporte des **éléments supplémentaires en appui aux efforts d'uniformisation de méthodes minimalement invasives pour le suivi de la qualité des géniteurs** de ces espèces menacées d'extinction, de même que pour identifier plus efficacement les géniteurs en lien avec la demande grandissante pour la reproduction artificielle (aquaculture).

Pour la transcription des gènes au niveau du foie, la réponse à la maturation de la *vtg* concorde également chez les deux espèces de l'Atlantique avec celle du développement ovarien (GSI, GDO, FSI ovarien), et chez AR seulement, elle est directement associée (+) au stade de maturité. **La réponse à la maturation de la *vtg* des anguilles PE par rapport aux anguilles Ctrl était par ailleurs de 2 à 20 fois plus sensible chez AA et AR, respectivement, que celle du GSI, ce qui est en accord avec l'état plus avancé et sous vitellogenèse active des anguilles AR-PE.** L'évolution du contenu plasmatique en VTG pendant la maturation artificielle d'anguilles AA a déjà été observée parallèlement à sa transcription hépatique, et leur profil général correspondait bien (PÉREZ et coll., 2011 ; PIERRON et coll., 2008). L'association présente seulement chez les anguilles AR entre la transcription hépatique de VTG et ESR1 et la taille du foie (HSI) vient par ailleurs **appuyer davantage l'hypothèse énoncée plus tôt (SECTION 6.2.2), à savoir que les anguilles plus grandes et plus âgées auraient pu répondre davantage à la maturation induite en raison de l'état initial plus avancé de ces individus, par le biais, également, d'une vitellogenèse déjà active.** Considérant conjointement la réponse hépatique et plasmatique à la maturation de ESR1 et E2, respectivement, et leur forte association positive chez AR uniquement, cette thèse démontre finalement **l'importance et l'implication de l'estrogène E2 jusqu'à la fin de la vitellogenèse chez l'anguille.** Chez AA, la transcription hépatique de la VTG était davantage associée de manière positive à l'androgène non aromatisable 11KT et à la transcription d'ESR1 dans des tissus extra-hépatiques, ce qui est en accord avec l'état de pré-vitellogenèse ou du tout début de la

vitellogenèse des anguilles AA-PE, et **vient une fois de plus (voir le paragraphe précédent) supporter une implication précoce de la 11KT dans le développement sexuel menant à la vitellogenèse.**

Pour la transcription des gènes au niveau de l'hypophyse, la réponse à la maturation de la FSH β concordait bien avec la régulation à la baisse connue des anguilles issues de la maturation artificielle (SCHMITZ et coll., 2005 ; JENG et coll., 2007). Elle était régulée presque deux fois plus à la baisse chez les anguilles AA-PE que chez les anguilles AR-PE par rapport aux anguilles Ctrl respectives à l'espèce, elle était associée négativement au GSI et au FSI ovarien un peu plus fortement chez AA, et elle était associée négativement à 11KT seulement chez AA, **ce qui est cohérent avec l'état de maturité moins avancé des anguilles AA, leur plus faible réponse au traitement PE, et à l'effet inhibiteur potentiel de la 11KT (SECTION 6.1.3).** Du côté de la LH β , la réponse était au contraire presque 20 fois plus grande chez AR-PE que chez AA-PE comparativement aux anguilles Ctrl respectives, et les niveaux de transcription mesurés étaient associés de manière positive au développement ovarien (stade, GSI, GDO, FSI ovarien) et aux teneurs plasmatiques en E2 chez AR seulement, ce qui **correspond bien à l'état de maturité plus avancé des anguilles AR, à leur plus forte réponse au traitement PE, et à l'effet stimulateur potentiel de la E2 (SECTION 6.1.3).** Les relations incluant la LH β indiquent en outre une implication rapprochée avec la *vtg* hépatique (plus importante chez AR), alors que du côté d'ESR1 elles suggèrent un rétrocontrôle positif de l'E2 passant par le complexe cérébro-hypophysaire (plus important chez AA) et le foie (uniquement chez AR) en combinaison avec l'implication de la *gnrh2* cérébrale et celle de la 11KT (uniquement chez AA). Les niveaux de transcription de la FSH β réduits chez AR-PBO (vis-à-vis AR-Ctrl) mais à un niveau moindre que chez AR-PE reflètent possiblement la présence d'une certaine variabilité (ils étaient égaux à ceux mesurés chez AA-PBO) ou à l'instar d'autres études, à la poursuite de la croissance ovarienne de manière non orientée vers la vitellogenèse, mais plutôt vers le diamètre des ovocytes ou de la surface ovocytaire occupée par les vésicules de lipides (PALSTRA et coll., 2007, 2010b ; VAN GINNEKEN et coll., 2007a). La baisse observée chez les anguilles PBO (vis-à-vis les anguilles Ctrl) pour les teneurs plasmatiques en E2, mais également, chez AR-PBO seulement, la baisse des teneurs en androgènes et de la transcription de la LH β et d'ESR1 au niveau cérébro-hypophysaire, apportent plutôt conjointement leur appui à la présence de conditions de régression ovarienne (SECTION 6.2.2). Des propriétés anti-apoptotiques (protection contre l'atrésie) ont notamment été associées au manque de stimulation en LH, mais également à la présence soutenue de la FSH, de la GnRH (dans les ovocytes dont la vitellogenèse n'était pas complétée), et de l'E2 (revu dans LUBZENS et coll., 2010).

Pour la transcription des gènes au niveau du cerveau, la réponse au traitement de maturation était beaucoup moins claire (présence d'une forte variabilité) avec une apparente absence d'effet pour la GnRH2 (et une absence *a posteriori* pour la GnRH1 et ESR1) qui pourtant était la seule des deux formes avec ESR1 à avoir été partiellement associée aux autres acteurs de l'axe gonadotrope dans les matrices de corrélations. **Les différences interspécifiques présentes pour la GnRH2 (peu importe le traitement) pourraient donc**

refléter la différence développementale (stade de maturité) des deux espèces ou l'influence d'autres stimuli internes et externes intégrés en amont du complexe cérébro-hypophysaire (SECTIONS 6.1.3-6.2.2). Chez l'anguille, l'évolution de l'expression de la GnRH1 et de la GnRH2 avec son développement sexuel demeure tout à fait inconnue, ce qui fait ressortir le besoin de mieux caractériser les GnRH 1 et 2, leur implication dans le développement ovarien et leurs contrôles *via* l'axe gonadotrope.

6.3 Biologie de reproduction des anguilles en cours de maturation sexuelle

6.3.1 Approche intégrée

Les anguilles de l'Atlantique les plus avancées sexuellement lors de la migration de dévalaison (AR) ont fourni une structure des relations entre les variables à l'étude qui illustre un **processus de maturation axé sur la progression de la vitellogenèse (présence de cinq stades incluant l'ovulation)** avec plus de légitimité dû à la force et au nombre des associations significatives. Ce processus était orienté vers le développement ovarien (stade de maturité, GSI, GDO et FSI ovarien) et était clairement associé de manière similaire à la modulation plasmatique de E2 de même qu'à la régulation à la hausse de la transcription de l'ESR1 hépatique, de la VTG hépatique, de la LH β hypophysaire, mais à la baisse, de la FSH β . Les **anguilles les moins avancées (AA)** démontraient, à travers une structure de relations entre variables en apparence un peu moins forte, un **processus orienté plutôt vers l'avènement de la vitellogenèse (présence de trois stades dont la pré-vitellogenèse prédominante)** à partir du développement ovarien mais sans inclure le stade de maturité (GSI, GDO, FSI ovarien) pour lequel presque aucune association n'est ressortie, possiblement car les anguilles AA étaient beaucoup moins avancées sexuellement et que leur maturation artificielle n'a pas été menée jusqu'à terme. Ce développement était surtout associé de manière similaire à l'évolution plasmatique de la 11KT ainsi qu'à la régulation à la hausse de la VTG hépatique, de la LH β hypophysaire, de l'ESR1 cérébro-hypophysaire, mais à la baisse, de la FSH β .

Les différences interspécifiques évoquées dans cette thèse pourraient donc être indissociables de l'état de maturité des migrateurs au moment de la dévalaison. D'après les connaissances acquises des anguilles moins avancées (AA), l'âge pourrait certainement contribuer à expliquer l'état initial de développement des ovaires en pré-vitellogenèse et la faible réponse de maturation jusqu'au tout début de la vitellogenèse. Les anguilles AA les plus âgées avaient tendance à être (associations positives modérées mais significatives) : plus avancées (GSI>GDO), et à avoir des teneurs plus importantes en lipides (ovaires>muscle), en stéroïdes (11KT>T>E2), et en produits de la transcription de gènes dans le complexe cérébro-hypophysaire (ESR1) et le foie (VTG). **En arrière-plan, la fraction musculaire des**

lipides corporels était autant liée à l'âge qu'à la condition relative (K_n) des anguilles AA à l'étude mais sans lien apparent à la masse ou la longueur. Ces anguilles, moins âgées que AR (mais parmi les plus vieilles de la population), plus petites (BL, BW, BD), et en moins bonne condition (K') malgré leur plus grande teneur corporelle en lipides, avaient également une relation masse-longueur différente de celle des anguilles les plus avancées de la thèse (AR). Les informations obtenues pour les anguilles AR indiquent plutôt que **la condition (K_n) des anguilles pourrait être critique pour compléter la vitellogenèse** sans lien direct avec la masse ou l'âge (mais potentiellement avec la longueur du corps). Les anguilles AR en meilleure condition (K_n) étaient également (associations positives modérées à fortes) : plus avancées (GSI>Stade>GDO) et elles avaient des teneurs plus importantes en lipides (ovaires), en stéroïdes (E2>T) et en produits de la transcription de gènes dans le foie (ESR1) qui était plus massif (LW). **En arrière-plan**, les trois variables clés (âge, BL, BW) étaient associées ensemble fortement, la fraction musculaire des lipides corporels était modérément liée de manière positive à la longueur mais sans lien à K_n , et la **longueur, modérément associée de manière négative au stade de maturité**. Ces anguilles étaient plus grandes (au sein même de la population), parmi les plus âgées (également au sein de la population), en meilleure condition (K') malgré leur plus faible teneur corporelle en lipides, au point où toutes auraient été classées initialement comme des géniteurs à fort potentiel de reproduction d'après le seuil établi par [DURIF et coll. \(2006\)](#).

6.3.2 Potentiel de reproduction

Un examen plus poussé des relations entre la condition et le stade de maturité présents au moment de la migration des anguilles argentées et en réponse à la maturation artificielle est requis afin de confirmer l'existence d'un seuil permettant de distinguer les géniteurs à fort potentiel de reproduction chez AR. Cela serait tout à fait pertinent pour les programmes de conservation afin d'établir des méthodes minimalement invasives de suivi ou d'améliorer les méthodes existantes pour suivre la capacité de reproduction des anguilles argentées capturées dans l'environnement ou à des fins de reproduction artificielle. Plusieurs travaux approfondis sur l'argenture des anguilles ont montré que des changements morphométriques et physiologiques étaient intrinsèquement associés au développement ovarien et à l'activation de l'axe gonadotrope ([AROUA et coll., 2005](#); [DURIF et coll., 2005](#)), d'où les plus grandes valeurs de GSI et d'indice de l'œil (EI) observées chez les anguilles matures et leur corrélation chez les migrateurs plus avancés prélevés dans la nature ou issus de la maturation artificielle (revu dans [ROUSSEAU et coll., 2012, 2014](#)). **Les données de cette thèse indiquent clairement une différence entre les deux espèces de l'Atlantique ne permettant pas d'utiliser chez AR le seuil de >6,5 établi pour l'EI des anguilles AA pour l'identification des migrateurs ayant entamé la migration de reproduction, tel que discuté précédemment pour AR et pour les autres espèces des zones tempérées** ([AOYAMA et MILLER, 2003](#); [COTTRILL et coll., 2002](#); [LOKMAN et coll., 1998](#)). L'EI était néanmoins associé chez les deux espèces à l'étude au niveau de la condition

relative K_n , du FSI ovarien, du GSI, du GDO, et au niveau de la transcription de la VTG et de la régulation opposée de la FSH β (négative) et de la LH β (positive). L'**épaisseur du corps (BD)** était quant à elle liée chez les deux espèces aux paramètres ovariens (stade, GSI, GDO, FSI ovarien) et elle semble constituer également une variable de **plus grand intérêt que la masse ou la taille des anguilles**, qui elles, présentaient peu ou pas de relations avec le développement ovarien et la neuroendocrinologie associée en plus de se comporter différemment entre les deux espèces. Une étude à beaucoup plus grande échelle serait toutefois requise afin d'établir de meilleures relations entre les indicateurs de maturité «internes» et «externes», et dans l'idéal, sans avoir à sacrifier d'anguilles. Cela serait par exemple possible par le biais de **biopsies d'ovaires**, ce qui permettrait à la fois de suivre de mêmes individus et d'obtenir des données de meilleure qualité avec les expériences de maturation artificielle. Certaines études ont par ailleurs commencé à adapter chez l'anguille l'utilisation de l'**échographie** pour évaluer le développement ovarien de manière non invasive pendant la maturation artificielle (BUREAU DU COLOMBIER et coll., 2015; JÉHANNET et coll., 2017; MÜLLER et coll., 2016), ce qui représente une avenue très intéressante pour les études futures. L'**évolution des changements en stéroïdes sexuels (E2, 11KT) mesurés à partir d'un prélèvement sanguin** représentent également un **outil minimalement invasif qui mériterait davantage d'investigation en combinaison avec les autres indicateurs internes et externes**. L'intérêt dans la recherche de **biomarqueurs moléculaires de sensibilité à la maturation artificielle** de l'anguille a notamment fait surface *via* l'approche transcriptomique à partir de tissu ovarien (BURGERHOUT et coll., 2016), mais également de biopsies de **nageoire pectorale** (DIRKS et coll., 2014). Ces récents travaux ont entre autres permis, à partir d'un simple prélèvement externe (ici de nageoire pectorale), d'identifier des gènes prometteurs (en lien avec la régulation de la peau/mucus, du sang, des stéroïdes, des lipides, de la lectine et de la dopamine) pour la reconnaissance plus rapide des anguilles répondant bien au traitement de maturation. Ils entrent dans la lignée des efforts visant à améliorer les techniques de reproduction artificielle, surtout considérant que l'aquaculture ne s'est pas encore départie de son besoin en civelles sauvages, mais aussi, que l'exportation à l'étranger où la demande est grandissante n'a pas encore été interdite partout comme en Europe, et que pour d'autres espèces dont l'anguille d'Amérique, la pression de capture demeure bien présente en milieu naturel (JACOBY et coll., 2015; TSUKAMOTO et KUROKI, 2014). Ce type de démarche devrait donc également intéresser les programmes de conservation des populations d'anguilles, puisqu'il pourrait être élaboré en concertation avec les instances responsables dans l'idée de fournir des outils permettant d'identifier ou de suivre l'état des géniteurs potentiels des stocks d'anguilles.

7 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

7.1 État des migrateurs et implications

Cette thèse a démontré pour la toute première fois que les anguilles d'Amérique (AR) quittant le fleuve Saint-Laurent dans la région entourant Rivière-Ouelle sont majoritairement avancées (86 %) au stade de la vitellogenèse précoce (3-VTG1) mais peuvent y être trouvées également à l'état intermédiaire (3-VTG2) dans certains cas (14 %). La moitié des anguilles AR provenait assurément d'un secteur plus en amont du fleuve au lac Saint-François puisqu'elles y avaient déjà été capturées dans le cadre d'un projet de capture-marquage-recapture. Chez AR, la très grande taille (longueur, masse, épaisseur du corps) et l'âge avancé des anguilles laissent à penser qu'une partie d'entre elles devait être issue de la région USLR-LO remontant au lac Ontario (à 5000-6000 km de la mer des Sargasses). Les anguilles étaient en bonne condition (K', HSI) en comparaison aux anguilles d'Europe (AA) à l'étude mais avaient des teneurs musculaires en lipide moindres parallèlement à leurs teneurs ovariennes beaucoup plus élevées. **Les anguilles AR étaient sans contredit plus avancées que les anguilles d'Europe au niveau du développement ovarien (stade de maturité, diamètre des ovocytes, rapport gonadosomatique (GSI)), mais également au niveau de la neuroendocrinologie de l'axe gonadotrope (quantifié pour la première fois chez AR à l'exception d'E2) via les stéroïdes sexuels (T, E2, 11KT) et la transcription de nombreux gènes (GnRH1, GnRH2 et ESR1 cérébraux; LHβ et ESR1 hypophysaires; VTG hépatique).** Leur état rejoint même pour quelques individus celui des anguilles à longues nageoires de Nouvelle-Zélande (AD) pour lesquelles les migrateurs en dévalaison sont typiquement trouvés en stade 3-VTG2. Les anguilles d'Europe de l'estuaire de la Gironde et du bassin d'Arcachon (à 5000-6000 km de la mer des Sargasses) étaient quant à elles majoritairement avancées (92 %) au stade de la pré-vitellogenèse avancée (2-PV2) avec une anguille encore à l'état précoce (2-PV1). Cette thèse a donc eu pour défi de comparer l'espèce la moins avancée sexuellement lors de la dévalaison (AA) à la deuxième (AR) la plus avancée de toutes (AD). **Considérant l'évolution des valeurs de GSI entre les différentes espèces discutées parallèlement aux stades de maturité, excepté pour AR dont l'avancement n'avait pas encore été établi de manière comparable, cette thèse a permis d'établir qu'AR se plaçait juste après AD. De surcroît, elle réaffirme l'intérêt de caractériser davantage la biologie de reproduction des *Anguillidae* en fonction de leur stade de maturité.** Cette thèse a par ailleurs fait la démonstration que les migrateurs des espèces de l'Atlantique à l'étude étaient aux antipodes l'une de l'autre en termes d'état de maturité, **l'une étant la moins avancée de toutes (AA) et l'autre, l'une des plus avancées (AR); complexifiant davantage la comparaison interspécifique.**

Trois hypothèses principales découlent de la neuroendocrinologie des anguilles de l'Atlantique ayant entamé la migration de reproduction suivant leur **classification prédominante en stade de pré-vitellogenèse**

avancée et de vitellogénèse précoce. D'abord, les résultats au niveau de la transcription des gènes suggèrent une implication des deux formes de GnRH (GnRH1 et GnRH2) dans le développement sexuel des *Anguillidae* et non pas seulement celle de la GnRH1. Ensuite, ils sont en accord avec l'hypothèse d'un axe GnRH-LH régulé par un rétrocontrôle cérébro-hypophysaire positif spécifique à l'E2 *via* ESR1. Les résultats issus des migrateurs suggèrent également que de la fin de la pré-vitellogénèse (stade 2-PV2) au début de la vitellogénèse (stade 3-VTG1), la transcription de la FSH β soit stable, et celle de la LH β et de la VTG, régulée à la hausse, tout comme les teneurs en T, E2 et 11KT.

Une dernière hypothèse au niveau de la neuroendocrinologie des anguilles découle de la **présence de spécimens dont la vitellogénèse était naturellement plus avancée (stade 3-VTG2)** lors de la migration de dévalaison. Les résultats de la thèse suggèrent que la transcription de la FSH β ne soit pas régulée à la baisse comme cela est observé avec l'utilisation d'un nombre suffisant d'injections hebdomadaires d'extrait hypophysaire (maturation artificielle), ou du moins, jusqu'en vitellogénèse intermédiaire.

7.2 Réponse à la maturation et implications

La thèse a également confirmé que les anguilles AR répondaient beaucoup plus fortement à la maturation après avoir reçu 11 traitements hebdomadaires à l'extrait hypophysaire (par rapport aux anguilles AA ayant reçu un traitement aux conditions similaires et pour la même durée). La majorité d'entre elles (67 %) était rendue en vitellogénèse avancée (3-VTG3) et une anguille en 3-VTG2, alors que les autres (25 %) étaient en période de maturation (OM), soit en ayant entamé la migration du noyau (4-GVM) ou en ayant atteint la pleine maturité (dissolution du noyau 4-GVBD avec présence de follicules post-ovulatoires dénotant 5-OV). **Il s'agit des toutes premières données associées au stade de maturité chez l'anguille AR en cours de maturation artificielle.** Une fois de plus, en tenant compte des stades, les valeurs de GSI concordaient bien avec celles des autres espèces des zones tempérées. Les anguilles AR ont répondu plus fortement à la maturation là où les anguilles AA ont également répondu significativement (par rapport aux anguilles Ctrl) : au niveau du développement plus important des ovaires (stade de maturité, diamètre des ovocytes, GSI) ainsi qu'au niveau de la neuroendocrinologie de l'axe gonadotrope selon une plus forte régulation à la hausse de la transcription de la LH β hypophysaire et de la VTG hépatique, mais une régulation à la baisse plus faible de la FSH β hypophysaire. Les autres réponses étaient conditionnelles à l'espèce. Considérant l'axe gonadotrope en entier, le développement ovarien chez AR a principalement évolué de manière similaire à la hausse en E2 plasmatique, à la régulation à la hausse de la transcription de la VTG et de l'ESR1 hépatiques, de même qu'à la régulation opposée de la LH β et la FSH β , respectivement à la hausse et à la baisse. Les anguilles AR avaient un stade de maturité plus avancé avant la maturation artificielle ainsi qu'une condition ($K' = BW' / (BL^3)$), où BW' est la masse prédite selon la longueur de l'anguille par rapport à la population) les classant comme étant des géniteurs à fort potentiel

de reproduction d'après des travaux antérieurs. En incluant la réponse à la maturation des anguilles mais sans tenir compte de la longueur dans les valeurs de condition (puisque la relation BW–BL était différente entre AR et AA et ne permettait pas la comparaison), les anguilles AR en meilleure condition relative ($K_n = BW/BW'$) étaient plus avancées (GSI, stade de maturité, diamètre des ovocytes), elles avaient de plus importantes teneurs ovariennes en lipides et en stéroïdes d'après les valeurs plasmatiques (E2, T), mais également une régulation à la hausse plus importante de la transcription hépatique d'ESR1 conjointement à un plus gros foie (par contre, sans lien direct avec la masse et la longueur du corps ou l'âge). Les plus grandes anguilles AR avaient une plus forte teneur musculaire en lipides, un stade de maturité plus faible, et elles étaient également plus massives et âgées. **L'ensemble des données soutient que la plus grande sensibilité de réponse à la maturation des anguilles AR serait attribuable au moins en partie à leur stade initial de maturité déjà sous vitellogénèse.**

La thèse va dans le même sens que la littérature en montrant que les anguilles AA répondaient beaucoup plus faiblement après avoir reçu 11 traitements hebdomadaires à l'extrait hypophysaire dans des conditions expérimentales similaires à AR. Les anguilles AA ayant reçu le traitement de maturation étaient encore majoritairement en stade 2-PV2 (56 %), une anguille était à l'état précoce 2-PV1, alors que les autres (39 %) ont atteint le stade 3-VTG1. Considérant l'axe gonadotrope en entier, le développement ovarien chez AA, axé plus sur la croissance en termes de diamètre ovocytaire et de GSI, a principalement évolué de manière similaire à la hausse en 11KT plasmatique, à la régulation à la hausse de la transcription de la VTG hépatique, de l'ESR1 cérébro-hypophysaire, de même qu'à la régulation opposée de la LH β et la FSH β , respectivement à la hausse et à la baisse. Les anguilles AA étaient petites et avaient une faible condition (K') initiale. Les anguilles AA les plus âgées avaient toutefois un développement ovarien plus avancé (GSI, diamètres des ovocytes), elles avaient de plus importantes teneurs ovariennes en lipides et en stéroïdes d'après les valeurs plasmatiques (11KT, T, E2), de même qu'une plus forte régulation à la hausse de la transcription de l'ESR1 cérébro-hypophysaire et de la VTG hépatique. Les anguilles AA les plus âgées avaient également de plus fortes teneurs musculaires en lipides. Toutefois, les plus fortes teneurs en lipides musculaires étaient associées aux anguilles AA en meilleure condition relative (K_n) selon la même probabilité. La réponse à la maturation des anguilles AA était certes plus faible, en accord avec la littérature, mais elle indique la **grande variabilité qui est présente dans la réponse à la maturation des espèces d'Anguillidae et en particulier entre celles de l'Atlantique à l'étude.** En excluant les différences évidentes entre les échantillons à l'étude (**stade de maturité, âge, masse, longueur**), d'autres facteurs ayant pu contribuer à moduler la réponse à la maturation sont la légère différence dans le **traitement PE**, la présence du parasite *A. crassus* seulement chez AA, ainsi que tout autre facteur non identifié ayant pu être associé de près ou de loin avec la **santé immunitaire** des anguilles ou avoir interféré avec les contrôles de l'axe gonadotrope sur le développement des ovaires, soit **un sujet des plus complexes et qui demeure à explorer.**

Toutes les différences interspécifiques ayant été identifiées au niveau de la neuroendocrinologie sont potentiellement indissociables du stade de maturité des anguilles. Suivant ce raisonnement pour les anguilles AR passées du stade 3-VTG1 (et VTG2) à 3-VTG3 (mais allant de 3-VT2 à 5-OV), l'influence du stade de maturité passerait devant celle de la condition relative et de l'influence possible de la longueur qui était associée à l'âge et la masse. Pour les anguilles AA restées en stade 2-PV2 (mais allant de 2-PV1 à 3-VTG1), si tel était le cas, l'influence du stade de maturité passerait devant celle de l'âge et de l'influence possible de la teneur musculaire en lipides qui était autant associée à la condition relative qu'à l'âge.

Trois contributions principales découlent de la neuroendocrinologie des anguilles migrantes dont le développement allait **de la pré-vitellogenèse au début de la vitellogenèse en réponse à une expérience de maturation artificielle.** En premier lieu, ces résultats apportent davantage d'éléments supportant la 11KT et sa hausse plasmatique comme étant un indicateur du développement sexuel précoce menant à la vitellogenèse. En deuxième lieu, ils sont en accord avec l'effet inhibiteur des androgènes (11KT) sur la transcription de la FSH β , un effet qui avait été démontré antérieurement de manière *in vivo*. Enfin, la présence de relations significatives entre les produits de la transcription des gènes et les stéroïdes à l'étude suggère, chez ces anguilles, une implication de la GnRH2 en association avec un rétrocontrôle cérébro-hypophysaire positif spécifique à l'E2 et un contrôle hépatique négatif spécifique à l'E2, *via* ESR1, de même qu'en association avec la LH β hypophysaire qui était aussi associée positivement à la 11KT plasmatique et à la VTG hépatique.

Quatre contributions sont quant à elles associées à la neuroendocrinologie des anguilles migrantes dont le stade de maturité allait **de la vitellogenèse à l'ovulation en réponse à une expérience de maturation artificielle similaire.** Tout d'abord, ces résultats soulignent l'importance de l'E2 jusqu'à la fin de la vitellogenèse. En appui à d'autres études, ils indiquent également l'E2 et sa hausse plasmatique comme étant un indicateur du développement sexuel avancé menant à la complétion de la vitellogenèse et un indicateur de sensibilité à la maturation artificielle. Ensuite, ces résultats corroborent l'effet stimulateur de l'E2 sur la transcription de la LH β , un effet qui avait été démontré antérieurement de manière *in vivo*. La présence de relations significatives entre les produits de la transcription des gènes et les stéroïdes à l'étude suggère par ailleurs, chez ces anguilles, l'implication de la GnRH2 en lien avec un rétrocontrôle cérébro-hypophysaire positif spécifique à l'E2 *via* ESR1, de même qu'avec l'E2 plasmatique et avec la LH β hypophysaire, qui elle était aussi associée négativement à la FSH β hypophysaire, mais positivement à la VTG hépatique et à un contrôle spécifique à l'E2 *via* ESR1. Cette régulation hypophysaire négative de la FSH β par rapport à la LH β résulte toutefois de contrôles différent de ceux présents avec l'activation naturelle de l'axe gonadotrope, et elle pourrait n'être qu'un artefact dû à la maturation artificielle.

7.3 Recommandations finales et perspectives à développer

La communauté s'intéressant à la biologie de reproduction des anguilles aurait avantage à réaliser de nouvelles études visant à **comparer plusieurs espèces dont le stade de maturité est caractérisé de manière concertée entre les pays** afin d'obtenir les meilleures conditions de comparaisons (masse et longueur des anguilles, distance au lieu de reproduction si connu, préparation des ovaires et quantification des stades de maturité *via* la même procédure et la même équipe, dosages chez les différentes espèces par le même laboratoire, maturations artificielles avec les mêmes conditions expérimentales et traitement de maturation). À l'instar d'études ayant commencé à explorer d'autres poissons présentant un stade larvaire leptocéphale (*Elopomorpha*), il serait intéressant d'**élargir la comparaison de la biologie de reproduction de l'anguille à celle d'autres espèces de poissons marins aux caractéristiques partagées** telles que la semelparité (ou un type de développement ovocytaire qui lui est semblable), la migration de reproduction, et les ovocytes dont les vésicules de lipides fusionnent lors de la maturation finale ou deviennent hydratés pendant cette phase (p. ex. morue de l'Atlantique, espadon, thons, bar rayé, et poissons *Elopomorpha* tels que congres, murènes et tarpons). Dans le contexte du déclin de nombreuses populations de poissons marins, **cela pourrait favoriser la concentration des efforts, apporter un nouveau soutien ainsi que de nouvelles méthodes déjà développées chez les autres espèces.**

Avec une **taille d'échantillon plus grande** que celle ayant été disponible pour cette thèse, il devrait être envisagé de réaliser des **analyses statistiques multifactorielles** incluant le stade de maturité afin de mettre en contraste si les conclusions de la thèse sur les **contrôles neuroendocriniens** sont significatives, à savoir **si ces derniers sont bel et bien modulés avec la progression du stade de maturité. Les données préliminaires exprimées selon le stade de maturité laissent à penser que ce pourrait être le cas (FIGURES 7.1-7.2).** En ce sens, l'évolution des **deux formes de GnRH** présentes chez l'anguille en fonction du stade de maturité demeure une voie intéressante à explorer en conditions contrôlées et également pour tester des stimuli connus pour être intégrés *via* l'axe gonadotrope en amont du complexe cérébro-hypophysaire tels que les **stimuli environnementaux associés à la migration de reproduction.**

Les études devraient continuer à relever les caractéristiques morphométriques externes (masse, longueur, épaisseur du corps et diamètre de l'œil) des anguilles afin de les mettre **en relation avec d'autres caractéristiques internes** (masse des gonades, teneurs en lipides dans le muscle et les gonades) **conjointement à des méthodes minimalement invasives** (biopsies d'ovaires et de nageoire pectorale, prises de sang) **ou non invasives** (échographie des ovaires ou d'autres organes utiles à cette fin). Ces efforts seraient d'autant plus pertinents, avec la progression actuelle des connaissances sur la biologie de reproduction des anguilles argentées quittant le continent, s'ils étaient réalisés dans une optique de développement de nouvelles approches, à la

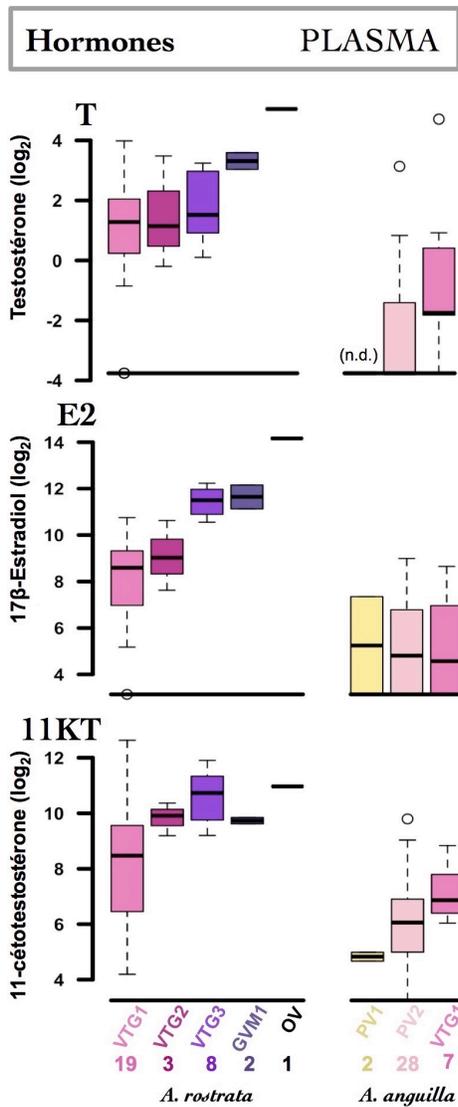


FIGURE 7.1 Teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels des anguilles à l'étude selon le stade de maturité

Les teneurs en hormones stéroïdiennes ont été mesurées dans le plasma sanguin des anguilles à partir de dosages immuno-enzymatiques colorimétriques de type compétitif. La boîte des diagrammes de quartiles englobe 50 % des données réparties autour de la ligne médiane (du 1^{er} au 3^e quartile) et les points externes aux lignes pointillées représentent les valeurs minimale ou maximale atypiques (<1 % des données), avec tout en bas de l'abscisse le nombre d'observations. n.d., non détecté d'après la limite de détection de la méthode qui était de 0,15 ng·mL⁻¹ pour T.

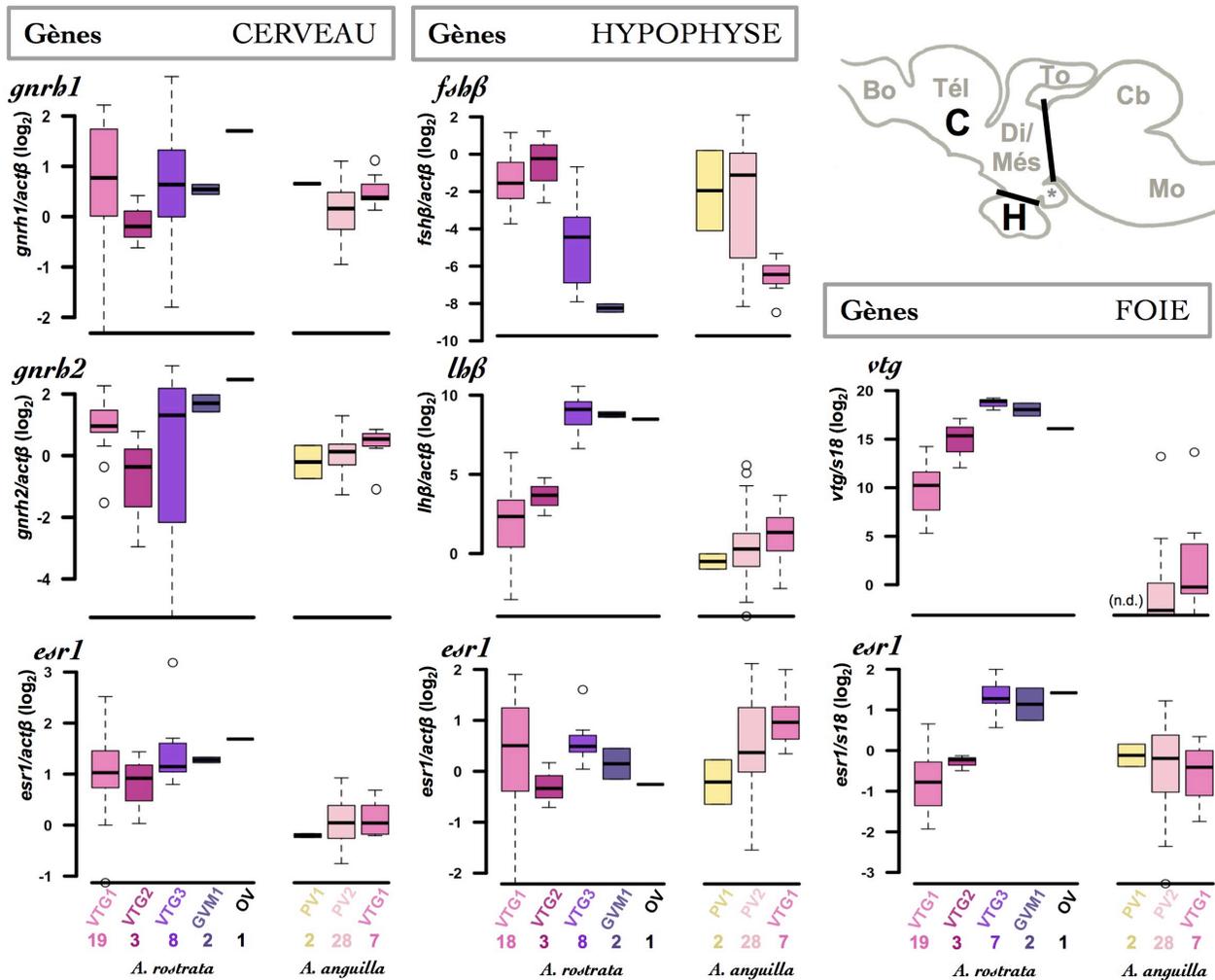


FIGURE 7.2 Teneurs tissulaires en produits de la transcription des anguilles à l'étude selon le stade de maturité. Le schéma sagittal de l'encéphale des anguilles montre le cerveau antérieur/moyen (C : Bo, Tél, To, Di/Més, *) et l'hypophyse (H) dont les teneurs cérébrales et hypophysaires des produits dosés par qPCR sont issues. La boîte des diagrammes de quartiles englobe 50 % des données réparties autour de la ligne médiane (du 1^{er} au 3^e quartile) et les points externes aux lignes pointillées représentent les valeurs minimale ou maximale atypiques (<1 % des données), avec tout en bas de l'abscisse le nombre d'observations. Bo, bulbe olfactif; Cb, *corpus cerebellum*; Di/Més, di- et mésencéphale (incluant le corps pinéal); Mo, *medulla oblongata*; n.d., non détecté d'après la limite de détection de la méthode qui était de 0,2 u.a. pour la *vtg* après sa normalisation sur *s18*; Tél, télencéphale; To, tectum optique; u.a., unités arbitraires; *, *saccus vasculosus*.

recherche de marqueurs indiquant le stade de maturité et ayant une portée prédictive sur la potentialité de ces migrateurs à entrer en vitellogenèse et la poursuivre. De tels outils permettraient d'identifier les géniteurs potentiels pour évaluer et suivre les stocks d'anguilles de manière plus complète, ou en vue de faciliter leur reproduction artificielle pour une aquaculture autosuffisante et pour relâcher la pression de capture exercée sur les stocks sauvages de civelles. Dans la même lignée, **les résultats de la thèse permettent de proposer quelques valeurs afin d'identifier les géniteurs à fort potentiel de reproduction de l'anguille d'Amérique** bien que ces valeurs demeurent à explorer à plus grande échelle. Les variables présentées (**K_n , EI, BD, BL**) découlent des corrélations trouvées avec les paramètres ovariens (dont ci-après le stade de maturité, le rapport lipido-somatique des ovaires et leur masse) et l'axe gonadotrope. Elles ont par contre été combinées afin d'offrir une synthèse visuelle conjointement aux valeurs initiales de condition K' afin d'établir une référence future pour l'espèce en lien avec le seuil de 0,2 établi antérieurement pour l'anguille d'Europe (**FIGURE 7.3**). Puisqu'un chevauchement considérable des données est généralement présent entre les groupes (Ctrl, PE, PBO), **les stades de maturité les plus avancés (de la maturation finale à l'ovulation) sont proposés ici comme valeurs seuil** pour identifier les femelles à plus fort potentiel de reproduction (PR). Selon ce raisonnement, les anguilles à plus fort PR ont des valeurs initiales de K' supérieures à 0,21 (K'_i), une longueur initiale située entre 700 et 900 mm (BL_i), une condition relative d'au moins 1,1 (K_n), un rapport lipido-somatique d'au moins 3 % (FSI ovarien), un indice de l'œil d'au moins 7,0 (EI) ainsi qu'une épaisseur du corps de 60 mm minimum (BD). Au vu de ces tendances, **les études futures sur la biologie de reproduction de l'anguille d'Amérique devraient considérer de les vérifier en capturant des spécimens femelles couvrant également des tailles plus petites que 700 mm.**

Trois différentes approches seront développées sous forme d'articles pour communiquer plus largement les aspects les plus inédits de la thèse et leur contribution originale à l'avancement des connaissances pour la conservation des *Anguillidae* (ANNEXE III). Le premier article rapportera les aspects de la biologie de reproduction associés à l'état des migrateurs au moment de la dévalaison, et de manière comparative entre les deux espèces de l'Atlantique. Deux autres articles seront consacrés aux aspects relatifs à la progression de l'état des migrateurs en réponse à la maturation artificielle, mais de manière séparée pour l'anguille d'Amérique et pour l'anguille d'Europe. Ces derniers intégreront également des aspects qui demeurent à l'état préliminaire et qui sont expliqués dans les prochains paragraphes.

L'anguille est un poisson dont l'habitat et les habitudes de vie favorisent la forte bioaccumulation en contaminants organiques mais également en métaux. L'évaluation de leurs effets est donc au cœur des préoccupations pour la biologie de reproduction des espèces d'*Anguillidae* en déclin. Les contaminants bioaccumulés toute une vie pourraient être remis en circulation pendant la migration de reproduction et venir perturber le développement ovarien des géniteurs et la neuroendocrinologie sous-jacente à l'axe gonadotrope. La caractérisation *in vivo* du transfert de ces derniers dans les ovaires des géniteurs en cours de maturation sexuelle est donc une première étape essentielle à la compréhension de tous possibles effets.

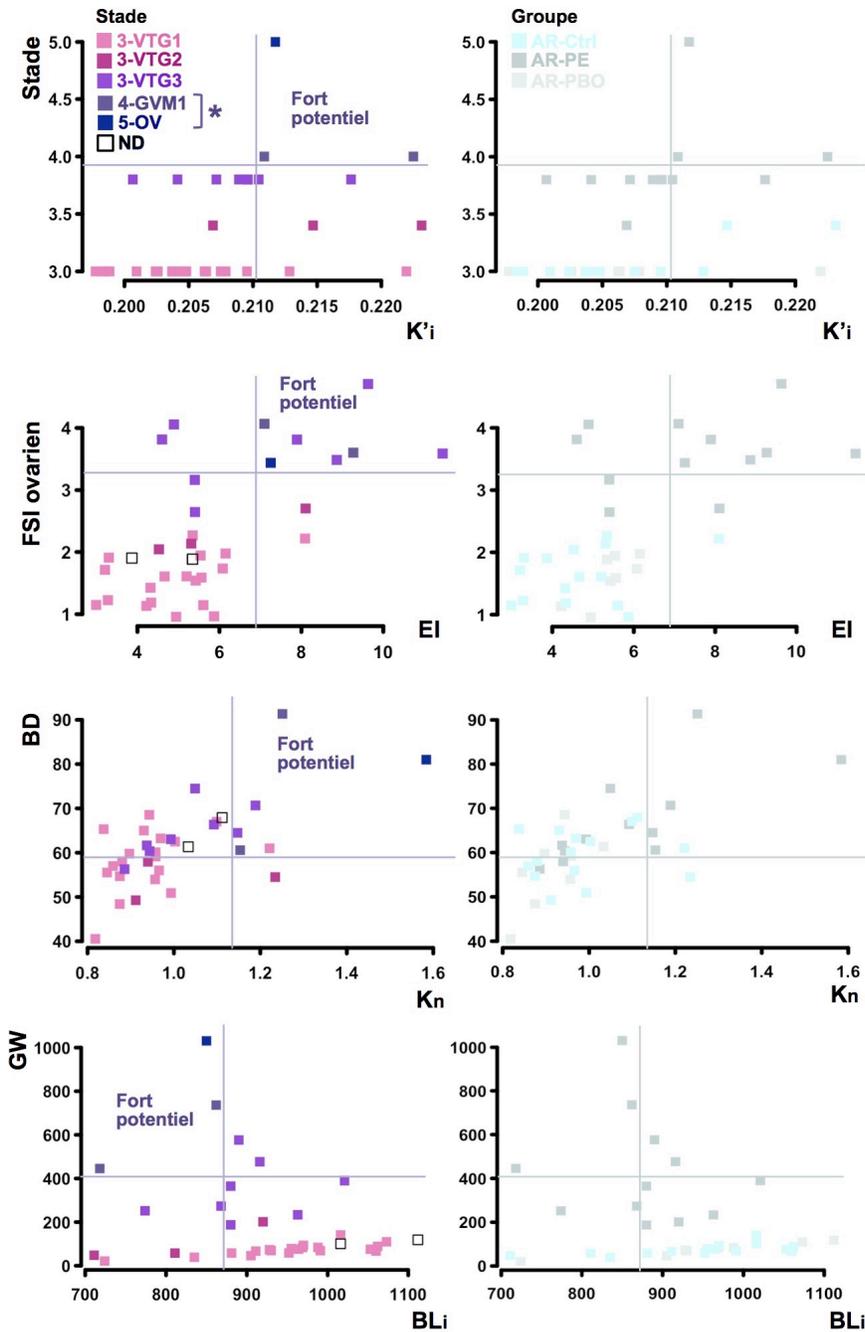


FIGURE 7.3 Valeurs seuil associées aux géniteurs à fort potentiel de reproduction chez l’anguille d’Amérique

Les trois individus ayant répondu plus fortement après avoir reçu 11 injections du traitement PE pour la maturation artificielle ont été utilisés pour établir des seuils demeurant à explorer à plus grande échelle. Les anguilles à fort potentiel de reproduction indiquées ici sont celles ayant atteint le stade ovocytaire de maturation « finale » ou d’ovulation. Les données sont exprimées selon les stades de maturité et groupes à l’étude (AR-Ctrl, AR-PE, AR-PBO) pour éviter toute confusion. Toutes les données sont présentées (n=35) à l’exception de deux valeurs de stade de maturité non disponibles (ND) appartenant à AR-Ctrl (n=1) et AR-PBO (n=1). Stades 3-VTG1 à 3, vitellogénèse précoce (1), intermédiaire (2) et avancée (3); stade 4-GVM1, migration précoce du noyau; stade 5-OV, stade d’ovulation; *, anguilles à fort potentiel de reproduction.

Tel que mentionné plus tôt (SECTION 6.2.2), **cette thèse s'insère dans le cadre du projet IMMORTEEL et en particulier du dernier volet portant sur la biologie de reproduction des anguilles**. Ce projet international a été soutenu conjointement par le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG-SPS-P-396725-10) et l'Agence Nationale de la Recherche de France (ANR-10-INTS-1704) et il avait pour objectif général d'améliorer l'état de la connaissance sur les relations entre la bioaccumulation des contaminants et leurs effets abordés selon trois volets chez les deux espèces de l'Atlantique : la diversité génétique, la croissance et la santé des juvéniles vivant en eaux continentales, et la biologie de reproduction des anguilles prépubères ayant entamé la migration de reproduction hors du continent. Plusieurs perspectives à développer ressortent en lien avec la caractérisation du transfert ovarien des contaminants bioaccumulés dans les tissus des anguilles à l'étude. Les valeurs de concentration exprimées selon la masse sèche ont deux origines : **les contaminants organiques ont été quantifiés dans le muscle et les ovaires des anguilles par l'équipe ayant dosé la teneur en lipides dans les gros échantillons** (SECTION 4.5.1) (LPTC, Université de Bordeaux, France) alors que **les contaminants inorganiques ont été mesurés dans le foie, le muscle et les ovaires par l'équipe de l'Institut national de la recherche scientifique – Eau Terre environnement (INRS-ETE, Québec, Québec)**. Les valeurs de concentration ont été **converties selon la même procédure que pour le calcul du rapport lipido-somatique hépatique, musculaire et ovarien** (SECTIONS 4.3.2-4.5.1). Les données présentées sont exprimées selon la quantité totale par tissu sur la masse totale de l'anguille, en $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ ANGUILE pour les contaminants organiques et en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ANGUILE pour les métaux. La série des huit pesticides organochlorés (POC), sept biphényles polychlorés (BPC), neuf polybromodiphényléthers (PBDE), leurs sommes respectives, de même que des 10 métaux inclus dans le projet, fournit un nombre substantiel de variables à explorer : 30 variables métalliques couvrant le foie, le muscle et les ovaires et 54 variables organiques couvrant les POC, les BPC, les PBDE et leurs sommes pour le muscle et les ovaires. Le développement ovarien et l'axe gonadotrope fournissaient déjà 3 variables développementales (stade de maturité, GSI, diamètre ovocytaire) et 11 variables pour la neuroendocrinologie (*gnrh1*, *gnrh2* et *esr1* cérébraux, *fsh β* , *lh β* et *esr1* hypophysaires, *vtg* et *esr1* hépatiques, et T, E2 et 11KT plasmatiques) en parallèle aux 10 autres variables biologiques incluses dans les matrices de corrélation et qui tenaient déjà compte des autres variables originales à la thèse (rapport lipido-somatique hépatique, musculaire et ovarien). Devant cette abondance de variables à synthétiser dans une seule matrice de corrélation afin de mettre en valeur les perspectives à développer, uniquement la somme (Σ) des POC des BPC et des PBDE quantifiés dans le muscle et les ovaires a été incluse parallèlement à l'ensemble des métaux dosés dans le foie, le muscle et les ovaires, pour un total de 60 variables pour chaque espèce de l'Atlantique (FIGURES 7.4-7.5).

Cette synthèse de l'information a permis de sélectionner quelques contaminants métalliques et organiques pour mettre en évidence le transfert ovarien s'opérant chez les deux espèces de l'Atlantique en réponse au traitement de maturation (FIGURES 7.6-7.7). Ces résultats demeurent à l'état préliminaire. Pour les deux espèces de l'Atlantique, les quatre contaminants métalliques sélectionnés (mercure, chrome, cuivre et sélénium) font partie des variables situées en plein cœur de la structure des relations en association significative avec les

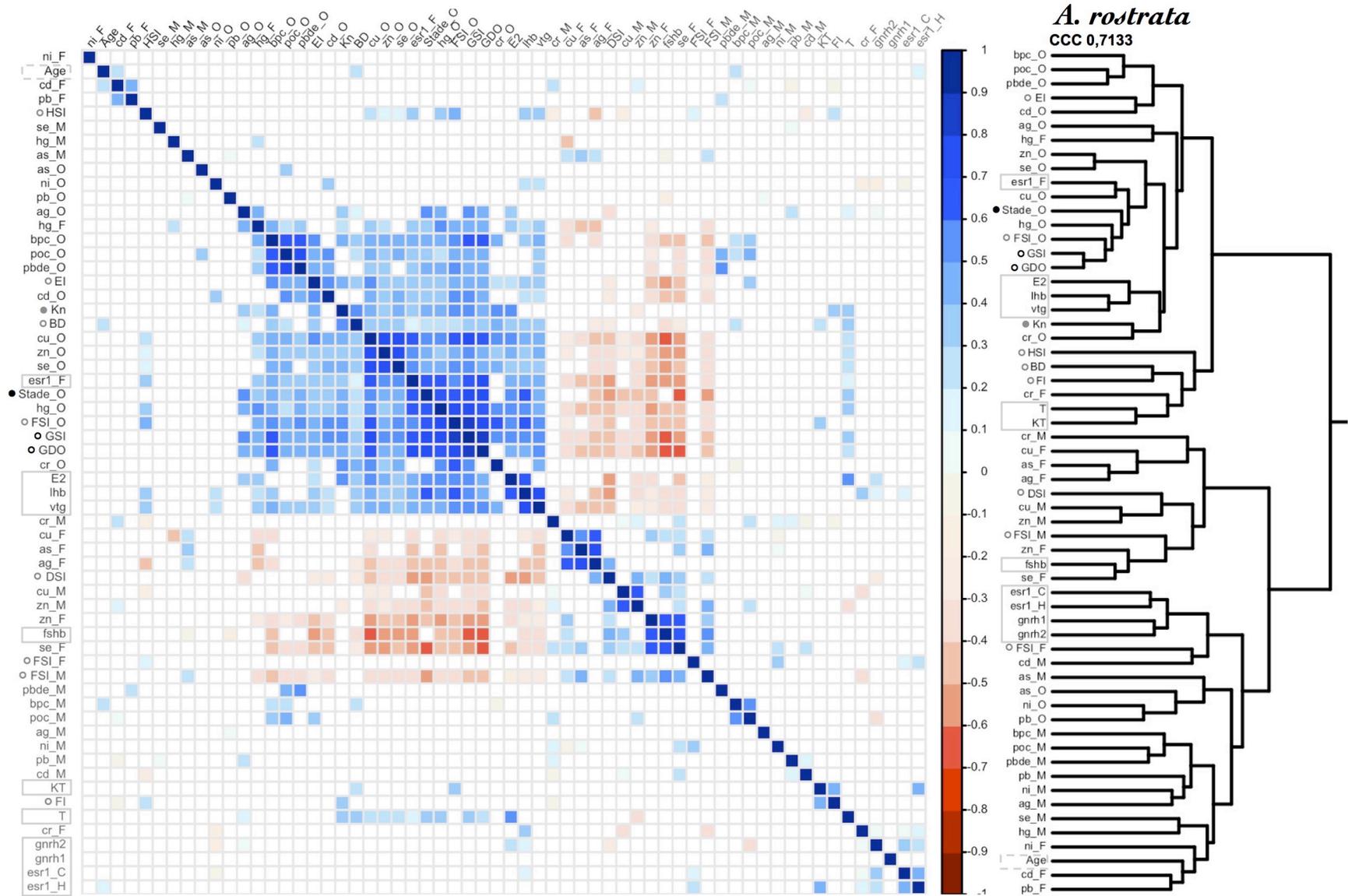


FIGURE 7.4 Structure des variables à l'étude chez l'anguille d'Amérique incluant les contaminants tissulaires⁴

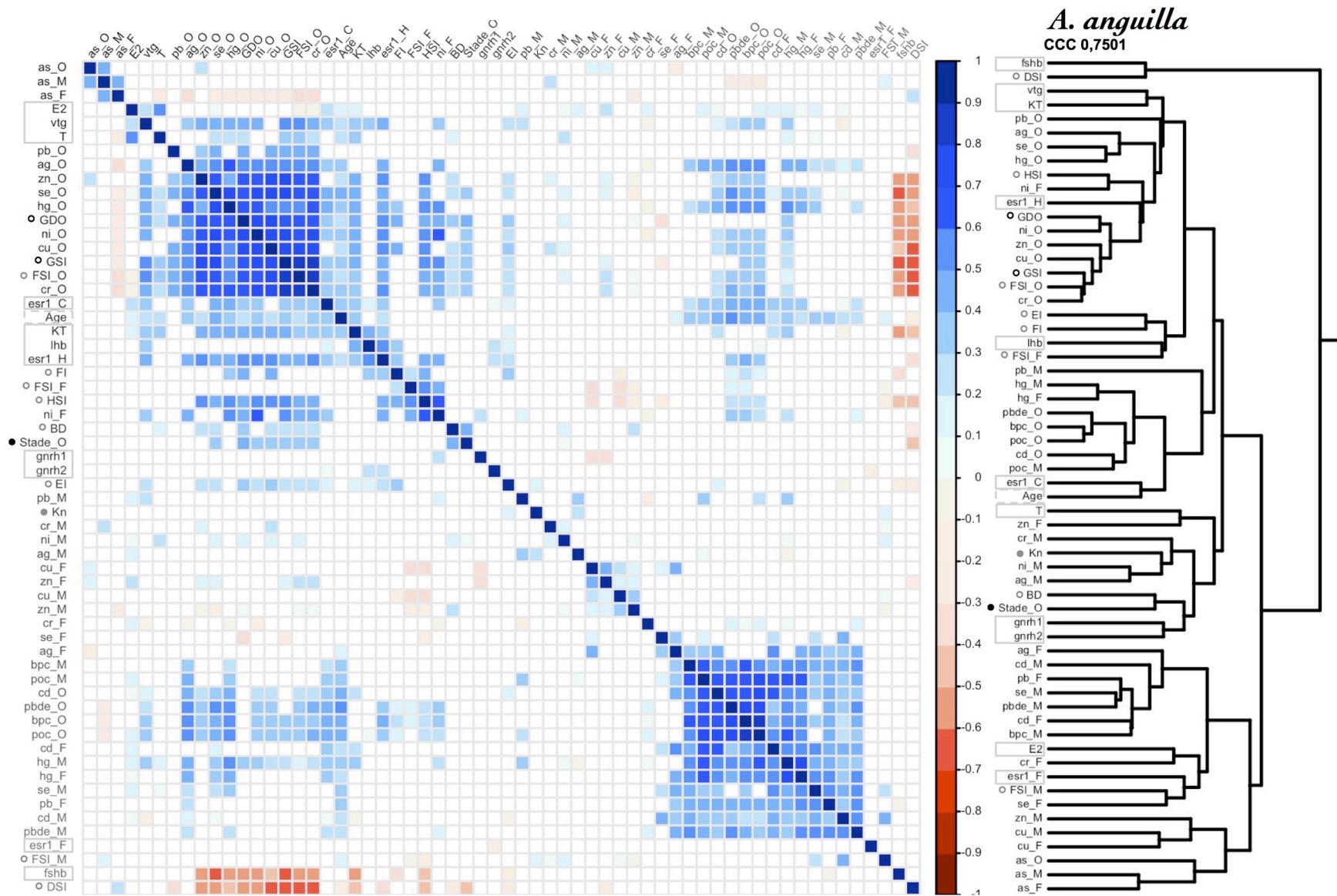


FIGURE 7.5 Structure des variables à l'étude chez l'anguille d'Europe incluant les contaminants tissulaires⁴

4 Les dendrogrammes ont été produits en utilisant la distance euclidienne présente entre les variables des matrices de corrélations réorganisées selon l'approche de classification ascendante hiérarchique pondérée utilisant les moyennes arithmétiques WPGMA (*Weighted Pair-Group Method using Arithmetic averages*). Le coefficient de corrélation cophénétique (CCC) indique à quel point le rendu du dendrogramme préserve ces distances. La qualité d'ajustement est similaire chez AR (n=35) et AA (n=37) puisque les CCC respectifs sont de 0,71 et 0,75. L'ensemble du dendrogramme doit être vu comme un mobile suspendu où chaque jonction peut pivoter. Les relations les plus semblables ont les plus faibles distances horizontales de regroupement avec une hiérarchie de similarité qui va de manière ascendante, c.-à-d. de la gauche vers la droite vers laquelle s'accroît la dissemblance entre les relations. Ces relations sont fondées sur le coefficient tau-b de Kendall (τ_b) qui résulte d'une différence de probabilité entre les paires d'observations concordantes C_p (association positive) et discordantes D_p (association négative) prises au hasard. Une valeur de τ_b s'approchant de +1 (100 %) indique une probabilité de concordance s'approchant de la certitude absolue puisque le nombre de paires d'observations concordantes tend vers la totalité possible ($C_p = 100\%$ et $D_p = 0\%$). En revanche, une valeur de τ_b s'approchant de 0 (0 %) indique une probabilité de concordance s'approchant de la nullité puisqu'un nombre éventuellement égal de paires d'observations sont concordantes et discordantes ($C_p = 50\%$ et $D_p = 50\%$). L'accroissement de la probabilité de concordance C_p ou discordance D_p est respectivement représenté en tons de bleu et de rouge s'intensifiant ($P < 0,05$). 0,0 à <0,2 probabilité faible; 0,2 à <0,5 probabilité modérée; 0,5 à 1,0 probabilité forte; fshb, fsh β ; KT, 11KT; lhb, lh β ; C, cerveau; F, foie; H, hypophyse; M, muscle; O, ovaires; cr, chrome; ni, nickel; cu, cuivre; zn, zinc; ag, argent; cd, cadmium; hg, mercure; as, arsenic; se, sélénium; pb, plomb; poc, somme des 8 POC (2,4'-DDE; 4,4'-DDE; 2,4'-DDD; 4,4'-DDD; 2,4'-DDT; 4,4'-DDT; hexachlorobenzène; lindane); bpc, somme des 7 BPC (BPC 28+50, 52, 101, 118, 138, 153, 180); pbde, somme des 9 PBDE (PBDE 28, 47, 49, 99, 100, 153, 154, 183, 209).

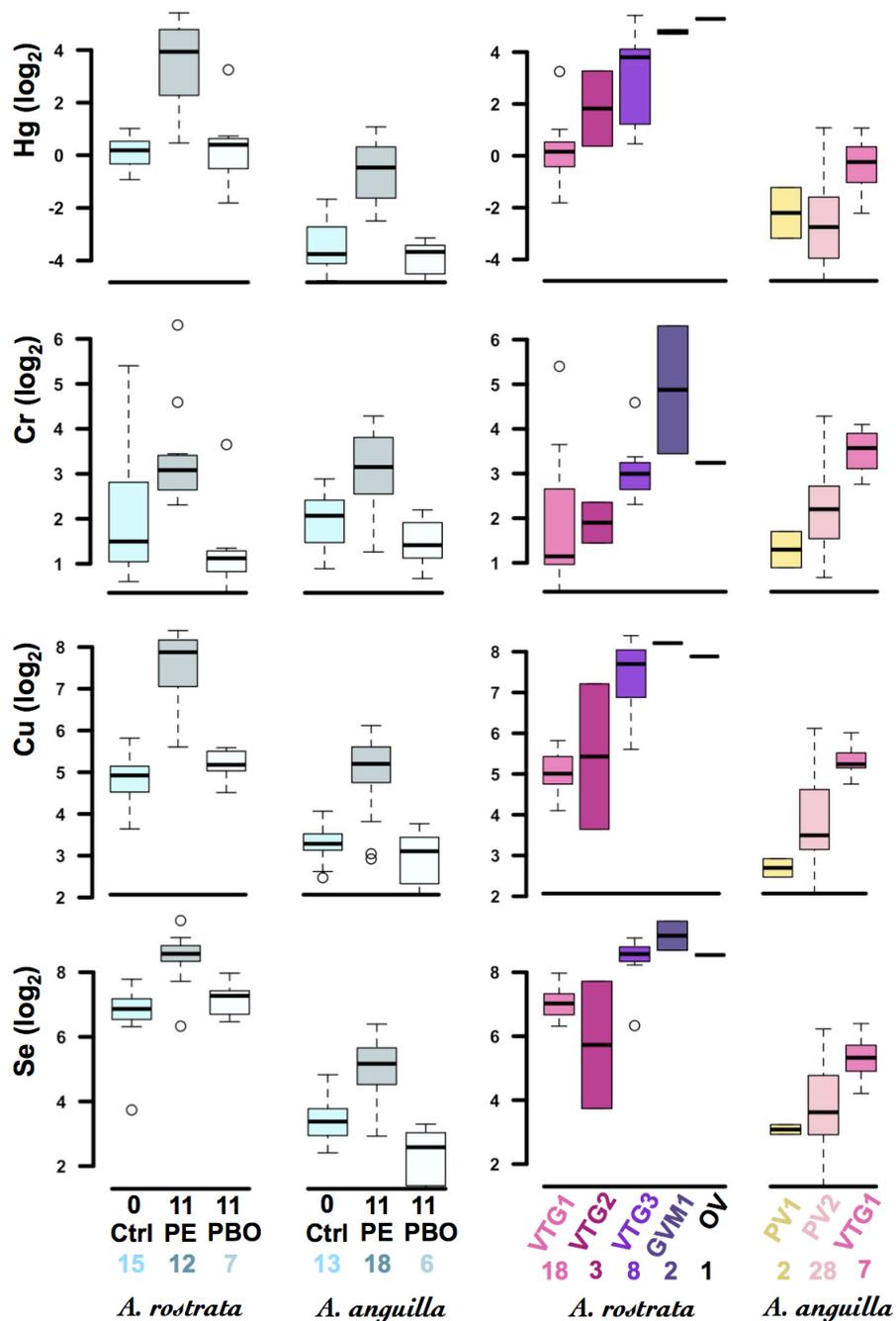


FIGURE 7.6 Transfert des métaux dans les ovaires des anguilles sous maturation artificielle

Les teneurs en Cr, Cu et Se ont été mesurées dans le tissu ovarien des anguilles à partir de dosages par spectrométrie de masse à plasma inductif (ICP-MS) ou spectrométrie d'émission optique couplée à un plasma inductif (ICP-AES) alors que celles en Hg ont été dosées dans un analyseur spécifique à cette fin (CARON et coll., 2016 ; PANNETIER et coll., 2016). La boîte des diagrammes de quartiles englobe 50 % des données réparties autour de la ligne médiane (du 1^{er} au 3^e quartile) et les points externes aux lignes pointillées représentent les valeurs minimale ou maximale atypiques (< 1 % des données), avec tout en bas de l'abscisse le nombre d'observations. Les valeurs ovariennes maximales étaient de 43, 79, 337 et 776 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ANGUILE pour le mercure (Hg), le chrome (Cr), le cuivre (Cu) et le sélénium (Se), respectivement.

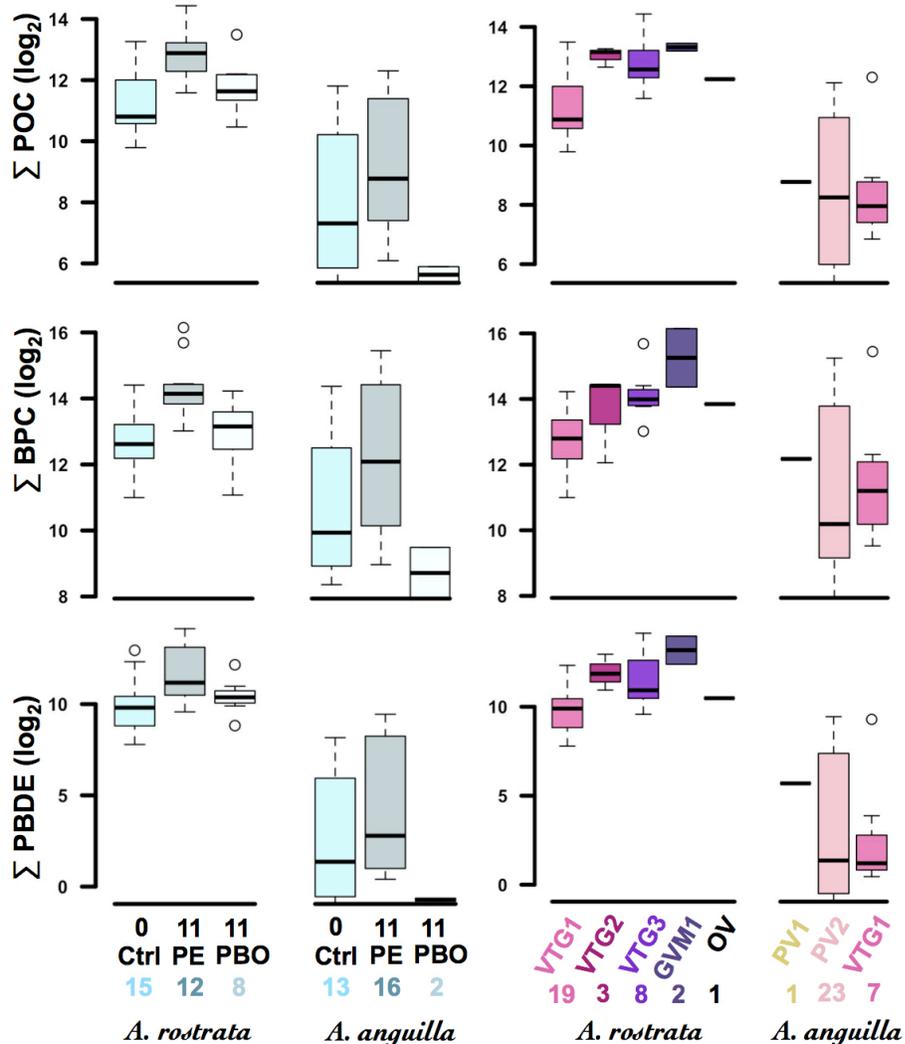


FIGURE 7.7 Transfert des contaminants organiques dans les ovaires des anguilles sous maturation artificielle
 Les teneurs en Σ POC, Σ BPC et Σ PBDE ont été mesurées dans le tissu ovarien des anguilles à partir de dosages par un type particulier de chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons (GPC-ECD) (CARON et coll., 2016; TAPIE et coll., 2008, 2011). La boîte des diagrammes de quartiles englobe 50 % des données réparties autour de la ligne médiane (du 1^{er} au 3^e quartile) et les points externes aux lignes pointillées représentent les valeurs minimale ou maximale atypiques (<1 % des données), avec tout en bas de l'abscisse le nombre d'observations. Les valeurs ovariennes maximales étaient de $18 \cdot 10^3$, $22 \cdot 10^3$, et $73 \cdot 10^3$ pg·g⁻¹ ANGUILE pour la somme des 9 polybromodiphényléthers (Σ PBDE : PBDE 28, 47, 49, 99, 100, 153, 154, 183, 209), des 8 pesticides organochlorés (Σ POC : 2,4'-DDE ; 4,4'-DDE ; 2,4'-DDD ; 4,4'-DDD ; 2,4'-DDT ; 4,4'-DDT ; hexachlorobenzène ; lindane), et des 7 biphényles polychlorés (Σ BPC : BPC 28+50, 52, 101, 118, 138, 153, 180), respectivement.

paramètres ovariens (GSI, GDO et FSI ovarien) et certains acteurs de l'axe gonadotrope, et de manière autant importante, sinon plus, que l'influence attribuée à la condition relative chez l'anguille d'Amérique (AR) et l'âge chez l'anguille d'Europe (AA). Ces deux variables clés pourraient par ailleurs avoir une influence potentiellement plus importante sur les paramètres de la biologie de reproduction des anguilles de l'Atlantique répondant le plus fortement à la maturation artificielle que celle attribuable aux contaminants organiques transférés dans les ovaires. Considérant l'ensemble de ces paramètres, il semble toutefois que tous les types de contaminants puissent potentiellement interférer avec la fonction de reproduction des anguilles de l'Atlantique. Il faut par ailleurs noter que **le transfert ovarien de plusieurs contaminants, non pas seulement des contaminants organiques, s'effectue en parallèle à celui des lipides (FSI ovarien)**. Chez les anguilles dont le développement ovocytaire est plus avancé (AR), ce transfert (FSI ovarien) était par ailleurs associé modérément mais significativement de manière inverse aux teneurs musculaires en lipides (FSI musculaire).

Le transfert ovarien des contaminants était positivement associé au GSI chez AR (fortement : Cu>Hg> Σ BPC>Cr>Se>Zn>(Ag, Cd, Σ PBDE), et modérément : Σ POC) et chez AA (fortement : Cr>Cu>(Ni, Zn)>Se>Hg>Ag, et modérément : Pb> Σ POC> Σ BPC). Par contre, la plupart d'entre eux étaient associés au stade de maturité chez les anguilles AR seulement (deux fois moins de relations présentes chez AA), ce qui pourrait être dû à l'état moins avancé des anguilles AA au moment de la dévalaison. Au niveau de l'axe gonadotrope, l'hormone présentant les associations significatives les plus fortes chez les deux espèces et en particulier avec les métaux est la FSH β . La somme des BPC était également associée avec cette hormone mais seulement chez AR. Toutes ces corrélations avec la FSH β sont négatives. La LH β présente quant à elle plusieurs relations avec les contaminants métalliques chez AR principalement (seulement une relation chez AA) et elles sont toutes positives. La Σ BPC est également associée de manière positive à cette hormone mais chez AR uniquement. La VTG présente de nombreuses relations positives avec les deux grands groupes de contaminants chez les deux espèces, de même que l'ESR1 cérébro-hypophysaire chez AA seulement et l'ESR1 hépatique chez AR seulement. Chez AR, l'ESR1 cérébral n'était que faiblement lié de manière négative aux valeurs de nickel seulement. Pour les stéroïdes sexuels, des relations positives sont présentes presque uniquement avec les teneurs en métaux et particulièrement en ce qui la 11KT chez AA et l'E2 chez AR. Aucune relation n'a été détectée entre les teneurs ovariennes présentées et la GnRH1. Toutefois, deux faibles relations sont présentes avec la GnRH2 chez AR seulement, une négative avec le nickel et une positive avec l'argent.

Ces résultats préliminaires semblent démontrer que les contaminants organiques et inorganiques préalablement bioaccumulés sur le continent puissent être transférés dans les ovaires des anguilles de l'Atlantique en cours de développement sexuel, et qu'ils puissent aussi perturber leur potentiel de reproduction *via* des effets sur l'axe gonadotrope. Les résultats préliminaires sur le transfert ovarien devront être davantage appuyés statistiquement et explorés en lien avec les teneurs hépatiques et

musculaires de même qu'en considérant les différents contaminants organiques. Toutefois, nul doute que les relations présentées dans ces perspectives sont significatives. **Ces résultats préliminaires sur le transfert ovarien des contaminants préalablement accumulés pendant la maturation sexuelle des migrateurs, somme toute, font partie des toutes premières données disponibles chez l'anguille d'Europe (BAILLON et coll., 2015 ; FREESE et coll., 2017) et elles représentent les toutes premières données de cette nature chez l'anguille d'Amérique. Ces résultats semblent en outre être les premiers à établir un lien entre le transfert ovarien des contaminants présents dans les tissus et la neuroendocrinologie associée de l'axe gonadotrope chez les *Anguillidæ*, et à établir un lien avec la progression du développement jusqu'à maturité sexuelle.** Ils ont par ailleurs pour qualité de couvrir un nombre substantiel de contaminants de différentes natures (métallique et organique incluant des contaminants anciennement utilisés et de plus récents tels que les BPC et les PBDE, respectivement) et sont pour plusieurs sur la liste d'intérêt prioritaire de la convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POPs, *persistent organic pollutants*) dû aussi, en partie, à leurs effets connus ou potentiels en tant que perturbateurs endocriniens (EDCs, *endocrine disrupting chemicals*) (BERGMAN et coll., 2013). Ils apportent donc leur appui aux études qui avaient commencé à apporter des éléments de preuve sur le transfert ovarien de contaminants métalliques lors de la maturation artificielle (avec le cadmium) (PIERRON et coll., 2008), sur des effets potentiels des contaminants préalablement accumulés au niveau de la méthylation de l'ADN dans les ovaires d'anguilles prépubères (pour le récepteur de la FSH) (PIERRON et coll., 2014), de même que sur les effets néfastes de contaminants organiques apparentés aux dioxines sur le développement et la survie d'embryons d'anguilles sauvages issues de la reproduction artificielle (PALSTRA et coll., 2006). Les nouvelles informations produites sur le transfert ovarien des contaminants au cours de cette thèse pourraient également servir, pour les anguilles en phase de maturation « finale », à établir des valeurs d'exposition de référence en vue d'élaborer des études visant à documenter l'impact *in vitro* des contaminants sur les œufs d'anguilles obtenus à partir de la reproduction artificielle. **Enfin, cette perspective sur le transfert ovarien des contaminants chez les anguilles de l'Atlantique migrantes en cours de maturation sexuelle, en présence de nombreuses relations significatives avec la neuroendocrinologie de l'axe gonadotrope, pointe dans la direction d'une hypothèse déjà admise, à savoir que la capacité des géniteurs à se reproduire – c.-à-d. produire des œufs de qualité et engendrer une progéniture viable après avoir été aptes à se rendre au lieu de reproduction – soit un facteur potentiel dans le déclin des populations d'anguilles.**

8 BIBLIOGRAPHIE

- AARESTRUP, Kim, Finn ØKLAND, Michael M. HANSEN, David RIGHTON, Patrik GARGAN, Martin CASTONGUAY, Louis BERNATCHEZ, Paul HOWEY, Henrik SPARHOLT, Michael I. PEDERSEN, et Robert S. MCKINLEY (2009). *Oceanic spawning migration of the European eel (Anguilla anguilla)*, Science, vol. 325, p. 1660.
- ABASCAL, Francisco J., et Antonio MEDINA (2005). *Ultrastructure of oogenesis in the bluefin tuna, Thunnus thynnus*, Journal of morphology, vol. 264, p. 149-160.
- ADACHI, Shinji, Shigeho IJIRI, Yukinori KAZETO, et Kōhei YAMAUCHI (2003). *Oogenesis in the Japanese eel, Anguilla japonica* (chap. 21), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 301-317.
- AEAG (2017). *Le bassin Adour-Garonne* [En ligne], Agence de l'eau Adour-Garonne, [www.eau-adour-garonne.fr/fr/qui-sommes-nous/le-bassin-adour-garonne.html] (Consulté le 2 octobre 2018).
- ALBERT, Vicky, Bjardi Jónsson, et Louis BERNATCHEZ (2006). *Natural hybrids in Atlantic eels (Anguilla anguilla, A. rostrata): evidence for successful reproduction and fluctuating abundance in space and time*, Molecular ecology, vol. 15, p. 1903-1916.
- ALS, Thomas D., Michael M. HANSEN, Gregory E. MAES, Martin CASTONGUAY, Lasse RIEMANN, Kim AARESTRUP, Peter MUNK, Henrik SPARHOLT, Reinhold HANEL, et Louis BERNATCHEZ (2011). *All roads lead to home: panmixia of European eel in the Sargasso Sea*, Molecular ecology, vol. 20, p. 1333-1346.
- AOYAMA, Jun (2009). *Life history and evolution of migration in catadromous eels (genus Anguilla)*, Aqua-bioscience monographs, vol. 2, p. 1-42.
- AOYAMA, Jun, et Michael J. MILLER (2003). *The silver eel* (chap. 8), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 107-117.
- ARAI, Takaomi (2014). *Do we protect freshwater eels or do we drive them to extinction?*, SpringerPlus, vol. 3, art. n° 534, 10 p.
- ARAI, Takaomi, Tsuguo OTAKE, et Katsumi TSUKAMOTO (2000). *Timing of metamorphosis and larval segregation of the Atlantic eels Anguilla rostrata and A. anguilla, as revealed by otolith microstructure and microchemistry*, Marine biology, vol. 137, p. 39-45.
- AROUA, Salima, Gersende MAUGARS, Shan-Ru JENG, Ching-Fong CHANG, Finn-Arne WELTZIEN, Karine ROUSSEAU, et Sylvie DUFOUR (2012). *Pituitary gonadotropins FSH and LH are oppositely regulated by the activin/follistatin system in a basal teleost, the eel*, General and comparative endocrinology, vol. 175, p. 82-91.
- AROUA, Salima, Karine ROUSSEAU, Monika SCHMITZ, Ching-Fong CHANG, et Sylvie DUFOUR (2009). *The gonadoliberin(s)-gonadotropin(s) axis in the eel: expression and regulation under induced maturation and sex steroid feedbacks* (chap. 11), dans *Spawning migration of the European eel: reproduction index, a useful tool for conservation management*, sous la direction de Guido van den Thillart, J. Cliff Rankin et Sylvie Dufour, Dordrecht, Springer, p. 253-278.
- AROUA, Salima, Finn-Arne WELTZIEN, Nadine LE BELLE, et Sylvie DUFOUR (2007). *Development of real-time RT-PCR assays for eel gonadotropins and their application to the comparison of in vivo and in vitro effects of sex steroids*, General and comparative endocrinology, vol. 153, p. 333-343.

- AROUA, Salima, Monika SCHMITZ, Sylvie BALOCHE, Bernadette VIDAL, Karine ROUSSEAU, et Sylvie DUFOUR (2005). *Endocrine evidence that silvering, a secondary metamorphosis in the eel, is a pubertal rather than a metamorphic event*, *Neuroendocrinology*, vol. 82, p. 221-232.
- AUBY, Isabelle, Gillet TRUT, Florence D'AMICO, et Benoît BELIAEFF (1999). *Réseau hydrologique du bassin d'Arcachon – Synthèse des résultats 1888-1997*, Institut français de recherche pour l'exploration de la mer – IFREMER/DEL/AR/RST/99, 58 p.
- AVISE, John C. (2003). *Catadromous eels of the North Atlantic: a review of molecular genetic findings relevant to natural history, population structure, speciation, and phylogeny* (chap. 3), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 31-48.
- BABIN, Patrick J., Oliana CARNEVALI, Esther LUBZENS, et Wolfgang J. SCHNEIDER (2007). *Molecular aspects of oocyte vitellogenesis in fish* (chap. 2), dans *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*, sous la direction de Patrick J. Babin, Joan Cerdà et Esther Lubzens, Dordrecht, Springer, p. 39-76.
- BAILLON, Lucie, Jennifer OSES, Fabien PIERRON, Sarah BUREAU DU COLOMBIER, Antoine CARON, Eric NORMANDEAU, Patrick LAMBERT, Patrice COUTURE, Pierre LABADIE, Hélène BUDZINSKI, Sylvie DUFOUR, Louis BERNATCHEZ, et Magalie BAUDRIMONT (2015). *Gonadal transcriptome analysis of wild contaminated female European eels during artificial gonad maturation*, *Chemosphere*, vol. 139, p. 303-309.
- BÉGUER-PON, Mélanie, Shiliang SHAN, Keith R. THOMPSON, Martin CASTONGUAY, Jinyu SHENG, et Julian J. DODSON (2016). *Exploring the role of the physical marine environment in silver eel migrations using a biophysical particle tracking model*, *International Council for the Exploration of the Sea journal of marine science – Journal du Conseil international pour l'exploration de la mer*, art. n° fsv169, 18 p.
- BÉGUER-PON, Mélanie, Martin CASTONGUAY, Shiliang SHAN, José BENCHETRIT, et Julian J. DODSON (2015). *Direct observations of American eels migrating across the continental shelf to the Sargasso Sea*, *Nature communications*, vol. 6, art. n° 8705, 9 p.
- BÉGUER-PON, Mélanie, Martin CASTONGUAY, José BENCHETRIT, Daniel HATIN, Guy VERREAULT, Yves MAILHOT, Valérie TREMBLAY, Denis LEFAIVRE, Michel LEGAULT, David STANLEY, et Julian J. DODSON (2014). *Large-scale migration patterns of silver American eels from the St. Lawrence River to the Gulf of St. Lawrence using acoustic telemetry*, *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, vol. 71, p. 1579-1592.
- BENCHETRIT, José, et James D. MCCLEAVE (2015). *Current and historical distribution of the American eel *Anguilla rostrata* in the countries and territories of the Wider Caribbean*, *International Council for the Exploration of the Sea journal of marine science – Journal du Conseil international pour l'exploration de la mer*, art. n° fsv064, 13 p.
- BENSON, Dennis A., Mark CAVANAUGH, Karen CLARK, Ilene KARSCH-MIZRACHI, James OSTELL, Kim D. PRUITT, et Eric W. SAYERS (2018). *GenBank*, *Nucleic acids research*, vol. 46, p. D41-D47.
- BERGMAN, Åke, Jerrold J. HEINDEL, Susan JOBLING, Karen A. KIDD, et R. Thomas ZOELLER, dir. (2013). *State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012: an assessment of the state of the science of endocrine disruptors prepared by a group of experts for the United Nations Environment Programme (UNEP) and World Health Organization (WHO)*, Genève, UNEP-WHO – Organisation mondiale de la santé, 260 p.

- BLIGH, E.G. et W.J. DYER (1959). *A rapid method of total lipid extraction and purification*, Canadian journal of biochemistry and physiology – Revue canadienne de biochimie et physiologie, vol. 37, p. 911-917.
- BOËTIUS, Inge et Jan BOËTIUS (1985). *Lipid and protein content in Anguilla anguilla during growth and starvation*, Dana, vol. 4, p. 1-17.
- BOËTIUS, Inge et Jan BOËTIUS (1980). *Experimental maturation of female silver eels, Anguilla anguilla: estimates of fecundity and energy reserves for migration and spawning*, Dana, vol. 1, p. 1-28.
- BOËTIUS, Jan (1985). *Greenland eels, Anguilla rostrata Le Sueur*, Dana, vol. 4, p. 41-48.
- BOËTIUS, Jan, Inge BOËTIUS, A.M. HEMMINGSEN, A.F. BRUUN, et E. MØLLER-CHRISTENSEN (1962). *Studies of ovarial growth induced by hormone injections in the European and American eel (Anguilla anguilla L. and Anguilla rostrata Le Sueur)*, Meddelelser fra Danmarks fiskeri – og havundersøgelser, vol. 3, p. 183-198.
- BOUBÉE, Jacques A., Charles P. MITCHELL, Benjamin L. CHISNALL, Dave W. WEST, Eddie J. BOWMAN, et Alex HARO (2001). *Factors regulating the downstream migration of mature eels (Anguilla spp.) at Aniwhenua Dam, Bay of Plenty, New Zealand*, New Zealand journal of marine and freshwater research, vol. 35, p. 121-134.
- BROOKS, Suzanne, Charles R. TYLER, et John P. SUMPTER (1997). *Egg quality in Fish: what makes a good egg?*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 7, p. 387-416.
- BROWN-PETERSON, Nancy J., David M. WYANSKI, Fran SABORIDO-REY, Beverly J. MACEWICZ, et Susan K. LOWERRE-BARBIERI (2011). *A standardized terminology for describing reproductive development in fishes*, Marine and coastal fisheries: dynamics, management, and ecosystem science, vol. 3, p. 52-70.
- BUREAU DU COLOMBIER, Sarah, Louis JACOBS, Charline GESSET, Pierre ELIE, et Patrick LAMBERT (2015). *Ultrasonography as a non-invasive tool for sex determination and maturation monitoring in silver eels*, Fisheries research, vol. 164, p. 50-58.
- BURGERHOUT, Erik, Yuki MINEGISHI, Sebastiaan A. BRITTIJN, Danielle L. DE WIJZE, Christiaan V. HENKEL, Hans J. JANSEN, HERMAN P. SPAINK, Ron P. DIRKS, et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2016). *Changes in ovarian gene expression profiles and plasma hormone levels in maturing European eel (Anguilla anguilla): biomarkers for broodstock selection*, General and comparative endocrinology, vol. 225, p. 185-196.
- BURZAWA-GÉRARD, Elisabeth, Sylvie BALOCHE, Jeanine LELOUP-HÂTEY, Françoise LE MENN, Hafida MESSAOURI, Jesus NÚÑEZ-RODRIGUEZ, Pierre PEYON, et C. ROGER (1994). *Ovogenèse chez l'anguille (Anguilla anguilla L.): Ultrastructure de l'ovaire à différents stades de développement et implication des lipoprotéines au cours de la vitellogenèse*, Bulletin français de la pêche et de la pisciculture, vol. 335, p. 213-233.
- BUTTS, Ian A.E., Sune R. SØRENSEN, Sebastian N. POLITIS, Trevor E. PITCHER, et Jonna TOMKIEWICZ (2014). *Standardization of fertilization protocols for the European eel, Anguilla anguilla*, Aquaculture, vol. 426, p. 9-13.
- BYER, Jonathan D., Michel LEBEUF, Mehran ALAEE, R. Stephen BROWN, Steve TROTTIER, Sean BACKUS, Michael KEIR, Catherine M. COUILLARD, John CASSELMAN, et Peter V. HODSON (2013a). *Spatial trends of organochlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in Atlantic anguillid eels*, Chemosphere, vol. 90, p. 1719-1728.

- BYER, Jonathan D., Mehran ALAEE, R. Stephen BROWN, Michel LEBEUF, Sean BACKUS, Michael KEIR, Grazina PACEPAVICIUS, John CASSELMAN, Claude BELPAIRE, Kenneth OLIVEIRA, Guy VERREAULT, et Peter V. HODSON (2013b). *Spatial trends of dioxin-like compounds in Atlantic anguillid eels*, Chemosphere, vol. 91, p. 1439-1446.
- CAILLON, Aurélien, Sophie VERTES-ZAMBETTAKIS, et Grégory CAZE (2013). *Les prairies du bassin d'Arcachon et du val de l'Eyre (Gironde) : typologie et préconisations de gestion*, Conservatoire botanique national sud-atlantique, 44 p. + annexes.
- CARON, Antoine, Pauline PANNETIER, Maikel ROSABAL, Hélène BUDZINSKI, Mathilde LAUZENT, Pierre LABADIE, Bouchra NASRI, Fabien PIERRON, Magalie BAUDRIMONT, et Patrice COUTURE (2016). *Organic and inorganic contamination impacts on metabolic capacities in American and European yellow eels*, Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques, vol. 73, p. 1557-1566.
- CASSELMAN, John M. (2003). *Dynamics of resources of the American eel, Anguilla rostrata: declining abundance in the 1990s* (chap. 18), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 255-274.
- CASTONGUAY, Martin, Peter V. HODSON, Catherine M. COUILLARD, Mike J. ECKERSLEY, Jean-Denis DUTIL, et Guy VERREAULT (1994a). *Why is recruitment of the American eel, Anguilla rostrata, declining in the St. Lawrence River and Gulf?*, Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques, vol. 51, p. 479-488.
- CASTONGUAY, Martin, Peter V. HODSON, Christopher MORIARTY, Kenneth F. DRINKWATER, et Brian M. JESSOP (1994b). *Is there a role of ocean environment in American and European eel decline?*, Fisheries oceanography, vol. 3, p. 197-203.
- CASTONGUAY, Martin, Jean-Denis DUTIL, Céline AUDET, et Roberta MILLER (1990). *Locomotor activity and concentration of thyroid hormones in migratory and sedentary juvenile American eels*, Transactions of the American Fisheries Society, vol. 119, p. 946-956.
- CERDÀ, Joan (2009). *Molecular pathways during marine fish egg hydration: the role of aquaporins*, Journal of fish biology, vol. 75, p. 2175-2196.
- CERDÀ, Joan, Mercedes FABRA, et Demetrio RALDÚA (2007). *Physiological and molecular basis of fish oocyte hydration* (chap. 12), dans *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*, sous la direction de Patrick J. Babin, Joan Cerdà et Esther Lubzens, Dordrecht, Springer, p. 349-396.
- CHEN, Jhen-Nien, J. Andrés LÓPEZ, Sébastien LAVOUÉ, Masaki MIYA, et Wei-Jen CHEN (2014). *Phylogeny of the Elopomorpha (Teleostei): evidence from six nuclear and mitochondrial markers*, Molecular phylogenetics and evolution, vol. 70, p. 152-161.
- CHOW, Seinen, Hiroaki KUROGI, Noritaka MOCHIOKA, Shunji KAJI, Makoto OKAZAKI, et Katsumi TSUKAMOTO (2009). *Discovery of mature freshwater eels in the open ocean*, Fisheries science, vol. 75, p. 257-259.
- CHURCHER, Allison M., José M. PUJOLAR, Massimo MILAN, Peter C. HUBBARD, Rute ST MARTINS, João L. SARAIVA, Mar HUERTAS, Luca BARGELLONI, Tomaso PATARNELLO, Ilaria A.M. MARINO, Lorenzo ZANE, et Adelino V.W. CANÁRIO (2014). *Changes in the gene expression profiles of the brains of male European eels (Anguilla anguilla) during sexual maturation*, BMC Genomics, vol. 15, art. n° 799, 13 p.

- CIEM–CECPI (2009a). *Report of the 2009 session of the Joint EIFAC/ICES Working group on eels (WGEEL)*, Conseil international pour l'exploration de la mer et Commission européenne consultative pour les pêches dans les eaux intérieures, Göteborg, 7-12 septembre 2009, 117 p.
- CIEM–CECPI (2009b). *Workshop on age reading of European and American eel (WKAREA)*, Conseil international pour l'exploration de la mer et Commission européenne consultative pour les pêches dans les eaux intérieures, Bordeaux, 20-24 avril 2009, 63 p.
- CIEM–CECPI (2009c). *Annex 4: manual for the ageing of Atlantic eel – otolith preparation methodologies, age interpretation and image storage (produced by the participants of the WKAREA 2009)*, Conseil international pour l'exploration de la mer et Commission européenne consultative pour les pêches dans les eaux intérieures, Bordeaux, 20-24 avril 2009, 57 p.
- CIEM–CECPI (2006). *Report of the 2006 session of the Joint EIFAC/ICES Working group on eels*, Conseil international pour l'exploration de la mer et Commission européenne consultative pour les pêches dans les eaux intérieures, Rome, 23-27 janvier 2006, 352 p.
- CLEVESTAM, Patrik D., Martin OGONOWSKI, Niklas B. SJÖBERG, et Håkan WICKSTRÖM (2011). *Too short to spawn? Implications of small body size and swimming distance on successful migration and maturation of the European eel *Anguilla anguilla**, Journal of fish biology, vol. 78, p. 1073-1089.
- COLOMBO, Giuseppe, Gilberto GRANDI, et Remigio ROSSI (1984). *Gonad differentiation and body growth in *Anguilla anguilla* L.*, Journal of fish biology, vol. 24, p. 215-228.
- CORRIERO, Aldo, Franca ACONTE, Salvatore DESANTIS, Dolores ZUBANI, Michele DEFLORIO, Gianluca VENTRIGLIA, Christopher R. BRIDGES, Mario LABATE, Giovanni PALMIERI, Brian G. MCALLISTER, David E. KIME, et Gregorio De METRIO (2004). *Histological and immunohistochemical investigation on ovarian development and plasma estradiol levels in the swordfish (*Xiphias gladius* L.)*, European journal of histochemistry – EJH, vol. 48, p. 413-422.
- CÔTÉ, Caroline L., Pierre-Alexandre GAGNAIRE, Vincent BOURRET, Guy VERREAULT, Martin CASTONGUAY, et Louis BERNATCHEZ (2013). *Population genetics of the American eel (*Anguilla rostrata*): $F_{ST} = 0$ and North Atlantic Oscillation effects on demographic fluctuations of a panmictic species*, Molecular ecology, vol. 22, p. 1763-1776.
- COTTRILL, R. Adam, R. Scott MCKINLEY, et Glen VAN DER KRAAK (2002). *An examination of utilizing external measures to identify sexually maturing female American eels, *Anguilla rostrata*, in the St. Lawrence River*, Environmental biology of fishes, vol. 65, p. 271-287.
- COTTRILL, R. Adam, R. Scott MCKINLEY, Glen VAN DER KRAAK, Jean-Denis DUTIL, Kevin B. REID, and Kevin J. MCGRATH (2001). *Plasma non-esterified fatty acid profiles and 17β -oestradiol levels of juvenile immature and maturing adult American eels in the St. Lawrence River*, Journal of fish biology, vol. 59, p. 364-379.
- COUILLARD, Catherine M., Guy VERREAULT, Pierre DUMONT, David STANLEY, et Ron THREADER (2014). *Assessment of fat reserves adequacy in the first migrant silver American eels of a large-scale stocking experiment*, North American journal of fisheries management, vol. 34, p. 802-813.
- COUILLARD, Catherine M., Peter V. HODSON, et Martin CASTONGUAY (1997). *Correlations between pathological changes and chemical contamination in American eels, *Anguilla rostrata*, from the St. Lawrence River*, Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques, vol. 54, p. 1916-1927.
- DAVERAT, Françoise, Karin E. LIMBURG, Isabel THIBAUT, Jen-Chieh SHIAO, Julian J. DODSON, François CARON, Wann-Nian TZENG, Yoshiyuki IIZUKA, et Håkan WICKSTRÖM (2006).

Phenotypic plasticity of habitat use by three temperate eel species, Anguilla anguilla, A. japonica and A. rostrata, Marine ecology progress series, vol. 308, p. 231-241.

- DAVEY, Andrew J.H., et Donald J. JELLYMAN (2005). *Sex determination in freshwater eels and management options for manipulation of sex*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 15, p. 37-52.
- DĘBOWSKA, Marta, Joanna NOWOSAD, Katarzyna TARGOŃSKA, Daniel ŻARSKI, Maria BIŁAS, Joanna ŁUCZYŃSKA, et Dariusz KUCHARCZYK (2015). *Fecundity of migrating European eel (Anguilla anguilla) from Polish waters*, Italian journal of animal science, vol. 14, art. n° 3898, 6 p.
- DE COEN, Wim, et Colin R. JANSSEN (2003). *The missing biomarker link: relationships between effects on the cellular energy allocation biomarker of toxicant-stressed Daphnia magna and corresponding population characteristics*, Environmental toxicology and chemistry, vol. 22, p. 1632-1641.
- DEKKER, Willem (2003a). *Did lack of spawners cause the collapse of the European eel, Anguilla anguilla?*, Fisheries management and ecology, vol. 10, p. 365-376.
- DEKKER, Willem (2003b). *Status of the European eel stock and fisheries* (chap. 17), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 237-254.
- DEKKER, Willem, John M. CASSELMAN, David K. CAIRNS, Katsumi TSUKAMOTO, Don JELLYMAN, et Henry LICKERS (2003). *Worldwide decline of eel resources necessitates immediate action: Québec declaration of concern*, Fisheries, vol. 28, p. 28-30.
- DE LAFONTAINE, Yves, Pierre GAGNON, et Bernard CÔTÉ (2010). *Abundance and individual size of American eel (Anguilla rostrata) in the St. Lawrence River over the past four decades*, Hydrobiologia, vol. 647, p. 185-198.
- DIRKS, Ron P., Erik BURGERHOUT, Sebastiaan A. BRITTIJN, Danielle L. DE WIJZE, Hulya OZUPEK, Nynke TUINHOF-KOELMA, Yuki MINEGISHI, Susanne A. JONG-RAADSEN, Herman P. SPAINK, et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2014). *Identification of molecular markers in pectoral fin to predict artificial maturation of female European eels (Anguilla anguilla)*, General and comparative endocrinology, vol. 204, p. 267-276.
- DIVERS, Sean L., H. James MCQUILLAN, Hajime MATSUBARA, Takashi TODO, et P. Mark LOKMAN (2010). *Effects of reproductive stage and 11-ketotestosterone on LPL mRNA levels in the ovary of the shortfinned eel*, Journal of lipid research, vol. 51, p. 3250-3258.
- DOU, Shuo-Zeng, Yoshiaki YAMADA, Akihiro OKAMURA, Akira SHINODA, Satoru TANAKA, et Katsumi TSUKAMOTO (2008). *Temperature influence on the spawning performance of artificially-matured Japanese eel, Anguilla japonica, in captivity*, Environmental biology of fishes, vol. 82, p. 151-164.
- DROUINEAU, Hilaire, Caroline DURIF, Martin CARTONGUAY, Maria MATEO, Eric ROCHARD, Guy VERREAULT, Kazuki YOKOUCHI, et Patrick LAMBERT (2018). *Freshwater eels: a symbol of the effects of global change*, Fish and fisheries, vol. 19, p. 903-930.
- DUFOUR, Sylvie, et Karine ROUSSEAU (2007). *Neuroendocrinology of fish metamorphosis and puberty: evolutionary and ecophysiological perspectives*, Journal of marine science and technology – Taiwan, vol. 15S, p. 55-68.
- DUFOUR, Sylvie, Marie-Emilie SÉBERT, Finn-Arne WELTZIEN, Karine ROUSSEAU, et Catherine PASQUALINI (2010). *Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction*, Journal of fish biology, vol. 76, p. 129-160.

- DUFOUR, Sylvie, Elisabeth BURZAWA-GÉRARD, Nadine LE BELLE, Miskal SBAIHI, et Bernadette VIDAL (2003). *Reproductive endocrinology of the European eel, Anguilla anguilla* (chap. 25), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 373-383.
- DUFOUR, Sylvie, Maïté MONTERO, Nadine LE BELLE, Marc BASSOMPIERRE, Judy A. KING, Robert P. MILLAR, Richard E. PETER, et Yves-Alain FONTAINE (1993). *Differential distribution and response to experimental sexual maturation of two forms of brain gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the European eel, Anguilla anguilla*, *Fish physiology and biochemistry*, vol. 11, p. 99-106.
- DUFOUR, Sylvie, Nadine DELERUE-LE BELLE, et Yves-Alain FONTAINE (1983a). *Development of a heterologous radioimmunoassay for eel (Anguilla anguilla) gonadotropin*, *General and comparative endocrinology*, vol. 49, p. 404-413.
- DUFOUR, Sylvie, Nadine DELERUE-LE BELLE, et Yves-Alain FONTAINE (1983b). *Effects of steroid hormones on pituitary immunoreactive gonadotropin in European freshwater eel, Anguilla anguilla L.*, *General and comparative endocrinology*, vol. 52, p. 190-197.
- DURIF, Caroline M.F., Sylvie DUFOUR, et Pierre ELIE (2006). *Impact of silvering stage, age, body size and condition on reproductive potential of the European eel*, *Marine ecology progress series*, vol. 327, p. 171-181.
- DURIF, Caroline M.F., Sylvie DUFOUR, et Pierre ELIE (2005). *The silvering process of Anguilla anguilla: a new classification from the yellow resident to the silver migrating stage*, *Journal of fish biology*, vol. 66, p. 1025-1043.
- ECCC (2017). *Fleuve Saint-Laurent – cours d'eau* [En ligne], Environnement et changement climatique Canada, [ec.gc.ca/stl/default.asp?Lang=Fr&n=F46CF5F8C1] (Consulté le 2 octobre 2018).
- EDEL, R.K. (1975). *The induction of maturation of female American eels through hormone injections*, *Helgoländer wissenschaftliche meeresuntersuchungen*, vol. 27, p. 131-138.
- EDELIN, Eric, Sylvie DUFOUR, Cédric BRIAND, Denis FATIN, et Pierre ELIE (2004). *Thyroid status is related to migratory behavior in Anguilla anguilla glass eels*, *Marine ecology progress series*, vol. 282, p. 261-270.
- EGE, Vilhelm (1939). *A revision of the genus Anguilla Shaw: a systematic, phylogenetic and geographical study*, *Dana report n° 16*, p. 1-256.
- ELDRIDGE, Maxwell B., Jeanne D. JOSEPH, Karen M. TABERSKI, Gloria T. SEABORN (1983). *Lipid and fatty acid composition of the endogenous energy sources of striped bass (Morone saxatilis) eggs*, *Lipids*, vol. 18, p. 510-513.
- ELDRIDGE, Maxwell B., Jeannette A. WHIPPLE, et Michael J. BOWERS (1982). *Bioenergetics and growth of striped bass, Morone saxatilis, embryos and larvae*, *Fishery bulletin* (Washington, D.C.: 1971), vol. 80, p. 461-474.
- ENDO, Taku, Takashi TODO, P. Mark LOKMAN, Hideaki KUDO, Shigeho IJIRI, Shinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (2011). *Androgens and very low density lipoprotein are essential for the growth of previtellogenic oocytes from Japanese eel, Anguilla japonica, in vitro*, *Biology of reproduction*, vol. 84, p. 816-825.
- FEUNTEUN, Eric, Pascal LAFFAILLE, Tony ROBINET, Cédric BRIAND, Aurore BAISEZ, Jean-Michel OLIVIER, et Antony ACOU (2003). *A review of upstream migration and movements in inland waters by anguillid eels: toward a general theory* (chap. 14), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 191-213.

- FINN, Roderick Nigel, et Børge A. KRISTOFFERSEN (2007). *Vertebrate vitellogenin gene duplication in relation to the “3R Hypothesis”: correlation to the pelagic egg and the oceanic radiation of teleosts*, PLOS One, vol. 2, art. n° e169, 12 p.
- FLOYD, Alton D. (2008). *Quantitative data from microscopic specimens* (chap. 31), dans *Theory and practice of histological techniques*, 6^e éd., sous la direction de John D. Bancroft et Marylin Gamble, Philadelphia, Elsevier, p. 641-659.
- FONTAINE, Maurice (1936). *Sur la maturation complète des organes génitaux de l'anguille mâle et l'émission spontanée de ses produits sexuels*, Comptes rendus de l'Académie des sciences, vol. 202, p. 1312-1314.
- FONTAINE, Maurice, E. BERTRAND, E. LOPEZ, et O. CALLAMAND (1964). *Sur la maturation des organes génitaux de l'anguille femelle (Anguilla anguilla L.) et l'émission spontanée des œufs en aquarium*, Comptes rendus de l'Académie des sciences, vol. 259, p. 2907-2910.
- FREESE, Marko, Roxana SÜHRING, Lasse MAROHN, Jan-Dag POHLMANN, Hendrik WOLSCHKE, Jonathan D. BYER, Mehran ALAEE, Ralf EBINGHAUS, et Reinhold HANEL (2017). *Maternal transfer of dioxin-like compounds in artificially matured European eels*, Environmental pollution, vol. 227, p. 348-356.
- FROESE, Rainer (2006). *Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations*, Journal of applied ichthyology – Zeitschrift für angewandte ichthyologie, vol. 22, p. 241-253.
- FROESE, Rainer, et Daniel PAULY, dir. (2018). *FishBase* [En ligne], World wide web electronic publication, version 06.2018, [www.fishbase.org] (Consulté le 24 juillet 2018).
- FUZZEN, Meghan L.M., Nicholas J. BERNIER, et Glen VANDER KRAAK (2011). *Stress and reproduction* (Chap. 6), dans *Hormones and reproduction of vertebrates, volume 1: fishes*, 1^e éd., sous la direction de David O. Norris et Kristin H. Lopez, San Diego, Academic press, p. 103-117.
- GAMBLE, Marylin (2008). *The hematoxylin and eosin* (chap.9), dans *Theory and practice of histological techniques*, 6^e éd., sous la direction de John D. Bancroft et Marylin Gamble, Philadelphia, Elsevier, p. 121-134.
- GEERAERTS, Caroline, et Claude BELPAIRE (2010). *The effects of contaminants in European eel: a review*, Ecotoxicology, vol. 19, p. 239-266.
- GEFFROY, Benjamin, Yann GUIGUEN, Alexis FOSTIER, et Agnès BARDONNET (2013). *New insights regarding gonad development in European eel: evidence for a direct ovarian differentiation*, Fish physiology and biochemistry, vol. 39, p. 1129-1140.
- GENTEN, Franck, Eddy TERWINGHE, et André DANGUY (2011). *Histologie illustrée du poisson*, Versailles, Éditions Quæ, 505 p.
- GHITTINO, P., J.S. GLENN, et F.G. SMITH (1975). *Studies on hormonal induction of gonadal development in American eel (Anguilla rostrata)*, Rivista italiana di piscicoltura e ittiopatologia, vol. 10, p. 75-83.
- GIBBONS, Jean Dickinson, et Subhabrata CHAKRABORTI (2003). *Nonparametric statistical inference*, 4^e éd., New York, Marcel Dekker Inc., 645 p.
- GOODMAN, Janes M., Nicholas R. DUNN, Peter J. RAVENSCROFT, Richard M. ALLIBONE, Jacques A.T. BOUBÉE, Bruno O. DAVID, Marc GRIFFITHS, Nicholas LING, Rodney A. HITCHMOUGH, et Jeremy R. ROLFE (2014). *Conservation status of New Zealand freshwater*

fish, 2013 – New Zealand threat classification series 7, Wellington, New Zealand department of conservation, 12 pp.

GRIZZLE, William E., Jerry L. FREDENBURGH, et Russell B. MYERS (2008). *Fixation of tissues* (chap. 4), dans *Theory and practice of histological techniques*, 6^e éd., sous la direction de John D. Bancroft et Marylin Gamble, Philadelphia, Elsevier, p. 53-74.

HAN, Yu-San, I-Chiu LIAO, Yung-Sen HUANG, Je-Tung HE, Chih-Wei CHANG, et Wann-Nian TZENG (2003a). *Synchronous changes of morphology and gonadal development of silvering Japanese eel *Anguilla japonica**, *Aquaculture*, vol. 219, p. 783-796.

HAN, Yu-San, I-Chiu LIAO, Yung-Sen HUANG, Wann-Nian TZENG, et John Yuh-Lin YU (2003b). *Profiles of PGH- α , GTH I- β , and GTH II- β mRNA transcript levels at different ovarian stages in the wild female Japanese eel *Anguilla japonica**, *General and comparative endocrinology*, vol. 133, p. 8-16.

HAN, Yu-San, I-Chiu LIAO, Wann-Nian TZENG, Yung-Sen HUANG, et John Yuh-Lin YU (2003c). *Serum estradiol-17 β and testosterone levels during silvering in wild Japanese eel *Anguilla japonica**, *Comparative biochemistry and physiology, part B, biochemistry and molecular biology*, vol. 136, p. 913-920.

HUANG, Hai, Yong ZHANG, Wei Ren HUANG, Shui Sheng LI, Pei ZHU, Yun LIU, Shao Wu YIN, Xiao Chun LIU, et Hao Ran LIN (2009). *Molecular characterization of marbled eel (*Anguilla marmorata*) gonadotropin subunits and their mRNA expression profiles during artificially induced gonadal development*, *General and comparative endocrinology*, vol. 162, p. 192-202.

HUANG, Yung-Sen (1998). *Rôle des stéroïdes sexuels et des hormones métaboliques dans le contrôle direct hypophysaire de l'hormone gonadotrope (GTH-II) chez l'anguille européenne, *Anguilla anguilla**, Thèse (Ph. D.), Université Paris VI, 203 p.

HUANG, Yung-Sen, Karine ROUSSEAU, Miskal SBABHI, Nadine LE BELLE, Monika SCHMITZ, et Sylvie DUFOUR (1999). *Cortisol selectively stimulates pituitary gonadotropin β -subunit in a primitive teleost, *Anguilla anguilla**, *Endocrinology*, vol. 140, p. 1228-1235.

HUANG, Yung-Sen, Karine ROUSSEAU, Nadine LE BELLE, Bernadette VIDAL, Elisabeth BURZAWA-GÉRARD, Jacques MARCHELIDON, et Sylvie DUFOUR (1998). *Insulin-like growth factor-I stimulates gonadotrophin production from eel pituitary cells: a possible metabolic signal for induction of puberty*, *Journal of endocrinology*, vol. 159, p. 43-52.

HUERTAS, Mar, Adelino V.M. CANÁRIO, et Peter C. HUBBARD (2008). *Chemical communication in the genus *Anguilla*: a minireview*, *Behaviour*, vol. 145, p. 1389-1407.

HUERTAS, Mar, Alexander P. SCOTT, Peter C. HUBBARD, Adelino V.M. CANÁRIO, et Joan CERDÀ (2006). *Sexually mature European eels (*Anguilla anguilla* L.) stimulate gonadal development of neighbouring males: possible involvement of chemical communication*, *General and comparative endocrinology*, vol. 147, p. 304-313.

IBÁÑEZ, Antonio José, Julia PEINADO-ONSURBE, Elisa SÁNCHEZ, José Miguel CERDÁ-REVERTER, et Francisco PRAT (2008). *Lipoprotein lipase (LPL) is highly expressed and active in the ovary of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), during gonadal development*, *Comparative biochemistry and physiology, part A, molecular and integrative physiology*, vol. 150, p. 347-354.

IBÁÑEZ, Antonio José, Julia PEINADO-ONSURBE, Elisa SÁNCHEZ, et Francisco PRAT (2003). *The role of lipoprotein lipase (LPL) in the incorporation of neutral lipids into the oocytes of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) during gonadal development*, *Fish physiology and biochemistry*, vol. 28, p. 291-293.

- IJIRI, Shigeho, Karsumi TSUKAMOTO, Seinen CHOW, Hiroaki KUROGI, Shinji ADACHI, et Hideki TANAKA (2011). *Controlled reproduction in the Japanese eel (Anguilla japonica), past and present*, Aquaculture europe, vol. 36, p. 13-17.
- IMBERT, H el ene, Rory ARROWSMITH, Sylvie DUFOUR, et Pierre ELIE (2008). *Relationships between locomotor behavior, morphometric characters and thyroid hormone levels give evidence of stage-dependent mechanisms in European eel upstream migration*, Hormones and behavior, vol. 53, p. 69-81.
- INOUE, Jun G., Masaki MIYA, Michael J. MILLER, Tetsuya SADO, Reinhold HANEL, Kiyotaka HATOOKA, Jun AOYAMA, Yuki MINEGISHI, Mutsumi NISHIDA, et Katsumi TSUKAMOTO (2010). *Deep-ocean origin of the freshwater eels*, Biology letters, vol. 6, p. 363-366.
- INOUE, Jun G., Masaki MIYA, Katsumi TSUKAMOTO, et Mutsumi NISHIDA (2004). *Mitogenomic evidence for the monophyly of elopomorph fishes (Teleostei) and the evolutionary origin of the leptocephalus larva*, Molecular phylogenetics and evolution, vol. 32, p. 274-286.
- JACOBY, David M.P., John M. CASSELMAN, Mari-Beth DELUCIA, et Matthew J. GOLLOCK (2017). *Anguilla rostrata*, The IUCN red list of threatened species, version 2017.3, doi 10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T191108A121739077.en (Consult e le 3 juillet 2018).
- JACOBY, David M.P., John M. CASSELMAN, Vicki CROOK, Mari-Beth DELUCIA, Hyojin AHN, Kenzo KAIFU, Tagried KURWIE, Pierre SASAL, Anders M.C. SILFVERGRIP, Kevin G. SMITH, Kazuo, UCHIDA, Alan M. WALKER, et Matthew J. GOLLOCK (2015). *Synergistic patterns of threat and the challenges facing global anguillid eel conservation*, Global ecology and conservation, vol. 4, p. 321-333.
- JACOBY, David M.P., et Matthew GOLLOCK (2014a). *Anguilla anguilla*, The IUCN red list of threatened species, version 2014.1, doi 10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T60344A45833138.en (Consult e le 3 juillet 2018).
- JACOBY, David M.P., et Matthew GOLLOCK (2014b). *Anguilla japonica*, The IUCN red list of threatened species, version 2014.1, doi 10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T166184A1117791.en (Consult e le 3 juillet 2018).
- JALABERT, Bernard (2005). *Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals*, Reproduction, nutrition, development, vol. 45, p. 261-279.
- J EHANNET, Pauline, Leon T.N. HEINSBROEK, et Arjan P. PALSTRA (2017). *Ultrasonography to assist with timing of spawning in European eel*, Theriogenology, vol. 101, p. 73-80.
- JELLYMAN, Donald J. (2014). *Freshwater eels and people in New Zealand: a love/hate relationship* (chap. 10), dans *Eels and humans*, sous la direction de Katsumi Tsukamoto et Mari Kuroki, Tokyo, Springer, p. 143-153.
- JELLYMAN, Donald J. (2003). *The distribution and biology of the South Pacific species of Anguilla* (chap. 19), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et K ohei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 275-292.
- JELLYMAN, Donald J., et Melissa M. BOWEN (2009). *Modelling larval migration routes and spawning areas of anguillid eels of New Zealand and Australia*, American Fisheries Society symposium, vol. 69, p. 255-274.
- JELLYMAN, Donald, J., et Katsumi TSUKAMOTO (2010). *Vertical migrations may control maturation in migrating female Anguilla dieffenbachii*, Marine ecology progress series, vol. 404, p. 241-247.

- JELLYMAN, Donald J., et Katsumi TSUKAMOTO (2005). *Swimming depths of offshore migrating longfin eels *Anguilla dieffenbachii**, Marine ecology progress series, vol. 286, p. 261-267.
- JELLYMAN, Donald J., et Katsumi TSUKAMOTO (2002). *First use of archival transmitters to track migrating freshwater eels *Anguilla dieffenbachii* at sea*, Marine ecology progress series, vol. 233, p. 207-215.
- JELLYMAN, Donald J., Benjamin L. CHISNALL, Lucette H. DIJKSTRA, et Jacques A.T. BOUBÉE (1996). *First record of the Australian longfinned eel, *Anguilla reinhardtii*, in New Zealand*, Marine and freshwater research, vol. 47, p. 1037-1040.
- JENG, Shan-Ru, Wen-Shiun YUEH, Yi-Ting PEN, Yan-Horn LEE, Guan-Ru CHEN, Sylvie DUFOUR, et Ching-Fong CHANG (2014). *Neuroendocrine gene expression reveals a decrease in dopamine D2B receptor with no changes in GnRH system during prepubertal metamorphosis of silvering in wild Japanese eel*, General and comparative endocrinology, vol. 206, p. 8-15.
- JENG, Shan-Ru, Jeremy PASQUIER, Wen-Shiun YUEH, Guan-Ru CHEN, Yan-Horn LEE, Sylvie DUFOUR, et Ching-Fong CHANG (2012). *Differential regulation of the expression of cytochrome P450 aromatase, estrogen and androgen receptor subtypes in the brain-pituitary-ovarian axis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) reveals steroid dependent and independent mechanisms*, General and comparative endocrinology, vol. 175, p. 163-172.
- JENG, Shan-Ru, Wen-Shiun YUEH, Guan-Ru CHEN, Yan-Horn LEE, Sylvie DUFOUR, et Ching-Fong CHANG (2007). *Differential expression and regulation of gonadotropins and their receptors in the Japanese eel, *Anguilla japonica**, General and comparative endocrinology, vol. 154, p. 161-173.
- JESSOP, Brian M. (2018). *American eel fecundity and ovary maturation in relation to body size and geographic distribution*, Marine and coastal fisheries: dynamics, management, and ecosystem science, vol. 10, p. 169-189.
- JESSOP, Brian M. (2010). *Geographic effects on American eel (*Anguilla rostrata*) life history characteristics and strategies*, Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques, vol. 67, p. 326-346.
- JESSOP, Brian M. (1987). *Migrating American eels in Nova Scotia*, Transactions of the American Fisheries Society, vol. 116, p. 161-170.
- JOLLY, Cécile, Karine ROUSSEAU, Laurent PRÉZEAU, Claire VOL, Jonna TOMKIEWICZ, Sylvie DUFOUR, et Catherine PASQUALINI (2016). *Functional characterization of eel dopamine D2 receptors and involvement in the direct inhibition of pituitary gonadotrophins*, Journal of neuroendocrinology, vol. 28, art. n° 12411, 15 p.
- KAGAWA, Hirohiko, Yasuhiro HORIUSHI, Yosuke KASUGA, et Takafumi KISHI (2009). *Oocyte hydration in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) during meiosis resumption and ovulation*, Journal of experimental zoology, part A, ecological and integrative physiology, vol. 311, p. 752-762.
- KAH, Olivier, et Sylvie Dufour (2011). *Conserved and divergent features of reproductive neuroendocrinology in teleost fishes* (Chap. 2), dans *Hormones and reproduction of vertebrates, volume 1: fishes*, 1^{re} éd., sous la direction de David O. Norris et Kristin H. Lopez, San Diego, Academic press, p. 15-42.
- KAMLER, Ewa (2005). *Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 15, p. 389-421.
- KAMLER, Ewa (1992). *Early life history of fish: an energetics approach*, 1^{re} éd., Londres, Chapman & Hall, 267 p.

- KARAKULAK, Firdes S., Tülay AKAYLI, Isik K. ORAY, et Remziye E. YARDIMCI (2016). *Ovarian development of albacore (Thunnus alalunga Bonnaterre, 1788) in the Eastern Mediterranean Sea: a histological characterisation*, Zeitschrift für angewandte ichthyologie – Journal of applied ichthyology, vol. 32, p. 589-594.
- KAZETO, Yukinori, Mayuko KOHARA, Ryota TOSAKA, Koichiro GEN, Masahito YOKOYAMA, Chiemi MIURA, Takeshi MIURA, Shinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (2012). *Molecular characterization and gene expression of Japanese eel (Anguilla japonica) gonadotropin receptors*, Zoological science, vol. 29, p. 204-211.
- KAZETO, Yukinori, Ryota TOSAKA, Hajime MATSUBARA, Shigeho IJIRI, et Shinji ADACHI (2011). *Ovarian steroidogenesis and the role of sex steroid hormones on ovarian growth and maturation of the Japanese eel*, Journal of steroid biochemistry & molecular biology, vol. 127, p. 149-154.
- KAY, Matthew, et Jacob O. WOBBEROCK (2016). *ARTool: aligned rank transform for nonparametric factorial ANOVAs*, R package version 0.10.0, [github.com/mjskay/ARTool].
- KAYABA, Takaaki, Noriko TAKEDA, Shinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (2001). *Ultrastructure of the oocytes of the Japanese eel Anguilla japonica during artificially induced sexual maturation*, Fisheries science, vol. 67, p. 870-879.
- KJESBU, Olav S., Anders THORSEN, et Merete FONN (2011). *Quantification of primary and secondary oocyte production in Atlantic cod by simple oocyte packing density theory*, Marine and coastal fisheries: dynamics, management, and ecosystem science, vol. 3, p. 92-105.
- KORESSAAR, Triinu, et Mairo REMM (2007). *Enhancements and modifications of primer design program Primer3*, Bioinformatics, vol. 23, p. 1289-1291.
- KUROKI, Mari, Lasse MAROHN, Klaus WYSUJACK, Michael J. MILLER, Katsumi TSUKAMOTO, et Reinhold HANEL (2017). *Hatching time and larval growth of Atlantic eels in the Sargasso Sea*, Marine biology, vol. 164, art. n° 118, 7 p.
- KUROKI, Mari, David RIGHTON, et Alan M. WALKER (2014a). *The importance of anguillids: a cultural and historical perspective introducing papers from the World fisheries congress*, Ecology of freshwater fish, vol. 23, p. 2-6.
- KUROKI, Mari, Martien J.P. VAN OIJEN, et Katsumi TSUKAMOTO (2014b). *Eels and the Japanese: an inseparable, long-standing relationship* (chap. 6), dans *Eels and humans*, sous la direction de Katsumi Tsukamoto et Mari Kuroki, Tokyo, Springer, p. 91-108.
- LAFONT, Anne-Gaëlle, Karine ROUSSEAU, Jonna TOMKIEWICZ, et Sylvie DUFOUR (2016). *Three nuclear and two membrane estrogen receptors in basal teleosts, Anguilla sp.: identification, evolutionary history and differential expression regulation*, General and comparative endocrinology, vol. 235, p. 177-191.
- LARSSON, Per, Stellan F. HAMRIN, et Lennart OKLA (1990). *Fat content as a factor inducing migratory behavior in the eel (Anguilla anguilla L.) to the Sargasso Sea*, Die naturwissenschaften, vol. 77, p. 488-490.
- LAUDET, Vincent (2011). *The origins and evolution of vertebrate metamorphosis*, Current biology, vol. 21, p. R726-R737.
- LECOMTE-FINIGER, Raymonde (1992). *Growth history and age at recruitment of European glass eel (Anguilla anguilla) as revealed by otolith microstructure*, Marine biology, vol. 114, p. 205-210.
- LE CREN, Eric David (1951). *The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in perch (Perca fluviatilis)*, Journal of animal ecology, vol. 20, p. 201-219.

- LE MENN, Françoise, Joan CERDÀ, et Patrick J. BABIN (2007). *Ultrastructural aspects of the ontogeny and differentiation of ray-finned fish ovarian follicles* (chap. 1), dans *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*, sous la direction de Patrick J. Babin, Joan Cerdà et Esther Lubzens, Dordrecht, Springer, p. 1-37.
- LE MOINE, Olivier (2013). *Bassins versants et débits des principaux fleuves des pertuis charentais*, Institut français de recherche pour l'exploration de la mer – IFREMER/ODE/LER/LERPC, 26 p.
- LENTH, Russell V. (2016). *Least-squares means: the R package lsmeans* [version 2.22], Journal of statistical software, vol. 69, p. 1-33.
- LESSIG, V. Parker (1972). *Comparing cluster analyses with cophenetic correlation*, Journal of marketing research, vol. 9, p. 82-84.
- LÉVÊQUE, Christian, dir. (2011). *Vers une approche multicritère du bon état écologique des grands estuaires Seine, Loire et Gironde – rapport de synthèse*, Groupement d'intérêt public Seine-aval, Projet BEEST, 100 p.
- LOKMAN, Pieter Mark, et Graham YOUNG (2000). *Induced spawning and early ontogeny of New Zealand freshwater eels (*Anguilla dieffenbachii* and *A. australis*)*, New Zealand journal of marine and freshwater research, vol. 34, p. 135-145.
- LOKMAN, Pieter Mark, Matthew J. WYLIE, Matthew DOWNES, Andrea DI BIASE, et Erin L. DAMSTEEGT (2015). *Artificial induction of maturation in female silver eels, *Anguilla australis*: the benefits of androgen pre-treatment*, Aquaculture, vol. 437, p. 111-119.
- LOKMAN, Pieter Mark, Kataraina A.N. GEORGE, Sean L. DIVERS, Michael ALGIE, et Graham YOUNG (2007). *11-Ketotestosterone and IGF-I increase the size of previtellogenic oocytes from shortfinned eel, *Anguilla australis*, in vitro*, Reproduction, vol. 133, p. 955-967.
- LOKMAN, Pieter Mark, Detlef H. ROHR, Peter S. DAVIE, et Graham YOUNG (2003). *The physiology of silvering in anguillid eels: androgens and control of metamorphosis from the yellow to silver stage* (chap. 23), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 331-349.
- LOKMAN, Pieter Mark, Robert T. WASS, HAYLEY C. SUTER, Stephen G. SCOTT, Karen F. JUDGE, et Graham YOUNG (2001). *Changes in steroid hormone profiles and ovarian histology during salmon pituitary-induced vitellogenesis and ovulation in female New Zealand longfinned eels, *Anguilla dieffenbachii* Gray*, Journal of experimental zoology, vol. 289, p. 119-129.
- LOKMAN, Pieter Mark, Gerard J. VERMEULEN, Jan G.D. LAMBERT, et Graham YOUNG (1998). *Gonad histology and plasma steroid profiles in wild New Zealand freshwater eels (*Anguilla dieffenbachii* and *A. australis*) before and at the onset of the natural spawning migration. I. Females*, Fish physiology and biochemistry, vol. 19, p. 325-338.
- LOWERRE-BARBIERI, Susan K., Nancy J. BROWN-PETERSON, Hilario MURUA, Jonna TOMKIEWICZ, David M. WYANSKI, et Fran SABORIDO-REY (2011a). *Emerging issues and methodological advances in fisheries reproductive biology*, Marine and coastal fisheries: dynamics, management, and ecosystem science, vol. 3, p. 32-51.
- LOWERRE-BARBIERI, Susan K., Konstantinos GANIAS, Fran SABORIDO-REY, Hilario MURUA, et John R. HUNTER (2011b). *Reproductive timing in marine fishes: variability, temporal scales, and methods*, Marine and coastal fisheries: dynamics, management, and ecosystem science, vol. 3, p. 71-91.
- LUBZENS, Esther, Graham YOUNG, Julien BOBE, et Joan CERDÀ (2010). *Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed*, General and comparative endocrinology, vol. 165, p. 367-389.

- MACGREGOR, Rob, John M. CASSELMAN, William A. ALLEN, Tim HAXTON, John M. DETTMERS, Alastair MATHERS, Steve LAPAN, Thomas C. PRATT, Peter THOMPSON, Max STANFIELD, Lucian MARCOGLIESE, et Jean-Denis DUTIL (2009). *Natural heritage, anthropogenic impacts, and biopolitical issues related to the status and sustainable management of American eel: a retrospective analysis and management perspective at the population level*, American Fisheries Society symposium, vol. 69, p. 713-740.
- MACNAMARA, Ruairí, T. Kieran MCCARTHY, Håkan WICKSTRÖM, et Patrik D. CLEVESTAM (2016). *Fecundity of silver-phase eels (*Anguilla anguilla*) from different habitat types and geographic locations*, International Council for the Exploration of the Sea journal of marine science – Journal du Conseil international pour l’exploration de la mer, art. n° fsv065, 7 p.
- MANABE, Ryotaro, Jun AOYAMA, Kunihiro WATANABE, Miho KAWAI, Michael J. MILLER, et Katsumi TSUKAMOTO (2011). *First observations of the oceanic migration of Japanese eel, from pop-up archival transmitting tags*, Marine ecology progress series, vol. 437, p. 229-240.
- MARCHELIDON, Jacques, Nadine LE BELLE, A. HARDY, Bernadette VIDAL, Miskal SBAlHI, Elisabeth BURZAWA-GÉRARD, Monika SCHMITZ, et Sylvie DUFOUR (1999). *Étude des variations de paramètres anatomiques et endocriniens chez l’anguille européenne (*Anguilla anguilla*) femelle, sédentaire et d’avalaison : application à la caractérisation du stade argenté*, Bulletin français de la pêche et de la pisciculture, vol. 355, p. 349-368.
- MARUI, Miho, Takaomi ARAI, Michael J. MILLER, Donald J. JELLYMAN, et Katsumi TSUKAMOTO (2001). *Comparison of early life history between New Zealand temperate eels and Pacific tropical eels revealed by otolith microstructure and microchemistry*, Marine ecology progress series, vol. 213, p. 273-284.
- MASUDA, Yoshitsugu, Hitoshi IMAIZUMI, Kentaro ODA, Hiroshi HASHIMOTO, Hironori USUKI, et Kazuhisa TERUYA (2012). *Artificial completion of the Japanese eel, *Anguilla japonica*, life cycle: challenge to mass production*, Suisan Sōgō Kenkyū Sentā kenkyū hōkoku – Bulletin of Fisheries Research Agency, vol. 35, p. 111-117.
- MATSUBARA, Hajime, P. Mark LOKMAN, Yukinori KAZETO, Shinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (2005). *Serum steroid profiles in artificially maturing female Japanese eel, *Anguilla japonica**, Aquaculture, vol. 243, p. 393-402.
- MATSUBARA, Hajime, Yukinori KAZETO, Shigeho IJIRI, Toshiaki HIRAI, Shinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (2003b). *Changes in mRNA levels of ovarian steroidogenic enzymes during artificial maturation of Japanese eel *Anguilla japonica**, Fisheries science, vol. 69, p. 979-988.
- MATSUBARA, Takahiro, Masaki NAGAE, Nobuyuki OHKUBO, Tadashi ANDOH, Sayumi SAWAGUSHI, Naoshi HIRAMATSU, Craig V. SULLIVAN, et Akihiko HARA (2003a). *Multiple vitellogenins and their unique roles in marine teleosts*, Fish physiology and biochemistry, vol. 28, p. 295-299.
- MAUGARS, Gersende, et Sylvie DUFOUR (2015). *Demonstration of the coexistence of duplicated LH receptors in teleosts, and their origin in ancestral actinopterygians*, PLOS One, vol. 10, art. n° e0135184, 29 p.
- MAZZEO, Ilaria, Elisabeth GIORGINI, Giorgia GIOACCHINI, Francesca MARADONNA, M. Carmen VÍLCHEZ, Sylvie BALOCHE, Sylvie DUFOUR, Luz PÉREZ, Oliana CARNEVALI, et Juan F. ASTURIANO (2016). *A comparison of techniques for studying oogenesis in the European eel *Anguilla anguilla**, Journal of fish biology, vol. 89, p. 2055-2069.
- MAZZEO, Ilaria, David S. PEÑARANDA, Victor GALLEGO, Sylvie BALOCHE, Rasoul NOURIZADEH-LILLABADI, Helge TVEITEN, Sylvie DUFOUR, Juan F. ASTURIANO, Finn-

- Arne WELTZIEN, et Luz Pérez (2014). *Temperature modulates the progression of vitellogenesis in the European eel*, *Aquaculture*, vol. 434, p. 38-47.
- MATTE, Pascal (2014). *Modélisation hydrodynamique de l'estuaire fluvial du Saint-Laurent*, Thèse (Ph. D.), Institut national de la recherche scientifique, 302 p.
- MCCLEAVE, James D. (2003). *Spawning areas of the Atlantic eels* (chap. 10), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 141-155.
- MCQUITTY, Louis L. (1966). *Similarity analysis by reciprocal pairs for discrete and continuous data*, *Educational and psychological measurement*, vol. 26, p. 825-831.
- MEDINA, Antonio, Francisco J. ABASCAL, Lourdes ARAGÓN, Gabriel MOURENTE, Guillermo ARANDA, Txema GALAZ, Antonio BELMONTE, José Miguel DE LA SERNA, et Salvador GARCÍA (2007). *Influence of sampling gear in assessment of reproductive parameters for bluefin tuna in the western Mediterranean*, *Marine ecology progress series*, vol. 337, p. 221-230.
- MIGAUD, Hervé, Andrew DAVIE, et John F. RAYLOR (2010). *Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species*, *Journal of fish biology*, vol. 76, p. 27-68.
- MILLAR, Robert P. (2005). *GnRHs and GnRH receptors*, *Animal reproduction science*, vol. 88, p. 5-28.
- MILLER, Michael J. (2015). *Nighttime vertical distribution and regional species composition of eel larvae in the western Sargasso Sea*, *Regional studies in marine science*, vol. 1, p. 34-46.
- MILLER, Michael J. (2009). *Ecology of anguilliform leptocephali: remarkable transparent fish larvae of the ocean surface layer*, *Aqua-bioscience monographs*, vol. 2, p. 1-94.
- MILLER, Michael J. (2003). *The worldwide distribution of anguillid leptocephali* (chap. 11), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 157-168.
- MILLER, Michael J., et John M. CASSELMAN (2014). *The American eel: a fish of mystery and sustenance for humans* (chap. 11), dans *Eels and humans*, sous la direction de Katsumi Tsukamoto et Mari Kuroki, Tokyo, Springer, p. 155-169.
- MILLER, Michael J., Sylvain BONHOMMEAU, Peter MUNK, Martin CASTONGUAY, Reinhold HANEL, et James D. MCCLEAVE (2015). *A century of research on the larval distributions of the Atlantic eels: a re-examination of the data*, *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, vol. 90, p. 1035-1064.
- MINEGISHI, Yuki, Christiaan V. HENKEL, Ron P. DIRKS, Guido E.E.J.M. THILLART (2012). *Genomics in eels – towards aquaculture and biology*, *Marine biotechnology*, vol. 14, p. 583-590.
- MINEGISHI, Yuki, Jun AOYAMA, Jun G. INOUE, Masaki MIYA, Mutsumi NISHIDA, et Katsumi KATSUMOTO (2005). *Molecular phylogeny and evolution of the freshwater eels genus *Anguilla* based on the whole mitochondrial genome sequences*, *Molecular phylogenetics and evolution*, vol. 34, p. 134-146.
- MMV (2016). *La pêche à l'anguille sur la Côte-du-Sud – histoires de chez nous* [En ligne], Musée de la mémoire vivante, [www.museevirtuel.ca/community-stories_histoires-de-chez-nous/la-peche-a-l-anguille_eel-fishing] (Consulté le 1^{er} octobre 2018).
- MOCHIOKA, Noritaka (2003). *Leptocephali* (chap. 4), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 51-60.

- MONTERO, Maïté, Nadine LE BELLE, Judy A. KING, Robert P. MILLAR, et Sylvie DUFOUR (1995). *Differential regulation of the two forms of gonadotropin-releasing hormone (mGnRH and cGnRH-II) by sex steroids in the European female silver eel (Anguilla anguilla)*, Neuroendocrinology, vol. 61, p. 525-535.
- MONTERO, Maïté, Bernadette VIDAL, Judy A. KING, Gérard TRAMU, Frans VANDESANDE, Sylvie DUFOUR, et Olivier KAH (1994). *Immunocytochemical localization of mammalian GnRH (gonadotropin-releasing hormone) and chicken GnRH-II in the brain of the European silver eel (Anguilla anguilla L.)*, Journal of chemical neuroanatomy, vol. 7, p. 227-241.
- MORDENTI, Oliviero, Andrea DI BIASE, Giuseppe BASTONE, Rubina SIRRI, Annalisa ZACCARONI, et Albamaria PARMEGGIANI (2013). *Controlled reproduction in the wild European eel (Anguilla anguilla): two populations compared*, Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society, vol. 21, p. 1045-1043.
- MORIARTY, Christopher (2003). *The yellow eel* (chap. 7), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 89-105.
- MÜLLER, Anna V., Fintan J. MCEVOY, Jonna TOMKIEWICZ, Sebastian N. POLITIS et José M. AMIGO (2016). *Ultrasonographic predictors of response of European eels (Anguilla anguilla) to hormonal treatment for induction of ovarian development*, American journal of veterinary research, vol. 77, p. 478-486.
- MUNK, Peter, Michael M. HANSEN, Gregory E. MAES, Torkel G. NIELSEN, Martin CASTONGUAY, Lasse RIEMANN, Henrik SPARHOLT, Thomas D. ALS, Kim AARESTRUP, Nikolaj G. ANDERSEN, et Mirjam BACHLER (2010). *Oceanic fronts in the Sargasso Sea control the early life and drift of Atlantic eels*, Proceedings of the Royal Society of London, series B, biological sciences, vol. 277, p. 3593-3599.
- MYLONAS, Constantinos C., Alexis FOSTIER, et Silvia ZANUY (2010). *Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction*, General and comparative endocrinology, vol. 165, p. 516-534.
- NAGAHAMA, Yoshitaka, et Masakane YAMASHITA (2008). *Regulation of oocyte maturation in fish*, Development, growth & differentiation, vol. 50, p. S195-S219.
- NELSON, Joseph S., Terry C. GRANDE, et Mark V.H. WILSON (2016). *Fishes of the world*, 5^e éd., Hoboken, John Wiley & Sons, 707 p.
- NIELSEN, Julie Josias (2014). *European eel reproduction – oogenesis and ovarian development*, Mémoire (B. Sc.), Université de Roskilde, 45 p.
- NIELSEN, Michael Engelbrecht, et Maria Dolores ESTEVE-GASSENT (2006). *The eel immune system: present knowledge and the need for research*, Journal of fish diseases, vol. 29, p. 65-78.
- NORRIS, David O., et James A. CARR (2013). *Vertebrate endocrinology*, 5^e éd., San Diego, Academic press, 585 p.
- NORRIS, David O., et Kristin H. LOPEZ, dir. (2011). *Hormones and reproduction of vertebrates, volume 1: fishes*, 1^e éd., San Diego, Academic press, 270 p.
- NOWOSAD, Joanna, Dariusz KUCHARCZYK, Joanna ŁUCZYŃSKA, Katarzyna TARGOŃSKA, Tomasz Kajetan CZARKOWSKI, Maria BIŁAS, Sławomir KREJSZEFF, László HORVÁTH, et Tamás MÜLLER (2015). *Changes in European eel ovary development and body and ovary chemistry during stimulated maturation under controlled conditions: preliminary data*, Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society, vol. 23, p. 13-27.

- OHKUBO, Nobuyuki, Sayumi SAWAGUCHI, Kazuharu NOMURA, Hideki TANAKA, et Takahiro MATSUBARA (2008). *Utilization of free amino acids, yolk protein and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of Japanese eel *Anguilla japonica**, *Aquaculture*, vol. 282, p. 130-137.
- OHTA, Hiromi, Hirohiko KAGAWA, Hideki TANAKA, Koichi OKUZAWA, Norio IINUMA, et Keiji HIROSE (1997). *Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica**, *Fish physiology and biochemistry*, vol. 17, p. 163-169.
- OHTA, Hiromi, Hirohiko KAGAWA, Hideki TANAKA, Koichi OKUZAWA, et Keiji HIROSE (1996). *Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla anguilla**, *Aquaculture*, vol. 139, p. 291-301.
- OKUBO, Kataaki, Hiroaki SUETAKE, et Katsumi AIDA (1999a). *Expression of two gonadotropin-releasing hormone (GnRH) precursor genes in various tissues of the Japanese eel and evolution of GnRH*, *Zoological science*, vol. 16, p. 471-478.
- OKUBO, Kataaki, Hiroaki SUETAKE, et Katsumi AIDA (1999b). *A splicing variant for the prepro-mammalian gonadotropin-releasing hormone (Prepro-mGnRH) mRNA is present in the brain and various peripheral tissues of the Japanese eel*, *Zoological science*, vol. 16, p. 645-651.
- OKAMURA, Akihiro, Noriyuki HORIE, Naomi MIKAWA, Yoshiaki YAMADA, et Katsumi TSUKAMOTO (2014). *Recent advances in artificial production of glass eels for conservation of anguillid eel populations*, *Ecology of freshwater fish*, vol. 23, p. 95-110.
- OLIVEIRA, Kenneth, et Whitney E. HABLE (2010). *Artificial maturation, fertilization, and early development of the American eel (*Anguilla rostrata*)*, *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, vol. 88, p. 1121-1128.
- OTAKE, Tsuguo (2003). *Metamorphosis* (chap. 5), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 61-74.
- PALSTRA, Arjan P., et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2010). *Swimming physiology of European silver eels (*Anguilla anguilla* L.): energetic costs and effects on sexual maturation and reproduction*, *Fish physiology and biochemistry*, vol. 36, p. 297-322.
- PALSTRA, Arjan P., et Guido VAN DEN THILLART (2009). *Artificial maturation and reproduction of the European eel* (chap. 13), dans *Spawning migration of the European eel: reproduction index, a useful tool for conservation management*, sous la direction de Guido van den Thillart, J. Cliff Rankin et Sylvie Dufour, Dordrecht, Springer, p. 309-331.
- PALSTRA, Arjan P., Denhi SCHNABEL, Maaïke C. NIEVEEN, Herman P. SPAINK, et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2010a). *Temporal expression of hepatic estrogen receptor 1, vitellogenin1 and vitellogenin2 in European silver eels*, *General and comparative endocrinology*, vol. 166, p. 1-11.
- PALSTRA, Arjan P., Denhi SCHNABEL, Maaïke C. NIEVEEN, Herman P. SPAINK, et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2010b). *Swimming suppresses hepatic vitellogenesis in European female silver eels as shown by expression of the estrogen receptor 1, vitellogenin1 and vitellogenin2 in the liver*, *Reproductive biology and endocrinology*, vol. 8, art. n° 27, 10 p.
- PALSTRA, Arjan P., Vincent VAN GINEKEN, et Guido VAN DEN THILLART (2009). *Effects of swimming on silvering and maturation of the European eel, *Anguilla anguilla* L.* (chap. 10), dans *Spawning migration of the European eel: reproduction index, a useful tool for conservation management*, sous la direction de Guido van den Thillart, J. Cliff Rankin et Sylvie Dufour, Dordrecht, Springer, p. 229-251.

- PALSTRA, Arjan, Danilo CURIEL, Madelon FEKKES, Merijn DE BAKKER, Csaba SZÉKELY, Vincent VAN GINNEKEN, et Guido VAN DEN THILLART (2007). *Swimming stimulates oocyte development in European eel*, *Aquaculture*, vol. 270, p. 321-332.
- PALSTRA, Arjan P., Vincent J.T. VAN GINNEKEN, Albertinka J. MURK, et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2006). *Are dioxin-like contaminants responsible for the eel (*Anguilla anguilla*) drama?*, *Die naturwissenschaften*, vol. 93, p. 145-148.
- PALSTRA, Arjan P., Edwin G.H. COHEN, Patrick R.W. NIEMANTSVERDRIET, Vincent J.T. VAN GINNEKEN, et Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART (2005). *Artificial maturation and reproduction of European silver eel: development of oocytes during final maturation*, *Aquaculture*, vol. 249, p. 533-547.
- PANKHURST, Neville William (1982). *Relation of visual changes to the onset of sexual maturation in the European eel *Anguilla anguilla* (L.)*, *Journal of fish biology*, vol. 21, p. 127-140.
- PANNETIER, Pauline, Antoine CARON, Peter G.C. CAMPBELL, Fabien PIERRON, Magalie BAUDRIMONT, et Patrice COUTURE (2016). *A comparison of metal concentrations in the tissues of yellow American eel (*Anguilla rostrata*) and European eel (*Anguilla anguilla*)*, *Science of the total environment*, vol. 569, p. 1435-1445.
- PARMEGGIANI, Albamaria, Nadia GOVONI, Augusta ZANNONI, Andrea DI BIASE, Rubina SIRRI, Monica FORNI, Michaela MANDELLI, et Oliviero MORDENTI (2015). *Effect of photoperiod on endocrine profiles and vitellogenin expression in European eels *Anguilla anguilla* during artificially induced ovarian development*, *Theriogenology*, vol. 83, p. 478-484.
- PASL (2014). *Le Portrait global de l'état du Saint-Laurent – avant-propos* [En ligne], Plan d'action St-Laurent 2011-2026, [planstlaurent.qc.ca/fr/suivi_de_letat/portrait_global_de_letat_du_saint_laurent_2014.html] (Consulté le 1^{er} octobre 2018).
- PASQUALINI, Catherine, Finn-Arne WELTZIEN, Bernadette VIDAL, Sylvie BALOCHE, Céline ROUGET, Nicolas GILLES, Denis SERVENT, Philippe VERNIER, et Sylvie DUFOUR (2009). *Two distinct dopamine D2 receptor genes in the European eel: molecular characterization, tissue-specific transcription, and regulation by sex steroids*, *Neuroendocrinology*, vol. 150, p. 1377-1392.
- PASQUIER, Jérémy, Anne-Gaëlle LAFONT, Florian DENIS, Benjamin LEFRANC, Christophe DUBESSY, Antonio MORENO-HERRERA, Hubert VAUDRY, Jérôme LEPRINCE, Sylvie DUFOUR, et Karine ROUSSEAU (2018). *Eel kisspeptins: identification, functional activity, and inhibition on both pituitary LH and GnRH receptor expression*, *Frontiers in endocrinology*, vol. 8, art. n° 353, 13 p.
- PASQUIER, Jérémy, Nédia KAMECH, Anne-Gaëlle LAFONT, Hubert VAUDRY, Karine ROUSSEAU, et Sylvie DUFOUR (2014). *Molecular evolution of GPCR – kisspeptin/kisspeptin receptors*, *Journal of molecular endocrinology*, vol. 52, p. T101-T117.
- PASQUIER, Jérémy, Anne-Gaëlle LAFONT, Shan-Ru JENG, Marina MORINI, Ron DIRKS, Guido VAN DEN THILLART, Jonna TOMKIEWICZ, Hervé TOSTIVINT, Ching-Fong CHANG, Karine ROUSSEAU, et Sylvie DUFOUR (2012). *Multiple kisspeptin receptors in early osteichthyans provide new insights into the evolution of this receptor family*, *PLOS One*, vol. 7, art. n° e48931, 12 p.
- PASQUIER, Jérémy, Anne-Gaëlle LAFONT, Jérôme LEPRINCE, Hubert VAUDRY, Karine ROUSSEAU, et Sylvie DUFOUR (2011). *First evidence for a direct inhibitory effect of kisspeptins on LH expression in the eel, *Anguilla anguilla**, *General and comparative endocrinology*, vol. 173, p. 216-225.

- PATEY, Géraldine, Catherine M. COUILLARD, Hilaire DROUINEAU, Guy VERREAULT, Fabien PIERRON, Patrick LAMBERT, Magalie BAUDRIMONT, et Patrice Couture (2018). *Early back-calculated size-at-age of Atlantic yellow eels sampled along ecological gradients in the Gironde and St. Lawrence hydrographical systems*, Canadian journal of fisheries and aquatic sciences – Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques, vol. 75, p. 1270-1279.
- PATEY, Géraldine, Catherine M. COUILLARD, Fabien PIERRON, Magalie BAUDRIMONT, et Patrice Couture (2017). *Biotransformation, antioxidant and histopathological biomarker responses to contaminants in European and American yellow eels from the Gironde and St. Lawrence estuaries*, Chemosphere, vol. 188, p. 292-303.
- PATIÑO, Reynaldo, et Craig V. SULLIVAN (2002). *Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish*, Fish physiology and biochemistry, vol. 26, p. 57-70.
- PEDERSEN, Benedikte Hedegaard (2004). *Fertilisation of eggs, rate of embryonic development and hatching following induced maturation of the European eel *Anguilla anguilla**, Aquaculture, vol. 237, p. 461-473.
- PEDERSEN, Benedikte Hedegaard (2003). *Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilisation of the eggs*, Aquaculture, vol. 224, p. 323-338.
- PEÑARANDA, David S., Ilaria MAZZEO, Jon HILDAHL, Victor GALLEGO, Rasoul NOURIZADEH-LILLABADI, Luz PÉREZ, Juan F. ASTURIANO, et Finn-Arne WELTZIEN (2013). *Molecular characterization of three GnRH receptor paralogs in the European eel, *Anguilla anguilla*: tissue-distribution and changes in transcript abundance during artificially induced sexual development*, Molecular and cellular endocrinology, vol. 369, p. 1-14.
- PÉREZ, Luz, David S. PEÑARANDA, Sylvie DUFOUR, Sylvie BALOCHE, Arjan P. PALSTRA, Guido E.E.J.M. VAN DEN THILLART, et Juan F. ASTURIANO (2011). *Influence of temperature regime on endocrine parameters and vitellogenesis during experimental maturation of European eel (*Anguilla anguilla*) females*, General and comparative endocrinology, vol. 174, p. 51-59.
- PIERRON, Fabien, Sarah BUREAU DU COLOMBIER, Audrey MOFFETT, Antoine CARON, Laurent PELUHET, Guillemine DAFPE, Patrick LAMBERT, Pierre ELIE, Pierre LABADIE, Hélène BUDZINSKI, Sylvie DUFOUR, Patrice COUTURE, et Magalie BAUDRIMONT (2014). *Abnormal ovarian DNA methylation programming during gonad maturation in wild contaminated fish*, Environmental science & technology, vol. 48, p. 11688-11695.
- PIERRON, Fabien, Magalie BAUDRIMONT, Sylvie DUFOUR, Pierre ELIE, Angélique BOSSY, Sylvie BALOCHE, Nathalie MESMER-DUDONS, Patrice GONZALEZ, Jean-Paul BOURDINEAUD, et Jean-Charles MASSABUAU (2008). *How cadmium could compromise the completion of the European eel's reproductive migration*, Environmental science & technology, vol. 42, p. 4607-4612.
- PROSEK, James (2010). *Eels: an exploration, from New Zealand to the Sargasso, of the world's most amazing and mysterious fish*, New York, Harper, 287 p.
- PUJOLAR, José M., Magnus W. JACOBSEN, Thomas D. ALS, Jane FRYDENBERG, Eydfinn MAGNUSSEN, Bjarni JÓNSSON, Xuanting JIANG, Ling CHENG, Dorte BEKKEVOLD, Gregory E. MAES, Louis BERNATCHEZ, et Michael M. HANSEN (2014). *Assessing patterns of hybridization between North Atlantic eels using diagnostic single-nucleotide polymorphisms*, Heredity, vol. 112, p. 627-637.
- RAKOTOMALA, Ricco (2015). *Analyse de corrélation : étude des dépendances – variables quantitatives*, version 1.1, Bron, Université de Lyon, 99 p.
- R CORE TEAM, 2016. *R: a language and environment for statistical computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienne, [www.R-project.org].

- RENAULT, Sophie, Françoise DAVERAT, Fabien PIERRON, Patrice GONZALEZ, Sylvie DUFOUR, Laurent LANCELEUR, Jörg SCHÄFER, et Magalie BAUDRIMONT (2011). *The use of eugenol and electro-narcosis as anaesthetics: transcriptional impacts on the European eel (Anguilla anguilla L.)*, Ecotoxicology and environmental safety, vol. 74, p. 1573-1577.
- REVELLI, Alberto, Marco MASSOBRIO, et Jan TESARIK (1998). *Nongenomic actions of steroid hormones in reproductive tissues*, Endocrine reviews, vol. 19, p. 3-17.
- REYES-ALDASORO, Constantinos Carlos (2015). *Biomedical image analysis recipes in MATLAB® – for life scientists and engineers*, Oxford, John Wiley & Sons, 404 p.
- RINDOM, Suzanne, Jonna TOMKIEWICZ, Peter MUNK, Kim AARESTRUP, Thomas D. ALS, Michael I. PEDERSEN, Christian GRAVER, et Carina ANDERBERG (2014). *Eels in culture, fisheries and science in Denmark* (chap. 3), dans *Eels and humans*, sous la direction de Katsumi Tsukamoto et Mari Kuroki, Tokyo, Springer, p. 41-60.
- ROJO-BARTOLOMÉ, Iratxe, Leticia MARTÍNEZ-MIGUEL, Anne-Gaëlle LAFONT, M. Carmen VÍLCHEZ, Juan F. ASTURIANO, Luz PÉREZ, et Ibon CANCIO (2017). *Molecular markers of oocyte differentiation in European eel during hormonally induced oogenesis*, Comparative biochemistry and physiology, part A, molecular and integrative physiology, vol. 211, p. 17-25.
- ROUSSEAU, Karine, et Sylvie DUFOUR (2012). *Introduction to fish first and secondary metamorphoses* (chap. 1), dans *Metamorphosis in fish*, sous la direction de Sylvie Dufour, Karine Rousseau et Bhagat Gopal Kapoor, Boca Raton, CRC press, p. 1-11.
- ROUSSEAU, Karine, Anne-Gaëlle LAFONT, Jérémy PASQUIER, Gersende MAUGARS, Cécile JOLLY, Marie-Emilie SÉBERT, Salima AROUA, Catherine PASQUALINI, et Sylvie DUFOUR (2014). *Advances in eel reproductive physiology and endocrinology* (chap. 1), dans *Eel physiology*, sous la direction de Francesca Trischitta, Toshio Takei et Philippe Sébert, Boca Raton, CRC press, p. 1-43.
- ROUSSEAU, Karine, Salima AROUA, et Sylvie DUFOUR (2012). *Eel secondary metamorphosis: silvering* (chap. 7), dans *Metamorphosis in fish*, sous la direction de Sylvie Dufour, Karine Rousseau et Bhagat Gopal Kapoor, Boca Raton, CRC press, p. 216-249.
- ROUSSEAU, Karine, Yung-Sen HUANG, Nadine LE BELLE, Bernadette VIDAL, Jacques MARCHELIDON, Jacques EPELBAUM, et Sylvie DUFOUR (1998). *Long-term inhibitory effects of somatostatin and insulin-like growth factor 1 on growth hormone release by serum-free primary culture of pituitary cells from European eel (Anguilla anguilla)*, Neuroendocrinology, vol. 67, p. 301-309.
- ROUX, Maurice (2006). *Algorithmes de classification*, Marseille, Université Paul Cézanne, 81 p.
- RUPIA, Emmanuel Joseph, Jiaojiao SHEN, Jiamin WU, Wenyin CHEN, Liping LIU, Kristof DIERCKENS, Patrick SORGELOOS, et Weiqun LU (2014). *Effect of hormone injection frequency on the lipid content and fatty acid compositions in gonad, muscle and liver of Anguilla japonica during artificial maturation*, Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society, vol. 22, p. 1105-1120.
- SAITO, Koji, P. Mark LOKMAN, Graham YOUNG, Yuichi OZAKI, Hajime MATSUBARA, Hiromi OKUMURA, Yukinori KAZETO, Yasutoshi YOSHIURA, Katsumi AIDA, Shinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (2003). *Follicle-stimulating hormone β , luteinizing hormone β and glycoprotein hormone α subunit mRNA levels in artificially maturing Japanese eel *Anguilla japonica* and naturally maturing New Zealand longfinned eel *Anguilla dieffenbachii**, Fisheries science, vol. 69, p. 146-153.

- SARAÇLI, Sinan, Nurhan DOĞAN, et İsmet DOĞAN (2013). *Comparison of hierarchical cluster analysis methods by cophenetic correlation*, Journal of inequalities and applications, vol. 1, art. n° 203, 8 p.
- SATO, Narumi, Ichiro KAWAZOE, Yuzuri SUZUKI, et Katsumi AIDA (2006). *Effects of temperature on vitellogenesis in Japanese eel, Anguilla japonica*, Fisheries science, vol. 72, p. 961-966.
- SBAlHI, Miskal (2001). *Interaction des stéroïdes sexuels et du cortisol dans le contrôle de la fonction de reproduction et du métabolisme calcique chez un téléostéen migrateur, l'anguille (Anguilla anguilla L.)*, Thèse (Ph. D.), Université Paris VI, 212 p.
- SBAlHI, Miskal, Karine ROUSSEAU, Sylvie BALOCHE, François MEUNIER, Martine FOUCHEREAU-PERON, et Sylvie DUFOUR (2009). *Cortisol mobilizes mineral stores from vertebral skeleton in the European eel: an ancestral origin for glucocorticoid-induced osteoporosis?*, Journal of endocrinology, vol. 201, p. 241-252.
- SCHABETSBERGER, Robert, Finn ØKLAND, Kim AARESTRUP, Donna KALFATAK, Ursula SICHROWSKY, Meelis TAMBETS, Giorgio DALL'OLMO, Roland KAISER, et Peter I. MILLER (2013). *Oceanic migration behaviour of tropical Pacific eels from Vanuatu*, Marine ecology progress series, vol. 475, p. 177-190.
- SCHMIDT, Johannes (1923). *The breeding places of the eel*, Philosophical transactions of the Royal Society of London, series B, containing papers of a biological character, vol. 211, p. 179-208.
- SCHMITZ, Monika, Salima AROUA, Bernadette VIDAL, Nadine LE BELLE, Pierre ELIE, et Sylvie DUFOUR (2005). *Differential regulation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone expression during ovarian development and under sexual steroid feedback in the European eel*, Neuroendocrinology, vol. 81, p. 107-119.
- SCHMUCKER, Andrew K., Nicholas S. JOHNSON, Heather S. GALBRAITH, et Weiming LI (2016). *Glass-eel-stage American eels respond to conspecific odor as a function of concentration*, Transactions of the American Fisheries Society, vol. 145, p. 712-722.
- SCHWEID, Richard (2002). *Consider the eel*, Chapel Hill, UNC press, 200 p.
- SÉBERT, Marie-Emilie, Céline LEGROS, Finn-Arne WELTZIEN, Benoît MALPAUX, Philippe CHEMINEAU, et Sylvie DUFOUR (2008a). *Melatonin activates brain dopaminergic systems in the eel with an inhibitory impact on reproductive function*, Journal of neuroendocrinology, vol. 20, p. 917-929.
- SÉBERT, Marie-Emilie, Finn-Arne WELTZIEN, Christine MOISAN, Catherine PASQUALINI, et Sylvie DUFOUR (2008b). *Dopaminergic systems in the European eel: characterization, brain distribution, and potential role in migration and reproduction*, Hydrobiologia, vol. 602, p. 27-46.
- SÉBERT, Marie-Emilie, Aline AMÉRAND, Aurélie VETTIER, Finn-Arne WELTZIEN, Catherine PASCALINI, Philippe SÉBERT, et Sylvie DUFOUR (2007). *Effects of high hydrostatic pressure on the pituitary-gonad axis in the European eel, Anguilla anguilla (L.)*, General and comparative endocrinology, vol. 153, p. 289-298.
- SELMAN, Kelly, et Robin A. WALLACE (1989). *Cellular aspects of oocyte growth in teleosts*, Zoological science, vol. 6, p. 211-231.
- SEOKA, Manabu, Sataoshi YAMADA, Yuzoh IWATA, Toyoshige YANAGISAWA, Takeyoshi NAKAGAWA, et Hidemi KUMAI (2003). *Differences in the biochemical content of buoyant and non-buoyant eggs of the Japanese eel, Anguilla japonica*, Aquaculture, vol. 216, p. 355-362.

- SERVILI, Arianna, Christèle LETHIMONIER, Jean-Jacques LAREYRE, José Fernando LÓPEZ-OLMEDA, Francisco Javier SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, Olivier KAH, et José Antonio MUÑOZ-CUETO (2010). *The highly conserved gonadotropin-releasing hormone-2 form acts as a melatonin-releasing factor in the pineal of a teleost fish, the European sea bass *Dicentrarchus labrax**, *Endocrinology*, vol. 15, p. 2265-2275.
- SETIAWAN, Alvin N., Yuichi OZAKI, Alireza SHOAE, Yukinori KAZETO, et P. Mark LOKMAN (2012a). *Androgen-specific regulation of FSH signalling in the previtellogenic ovary and pituitary of the New Zealand shortfinned eel, *Anguilla australis**, *General and comparative endocrinology*, vol. 176, p. 132-143.
- SETIAWAN, Alvin Nugraha, Matthew John WYLIE, Erin Louise FORBES, et Pieter Mark LOKMAN (2012b). *The effects of 11-ketotestosterone on occupation of downstream location and seawater in the New Zealand shortfinned eel, *Anguilla australis**, *Zoological science*, vol. 29, p. 1-5.
- SLOANE, Robert D. (1984). *Distribution, abundance, growth and food of freshwater eels (*Anguilla* spp.) in the Douglas River, Tasmania*, *Australian journal of marine and freshwater research*, vol. 35, p. 325-339.
- SMIDDEST (2004). *Schéma d'aménagement et de gestion des eaux pour l'estuaire de la Gironde et les milieux associés*, Blaye, Syndicat mixte pour le développement durable de l'estuaire de la Gironde, 30 p.
- SNEATH, Peter H.A., et Robert R. SOKAL (1973). *Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification*, San Francisco, W. H. Freeman and company, 573 p.
- SORENSEN, Peter W., et Howard E. WINN (1984). *The induction of maturation and ovulation in American eels, *Anguilla rostrata* (Le Sueur), and the relevance of chemical and visual cues to male spawning behaviour*, *Journal of fish biology*, vol. 25, p. 261-268.
- STØTTRUP, Josianne G., Charlotte JACOBSEN, Jonna TOMKIEWICZ, et Henrik JARLBÆK (2013). *Modification of essential fatty acid composition in broodstock of cultured European eel *Anguilla anguilla* L.*, *Aquaculture nutrition*, vol. 19, p. 172-185.
- SUDO, Ryusuke, et Katsumi TSUKAMOTO (2015). *Migratory restlessness and the role of androgen for increasing behavioral drive in the spawning migration of the Japanese eel*, *Scientific reports*, vol. 5, art. n° 17430, 7 p.
- SUDO, Ryusuke, Ryota TOSAKA, Shigeho IJIRI, Shinji ADACHI, Jun AOYAMA et Katsumi TSUKAMOTO (2012). *11-ketotestosterone synchronously induces oocyte development and silvering-related changes in the Japanese eel, *Anguilla japonica**, *Zoological science*, vol. 29, p. 254-259.
- SUDO, Ryusuke, Ryota TOSAKA, Shigeho IJIRI, Shinji ADACHI, Hiroaki SUETAKE, Yuzuru SUZUKI, Noriyuki HORIE, Satoru TANAKA, Jun AOYAMA et Katsumi TSUKAMOTO (2011). *Effect of temperature decrease on oocyte development, sex steroids, and gonadotropin β -subunit mRNA expression levels in female Japanese eel *Anguilla japonica**, *Fisheries science*, vol. 77, p. 575-582.
- SUETAKE, Hiroaki, Kataaki OKUBO, Yasutoshi YOSHIURA, et Katsumi AIDA (2003). *GTH and GnRH molecules and their expression in the Japanese eel* (chap. 24), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 351-372.
- SUETAKE, Hiroaki, Kataaki OKUBO, Narumi SATO, Yasutoshi YOSHIURA, Yuzuru SUZUKI, et Katsumi AIDA (2002). *Differential expression of two gonadotropin (GTH) β subunit genes during ovarian maturation induced by repeated injection of salmon GTH in the Japanese eel *Anguilla japonica**, *Fisheries science*, vol. 68, p. 290-298.

- SZÉKELY, Csaba, Arjan PALSTRA, Kálmán MOLNÁR, et Guido VAN DEN THILLART (2009). *Impact of the swim-bladder parasite on the health and performance of European eels* (chap. 9), dans *Spawning migration of the European eel: reproduction index, a useful tool for conservation management*, sous la direction de Guido van den Thillart, J. Cliff Rankin et Sylvie Dufour, Dordrecht, Springer, p. 201-226.
- TABETA, Osame et Noritaka MOCHIOKA (2003). *The glass eel* (chap. 6), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 75-87.
- TAIYUN, Wei, et Viliam SIMKO (2016). *Corrplot: visualization of a correlation matrix*, R package version 0.77, [CRAN.R-project.org/package=corrplot].
- TANAKA, Hideki, Hirohiko KAGAWA, Hiromi OHTA, Tatsuya UNUMA, et Kazuharu NOMURA (2003). *The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture*, *Fish physiology and biochemistry*, vol. 28, p. 493-497.
- TANAKA, Hideki, Hirohiko KAGAWA, et Hiromi OHTA (2001). *Production of leptocephali of Japanese eel (Anguilla japonica) in captivity*, *Aquaculture*, vol. 201, p. 51-60.
- TAPIE, Nathalie, Karyn LE MÉNACH, Stéphanie PASQUAUD, Pierre ELIE, Marie Hélène DEVIER, et Hélène BUDZINSKI (2011). *PBDE and PCB contamination of eels from the Gironde estuary: from glass eels to silver eels*, *Chemosphere*, vol. 83, p. 175-185.
- TAPIE, Nathalie, Hélène BUDZINSKI, et Karyn LE MÉNACH (2008). *Fast and efficient extraction methods for the analysis of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in biological matrices*, *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 391, p. 2169-2177.
- TARANGER, Geir Lasse, Manuel CARRILLO, Rüdiger W. SCHULZ, Pascal FONTAINE, Silvia ZANUY, Alicia FELIP, Finn-Arne WELTZIEN, Sylvie DUFOUR, Ørjan KARLSEN, Birgitta NORBERG, Eva ANDERSSON, et Tom HANSEN (2010). *Control of puberty in farmed fish*, *General and comparative endocrinology*, vol. 165, p. 483-515.
- TARDIF, Remi (2012). *Procédure de préparation et de montage des otolithes d'anguille*, version 2, Ministère des ressources naturelles et de la faune, direction de l'expertise Faune-Forêts-Territoire, direction générale du Bas-Saint-Laurent, avril 2012, 23 p.
- TEMPLE, Jennifer L., Robert P. MILLAR, et Emilie F. RISSMAN (2003). *An evolutionarily conserved form of gonadotropin-releasing hormone coordinates energy and reproductive behavior*, *endocrinology*, vol. 144, p. 13-19.
- TESCH, Friedrich-Wilhelm (2003). *The eel*, 3^e éd. traduite de l'allemand par Ray J. White sous la direction de John E. Thorpe, Oxford, Blackwell science Ltd, 408 p.
- THIBAUT, Isabel, Julian J. DODSON, François CARON, Wann-Nian TZENG, Yoshiyuki IIZUKA, et Jen-Chieh SHIAO (2007). *Facultative catadromy in American eels: testing the conditional strategy hypothesis*, *Marine ecology progress series*, vol. 344, p. 219-229.
- TODD, Peter Robin (1981). *Morphometric changes, gonad histology, and fecundity estimates in migrating New Zealand freshwater eels (Anguilla spp.)*, *New Zealand journal of marine and freshwater research*, vol. 15, p. 155-170.
- TODD, Peter Robin (1974). *Studies on the reproductive biology of New Zealand freshwater eels*, Thèse (Ph. D.), Université Victoria de Wellington, 328 p.
- TODO, Takashi, Sinji ADACHI, et Kōhei YAMAUCHI (1996). *Molecular cloning and characterization of Japanese eel estrogen receptor cDNA*, *Molecular and cellular endocrinology*, vol. 119, p. 37-45.

- TOMKIEWICZ, Jonna, dir. (2012). *Reproduction of European eel in aquaculture (REEL) – consolidation and new production methods*, Institut national des ressources aquatiques du Danemark, Université technique du Danemark, DTU aqua rapport n° 249-2012, 47 p.
- TOMKIEWICZ, Jonna, Lars TYBJERG, et Åse JESPERSEN (2003). *Micro- and macroscopic characteristics to stage gonadal maturation of female Baltic cod*, Journal of fish biology, vol. 62, p. 253-275.
- TONGNUNUI, Prasert, Nuengruetai YOKNOI, Pimwipa PECHNOI, Hideaki YAMADA, et Koetsu KON (2016). *The first record of female maturation of the short-finned eel, Anguilla bicolor bicolor, in the coastal waters of Thailand*, Tropical life sciences research, vol. 27, p. 145-152.
- TSUKADA, Takehiro, Shigenori NOBATA, Susumu HYODO, et Yoshio TAKEI (2007). *Area postrema, a brain circumventricular organ, is the site of antidipsogenic action of circulating atrial natriuretic peptide in eels*, The Journal of experimental biology, vol. 210, p. 3970-3978.
- TSUKAMOTO, Katsumi (2009). *Oceanic migration and spawning of anguillid eels*, Journal of fish biology, vol. 74, p. 1833-1852.
- TSUKAMOTO, Katsumi (1992). *Discovery of the spawning area for Japanese eel*, Nature, vol. 356, p. 789-791.
- TSUKAMOTO, Katsumi, et Takaomi ARAI (2001). *Facultative catadromy of the eel Anguilla japonica between freshwater and seawater habitats*, Marine ecology progress series, vol. 220, p. 265-276.
- TSUKAMOTO, Katsumi, et Mari KUROKI, dir. (2014). *Eels and humans*, Tokyo, Springer, 177 p.
- TSUKAMOTO, Katsumi, Seinen CHOW, Tsuguo OTAKE, Hiroaki KUROGI, Noritaka MOCHIOKA, Michael J. MILLER, Jun AOYAMA, Shingo KIMURA, Shun WATANABE, Tatsuki YOSHINAGA, Akira SHINODA, Mari KUROKI, Machiko OYA, Tomowo WATANABE, Kazuhiro HATA, Shigeo IJIRI, Yukinori KAZETO, Kazuharu NOMURA, et Hideki TANAKA (2011). *Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific*, Nature communications, vol. 2, n° 179, 9 p.
- TSUKAMOTO, Katsumi, Yoshiaki YAMADA, Akihiro OKAMURA, Toyoji KANEKO, Hideki TANAKA, Michael J. MILLER, Noriyuki HORIE, Naomi MIKAWA, Tomoko UTOH, et Satoru TANAKA (2009). *Positive buoyancy in eel leptocephali: an adaptation for life in the ocean surface layer*, Marine biology, vol. 156, p. 835-846.
- TSUKAMOTO, Katsumi, Izumi NAKAI, et Friedrich-Wilhelm TESCH (1998). *Do all freshwater eels migrate?*, Nature, vol. 396, p. 635-636.
- TYLER, Charles R., et John SUMPTER (1996). *Oocyte growth and development in teleosts*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 6, p. 287-318.
- TZENG, Wann-Nian, Chia-Hui WANG, Håkan WICKSTRÖM, et Maja REIZENSTEIN (2000). *Occurrence of the semi-catadromous European eel Anguilla anguilla in the Baltic Sea*, Marine biology, vol. 137, p. 93-98.
- UNTERGRASSER, Andreas, Ioana CUTCUTACHE, Triinu KORESSAAR, Jian YE, Brant C. FAIRCLOTH, Mairo REMM, et Steven G. ROZEN (2012). *Primer3—new capabilities and interfaces*, Nucleic acids research, vol. 40, art. n° e115, 12 p.
- UNUMA, Tatsuya, Shigenori KONDO, Hideki TANAKA, Hirohiko KAGAWA, Kazuharu NOMURA, et Hiromi OHTA (2005). *Relationship between egg specific gravity and egg quality in the Japanese eel, Anguilla japonica*, Aquaculture, vol. 246, p. 493-500.

- URBATZKA, Ralph, Maria João ROCHA, et Eduardo ROCHA (2011). *Regulation of ovarian development and function in teleosts* (chap. 4), dans *Hormones and rproduction of vertebrates, volume 1: fishes*, 1^{re} éd., sous la direction de David O. Norris et Kristin H. Lopez, San Diego, Academic press, p. 65-82.
- VAN DEN THILLART, Guido, Sylvie DUFOUR, et John Clifford RANKIN, dir. (2009). *Spawning migration of the European eel: reproduction index, a useful tool for conservation management*, Dordrecht, Springer, 477 p.
- VAN DEN THILLART, Guido, Arjan PALSTRA, et Vincent VAN GINNEKEN (2007). *Simulated migration of European silver eel; swim capacity and cost of transport*, Journal of marine science and technology – Taiwan, vol. 15S, p. 1-16.
- VAN GINNEKEN, Vincent J.T., et Gregory E. MAES (2005). *The European eel (Anguilla anguilla, Linnaeus), its lifecycle, evolution and reproduction: a literature review*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 15, p. 367-398.
- VAN GINNEKEN, Vincent, Sylvie DUFOUR, Miskal SBAlHI, Paul BALM, Kees NOORLANDER, Merijn DE BAKKER, Jorg DOORNBOS, Arjan PALSTRA, Erik ANTONISSEN, Ian MAYER, et Guido VAN DEN THILLART (2007a). *Does a 5500-km swim trial stimulate early sexual maturation in the European eel (Anguilla anguilla L.)?*, Comparative biochemistry and physiology, part A, molecular and integrative physiology, vol. 147, p. 1095-1103.
- VAN GINNEKEN, Vincent, Caroline DURIF, S. Paul BALM, Ron BOOT, Martin W.A. VERSTEGEN, Erik ANTONISSEN, et Guido VAN DEN THILLART (2007b). *Silvering of European eel (Anguilla anguilla L.): seasonal changes of morphological and metabolic parameters*, Animal biology, vol. 57, p. 63-77.
- VAN GINNEKEN, Vincent, Gerjanne VIANEN, Bie MUUSZE, Arjan PALSTRA, Louise VERSCHOOR, Olivier LUGTEN, Marjolijn ONDERWATER, Sjoerd VAN SCHIE, Patrick NIEMANTSVERDRIET, Richard VAN HEESWIJK, Ep EDING, et Guido VAN DEN THILLART (2005). *Gonad development and spawning behaviour of artificially-matured European eel (Anguilla anguilla L.)*, Animal biology, vol. 55, p. 203-218.
- VÉLEZ-ESPINOS, Luis A., et Marten A. KOOPS (2010). *A synthesis of the ecological processes influencing variation in life history and movement patterns of American eel: towards a global assessment*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 20, p. 163-186.
- VERSONNEN, Bram J., Geert GOEMANS, Claude BELPAIRE, et Colin R. JANSSEN (2004). *Vitellogenin content in European eel (Anguilla anguilla) in Flanders, Belgium*, Environmental pollution, vol. 128, p. 363-371.
- VIDAL, Bernadette, Catherine PASQUALINI, Nadine LE BELLE, M. Claire H. HOLLAND, Miskal SBAlHI, Philippe VERNIER, Yonathan ZOHAR, et Sylvie DUFOUR (2004). *Dopamine inhibits luteinizing hormone synthesis and release in the juvenile European eel: a neuroendocrine lock for the onset of puberty*, Biology of reproduction, vol. 71, p. 1491-1500.
- VØLLESTAD, Leif Asbjørn (1992). *Geographic variation in age and length at metamorphosis of maturing European eel: environmental effects and phenotypic plasticity*, Journal of animal ecology, vol. 61, p. 41-48.
- VØLLESTAD, Leif Asbjørn, et Bror JONSSON (1986). *Life-history characteristics of the European eel Anguilla anguilla in the Imsa River, Norway*, Transactions of the American Fisheries Society, vol. 115, p. 864-871.
- WALLACE, Robin A., et Kelly SELMAN (1981). *Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts*, American zoologist, vol. 21, p. 325-343.

- WANG, Chia-Hui, et Wann-Nian TZENG (2000). *The timing of metamorphosis and growth rates of American and European eel *leptocephali*: a mechanism of larval segregative migration*, Fisheries research, vol. 46, p. 191-205.
- WANG, Chia-Hui, et Wann-Nian TZENG (1998). *Interpretation of geographic variation in size of American eel *Anguilla rostrata* elvers on the Atlantic coast of North America using their life history and otolith ageing*, Marine ecology and progress series, vol. 168, p. 35-43.
- WATANABE, Shun (2003). *Taxonomy of the freshwater eels, genus *Anguilla* Schrank, 1798* (chap. 1), dans *Eel biology*, sous la direction de Katsumi Aida, Katsumi Tsukamoto et Kōhei Yamauchi, Tokyo, Springer, p. 3-18.
- WATABABE, Shun, Jun AOYAMA, Seishi HAGIHARA, Bunpei AI, Rhodora V. AZANZA, et Katsumi TSUKAMOTO (2013). *Anguilla huangi Teng, Lin, and Tzeng, 2009, is a junior synonym of Anguilla luzonensis Watanabe, Aoyama, and Tsukamoto, 2009*, Fisheries science, vol. 79, p. 375-383.
- WATANABE, Shun, Jun AOYAMA, et Katsumi TSUKAMOTO (2009). *A new species of freshwater eel *Anguilla luzonensis* (Teleostei: Anguillidae) from Luzon Island of the Philippines*, Fisheries science, vol. 75, p. 387-392.
- WELTZIEN, Finn-Arne, Catherine PASQUALINI, Philippe VERNIER, et Sylvie DUFOUR (2005). *A quantitative real-time RT-PCR assay for European eel tyrosine hydroxylase*, General and comparative endocrinology, vol. 142, p. 134-142.
- WENNER, Charles A. (1973). *Occurrence of American eels, *Anguilla rostrata*, in waters overlying the eastern North American continental shelf*, Journal of the Fisheries Research Board of Canada – Journal de l'Office des recherches sur les pêcheries du Canada, vol. 30, p. 1752-1755.
- WENNER, Charles A., et John A. MUSICK (1974). *Fecundity and gonad observations of the American eel, *Anguilla rostrata*, migrating from Chesapeake Bay, Virginia*, Journal of the Fisheries Research Board of Canada – Journal de l'Office des recherches sur les pêcheries du Canada, vol. 31, p. 1387-1391.
- WESTERBERG, Håkan, Niklas SJÖBERG, Ingvar LAGENFELT, Kim AARESTRUP, et David RIGHTON (2014). *Behaviour of stocked and naturally recruited European eels during migration*, Marine ecology progress series, vol. 496, p. 145-157.
- WIEGAND, Murray D. (1996). *Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish*, Reviews in fish biology and fisheries, vol. 6, p. 259-286.
- WOYNAROVICH, András, et László HORVÁTH (1981). *La reproduction artificielle des poissons en eau chaude : manuel de vulgarisation*, Organisation des Nations Unis pour l'alimentation et l'agriculture – FAO document technique sur les pêches n° 201, 91 p.
- WRIGHT, Peter John (2007). *Understanding the maturation process for field investigations of fisheries-induced evolution*, Marine ecology progress series, vol. 335, p. 279-283.
- WYSUJACK, Klaus, Håkan WESTERBERG, Kim AARESTRUP, Jochen TRAUTNER, Tagried KURWIE, Florian NAGEL, et Reinhold HANEL (2015). *The migration behaviour of European silver eels (*Anguilla anguilla*) released in open ocean conditions*, Marine and freshwater research, vol. 66, p. 145-157.
- XU, Weichao, Yunhe HOU, Yeung Sam HUNG, et Yuexian ZOU (2013). *A comparative analysis of Spearman's rho and Kendall's tau in normal and contaminated normal models*, Signal processing, vol. 93, p. 261-276.

- YAMAMOTO, Kiichiro, et Kōhei YAMAUCHI (1974). *Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium*, Nature, vol. 251, p. 220-222.
- YAMAMOTO, Kiichiro, M. NAKAMURA, H. TAKAHASHI, et K. TAKANO (1976). *Cultivation of larvae of Japanese eel*, Nature, vol. 263, p. 412.
- YAMAMOTO, Kiichiro, Masaaki ŌMORI, et Kōhei YAMAUCHI (1974). *Oogenesis of the Japanese eel*, Nippon Suisan Gakkaishi – Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, vol. 40, p. 9-15.
- YAMANO, Neisuke (2012). *Metamorphosis of elopomorphs* (chap. 3), dans *Metamorphosis in fish*, sous la direction de Sylvie Dufour, Karine Rousseau et Bhagat Gopal Kapoor, Boca Raton, CRC press, p. 76-105.
- YAMAUCHI, Kōhei (1990). *Studies of gonadal steroids involved in final gonadial maturation in the Japanese eel, Anguilla japonica, a review*, Hydrobiology, vol. 75, p. 859-860.
- YOKOUCHI, Kazuki, Françoise DAVERAT, Michael J. MILLER, Nobuto FUKUDA, Ryusuke SUDO, Katsumi TSUKAMOTO, Pierre ELIE, et W. Russell POOLE (2018). *Growth potential can affect timing of maturity in a long-lived semelparous fish*, Biology letters, vol. 14, art. n° 20180269, 4 p.
- ZACHMANN, Andreas, M. Ather ALI, et Jacky FALCÓN (1992). *Melatonin and its effects in fishes: an overview* (chap. 12), dans *Rhythms in fishes*, sous la direction M. Ather Ali, New York, Plenum press, p. 149-165.
- ZOHAR, Yonathan, José Antonio MUÑOZ-CUETO, Abigail ELIZUR, et Olivier KAH (2010). *Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish*, General and comparative endocrinology, vol. 165, p. 438-455.

9 ANNEXES

9.1 Annexe I – Limitations et perspectives d’automatisation de la méthode de quantification du stade de maturité des anguilles en lien avec la thèse

L’automatisation de la reconnaissance des caractéristiques recherchées pour la quantification des stades ovocytaires à partir des images de coupes histologiques ovariennes colorées à l’H&E avait d’abord été tentée dans le cadre de la thèse avant de recourir définitivement à l’extraction manuelle. Les différentes approches d’automatisation possibles, telles que par seuillage des pixels et segmentation des objets, ne devraient toutefois pas sombrer dans l’oubli. Les principales limitations et perspectives ont été subdivisées en deux types de niveaux décrits ci-après.

9.1.1 La préparation histologique

Tout type d’irrégularité visuelle a un impact dans la reconnaissance automatique des objets d’une image, que ce cela soit réalisé *via* des approches de seuillage par pixel ou de segmentation par objet. Des irrégularités au niveau de la qualité de la coloration ont été constatées entre les différents échantillons ($n = 70$). Cette coloration a toujours été effectuée de manière manuelle mais par la même personne. Il existe aujourd’hui des machines de haute qualité permettant d’automatiser plusieurs étapes de la préparation histologique incluant celle de la coloration de coupes histologiques sur lame, et ainsi, d’assurer davantage leur qualité et constance. Il en va de même pour la bonne conservation de la forme des ovocytes et de leurs composantes pour laquelle des irrégularités ont également été notées pour certains échantillons seulement. L’assistance des procédés traditionnellement manuels par l’utilisation de machines automatisant certaines étapes pourrait également avoir un impact positif sur l’uniformité des formes observées dans les images. Ces considérations d’ordre technique contribueraient à faciliter l’établissement d’un procédé d’automatisation de la méthode de quantification du stade de maturité, et ce, dans l’élaboration même des prochains protocoles de préparation histologique.

Choisir un colorant dont les propriétés faciliteraient la discrimination de l’enveloppe vitelline et des vésicules de vitellus, essentielles à la quantification du stade de maturité, serait un autre atout d’ordre technique à considérer pour l’élaboration des prochains protocoles. La coloration PAS (*Periodic Acid-Schiff*) à l’hématoxyline et au jaune de métanile (H&J) permet en outre de colorer les vésicules de glycoprotéines en teintes de mauve de manière contrastée aux vésicules de vitellus qui apparaissent en teintes de vert brunâtre. La coloration PAS–H&J permet également de bien distinguer les vésicules de lipides ainsi que l’enveloppe vitelline apparaissant en teintes d’orange. Cette méthode a notamment été décrite pour des échantillons ovariens d’anguille (NIELSEN, 2014) pendant la réalisation de la thèse.

Mieux contrôler le délais entre la fixation et le reste des étapes de la préparation histologique et/ou changer de fixateur et/ou de milieu de nettoyage sont également des voies d'ordre technique qui pourraient être explorées pour les prochains protocoles, afin d'améliorer la qualité de la préservation de la forme des ovocytes et de leurs composantes, et les perspectives d'automatisation de la méthode de quantification du stade de maturité dû à la nature même de la préparation histologique (GRIZZLE et coll., 2008).

9.1.2 L'analyse d'image

L'analyse d'image assistée par ordinateur – à grande échelle spatiale ou à l'échelle microscopique des tissus – représente des domaines d'étude scientifique propres faisant l'objet de chapitres et d'ouvrages entiers (FLOYD, 2008; REYES-ALDASORO, 2015), ce qui ne donne ici qu'un mince aperçu de la complexité de ce type d'analyse, qui en recherche appliquée, aurait pu constituer l'objet d'un projet entier. Vaut donc mieux avoir cette perspective en tête au moment de l'élaboration des objectifs d'un projet incluant l'analyse d'images, surtout si le critère d'automatiser l'analyse pèse dans la balance. En revanche, une fois une telle méthode mise au point, le gain de temps est inestimable pour les travaux futurs.

La reconnaissance automatisée des objets d'une image ovocytaire sous-entend ici que cette reconnaissance se fait par ordinateur avec l'aide de l'analyste (et ses compétences à reconnaître lui-même les objets est un atout essentiel). Ces objets sont par exemple l'enveloppe vitelline des ovocytes d'une image (pour les délimiter et calculer leur surface ou diamètre) et ceux qui sont essentiels pour la quantification du stade de maturité, tels que le noyau (pour déterminer sa position dans l'ovocyte) et les vésicules de lipides et de vitellus (pour calculer la surface qu'elles occupent). L'analyse d'image se complexifie avec le nombre de caractéristiques visuelles qu'elle doit inclure : la taille des ovocytes tout comme leurs composantes et leur présence évoluent avec le stade, chacune des composantes ayant par ailleurs des propriétés distinctes au niveau spectral (rouge + vert + bleu) et spatial (morphologie) de l'image, sans compter que des irrégularités de nature technique se superposent au défis de base (coloration et/ou déformation des ovocytes et/ou de leurs composantes avec ou sans lien au stade de maturité observé).

Une des voies envisagées pour reconnaître les ovocytes et leurs différents stades est la reconnaissance d'un certain niveau de complexité de l'information de l'image au moyen des patrons de texture et de leur évolution en combinaison avec une approche par arbre de décision (algorithme) intégrant les critères du TABLEAU 4.1. Pour donner des exemples concrets (puisque l'analyse d'image pour la détermination du stade de maturité semble encore à ses balbutiements chez l'anguille), certains projets ont tout récemment commencé à explorer l'utilisation de la texture de l'image pour caractériser le stade de maturité ovocytaire chez l'anguille d'Europe en cours de maturation artificielle (MAZZEO et coll., 2016) ou ont commencé à intégrer des approches par arbre de décision pour la quantification du stade de maturité de la morue de l'Atlantique (TOMKIEWICZ et coll., 2003).

Le dernier aspect ayant constitué une lourdeur pour l'analyse d'image de cette thèse est associé aux toutes premières étapes du traitement à l'ordinateur (pré-traitement préparatoire à l'analyse en tant que telle), une étape également inévitable en vue d'automatiser la méthode de quantification des stades de maturité. Avec les technologies modernes rendant possible l'analyse d'image assistée par ordinateur vient la capacité d'analyser des images de haute qualité, qui de surcroît, occupent beaucoup d'espace (taille de stockage). Le pré-traitement et l'analyse d'image seront donc rendus possibles par la mise à disposition d'un grand espace de stockage numérique, mais également, une forte performance de traitement en «temps réel» (mémoire vive et processeur). Les images de haute définition obtenue dans le cadre de cette thèse, dans leur format propriétaire (.ndpi), n'étaient pas si volumineuses; c'est l'exportation dans un fichier conventionnel, voire compressé (c.-à-d. avec un grossissement réduit), qui a posé problème (p. ex. .tiff, .jpeg). Les images étaient si volumineuses que même un ordinateur très performant avec une mémoire vive de 32 Go peinait à charger le nouveau format de l'image dans le logiciel d'analyse (avant et pendant l'analyse). Des sélections précises sur les images ont donc été exportées en format .jpeg afin de palier au problème, et même après cela, le traitement dans le logiciel était alourdi en termes de temps d'analyse requis par image. La réalisation complète de l'analyse d'image dans son format propriétaire devrait donc être priorisée pour en conserver toute la qualité et éliminer les délais de pré-traitement, mais pour cela, un ordinateur de très haute performance doit être mis à disposition.

9.2 Annexe II – Données supplémentaires pour les anguilles de l’Atlantique à l’étude

9.2.1 Mesures biométriques

TABLEAU AII.1 Autres mesures biométriques chez les anguilles d’Amérique (A) et d’Europe (B) à l’étude

Groupe	(A) <i>Anguilla rostrata</i>			(B) <i>Anguilla anguilla</i>			Effet significatif
	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	
n	15	12	8	13	18	6	
Paramètres biométriques							
BG (mm)	185 180 – 193 155 – 220	203 182 – 221 173 – 255	185 168 – 195 130 – 215	96 92 – 101 82 – 108	100 89 – 110 74 – 126	90 82 – 117 81 – 125	SP
ED_m (mm)	7,2 B 6,7 – 8,0 5,6 – 10	9,3 A 8,1 – 10 6,8 – 11	8,4 AB 7,9 – 8,6 6,8 – 8,8	7,9 B 7,1 – 8,5 6,1 – 9,7	8,2 A 7,8 – 8,9 7,0 – 10	8,0 AB 6,9 – 8,7 6,4 – 9,3	TR
FL¹ (mm)	46 a 43 – 52 37 – 59	44 a 42 – 47 33 – 49	46 a 45 – 48 31 – 53	28 c 26 – 30 25 – 32	30 b 30 – 34 27 – 40	33 bc 30 – 34 27 – 36	SP × TR
SW (g)	2,3 a 1,5 – 2,7 0,9 – 3,3	0,8 b 0,6 – 1,0 0,2 – 2,5	1,7 ab 1,2 – 2,0 0,7 – 3,1	0,2 c 0,2 – 0,3 0,1 – 0,4	0,2 c 0,1 – 0,3 0,1 – 0,8	0,2 c 0,2 – 0,3 0,1 – 0,3	SP × TR
LW (g)	27 a 22 – 29 16 – 38	27 a 23 – 30 15 – 37	20 a 17 – 26 6,8 – 34	3,0 c 2,8 – 3,3 1,9 – 4,5	4,6 b 4,0 – 5,7 2,7 – 9,2	4,2 bc 3,4 – 5,2 3 – 6,5	SP × TR
DTW (g)	12 a 9,7 – 15 7,6 – 19	5,2 b 3,0 – 7,0 0,7 – 8,0	11 a 9,6 – 16 4,5 – 20	3,0 bc 2,5 – 3,1 1,4 – 4,0	2,0 c 1,6 – 2,5 0,8 – 3,6	3,4 b 2,6 – 5,3 1,5 – 7,9	SP × TR
GW (g)	69 b 59 – 84 39 – 141	377 a 247 – 502 187 – 1031	78 b 64 – 91 21 – 119	5,1 d 4,4 – 6,0 2,8 – 7,7	16 c 7,0 – 22 2,5 – 41	5,0 d 3,6 – 7,0 1,9 – 8,9	SP × TR
Indices biométriques							
K'	0,20 0,20 – 0,21 0,20 – 0,22	0,21 0,21 – 0,21 0,20 – 0,22	0,20 0,20 – 0,21 0,20 – 0,22	0,15 0,15 – 0,15 0,14 – 0,15	0,15 0,15 – 0,15 0,14 – 0,16	0,15 0,15 – 0,16 0,14 – 0,16	SP
BWI (%)	100 a 100 – 100 100 – 100	109 a 102 – 121 84 – 152	97 b 95 – 97 94 – 99	100 a 100 – 100 100 – 100	91 bc 90 – 94 86 – 137	87 c 85 – 90 81–91	SP × TR
Composition du foie							
Lipides (% g·g ⁻¹) m. f.	12 9,2 – 17 7,5 – 20	8,3 7,2 – 12 4,2 – 16	12 7,0 – 15 5,8 – 18	14 12 – 16 9,6 – 23	15 12 – 17 4,6 – 21	18 11 – 21 7,9 – 22	SP
Eau (% g·g ⁻¹) m. f.	69 b 66 – 71 64 – 76	79 a 78 – 80 76 – 80	71 b 70 – 72 66 – 81	70 b 67 – 71 64 – 72	71 b 68 – 73 66 – 76	68 b 64 – 71 60 – 71	SP × TR
Composition du muscle							
Lipides (% g·g ⁻¹) m. f.	14 b 13 – 16 8,9 – 20	11 b 9,9 – 14 5,4 – 18	12 b 9,9 – 13 9,0 – 14	24 a 23 – 27 18 – 33	23 a 21 – 25 6,1 – 32	9,6 b 6,3 – 17 5,1 – 23	SP × TR

Eau	65 b	74 a	68 ab	58 c	60 c	75 ab	SP × TR
(% g·g ⁻¹)	64 – 66	70 – 76	67 – 70	56 – 60	59 – 62	64 – 79	
m. f.	61 – 70	63 – 83	66 – 72	52 – 64	50 – 80	60 – 81	
Composition des ovaires							
Lipides	37 a	15 c	37 a	25 b	19 c	20 bc	SP × TR
(% g·g ⁻¹)	35 – 39	12 – 20	34 – 41	22 – 29	16 – 20	16 – 25	
m. f.	29 – 51	7,0 – 22	32 – 42	18 – 31	13 – 22	14 – 30	
Eau	51 c	65 ab	50 c	60 b	67 a	72 a	SP × TR
(% g·g ⁻¹)	50 – 53	61 – 68	47 – 54	58 – 63	66 – 68	66 – 76	
m. f.	40 – 59	58 – 80	45 – 55	56 – 67	65 – 78	56 – 79	

Les valeurs par groupe sont présentées suivant la **MÉDIANE** (Q2), l'**ÉCART INTERQUARTILE** (Q1–Q3) et l'**ÉCART ABSOLU** (MIN–MAX). Les différences d'après **SP** (valeurs plus élevées en gras), **TR** (lettres majuscules en couleur) ou leur **INTERACTION** (lettres minuscules en gras) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). **1**. Les valeurs de **n** par groupe sont dans l'ordre de 14, 12, 8, 13, 18 et 6 pour FL. BG, Body Girth (circonférence du corps); BWI, Body Weight Index [$BW_{(\times 11)} \cdot BW_{(\times 0)}^{-1}$] × 100 (indice de masse corporelle); K', indice de condition utilisant [$BW'_{(g)} \cdot BL_{(cm)}^{-3}$] où BW' est la masse prédite selon la longueur de l'anguille par rapport à la population puisque la relation BW–BL est différente entre les deux espèces et ne permet pas leur comparaison directe en utilisant K_n (SECTION 4.3.2); m. f., masse fraîche; SW, Spleen Weight (masse de la rate).

TABLEAU AII.2 Mesures biométriques au temps initial des anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude

Groupe	(A) <i>Anguilla rostrata</i>			(B) <i>Anguilla anguilla</i>			Effet significatif
	Ctrl×0	PE×0	PBO×0	Ctrl×0	PE×0	PBO×0	
n	15	12	8	13	18	6	
Paramètres biométriques							
BW (g)	1750 1510 – 2011 990 – 2343	1426 1361 – 1555 744 – 2144	1763 1471 – 2127 768 – 2608	309 276 – 314 179 – 331	300 237 – 328 156 – 578	291 218 – 475 198 – 689	SP
BL (mm)	964 896 – 1016 711 – 1062	880 859 – 917 718 – 1021	950 922 – 1009 724 – 1112	571 551 – 577 486 – 596	564 530 – 575 472 – 704	556 513 – 642 494 – 730	SP
BD¹ (mm)	60 a 55 – 64 49 – 68	50 b 47 – 52 41 – 62	56 ab 52 – 61 44 – 69	34 c 28 – 34 25 – 37	32 c 30 – 35 24 – 42	32 c 28 – 38 26 – 47	SP × TR × SA
BG (mm)	185 180 – 193 155 – 220	175 164 – 180 135 – 210	190 170 – 194 135 – 220	96 92 – 101 82 – 108	99 89 – 109 77 – 125	92 86 – 118 85 – 131	SP
ED_m² (mm)	7,2 b 6,7 – 8,0 5,6 – 10	8,5 ab 7,9 – 9,1 5,0 – 9,9	9,1 a 8,6 – 10 6,8 – 11	7,9 ab 7,1 – 8,5 6,1 – 9,7	7,6 ab 6,9 – 8,9 6,3 – 9,7	7,8 ab 7,2 – 8,3 7,1 – 9,4	SP × TR
FL³ (mm)	46 43 – 52 37 – 59	44 42 – 49 26 – 53	45 44 – 46 42 – 56	28 26 – 30 25 – 32	30 28 – 33 21 – 36	32 27 – 34 24 – 36	SP
Indices biométriques							
K_n⁴	0,97 0,90 – 1,05 0,84 – 1,23	1,00 0,89 – 1,05 0,85 – 1,18	0,97 0,91 – 1,02 0,90 – 1,05	1,04 1,00 – 1,08 0,95 – 1,27	1,12 1,01 – 1,15 0,88 – 1,23	1,13 1,09 – 1,14 1,95 – 1,14	SP
K'	0,20 0,20 – 0,21 0,20 – 0,22	0,21 0,21 – 0,21 0,20 – 0,22	0,20 0,20 – 0,21 0,20 – 0,22	0,15 0,15 – 0,15 0,14 – 0,15	0,15 0,15 – 0,15 0,14 – 0,16	0,15 0,15 – 0,16 0,14 – 0,16	SP
EI (%)	4,5 d 3,6 – 5,3 3,0 – 8,1	6,7 bc 6,1 – 7,7 5,1 – 8,8	6,6 cd 5,7 – 7,4 4,6 – 8,4	8,8 a 7,6 – 9,6 5,0 – 12	8,2 ab 7,0 – 9,6 5,9 – 13	8,4 abc 7,9 – 9,1 7,6 – 9,5	SP × TR
FI³ (%)	4,9 4,7 – 5,3 4,0 – 6,3	5,1 4,8 – 5,3 4,6 – 6,2	4,8 4,5 – 5,1 4,2 – 5,6	5,1 4,9 – 5,2 4,4 – 5,4	5,2 5,1 – 5,6 3,3 – 6,4	5,0 5,0 – 5,5 4,9 – 5,9	

Les valeurs par groupe sont présentées suivant la MÉDIANE (Q2), l'ÉCART INTERQUARTILE (Q1–Q3) et l'ÉCART ABSOLU (MIN–MAX). Les différences d'après **SP** (valeurs plus élevées en gras), **TR**, **SA** (valeur soulignée du temps final) ou leur **INTERACTION** (lettres minuscules en gras) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). **1.** La valeur soulignée est significativement plus petite qu'au temps final ($\times 11$) selon la procédure à trois facteurs; **2.** L'effet de **SP × TR** était marginal ($p = 0,072$); **3.** Les valeurs de **n** par groupe sont dans l'ordre de 14, 12, 8, 13, 18 et 6 pour FL et FI; **4.** Les valeurs de condition relative K_n [BW/BW'] sont différentes entre SP mais ne peuvent être comparées directement puisqu'elles proviennent de relations BW–BL distinctes (SECTION 4.3.2), d'où K' , l'indice de condition utilisant [BW'(_g)·BL(_{cm})⁻³]. BW', masse prédite selon la longueur de l'anguille par rapport à la population.

9.2.2 Stade de maturité et paramètres associés

TABEAU AII.3 Autres mesures liées au stade de maturité des anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude

Groupe	(A) <i>Anguilla rostrata</i>			(B) <i>Anguilla anguilla</i>			Effet significatif
	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	
n	14	12	7	13	18	6	
Stade de maturité							
Stade ¹	3,0 b 3,0 – 3,0 3,0 – 3,4	3,6 a 3,4 – 3,9 3,4 – 4,4	3,0 b 3,0 – 3,0 2,8 – 3,0	2,8 c 2,8 – 2,8 2,0 – 2,8	2,8 c 2,8 – 2,8 2,0 – 3,0	2,8 c 2,8 – 2,8 2,8 – 2,8	SP × TR
Paramètres associés							
GDO ² (µm)	188 c 180 – 206 167 – 236	459 a 422 – 513 369 – 721	207 bc 186 – 232 150 – 247	143 d 135 – 161 123 – 176	270 b 228 – 312 139 – 353	150 d 142 – 154 138 – 173	SP × TR
PDO ² (µm)	115 c 113 – 126 105 – 158	355 a 292 – 408 261 – 481	138 c 117 – 143 94 – 152	97 d 88 – 109 67 – 132	186 b 142 – 219 108 – 263	101 d 99 – 102 95 – 118	SP × TR
RDNO ² (%)	31 A 28 – 32 23 – 34	20 B 20 – 21 19 – 21	26 A 25 – 31 23 – 32	36 A 35 – 39 31 – 48	25 B 25 – 29 16 – 42	38 A 37 – 39 30 – 41	SP TR
RSL ³	4,0 3,0 – 4,0 3,0 – 4,0	3,5 3,0 – 4,0 2 – 4	4,0 4,0 – 4,0 3 – 4	4,0 4,0 – 4,0 2,0 – 4,0	4,0 4,0 – 4,0 2,0 – 4,0	4,0 4,0 – 4,0 4,0 – 4,0	SP
RSV ³	1,0 b 1,0 – 2,0 1,0 – 3,0	3,5 a 3,0 – 4,0 3,0 – 4,0	1 b 1,0 – 1,0 0 – 2,0	0 c (n.d.) 0 – 0 0 – 1,0	0 c 0 – 0 0 – 1,0	0 c (n.d.) 0 – 0 0 – 1,0	SP × TR

Les valeurs par groupe sont présentées suivant la MÉDIANE (Q2), l'ÉCART INTERQUARTILE (Q1–Q3) et l'ÉCART ABSOLU (MIN–MAX). Les différences d'après **SP** (valeurs plus élevées en gras), **TR** (lettres majuscules en couleur) ou leur **INTERACTION** (lettres minuscules en gras) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). **1.** Stade le plus abondant par anguille : **PG1**=1,0; **PG2**=1,8; **PV1**=2,0; **PV2**=2,8; **VTG1**=3,0; **VTG2**=3,4; **VTG3**=3,8; **GVM1**=4,0; **GVM2**=4,4; **GVBD**=4,8; **OV**=5,0; **2.** Basé sur les valeurs médianes par anguille; **3.** Ratio de surface : **0 %**=0, **0–10 %**=1, **10–25 %**=2, **25–50 %**=3, **50–100 %**=4. n.d., non détecté.

9.2.3 Teneurs en stéroïdes et en produits de la transcription de gènes de l'axe gonadotrope

TABLEAU AII.4 Teneurs liées à l'axe gonadotrope pour les anguilles d'Amérique (A) et d'Europe (B) à l'étude

Groupe	(A) <i>Anguilla rostrata</i>			(B) <i>Anguilla anguilla</i>			Effet significatif
	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	Ctrl×0	PE×11	PBO×11	
Produits de la transcription du cerveau							
n	15	12	8	13	18	6	
<i>gnrh1</i>	1,8 a	1,5 ab	1,0 ab	1,0 b	1,3 ab	1,5 ab	SP × TR
<i>βact</i>	1,3 – 3,4	1,0 – 2,2	0,5 – 1,4	0,8 – 1,3	1,2 – 1,5	1,2 – 1,7	
(u.a.)	0,6 – 4,7	0,3 – 6,9	0,2 – 4,0	0,5 – 1,6	0,5 – 2,2	0,6 – 2,2	
<i>gnrh2</i>	2,3	2,6	1,8	1,0	1,2	1,3	SP
<i>βact</i>	1,8 – 3,6	1,3 – 4,4	1,5 – 2,0	0,8 – 1,3	1,0 – 1,5	0,8 – 1,4	
(u.a.)	0,1 – 4,8	26·10 ⁻³ – 7,6	0,8 – 3,2	0,4 – 1,5	0,5 – 2,0	0,4 – 2,5	
<i>esr1</i>	2,5 a	2,3 a	1,5 b	1,0 bc	1,2 bc	0,8 c	SP × TR
<i>βact</i>	2,0 – 2,9	2,1 – 2,9	1,2 – 1,9	0,9 – 1,1	0,9 – 1,4	0,6 – 0,9	
(u.a.)	1,8 – 5,7	1,0 – 9,1	0,5 – 2,9	0,6 – 1,3	0,8 – 1,7	0,6 – 1,9	
Produits de la transcription de l'hypophyse							
n	14	12	8	13	18	6	
<i>fshb</i>	0,7 a	22·10 ⁻³ c	0,2 b	0,7 a	12·10 ⁻³ c	1,7 ab	SP × TR
<i>βact</i>	0,4 – 1,3	4·10 ⁻³ – 91·10 ⁻³	0,1 – 0,3	0,6 – 1,2	7·10 ⁻³ – 24·10 ⁻³	0,5 – 1,8	
(u.a.)	0,2 – 2,4	1·10 ⁻³ – 0,7	75·10 ⁻³ – 0,4	0,2 – 4,3	3·10 ⁻³ – 58·10 ⁻³	14·10 ⁻³ – 2,8	
<i>lhb</i>	8,6 b	441 a	1,2 cd	0,8 d	2,1 bc	1,1 cd	SP × TR
<i>βact</i>	5,4 – 12	305 – 610	0,7 – 3,6	0,6 – 1,3	1,0 – 12	0,4 – 2,2	
(u.a.)	1,3 – 83	27 – 2·10 ³	0,1 – 5,6	64·10 ⁻³ – 2,3	0,2 – 34	0,1 – 48	
<i>esr1</i>	2,1 a	1,4 ab	0,7 b	1,1 b	2,0 a	1,1 ab	SP × TR
<i>βact</i>	1,2 – 2,9	1,0 – 1,5	0,6 – 0,8	0,6 – 1,4	1,5 – 2,8	0,7 – 1,5	
(u.a.)	0,6 – 3,7	0,8 – 3,0	0,2 – 1,3	0,3 – 2,1	1,2 – 4,0	0,5 – 4,3	
Produits de la transcription du foie							
n	15	11	8	13	18	6	
<i>vtg</i>	3·10 ³ b	379·10 ³ a	173 b	≤0,2 d	0,9 c	≤0,2 d	SP × TR
<i>sI8</i>	2·10 ³ – 4·10 ³	217·10 ³ – 506·10 ³	52 – 287	≤0,2 – ≤0,2	0,4 – 6,6	≤0,2 – 0,2	
(u.a.)	173 – 42·10 ³	69·10 ³ – 613·10 ³	40 – 1·10 ³	≤0,2 – 8,7	≤0,2 – 13·10 ³	≤0,2 – 0,3	
<i>esr1</i>	0,5 b	2,4 a	0,8 b	0,8 b	0,8 b	0,9 b	SP × TR
<i>sI8</i>	0,4 – 0,7	2,0 – 2,8	0,5 – 0,9	0,6 – 1,4	0,5 – 1,0	0,5 – 1,2	
(u.a.)	0,3 – 1,1	0,9 – 4,0	0,2 – 1,6	0,4 – 2,3	0,2 – 1,4	0,1 – 1,4	
Concentration en hormone du plasma sanguin							
n	15	12	8	13	18	6	
T	3,2 a	5,0 a	0,3 b	≤0,2 b	0,3 b	≤0,2 b	SP × TR
(ng·mL ⁻¹)	2,5 – 5,8	2,0 – 9,4	≤0,2 – 1,5	≤0,2 – 0,4	≤0,2 – 1,6	(n.d.)	
	1,0 – 16	0,9 – 33	≤0,2 – 1,8	≤0,2 – 1,8	≤0,2 – 26		
E2	507 b	3·10 ³ a	65 c	73 c	36 cd	≤18 d	SP × TR
(pg·mL ⁻¹)	356 – 792	2·10 ³ – 4·10 ³	46 – 112	22 – 122	≤18 – 128	(n.d.)	
	175 – 2·10 ³	521 – 18·10 ³	≤18 – 190	≤18 – 508	≤18 – 401		
11KT	845 a	1320 a	66 c	59 cd	146 b	21 d	SP × TR
(pg·mL ⁻¹)	440 – 2·10 ³	755 – 2·10 ³	45 – 86	37 – 77	84 – 333	12 – 23	
	162 – 6·10 ³	585 – 4·10 ³	18 – 104	24 – 107	32 – 889	10 – 36	

Les valeurs par groupe sont présentées suivant la MÉDIANE (Q2), l'ÉCART INTERQUARTILE (Q1–Q3) et l'ÉCART ABSOLU (MIN–MAX). Les différences d'après SP (valeurs plus élevées en gras) ou l'INTERACTION de SP et TR (lettres minuscules en gras) suivent l'analyse non paramétrique de variance et de contrastes ($P < 0,05$). n.d., non détecté d'après la limite de détection de la méthode qui était de 0,2 u.a. pour la *vtg* après sa normalisation sur *sI8* – 0,15 ng·mL⁻¹ pour la T – et 17,6 pg·mL⁻¹ pour l'E2; u.a, unités arbitraires.

9.2.4 Ensemble des relations entre les différentes variables

TABLEAU AII.5 Matrice de concordance Cp (+) ou discordance Dp (-) entre les variables des anguilles d'Amérique (AR) et d'Europe (AA) à l'étude (1^{re} partie)

Cp (+) Dp (-)	Age AR	AA	BW AR	AA	BL AR	AA	BD AR	AA	ED _m AR	AA	FL AR	AA	DTW AR	AA	LW AR	AA	GW AR	AA	
Age	1	1	0,73		0,71		0,62				0,60				0,65				0,67
BW	0,73		1	1	0,80	0,90	0,75	0,84		0,73	0,70	0,70	0,67	0,68	0,71	0,72			0,69
BL	0,71		0,80	0,90	1	1		0,79		0,71	0,70	0,72	0,76	0,69	0,61	0,69			0,66
BD	0,62		0,75	0,84		0,79	1	1	0,74	0,73		0,71		0,58	0,77	0,82	0,80	0,79	
ED _m				0,73		0,71	0,74	0,73	1	1		0,73			0,68	0,72	0,74	0,74	
FL	0,60		0,70	0,70	0,70	0,72		0,71		0,73	1	1	0,66		0,63	0,77			0,68
DTW			0,67	0,68	0,76	0,69		0,58			0,66		1	1					- 0,61
LW	0,65		0,71	0,72	0,61	0,69	0,77	0,82	0,68	0,72	0,63	0,77			1	1			0,80
GW		0,67		0,69		0,66	0,80	0,79	0,74	0,74		0,68	- 0,61				0,80	1	1
Kn							0,75		0,67						0,62				0,78
EI							0,70		0,91	0,88		0,66							0,73
FI											0,74	0,69		- 0,63					0,69
DSI		- 0,62					- 0,62	- 0,63	- 0,63	- 0,64		- 0,59	0,86	0,76			- 0,66	- 0,73	- 0,76
HSI				- 0,63		- 0,66								- 0,72	0,70	0,65			
FSI _T		0,66			0,70						0,60				0,69				
FSI _F				- 0,63		- 0,66									0,63				
FSI _M		0,64			0,71						0,59		0,66						- 0,63
FSI _O		0,66			- 0,67		0,66	0,68	0,71	0,67		0,58	- 0,69	- 0,67		0,69	0,81	0,85	
GSI		0,68			- 0,68		0,69	0,65	0,69	0,65		0,59	- 0,69	- 0,69		0,70	0,86	0,84	
GDO		0,66			- 0,67		0,66	0,70	0,71	0,69		0,69	- 0,72	- 0,64		0,73	0,82	0,84	
Stade				0,59	- 0,73		0,61	0,68	0,64	0,57		0,59	- 0,75			0,71	0,77	0,68	
T		0,65		0,57		0,57	0,64	0,61								0,58			0,63
E2		0,61					0,70						- 0,70						0,77
11KT		0,69					0,66		0,60	0,63					0,63				0,71
<i>esr1_C</i>		0,69																	
<i>esr1_H</i>	0,59	0,66							0,61	0,65	0,62					0,64			0,72
<i>esr1_F</i>					- 0,692		0,57		0,64				- 0,73						0,72
<i>gnrh1</i>																			
<i>gnrh2</i>																			
<i>fshβ</i>							- 0,66		- 0,72					0,60					- 0,79
<i>lhβ</i>					- 0,624		0,67						- 0,75						0,75
<i>vtg</i>		0,66					0,68		0,65				- 0,66						0,75

TABLEAU AII.5 (2^e partie)

Cp (+)	Kn	AA	EI	AA	FI	AA	DSI	AA	HSI	AA	FSI_T	AA	FSI_F	AA	FSI_M	AA	FSI_O	AA
Dp (-)	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA
Kn	1	1	0,69	0,61	0,69							0,65			0,64		0,76	
EI	0,69	0,61	1	1		0,63	-0,64	-0,64							-0,61		0,76	0,65
FI	0,69			0,63	1	1			0,62	0,72			0,64					
DSI			-0,64	-0,64			1	1		-0,64					0,61		-0,69	-0,81
HSI					0,62	0,72		-0,64	1	1		-0,63	0,58	0,76		-0,64	0,72	0,63
FSI_T		0,65								-0,63	1	1	0,75	-0,58	0,88	0,96		
FSI_F					0,64				0,58	0,76	0,75	-0,58	1	1		-0,59		
FSI_M		0,64	-0,61				0,61		-0,64	0,88	0,96		-0,59	1	1		-0,66	
FSI_O	0,76		0,76	0,65			-0,69	-0,81	0,72	0,63				-0,66		1	1	
GSI	0,79		0,74	0,64			-0,70	-0,80		0,69	-0,58			-0,70			0,91	0,90
GDO	0,72		0,76	0,67		0,62	-0,72	-0,79		0,65	-0,62			-0,74			0,84	0,80
Stade	0,75		0,68				-0,71	-0,74						-0,75			0,81	0,68
T	0,68																	0,68
E2	0,75		0,66				-0,74							-0,55			0,80	0,55
11KT				0,61	0,70			-0,74									0,68	0,71
<i>gnrh1</i>																		
<i>gnrh2</i>							-0,63											
<i>fshβ</i>			-0,73	-0,63		-0,65	0,73		-0,67					0,75		-0,68	-0,69	
<i>lhβ</i>			0,68	0,61		0,60	-0,78		0,66		-0,53			-0,61		0,78		
<i>vtg</i>			0,67	0,64			-0,66		0,68					-0,63		0,79	0,73	
<i>esr1_C</i>				0,63								0,58						0,63
<i>esr1_H</i>				0,65		0,62		-0,66		0,65		0,62						0,71
<i>esr1_F</i>	0,62		0,66				-0,70		0,64						-0,67		0,76	
Age								-0,62			0,66				0,64			0,66
BW										-0,63				-0,63				
BL									-0,66	0,70			-0,66	0,71			-0,67	
BD	0,75		0,70				-0,62	-0,63									0,66	0,68
EDm	0,67		0,91	0,88			-0,63	-0,64									0,71	0,67
FL				0,66	0,74	0,69		-0,59			0,60			0,59				0,58
DTW						-0,63	0,86	0,76		-0,72				0,66			-0,69	-0,67
LW	0,62							-0,66	0,70	0,65	0,69		0,63					0,69
GW	0,78		0,73	0,69			-0,73	-0,76							-0,63		0,81	0,85

TABLEAU AII.5 (3^e partie)

Cp (+) Dp (-)	GSI		GDO		Stade		T		E2		11KT		esr1_C		esr1_H		esr1_F	
	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA
GSI	1	1	0,91	0,79	0,86	0,66	0,63	0,67	0,79			0,72		0,66		0,73		0,78
GDO	0,91	0,79	1	1	0,86	0,71	0,56	0,65	0,72			0,76		0,65		0,74		0,82
Stade	0,86	0,66	0,86	0,71	1	1	0,63		0,78									0,80
T	0,63	0,67	0,56	0,65	0,63		1	1	0,77	0,80		0,70						0,59
E2	0,79		0,72		0,78		0,77	0,80	1	1		0,63		0,64				0,74
11KT		0,72		0,76				0,70		0,63		1	1		0,68	0,69	0,67	
<i>esr1_C</i>		0,66		0,65						0,64			0,68	1	1	0,71	0,70	
<i>esr1_H</i>		0,73		0,74							0,69	0,67	1	1	1	1		
<i>esr1_F</i>	0,78		0,82		0,80		0,59		0,74									1
<i>gnrh1</i>																		
<i>gnrh2</i>									0,59					0,68	0,56	0,62	0,63	-0,60
<i>fshβ</i>	-0,74	-0,76	-0,78	-0,75									-0,75					-0,72
<i>lhβ</i>	0,74		0,71		0,78				0,83				0,68	0,62	0,64		0,80	0,70
<i>vtg</i>	0,78	0,73	0,74	0,75	0,76					0,67			0,71		0,71			0,74
Age		0,68		0,66				0,65		0,61			0,69		0,69	0,59	0,66	
BW						0,59		0,57										
BL	-0,68		-0,67		-0,73			0,57										-0,69
BD	0,69	0,65	0,66	0,70	0,61	0,68	0,64	0,61	0,70		0,66							0,57
EDm	0,69	0,65	0,71	0,69	0,64	0,57						0,60				0,61		0,64
FL		0,59		0,69		0,59						0,63			0,65	0,62		
DTW	-0,69	-0,69	-0,72	-0,64	-0,75				-0,70									-0,73
LW		0,70		0,73		0,71		0,58				0,63					0,64	
GW	0,86	0,84	0,82	0,84	0,77	0,68	0,63	0,69	0,77			0,71					0,72	0,72
Kn	0,79		0,72		0,75		0,68		0,75									0,62
EI	0,74	0,64	0,76	0,67	0,68				0,66			0,61		0,63			0,65	0,66
FI				0,62							0,70						0,62	
DSI	-0,70	-0,80	-0,72	-0,79	-0,71	-0,74			-0,74			-0,74					-0,66	-0,70
HSI		0,69		0,65													0,65	0,64
FSI_T	-0,58		-0,62															
FSI_F													0,58			0,62		
FSI_M	-0,70		-0,74		-0,75				-0,55									-0,67
FSI_O	0,91	0,90	0,84	0,80	0,81	0,68		0,68	0,80	0,55	0,68	0,71		0,63		0,71		0,76

TABLEAU AII.5 (4^e partie)

C _p (+) D _p (-)	<i>gnrh1</i>		<i>gnrh2</i>		<i>fshβ</i>		<i>lhβ</i>		<i>vtg</i>	
	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA	AR	AA
<i>gnrh1</i>	1	1								
<i>gnrh2</i>			1	1			0,58	0,63		
<i>fshβ</i>					1	1	-0,65		-0,62	
<i>lhβ</i>			0,58	0,63	-0,65		1	1	0,82	0,66
<i>vtg</i>					-0,62		0,82	0,66	1	1
T										
E2			0,59				0,83			0,67
11KT						-0,75		0,68		0,71
<i>esr1_C</i>			0,68	0,56			0,62	0,64		0,71
<i>esr1_H</i>			0,62	0,63				0,80		0,71
<i>esr1_F</i>				-0,60	-0,72		0,70		0,74	
Age										0,66
BW										
BL							-0,62			
BD					-0,66		0,67		0,68	
ED _m					-0,72				0,65	
FL										
DTW						0,60	-0,75		-0,66	
LW										
GW					-0,79	-0,74	0,75		0,75	
K _n										
EI					-0,73	-0,63	0,68	0,61	0,67	0,64
FI						-0,65		0,60		
DSI			-0,63		0,73		-0,78		-0,66	
HSI						-0,67	0,66		0,68	
FSI_T							-0,53			
FSI_F										
FSI_M					0,75		-0,61		-0,63	
FSI_O					-0,68	-0,69	0,78		0,79	0,73
GSI					-0,74	-0,76	0,74		0,78	0,73
GDO					-0,78	-0,75	0,71		0,74	0,75
Stade							0,78		0,76	

Pourcentage d'observations concordantes C_p ou discordantes D_p indiquant une probabilité non nulle lorsque plus de 50 % des points pris au hasard entre deux variables sont associés positivement (+) ou négativement (-) de manière significative (P<0,05). Cette probabilité qui est fondée sur le coefficient tau-b de Kendall (τ_b) est considérée comme étant FORTE lorsque 75 à 100 % des points sont associés dans la même direction + ou - (valeurs de **0,75–1,00** mises en caractère GRAS et se rapprochant de la relation parfaite), MODÉRÉE lorsqu'il s'agit de 60 à <75 % des points (valeurs de 0,60–<0,75 laissées en caractère RÉGULIER) ou FAIBLE lorsque seulement 50 à <60 % sont associés dans une même direction + ou - (valeurs de 0,50–<0,60 mises en GRIS et échappant à l'indépendance mais de peu). Le nombre d'observations est de 35 pour AR (*A. rostrata*) et 37 pour AA (*A. anguilla*). La gamme des valeurs de probabilité (τ_b) reliées à C_p ou D_p et leur explication sont disponibles en FIGURE 5.6 et SECTION 4.9.2, respectivement. C, cerveau; F, foie; H, hypophyse; M, muscle; O, ovaires; T, total.

9.3 Annexe III – Articles en préparation

Les titres qui suivent et les revues scientifiques indiquées demeurent à l'état provisoire.

9.3.1 Article 1 – Histological and neuroendocrine characterization of the reproductive state in female American eel (*Anguilla rostrata*) during downstream migration and comparison to its sister species, the European eel (*A. anguilla*)

Ce premier article portera principalement sur la caractérisation développementale (stade ovarien) et neuroendocrinienne (axe gonadotrope) de l'état de maturité de l'anguille d'Amérique femelle au moment de la dévalaison, et sur la comparaison avec son espèce sœur, l'anguille d'Europe, en vue d'être soumis dans une revue spécialisée en endocrinologie (*General and comparative endocrinology*).

9.3.2 Article 2 – Response of brain-pituitary-gonadal axis in migrating female American eels during artificial maturation and ovarian transfer of metallic and organic contaminants

Ce deuxième article détaillera la réponse de l'anguille d'Amérique femelle migrante à la maturation artificielle au-delà du niveau ovarien (axe gonadotrope) tout en démontrant le transfert ovarien des contaminants métalliques et organiques préalablement accumulés qui se produit en parallèle. Une revue multidisciplinaire en sciences aquatiques est ciblée à cet effet avec le Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques (*Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*).

9.3.3 Article 3 – Potential impact of organic and inorganic contaminants on the vitellogenic response of migrating female European eels under artificial maturation

Ce troisième article traitera de l'impact potentiel des contaminants organiques et inorganiques préalablement accumulés sur la réponse à la maturation artificielle de l'anguille d'Europe femelle migrante en voie de vitellogenèse. Une revue spécialisée en écotoxicologie ou appréciant la documentation en lien avec la perturbation endocrinienne sera approchée à cette fin (*Aquatic toxicology*, *Chemosphere* ou *Environmental pollution*).