

Influence d'une élévation de température sur l'évolution de l'aminocidémie et de l'ammoniémie après le repas chez la truite arc en ciel (*Salmo gairdneri* R.)

par B. FAUCONNEAU, P. LUQUET

Laboratoire de Nutrition des Poissons, I.N.R.A.,
Centre de Recherches Hydrobiologiques
Saint-Pée-sur-Nivelle, 64310 Ascaïn.

Summary. Effect of temperature rise on blood aminoacids and ammonia in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) after feeding.

Rainbow trout acclimatized to 9 °C and receiving one meal per day were submitted to a sharp increase in temperature (1 °C/hr) from 9 °C to 18 °C. During the course of acclimatization to 18 °C, we investigated changes in (i) plasma free total aminoacids, (ii) plasma ammonia and (iii) blood free aminoacids.

From the first day after the temperature change, plasma amino acids and plasma ammonia were respectively lower and greater at 18 °C than at 9 °C. An increase in the utilization of aminoacid for protein synthesis and oxydative catabolism is suggested. No such alterations were observed in the mean pattern of blood free aminoacids.

After the temperature increase there were progressive changes in the postfeeding blood free aminoacid profile which could be related to the increased food consumption and transit rate. Also, 2 days after the temperature change, an increase in the postfeeding plasma aminoacid contents was observed ; a phenomenon which might be related to a stimulation of amino acid absorption. After 2 days, the postfeeding profile of plasma total free aminoacids approached a steady state which was obtained after 7 days.

The changes in plasma aminoacid contents after feeding were associated with similar changes in plasma ammonia indicating a concomitant variation in aminoacid catabolism.

From these observations it was concluded that acclimatization to a high temperature is achieved within 4 to 7 days.

Introduction.

En raison de sa poecilothermie, le poisson est tributaire à chaque instant des conditions thermiques du milieu. La température du poisson suit les variations de celle de son environnement. Afin de connaître les modifications et les mécanismes mis en jeu par l'organisme au cours de ces variations de température, on peut étudier le poisson acclimaté à différents niveaux thermiques, et/ou suivre le poisson au cours de son acclimatation à une nouvelle température.

Nous avons choisi la deuxième approche car il semblerait que, indépendamment des effets assimilables à un stress, certains mécanismes soient stimulés, plus particulièrement au niveau du métabolisme azoté, lors d'une augmentation rapide de température. Cette stimulation, mise en évidence pour l'absorption de certains acides aminés (Mephram et Smith, 1966a, b ; Kitchin et Morris, 1971) et pour la synthèse protéique (Haschemeyer, 1968) entraînerait des activités anaboliques plus importantes que celles observées chez le poisson acclimaté à la température chaude.

Nous avons recherché un paramètre du métabolisme azoté permettant d'apprécier les modifications induites par une variation de température. Le pool des acides aminés libres sanguins nous a paru répondre à cette approche. Les acides aminés constituent en effet la principale forme de transport des produits de la digestion des matières azotées alimentaires, et du catabolisme des protéines, vers les tissus utilisateurs. Leurs concentrations sont à chaque instant la résultante entre les apports provenant de la digestion, du renouvellement des protéines tissulaires, ou de leur synthèse dans l'organisme (acides aminés non indispensables) et les prélèvements par les tissus pour la synthèse de peptides et de protéines et leur catabolisme. Les teneurs en acides aminés libres sanguins étant dépendantes des conditions d'alimentation, il est nécessaire de connaître leur évolution après un repas.

La présente publication porte sur les modifications de l'évolution postprandiale des teneurs en acides aminés libres plasmatiques et sanguins liées à une augmentation de température. Le principal produit terminal de l'excrétion azotée étant l'ammoniaque chez les Téléostéens, nous avons également suivi l'évolution de l'ammoniaque plasmatique, comme indicateur des variations induites par le catabolisme.

Matériel et méthodes.

Huit lots d'une centaine de truites arc-en-ciel (*Salmo Gairdneri* R.) d'un poids moyen initial de 55 g provenant d'une pisciculture expérimentale, sont placés dans des bacs en matière plastique de couleur grise de contenance utile 160 l. Les bacs sont recouverts d'une grille pour assurer une lumière diffuse, le rythme lumineux correspondant à la photopériode naturelle de février à mai.

Les bacs sont placés en parallèle dans un circuit fermé, thermorégulé, alimenté par l'eau de ville, assurant un débit de l'ordre de 5 litres par minute soit un renouvellement d'environ 25 p. 100.

Les truites sont nourries au rythme d'un repas par jour, le matin à 9 h. La quantité ingérée dépend de la consommation spontanée lors de ce repas (qui dure 5 mn au maximum). La composition de l'aliment utilisé est donnée dans les tableaux 1 et 2.

Régime thermique. — Les poissons sont acclimatés pendant plus d'un mois à la température de $9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. La température est augmentée en une journée (environ $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$) jusqu'à $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cette température a été ensuite maintenue constante pendant 28 jours.

Prélèvements. — Les truites sont anesthésiées par le mono phényl éther d'éthylène glycol dilué à 0,4 p. 100 dans l'eau. Le sang est prélevé dans la veine caudale à raison

TABLEAU 1
Composition de l'aliment

Composition centésimale p. 100	
Blé entier broyé	33
Tourteau de soja 50	22
Farine de hareng	35
Huile de maïs	5
Mélange minéral (Luquet, 1971)	1
Mélange vitaminique (EIFAC, 1971)	2
Lignosulfite	2
Composition chimique	
Matière sèche	91,5
Matière grasse p. 100 MS	8,5
Protéines (N \times 6,25) p. 100 MS	40,6

TABLEAU 2
Composition en acides aminés de l'aliment

	g/16 gN	p. 100 ration
Ac. aspartique	8,90	3,30
Thréonine	3,60	1,34
Sérine	3,90	1,45
Ac. glutamique	17,70	6,57
Proline	4,40	1,64
Glycine	4,75	1,77
Alanine	4,85	1,80
Valine	4,75	1,77
Cystine	1,25	0,47
Méthionine	2,40	0,89
Isoleucine	3,95	1,46
Leucine	6,80	2,53
Tyrosine	3,05	1,13
Phénylalanine	4,15	1,54
Lysine	5,35	1,99
Histidine	1,80	0,67
Arginine	5,20	1,93

de 1,5 ml par truite. Le dosage est effectué dans la demi-heure qui suit pour l'acidoaminoacidémie et l'ammoniémie plasmatique. Le reste du sang est précipité par le TCA 10 p. 100 (3 à 4 fois le volume de sang) et congelé.

Sur un nyctémère les prélèvements ont lieu 1 h, 3, 6, 9, 12, 15, 18 et 24 h après le repas sur 12 truites différentes à chaque heure, prises dans le même bac ; le poids des truites est noté.

Les nyctémères étudiés sont les suivants :

- deux jours consécutifs à 9 °C (à la fin de la période d'acclimatation) ;
- le 1^{er}, 2^e, 4^e, 7^e, 14^e et 28^e jour à 18 °C (soit J1, J2, J4, J7, J14 et J28 si J0 est le jour de l'augmentation de température).

Estimation de la variabilité individuelle — Sur 2 lots de 30 truites acclimatées depuis 1 mois à 13 °C et 18 °C et à jeun depuis 4 jours, des prélèvements de sang sont effectués de façon à apprécier la variabilité individuelle pour l'aminocidémie et l'ammoniémie plasmatique (pour des raisons techniques nous n'avons pas pu réguler la température en dessous de 13 °C).

Méthodes analytiques.

— *Dosage de la fraction α -aminée libre du plasma* : Le dosage est effectué soit sur 1 ml de sang par truite lors de l'étude de la variabilité individuelle des deux paramètres plasmatiques, soit par 1 ml d'un échantillon réalisé par mélange du sang de 12 truites lors de l'étude de ces paramètres sur un nycthémère.

La méthode utilisée est celle au TNBS (Tri Nitro Benzène Sulfonate) adaptée à un appareil auto-analyseur (Palmer et Peters, 1965). Dans cette méthode le sang est dialysé et le dosage s'effectue donc dans le plasma.

— *Dosage de l'ammoniémie plasmatique* : Le dosage est fait suivant la méthode de Berthelot au phénol-hypochlorite adaptée à un analyseur automatique par Assous *et al.* (1960). Le sang est dialysé comme précédemment.

— *Dosage des acides aminés individuels du sang total* : Après 4 extractions successives au TCA 10 p. 100 (8 à 10 fois le volume de sang à chaque extraction) et centrifugation, le TCA est éliminé des surnageants par passage sur colonne échangeuse d'anions Dowex 2 \times 8-100 mesh. Après évaporation sous vide le résidu est repris dans 1 ml de tampon citrate de sodium pH 2,2 (0,2 M). Le dosage est réalisé par chromatographie sur colonne échangeuse de cations suivant une modification de la méthode de Moore, Spackman et Stein (1958). Nous n'avons pas dosé la méthionine (en grande partie oxydée) ni le tryptophane.

Résultats.

1. Croissance et consommation.

La consommation alimentaire est faible à 9 °C : 7 g de matière sèche (MS)/kg de poids vif, et ne change pas immédiatement après l'augmentation de température à 18 °C. La quantité ingérée commence à augmenter le 4^e jour à 18 °C : 14 g MS/kg de poids vif et atteint 23 g/kg le 28^e jour à la température chaude (tabl. 3).

Pendant les 15 premiers jours de la période d'adaptation à 18 °C, la croissance semble stagner. Le gain de poids est estimé à 0,5 g/j au cours de l'acclimatation à 9 °C (dans la période pré-expérimentale), et à 1,5 g/j à partir du 14^e jour à 18 °C (tabl. 3).

2. Variation de la fraction α -aminée libre plasmatique (fig. 1).

La teneur moyenne journalière en acides aminés libres totaux du plasma est élevée à 9 °C : 22,2 μ M/ml de plasma. Dès le premier jour à 18 °C cette teneur diminue considérablement : 7,2 μ M/ml de plasma puis reste stable au cours de l'acclimatation à 18 °C.

TABLEAU 3

Consommation des truites, acclimatées à 9 °C et au cours de l'acclimatation à 18 °C, les jours où sont effectués les dosages d'acides aminés et d'ammoniaque dans le sang. Consommation mesurée globalement sur des lots de 100 truites. Le poids des truites est calculé à partir de la moyenne des poids de lots de 12 truites (8 lots à chaque nycthémère). ^{aa} : différence non significative ; ^{ab} : différence significative P < 0,001 ; (test t-student).

Température	9 °C		18 °C					
			J1	J2	J4	J7	J14	J28
Jours passés à la température								
Poids des truites (g)	Moyenne . .	77,49 ^a	76,50 ^a	77,69 ^a	76,02 ^a	78,28 ^a	74,47 ^a	96,98 ^b
	Ecart type . .	4,08	4,50	4,25	3,11	3,51	4,99	3,37
Consommation g mat. sèche/kg poids vif		6,9	5,6	6,3	13,6	10,6	16,6	23,2

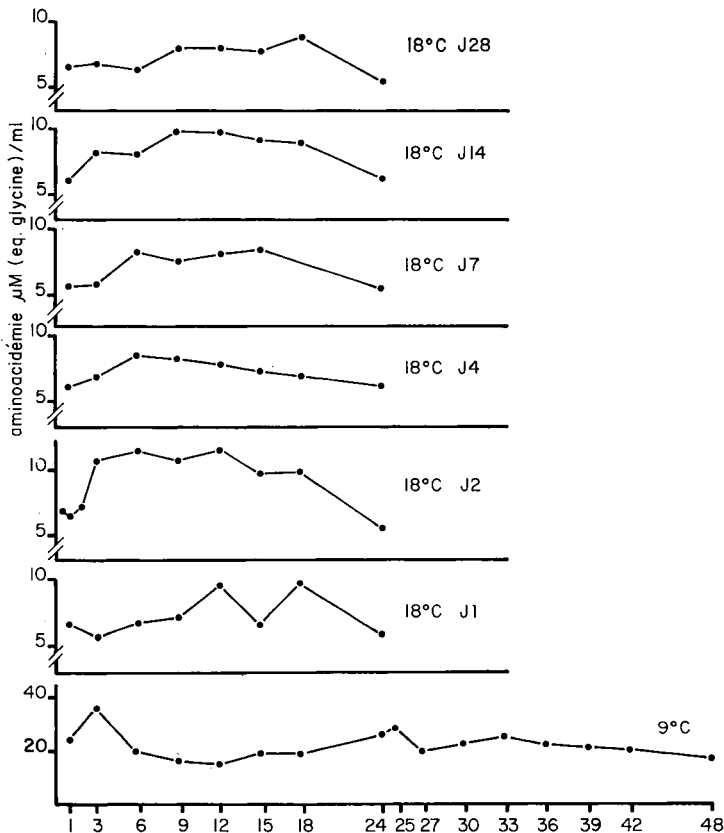


FIG. 1. — Evolution de l'aminocidémie dans le plasma au cours d'un nycthémère à 9 °C et au cours de l'acclimatation à 18 °C, après un repas (valeurs moyennes sur 12 truites).

Après le repas d'épreuve à 9 °C, la fraction α -aminée libre du plasma augmente rapidement et atteint un maximum au bout de 3 h : 36,1 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de plasma (représentant 150 p. 100 de la valeur la plus faible du nyctémère). Puis cette concentration diminue jusqu'à 12 h après le repas : 15,1 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de plasma. On note ensuite une légère augmentation jusqu'à 24 h après le repas.

Le premier jour qui suit l'élévation de la température de l'eau à 18 °C, la cinétique après un repas sur 24 h de la fraction α -aminée libre plasmatique est modifiée et on observe deux maxima : le premier se situant 12 h après le repas : 9,45 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de plasma, le deuxième 18 h après le repas.

A partir du deuxième jour à 18 °C, où l'aminoacidémie est élevée dès 3 h après le repas : 10,55 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de plasma, les variations postprandiales de l'aminoacidémie sont plus régulières et se stabilisent. La concentration maximale sur un nyctémère apparaît de plus en plus tard : 3 h après le repas le 2^e jour à 18 °C, jusqu'à 9 h après le repas le 28^e jour à 18 °C et l'amplitude des variations sur un nyctémère diminue : 200 p. 100 par rapport à la valeur la plus faible du nyctémère le 2^e jour à 18 °C jusqu'à 150 p. 100 le 28^e jour à 18 °C.

3. Evolution des teneurs en acides aminés libres du sang.

a) Caractéristiques des concentrations en acides aminés libres du sang (tabl. 4).

La taurine est en concentration élevée dans le sang, elle représente 60 p. 100 en moyenne de la somme des teneurs en acides aminés libres sanguins.

Les acides aminés à chaîne ramifiée : valine, leucine et isoleucine, représentent à eux seuls près de 50 p. 100 de la somme des teneurs en acides aminés indispensables. Parmi ces acides aminés indispensables la thréonine est également en concentration élevée.

Pour les acides aminés non indispensables, la glycine, l'alanine et à un moindre degré l'acide glutamique ont des concentrations élevées soit respectivement : 37, 16 et 13 p. 100 de la somme des concentrations en acides aminés non indispensables.

b) Influence de la température (tabl. 4).

Les variations avec les conditions thermiques indépendamment de l'influence du repas sont faibles. On peut néanmoins signaler une légère augmentation de la plupart des acides aminés indispensables le premier jour à 18 °C (sauf pour la thréonine), qui disparaît le 4^e jour à 18 °C. La thréonine s'ajuste à un niveau bas dès le 1^{er} jour après l'augmentation de température.

Les concentrations en acides aminés non indispensables restent à peu près stables les premiers jours à 18 °C, mais se trouvent à un niveau bas le 28^e jour à 18 °C. L'asparagine après une baisse de concentration le 1^{er} jour à 18 °C se stabilise à cette concentration plus faible pendant toute la période à 18 °C. L'acide glutamique semble suivre une tendance inverse. La sérine et l'alanine après une augmentation de concentration au début de la période à 18 °C sont en concentrations plus faibles qu'à 9 °C, le 28^e jour à 18 °C.

Le glutathion qui intervient dans la fraction α -aminée libre du plasma augmente en concentration régulièrement à partir du 1^{er} jour à 18 °C jusqu'à atteindre une valeur 4,5 fois plus élevée que celle de 9 °C.

TABLEAU 4

Valeurs 1 h après le repas des concentrations en acides aminés libres sanguins (en $\mu\text{M/g}$) à 9 °C et au cours de l'acclimatation à 18 °C après une augmentation rapide de température (+ 1 °C/h) (valeurs moyennes sur 12 truites). († : traces ; n. c. : non calculés).

Température	9 °C		18 °C			
Nombre de jours après l'augmentation de température.....		1	2	4	7	28
Acides aminés indispensables et semi indispensables						
Thréonine	0,31	0,26	0,26	0,26	0,25	0,27
Valine	0,31	0,36	0,27	0,23	0,29	0,30
Isoleucine	0,19	0,15	0,14	0,11	0,11	0,12
Leucine	0,23	0,23	0,23	0,18	0,18	0,20
Phénylalanine + Tyrosine.....	0,15	0,21	0,24	0,14	0,17	0,17
Lysine	0,11	0,15	0,11	0,10	0,09	0,09
Histidine	0,08	0,09	0,09	0,09	0,10	0,07
Arginine	0,07	0,11	0,08	0,07	0,07	0,06
Σ AAI	1,39	1,60	1,47	1,08	1,26	1,28
Acides aminés non indispensables						
Acide aspartique	0,07	0,14	0,09	n. c.	n. c.	0,09
Sérine	0,20	0,23	0,24	0,15	0,17	0,15
Glutamine.....	0,13	†	0,19	0,15	0,16	0,08
Asparagine	0,15	0,08	0,09	0,08	0,09	0,05
Ac. glutamique.....	0,41	0,50	0,41	0,46	0,45	0,55
Proline	0,13	0,07	0,07	0,05	n. c.	0,06
Citrulline.....	†	†	†	†	†	0,11
Glycine	1,40	1,35	1,43	1,53	1,58	1,10
Alanine	0,61	0,68	0,62	0,55	0,52	0,50
Ornithine	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02
Σ AANI	3,14	3,08	3,17	3,12	3,12	2,71
Autres composés aminés						
Taurine	8,82	8,97	8,91	9,84	8,89	6,95
Phosphosérine	n. c.	0,16	0,24	n. c.	n. c.	0,15
Glutathion	0,12	0,26	0,36	n. c.	0,33	0,55
Ac. amino isobutyrique	0,38	0,33	†	0,25	0,22	0,24
Ac. amino butyrique	0,03	0,04	†	0,03	0,04	0,11
Hydroxylysine	0,16		0,10	0,09	0,07	0,15
Σ AAI + Σ AANI	4,53	4,68	4,64	4,20	4,38	3,99
Σ AAI/ Σ AANI.....	0,44	0,52	0,46	0,35	0,40	0,49
Fraction aminée dosée par la ninhydrine	14,04	14,44	14,25	14,41	13,93	12,14

c) Influence du repas (fig. 2).

A 9 °C, l'évolution après le repas est la même pour tous les acides aminés libres dans le sang, on observe deux augmentations de concentrations au cours des 24 h qui suivent le repas : la plus forte et la plus brève au temps 3 h et la suivante de 12 h à 15 h après le repas, excepté pour la glycine qui présente cette deuxième augmentation de concentration plus tôt (temps 9 h). L'alanine, l'acide glutamique et la sérine après une première augmentation de la concentration sanguine bien nette, présentent des plateaux de concentration.

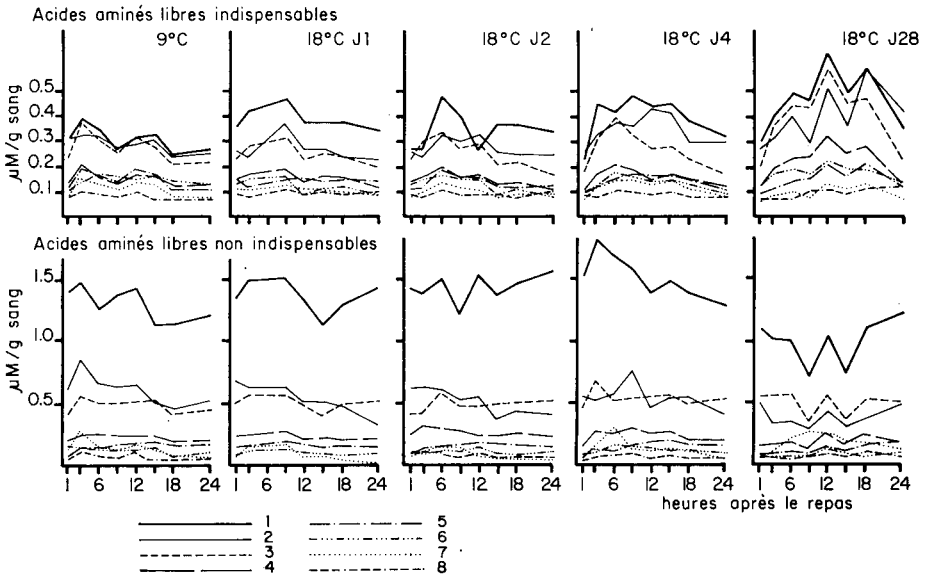


FIG. 2. — Evolution post-prandiale des acides aminés libres sanguins à 9 °C et modifications dans ces cinétiques au cours de l'acclimation à 18 °C (valeurs moyennes sur 12 truites). Acides aminés indispensables : 1. Valine ; 2. Thréonine ; 3. Leucine ; 4. Isoleucine ; 5. Lysine ; 6. Phénylalanine ; 7. Arginine ; 8. Histidine. Acides aminés non indispensables : 1. Glycine ; 2. Alanine ; 3. Acide glutamique ; 4. Sérine ; 5. Acide aspartique ; 6. Asparagine ; 7. Proline ; 8. Tyrosine.

Le premier jour à 18 °C on observe une augmentation des teneurs en acides aminés libres sanguins dès la 3^e heure après le repas ; elle se poursuit jusqu'au temps 12 h. On observe également une deuxième augmentation vers la fin du nyctémère, mais moins nette qu'à 9 °C. La valine est en concentration plus forte que la thréonine et la leucine. La concentration en alanine baisse régulièrement au cours de ce nyctémère et donc existe déjà à une concentration élevée 1 h après le repas.

Le deuxième jour à 18 °C on observe une augmentation des concentrations de 3 à 6 h après le repas et un plateau jusqu'au temps 15 h, et également une deuxième augmentation des concentrations en acides aminés indispensables sur la fin du nyctémère. La valine présente presque un pic de concentration 6 h après le repas. La glycine chute en concentration 9 h après le repas. L'alanine déjà en teneur élevée 1 h après le repas diminue progressivement jusqu'au temps 15 h.

Le quatrième jour à 18 °C les teneurs en acides aminés augmentent fortement jusqu'à 3 h après le repas pour certains (Val, Gly, Glu, Sér) et 6 h pour d'autres (Leu, Ileu, Phé, Pro). Puis lentement les teneurs diminuent jusqu'à la fin du nyctémère. Certains acides aminés notamment les indispensables présentent une baisse en concentration 12 h après le repas, et leur teneur réaugmente légèrement par la suite. La thréonine atteint sa concentration maximale 12 h après le repas. L'alanine présente un pic de concentration au temps 9 h.

Le dernier jour à la température chaude, les concentrations en acides aminés indispensables augmentent jusqu'à un maximum se situant 12 h (ou 18 h pour la thréonine et la lysine) après le repas. Les acides aminés non indispensables suivent

ce schéma pour certains, mais les principaux (Gly, Glu, Ala) présentent une baisse de concentration au cours du nyctémère. Ces variations ainsi décrites sont caractérisées par deux grandes chutes des teneurs en acides aminés libres, 9 h et 15 h après le repas. Seules les concentrations en histidine, proline et glutamine ne sont pas affectées par cette diminution. La glycine et l'alanine sont en concentration plus faibles que pour les autres nyctémères étudiés et l'acide glutamique présente des teneurs légèrement plus élevées.

4. Evolution de l'ammoniémie (fig. 3).

La teneur en ammoniacque du plasma est en moyenne plus élevée à 18 °C (8,44 $\mu\text{g N}(\text{NH}_4)/\text{ml}$ de plasma) qu'à 9 °C : 3,78 $\mu\text{g N}(\text{NH}_4)/\text{ml}$ de plasma.

Les augmentations postprandiales de l'ammoniacque plasmatique se situent simultanément ou légèrement après celles de l'acidoaminémie plasmatique.

Mais le 7^e jour, le 14^e jour et le 28^e jour à 18 °C, les teneurs une heure après le repas sont déjà élevées et la concentration en ammoniacque diminue au cours de ces

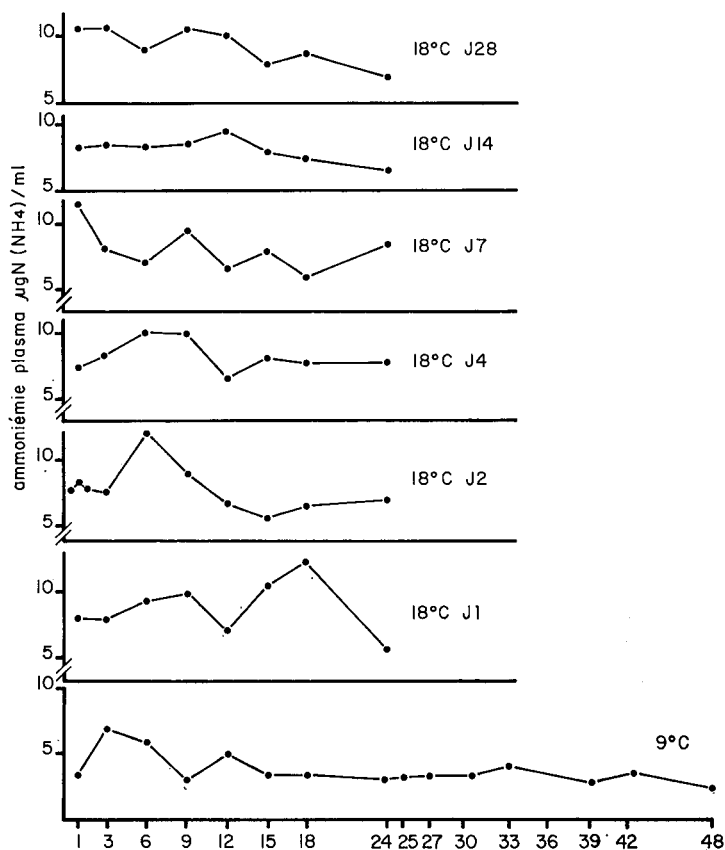


FIG. 3. — Evolution de l'ammoniémie plasmatique au cours d'un nyctémère après un repas à 9 °C et au cours de l'acclimatation à 18 °C (valeurs moyennes sur 12 truites).

nycthémères avec quelques pics correspondant comme précédemment décrit, à ceux de l'aminocidémie.

5. Variabilité individuelle (tabl. 5).

Les ajustements de l'aminocidémie et de l'ammoniémie plasmatique avec la température constatés précédemment pour 9 et 18 °C, sont confirmés pour 13 °C et 18 °C et les différences sont significatives ($P < 0,01$).

TABEAU 5

Variations de la teneur en acides aminés libres totaux et en ammoniacque du plasma de truites de 80 g environ, à jeun depuis 4 jours, en fonction de la température. (Valeurs moyennes sur 12 truites). () : écart-type.

Température	Acides aminés totaux μM (equ. Gly)/ml	Ammoniacque $\mu\text{g N}(\text{NH}_4)/\text{ml}$
13 °C	11,86 (2,69)	4,77 (1,29)
18 °C	8,66 (1,71)	7,65 (2,65)

Les coefficients de variation majorés pour l'aminocidémie et l'ammoniémie sont respectivement 25 p. 100 et 35 p. 100. Si on transpose ces coefficients de variation aux valeurs obtenues à chaque heure du nycthémère en mélangeant le sang de 12 truites les différences entre les maxima et les minima de la fraction α -aminée libre et de l'ammoniacque plasmatique, sur un même nycthémère sont toujours significatives ($P < 0,01$) quels que soient les jours étudiés. Les conditions d'application de ce type de raisonnement sont limitées. En effet la variabilité des paramètres sanguins étudiés est sûrement différente pour les truites à jeun et des truites nourries.

Discussion.

La consommation alimentaire en réponse à l'augmentation de température à 18 °C augmente rapidement dès le 4^e jour à cette température, une fois passés les effets du stress, mais la réponse de croissance n'apparaît qu'après plus de 15 jours passés à 18 °C. D'après ces critères zootechniques, l'animal ne serait acclimaté à 18 °C qu'après plus de 15 jours suivant le changement de température sans que l'on puisse distinguer si l'excellente croissance observée ultérieurement bénéficie de l'effet de croissance compensatrice.

1. Niveau thermique et métabolique.

On observe un ajustement de certains paramètres plasmatiques dès le 1^{er} jour à 18 °C (fig. 4) (l'aminocidémie dans le plasma étant plus faible qu'à 9 °C et l'ammoniémie plus élevée). Compte tenu de l'augmentation tardive de la consommation après le 4^e jour à 18 °C, l'équilibre des paramètres plasmatiques étant inchangé, les ajustements observés sont indépendants des variations de consommation.

Ce nouvel équilibre dans la teneur en acides aminés libres plasmatiques à 18 °C pourrait être dû à une augmentation de l'utilisation des acides aminés, ce qui expliquerait la baisse de leur concentration dans le plasma. Les acides aminés seraient utilisés globalement pour la synthèse protéique qui augmente lorsque la température augmente (Haschemeyer, 1968 ; Haschemeyer et Persell, 1973) et pour le catabolisme

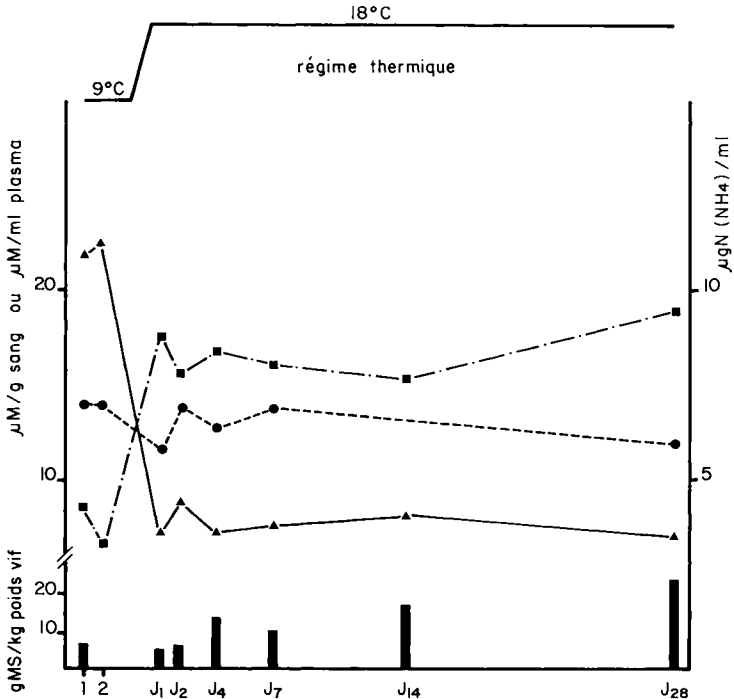


FIG. 4. — Evolution de la moyenne sur 24 h de l'aminocidémie et de l'ammoniémie dans le plasma à 9 °C et au cours de l'acclimation à 18 °C. ●- - -●- Acides aminés libres totaux sanguins : μM/g de sang, ▲- -▲- Acides aminés libres totaux du plasma : μM (eq. glycine)/ml de plasma, ■- -■- Ammoniaque μgN (NH₄)/ml de plasma, ■ Consommation des truites () g matière sèche/kg poids vif.

oxydatif, ce qui entraînerait une augmentation de l'ammoniaque produit. L'excrétion azotée augmente avec la température (Savitz, 1969) et l'élimination branchiale d'ammoniaque augmente à la suite d'une surcharge expérimentale en ammoniaque dans le plasma (Evans, 1977). La clearance rénale et branchiale de l'ammoniaque augmenterait donc avec la température. Ce processus n'est pas suffisant pour empêcher l'augmentation de l'ammoniaque plasmatique. En parallèle l'acide glutamique dans le sang semblerait se stabiliser à une concentration plus élevée dès le premier jour à 18 °C. Il y aurait donc une augmentation du processus de détoxication de l'ammoniaque (Pequin et Serfaty, 1968) à 18 °C en liaison avec le nouvel équilibre de la teneur en ammoniaque du plasma. Mais l'ammoniémie moyenne reste malgré tout deux fois plus élevée dans le plasma à 18 °C qu'à 9 °C et cette nouvelle concentration semble bien supportée par le poisson.

La somme des concentrations en acides aminés libres sanguins par contre ne change pas de façon aussi significative à la suite de l'augmentation de température (fig. 5). Les érythrocytes sanguins joueraient donc un rôle de tampon tant au niveau des apports que sur l'utilisation des acides aminés. A 18 °C les apports et l'utilisation des acides aminés semblent plus importants, mais le nombre d'érythrocytes serait

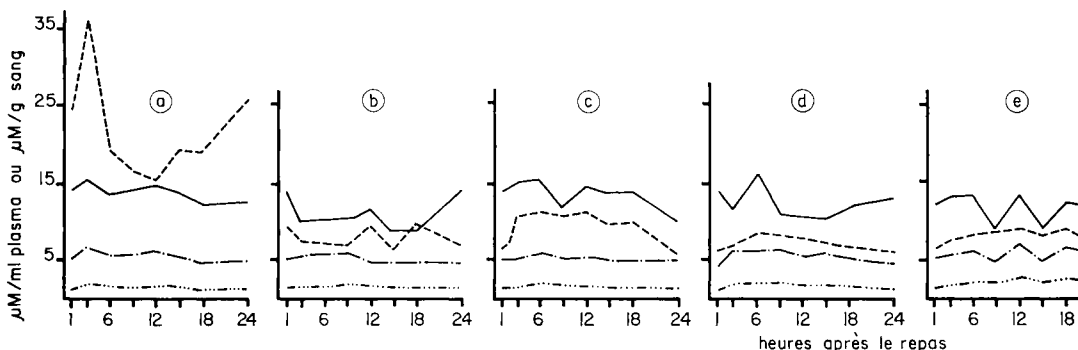


FIG. 5. — Evolution des fractions α -aminées libres du sang et du plasma de truites Arc-en-Ciel après le repas, à 9 °C (a) et au cours de l'acclimation à 18 °C, soit le 1^{er} jour (b), le 2^e (c), le 4^e (d) et le 28^e jour (e) après une augmentation de la température de l'eau de 9 °C à 18 °C en moins de 24 h (Chaque point représente la valeur pour le sang « mélangé » de 12 truites). — Somme des acides aminés libres sanguins ($\mu\text{M/g}$ sang) ; - - - Somme des acides aminés libres sanguins moins la taurine ($\mu\text{M/g}$ sang) ; Somme des acides aminés indispensables ($\mu\text{M/g}$ sang) dosage par la méthode à la ninhydrine ; - · - · - Somme des acides aminés libres plasmatiques ou fraction α -aminée libre dosée par la méthode au TNBS (μM (equ. Gly)/ml de plasma).

susceptible d'augmenter avec la température (Houston et de Wilde, 1968). Par ailleurs, la taurine, la glycine et l'alanine sont en concentrations plus élevées dans le sang que celles relevées dans le plasma de truite arc-en-ciel à 15 °C par Nose (1972). Or, chez les mammifères les hématies et chez le poulet les érythrocytes concentrent sélectivement certains acides aminés comme la glycine et la taurine. On pourrait avoir un phénomène semblable chez la truite. Les variations plasmatiques de certains acides aminés seraient donc compensées par les érythrocytes au niveau sanguin. Il faut toutefois signaler que les différences observées dans le plasma et dans le sang peuvent être liées en partie aux différences de spécificité des deux méthodes de dosage utilisées.

D'autre part, la faible teneur en acides aminés non indispensables le 28^e jour à 18 °C notamment ceux intervenant dans la néoglucogénèse : glycine, alanine, sérine, traduirait un déficit énergétique de la ration lorsque la vitesse de croissance est plus importante. A 18 °C le rythme d'un repas par jour semble insuffisant pour assurer un volume d'ingestion correct (Grayton et Beamish, 1977).

2. Influence de l'augmentation de température.

a) Phénomènes mis en évidence par l'aminocidémie plasmatique. — A 9 °C l'augmentation de l'aminocidémie plasmatique 3 h après le repas peut être liée soit au repas d'épreuve seul, soit au repas de la veille, soit liée à l'interférence des deux repas. La première hypothèse peut être écartée, car le transit à 9 °C est beaucoup trop

lent (Possompes *et al.*, 1975) pour que cette variation soit liée seulement au repas d'épreuve. L'augmentation de l'aminoacidémie correspondrait à l'apparition dans le sang des produits de la digestion du repas étudié, cet apport se poursuivant sur plus de 24 h, et la diminution 6 h après le repas de l'aminoacidémie serait en relation avec la fin de la phase d'absorption du repas de la veille. On aurait donc une cumulation des produits de la digestion de deux repas dans le plasma, effet d'autant plus probable du fait de la faible utilisation des acides aminés à température basse. Ce fait est donc en faveur d'une concentration plus élevée à 9 °C en acides aminés libres plasmatiques.

Le 1^{er} jour à 18 °C peut être considéré comme une transition entre deux types de cinétiques postprandiales de l'aminoacidémie.

Le 2^e jour à 18 °C l'aminoacidémie élevée de 3 h à 18 h au moins après le repas résulte peut-être d'un apport d'acides aminés supérieur à leur utilisation. Les premiers jours à 18 °C, on aurait une arrivée plus rapide des acides aminés provenant des protéines alimentaires, liée en partie à l'augmentation de la vitesse de transit (Fauconneau, résultats personnels), mais surtout à l'accélération de l'absorption de certains acides aminés (Smith, 1970) d'autant plus que la consommation alimentaire n'a pas encore augmenté. Puis les variations sur un nyctémère de l'aminoacidémie vers la fin de la période d'acclimatation à 18 °C sont moins importantes et plus lentes. Si l'on considère le fait que la consommation augmente, l'utilisation serait plus importante. L'organisme serait débordé au début de la période d'acclimatation à 18 °C par cet apport plus important d'acides aminés et l'acclimatation irait dans le sens d'une meilleure utilisation de cet apport alimentaire en liaison avec la reprise de la croissance.

b) *Catabolisme oxydatif et ammoniémie plasmatique.* — Lorsque les acides aminés provenant de la digestion sont utilisés par l'organisme, une part est catabolisée et l'ammoniaque produit se retrouve au niveau plasmatique. Une preuve indirecte de cette augmentation de la production d'ammoniaque après un repas est donnée par l'augmentation temporaire après un repas de l'excrétion d'ammoniaque (Brett et Zala, 1975 ; Rychly et Marina, 1977 ; Savitz *et al.*, 1977). A 9 °C on observe bien une augmentation de l'ammoniémie 3 h après le repas, correspondant à celle de l'aminoacidémie plasmatique. Mais on observe une deuxième augmentation de la concentration en ammoniaque dans le plasma 12 h après le repas, qui correspondrait, bien que l'aminoacidémie soit la plus faible du nyctémère, à l'apparition dans le plasma d'acides aminés dont une part est catabolisée.

Au début de la période d'acclimatation à 18 °C, les augmentations de l'ammoniémie plasmatique sont plus tardives que celles de l'aminoacidémie plasmatique. Puis l'utilisation devenant plus importante, on a déjà une ammoniémie élevée 1 h après le repas et une augmentation au cours du nyctémère en liaison avec le maximum de concentration de la fraction α -aminée libre du plasma.

c) *Comparaison de la fraction α -aminée libre du plasma, et des différentes fractions aminées libres du sang (taurine, acides aminés indispensables et non indispensables)* (fig. 5). — Cette comparaison avec des unités presque semblables (dans la mesure où la densité du plasma est proche de l'unité) rend compte du rôle tampon joué par les érythrocytes. L'hypothèse émise précédemment sur l'effet cumulatif des produits de la digestion de deux repas au niveau plasmatique à 9 °C semblerait se confirmer

car le minimum de l'acidoémie plasmatique à cette température correspond non seulement à une valeur élevée de l'ammoniémie plasmatique mais également à une augmentation des teneurs en acides aminés dans le sang.

Dès le 1^{er} jour à 18 °C, un nouvel équilibre est établi, mais les variations dans le sang et dans le plasma ne sont pas simultanées, ce qui exprimerait une différence dans les résultantes apport-utilisation et un décalage dans le temps entre ces deux compartiments. Par la suite les maxima de l'acidoémie dans le plasma et dans le sang au cours du nyctémère concordent, mais les fluctuations dans le sang ne trouvent pas de correspondance au niveau plasmatique. Toutefois l'amplitude des variations au niveau des concentrations en acides aminés indispensables et en acides aminés non indispensables, va en augmentant au fur et à mesure que la truite s'acclimate à 18 °C, sûrement en liaison avec l'augmentation de l'apport alimentaire et l'accélération de l'absorption des acides aminés.

d) *Cinétiques postprandiales des acides aminés libres sanguins.* — Nous n'observons pas de variations régulières après un repas des concentrations sanguines en acides aminés libres. On peut signaler qu'il existe une variabilité individuelle à ce niveau que nous ne pouvons pas estimer du fait du volume de sang nécessaire pour réaliser un dosage et que nous masquons en partie en utilisant pour chaque point le dosage réalisé sur un échantillon moyen provenant du mélange des prélèvements de sang de 12 truites. D'autre part les effets du stress de capture (les animaux étant pris dans le même bac à chaque nyctémère) peuvent se faire sentir, pour des captures réalisées toutes les 3 h, mais là non plus nous ne pouvons pas estimer le sens des effets induits. Nous ne pouvons donc analyser que les tendances.

— *Chez les témoins à 9 °C :* A 9 °C les concentrations en acides aminés libres sanguins suivent au cours du nyctémère un rythme bimodal bien net qui traduit soit une stase dans les apports, mais il est difficile de relier ce phénomène aux vitesses de transit et d'absorption, soit une variation dans l'utilisation.

En considérant une stase au niveau digestif, il est potentiellement possible qu'une partie du bol alimentaire soit déjà sur le lieu d'absorption 3 h après le repas comme le prouve la cinétique de vidange gastrique (Brett et Higgs, 1970 ; Windell *et al.*, 1976), mais les quantités mises en jeu et la vitesse du transit digestif minimisent ce phénomène. Par contre le transit digestif se déroulant sur plus de 24 h (Possompes *et al.*, 1975 ; Fauconneau, résultats personnels), on a forcément des phénomènes cumulatifs. La première augmentation des teneurs en acides aminés libres sanguins à 9 °C serait donc le contrecoup de celle observée avec une amplitude plus importante au niveau plasmatique. L'utilisation des acides aminés pour la synthèse protéique et pour le catabolisme oxydatif qui serait adaptative (Cowey, 1978) peut augmenter (l'ammoniémie plasmatique le prouve indirectement), en conséquence d'une telle variation.

La deuxième augmentation correspondrait soit à l'effet seul du repas étudié, soit à un relargage des acides aminés après stockage dans des protéines non spécifiques selon l'hypothèse formulée par Coulson (Coulson *et al.*, 1977) chez d'autres poecilothermes : les reptiles. En faveur de la seconde hypothèse signalons que les acides aminés non indispensables ne suivent pas de façon absolue cette deuxième variation et, que la composition en acides aminés indispensables de la première augmentation est mieux corrélée avec la composition correspondante de l'aliment.

— *Modifications au cours de l'acclimatation à 18 °C* : Nous observons encore ce rythme bimodal, les deux premiers jours à 18 °C. La deuxième augmentation le premier jour à 18 °C des concentrations en acides aminés libres sanguins correspond à un pic de l'ammoniémie, ce qui suggère un catabolisme oxydatif important, mais ne peut nous renseigner sur les causes d'un tel rythme. Le deuxième jour à 18 °C, le volume des repas est le même que pour les deux autres nycthémères déjà étudiés, et la réponse des concentrations en acides aminés libres semble de même importance, pourtant la première variation est plus ample et se poursuit jusqu'à 15 h après le repas.

Avec la consommation alimentaire qui augmente, le temps d'influence du repas sur l'aminocidémie sanguine est plus long : 18 h ou plus le 4^e jour à 18 °C et 24 h le 28^e jour à 18 °C, et l'amplitude de la réponse est plus importante.

Les acides aminés indispensables au cours de ces nycthémères réagissent de la même façon excepté la thréonine avec un peu de retard et la valine. La valine et la leucine, du fait de leur concentration plus importante dans le sang, semble suivre une adaptation de leur cinétique postprandiale plus rapide et plus forte après l'augmentation de température comparé notamment à la thréonine. La valine et la leucine font partie des acides aminés « adaptators » définis par Mephram et Smith (1966a, b) (confirmés par Kitchin et Morris, 1971) comme ayant leur absorption accélérée à la suite d'une augmentation rapide de température par opposition aux « non adaptators » telle la thréonine qui ne présente pas de compensation dans leur absorption suite à une augmentation de température. Les différences observées entre valine, leucine et thréonine pourraient être liées à ce fait.

Les acides aminés non indispensables réagissent différemment. La proline ne suit toujours que la première fluctuation dans son évolution postprandiale sauf à 9 °C ce qui semblerait confirmer les relations avec le repas décrites précédemment. La concentration en alanine diminue au cours du nycthémère les deux premiers jours à 18 °C. Du fait de sa participation au métabolisme énergétique, ceci suggère un déséquilibre entre l'utilisation potentielle des acides aminés et le volume d'apport par l'alimentation qui n'a pas encore augmenté. La situation semble se restaurer le 4^e jour à 18 °C où on observe un pic d'alanine et un pic de glycine. Mais le 28^e jour à 18 °C malgré une consommation plus importante, la croissance qui a repris met en évidence un déficit énergétique de la ration par rapport à l'apport protéique. Les acides aminés indispensables s'accumulent en effet dans le sang et les acides aminés non indispensables chutent en concentration pendant le nycthémère.

L'adaptation à 18 °C des cinétiques postprandiales des acides aminés libres sanguins commence à être effective le 4^e jour à 18 °C, mais il faut attendre la reprise de la croissance pour obtenir une cinétique stable.

Conclusion.

Pour les critères étudiés eux-mêmes indépendamment de l'influence des repas, l'adaptation à 18 °C est réalisée dès le 1^{er} jour après l'augmentation de température : on observe en effet un nouvel équilibre dans les teneurs plasmatiques en acides aminés libres totaux, et en ammoniacque. On constate au niveau sanguin d'autres ajustements pour la thréonine, l'acide glutamique et la proline.

Mais si on étudie l'influence des repas sur ces critères, on fait intervenir l'adaptation de la consommation qui n'augmente que 4 jours après l'augmentation de température, et même l'adaptation de la croissance qui ne reprend qu'au bout de 15 jours, et l'analyse de la mise en place de nouveaux équilibres ou même d'une certaine stimulation est difficile.

Dans les cinétiques postprandiales on observe pourtant une stimulation au niveau de la fraction α -aminée libre du plasma (avec au moins 24 heures de transition) seulement visible le 2^e jour à 18 °C. Au niveau sanguin il y a déjà une planification, qui pourrait être liée aux érythrocytes, et l'adaptation est progressive. Les cinétiques postprandiales sanguines évoluent lentement du schéma de 9 °C à celui des animaux acclimatés à 18 °C mais il semblerait qu'en 4 jours la cinétique soit déjà modifiée et que les variations dans cette cinétique par la suite soit liée au volume du repas seulement. Après la reprise de la croissance la cinétique postprandiale des acides aminés libres nous indique un déséquilibre énergétique de la ration.

Reçu en septembre 1978.

Accepté en mars 1979.

Références

- ASSOUS E., DREUX Cl., GIRARD M., 1960. Application nouvelle de la dialyse à la détermination de l'ammoniémie. *Ann. Biol. clin.*, **18**, 319-330.
- BRETT J. R., HIGGS D. A., 1970. Effect of temperature on the rate of gastric digestion in fingerling Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J. Fish. Res. Bd Can.*, **27**, 1767-1779.
- BRETT J. R., ZALA C. A., 1975. Daily pattern of nitrogen excretion consumption of Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*) under controlled conditions. *J. Fish Res. Bd Can.*, **32**, 2479-2486.
- COULSON A. C., HERNANDEZ T., HERBERT J. D., 1977. Metabolic rate, enzyme kinetics *in vivo*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **56 A**, 251-262.
- COWEY C. B., 1978. Protein and amino acid requirements of finfish. In *Symp. Finfish nutrition and feed technology*. EIFAC, Hamburg, 20-23 June 78.
- EIFAC, 1971. Salmon and trout feeds and feeding. EIFAC, *Tech. pap.*, **12**, 29 p.
- EVANS D. H., 1977. Further evidence for Na/NH₄ exchange in marine teleost fish. *J. exp. Biol.*, **70**, 213-230.
- GRAYTON B. D., BEAMISH F. W. H., 1977. Effects of feeding frequency on food intake, growth and body composition of rainbow trout (*Salmo Gairdneri*). *Aquaculture*, **11**, 159-172.
- HASCHEMEYER A. E. V., 1968. Compensation of liver protein synthesis in temperature acclimated toadfish (*Opsanus tau*). *Biol. Bull.*, **135**, 130-140.
- HASCHEMEYER A. E. V., PERSELL R., 1973. Kinetics studies on amino acid uptake and protein synthesis in liver of temperature acclimated toadfish. *Biol. Bull.*, **145**, 472-481.
- HOUSTON A. H., de WILDE M. A., 1968. Environmental temperature and the body fluid system of the freshwater teleost. III. Hematology and blood volume of thermally acclimated brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **28**, 877-885.
- KITCHIN S. E., MORRIS D., 1971. The effect of acclimation temperature on amino acid transport in the goldfish intestine. *Comp. Biochem. Physiol.*, **40 A**, 431-433.
- LUQUET P., 1971. Efficacité des protéines en relation avec leur taux d'incorporation dans l'alimentation de la truite Arc-en-Ciel. *Ann. Hydrobiol.*, **2**, 175-186.
- MEPHAM T. B., SMITH M. W., 1966a. Amino acid transport in goldfish intestine. *J. Physiol. Lond.*, **184**, 673-684.
- MEPHAM T. B., SMITH M. W., 1966b. Regulation of amino acid transport across intestine of goldfish acclimated to different environmental temperatures. *J. Physiol. Lond.*, **186**, 619-631.
- MOORE S., SPACKMAN D. H., STEIN W. H., 1958. Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. *Analyt. Chem.*, **30**, 1185-1190.

- NOSE T., 1972. Changes in pattern of free plasma amino acid in rainbow trout after feeding. *T. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. Tokyo*, **22**, 137-144.
- PALMERS D. W., PETERS T., 1965. Simple automatic determination of aminogroup in serum/plasma using Trinitro benzene sulfonate. *Technicon Symp. : Automation in analytical chemistry*, New York, Sept. 9, 1965.
- PEQUIN L., SERFATY A., 1968. La régulation hépatique et intestinale de l'ammoniémie chez la carpe. *Arch. Sci. physiol.*, **22**, 449-459.
- POSSOMPES B. P., BERGOT P., LUQUET P., 1975. Mise au point d'une méthode d'étude du transit gastro-intestinal chez la truite Arc-en-Ciel *Salmo Gairdneri* Richardson : influence du nombre de repas, des quantités ingérées et de la température d'acclimatation. *Ann. Hydrobiol.*, **6**, 131-143.
- RYCHLY R., MARINA B. A., 1977. The ammonia excretion of trout during a 24 hrs period. *Aquaculture*, **11**, 173-178.
- SAVITZ J., 1969. Effects of temperature and body weight on endogenous nitrogen excretion in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **1813-1821**.
- SAVITZ J., ALBANESE E., EVINGER M. J., KOLASINSKI P., 1977. Effect of ration level on nitrogen excretion, nitrogen retention and efficiency of nitrogen utilization for growth in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Fish. Biol.*, **11**, 185-192.
- SMITH M. W., 1970. Selective regulation of amino acid transport by the intestine of goldfish (*Carassius auratus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **35**, 387-401.
- WINDELL J. T., KITCHELL J. F., NORRIS D. D., NORRIS J. S., FOLTZ J. W., 1976. Temperature and rate of gastric evacuation by rainbow trout (*Salmo Gairdneri*) *Trans. am. Fish. Soc.*, **6**, 712-717.
-