

CARACTÉRISATION HISTO-MORPHOLOGIQUE DES MALFORMATIONS DU SQUELETTE VERTÉBRAL CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) APRÈS DIFFÉRENTS TRAITEMENTS DE TRIPLOÏDISATION

par

Adnane KACEM (1, 2), François J. MEUNIER (2, 3), Joël AUBIN (4) & Pierrick HAFFRAY (5)

RÉSUMÉ. - Au stade portion, des malformations variées ont été relevées sur 85 truites diploïdes et triploïdes, issues des mêmes fécondations. La triploïdisation des truites a été obtenue par traitements thermique ou hyperbare après l'insémination. Il n'y a pas de différences significatives entre les deux types de traitement pour les malformations vertébrales. En revanche, les triploïdes présentent systématiquement une vertèbre caudale de plus que les diploïdes. Sur les 85 spécimens présentant des anomalies, 43 montrent soit des réductions de longueur du corps vertébral, soit des fusions, localisées dans trois régions : V8-V21, V31-V40, V51-V61. L'étude du taux de minéralisation (TDM), effectuée sur les vertèbres des deux premières régions, ne montre pas de différences significatives entre diploïdes et triploïdes d'une part, entre vertèbres "normales" et vertèbres soudées d'autre part. Par ailleurs, le TDM est légèrement supérieur en secteur caudal. La compacité osseuse (CO) vertébrale n'est pas significativement différente entre diploïdes et triploïdes. En revanche, elle est beaucoup plus forte (54%) sur les vertèbres caudales soudées que sur les vertèbres caudales "normales" (40%). Cette importante différence de la CO appelle deux remarques : 1) Les vertèbres "normales" présentent de vastes lacunes d'érosion qui pourraient caractériser un stress physiologique généré par une carence minérale. 2) Les vertèbres soudées montrent la présence d'abondants cartilages (basalia cartilagineux disparaissant en développement normal) dont une bonne partie est calcifiée et apparaît alors comme un tissu minéralisé au même titre que l'os, diminuant d'autant le volume des cavités. Il ressort donc de cette étude que le processus de triploïdisation n'a pas d'impact majeur sur les caractéristiques histologiques des vertèbres normales ou malformées, mais induit, en moyenne, l'apparition d'une vertèbre caudale supplémentaire sur l'axe vertébral. En revanche, les conditions d'environnement (eau à pH acide) et de conduite d'élevage (alimentation, vitesse de croissance,...) pourraient avoir un rôle important sur la texture osseuse vertébrale.

ABSTRACT. - A histo-morphological characterization of malformations in the vertebral skeleton of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after various triploidization treatments.

In pan size trout, various abnormalities have been noticed on 85 diploid and triploid trouts following the same fertilization. The triploidization process was realized by thermic treatment or pressure shock after fertilization. Although vertebral abnormalities do not show significant differences between both treatments, the triploid trouts present one more caudal vertebra than the diploid ones. Among the 85 specimens showing abnormalities, 43 have either coalescing vertebrae or a reduction of the length of the vertebral centrum, both phenomena being preferentially localised in three areas: V8-V21, V31-V40, V51-V61. The study of the mineralization rate (TDM), on the vertebrae of the two first areas does not show significant differences neither between the diploid and triploid trouts, nor between the "normal" vertebrae and the coalesced ones. A relatively higher TDM is shown in the caudal area. The vertebral osseous compacity (CO) is not significantly different between diploid and triploid trout, but CO is higher (54%) in the coalesced caudal vertebrae than in the normal caudal ones (40%). This important difference in the CO raises two remarks: 1) The "normal" vertebrae show wide erosive lacunae, which could characterize a physiological stress generated by a mineral deficiency. 2) The coalesced vertebrae show abundant bulks of cartilage (cartilaginous basalia, which disappear during normal development) according to the volume of vascular cavities. In the light of these results it is evident that the triploidization process has no major consequence on the histo-morphological characteristics of normal and abnormal vertebrae, but the induction of one additional caudal vertebra. However, the environmental characteristics (acid water) and the zootechnical processes of trout farming (food, growth rate,...) could play a major role on the vertebral osseous texture.

Key words. - Salmonidae - *Oncorhynchus mykiss* - Vertebrae - Triploidization - Malformation - Bone histo-morphology - Coalesced vertebrae.

La truite arc-en-ciel est la première production piscicole française. Ces dernières années, la filière s'est orientée vers la production de poissons de grande taille pour la découpe et

la transformation, notamment avec l'utilisation de femelles triploïdes (Haffray *et al.*, 1999). L'intérêt de la triploïdie est de produire des truites de grande taille sans voir apparaître

(1) INRA-SCRIBE, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, FRANCE. [akacem@beaulieu.rennes.inra.fr]

(2) USM 403 "Biodiversité et Dynamique des Communautés aquatiques", Département des Milieux et Peuplements aquatiques, MNHN, 43 rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05, FRANCE. [meunier@mnhn.fr]

(3) CNRS FRE 2696, Évolution et Développement du Squelette, Université Paris 6, 7 quai St-Bernard, 75251 Paris cedex 05, FRANCE.

(4) SEMII, Barrage du Drennec, BP 17, 29450 Sizun, FRANCE.

(5) SYSAAF, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, FRANCE.

les défauts de qualité liés à la maturation génitale des femelles (diminution de la croissance, mobilisation des lipides de la chair, mobilisation des pigments, détérioration de la texture,...). Deux techniques sont maintenant proposées, afin de produire des poissons triploïdes : le traitement thermique (ou choc chaud) et le traitement hyperbare (ou pression). Le traitement thermique consiste à exposer des œufs, 25 minutes après insémination, à une température de 26,6°C pendant 20 minutes (Chevassus *et al.*, 1983). Le traitement hyperbare consiste à soumettre les œufs à une pression de 700 atmosphères pendant 3 minutes, 40 minutes après insémination (Chourrout, 1984), dans une enceinte spécialisée. L'impact de ces traitements de triploïdisation sur les performances des stades juvéniles et sur la qualité des produits est un sujet peu exploré dans les différentes productions aquacoles. Or, les observations en pisciculture, confirmées par des travaux récents (Madsen et Dalsgaard, 1999) démontrent l'apparition, à différents stades, de malformations préjudiciables pour la viabilité, les performances et la qualité finale des produits. La prévalence de ces déformations est très variable. Certaines causes de ces déformations qui affectent souvent le squelette sont en partie connues : forte carence vitamini-que (Vitamine C), pathologies bactériennes (ex. *Flavobacterium psychrophilum*), vitesse de croissance (exemple extrême des transgéniques GH). Toutefois, s'agissant de déformations du squelette, l'existence d'un déterminisme précoce s'exerçant directement (induction de déformations dans les stades précoces) ou indirectement (susceptibilité à l'induction de déformations à des stades juvéniles et adultes) doit être prise en compte. Pour cela, il est indispensable de mieux connaître les caractéristiques morphologiques et histomorphométriques des anomalies squelettiques pour mieux pister les divers facteurs mis en cause dans leur genèse.

Nous nous sommes donc fixés deux objectifs dans le cadre de ce travail. Le premier, essentiellement morphologique, consiste à préciser les différentes anomalies de l'axe vertébral ainsi que leur localisation chez les truites triploïdes

(traitements thermique et hyperbare) par rapport aux diploïdes. Le second se situe à l'échelle histologique et se propose de décrire diverses caractéristiques du tissu osseux vertébral sur les vertèbres anormales par comparaison avec des vertèbres indemnes : état de la minéralisation du tissu, nature et développement du réseau des cavités et essai de quantification de ces divers paramètres.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel biologique

Un échantillon total de 85 truites au stade portion, avec des malformations variées, a été analysé. Il se compose de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*, monosex femelle) diploïdes (22) et triploïdes (63 au total : 29 pression et 34 température) issues des mêmes fécondations. La longueur à la fourche des spécimens varie de 98 à 256,5 mm.

Méthodes

Morphologie

Chaque poisson est photographié à l'aide d'un appareil photo numérique à haute résolution, en prenant bien soin d'étaler les nageoires dorsales et anales. Ces photos ont servi à l'étude morphométrique des poissons. Les truites sont ensuite radiographiées pour le repérage des anomalies vertébrales du rachis. Chaque truite est posée sur un film Kodak Industrex, le tout placé sous un faisceau de rayons X pour une durée d'exposition qui varie en fonction de l'épaisseur du poisson, soit pour notre échantillon entre 30 et 45 secondes pour une distance entre le film et le foyer des rayons X égale à 30 cm et la tension variant de 35 à 45 kV.

La colonne vertébrale est constituée d'une soixantaine de vertèbres (voir résultats) dont les limites sont bien visibles à la radiographie, permettant ainsi leur décompte. Les radiographies sont ensuite numérisées à l'aide d'un scanner (par transparence) puis analysées grâce à un logiciel d'analyse

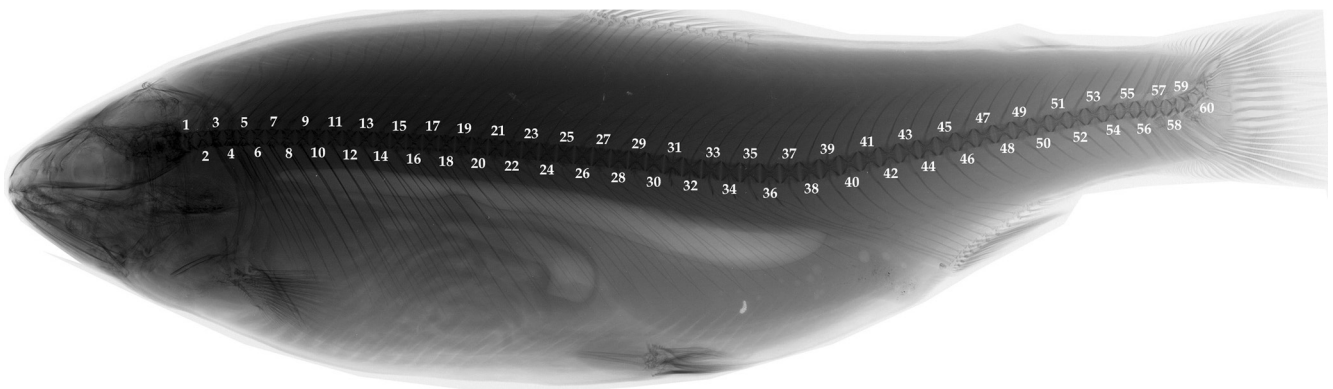


Figure 1. - Radiographie inversée d'une truite arc-en-ciel. Les vertèbres sont numérotées du crâne vers la nageoire caudale. [Reverse radiograph of a rainbow trout. Vertebrae are numbered from the head to the tail.]

d'image "NIH Image" pour effectuer diverses mesures. Les vertèbres sont numérotées en allant de la partie céphalique (crâne) vers la partie caudale (queue) (Fig. 1). Pour chaque truite, le nombre total des vertèbres est relevé ainsi que le numéro des vertèbres qui présentent des anomalies.

Deux mesures ont été sélectionnées sur chaque vertèbre (Fig. 2) :

- la longueur de la vertèbre (**LO**), c'est la distance le long de la ligne médio-latérale gauche ; cette mesure peut refléter la régularité de la disposition des articulations le long de la colonne vertébrale ;

- la hauteur de la vertèbre (**HA**), prise sur la face postérieure de la vertèbre dans le plan sagittal.

À partir de ces deux mesures, on peut établir un profil vertébral qui reflète la variation des deux paramètres le long de l'axe vertébral (Desse *et al.*, 1989 ; Ramzu, 1994 ; Kacem *et al.*, 1998 ; Ramzu et Meunier, 1999).

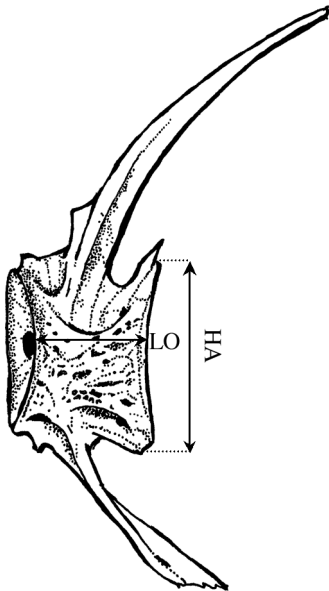


Figure 2. - Localisation des mesures sur une vertèbre caudale de truite. LO : longueur de la vertèbre ; HA : hauteur postérieure. [Localization of the measurements of caudal vertebra. LO: centrum length of the vertebra; HA: anterior height.]

Histologie

L'étude histo-morphométrique des vertèbres a été focalisée dans un premier temps sur la quantification des paramètres suivants :

- le taux de minéralisation (**TDM**) obtenu par incinération d'os secs : % cendres de l'os sec ;

- la compacité osseuse (**CO**) à partir de l'analyse de microradiographies de lames minces ($125 \pm 10 \mu\text{m}$) de vertèbres.

Pour préparer les vertèbres, les truites sont ébouillantées puis décharnées. Les colonnes vertébrales sont brossées sous l'eau courante, puis conservées à sec. Les vertèbres 8, 9, 13 et 14 sont séparées les unes des autres manuellement ainsi

que les vertèbres 32, 33, 37 et 38. Les vertèbres 10, 11 et 12 ainsi que les vertèbres 34, 35 et 36 resteront solidaires.

L'étude histologique des vertèbres s'est concentrée sur deux régions privilégiées là où des malformations sont les plus fréquentes, c'est-à-dire de la vertèbre V8 à la V21 (secteur antérieur), puis de la V31 à la V40 (secteur postérieur). Au vu de la taille des vertèbres sur les spécimens étudiés (LO entre 2 à 4 mm), pour quantifier le TDM, nous avons incinéré un lot de quatre vertèbres: 8, 9, 13 et 14 pour la région antérieure et les vertèbres 32, 33, 37 et 38 pour la région postérieure.

Le taux de minéral osseuse est la quantité de minéral contenue dans la matière osseuse desséchée. Le poids sec des vertèbres après dégraissage et déshydratation est relevé à 10^{-2} mg près sur une balance Mettler AC 100. Les os sont ensuite incinérés dans un four à moufle pendant 6 h à 850°C . On laisse refroidir puis on effectue une pesée pour avoir le poids de cendres. Le taux de minéral est calculé par la formule :

$$\text{TMD (en \%)} = \frac{\text{Poids de cendres}}{\text{Poids total sec}} \times 100$$

Mesure de la compacité osseuse

Les coupes de 125 μm nécessaires à l'évaluation de la CO ont été réalisées sur un ensemble de trois vertèbres successives (respectivement V10-12 et V34-36). Après une déshydratation soignée, un dégraissage intensif (acétone puis trichloréthylène) elles sont imprégnées dans le styrène puis incluses dans le stratyl. Les coupes doivent passer au plus près du centre de la vertèbre pour avoir une surface osseuse maximale. Étant donné que l'épaisseur du disque diamanté de la tronçonneuse ("Leica") est de 350 μm et que la taille des vertèbres de nos truites fait entre 2 et 4 mm, le choix de trois vertèbres successives s'impose pour obtenir ou moins une coupe qui présente un maximum de surface osseuse nécessaire pour l'analyse des différents paramètres histologiques. Les blocs sont débités en tranches de $125 \pm 10 \mu\text{m}$. Si l'on tient compte de l'épaisseur de la "scie diamantée" (350 μm), on obtiendra donc au mieux, une seule coupe pour 0,5 mm d'épaisseur de matériel osseux. Le tronçonnage se fait sous alcool à 70° pour limiter l'échauffement des coupes et éviter le gonflement du collagène de l'os qui est très hydrophile.

$$\text{CO (en \%)} = \frac{\text{Surface osseuse}}{\text{Surface totale}} \times 100$$

Traitement statistique

Une analyse de variance (Test ANOVA, Statview 4.02) a été effectuée afin de déterminer la variation du TDM et de la CO. Les valeurs en pourcentage ont été transformées en arcsinus pour une normalisation (voir Sokal et Rohlf, 1995).

RÉSULTATS

Morphologie des vertèbres

La colonne vertébrale des truites arc-en-ciel est constituée de 58 à 64 vertèbres selon les spécimens. Chaque vertèbre a un aspect grossièrement cylindrique. Le centrum est constitué de deux cônes soudés par leurs pointes (vertèbre amphicœle, François, 1966) dont les cavités chordales communiquent entre elles par un mince orifice, bien visible sur les vertèbres décharnées. À l'extérieur de ces deux cavités chordales, un dépôt osseux plus ou moins abondant masque cette structure en "diabolo" (Fig. 2).

La simple observation anatomique de l'axe vertébral permet de le diviser en deux régions principales : une région antérieure, formée de vertèbres abdominales (ou troncales) dépourvues d'épine hémale, et une région caudale (ou postérieure) où les deux arcs hémaux sont soudés et prolongés par une épine hémale. La limite des deux régions se situe au niveau des vertèbres 29, 30 ou 31 selon les spécimens. La première vertèbre troncale présente une forme assez spécifique en raison de son articulation avec la tête, ainsi que les toutes dernières vertèbres caudales qui participent au complexe urophore.

Le "profil vertébral" témoin (truite sans malformation) fourni par la variation des longueurs vertébrales LO le long de l'axe, montre que la valeur maximale se situe au niveau de V37, comprise entre deux valeurs minimales, l'une antérieure au niveau de V2, l'autre postérieure vers V59. Entre V2 et V37, l'augmentation de la longueur vertébrale est forte jusqu'à V11 puis plus faible et régulière de V12 à V37. La diminution de la longueur est d'abord faible à partir de V37 puis s'accélère à partir de V51 (Fig. 3).

Le profil vertébral fourni par la variation de hauteur postérieure (HA) mesurée sur chaque vertèbre est semblable à

celui de LO (Fig. 3). Les deux courbes ont sensiblement les mêmes tendances.

Le nombre total des vertèbres est significativement différent entre truites diploïdes et triploïdes. En effet, les truites triploïdes ont en moyenne 61 vertèbres alors que les diploïdes n'en présentent que 60 (Fig. 4). Truites diploïdes et triploïdes ne montrent pas de différences pour le nombre de vertèbres troncales. La vertèbre surnuméraire est localisée dans la région caudale c'est-à-dire entre la première vertèbre caudale (soudure des arcs hémaux) et la fin de l'axe vertébral (différence hautement significative $p < 0,0001$).

Typologie des malformations vertébrales

Parmi les 85 spécimens, 43 truites présentent des malformations au niveau de l'axe vertébral. Ces anomalies sont détectées directement sur les radiographies. En effet, les vertèbres de la truite fournissent une image en "X" bien caractéristique de tous les Salmonidae (Fig. 5). Les vertèbres malformées présentent donc soit une altération de cette image en "X" soit une compression entre des vertèbres successives pouvant inclure de deux jusqu'à une dizaine de ces dernières (Fig. 6).

Les profils vertébraux établis pour les truites ayant des malformations vertébrales montrent que c'est surtout la longueur vertébrale (LO) qui présente des variations importantes notamment pour les vertèbres soudées avec une forte réduction de leur longueur (Fig. 7). Au contraire, la hauteur vertébrale (HA) est peu ou pas affectée par la présence de ces anomalies (Fig. 7). Les fortes variations de LO, surtout au niveau des vertèbres soudées, impliqueraient certainement un raccourcissement global (relatif) de la taille (longueur) du poisson par rapport à une truite normale. L'analyse morphométrique reste à faire.

En relevant le rang des vertèbres présentant des anomalies

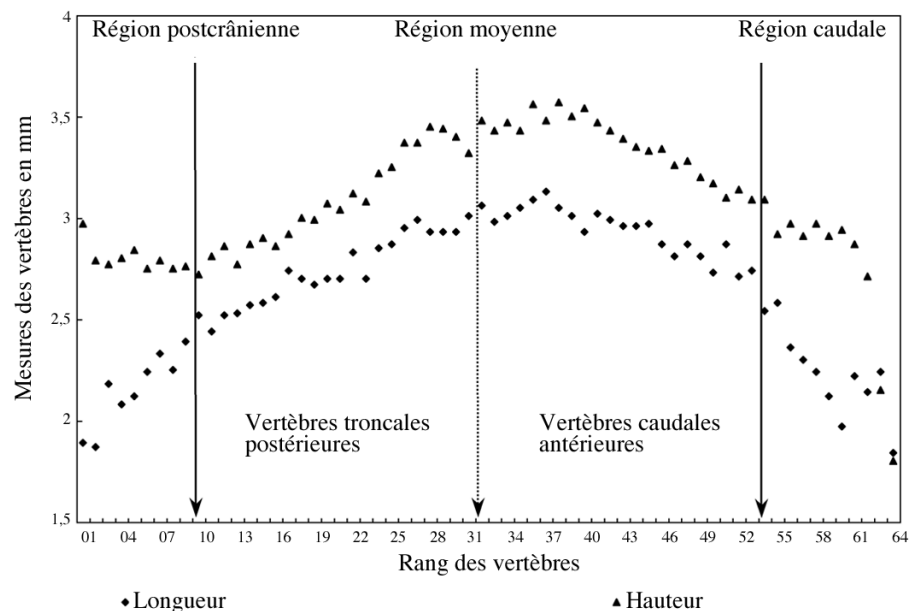


Figure 3. - Profil vertébral d'une truite triploïde. [Vertebral profiles of one triploid trout.]

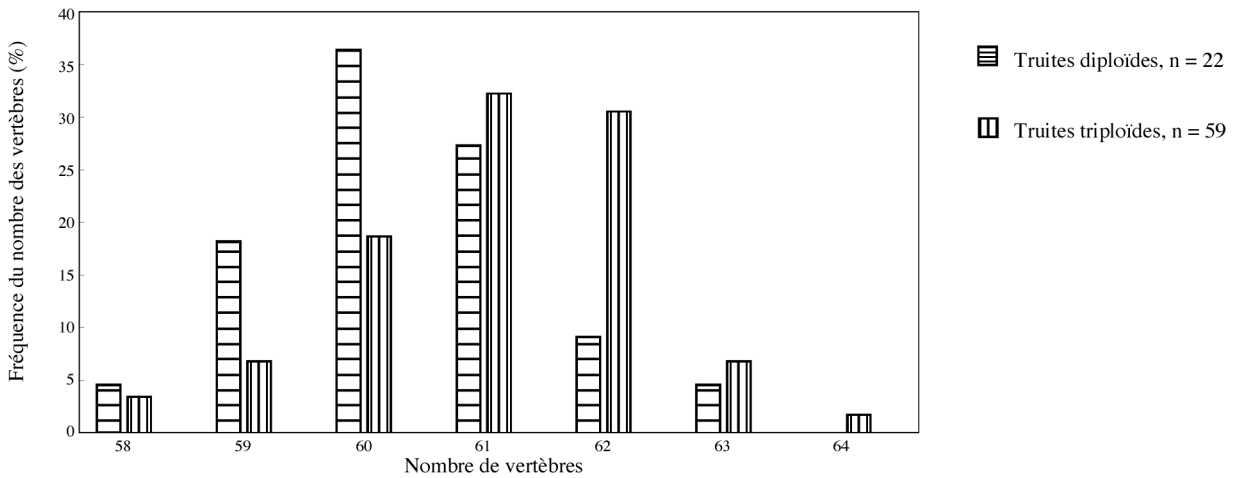


Figure 4. - Fréquence du nombre de vertèbres chez les truites diploïdes et triploïdes. n : nombre de spécimens. [Frequency of the number of vertebrae in diploid and triploid trout. n : number of fishes.]

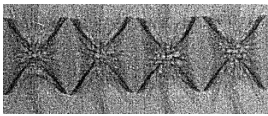


Figure 5. - Radiographie inversée de vertèbres "normales". [Reverse radiograph of "normal" vertebrae.]

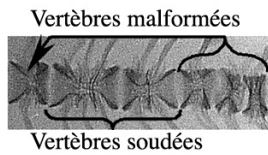


Figure 6. - Radiographie inversée de vertèbres malformés et soudés. [Reverse radiograph of malformed and fused vertebrae.]

contraintes mécaniques que subissent les vertèbres des deux premières régions. La troisième région qui se situe dans le complexe urophore (nageoire caudale) présente surtout des vertèbres malformées mais très peu de vertèbres soudées. Une comparaison morpho-anatomique de tout le complexe urophore (vertèbres + os + rayons de nageoire caudale) permettrait une meilleure caractérisation de ces malformations de la région caudale.

Taux de minéralisation des vertèbres

Le TDM des vertèbres "normales" varie entre 46,40 et 53,89%. Les vertèbres céphaliques (de la région antérieure V8, V9, V13 et V14) présentent un TDM significativement inférieur à celui des vertèbres de la région caudale (V32, V33, V37 et V38). Ceci est dû aux arcs neuraux et hémaux dont la base cartilagineuse est incomplètement ossifiée dans la région antérieure de l'axe vertébral.

lies le long de l'axe vertébral, on remarque que ces malformations sont fréquentes dans trois régions de la colonne vertébrale : une région antérieure entre la vertèbre V8 et la V21, une deuxième région précaudale entre V31 et V40 et une troisième région caudale entre la V51 et V61 (Fig. 8).

Ces malformations sont certainement en relation avec les

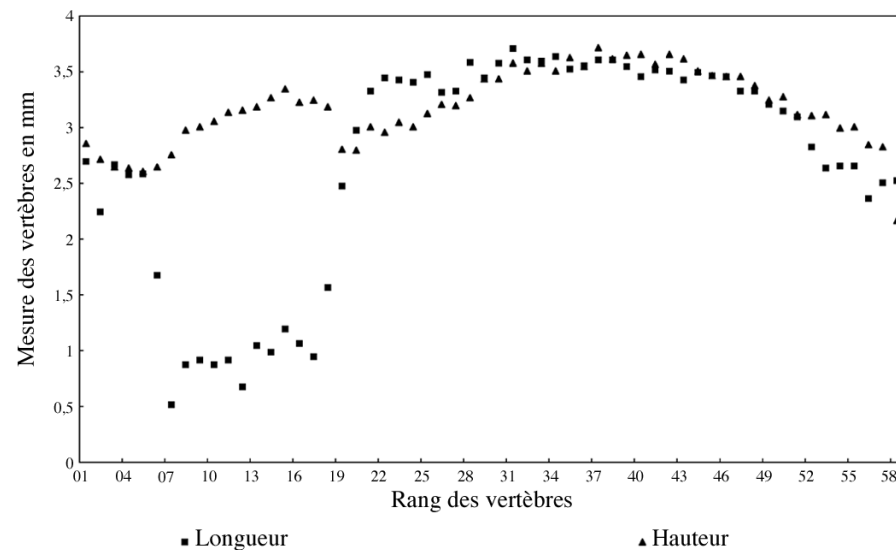


Figure 7. - Profil vertébral d'une truite présentant une compression vertébrale antérieure. Comparer avec les profils d'une truite normale (Fig. 3). [Vertebral profiles of a trout presenting an anterior vertebral compression. Compare to the profiles of a normal trout (Fig. 3).]

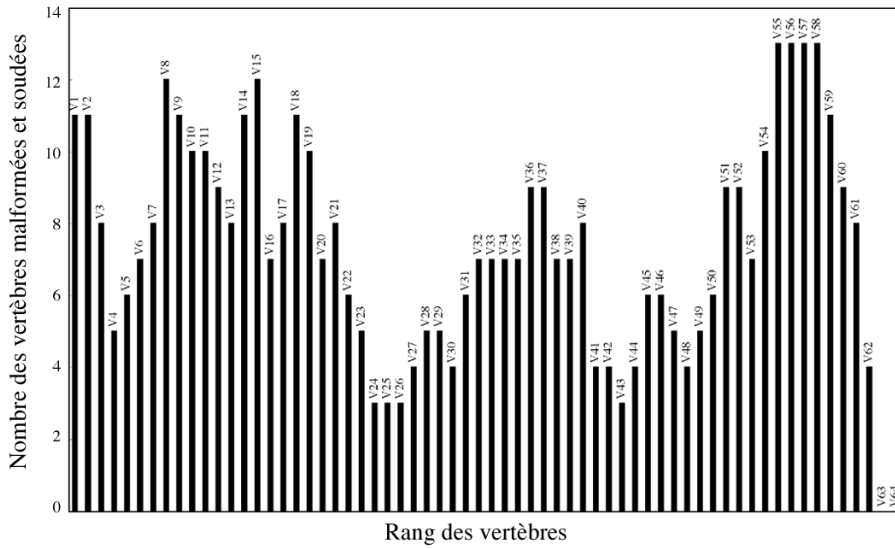


Figure 8. - Fréquence des anomalies (malformations et soudures des vertèbres) le long de l'axe vertébral. [Frequency of the anomalies (vertebral deformation and fusion) along the vertebral axis.]

Tableau I. - Variation du taux de minéralisation (TDM) des vertèbres "normales" et soudées des truites diploïdes et triploïdes dans les deux régions de l'axe vertébral. E.S. = erreur standard. [Mineral rate variation of normal and fused vertebrae in two regions of the vertebral axis in diploid and triploid rainbow trout. E.S. = standard error.]

	TDM des vertèbres troncales 8, 9, 13 et 14 (en % ± E.S.)		TDM des vertèbres caudales 32, 33, 37 et 38 (en % ± E.S.)	
	"Normales"	Soudées	"Normales"	Soudées
Truites diploïdes	50,49 ± 0,37	49,60 ± 0,13	52,66 ± 0,21	51,28 ± 1,36
Truites triploïdes	50,42 ± 0,56	48,74 ± 1,10	52,23 ± 0,39	52,68 ± 0,92
Anova	NS	NS	NS	NS

Les truites diploïdes et les truites triploïdes (quel que soit le traitement) présentent un taux de minéralisation des vertèbres presque équivalent quel que soit le niveau vertébral. Il n'y a aucune différence significative entre les vertèbres "normales" et soudées (Tab. I).

Histologie des vertèbres

En coupe transversale, les vertèbres présentent une circonférence relativement régulière avec un plan de symétrie bilatéral. Le corps vertébral est constitué de travées osseuses rayonnantes qui s'insèrent sur les parois osseuses du canal cordal (Fig. 9).

Cependant, aussi bien chez les truites diploïdes que chez les truites triploïdes, la majorité des sections des vertèbres caudales "normales" présente des grosses cavités avec plusieurs travées osseuses tronquées. Ces cavités sont le résultat d'une activité ostéoclastique repérable sur les microradiographies par l'aspect alvéolaire des parois. Cet aspect rugueux et crénelé des surfaces de résorption (Fig. 10) caractérise des lacunes de Howship creusées par les ostéoclastes (Francillon-Vieillot *et al.*, 1990 ; Ricqlès *et al.*, 1991 ; Meunier et François, 1992).

Les sections des vertèbres caudales soudées présentent une structure très différente des vertèbres "normales" avec la présence d'une sorte d'anneau ou de couronne avec des surfaces cartilagineuses plus au moins calcifiées (Fig. 11). Ces

espaces sont essentiellement cartilagineux. Normalement sur les vertèbres de tout Salmonidae, le cartilage persiste juste dans les vertèbres antérieures à la base des arcs neurax et hémaux (François, 1966) alors que dans les vertèbres caudales ils sont rapidement détruits au cours du développement.

L'étude quantitative par analyse d'image des vertèbres caudales, montre que la compacité osseuse est différente

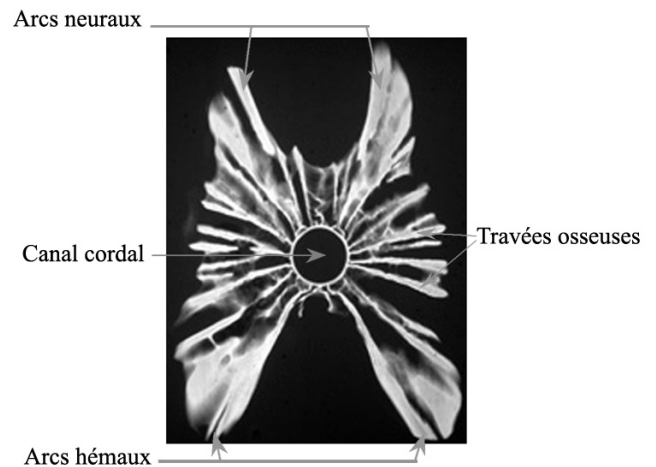


Figure 9. - Microradiographie d'une coupe transversale de la vertèbre caudale 34 (125 mm d'épaisseur) d'une truite "normale" (20 cm). [Microradiograph of a transverse section of vertebra 34 (125 mm width) of a normal rainbow trout.]

entre les vertèbres “normales” et soudées (Tab. II). L'analyse des variances indique que la compacité vertébrale est significativement plus élevée sur les vertèbres soudées que sur les vertèbres “normales” ($p < 0,0001$).

En revanche, il n'y a aucun effet de la triploïdisation ($p > 0,05$) sur la compacité vertébrale c'est-à-dire pas de différence entre truites diploïdes et truites triploïdes.

DISCUSSION

Morphologie

Concernant l'axe vertébral, un nombre variable de vertè-

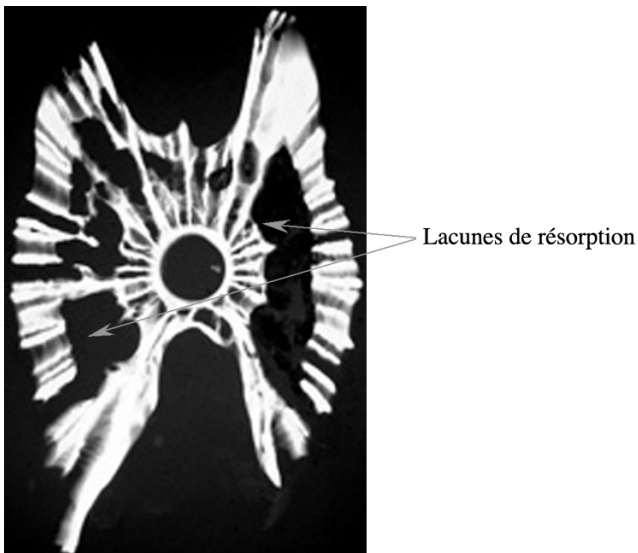


Figure 10. - Microradiographie d'une coupe de vertèbre caudale 34 (125 mm d'épaisseur) d'une truite présentant d'importantes lacunes de résorption osseuse. [Microradiograph of transverse section of vertebra 34 (125 mm width) of a rainbow trout showing a great area of bone resorption.]

bres est observé entre individus et entre génotypes (coefficient de variation compris entre 1 et 4%). Cette variabilité a été décrite dès 1858 chez différentes espèces telles que la carpe, la morue ou la truite (voir pour revue Kirpichnikov, 1981). Outre des causes environnementales (température, salinité, effet maternel), il a été rapporté une variabilité génétique de ce caractère entre populations mais aussi intra-populationnelle avec une mesure d'héritabilité réalisée ou estimée supérieure à 0,66%. Notre expérience montre que le changement de niveau de ploïdie s'accompagne d'une augmentation en moyenne d'une vertèbre chez les truites triploïdes par rapport aux truites diploïdes quel que soit le traitement de triploïdisation (choc thermique ou choc pression). Les traitements statistiques des données montrent que la vertèbre surnuméraire se situe dans la partie caudale (post-troncale) de la colonne vertébrale. Il apparaît donc que le traitement de triploïdisation a un effet significatif sur l'ontogenèse de la colonne vertébrale. Cet effet reste cependant limité à une vertèbre caudale surnuméraire et semble totalement indépendant des processus tératologiques conduisant notamment aux soudures vertébrales.

D'une façon générale les malformations morphologiques observées (soudure et compression) affectent essentiellement le paramètre “longueur des vertèbres” ; elles sont plus courtes que celles des truites dépourvues de malformations. Le paramètre “hauteur vertébrale” ne présente pas de différences significatives notables avec des vertèbres normales. Les facteurs à l'origine des anomalies vertébrales auraient donc une action sur leur croissance en longueur ce qui a très probablement des implications dans l'efficacité de la nage.

Analyse du tissu osseux

L'analyse de la qualité du tissu osseux des vertèbres a été réalisée sur les truites issues des différents traitements (diploïdes et triploïdes “pression” et “température”). Il n'y a

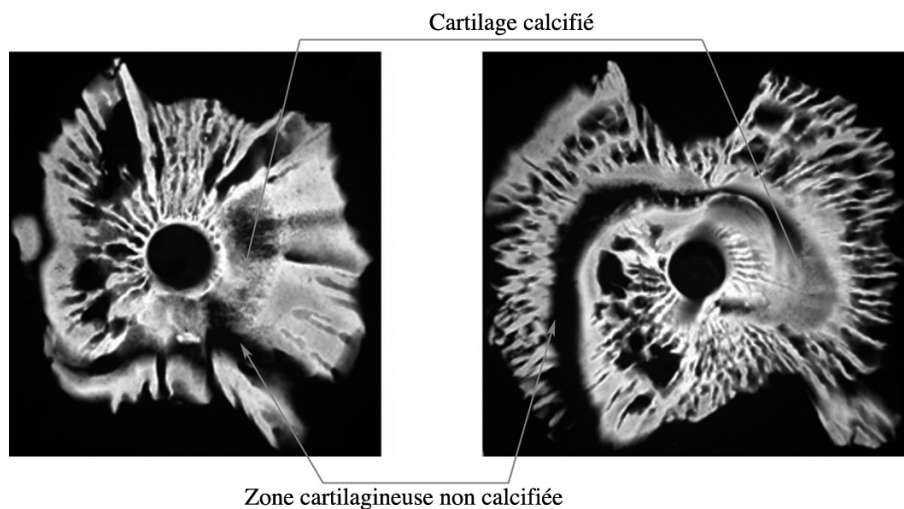


Figure 11. - Microradiographies de coupes transversales de vertèbres caudales soudées (125 mm d'épaisseur) présentant des zones cartilagineuses plus au moins minéralisées. [Microradiograph of transverse sections of fused vertebrae (125 mm width) showing a cartilaginous area more or less mineralized.]

Tableau II. - Variation de la compacité osseuse des vertèbres caudales "normales" et soudées chez les truites diploïdes et les truites triploïdes. E.S. = erreur standard. [Bone compacity variation of the normal and fused caudal vertebrae in diploid and triploid rainbow trout. E.S. = standard error.]

	Compacité des vertèbres caudales (en % ± E.S.)	
	"Normales"	Soudées
Truites diploïdes	39,96 ± 1,01	54,24 ± 1,91
Truites triploïdes	39,02 ± 1,20	55,12 ± 1,13
Anova	NS	NS

pas de différence de compacité (CO) ni de minéralisation (TDM) entre les truites issues des deux types de traitements de triploïdisation chez les truites dépourvues d'anomalies vertébrales.

Pour ce qui concerne le taux de minéralisation des vertèbres anormales soudées, il ne présente pas non plus de différence significative relativement aux vertèbres normales. Une étude du degré de minéralisation de l'os vertébral sur différents lots à l'aide de la microradiographie quantitative permettra sans doute de préciser ce résultat.

La comparaison du taux de minéralisation des vertèbres avec les données de la littérature montre que le tissu osseux vertébral des truites diploïdes et triploïdes s'avère, en général, parmi les tissus osseux faiblement minéralisés et qu'il rentre parfaitement dans la catégorie des valeurs mesurées de l'os cellulaire des téléostéens d'eau douce (Meunier, 1984). Le TDM est par ailleurs du même ordre de grandeur que celui des vertèbres du saumon atlantique (*Salmo salar* L.) au début de sa remontée en rivière lors de sa migration de reproduction (Kacem *et al.*, 2000).

Les résultats concernant la compacité du tissu osseux offrent quelques surprises qui posent de sérieux problèmes d'interprétation. En effet, la compacité osseuse des vertèbres normales, que les truites soient diploïdes ou triploïdes, nous semble faible. Nous disposons de très peu de données comparatives dans la littérature pour la compacité de l'os des poissons. Chez le saumon atlantique, cette compacité est de 45 à 58% chez les smolts (Kacem, 2000). Elle est encore de 41% (vertèbres troncales) et 48% (vertèbres caudales) chez les saumons adultes entrant en rivière lors de leur migration de reproduction (Kacem *et al.*, 1998). Elle n'est plus, respectivement, que de 37% et 42,5% après l'émission des gamètes (Kacem *et al.*, 1998). Il nous semble évident, même en l'absence d'un échantillon témoin qui serait issu du milieu naturel, que les truites expérimentales de la présente étude avec des valeurs voisines de 39% montrent un déficit de substance osseuse. L'abondance des images de résorption au moins de type ostéoclastique (très nombreuses lacunes de Howship sur les parois des cavités osseuses) est un argument en faveur d'une intensification des processus d'érosion (ostéoclastique notamment) relativement aux processus d'ostéogenèse. Une étude complémentaire des surfaces des logettes ostéocytai-

res permettrait de mettre en évidence la présence éventuelle de phénomènes d'ostéolyse péri-ostéocytaire, processus qui existent chez le saumon atlantique (Kacem et Meunier, 2000).

Sur les vertèbres malformées et plus particulièrement quand elles sont soudées, la compacité osseuse présente des valeurs significativement plus fortes (54%) que sur les vertèbres normales (39%). Ce résultat est en partie dû à la présence de cartilage dont une bonne partie est calcifiée. La quantité de substance osseuse n'est peut-être pas plus grande que sur les vertèbres normales, mais une bonne partie du volume des cavités médullaires est occupée par le cartilage calcifié qui réduit ainsi l'importance des "vides" sur les microradiographies.

L'origine de ce tissu cartilagineux des vertèbres soudées peut être double. Il peut être issu des centres vertébraux présents chez les larves (François, 1966) et qui tardent à s'ossifier par suite du processus de soudure des vertèbres ; ils pourraient se maintenir sous l'effet de diverses contraintes mécaniques. Une deuxième hypothèse consiste à considérer que cet abondant cartilage dont une bonne partie est calcifiée se forme *de novo* et serait alors seulement le résultat de l'anomalie qui affecte les vertèbres soudées. Reste alors à trouver l'origine de ces soudures puisque, a priori, les traitements de triploïdisation ne semblent pas affecter les caractéristiques histo-morphométriques osseuses vertébrales.

Les processus de sélection en salmoniculture ont contribué à améliorer le potentiel de croissance pondéral ou en longueur. La croissance des truites d'élevage peut laisser supposer que la vitesse de formation du squelette est inférieure à celle de la croissance musculaire. Les organismes ont des besoins importants en minéraux et matières organiques pour la croissance (notamment musculaire). Pour combler ces besoins, le squelette qui agit ainsi comme réservoir, notamment de minéraux, pourrait être anormalement sollicité ce qui expliquerait la présence d'une forte porosité de l'os. Nous pouvons aussi supposer que le faible taux de compacité observé chez les truites d'élevage peut être une réponse à une carence minérale alimentaire d'autant plus importante que les eaux où vivent les animaux d'élevage sont insuffisamment minéralisées (eau douce). Un tel déséquilibre alimentaire peut induire une augmentation des activités cataboliques osseuses qui pourrait avoir des retombées ostéo-musculaires induisant des malformations squelettiques ou des déformations des poissons. À ce facteur pourraient s'ajouter, également, des contraintes mécaniques d'origine musculaire consécutives elles aussi à un "déséquilibre" du développement musculature/squelette vertébral mais aussi à l'effet de divers autres facteurs tels que la nature des aliments ou l'effet de pathogènes. Ces différentes pistes constituent autant d'hypothèses de travail pour comprendre et élucider la cause du phénomène observé, une interaction génotype/milieu n'étant aussi pas à sous-estimer.

CONCLUSION

La présente étude montre que la triploïdisation se traduit par l'augmentation d'une unité du nombre moyen de vertèbres mais n'affecte pas les processus d'ontogénèse des tissus osseux. Elle confirme que le squelette de la truite n'est pas un système physiologique clos, indépendant du reste de l'organisme. Il semble bien que les processus de croissance de la masse musculaire puissent avoir des implications sur le squelette notamment pour sa composante vertébrale. Il semble toutefois nécessaire de compléter cette première approche par des observations complémentaires sur des truites issues du milieu naturel et qui serviraient de témoins aux différents lots d'élevage qu'ils soient indemnes de malformations ou non. Par ailleurs des études complémentaires, notamment histo-morphométriques, permettront sans doute d'affiner les hypothèses sur les diverses relations existant entre les processus ontogénétiques du développement vertébral, les performances de la croissance musculaire et le développement harmonieux du squelette, sans oublier les différents aspects de l'alimentation des animaux.

RÉFÉRENCES

- CHOURROUT D., 1984. - Pressure induced retention of second polar body and suppression of the first cleavage in rainbow trout eggs : production of all triploids, all tetraploids, heterozygous and homozygous diploids gynogenetics. *Aquaculture*, 36: 111-126
- CHEVASSUS B., QUILLET E. & D. CHOURROUT, 1983. - Note technique : obtention d'animaux triploïdes chez la truite arc-en-ciel. *Bull. Fr. Pisc.*, 290: 161-164.
- DESSE J., DESSE-BERSET N. & M. ROCHETEAU, 1989. - Les profils rachidiens globaux. Reconstitution de la taille des poissons et appréciation du nombre minimal d'individus à partir des pièces rachidiennes. *Rev. Paléobiol.*, 8: 89-94.
- FRANCILLON-VIEILLOT H., BUFFRÉNIL V. de, CASTANET J., GÉRAUDIE J., MEUNIER J.F., SIRE J.-Y., ZYLBERBERG L. & A. de RICQLÈS, 1990. - Microstructure and mineralization of vertebrate skeletal tissues. *In: Skeletal Biomineralization: Patterns, Processes and Evolutionary Trends* (Carter J.G., ed.), Vol. 1: 471-530. New York: Van Nostrand Reinhold.
- FRANÇOIS Y., 1966. - Structure et développement de la vertèbre de *Salmo* et des Téléostéens. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 107: 287-328.
- HAFFRAY P., VAUCHEZ C., RAULT P. & M. REFFAY, 1999. - Innovations dans les écloseries françaises depuis 1991. *Piscicult. Fr.*, 134: 23-29.
- KACEM A., MEUNIER F.J. & J.L. BAGLINIÈRE, 1998. - A quantitative study of morphological changes in the skeleton of *Salmo salar* during its anadromous migration. *J. Fish Biol.*, 53: 1096-1109.
- KACEM A., 2000. - Transformations morphologiques et histologiques du squelette du saumon atlantique (*Salmo salar* L.) au cours de son cycle vital. Thèse Muséum national d'Histoire naturelle, 136 p. Paris.
- KACEM A., GUSTAFSSON S. & F.J. MEUNIER, 2000. - Demineralization of the vertebral skeleton in Atlantic salmon *Salmo salar* L. during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 125A: 479-484.
- KACEM A. & F.J. MEUNIER, 2000. - Mise en évidence de l'ostéolyse périostéocytaire vertébrale chez le saumon atlantique *Salmo salar* L. (Salmonidae, Teleostei), au cours de sa migration anadrome. *Cybium*, 24(3) suppl.: 105-112.
- KIRPICHNIKOV V.S., 1981. - Genetic Basis of Fish Selection. Springer-Verlag.
- MADSEN L. & I. DALSGAARD, 1999. - Vertebral deformities in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 171: 41-48.
- MEUNIER F.J., 1984. - Étude de la minéralisation de l'os chez les Téléostéens à l'aide de la microradiographie quantitative. Résultats préliminaires. *Cybium*, 8: 43-49.
- MEUNIER F.J. & Y. FRANÇOIS, 1992. - La croissance du squelette chez les Téléostéens. *Ann. Biol.*, 31: 169-219.
- RAMZU M.Y.A., 1994. - Étude de la régionalisation de la colonne vertébrale en fonction des modes de nage chez les Téléostéens. Morphologie, histologie et croissance. Thèse Univ. Paris VII, 144 p.
- RAMZU M.Y.A. & F.J. MEUNIER, 1999. - Descripteurs morphologiques de la zonation de la colonne vertébrale chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Teleostei, Salmoniforme). *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 3: 87-97.
- RICQLÈS A. de, MEUNIER J.F., CASTANET J. & H. FRANCILLON-VIEILLOT, 1991. - Comparative microstructure of bone. *In: Bone*, 3 (Hall B.K., ed.), pp. 1-78. Boca Raton: CRC Press.
- SOKAL R.S. & F.J. ROHLF, 1995. - Biometry. *In: The Principles and Practice of Statistics in biological Research*. 3rd edit., 887 p. San Francisco, CA: W.H. Freeman, New-York.