

## **Impact du régime alimentaire sur la croissance du killifish turquoise Nothobranchius furzeri (Jubb, 1971)**

**Auteur :** Mabilia Ma Diambu, Georges Christian

**Promoteur(s) :** 8792

**Faculté :** Faculté des Sciences

**Diplôme :** Master de spécialisation en gestion des ressources aquatiques et aquaculture

**Année académique :** 2019-2020

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/9797>

---

*Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---



# UNIVERSITE DE LIEGE

FACULTE DES SCIENCES

Master de spécialisation en Gestion des Ressources Aquatiques et Aquaculture

Impact du régime alimentaire sur la croissance du killifish turquoise

*Nothobranchius furzeri* (Jubb, 1971)



Georges Christian MABIALA MA DIAMBU

Promoteur : Frédéric SILVESTRE

Encadrant : Antoine WITTORSKI

Année académique : 2019-2020

## Remerciements

« Nous pouvons produire plus d'argent mais pas plus de temps. Notre temps, c'est notre vie. Le temps que nous accordons à quelqu'un est une partie de notre vie que nous ne pourrons jamais récupérer » (Alexandre le grand).

Par ces mots, je remercie le Professeur Frédéric SILVESTRE qui a accepté d'être promoteur de ce travail et m'a accueilli dans son laboratoire à l'Université de Namur. Je remercie aussi mon encadrant, monsieur Antoine WITTORSKI qui a été plus proche de moi et m'a guidé tout au long de ma rédaction.

Je tiens à remercier nos deux enseignantes du cours de « Recherche documentaire », madame Carole ROUGEOT et madame Valérie CORNET pour leurs observations et remarques lors des présentations orales et écrites de ce travail pendant qu'il était encore en élaboration.

Ma gratitude s'adresse également à l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES) qui m'a octroyé une bourse d'étude afin de suivre cette spécialisation en Gestion des Ressources Aquatiques et Aquaculture, formation qui se couronne par ce travail de recherche.

Je n'oublie pas mes parents, Florimond MABIALA et Madeleine NGAKAYILU pour leur soutien moral et spirituel. A tous ceux qui m'ont aussi soutenu de loin ou de près, membres de famille, amis, condisciples ou enseignants qu'ils trouvent en ces mots l'expression de ma sincère gratitude.

## Résumé

Le présent travail avait pour objectif de réaliser un état des lieux des études réalisées sur la nutrition du *N. furzeri*. De manière spécifique, il était question d'inventorier les différents régimes alimentaires utilisés en laboratoire pour l'élevage du *N. furzeri* et de relever leurs effets sur sa croissance, sa reproduction et son vieillissement. Pour ce faire, nous avons recouru à la méthode exploratoire et nous avons utilisé la technique documentaire.

Au terme de nos recherches, nous avons constaté que les laboratoires recourent à l'utilisation des nauplii d'*Artemia sp.* pour les deux premières semaines d'élevage tout au plus. Le sevrage s'en suit soit sur les larves de *Culex sp.*, soit sur les larves de *Chironomus sp.* distribuées seules ou en co-feeding avec du *Tubifex sp.*. Dans une étude même, le sevrage s'est fait sur des pellettes. Dans la conduite des expériences, un sevrage réalisé le plus tôt possible est bénéfique à une bonne croissance du *N. furzeri*. La RC appliquée pendant un mois après la maturité sexuelle induit une croissance compensatoire et ne perturbe pas la reproduction. L'élevage monosexé favorise la croissance des femelles au détriment de la reproduction.

Aussi, reste-t-il à savoir le moment convenable pour effectuer le sevrage des larves du *N. furzeri*. De plus, quelle serait l'influence des régimes alimentaires sur la maturité sexuelle et la fécondité des poissons adultes ? Comment ces régimes affecteraient-ils leur longévité en recourant à la restriction calorique ?

Mots-clés : Nutrition, croissance, *Nothobranchius furzeri*, *Artemia sp.*, *Chironomus sp.*

## Table des matières

Remerciements.....	i
Résumé.....	ii
Table des matières.....	iii
0. Introduction.....	1
1. Nutrition des poissons.....	2
1.1. Nutrition énergétique.....	2
1.2. Nutritions protéique et lipidique.....	2
1.3. Autres besoins.....	3
2. Proies vivantes.....	4
2.1. Atrémia.....	4
2.2. Vers de vase.....	4
2.3. Daphnie.....	5
2.4. Larve de moustique rouge.....	5
3. Nutrition et vieillissement.....	6
3.1. Vieillessement et moyens anti-vieillessement.....	6
3.2. Restriction alimentaire, restriction calorique et restriction protéique.....	6
3.3. Mécanisme de vieillissement et restriction calorique.....	7
4. Killifish turquoise, <i>Notobranchius furzeri</i> (Jubb, 1971).....	8
4.1. Présentation et écologie.....	8
4.2. Cycle de vie.....	9
4.3. Elevage.....	12
5. Méthodologie.....	13
5.1. Méthode exploratoire.....	13
5.2. Méthode expérimentale.....	13
6. Quelques études réalisées sur la nutrition du <i>N. furzeri</i> .....	14
6.1. Conduite de l'expérimentation.....	14
6.2. Alimentation.....	15
6.3. Analyse des résultats.....	16
6.4. Synthèse des résultats.....	16
6.5. Discussion.....	19
7. Conclusion et perspectives.....	21
Bibliographie.....	22

## 0. Introduction

Les études sur le vieillissement permettent de comprendre le processus d'apparition des maladies liées à l'âge dans l'organisme humain. Pour y arriver, les chercheurs utilisent des animaux comme modèles de travail (Kim et al., 2016a). Les poissons figurent parmi ces animaux modèles. L'espèce la plus utilisée est le zebrafish (*Danio rerio*), mais depuis plusieurs années le killifish turquoise *Nothobranchius furzeri* semble prometteur comme modèle émergent dans les études liées au vieillissement (Gerhard, 2007).

Depuis près d'un demi-siècle, la communauté scientifique accroît son intérêt sur les killifish annuels et plus particulièrement sur le killifish turquoise *Nothobranchius furzeri* (Berois et al., 2017). *N. furzeri* est un petit poisson qui vit dans les mares temporaires d'Afrique du Sud-Est. Sa durée de vie moyenne courte et variable suivant les souches : 2 à 4 mois pour la souche GRZ et 6 à 7 mois pour la souche MZM (D'Angelo, 2017). Son cycle de vie résulte de l'adaptation aux conditions climatiques de son milieu. Actuellement, il est le vertébré qui présente la plus courte durée de vie (Kim et al., 2016b; Valdesalici & Cellerino, 2003). Il est prolifique, se reproduit facilement et croît vite (Dance, 2016).

Bien que la conduite d'élevage du *N. furzeri* ne soit pas compliquée ni coûteuse (Genade et al., 2005), son alimentation constitue une limite dans son utilisation comme modèle de laboratoire (Polačik et al., 2016). Pourtant, la composition nutritionnelle des aliments influence la croissance, la reproduction, la durée de vie et le vieillissement. C'est ce qui est rapporté dans l'étude menée par Moatt et al. (2019) sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*). Etant donné que les laboratoires travaillant sur le *N. furzeri* n'utilisent pas tous le même régime alimentaire, cela rend difficile la comparaison des résultats obtenus de par le monde (Polačik et al., 2016).

Par ailleurs, peu d'études ont été réalisées sur la nutrition du *N. furzeri*. Ainsi, l'objectif premier de ce travail était de comparer l'effet des différents régimes alimentaires sur la croissance de *N. furzeri* avec : un régime alimentaire exclusivement constitué des nauplii d'*Artémia salina* ; un régime alimentaire exclusivement constitué de vers de vase (*Chironomus plumosus*) ; un régime alimentaire constitué d'un mélange des nauplii d'*Artemia salina* et des larves de *Chironomus plumosus*. Compte tenu de la situation sanitaire mondiale liée au Covid-19, l'expérimentation n'était plus faisable et nous nous sommes orientés sur une étude uniquement bibliographique. Nous nous sommes fixés alors comme nouveaux objectifs d'inventorier les différents régimes alimentaires utilisés en laboratoire pour l'élevage du *N. furzeri* et de relever leurs effets sur sa croissance, sa reproduction et même son vieillissement.

## **1. Nutrition des poissons**

Les poissons nécessitent des apports nutritionnels en quantité et en qualité pour leur croissance, leur santé et leur reproduction. Bien d'études ont été menées à ce sujet sur un grand nombre d'espèces de poissons. Elles ont permis de déterminer les besoins en protéines (acides aminés) et en lipides (acides gras). Elles ont aussi apporté des informations sur l'utilisation des glucides et des minéraux (Hasan, 2000).

### **1.1. Nutrition énergétique**

Les nutriments apportent à l'organisme l'énergie nécessaire pour la réalisation des différents processus vitaux. Leur valeur dépend de leur capacité à fournir de l'énergie (Craig et al., 2017). Les principales sources énergétiques sont les protéines et les lipides. Ils apportent respectivement 23,6 et 39,5 kJ/g. Les glucides représentent une source secondaire d'énergie avec 17,2 kJ/g d'apport (Bureau et al., 2003).

L'énergie contenue dans les nutriments est sous forme brute. Pour qu'ils puissent être utiles à l'organisme, les nutriments ingérés doivent être digérés puis absorbés. Les nutriments qui ne sont pas digérés sont éliminés sous forme de fèces. Celles-ci représentent l'énergie fécale. La différence entre l'énergie brute et l'énergie fécale donne l'énergie digestible. C'est cette énergie qui est disponible pour les fonctions vitales. Il est donc important d'apprécier les aliments selon leur énergie digestible et non leur énergie brute. En effet, l'énergie fécale représente une perte sur l'énergie brute (Bureau et al., 2003).

### **1.2. Nutritons protéique et lipidique**

Les protéines sont importantes car elles apportent à l'organisme les acides aminés. Il existe plus de 200 acides aminés dans la nature mais seul 10 sont indispensables car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme. Il s'agit de la méthionine, l'arginine, la thréonine, le tryptophane, l'histidine, l'isoleucine, la lysine, la leucine, la valine et la phénylalanine. Pour les poissons la cystéine et la tyrosine sont semi indispensables. Ils sont synthétisés à partir de leur précurseur, respectivement la méthionine et la phénylalanine. La valeur des protéines est tributaire de leur biodisponibilité, de leur profil en acide aminé et de leur énergie digestible (Oliva-Teles, 2012).

Les protéines sont des nutriments qui coûtent très cher sur le marché et auxquels les poissons recourent en premier lieu. Des régimes équilibrés permettent une bonne utilisation des protéines. C'est-à-dire leur affectation principale à la croissance tissulaire. Par conséquent, il est important que le régime alimentaire présente un rapport protéines digestibles/énergie digestible adéquat. Si ce rapport est élevé, le surplus des protéines est utilisé pour la production d'énergie. Au cas où ce rapport est faible, les poissons consomment peu de protéines et leur croissance est médiocre (Craig et al., 2017). Les besoins en protéines diffèrent d'une espèce à une autre. Les poissons carnivores exigent une teneur en protéines comprise entre 40 et 55 % de poids sec d'aliment. Les poissons omnivores par contre en nécessitent entre 30 et 40 % (Hasan, 2000).

Les lipides sont des nutriments très énergétiques. Ils sont constitués des triglycérides et des acides gras. Ils apportent les vitamines liposolubles. Les acides gras peuvent être saturés,

insaturés ou polyinsaturés. Pour une croissance optimale, les poissons nécessitent les acides gras oméga-3 (n-3) et oméga-6 (n-6). Parmi ceux-ci, trois sont essentiels pour les poissons marins. Il s'agit de l'acide docosahexaénoïque (DHA ; 22:6 n-3), l'acide éicosapentaénoïque (EPA ; 20: 5n-3) et acide arachidonique (AA ; 20:4 n-6). Leurs besoins se situent entre 0,5 et 2%. Ils assurent la structure et le fonctionnement des membranes cellulaires. Ils sont aussi précurseurs d'hormones paracrines appelées éicosanoïdes (Sargent et al., 1999). Les poissons d'eau douce par contre nécessitent l'acide linoléique (18:3 n-3) et l'acide linoléique (18:2 n-6). Ils en ont besoin dans des proportions de 0,5 à 1,5%. A l'aide de leurs enzymes désaturases et élongases, ils peuvent synthétiser l'EPA et le DHA (Craig et al., 2017).

Les lipides sont souvent utilisés pour réaliser l'épargne protéique. Ce phénomène a été mis en évidence chez certains salmonidés. En effet, ils acceptent des teneurs élevées en lipides (jusqu'à 35 %) dans leur régime alimentaire en substitut aux protéines sans affecter négativement leur croissance et la qualité de leurs carcasses. Pour les autres poissons, les besoins en lipides se situent entre 10 et 20 % (Hasan, 2000).

### **1.3. Autres besoins**

Les autres éléments nutritifs importants pour les poissons sont les glucides, les vitamines et les minéraux. Les poissons carnivores digèrent moins bien les glucides complexes car leur tube digestif possède une activité amylolytique faible. Ainsi, leur digestibilité diminue en fonction de la complexité des molécules. Quant aux poissons omnivores et herbivores, ils tolèrent bien des proportions un peu plus élevées de glucides. La carpe commune (*Cyprinus carpio*) et le poisson-chat de canal (*Ictalurus punctatus*) utilisent efficacement les glucides comme substrat énergétique même lorsqu'ils constituent 25 % de leur régime (Hasan, 2000).

Les vitamines sont classées en 2 catégories. Les hydrosolubles et les liposolubles. Dans la première catégorie se trouvent les vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine, niacine, acide pantothénique, pyridoxine, biotine, acide folique et cobalamines), l'inositol, la choline et la vitamine C aussi appelée acide ascorbique. La seconde catégorie est constituée des vitamines A, D, E et K (Craig et al., 2017). Les vitamines C et E sont très connues à cause de leurs propriétés antioxydantes. Ils assurent ainsi un rôle non négligeable dans la conservation des aliments. La vitamine C a un rôle particulier en plus, celui du renforcement du système immunitaire. Cela a été mis en évidence chez des poissons qui ont été soumis à des régimes contenant entre 10 et 100 fois leur besoin minimum en vitamine C (Gatlin III, 2003).

Suivant les quantités dont l'organisme a besoin, on distingue les macrominéraux et les oligoéléments. Outre l'apport alimentaire, les minéraux sont absorbés par les poissons à travers les branchies et la peau. Les principaux macrominéraux sont le calcium, le sodium, le potassium, le chlore, le soufre, le phosphore et le magnésium. Ce sont des régulateurs osmotiques et des constituants majeurs des os. Les oligoéléments les plus connus sont le fer, le cuivre, le chrome, l'iode, le manganèse, le zinc et le sélénium. Ils sont impliqués dans les fonctionnements enzymatiques et hormonaux (Craig et al., 2017).

## 2. Proies vivantes

Les proies vivantes sont principalement utilisées pour le stade larvaire des poissons d'élevage, particulièrement pour les espèces marines. En effet, pendant cette période le système digestif n'est pas complètement fonctionnel. Les proies vivantes sont ainsi facilement digérées par rapport aux aliments secs. Elles ont aussi l'avantage de stimuler la prise alimentaire par leur nage (Conceição et al., 2010).

### 2.1. Atrémia

Les artemias sont l'une des proies vivantes les plus utilisées en aquaculture. Ce sont des Crustacés qui appartiennent à la famille des Artémiidés. Les deux espèces courantes sont *Artemia salina* et *Artemia franciscana* (Radhakrishnan et al., 2020). Après éclosion, les artemias ont une taille comprise entre 400 et 500  $\mu\text{m}$  de longueur. Pendant les 8 aux 10 premières heures qui suivent l'éclosion, ils sont appelés nauplii stade I et ont une nutrition strictement endogène. Ensuite, ils entrent au stade II et se nourrissent des bactéries et des microalgues. Au bout de 12 à 14 jours, les artémias deviennent adultes et atteignent 8 à 12 mm de longueur. Les femelles sont ovovivipares et pondent 300 nauplii tous les 4 jours (Gunvor et al., 2011).

Lorsque les conditions ne sont pas favorables, les nauplii s'enkystent et conservent leur viabilité durant des longues années. On peut facilement les stocker et les transporter. Leur utilisation est pratique et ne nécessitent pas de main d'œuvre supplémentaire. Il suffit de les réhydrater en eau salée (25 ppt) pour qu'ils éclosent endéans 24 heures. A l'éclosion, les nauplii d'artemia contiennent 56,2% de protéines, 17% de lipides et 3,6% de glucides. Les kystes conservent presque la même composition que les nauplii mais possèdent une teneur en matière sèche et en énergie supérieure à celle des nauplii (Conceição et al., 2010).

Les nauplii d'artémia offrent de bons résultats quant à la croissance et la survie des larves. Leur limite est qu'ils sont déficitaires en acides gras essentiels. Leur utilisation implique un enrichissement préalable (Radhakrishnan et al., 2020).

### 2.2. Vers de vase

Le vers de vase, *Chironomus plumosus* est un insecte appartenant à l'ordre des Diptères et classé dans la famille des Chironomidés. Il est appelé vers de vase ou vers de sang à cause de sa pigmentation provenant de l'hémoglobine. Il vit dans les boues du fond des étangs et des lacs. Il est omnivore et se développe très bien dans la fiente des poules et la bouse des vaches (Sulistiyarto et al., 2014).

Les vers de vase sont une proie des poissons très abondant en eau douce. Ils sont utilisés en aquaculture à cause de leur composition en protéine qui s'élève à 56% (Maleknejad et al., 2014). Ils sont aussi riches en vitamines et en fer. Des études rapportent que les vers de vase stimulent une croissance rapide et une maturité sexuelle précoce des poissons et des crustacés (Podder et al., 2018; Sulistiyarto, 2018).

### **2.3. Daphnie**

Les Daphnies sont des Crustacés de la famille des Daphnidés. Elles vivent dans les étangs d'eau douce et les lacs et en constituent les planctons les plus représentés. Elles sont pourvues de bien d'enzymes digestives (protéases, lipases, amylases et cellulases) dont l'importance est capitale pour les poissons pendant leur premier stade de vie. L'espèce la plus utilisée en aquaculture est *Daphnia magna*. Elle peut atteindre 5 mm de longueur (Barad et al., 2017).

Les daphnies sont aussi bien appréciées par les larves de poissons à cause de leur composition nutritionnelle. En effet, elles comprennent 20 à 27% de lipides et leur teneur en protéines peut atteindre 70%. Par ailleurs, leur teneur en acides gras essentiels est faible. Pour améliorer leur profil nutritionnel, les daphnies sont souvent nourries avec l'huile de canola, ou la farine de soja (Radhakrishnan et al., 2020).

### **2.4. Larve de moustique rouge**

Les moustiques rouges (*Culex sp.*) font partie de la classe des Insectes. Ils sont dans l'ordre des Diptères et appartiennent à la famille des Culicidés. Leurs larves sont abondantes dans la nature et conviennent aussi bien pour les poissons larvivores que pour les poissons carnivores. Elles contiennent une teneur élevée en protéine estimée à 50% (Maleknejad et al., 2014). Elles constituent aussi une source non négligeable des lipides, des vitamines et des minéraux. Elles ont donc une composition nutritionnelle permettant d'assurer la croissance et la reproduction des poissons (Luna-Figueroa et al., 2019). Les larves de *Culex sp.* sont particulièrement très utilisées dans l'élevage des poissons de combat siamois (*Betta splendens*) (Thongprajukaew et al., 2019)

### **3. Nutrition et vieillissement**

#### **3.1. Vieillessement et moyens anti-vieillessement**

Le vieillissement d'un organisme vivant est défini comme la détérioration de ses structures et des fonctions de ses systèmes. Il s'achève par la mort. On distingue le vieillissement primaire et le vieillissement secondaire. Le premier se rapporte aux dysfonctionnements physiologiques liés à l'âge et non aux pathologies. Le second est lié aux causes environnementales et génétiques qui rendent l'organisme vulnérable aux maladies sévères comme l'hypertension, le diabète et le cancer (Fontana, 2009).

De nombreuses recherches ont permis de comprendre les différents processus mécanistiques du vieillissement. D'après López-Otín et al. (2013), 9 causes expliquent le phénomène du vieillissement chez de nombreux organismes vivants et particulièrement chez les mammifères. Ils citent : l'instabilité génomique, l'attrition des télomères, les altérations épigénétiques, la perte de protéostase, la dérégulation de la détection des nutriments, le mauvais fonctionnement des mitochondries, le vieillissement des cellules, la diminution des cellules souches et la détérioration des échanges entre les cellules. De manière idéale, chacune des causes apparaîtrait pendant le vieillissement. De plus, leur manipulation lors des expérimentations est supposée retarder le vieillissement et prolonger la durée de vie si elles sont atténuées ou accélérer le vieillissement et abréger la durée de vie dans le cas contraire.

Ainsi, il existe des moyens qui permettent de retarder le vieillissement tout en préservant des maladies liées à l'âge. La restriction calorique (RC) est l'un de ces moyens les plus utilisés qui fait ses preuves. Des études rapportent qu'une restriction calorique de 20 à 60% prolonge significativement la durée de vie moyenne de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*), de la mouche (*Drosophila melanogaster*), du chien (*Canis lupus*), de la souris (*Mus musculus*) et de *Caenorhabditis elegans* (Shoveller et al., 2018).

#### **3.2. Restriction alimentaire, restriction calorique et restriction protéique**

La RC consiste en une réduction des nutriments dans le régime alimentaire. En ce sens, la restriction n'est pas seulement calorique mais alimentaire. Le concept approprié est donc restriction alimentaire (RA). Néanmoins, dans la littérature c'est le concept RC qui est le plus utilisé (Speakman & Mitchell, 2011). La RA présente plusieurs variantes. Elle peut se faire par la RC, la restriction protéique (RP) ou même la restriction des acides aminés essentiels comme la méthionine (RMét). Cependant, la RC produit un effet plus significatif sur le prolongement de la durée de vie que les autres variantes, même lorsqu'elles sont combinées (Shoveller et al., 2018).

Deux approches sont souvent utilisées dans la mise en pratique de la RC. Dans la première, les animaux sont nourris à un pourcentage donné d'aliment inférieur à celui que leurs congénères consomment ad libitum. La quantité d'aliment consommée ad libitum à partir de laquelle est établie la RC se mesure pendant la période où les animaux atteignent leur maturité. Cela permet d'obtenir une moyenne de consommation raisonnable car la consommation alimentaire varie tout au du cycle de vie. La seconde variante consiste à nourrir les animaux à volonté mais cette fois suivant un rythme de jeûne régulier de 24 heures (Piper & Bartke, 2008).

### 3.3. Mécanisme de vieillissement et restriction calorique

Le mode d'action précis de l'influence de la restriction alimentaire sur le vieillissement n'est pas connu. Néanmoins, les scientifiques ont identifié des facteurs (figure1) qui sont supposés interagir dans les effets produits par la restriction alimentaire sur le vieillissement (Carrillo & Flouris, 2011). En effet, durant la restriction alimentaire, les voies de signalisation des nutriments sont régulées à la baisse. L'organisme adopte alors un mode de fonctionnement semblable à celui qui adviendrait pendant les moments de longue disette. Les fonctions de croissance et de reproduction sont suspendues ou réalisées au minimum strict, conservant ainsi l'énergie au maximum afin d'assurer le maintien de l'organisme (Fontana et al., 2010). Il se produit alors la stimulation des gènes responsables de la survie cellulaire, l'inhibition de l'expression des gènes induisant l'inflammation, la prévention contre les détériorations causées par le stress et en particulier le stress oxydatif, la protection contre certaines mutations génétiques liées à l'âge, la baisse de température corporelle et la réduction du métabolisme énergétique (Fontana & Klein, 2007; Siepelmeyer et al., 2016; Villa et al., 2016).

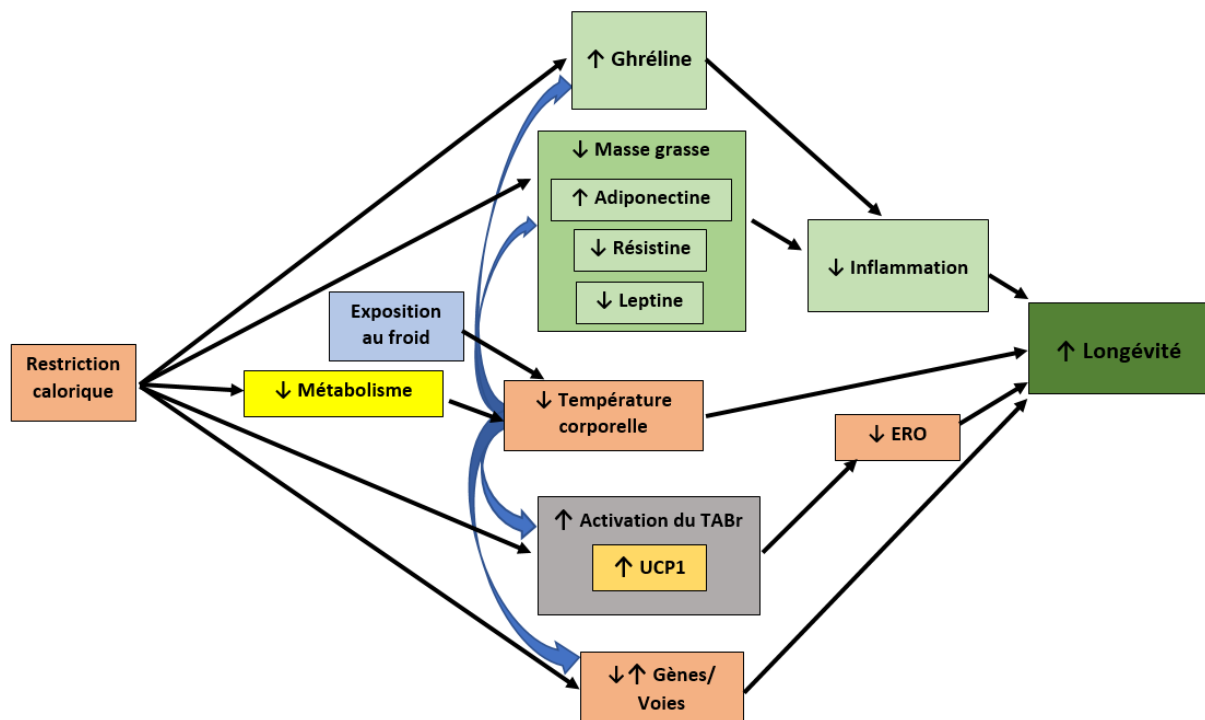


Figure 1 : Relation entre la RC et la température corporelle et leur influence sur la longévité. ERO = espèces réactives d'oxygène ; UCP1 = découplage des protéines ; TAb = tissu adipeux brun (Carrillo & Flouris, 2011).

## 4. Killifish turquoise, *Notobranchius furzeri* (Jubb, 1971)

### 4.1. Présentation et écologie

Le genre *Nothobranchius* comprend 4 clades. Le premier clade se retrouve dans les régions sèches du nord du Kenya et de la Somalie. Le deuxième clade est celui qui a fait le plus objet d'étude. Il occupe le sud du fleuve Zambèze et s'étend de la zone humide à des régions sèches de haute altitude. Le troisième clade habite la région de haute altitude située entre le lac Victoria et le bassin de Kafue. Le quatrième clade peuple les bassins côtiers situés au sud du Kenya, de la Tanzanie et au nord du Mozambique (Cellerino et al., 2016).

Les mâles du *Nothobranchius furzeri* sont marqués par un dimorphisme sexuel très prononcé (figure 2). Les mâles sont les plus gros et très colorés alors que les femelles sont plus petites et ternes. En fonction de la lignée, il existe chez les mâles deux paternes de couleurs : *N. furzeri* à queue rouge et *N. furzeri* à queue jaune. Certaines lignées présentent simultanément les deux paternes de couleurs. A l'heure actuelle, cette répartition entre les couleurs des différentes lignées reste peu comprise. Les mâles portent tous une bande noire distale sur leurs nageoires caudales (Cellerino et al., 2016).

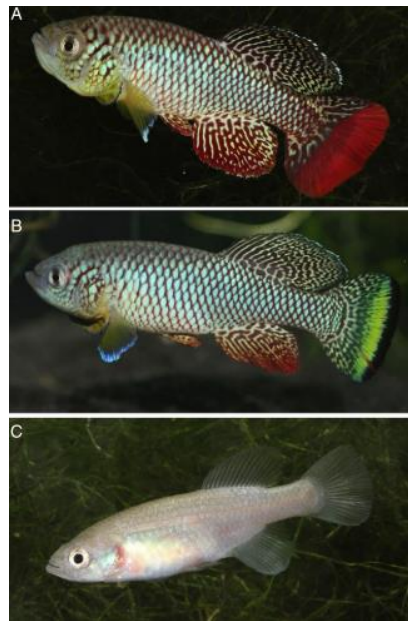


Figure 2 : Mâles adultes rouge (A) et jaune (B) du *N. furzeri*. Femelle adulte du *N. furzeri* (Cellerino et al., 2016).

L'aire géographique occupée par le killifish (figure 3) est limitée au nord par le Soudan, au sud par la région du Kwa-Zulu Natal, à l'ouest par le lac Tchad et à l'est par le Zanzibar (Genade et al., 2005). Elle se s'étend entre 16 et 422 m d'altitude (Cellerino et al., 2016). Elle est constituée des savanes herbeuses et boisées renfermant les mares, les ruisseaux et les rivières semi-permanentes. La présence temporaire de ces cours d'eau est liée à la saison des pluies. Les régions humides en comprennent deux et les régions sèches une seule. Dans les régions humides, les précipitations s'élèvent à 1 000 mm/an avec des températures allant de 25 à 28 °C. Dans les régions sèches par contre, les précipitations sont de l'ordre de 300 mm/an et les températures varient entre 20 et 35 °C. Dans la localité type du *N. furzeri* située à 422 m

d'altitude, les précipitations enregistrées sont plus faibles et rares, conduisant certaines années à une absence totale d'irrigation (Reichard, 2015).

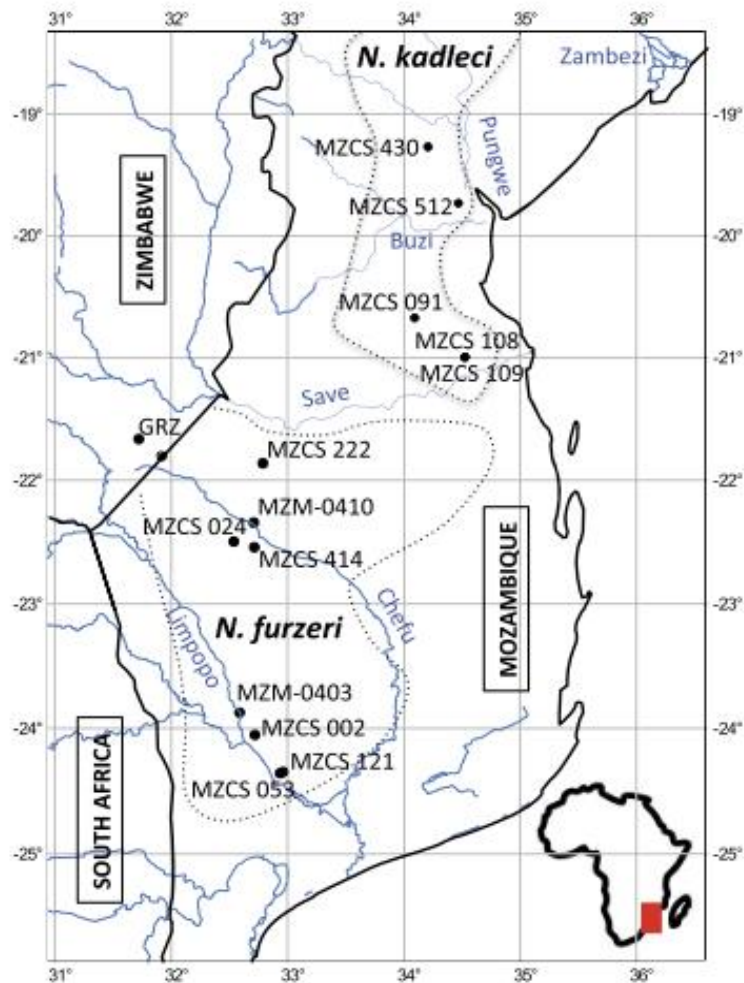


Figure 3 : Répartition de *N. furzeri* et de ses espèces sœurs, *N. kadleci*. Les emplacements des pools sources de souches captives sont indiqués. L'aire de répartition de chaque espèce est illustrée par la ligne pointillée. L'encart indique la position de la zone d'étude à l'échelle continentale (Cellerino et al., 2016).

Le substrat de leur écosystème est formé de vertisol quaternaire, des sols calcimorphes ou des sols argileux. Leurs propriétés physico-chimiques particulières permettent le maintien des œufs pendant les différentes diapauses (Reichard, 2015; Reichard et al., 2009). La conductivité de l'eau varie entre 50 et 625  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Les valeurs de pH se situent entre 5,2 et 6,5. La végétation aquatique qui y pousse souvent est le *Nymphaea sp.* (Cellerino et al., 2016)

#### 4.2. Cycle de vie

La taille et la masse corporelles sont des facteurs importants pour la réussite de la reproduction. Chez les mâles, la taille symbolise la bonne santé. Ainsi, les femelles sont attirées par les mâles de grande taille (Vrtílek et al., 2019). Chez les femelles, la masse traduit la fécondité (Reichard et al., 2014). Les souches des régions arides (ayant une durée de vie plus

courte) produisent des œufs de plus grosse taille que celle des régions humides. Les femelles pondent le matin (Vrt & Reichard, 2016).

Le caractère temporel de l'habitat conditionne le cycle de vie du *N. furzeri* (figure 4). La reproduction se fait juste avant la saison sèche. Le substrat, boueux dans un premier temps puis sec par la suite assure le maintien des embryons en diapause jusqu'au retour des pluies (Valdesalici & Cellerino, 2003). La diapause est décrite comme une interruption temporaire du développement embryonnaire marquée par un ralentissement du métabolisme. Cet arrêt se subdivise en 3 phases facultatives appelées diapauses I, II et III (figure 5). Elles prolongent la durée d'incubation des œufs et même leur durée de vie (Furness, 2016; Reichard & Polačik, 2019).

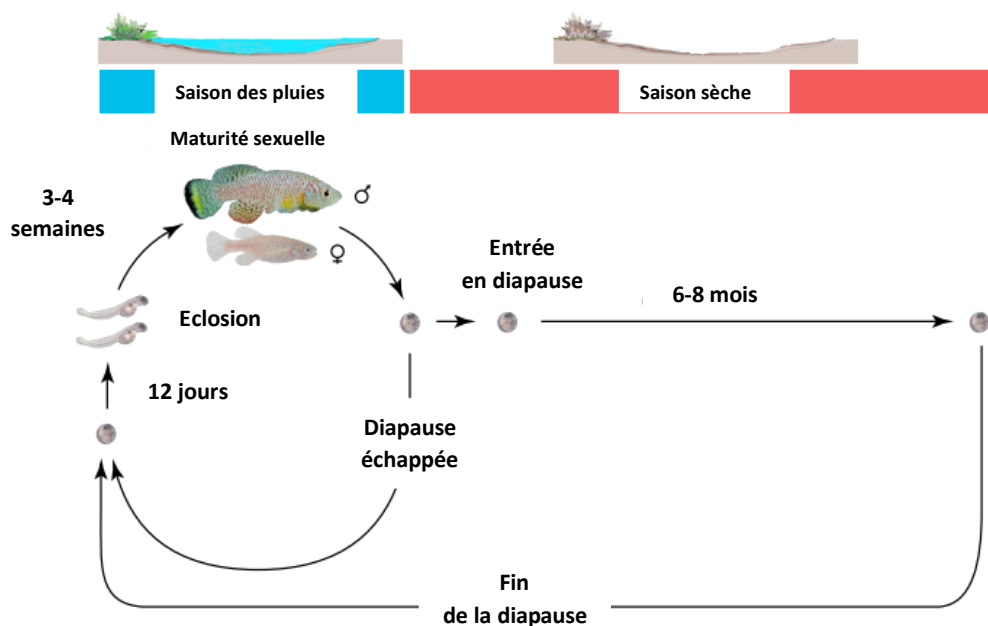


Figure 4 : Cycle de vie du *N. furzeri*. La maturité sexuelle est atteinte pendant la saison des pluies et la reproduction a lieu pendant cette période. Les embryons en diapause survivent pendant la saison sèche. Dans les conditions de laboratoire, la diapause peut être évitée réduisant ainsi le temps de génération (Valenzano et al., 2015).

Chez *N. furzeri*, l'embryogenèse est caractérisée par une phase de dispersion cellulaire à environ 50% d'épibolie, c'est à cette étape que l'embryon entre en diapause I. Lorsque les conditions sont favorables, l'embryon sort de la diapause I et une réagrégation cellulaire a lieu. Le développement embryonnaire dépend du processus de dispersion et de réagrégation cellulaires. Toute situation de stress pendant cette période entrave la réagrégation et retarde l'embryogenèse. Les œufs entrent alors en diapause I. Les cellules dispersées sont maintenues en vie par un métabolisme anaérobie. L'enveloppe constituée par la couche cellulaire limite les échanges osmotiques avec l'extérieur (Wourms, 1972).

Les diapauses I et II dépendent notamment de la disponibilité d'oxygène, de la température et de la photopériode. (Furness, 2016). Pour les œufs incubés à 26 °C, la phase dispersée dure presque 5 jours et l'axe embryonnaire apparaît au bout d'une semaine. Successivement, il y a réagrégation des cellules et formation de la quille neurale. Viennent

ensuite la somitogenèse et la morphogenèse du système nerveux jusqu'à ce que survienne la diapause II. Elle peut durer 2 à 3 jours suivant la température d'incubation. A 28 °C par exemple, les œufs éclosent 12 jours après la fécondation sans passer par la diapause II (Cellerino et al., 2016).

Avant la diapause II, le système cardiovasculaire est aussi formé mais n'est pas encore fonctionnel. Le début de son fonctionnement est une première indication de la fin de la diapause II (Wourms, 1972). Le passage de la diapause II à la diapause III est occasionné entre autres par une augmentation d'humidité et une diminution d'oxygène. Lorsque survient la diapause III, le développement embryonnaire est achevé. Il ne reste plus que les conditions environnementales déclenchent l'éclosion. (Reichard & Polačik, 2019). L'éclosion est rendue pénible à cause du chorion qui est très difficile à digérer. En captivité, il est recommandé de mouiller les œufs dans l'acide humique afin de faciliter l'éclosion. Elle peut être stimulée aussi par l'hypoxie (Cellerino et al., 2016).

L'éclosion résulte des facteurs environnementaux, surtout les pluies et des prédispositions individuelles. Elle se fait de manière asynchrone et peut s'étendre sur une durée de 20 jours. Cela permet de préserver les œufs des indices d'éclosion trompeurs comme les pluies inattendues de la saison sèche. En effet, l'habitat reconstitué disparaît quelques jours plus tard entraînant la mort des larves et des juvéniles qui se seraient développés (Reichard et al., 2017). L'abondance des ressources conduit à une croissance rapide (Vrt & Reichard, 2016). On observe ainsi une croissance des juvéniles plus élevée dans la nature qu'en laboratoire (Vrtílek et al., 2019). La maturité sexuelle peut être atteinte en moins de deux semaines. Généralement, les poissons deviennent sexuellement mûres pendant la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine (Polačik et al., 2016). En ce moment, les mâles mesurent une taille minimale de 20 à 25 mm et les femelles 15 à 20 mm. Lorsque les conditions sont favorables, la taille des mâles arrive à 40 mm après 4 semaines et à 80 mm après 8 semaines (Genade, 2005). Le *N. furzeri* est caractérisé par une fécondité élevée et commence à se reproduire dès qu'il atteint la maturité sexuelle jusqu'à ce qu'il meurt (Furness, 2016). Les femelles peuvent pondre 20 à 40 œufs chacune toutes les 2 heures (Polačik et al., 2016).

Le *N. furzeri* est généralement actif pendant la journée avec pic d'activité à midi. L'alimentation a priorité sur la reproduction. En effet, une alimentation intense précède la ponte qui se fait dans la matinée. L'activité alimentaire demeure intense même la nuit (Žák et al., 2019). Son régime alimentaire est généraliste en fonction de la disponibilité des proies de son environnement (Cellerino et al., 2016). Il préfère les petits crustacés (Cladocères, Copépodes, Ostracodes et Conchostracés). Bien qu'ils fournissent peu d'énergie ils sont beaucoup consommés compte tenu de leur abondance dans le milieu. Une forte consommation des larves de Chironomidés ou des hémiptères est enregistrée à des endroits où les crustacés sont peu nombreux. Il arrive aussi au *N. furzeri* de se nourrir des larves de moustiques et des nymphes de Notonectidés (Polačik & Reichard, 2010).

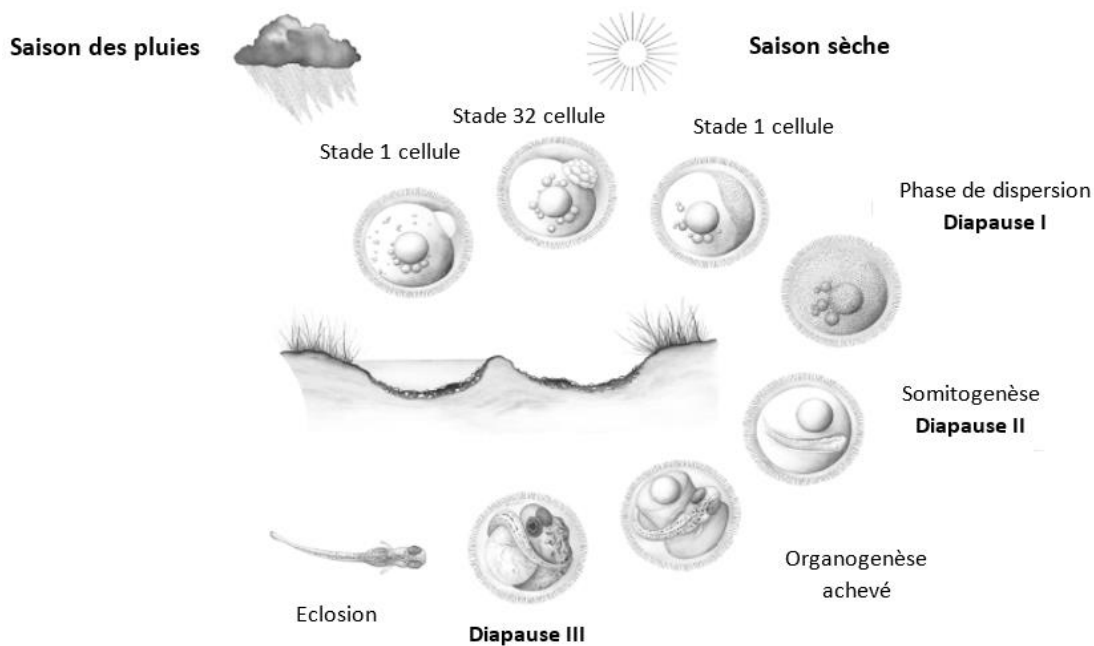


Figure 5 : Développement embryonnaire et phases de diapause chez *N. furzeri*. Tenant compte de la disponibilité de l'eau, une partie des œufs se développe et éclos. Une autre partie entre en diapause en suivant les différentes phases (Platzer & Englert, 2016).

### 4.3. Elevage

Les œufs incubés sont prêts pour l'éclosion lorsqu'ils présentent deux yeux bien visibles et brillant (stade « golden eyes»). Ils sont placés dans un récipient de 2 litres contenant un mélange de 50 % d'extrait de tourbe et de 50 % d'eau reconstituée. Celle-ci est obtenue après un mélange d'eau distillée et du sel afin d'obtenir une conductivité de 600  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Le milieu d'éclosion doit avoir une température comprise entre 4 et 10°C. Les œufs y sont délicatement déposés à l'aide d'une pince et sont ensuite placés à température ambiante. Le choc thermique stimule l'éclosion qui a lieu dans les 12 heures. Pour l'éclosion, les bacs sont remplis au quart. Le deuxième jour, on y ajoute une quantité d'eau équivalant au quart de la capacité totale du bac, le milieu est ainsi dilué de 50%. Le reste de la semaine, 50% du volume total est siphonné et remplacé par l'eau du système d'élevage. Au bout d'une semaine, les larves sont transférées dans les aquariums d'élevage (Genade, 2005).

Les alevins sont alors répartis à la densité d'un poisson pour un volume de 1 à 2 litres. En effet, un rapport volume/poisson élevé favorise un meilleur taux de croissance. L'eau doit être renouvelée de moitié chaque jour et les aliments non consommés siphonnés. Une température de 25 °C est bien tolérée par le killifish turquoise. Dès l'éclosion, les larves sont nourries 2 fois par jour avec les nauplii d'*Artemia sp.*. Au cours de la deuxième semaine, les poissons sont nourris progressivement avec les larves de *Chironomus sp.*. Celles-ci sont hachées dans un premier temps jusqu'à ce que les poissons arrivent à les engloutir entiers (Genade, 2005).

## 5. Méthodologie

Comme mentionné à l'introduction, l'idée initiale du travail était de réaliser une expérimentation sur la nutrition du *N. furzeri* en testant 3 régimes. Compte tenu de la situation sanitaire mondiale liée au Covid-19, l'expérimentation n'était plus faisable et nous nous sommes rabattus sur une étude purement bibliographique. Ainsi, concernant la méthodologie de travail, nous allons présenter premièrement la méthode exploratoire utilisée pour l'étude bibliographique. En second lieu, nous allons développer la méthode expérimentale. Par ailleurs, nous sommes sans ignorer que la recherche expérimentale se fait précéder de l'étude exploratoire.

### 5.1. Méthode exploratoire

Pour réaliser ce travail, nous avons utilisé la méthode exploratoire. Nous nous sommes servis de la technique documentaire afin de collecter les informations pertinentes en rapport avec notre sujet de recherche. Nous avons exploité à cet effet deux séries d'articles. Une première série nous a servi pour les généralités. Une seconde série nous a permis de recueillir les résultats obtenus jusqu'à ce jour sur la nutrition du *N. furzeri*. Pour chaque article, nous avons repris les objectifs de l'étude, la conduite de l'expérience, les régimes alimentaires utilisés, la méthode d'analyse statistique des données et les résultats obtenus.

### 5.2. Méthode expérimentale

Après éclosion et durant la première semaine, les larves seraient élevées dans des bacs de 4 litres de capacité suivant une densité de 50 à 100 larves par bac. Durant la deuxième semaine, elles seraient transférées dans des bocaux de 2 litres avec une densité de 3 à 5 larves par bocal. A partir de la quatrième semaine, des élevages individuels seraient constitués, soit un poisson par bocal de 2 litres.

De l'eau reconstituée ayant une conductivité de 600  $\mu\text{S}/\text{cm}$  seraient utilisée pour chaque bocal. En vue de maintenir la qualité de l'eau, le siphonage se ferait au quotidien et l'eau renouvelée de 30%. Le pH devrait varier entre les valeurs de 6 et 7. La photopériode serait de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.

Trois groupes expérimentaux seraient constitués avec chacun 20 poissons, soit un total de 60 poissons pour l'étude. Le premier serait nourri uniquement avec les nauplii d'*Artemia salina*, le deuxième avec les larves de *Chironomus plumosus* et le troisième avec un mélange des nauplii d'*Artemia salina* et des larves de *Chironomus plumosus*.

La longueur standard et la masse seraient les paramètres de croissance étudiés. La survie des poissons aurait fait aussi objet d'étude. La prise des mesures se feraient respectivement à la 5<sup>ème</sup>, 9<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup>, 17<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> semaine pour chaque poisson. Les mesures de la longueur standard seraient faites avec le logiciel ImageJ après avoir photographié les poissons. Quant aux mesures de masse, elles seraient prélevées en utilisant une balance de précision. Les données recueillies seraient traitées à l'aide du logiciel R en faisant l'analyse de la variance (ANOVA).

## **6. Quelques études réalisées sur la nutrition du *N. furzeri***

### **6.1. Conduite de l'expérimentation**

#### **6.1.1. Etude 1 (Graf et al., 2010)**

L'objet de l'étude était la différence de la croissance somatique en fonction du sexe. La souche MZM 04/10 a été maintenue à 26°C avec une photopériode de 12 heures par jour. Trois groupes expérimentaux ont été constitués à partir de la 5<sup>ème</sup> semaine. Le premier comprenait uniquement des mâles, le deuxième uniquement des femelles et le troisième des femelles et des mâles à proportions égales. La densité d'élevage était de 13 à 16 poissons par réservoir de 40 litres.

#### **6.1.2. Etude 2 (Blažek et al., 2013)**

L'étude était consacrée à la croissance, la maturité sexuelle et le temps de génération. Les auteurs ont comparé à cet effet deux souches de *N. furzeri* (MZCS 121 et 222) et deux autres souches de *N. kaldeci* (MZCS 91 et 430). L'expérience était réalisée suivant une photopériode de 14 heures d'éclairage et 10 heures d'obscurité.

Les larves ont éclos dans un bassin de 4 litres bien oxygéné à une température de 15°-17°C. Entre le deuxième et le septième jour, les larves ont été réparties dans des bassins de 4 litres à raison de 30 individus par bassin et maintenues à une température de 24,8-25,8°C. Entre le huitième et le dixième jour, les juvéniles ont été transférés dans des bassins de 60 litres pour un effectif de 30 individus par bassin. La température allait de 27°C à 28°C et a été maintenue jusqu'à la fin de l'expérience.

Dès la fin de la deuxième semaine jusqu'à la fin de la troisième, la densité a été réduite à 12 sujets, soient 4 mâles pour 8 femelles par bassin de 60 litres. A la fin de la sixième semaine, la densité est passée de moitié en gardant les mêmes proportions des mâles et des femelles pour des contenants de 60 litres. Cette démarche a été employée afin d'éviter le harcèlement sexuel masculin qui est intense et de se rapprocher de la densité de population à l'état sauvage.

#### **6.1.3. Etude 3 (Vrtilek & Reichard, 2014)**

Les auteurs ont travaillé sur le compromis d'allocation des ressources énergétiques entre la croissance et la reproduction en fonction de la disponibilité alimentaire. Après éclosion, les larves étaient maintenues dans des bassins de 4 litres pendant les 8 premiers jours post-éclosion. Ensuite, elles ont été réparties dans 10 bassins de 28 litres à raison de 60 sujets par bassin. Le 13<sup>ème</sup> jour, la densité des bassins a été réduite de moitié. Au 17<sup>ème</sup> jour, la densité a été ajustée à 20 poissons par aquarium. A la 4<sup>ème</sup> semaine, les poissons ont été transférés enfin dans 42 bassins de 28 litres de capacité. La densité était de 7 poissons par bassin, soit 5 femelles et 2 mâles. Chaque traitement comprenait 6 répliques. Les poissons étaient élevés à 27°C avec une photopériode de 14 heures de lumière et 10 heures d'obscurité.

#### **6.1.4. Etude 4 (Žák et al., 2019)**

Cette étude a porté sur la comparaison des performances de croissance et de reproduction du *N. furzeri* de la souche MZCS 222 en fonction du régime alimentaire. Après éclosion, les larves étaient élevées ensemble pendant les 12 premiers jours. Le 13<sup>ème</sup> jour, 2

groupes expérimentaux ont été constitués. Les juvéniles étaient réparties dans des bassins de 35 litres avec une densité de 30 individus par bassin. Chaque groupe expérimental comprenait 3 répliques. Entre le 15<sup>ème</sup> et 20<sup>ème</sup> jour, la densité a été réduite et variait entre 10 et 21 individus par bassin. Le 29<sup>ème</sup> jour, la densité a été uniformisée à 12 poissons par bassin, soit 4 mâles et 12 femelles. Le nombre des répliques a été revu à 4. La température durant l'expérience était de 27,1°C. La photopériode était de 14 heures de lumière et 10 heures d'obscurité.

## **6.2. Alimentation**

### **6.2.1. Etude 1 (Graf et al., 2010)**

Le régime alimentaire était le même pour tous les groupes expérimentaux. Les nauplii d'*Artemia sp.* ont été distribués au début de l'élevage avant le sevrage sur les larves des moustiques rouges (*Culex sp.*). Le nourrissage se faisait 2 à 3 fois par jour.

### **6.2.2. Etude 2 (Blažek et al., 2013)**

Le nourrissage se faisait à volonté. La première semaine, les larves ont été soumises aux nauplii d'*Artemia sp.*. A partir de la fin de la première semaine, les juvéniles étaient sevrés sur les larves de vers de vase (*Chironomus sp.*) vivants hachés en co-feeding avec du *Tubifex sp.* pendant 4 jours. Ce régime a été consommé dès lors jusqu'à la fin de l'expérience.

### **6.2.3. Etude 3 (Vrtilek & Reichard, 2014)**

Le nourrissage était à volonté. Les 2 premières semaines, les poissons étaient nourris avec les nauplii d'*Artemia spp.* à la fréquence de 3 fois par jour. A partir de la deuxième semaine est intervenu le sevrage en utilisant les larves vers de vase (*Chironomus sp.*) congelés et le nourrissage se faisait 2 fois par jour jusqu'à ce que l'expérience proprement dite commence, soit à l'âge de 4 semaines.

L'expérience comprenait 2 phases. Dans la première phase, il s'agissait de comparer 2 groupes, l'un nourri 2 fois par jour (ration suffisante) et l'autre 1 fois par jour (ration faible). Cette phase a duré 4 semaines. Pour la deuxième phase, soit la fréquence de nourrissage était maintenue (ration suffisante - ration suffisante) et (ration faible - ration faible), soit elle avait changé (ration suffisante - ration faible) et (ration faible - ration suffisante). Cette phase a duré 6 semaines et a conduit à la constitution de 4 groupes expérimentaux.

### **6.2.4. Etude 4 (Žák et al., 2019)**

Les auteurs ont testé deux régimes alimentaires. L'un était à base de pellette BioMar INICIO 0,4 mm ([www.biomar.com](http://www.biomar.com)) et l'autre à base des larves de vers de vase congelés. Les larves étaient nourries trois fois par jour uniquement avec les nauplii d'*Artemia sp.* (Sanders, USA, [www.gsla.us](http://www.gsla.us)) pendant 11 jours. A partir du 12<sup>ème</sup> jour, les juvéniles étaient nourries avec un supplément des larves de vers de vase (*Chironomus sp.*) dans un groupe et un supplément de pellette dans l'autre. Deux jours après, les nauplii d'*Artemia sp.* étaient supprimés et seuls les régimes expérimentaux étaient distribués jusqu'au 56<sup>ème</sup> jour, date de la fin de l'expérience. La fréquence de nourrissage a été revue à deux fois par jour à partir du 21<sup>ème</sup> jour. Durant toute l'expérience, le nourrissage se faisait à volonté.

### **6.3. Analyse des résultats**

#### **6.3.1. Etude 1 (Graf et al., 2010)**

Le logiciel GraphPad Prism version 5.03 a été utilisé pour les analyses statistiques. Une ANOVA à un facteur a été utilisée pour tester la différence entre les moyennes d'œufs pondus. Pour tester la différence entre les moyennes de taille et de masse des poissons, une ANOVA bidirectionnelle a été réalisée. Elle était accompagnée du test post hoc de Bonferroni.

#### **6.3.2. Etude 2 (Blažek et al., 2013)**

Les analyses statistiques visant l'évaluation des différences en rapport avec la taille des poissons et le nombre d'œufs pondus ont été réalisées en suivant la modélisation linéaire à effets mixtes (LME).

#### **6.3.3. Etude 3 (Vrtilek & Reichard, 2014)**

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 2.15.0. Le package « nlme » a été utilisé. L'ouvrage de Zuur et al. (2009) a servi à la sélection des modèles. L'identité du réservoir a été utilisée comme facteur aléatoire en faisant référence à Pinheiro & Bates (2000). Pour évaluer les différences en rapport avec la taille des poissons, la modélisation linéaire à effets mixtes (LME) a été choisie. Quant à l'analyse du nombre d'œufs matures, le modèle linéaire généralisé (GLM) a été utilisé.

#### **6.3.4. Etude 4 (Žák et al., 2019)**

Les données ont été analysées en se servant du logiciel R version 3.5.2. Un échantillon de 4 individus était prélevé aléatoirement dans chaque réservoir. Les différences de la taille et de la masse des poissons ont été évaluées en utilisant les LME.

### **6.4. Synthèse des résultats**

Le tableau 1 reprend la synthèse des résultats obtenus sur la croissance et la reproduction de *N. furzeri* suivant les différents régimes alimentaires utilisés en laboratoire.

Tableau 1 : Régimes alimentaires donnés au *N. furzeri* en laboratoire et résultats obtenus sur la croissance et la reproduction

Etude	Alimentation			Résultats				Références		
	Age post-éclosion (jr)	Régime	Fréquence (nbre de fois/jr)	Age post-éclosion (jr)	L (mm)	Masse (g)	Nombre d'oeufs			
1	-	Nauplii d' <i>Artemia sp.</i>	-	36-70	-	-	36.96±4.3 <sup>a</sup>	(Graf et al., 2010)		
	-	Sevrage sur larves de moustique rouge ( <i>Culex sp.</i> ) dès que les sujets ont atteint 15 mm	2-3		2.76±0.8 <sup>b</sup>					
2	1-6	Nauplii d' <i>Artemia sp.</i>	-	18	M : 37,9 <sup>c*</sup> F : 32,2 <sup>c*</sup> μ : 35,05 <sup>d*</sup>	-	2 <sup>*</sup>	(Blažek et al., 2013)		
	7-112	Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> ) en co-feeding avec le <i>Tubifex sp.</i>	2-3	21	-	-	24±5,5 <sup>c*</sup>			
				42	-	-	112±32,9 <sup>c*</sup>			
				63	F : 43,8 <sup>c*</sup>	-	120±44,5 <sup>c*</sup>			
	1-6	Nauplii d' <i>Artemia sp.</i>	-	19	M : 35,2 <sup>c**</sup> F : 29,0 <sup>c**</sup> μ : 32,1 <sup>d**</sup>	-	12 <sup>**</sup>			
	7-112	Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> ) en co-feeding avec le <i>Tubifex sp.</i>	2-3	21	-	-	13±6,5 <sup>c**</sup>			
				42	-	-	203±14,2 <sup>c**</sup>			
				63	F : 48,0 <sup>c**</sup>	-	244±15,8 <sup>c**</sup>			
	3	1-14	Nauplii d' <i>Artemia spp.</i>	3	56	F : 27,99±2,11	-		-	(Vrtilek & Reichard, 2014)
		15-28	Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2	98	F : 30,37±1,87	-		-	
29-98		Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2							
1-14		Nauplii d' <i>Artemia spp.</i>	3	56				F : 23,32±1,83		
15-28		Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2	98	F : 26,30±2,24	-	-			
29-98		Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	1							
1-14		Nauplii d' <i>Artemia spp.</i>	3					56	F : 23,32±1,83	
15-28		Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2	98	F : 30,37±1,87	-	-			
29-56		Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	1							
57-98		Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2							
1-14	Nauplii d' <i>Artemia spp.</i>	3	56	F : 27,99±2,11	-	-				

N°	Alimentation			Résultats				Références
	Age post-éclosion (jr)	Régime	Fréquence (nbre de fois/jr)	Age post-éclosion (jr)	L (mm)	Masse (g)	Nombre d'oeufs	
3	15-28	Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2	98	F : 27,99±2,11 <sup>e</sup>	-	-	(Vrtilek & Reichard, 2014)
	29-56	Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2					
	57-98	Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	1					
4	1-11	Nauplii d' <i>Artemia spp.</i>	3	56	$\mu$ : 41,72 <sup>f</sup>	1,81 <sup>f</sup>	-	(Žák et al., 2019)
	12-20	Sevrage sur larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	3					
	21-56	Larves de vers de vase ( <i>Chironomus sp.</i> )	2					
	1-11	Nauplii d' <i>Artemia spp.</i>	3	56	$\mu$ : 41,72 <sup>f</sup>	1,81 <sup>f</sup>	-	
	12-20	Sevrage sur pellette BioMar	3					
	21-56	Pellette BioMar	2					

Légende :

- a, b : le nombre d'œufs repris est la moyenne de chaque semaine à partir du 36<sup>ème</sup> jour. La moyenne des femelles élevées avec les mâles est symbolisée par a et celle des femelles élevées seules par b. Pour les autres expériences, la moyenne d'œufs se rapporte au jour repris dans le tableau.
- c : pour cette étude, c'est la longueur totale (LT) des poissons qui a été mesurée. Pour le reste des études, les mesures L correspondent à la longueur standard (LS).
- d : moyenne calculée à partir des deux valeurs précédentes (M et F). Elle ne figure pas dans l'article.
- e : cette valeur n'est pas reprise dans l'article. Cependant, les auteurs signalent qu'il n'y a pas eu de différence significative entre la moyenne du jour 56 et celle du jour 98.
- f : les valeurs ont été reprises pour l'étude dans son ensemble sans spécifier le groupe expérimental duquel elles proviennent. Toutefois, il n'y a pas eu de différence significative entre les 2 groupes expérimentaux.
- \* : résultats se rapportant à la souche MZCS 222
- \*\* : résultats se rapportant à la souche MZCS 121

## 6.5. Discussion

Le moment du sevrage des larves avec nauplii d'*Artemia sp.* et la teneur en protéine du nouveau régime influence la croissance du *N. furzeri*. Genade et al. (2005) recommande un sevrage le plus tôt possible car les nauplii d'*Artemia sp.* ne conviennent pas pour assurer une bonne croissance au *N. furzeri*. Il a besoin d'un régime beaucoup plus riche en protéine que les nauplii d'*Artemia sp.* C'est ainsi que les poissons sevrés au 12<sup>ème</sup> jour post-éclosion (JPE) sur les larves de *Chironomus sp.* (Žák et al., 2019) ont développé une croissance supérieure à ceux sevrés le 15<sup>ème</sup> JPE sur les larves de *Chironomus sp.* (Vrtilek & Reichard, 2014). Néanmoins, le manque des données sur la date de sevrage et la croissance des poissons sevrés sur les larves de *Culex sp.* (Graf et al., 2010) ne permet pas la comparaison avec ceux sevrés sur les larves de *Chironomus sp.* (Vrtilek & Reichard, 2014; Žák et al., 2019).

Toute proportion gardée, les poissons de l'étude de Blažek et al. (2013) sevrés le 7<sup>ème</sup> JPE présentent une taille supérieure à ceux sevrés le 15<sup>ème</sup> JPE (Vrtilek & Reichard, 2014). Les poissons sevrés le 12<sup>ème</sup> JPE sur les larves de *Chironomus sp.* (Žák et al., 2019) pourraient avoir une longueur supérieure à ceux sevrés le 7<sup>ème</sup> JPE sur les larves de *Chironomus sp.* en co-feeding avec le *Tubifex sp.*. Cette dernière comparaison montre qu'après le sevrage sur les larves de *Chironomus sp.*, un co-feeding avec le *Tubifex sp.* semble ne pas booster la croissance du *N. furzeri*.

Par ailleurs, excepté le fait que Blažek et al. (2013) ont utilisé la longueur totale pour la taille de leurs poissons, l'interprétation de leurs résultats présentent d'autres limites. En effet, l'échantillon utilisé était de petite taille et le choix des poissons mesurés était porté sur les plus gros. Shearer (2000) rappelle que dans les études scientifiques, les éléments d'analyse qui intéressent les chercheurs sont un design convenable de l'expérience, l'exactitude et la précision dans la collecte des données et l'analyse statistique suivant des méthodes et des modèles adéquats. La liaison entre ces différents éléments est telle que le mauvais choix d'une composante des composantes conduit à des fausses conclusions.

La fréquence de nourrissage ou mieux la RC a un effet sur la croissance du *N. furzeri*. Cette observation a été faite particulièrement chez les femelles (Vrtilek & Reichard, 2014). En effet, les femelles nourries une seule fois par jour (ration faible) présentent une croissance médiocre, une réduction de la taille des œufs et une diminution du taux de fécondité de 50 %. Cependant, une croissance accélérée est observée dès que cette fréquence est doublée (ration suffisante). Cette croissance est telle que, les femelles âgées de 28 JPE et nourries pendant 28 jours à la fréquence d'une fois par jour, puis pendant 42 jours à la fréquence de deux fois par jour, atteignent la même taille et le même poids à 98 JPE que celles nourries deux fois par jour dès l'âge de 28 JPE.

Ce phénomène est appelé croissance compensatoire. Elle se justifie par une hyperphagie. La croissance compensatoire est souvent occasionnée par une RC. Elle peut aussi être induite par des températures basses. C'est le cas des expériences réalisées sur le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*) et la morue franche (*Gadus morhua*) (Ali et al., 2003). La croissance compensatoire peut avoir des répercussions négatives sur la vie future du poisson, notamment sur la reproduction. Lee et al. (2012) l'ont observé sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*). Après avoir provoqué la croissance compensatoire par des températures basse et

élevée, les poissons ont tous présenté en moyenne une même taille et une même masse à l'âge de reproduction. Toutefois, la reproduction était sévèrement affectée suivant que la croissance compensatoire était courte. Pourtant, dans l'étude de Vrtilík & Reichard (2014) la croissance compensatoire n'a pas eu d'effet négatif sur la reproduction du *N. furzeri*.

Par ailleurs, les femelles de *N. furzeri* âgées de 56 jours JPE et précédemment nourries deux fois par jour, cessent de croître lorsque la fréquence de nourrissage est réduite à une fois par jour. Terzibasi et al. (2009) rapportent plutôt les effets de la RC sur la longévité et les risques liés au vieillissement chez le *N. furzeri*. Cette fois, l'étude consistait à nourrir les poissons 2 fois par jour et cela tous les 2 jours. Les poissons ainsi traités ont eu une durée de vie prolongée d'une semaine et demie.

D'après leur expérience, Blažek et al. (2013) affirment que le *N. furzeri* atteint sa maturité sexuelle au 18<sup>ème</sup> JPE, soit au début de la 3<sup>ème</sup> semaine post-éclosion (SPE). En ce moment, les femelles mesurent 32 mm et les mâles 38 mm de longueur totale. Ces observations ont été faites sur la souche MZCS 222. Quant à la souche MZCS 121, la maturité sexuelle est atteinte le 19<sup>ème</sup> jour. Les femelles mesurent 29 mm et les mâles 35 mm de longueur totale. Pour eux, la théorie de la maturité sexuelle à partir de la 4<sup>ème</sup> SPE semble être généralement anecdotique. Ils expliquent leurs résultats par le fait que les poissons utilisés dans l'étude étaient de génération F2 et non consanguins. Et qu'en plus, le rapport volume/individus était très élevé (Genade, 2005) et que c'étaient les gros sujets qui avaient servi d'échantillon pour évaluer le taux de croissance. Pourtant, à en croire d'autres travaux, la maturité sexuelle chez le *N. furzeri* ou du moins la certitude d'avoir des mâles et des femelles adultes a eu lieu respectivement au début de la 4<sup>ème</sup> SPE (Terzibasi et al., 2009; Vrtilík & Reichard, 2014) et de la 5<sup>ème</sup> SPE (Graf et al., 2010; Žák et al., 2019). Pour Polačik et al. (2016), la plage de la maturité sexuelle s'étend de la 4<sup>ème</sup> SPE à la 5<sup>ème</sup> SPE, conciliant ainsi les résultats de ces quatre derniers auteurs.

L'élevage des poissons suivant le sexe n'influence pas la croissance des mâles du *N. furzeri*. Par contre, il influence la taille des femelles et leur poids corporel. Les femelles élevées seules croissent plus que celles élevées avec les mâles. Leur taille est supérieure de 12, 15 et 9% respectivement pendant la 10<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup> et 20<sup>ème</sup> semaine post-éclosion. Quant au poids corporel, il était 25 à 39% supérieur à celui des autres femelles. Par ailleurs, les femelles élevées avec les mâles pondent de loin plus que celles élevées seules (Graf et al., 2010). La moyenne d'œufs pondus quotidiennement rapportée par Blažek et al. (2013) est sensiblement supérieure à la moyenne d'œufs hebdomadaires observée par (Graf et al., 2010). Cela pourrait s'expliquer par le co-feeding avec du *Tubifex sp.*. De plus, la souche MZCS 121 paraît plus prolifique que les autres souches.

## 7. Conclusion et perspectives

La nutrition constitue l'une des limites sur l'utilisation du *N. furzeri* comme animal modèle dans les études sur le vieillissement. Les laboratoires utilisant régulièrement des régimes alimentaires différents durant leurs expérimentations, il est difficile de comparer les résultats des études sur le *N. furzeri* sachant que suivant sa composition nutritionnelle, l'aliment influence la croissance, la reproduction et le vieillissement.

Il nous a alors semblé judicieux d'étudier l'effet de trois régimes alimentaires différents sur la croissance du *N. furzeri*. La situation sanitaire mondiale n'ayant pas favorisé la réalisation de cette étude, nous avons opté pour une étude bibliographique. Nous avons identifié les différents régimes alimentaires utilisés dans les études sur le *N. furzeri* et relevés leurs effets sur sa croissance, sa reproduction et son vieillissement. Pour ce faire, nous avons employé la méthode exploratoire et avons utilisé la technique documentaire.

Nos résultats rapportent que tout au plus durant ses deux premières semaines d'élevage, le *N. furzeri* est nourri avec les nauplii d'*Artemia sp.*. Pour le sevrage, les larves de *Culex sp.* ou celles de *Chironomus sp.* sont utilisées seules ou en co-feeding avec du *Tubifex sp.*. Dans une étude même, le sevrage s'est fait sur des pellettes. Un sevrage réalisé plus tôt est bénéfique pour une bonne croissance du *N. furzeri*. La RC appliquée pendant un mois après la maturité sexuelle induit une croissance compensatoire et ne perturbe pas la reproduction. L'élevage monosexé favorise la croissance des femelles au détriment de la reproduction.

D'autres études peuvent être menées suivant les différentes souches du *N. furzeri* afin de déterminer :

- la date (JPE) propice pour le sevrage des larves ;
- l'influence des régimes alimentaires sur la date (JPE) de maturité sexuelle et sur la fécondité en utilisant différents co-feeding possible ;
- l'effet de la RC sur la longévité suivant ces différents régimes ;

## Bibliographie

- Ali, M., Nicieza, A., & Wootton, R. J. (2003). Compensatory growth in fishes: A response to growth depression. *Fish and Fisheries*, 4(2), 147–190. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x>
- Barad, M. M., Bhatt, A. J., Singh, V., & Sarman, V. (2017). Live Feed-Importance, constrains and Future prospects in Aquaculture production system. *International Journal of Multidisciplinary Educational Research*, 6(8), 1–16.
- Berois, N., Garcia, G., & De Sá, R. O. (2017). A Global Community Effort to Decipher the Unique Biology of Annual Killifish. *Developmental Dynamics*, 246(11), 807–811. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24533>
- Blažek, R., Polačik, M., & Reichard, M. (2013). Rapid growth , early maturation and short generation time in African annual fishes. *EvoDevo*, 4(24), 1–7.
- Bureau, D. P., Kaushik, S. J., & Chao, C. Y. (2003). Bioenergetics. In *Fish nutrition* (pp. 1–59).
- Carrillo, A. E., & Flouris, A. D. (2011). Caloric restriction and longevity: effects of reduced body temperature. *Ageing Research Reviews*, 10(1), 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2010.10.001>
- Cellerino, A., Valenzano, D. R., & Reichard, M. (2016). From the bush to the bench : the annual *Nothobranchius* fishes as a new model system in biology. *Biological Reviews*, 91(2), 511–533. <https://doi.org/10.1111/brv.12183>
- Conceição, L. E., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S., & Dinis, M. T. (2010). Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 41(5), 613–640. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02242.x>
- Craig, S., Kuhn, D., & Schwarz, M. (2017). Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding Steven. *Virginia Cooperative Extention*, 1–6.
- D'Angelo, L. D. (2017). An aquatic organism as time machine : *Nothobranchius furzeri*. *J Gerontol Geriatr*, 66, 307–310.
- Dance, A. (2016). LIVE FAST , DIE YOUNG. *Nature*, 535, 453–455.
- Fontana, L. (2009). The scientific basis of caloric restriction leading to longer life. *Current Opinion in Gastroenterology*, 25(2), 144–150. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32831ef1ba>
- Fontana, L., & Klein, S. (2007). Aging, adiposity, and calorie restriction. *Journal of the American Medical Association*, 297(9), 986–994. <https://doi.org/10.1001/jama.297.9.986>
- Fontana, L., Partridge, L., & Longo, V. D. (2010). Extending healthy life span-from yeast to humans. *Science*, 328(5976), 321–326. <https://doi.org/10.1126/science.1172539>
- Furness, A. I. (2016). The evolution of an annual life cycle in killifish : adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews*, 91(3), 796–812. <https://doi.org/10.1111/brv.12194>
- Gatlin III, D. M. (2003). Nutrition and Fish Health. In *Fish nutrition* (Academic P, pp. 671–702).
- Genade, T. (2005). *Laboratory manual for culturing N. furzeri*. 1–16.
- Genade, T., Benedetti, M., Terzibasi, E., Roncaglia, P., Valenzano, D. R., Cattaneo, A., &

- Cellerino, A. (2005). Annual fishes of the genus *Nothobranchius* as a model system for aging research. *Aging Cell*, 4(July), 223–233. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2005.00165.x>
- Gerhard, G. S. (2007). Small laboratory fish as models for aging research. *Ageing Research Reviews*, 6, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.02.007>
- Graf, M., Cellerino, A., & Englert, C. (2010). Gender Separation Increases Somatic Growth in Females but Does Not Affect Lifespan in *Nothobranchius furzeri*. *PLoS ONE*, 5(8), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011958>
- Gunvor, Ø., Reitan, K. I., & Evjemo, J. O. (2011). Live feeds. In G. Joan Holt (Ed.), *Larval Fish Nutrition* (First Edit, pp. 307–334). John Wiley & Sons.
- Hasan, M. R. (2000). Nutrition and Feeding for Sustainable Aquaculture Development in the Third Millennium. *Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand*, 20, 193–219.
- Kim, Y., Nam, H. G., & Valenzano, D. R. (2016a). The short-lived African turquoise killifish : an emerging experimental model for ageing. *Disease Models & Mechanisms*, 9(2), 115–129. <https://doi.org/10.1242/dmm.023226>
- Kim, Y., Nam, H. G., & Valenzano, D. R. (2016b). The short-lived African turquoise killifish : an emerging experimental model for ageing. *Disease Models & Mechanisms*, 9(2), 115–129. <https://doi.org/10.1242/dmm.023226>
- Lee, W. S., Monaghan, P., & Metcalfe, N. B. (2012). The pattern of early growth trajectories affects adult breeding performance. *Ecology*, 93(4), 902–912. <https://doi.org/10.1890/11-0890.1>
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell*, 153(6), 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- Luna-Figueroa, J., Arce, E., Figueroa, J., & Archundia, M. (2019). Pre-adults mosquito in fish species feeding. *Int. J. of Aquatic Science*, 10(1), 55–59.
- Maleknejad, R., Sudagar, M., Azimi, A., & Shokrollahi, S. (2014). Comparative Study on the Effect of Different Feeding Regimes on Chironomid Larvae Biomass and Biochemical Composition. *Int. J. Adv. Biol. Biom. Res*, 2(4), 1274–1278.
- Maleknejad, R., Sudagar, M., Mazandarani, M., & Hosseini, S. A. (2014). Effect of Different Live Foods Source ( *Culex* Larvae , *Chironomus* Larvae and *Artemia* ) on Pigmentation of Electric Yellow Fish ( *Labidochromis Caeruleus* ). *Int J Adv Biol Biom Res*, 2(12), 2884–2890.
- Moatt, J. P., Fyfe, M. A., Heap, E., Mitchell, L. J. M., Moon, F., & Walling, C. A. (2019). Reconciling nutritional geometry with classical dietary restriction: Effects of nutrient intake , not calories , on survival and reproduction. *Aging Cell*, 18(1), e12868. <https://doi.org/10.1111/acel.12868>
- Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35(2), 83–108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>
- Pinheiro, J. C., & Bates, D. M. (2000). *Mixed-effects models in S and S-plus*. New York, Springer-Verlag. 530 pp.
- Piper, M. D. W., & Bartke, A. (2008). Diet and Aging. *Cell Metabolism*, 8(2), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.06.012>

- Platzer, M., & Englert, C. (2016). *Nothobranchius furzeri*: A Model for Aging Research and More. *Trends in Genetics*, 32(9), 543–552. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.06.006>
- Podder, R., Nath, S., Faggio, C., & Modak, B. K. (2018). A study on the growth and biomass of chironomus larvae in different food media. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 38(1), 20–25.
- Polačik, M., Blažek, R., & Reichard, M. (2016). Laboratory breeding of the short-lived annual killifish *Nothobranchius furzeri*. *Nature Protocols*, 11, 1396–1413. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.080>
- Polačik, M., & Reichard, M. (2010). Diet overlap among three sympatric African annual killifish species *Nothobranchius* spp . from Mozambique. *Journal of Fish Biology*, 77(3), 754–768. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02717.x>
- Radhakrishnan, D. K., AkbarAli, I., Schmidt, B. V., John, E. M., Sivanpillai, S., & Thazhakot Vasunambesan, S. (2020). Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture : An overview. *Aquaculture Research*, 51(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/are.14357>
- Reichard, M. (2015). The Evolutionary Ecology of African Annual Fishes. *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*, 133–158.
- Reichard, M., Blažek, R., Polačik, M., & Vrtílek, M. (2017). Hatching Date Variability in Wild Populations of Four Coexisting Species of African Annual Fishes. *Developmental Dynamics*, 246(11), 827–837. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24500>
- Reichard, M., & Polačik, M. (2019). *Nothobranchius furzeri* , an ' instant ' fish from an ephemeral habitat. *ELife*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7017167>
- Reichard, M., Polačik, M., & Sedláček, O. (2009). Distribution , colour polymorphism and habitat use of the African killifish *Nothobranchius furzeri* , the vertebrate with the shortest life span. *Journal of Fish Biology*, 74(1), 198–212. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02129.x>
- Reichard, M., Polačik, M., & Vrtílek, M. (2014). Female bias in the adult sex ratio of African annual fishes: interspecific differences, seasonal trends and environmental predictors. *Evolutionary Ecology*, 28(6), 1105–1120. <https://doi.org/10.1007/s10682-014-9732-9>
- Sargent, J., Bell, G., Mcevoy, L., Tocher, D., & Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 191–199.
- Shearer, K. (2000). Experimental design , statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish : a critical review. *Aquaculture Nutrition*, 6(2), 91–102.
- Shoveller, A. K., Mcknight, L. M., Wood, K. M., & Cant, J. P. (2018). Lessons from animal nutritionists: Dietary amino acid requirement studies and considerations for healthy aging studies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1418(1), 20–30. <https://doi.org/10.1111/nyas.13546>
- Siepmeyer, A., Micka, A., Simm, A., & Bernhardt, J. (2016). Nutritional biomarkers of aging. In *Molecular Basis of Nutrition and Aging* (pp. 109–120). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801816-3.00008-X>
- Speakman, J. R., & Mitchell, S. E. (2011). Caloric restriction. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(3), 159–221. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.07.001>
- Sulistiyarto, B. (2018). Culture of bloodworm ( Chironomid larvae : Diptera ) using North African catfish *Clarias gariepinus* waste as feed. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 11(2), 476–481.

- Sulistiyarto, B., Christiana, I., & Yulintine. (2014). Developing production technique of bloodworm ( Chironomidae larvae ) in floodplain waters for fish feed. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 6(4), 39–45. <https://doi.org/10.5897/IJFA2013.0402>
- Terzibasi, E., Lefrançois, C., Domenici, P., Hartmann, N., & Graf, M. (2009). Effects of dietary restriction on mortality and age-related phenotypes in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*. *Aging Cell*, 8(2), 88–99. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2009.00455.x>
- Thongprajukaew, K., Pettawee, S., Muangthong, S., Saekhow, S., & Phromkunthong, W. (2019). Freeze - dried forms of mosquito larvae for feeding of Siamese fighting fish ( *Betta splendens* Regan , 1910 ). *Aquaculture Research*, 50(1), 296–303. <https://doi.org/10.1111/are.13897>
- Valdesalici, S., & Cellerino, A. (2003). Extremely short lifespan in the annual fish *Nothobranchius furzeri* Extremely short lifespan. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl\_2), S189–S191. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0048>
- Valenzano, D. R., Singh, P. P., Beyer, A., Johnson, E. A., & Brunet, A. (2015). The African Turquoise Killifish Genome Provides Insights into Evolution and Genetic Architecture of Resource The African Turquoise Killifish Genome Provides Insights into Evolution and Genetic Architecture of Lifespan. *Cell*, 136(6), 1539–1554. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.008>
- Villa, F., Spinelli, C. C., & Puca, A. A. (2016). Diet and longevity phenotype. In *Molecular Basis of Nutrition and Aging* (pp. 31–39). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801816-3.00004-2>
- Vrt, M., & Reichard, M. (2016). Female fecundity traits in wild populations of African annual fish: the role of the aridity gradient. *Ecology and Evolution*, 6(16), 5921–5931. <https://doi.org/10.1002/ece3.2337>
- Vrtilek, M., & Reichard, M. (2014). Highly plastic resource allocation to growth and reproduction in females of an African annual fish. *Ecology of Freshwater Fish*, 24(4), 616–628. <https://doi.org/10.1111/eff.12175>
- Vrtílek, M., Reichard, M., & Jakub, Ž. (2019). Rapid growth and large body size in annual fish populations are compromised by density-dependent regulation. *Journal of Fish Biology*, 95(2), 673–678. <https://doi.org/10.1111/jfb.14052>
- Wourms, J. P. (1972). DURATION IN THE EGGS OF ANNUAL FISHES '. *Journal of Experimental Zoology*, 182(3), 389–414.
- Žák, J., Iva, D., & Reichard, M. (2019). Performance of Turquoise killifish, model organism in aging, on commercial pelleted diet: a step towards husbandry standardization. *BioRxiv*, 1–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1101/770479>
- Žák, J., Vrtílek, M., & Reichard, M. (2019). Diel schedules of locomotor , reproductive and feeding activity in wild populations of African annual killifish. *Biological Journal of the Linnean Society*, 128(2), 435–450.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. New York: Springer. 574 pp.