

EFFETS DE LA TEMPERATURE SUR LA FECONDATION ET LA SURVIE DES GAMETES CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL

Salmo Gairdneri

R. BILLARD, C. GILLET

Institut National de la Recherche Agronomique
Laboratoire de Physiologie des Poissons
78350 JOUY-EN-JOSAS France

RESUME

Les températures supportables par les gamètes de truites arc-en-ciel ont été définies par expérimentation *in vitro*. Après prélèvement sur des géniteurs élevés à la température de 10-12° C, les gamètes ont été dilués et exposés à différentes températures (1 à 20 °C pour les ovules et 0 à 30 °C pour le sperme) pendant 20 ou 40 minutes avant insémination. Les effets de différents niveaux thermiques appliqués au moment de l'insémination ont aussi été testés.

Lorsque les spermatozoïdes sont mis en mouvement après dilution dans le dilueur d'insémination (D.I) ils conservent leur pouvoir fécondant plus longtemps à 0 et 5 °C qu'à 10 et 15 °C. Si les spermatozoïdes sont maintenus immobiles après dilution dans le Milieu Minéral de Liquide Séminal (MMLS) riche en K⁺, le pouvoir fécondant est significativement diminué à 20 °C et dans certains cas à 15 °C (Figures 1 et 3). En ce qui concerne les ovules, après 40 minutes d'exposition la fécondabilité n'est bien conservée qu'à 1 et 5° C.

Au moment de l'insémination les températures les plus favorables se situent entre 5 et 15 °C. A 1° C, 20 °C et au-delà, le taux de fécondation est diminué d'autant plus que la dilution est plus forte.

INTRODUCTION

Dans le but de définir les limites thermiques supportables par les gamètes lors de la reproduction dans un environnement naturel et les conditions optimum de température à respecter lors de l'insémination artificielle, les ovules et le sperme de Truite arc-en-ciel ont été soumis à différents niveaux thermiques avant et après l'insémination.

MATERIEL ET METHODES

Les géniteurs âgés en moyenne de 3 ans et stockés au laboratoire depuis 1 à 2 mois à la température de 10 à 12 °C proviennent de la pisciculture KAUFMANN. Les expériences se sont déroulées entre novembre et janvier. La procédure expérimentale était la suivante :

1) Effets sur la survie des gamètes

Après leur collecte les ovules et le sperme sont adaptés aux températures expérimentales progressivement en 20 minutes, puis sont dilués dans les conditions suivantes :

— **le sperme** est dilué dans le dilueur d'insémination (D.I) (PETIT *et al.*, 1973) ou le Milieu Minéral de Liquide Séminal (MMLS) (BILLARD et JALABERT, 1974). Dans le D.I les spermatozoïdes deviennent immédiatement mobiles et les effets de la température portent alors sur la survie des spermatozoïdes en mouvement. Dans le MMLS, qui est riche en K^+ , les spermatozoïdes sont immobilisés et les effets de la température portent dans ce cas sur la survie des spermatozoïdes maintenus immobiles. Le taux de dilution du sperme varie entre 10^{-1} et 10^{-5} (soit 1 ml à 0,1 μ l de sperme dans 10 ml de dilueur et pour environ 200 ovules). Les températures testées sont 0, 5, 10, 15 et 20 °C.

— **les ovules** sont dilués dans le D.I (environ 200 ovules dans 10 ml). Les gamètes ainsi dilués sont exposés aux différentes températures (1, 5, 10, 15 et 20 °C) pendant des temps croissants (entre 1 et 20 ou 40 minutes). Ils sont ensuite ramenés à une température standard qui sera la température d'incubation (10 °C) pendant 20 minutes ; l'insémination est alors pratiquée selon le plan : sperme ou ovules dilués et soumis aux températures expérimentales x sperme ou ovules non dilués et maintenus à la température ambiante (10 °C).

L'insémination est pratiquée directement dans le milieu d'exposition D.I ou MMLS. Lorsque la dilution est faite dans le MMLS, le système de double dilution (BILLARD et JALABERT, 1974) est utilisé lors de l'insémination.

2) Effets de différents niveaux thermiques appliqués lors de l'insémination sur le taux de fécondation.

Comme dans le cas précédent, les gamètes sont progressivement adaptés en 20 minutes aux températures expérimentales comprises entre 1 et 30 °C. L'insémination est alors pratiquée avec le D.I. préalablement amené aux mêmes températures.

3) Les conditions d'incubation et appréciation de l'effet des traitements.

Pendant les 15 minutes qui suivent l'insémination, les œufs sont laissés à la température ambiante de la salle d'incubation (10 °C), puis sont transférés dans les incubateurs où l'eau est thermorégulée à 10 °C. Après ces 15 minutes de stabilisation, les œufs des lots dont les températures sont les plus extrêmes (1 à 20 °C) ne peuvent pas atteindre la température de 10 °C, de sorte qu'ils subissent nécessairement un choc thermique lors du passage dans l'eau des incubateurs. Afin d'apprécier d'éventuels effets dus à ce choc thermique, une même série expérimentale a été incubée à 10 °C comme décrit ci-dessus, à 6 °C (pour les traitements à 0, 5 et 10 °C), et à 15 °C (pour les traitements à 10, 15 et 20 °C). Les traitements sont appréciés par le pourcentage d'œufs embryonnés observés au 10^e jour d'incubation. Les œufs, d'ailleurs peu nombreux, qui présentaient, à 10 jours, un début de développement, ont été comptés, ce qui représente une approche du pourcentage de fécondation.

RESULTATS

Effets de la température sur les gamètes

— **Le sperme** : Lorsque le sperme est dilué au taux de 10^{-3} dans le D.I le pouvoir fécondant est conservé à son niveau initial pendant une minute à 0°C

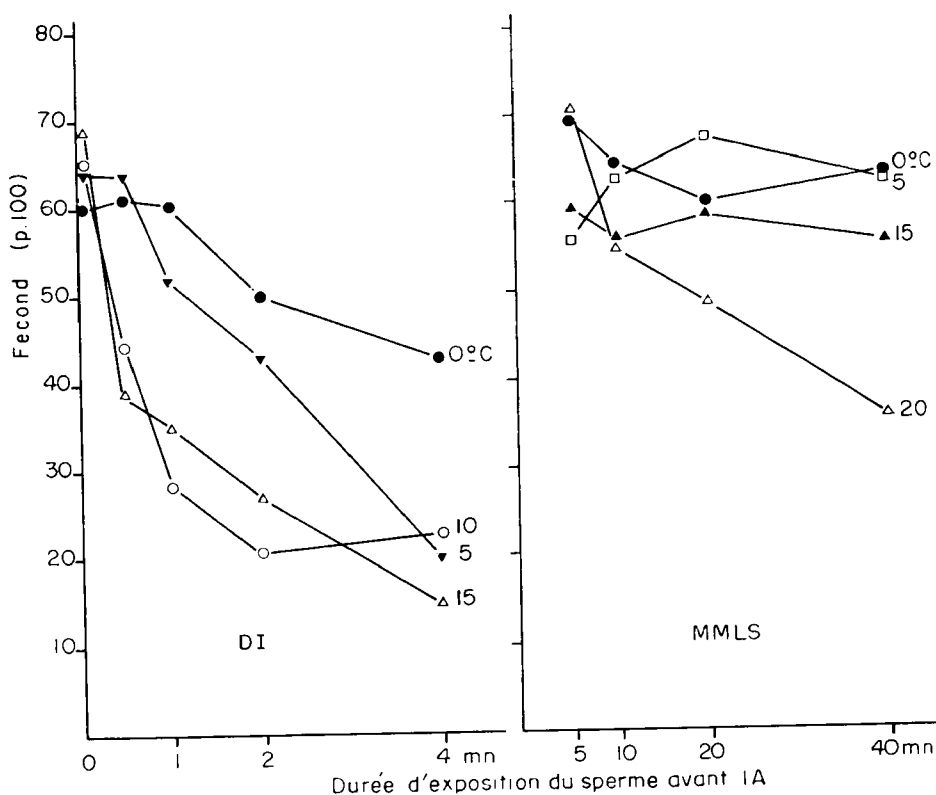


Figure 1 : Effet de l'exposition du sperme à différentes températures avant insémination sur le pourcentage de fécondation (apprécié par le pourcentage d'œufs embryonnés à 10 jours). Le sperme est dilué dans le DI (spermatozoïdes mobiles) ou dans le MMLS (spermatozoïdes immobiles).
Dilution du sperme : 10^{-3}

et 30 secondes à 5°C (figure 1). Aux températures de 10 et 15°C le pouvoir fécondant est significativement diminué dès la 30^e seconde de dilution. Après 4 minutes d'exposition le pouvoir fécondant n'est que légèrement diminué à 0°C alors qu'il a fortement décliné pour les autres températures testées. Avec des taux de dilution croissants et pour des durées d'exposition plus longues (figure 2), on note que le pouvoir fécondant peut être maintenu au moins partiellement pendant 40 minutes à la dilution 10^{-1} aux températures de 1, 5 et 10°C . A 15 et 20°C la fécondabilité a fortement diminué ; la même évolution se manifeste à la dilution de 10^{-2} . A 20°C , à la dilution de 10^{-3} , aucune fécondation n'est observée après une durée de dilution d'une minute.

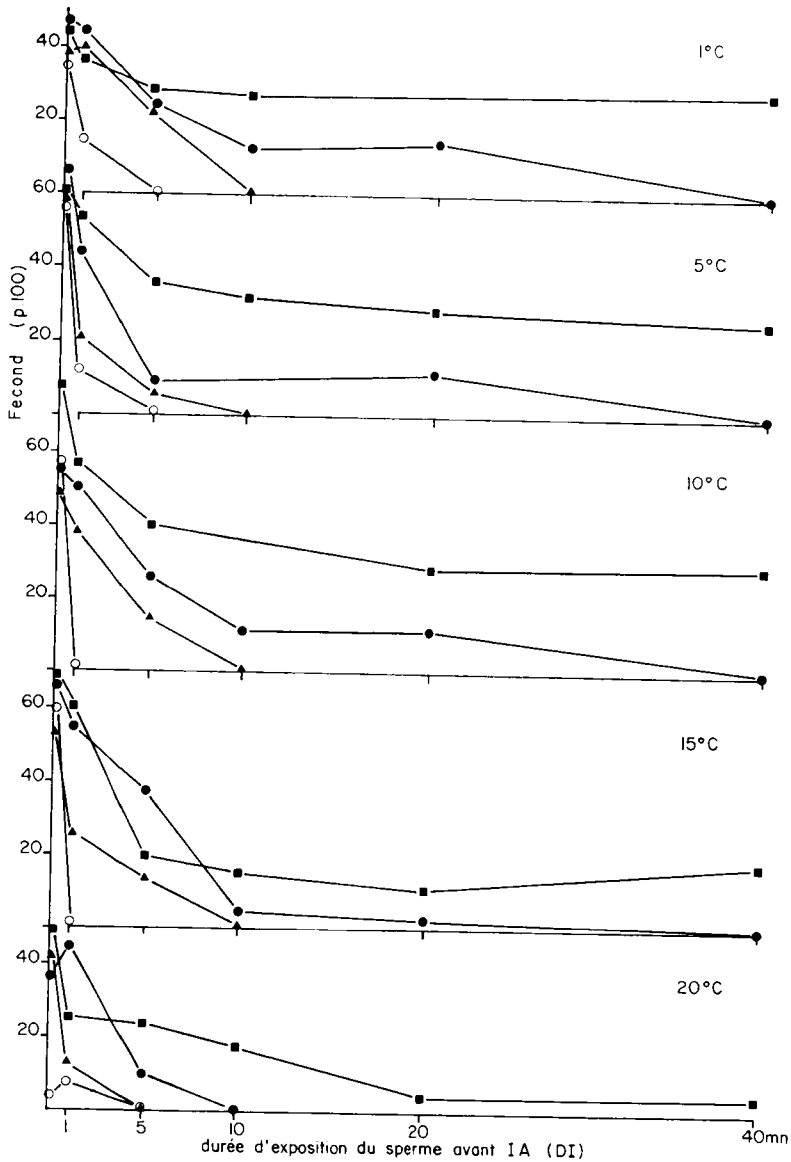


Figure 2 : Evolution du pouvoir fécondant du sperme soumis à différentes températures pendant des durées croissantes.

Dilution : ■ 10⁻¹ ; ● 10⁻² ; ▲ 10⁻³ ; ○ 10⁻⁴

Après dilution à 10⁻³ dans le MMLS la survie du sperme se maintient à son niveau initial pendant 40 minutes pour les températures de 0 à 15 °C, alors qu'elle diminue significativement si l'exposition est faite à la température de 20 °C (figure 1). Dans certains cas, cependant, et pour la même dilution, le pouvoir fécondant s'abaisse au-delà de la 10^e minute aux températures de 10 et 15 °C, et à 20 °C se trouve diminué dès la première minute d'exposition

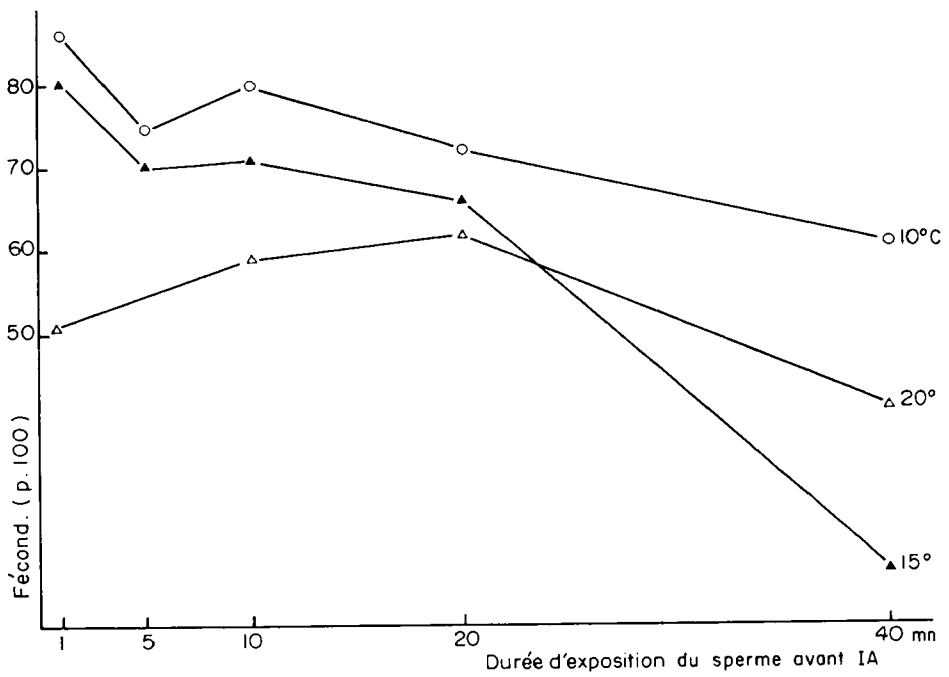


Figure 3 : Evolution du pourcentage de fécondation après exposition du sperme dilué dans le MMLS à des températures de 10, 15 et 20 °C.
Dilution du sperme : 10^{-3}

(figure 3). D'autres expériences ont montré que le taux de dilution pouvait interférer avec les effets de la température ; après 20 minutes d'exposition à la température de 20 °C on observe des fécondations à la dilution de 10^{-1} , alors que le pouvoir fécondant est complètement perdu à 10^{-2} (figure 4). Dans l'expérience rapportée dans la figure 5, après 40 minutes d'exposition, le pouvoir

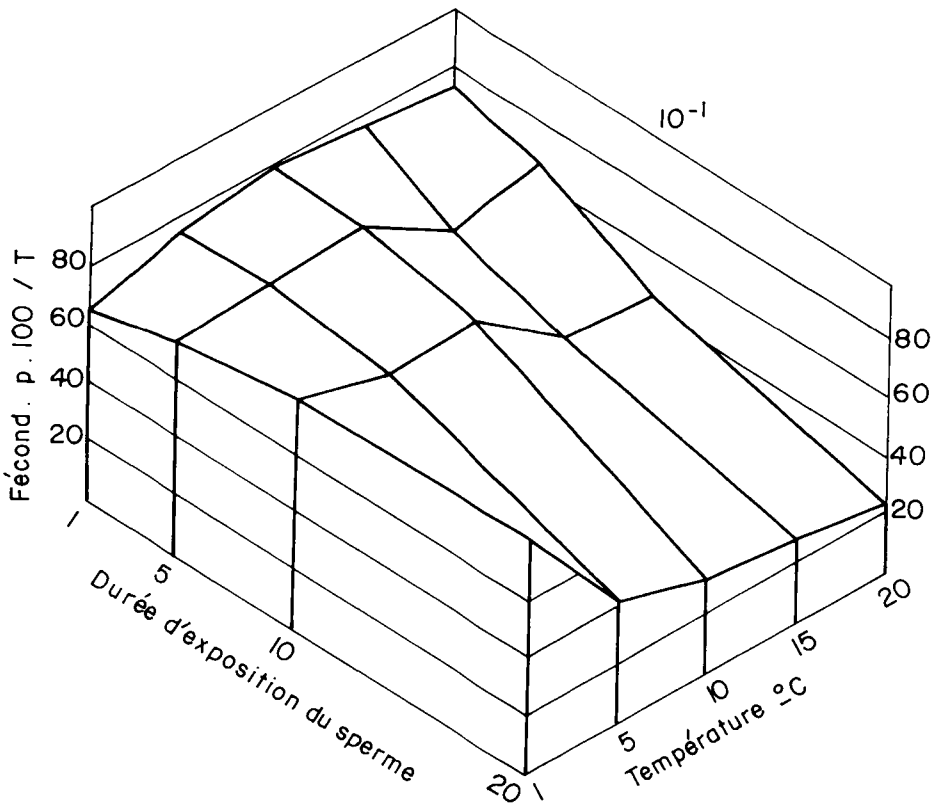
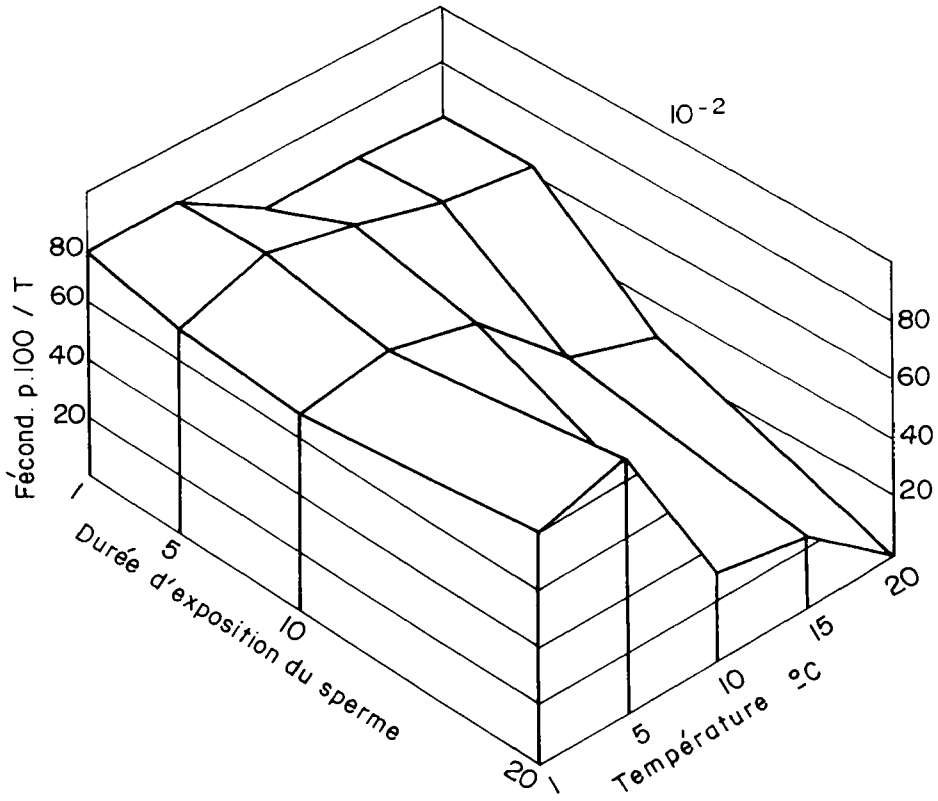


Figure 4 : Evolution du pourcentage de fécondation (exprimé en p. 100 par rapport aux témoins inséminés à 10 °C) en relation avec la durée et la température d'exposition du sperme dilué dans le MMLS avant insémination.
Taux de dilution : 10^{-1} et 10^{-2}



fécondant commence à diminuer au-delà de 15 °C à 10⁻³ et de 20 °C à 10⁻² ; à 25 °C à 10⁻¹ le pouvoir fécondant est maintenu à son niveau initial.

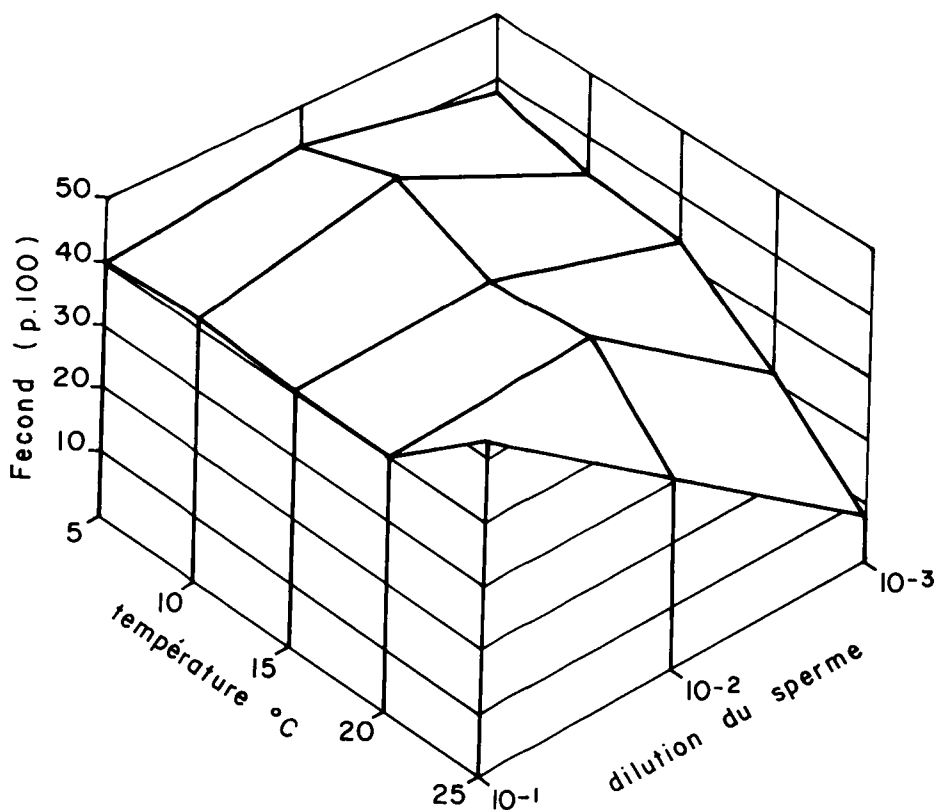


Figure 5 : Pouvoir fécondant du sperme dilué dans le MMLS après 40 min. d'exposition avant insémination à des températures croissantes et pour des taux de dilution de 10⁻¹, 10⁻² et 10⁻³

— **Les ovules** : La fécondabilité des ovules exposés aux différentes températures expérimentales diminue rapidement à 15 et 20 °C. Après 40 minutes le niveau de fertilité des ovules n'est bien conservé qu'aux températures de 1, 5 et 10 °C (figure 6).

Les expériences destinées à vérifier les effets du choc thermique lors des transferts aux températures expérimentales et passage à la température d'incubation ont montré que ces effets étaient négligeables.

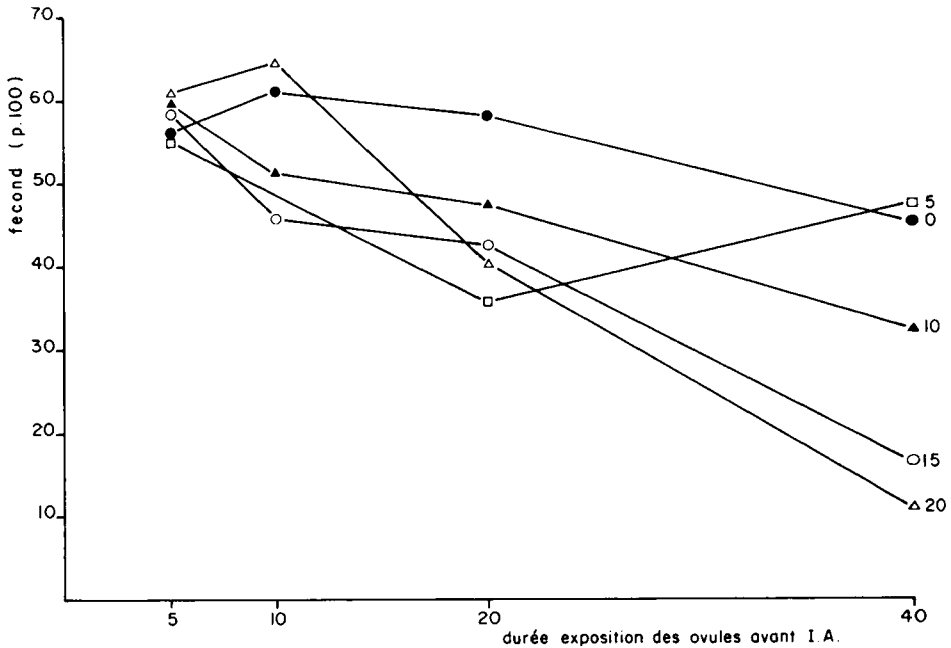


Figure 6 : Evolution de la fécondabilité des ovules dilués dans le DI et exposés avant insémination à des températures comprises entre 1 et 20 °C.

Effets de la température d'insémination sur le taux de fécondation.

Lorsque l'insémination est pratiquée dans une gamme de températures allant de 1 °C à 30 °C, il apparaît que le taux de fécondation obtenu entre 5 et 15 °C est meilleur qu'à 1 °C, 20 °C et au-delà (figure 7). A 1 et 20 °C, les pourcentages de fécondation sont significativement diminués ($P < 0,05$) (figure 7). Les effets de la température apparaissent d'autant plus nettement que

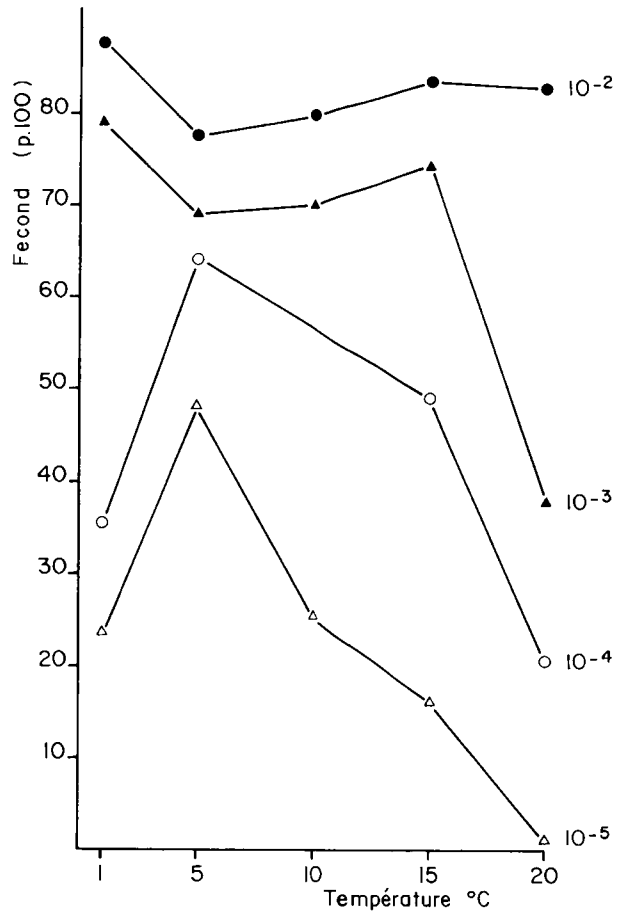


Figure 7 : Effet de la température d'insémination sur le taux de fécondation.
Taux de dilution : ■ 10⁻² ; ● 10⁻³ ; ▲ 10⁻⁴ ; ○ 10⁻⁵

la dilution est plus forte. En effet, l'effet du taux de dilution déjà visible sur la figure 7 apparaît plus nettement dans le cas de l'expérience rapporté dans la figure 8 ; aux fortes dilutions 10⁻⁴ et 10⁻⁵, le pourcentage maximum de fécondation

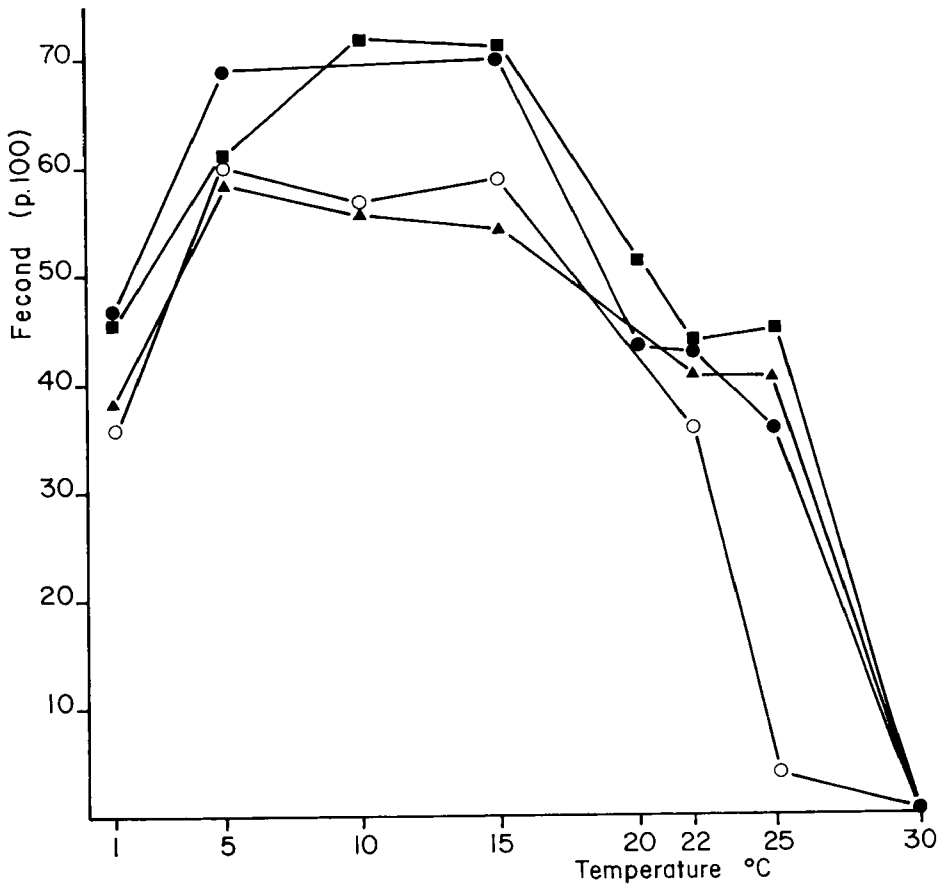


Figure 8 : Effets de la température d'insémination sur le taux de fécondation. Dans cet essai, le sperme du mâle utilisé s'est révélé beaucoup plus sensible à la dilution que dans le cas de la figure 7.

est obtenu à 5 °C. D'une façon générale le taux de fécondation est fortement diminué au-delà de 20 °C, mais ne devient nul qu'à la température de 30 °C.

DISCUSSION

La température à laquelle se déroule l'insémination est susceptible d'affecter le pourcentage de fécondation des œufs de Truite arc-en-ciel. Les températures optimum auxquelles doivent se trouver les gamètes et le dilueur lors de l'insémination se trouvent comprises entre 5 et 15 °C. Dans le cas de certains géniteurs, et dans des conditions limites, par exemple aux fortes dilutions, il semble que les températures les plus basses soient les plus favorables. L'effet défavorable des températures voisines de 0 °C rencontré dans la plupart des expériences ne semble pas devoir être attribué au choc thermique lors du passage de 1 à 10 °C. Il se pourrait que les effets défavorables des basses températures, notés chez les Salmonidés par PETRENKO (communication personnelle) et COMBS (1965) au début du développement embryonnaire, se mani-

festent dès la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule. Au-delà de 15 °C le pourcentage de fécondation est diminué, mais ce n'est qu'à 30 °C que la fécondabilité est totalement inhibée.

L'examen des effets de la température appliquée sur les gamètes avant la fécondation montre que les ovules sont plus sensibles à la température que les spermatozoïdes, lesquels peuvent supporter au moins aux faibles dilutions des températures de 25 °C. Les résultats de la figure 1 semblent montrer qu'à la température de 0 °C la durée de motilité des spermatozoïdes dilués à 10^{-3} dans D.I est prolongée. Aux dilutions plus faibles, 10^{-2} et 10^{-1} , la conservation du pouvoir fécondant du sperme pendant 20 ou 40 minutes est vraisemblablement due au fait que les spermatozoïdes ne sont pas tous mis en mouvement par la dilution. On se trouve alors ramené à la conservation de la survie des spermatozoïdes restés immobiles comme dans le cas de la dilution avec le MMLS. Les différences observées entre les expériences proviennent vraisemblablement de variations individuelles dans les qualités des gamètes ; il semble en effet que la résistance à la dilution varie d'un animal à l'autre et diminue au cours de la saison de reproduction (données non publiées). Il est difficile, à partir de ces résultats, d'attribuer les effets observés directement à la température elle-même ou aux variations des teneurs en oxygène qui en découlent, mais en ce qui concerne la fécondation, il semble que les besoins en oxygène soient faibles, car dans des milieux appauvris en oxygène par barbotage d'azote, il est possible d'obtenir des fécondations (BILLARD, non publié).

Plusieurs auteurs (HAMOR, 1966 ; TURDAKOV, 1971) ont déjà constaté que la survie des spermatozoïdes décroît lorsque la température augmente, mais le seuil thermique à partir duquel la motilité présente une chute brutale est relativement élevé par rapport à la température léthale de l'espèce (45 °C chez la Truite arc-en-ciel, HAMOR, 1966 ; 44 °C chez la Carpe, TURDAKOV et AMINOVA, 1973). Dans la présente expérience, il n'y a pas de fécondation à 30 °C, mais cela peut être le fait des ovules dont nous avons vu qu'ils étaient plus thermosensibles. Les températures élevées sont également défavorables à la conservation du sperme (HIROI *et al.*, 1973). Il ressort que la gamme des températures que peuvent supporter les gamètes de Salmonidés est beaucoup plus large que celle que peut tolérer le développement embryonnaire : 7 à 10 °C pour la Truite arc-en-ciel (KWAIN, 1975), maximum de 10 °C pour le Saumon de fontaine (HOKANSON *et al.*, 1973).

Parmi les autres espèces sur lesquelles nous disposons d'informations, soulignons les résultats de MAY (1975) qui note chez *Bairdiella icistia* des fécondations dans une large gamme de températures : 18 - 30 °C, alors que les fécondations optimum pour le développement embryonnaire seraient plus étroites (21 - 27 °C).

REMERCIEMENTS

L'entretien des animaux et la surveillance des installations ont été assurés par B. BONICEL et D. MORDELET. Joëlle MARQUEFAVRE a effectué les comptages d'œufs embryonnés. Ce travail a été effectué dans le cadre d'un contrat de recherche supporté par la C.E.E. et l'E.D.F.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BILLARD R., JALABERT B., 1974. L'insémination artificielle de la Truite (*Salmo gairdneri* Richardson). II - Comparaison des effets de différents dilueurs sur la conservation de la fertilité des gamètes avant et après insémination. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 14, 601-610.
- COMBS B.D., 1965. Effect of temperature on the development of *Salmo* eggs. Progress. Fish. Cult., 27, 134-137.
- HAMOR T., 1966. A study of the genital products of the brown trout *Salmo trutta* and *Salmo irideus* Gibbons. Magyar Allatani Kozlony, 43, 63-68.
- HIROI O., MASUKAWA M., SUETAKE T., 1973. Studies on the retention of gametes in Salmonid Fishes. 2 - On the storage of Chum Salmon (*Onchorynchus Keta*) sperm. Scient. Rep. Hokkaido Salmon Hatchery, 27, 39-44.
- HOKANSON K.E.F., Mc CORMICK J.H., JONES B.R., TUCKER J.H., 1973. Thermal requirements for maturation, spawning and embryo survival of the brook trout *Salvelinus fontinalis*. J. Fish. Res. Bd. Can., 30, 975-984.
- KWAIN W.H., 1975. Embryonic development, early growth and meristic variation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to combinations of light intensity and temperature. J. Fish. Res. Bd. Can., 32, 397-402.
- MAY R.C., 1975. Effects of temperature and salinity on fertilization, embryonic development, and hatching in *Bairdiella icistia* (Pisces : Sciænidæ), and the effect of parental salinity acclimation on embryonic and larval salinity tolerance. Fish. Bull. 73, 1-22.
- PETIT J., JALABERT B., CHEVASSUS B., BILLARD R., 1973. L'insémination artificielle de la Truite (*Salmo gairdneri* Richardson). Ann. Hydrob., 4, 201-210.
- TURDAKOV A.F., 1971. Influence de la température sur la vitesse de déplacement et le pouvoir fécondant des spermatozoïdes de quelques poissons du lac Issyk Kul (en russe). Vopr. Ichtiol., 11, 240-247.
- TURKADOV A.F., AMINOVA N.A., 1973. A study of the heat resistance in sperm of some species of some fishes. Vopr. Ichtyol., 13, 238-244.

SUMMARY

Temperatures susceptibility of rainbow trout gametes was defined following *in vitro* experimentation. Brood stock reared at 10-12°C were handstripped and gametes were diluted and submitted to various temperatures (1 to 20 °C for ova and 0 to 30 °C for sperm) for 20 or 40 min. before insemination. Effects of various temperatures at the time of artificial insemination were also investigated.

When spermatozoa are diluted in the Diluent for Insemination (DI) (in which they are motile) fertilizing ability is better maintained at 0 and 5 °C than at 10 and 15 °C. If spermatozoa are kept immobile (after dilution in MMLS enriched in K⁺) fertilizing ability is significantly decreased at 20 °C (fig. 1) and sometimes at 15 °C (fig. 3). Following 40 min. exposure to the experimental temperature fertilization of ova was maximally maintained only at 1 and 5 °C.

At the time of insemination, the most favourable temperatures are located between 5 and 15 °C. At 1 °C, 20 °C and higher the percentage of fertilization is reduced especially when the rate of dilution is high.