

EFFET DE L'AGITATION DES OVULES ET DES ŒUFS DE TRUITE ARC EN CIEL SUR LA FECONDABILITE ET LE DEBUT DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

R. BILLARD

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

RESUME

Des ovules frais et des œufs inséminés ont été soumis à agitation mécanique pendant 2 jours afin de reproduire expérimentalement les conditions d'un transport.

L'agitation d'ovules non fécondés provoque une diminution significative de leur fécondabilité par rapport aux témoins non agités. Mais ces derniers présentent de leur côté une chute rapide de fécondabilité au-delà de la 6^e heure. Dans le cas le plus favorable : dilution dans le liquide coelomique, la fécondabilité était réduite d'environ 1/3 par rapport au témoin de départ (fig. 1). L'agitation d'œufs inséminés, laissés dans le dilueur d'insémination (D.I.), n'a pas modifié le pourcentage d'œufs embryonnés relevé après 16 jours d'incubation. Cependant ce dernier diminue fortement après une durée de conservation des œufs dans le D.I. de plus de 60 min (fig. 2). Des œufs inséminés, durcis après séjour de 1 heure dans l'eau courante, peuvent être agités à sec et en atmosphère humide pendant 40 heures sans que le développement embryonnaire ultérieur n'en soit affecté. Par contre, l'agitation dans l'eau provoque au-delà de la 20^e heure une diminution significative ($P < 0,001$) du pourcentage d'œufs embryonnés par rapport aux témoins laissés dans l'eau sans agitation.

INTRODUCTION

Les possibilités de transport des ovules ou des œufs immédiatement après fécondation sont du plus haut intérêt dans la pratique piscicole, soit en vue de l'insémination avec des gamètes prélevés en des lieux différents, soit dans le cas où le lieu d'incubation est éloigné de la source de géniteurs. Dans le présent travail, les ovules ou les œufs de Truite arc-en-ciel sont placés sur un agitateur mécanique pendant des durées variables, ce qui est supposé simuler les effets d'un transport.

MATERIEL ET METHODES

Les géniteurs en provenance de la pisciculture Kaufmann sont stockés au laboratoire, en eau recyclée à la température de 10-12° C. Les expériences se sont déroulées en janvier ; les ovules sont prélevés sur des femelles ayant ovulé dans les 2 semaines précédentes. Après insémination, pratiquée dans le dilueur d'insémination (dilution 10⁻³) et traitement, les œufs sont transférés en eau douce thermorégulée à 10° C en incubateurs compartimentés.

Après 16 jours d'incubation les œufs sont fixés au liquide de Stockard avec établissement du pourcentage d'œufs embryonnés.

L'agitation des œufs est réalisée en chambre thermorégulée à 10° C sur un agitateur linéaire (agitateur GLF, Touzart et Matignon), développant 2 déplacements aller-retour de 3 cm par seconde.

Agitation des ovules avant insémination

Après prélèvement les ovules sont séparés du liquide coelomique et répartis par lots d'environ 200 en petits cristallisoirs recouverts de papier aluminium. Trois lots expérimentaux sont agités : à sec (1), en suspension dans 10 ml de liquide coelomique (2), ou dans 10 ml de dilueur d'insémination (D.I.) (3).

La durée de l'agitation varie entre 0 (témoin départ) et 48 h après quoi les ovules sont inséminés avec du sperme frais. Trois lots témoins correspondants sont laissés sans agitation dans les mêmes conditions de milieu et inséminés après 48 h.

Agitation des œufs après insémination

— **Œufs non durcis** », maintenus dans le dilueur d'insémination.

Après insémination, les œufs sont laissés dans le D.I. (10 ml et environ 200 œufs par lot), puis soumis à agitation. Après 2, 15, 30, 60, 110 et 180 min., un lot est transféré en eau douce. Dans la série témoin les œufs ne sont pas soumis à agitation.

— **Œufs « durcis »**

Les œufs inséminés sont immédiatement transférés en eau douce où ils sont laissés une heure, période pendant laquelle le « durcissement » de la coque (*zona radiata*) se produit. Les œufs ainsi traités sont répartis comme dans les cas précédents par lots de 200 en 2 séries expérimentales dans lesquelles les œufs sont laissés à sec (1) ou placés dans 10 ml d'eau douce (2), tout en subissant une agitation qui varie entre 0 et 50 h. Dans les séries témoin correspondantes, les œufs sont laissés sans agitation, puis transférés après 50 h. dans les incubateurs.

RESULTATS

Effets de l'agitation des ovules non fécondés (fig. 1)

Dans tous les cas, que les ovules soient agités ou non, on observe après 48 heures une diminution du pourcentage d'œufs embryonnés. L'agitation proprement dite n'a un effet significatif sur la diminution de la fécondabilité des ovules qu'au-delà de la 12^e heure dans le cas des ovules « secs » ($P < 0,001$). Avec le D.I. la fécondabilité des ovules chute très rapidement en quelques heures et devient nulle après 48 heures à la fois chez les agités et les témoins.

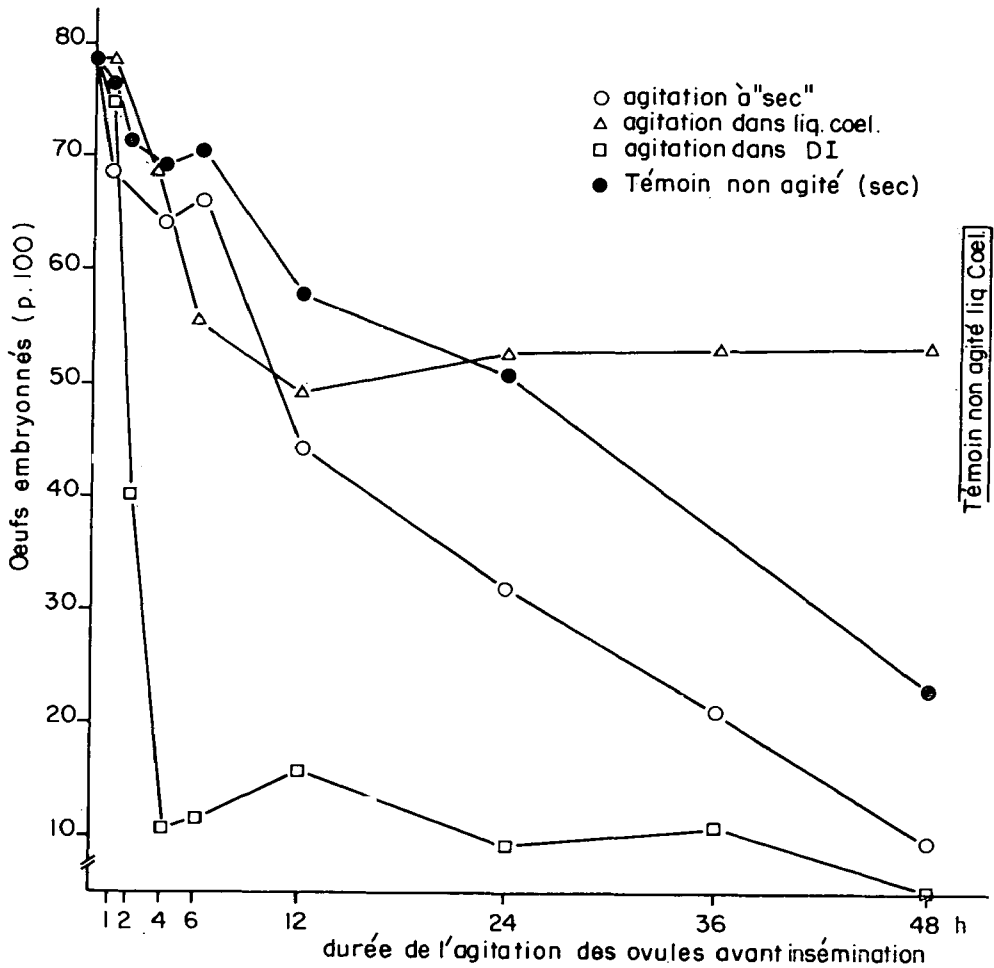


Figure 1. — Effets de l'agitation, dans différents milieux, d'ovules de truite arc-en-ciel, fraîchement recueillis, appréciés par le pourcentage d'œufs embryonnés dénombrés après 16 jours d'incubation à 10° C. Le témoïn non agité conservé dans le dilueur d'insémination ne présentait aucun œuf embryonné à 48 h.

Avec le liquide coelomique dans lequel la fécondabilité reste significativement plus élevée que dans les deux cas précédents ($P < 0,05$), on note aussi un effet défavorable de l'agitation, puisqu'après 48 heures, en fin d'expérience, le pourcentage d'œufs embryonnés se trouve plus élevé ($P < 0,05$) dans le lot non agité.

Effets de l'agitation des ovules après insémination

— Œufs maintenus dans le D.I. après insémination (fig. 2)

Après insémination, un séjour de plus de 1 h des œufs dans le D.I. provoque une chute significative ($P < 0,001$) du pourcentage d'œufs embryonnés observé après 16 jours d'incubation. Il n'y a pas de différence entre les lots agités et non agités.

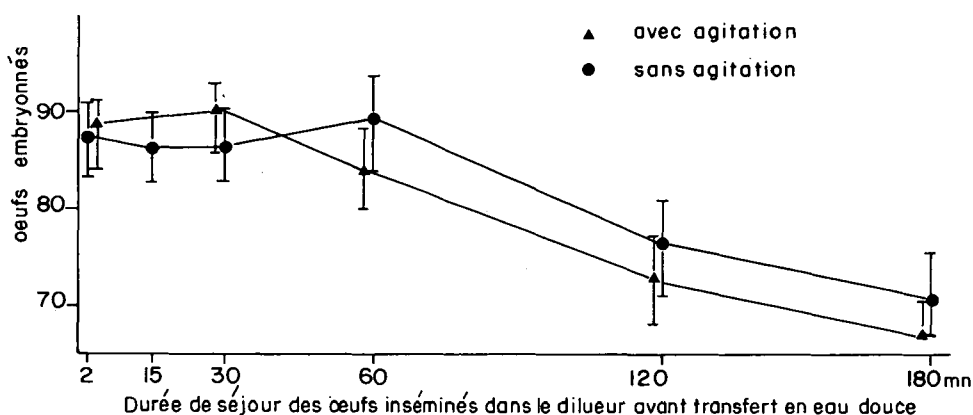


Figure 2. — Evolution de la fécondabilité des œufs (mesurée par le pourcentage d'œufs embryonnés à 16 jours) maintenus dans le D.I. après insémination et soumis ou non à agitation.

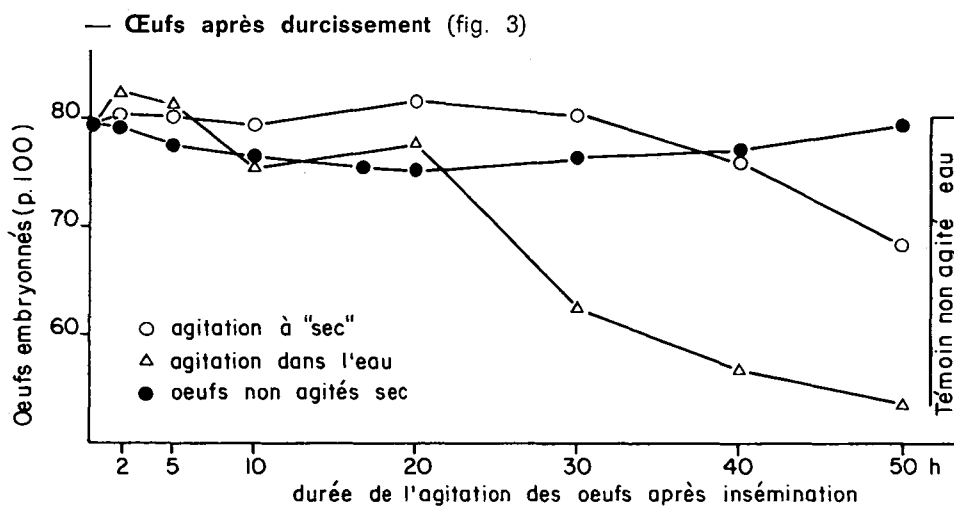


Figure 3. — Effet de l'agitation d'œufs durcis immédiatement après insémination (par passage de 1 h dans de l'eau courante) et maintenus pendant l'agitation dans l'eau ou « à sec » en atmosphère humide.

Le développement embryonnaire n'est pas modifié lorsque l'agitation est pratiquée à sec. Par contre, si les œufs sont laissés dans l'eau douce, l'agitation a un effet néfaste et le pourcentage d'œufs embryonnés est significativement plus faible ($P < 0,001$) que chez les témoins laissés en eau douce et non agitée.

DISCUSSION

Dans les conditions de l'expérience, l'agitation « à sec » des œufs fécondés et ayant subi le durcissement n'affecte pas le pourcentage d'embryonnation à 120 degré-jour. Ce pourcentage est significativement diminué si l'agitation porte sur des œufs durcis, mais laissés dans l'eau douce, et sur des œufs inséminés et laissés dans le D.I. L'agitation d'ovule avant insémination provoque également une chute de la fécondabilité. Les implications pratiques concernent les possibilités de transport des œufs en début de période d'incubation et la conservation des gamètes.

Le transport des œufs

Seuls les œufs après durcissement et maintenus à sec, en atmosphère humide, peuvent être agités mécaniquement pendant des temps relativement longs, sans affecter le développement embryonnaire. Les raisons d'une meilleure survie des œufs « à sec » peuvent résider dans le fait que les œufs placés ainsi en mono-couche paraissent moins choqués que s'ils baignent dans un grand volume d'eau. Habituellement, les effets des chocs sur le début du développement embryonnaire des Salmonidés ne sont pas considérés comme dangereux au moins pendant les 2 jours qui suivent la fécondation (SMIRNOV, 1954, 1955 chez les Saumons pacifiques ; HAYES, 1949, LEITRITZ, 1963, chez la Truite), et même pendant les autres phases du développement embryonnaire (POST *et al.*, 1974, chez la Truite arc-en-ciel). Ces derniers auteurs considèrent que c'est la nature du choc auquel sont soumis les œufs qui est importante. Il se peut aussi que l'agitation dans l'eau favorise la diffusion de certains composants entre l'œuf et le milieu extérieur. L'agitation de type linéaire, réalisée dans la présente expérience, s'apparente à un transport automobile, de sorte que des œufs peuvent être transportés après fécondation. Il est vraisemblable que d'autres types de transport — à dos d'homme par exemple — soient possibles. Dans une expérience conduite par POON et JOHNSON (1970) des œufs fécondés de *Oncorhynchus keta* et *O. garbuscha* n'ont pas supporté un transport de 14 heures (avion, puis véhicule automobile).

La conservation des ovules

Les expériences portant sur les ovules non fécondés font ressortir une mauvaise conservation après expulsion des œufs de la femelle. La chute de la fécondabilité est rapide, surtout si les ovules sont dilués dans le D.I. ; dans le liquide coelomique, cette chute, bien que notable, est plus limitée, comme dans les expériences de GINSBURG (1968) et TAKANO *et al.*, (1973). Les durées de conservation des ovules de Salmonidés rapportées dans la littérature sont très variables. Dans les cas les plus favorables des survies de 24 h (HAMOR, 1966 chez *Salmo Gairdneri*) et même de 2 et 4 jours (BARRETT, 1951 et FOERSTER, 1965 chez *Oncorhynchus nerka*) ont été rapportées. NURSALL et HASLER (1952) n'observent pas de chute de fertilité dans les 90 min. qui suivent le « strippage ». Parmi les facteurs de variation, il faut citer la température de conservation (WITHLER et MORLEY, 1968), l'espèce (KOWSKA *et al.*, 1973), mais les facteurs

individuels sont importants et les différences considérables observées d'une femelle à l'autre peuvent être dues à l'intervalle de temps qui sépare l'ovulation du « strippage ».

Dans tous les cas, l'agitation des ovules provoque une perte de fécondabilité qui est significative par rapport aux témoins non agités. Cela limite les possibilités de transport des ovules, bien que certains auteurs aient préconisé le transport de gamètes de préférence aux œufs fécondés (POON et JONHSON, 1970).

Moyennant une chute du pourcentage d'éclosion, le transport d'ovules est envisageable dans des cas exceptionnels et à condition de le pratiquer dans le liquide coelomique, mais ne peut pas être encore développé comme une technique de routine. Des perspectives d'amélioration de la technique sont envisageables et devraient d'abord porter sur la technologie de la conservation des ovules (choix du dilueur et température).

REMERCIEMENTS

La présentation dactylographique du manuscrit est due à Jacqueline MARCEL. Le travail s'intègre dans le cadre d'une collaboration contractuelle entre le Conseil Supérieur de la Pêche et l'I.N.R.A.

SUMMARY

Freshly collected ova and inseminated eggs were submitted to mechanical agitation for two days in order to artificially duplicate the effects of transportation. Agitated ova showed a significant loss of fecundability when compared to the non-agitated control. However, the latter also showed a rapid loss of fecundability after 6 hrs. Maximum fertilization was observed after dilution in the coelomic fluid, but that was 1/3 less than the initial control (fig. 1).

Agitation of inseminated eggs left in the Diluent for Insemination (D.I.) did not reduce the percentage of embryonic development recorded after 16 days incubation. However the percentage of embryonic development decreased sharply after 60 min. D.I. exposure in both agitated and non agitated eggs (fig. 2). Fertilized eggs, hardened by 1 hr. exposure to running freshwater, tolerated 40 hrs. agitation dry in a saturated atmosphere. On the contrary when those eggs were agitated in freshwater the percentage of embryonic development dropped significantly ($P < 0.01$) after 20 hrs. agitation when compared to the non-agitated control.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARRETT I., 1951. Fertility of salmonid eggs and sperm after storage. J. Fish Res. Bd Can., 8, 125-133.
- FOERSTER R.E., 1965. Effect of retention of spermatozoa and ova of Sockeye Salmon, *Oncorhynchus nerka*, in water and without addition of water, on fertility. J. Fish Res. Bd Can., 22, 1503-1521.
- GINSBURG A.S., 1968. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. Akad. Nauk SSSR, NOAA and Nat. Sci. Found. translation.
- HAMOR T., 1966. A study of the genital products of trout species *S. trutta* and *S. irrideus* (en hongrois). Magyar Allat Kozl. (Zoological J.); 43, 63-68.

- HAYES R.F., 1949. The growth; general chemistry and temperature relations of Salmonid eggs. *Quart. Rev. Biol.* 24, 281-308.
- KOWSKA C.C.Y., SOBOOINSKI A., TOMASIK L., WINNICKI A., 1973. Studies on the Salmonid eggs fertilization delayed in relation to the spawning. *Zeszyty Nauk WSRW Czczecinie, Sect. Acta Ichthyologica et piscicultura*, 40, 179-184.
- LEITRITZ E., 1962. Trout and Salmon culture. *Fish Bull.* 107; California, Dep. Fish Game, 169 p.
- NURSALL J.R., HASLER A.D., 1952. The viability of gametes and the fertilization of eggs by minute quantities of sperm. *Progr. Fish Cult.*, 14, 165-168.
- POON D.C., JOHNSON A.K., 1970. The effect of delayed fertilization on transported salmon eggs. *Progr. Fish Cult.*, 32, 81-84.
- POST G., POWER D.V., KLOPPEL T.M., 1974. Survival of rainbow trout eggs after receiving physical shocks of known magnitude. *Transc. Amer. Fish. Soc.*, 103, 711-716.
- SMIRNOV A.I., 1954. The effect of mechanical agitation on developing eggs of the pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), Salmonidae. *Doklady Akad. Nauk SSSR*, 97, 365-368.
- SMIRNOV A.I., 1955. The effect of mechanical agitation at different periods of development on eggs of autumn chum salmon (*Oncorhynchus keta* Imfrasp, *Autumnalis* Berg. Salmonidae). *Doklady Akad. Nauk SSSR*, 105, 873-876.
- TAKANO K., HIROI O., YASUKAWA M., SUETAKE T., 1973. Studies on the retention of gametes of Salmonid fishes. 1 - On the fertility of Chum Salmon eggs after storage. *Scient. Rep. Hokkaido Salmon Hatchery*, 27, 31-37.
- WITHLER F.C., MORLEY R.B., 1968. Effects of chilled storage on viability of stored ova and sperm of Sokeye and Pink Salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 25, 2695-2699.