

## EFFETS DES IODOPHORES SUR LES GAMETES ET LES ŒUFS DE TRUITE ARC-EN-CIEL

R. BILLARD, G. de MONTALEMBERT

I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons  
78350 JOUY-EN-JOSAS, France

---

Les iodophores constituent un moyen de désinfection des œufs largement utilisé chez les salmonidés. Les possibilités de traitement à diverses étapes du développement embryonnaire ont été déjà étudiées (AMEND, 1974) et les conditions d'utilisation des iodophores ont été définies par GERARD (1973). Dans le présent travail les effets des iodophores sont étudiés sur les ovules avant l'insémination et pendant les diverses étapes de l'insémination.

### MATERIEL ANIMAL ET METHODES

Les gamètes proviennent de géniteurs de Truite Arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) en provenance de piscicultures privées de la région parisienne et introduits au laboratoire avant la période de reproduction. L'exposition des gamètes et des œufs aux iodophores est pratiquée selon la méthodologie déjà décrite pour d'autres expériences (BILLARD, 1974) et l'appréciation des effets porte sur le pourcentage d'œufs embryonnés établi à 100 degré jours de développement (10 jours d'incubation à 10° C) sur des lots d'environ 200 œufs. Les ovules de 4 femelles différentes sont mélangés de façon homogène et l'insémination est pratiquée avec un mélange de sperme en provenance de 5 mâles différents, pris au début de la période de spermiation ; lors de l'insémination le sperme est dilué à 1/100 (10<sup>-2</sup>). Le traitement des gamètes et l'insémination sont pratiqués à une température de 10° C.

Les iodophores utilisés proviennent d'un produit commercial (Romeiod) titré à 0,5 % d'iode actif. Les iodophores sont additionnés à l'eau ou au dilueur d'insémination (DIA) (dilueur 532, BILLARD, 1976) : 10 ml de Romeiod par litre d'eau ou de dilueur, soit une concentration de 50 ppm d'iode. Dans les deux cas le pH final est ajusté à 8 (tampon Tris-HCl 0.02 M).

### 1) Effets sur les ovules

#### • Protocole expérimental (cf. fig. 1 ci-dessous)

Exposition des ovules non fécondés au dilueur contenant 50 ppm d'iode pendant des temps croissants (jusqu'à 40 mn) avant insémination. Avant de pratiquer l'insémination, les ovules sont lavés deux fois dans le dilueur 532 (lavages de chaque lot de 200 ovules dans 50 ml de dilueur). Un témoin (temps 0) reçoit le même traitement mais sans iode dans le dilueur. Un autre témoin correspond à un lot d'ovules inséminés immédiatement après collecte des ovules et ne reçoit pas, par conséquent, les deux autres traitements.

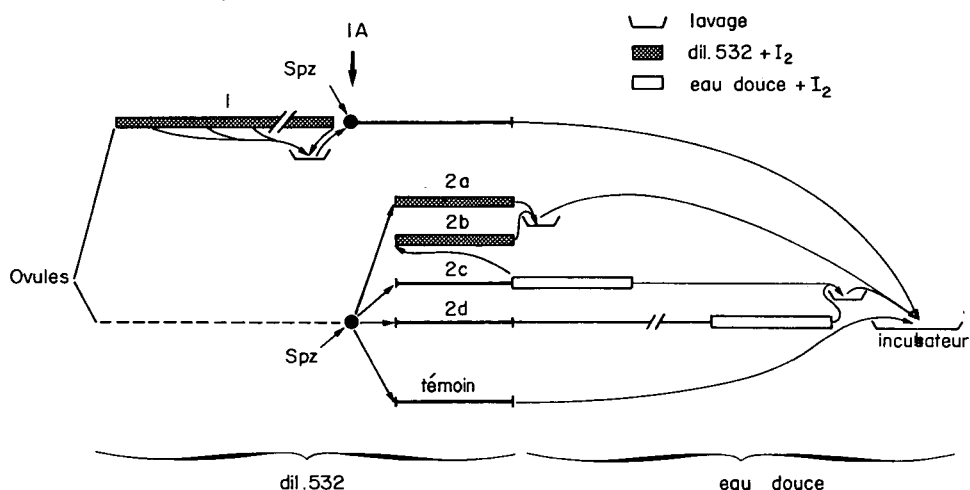


Figure 1 - Schéma du protocole expérimental

#### • Résultats

Les résultats sont présentés dans la figure 2. La fécondabilité des ovules mis en présence des iodophores diminue rapidement (signification statistique :  $P < 0,05$ ) d'environ 10 % puis se stabilise à ce niveau pendant les 40 mn d'exposition.

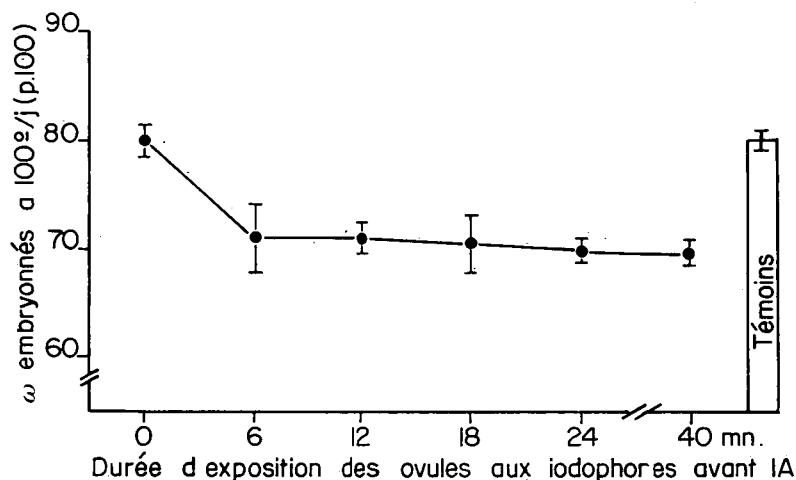


Figure 2 - Effets des iodophores sur les ovules avant insémination

## 2) Effets des iodophores appliqués à diverses étapes de l'insémination

### • Protocole expérimental (cf. fig. 1)

a - Lors de l'insémination proprement dite, les gamètes sont mélangés en présence du dilueur iodé et après 15 mn les œufs sont lavés et passés en eau douce sur incubateurs.

b - Avant le durcissement des œufs (après la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf, c'est-à-dire 15 mn après insémination dans les conditions normales avec le dilueur 532), les ovules sont transférés dans un récipient contenant le même dilueur 532 additionné d'iodophores et y séjournent 15 minutes. Ils sont ensuite lavés avec du dilueur frais, puis transférés en eau douce en incubateurs.

c - Pendant le durcissement : 15 mn après insémination avec le dilueur 532, les œufs sont transférés dans de l'eau douce contenant 50 ppm d'iode. Les œufs séjournent 15 mn dans ce bain avant d'être transférés en eau douce.

d - Exposition aux iodophores d'œufs fécondés et durcis.

Les œufs durcis sont des œufs ayant séjourné au moins 30 mn dans l'eau douce après insémination; ils sont ensuite passés pendant 15 mn dans un bain contenant de l'eau additionnée de 50 ppm d'iode.

### • Résultats

Les données du tableau I montrent qu'après insémination avec un dilueur contenant 5 ppm d'iode aucun œuf n'a été fécondé. De même dans le cas d'insémination selon la méthode sèche habituellement pratiquée en pisciculture, aucune fécondation n'est observée lorsque l'eau douce ajoutée sur le mélange ovule-spermatozoïde est additionnée d'iode.

Lorsque les iodophores sont appliqués sur des œufs déjà fécondés, mais pas encore durcis, la survie de ces derniers est fortement diminuée. Par contre, si les iodophores sont appliqués pendant ou après la phase de durcissement, la chute de fertilité est respectivement par rapport aux témoins de 10 % ( $P < 0,05$ ) et de 4 % (non significatif).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Les iodophores provoquent une chute de la fertilité lorsqu'ils sont appliqués sur des ovules ou des œufs non durcis. Seuls les œufs durcis peuvent supporter sans dommage un traitement aux iodophores. Dans la pratique courante le traitement portera donc sur des œufs durcis, mais dans des cas exceptionnels, moyennant une légère chute de fertilité, le traitement peut porter sur des ovules non encore fécondés. Il semble que ces derniers soient beaucoup moins sensibles que les spermatozoïdes, lesquels perdent immédiatement leur pouvoir fécondant lorsqu'ils sont mis en présence d'iodophores.

## REMERCIEMENTS

Cette étude a été effectuée dans le cadre d'un contrat C.S.P.-I.N.R.A. Nous remercions MM. GERARD et DE KINKELIN pour leurs suggestions et la lecture critique du manuscrit.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AMEND D.F., 1974. Comparative toxicity of two iodophors to rainbow trout eggs. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 103, 73-78.

- BILLARD R., PETIT J., JALABERT B., SZOLLOSI D., 1974. Artificial insemination in trout using a sperm diluant. Symposium on the early life history of fish. OBAN, Blaxter Edt., 715-723.
- BILLARD R., 1976. Utilisation d'un système Tris-glycocolle pour tamponner le dilueur d'insémination pour Truite. Ann. Hydrobiol., soumis pour publication.
- GERARD J.-P., 1973-1974. Fiche technique : les Iodophores en pisciculture. Piscicul. Franç., 36, 47 ; Bull. Franç. Piscicult., 254, 13.

## RESUME

La toxicité des iodophores incorporés dans le dilueur d'insémination ou dans de l'eau douce à raison de 50 ppm d'iode a été testée sur des ovules et des œufs de truite à différentes étapes de l'insémination. Les ovules placés dans ce dilueur voient leur aptitude à être fécondés diminuer de 10 pour cent. Lorsque le traitement est appliqué lors de l'insémination, aucune fécondation n'est observée, ce qui laisse supposer un effet défavorable des iodophores sur les spermatozoïdes. Seuls les œufs ayant subi le durcissement après un séjour de 30 mn dans l'eau douce supportent sans dommage le traitement aux iodophores.

## SUMMARY

Toxicity of iodophors added to the diluent for insemination or to fresh water (50 ppm of iodine) was examined on rainbow trout ova and eggs at various stages of insemination. Freshly collected ova were sensitive to iodophors; the loss of fertility was about 10 per cent. No fertilization occurred when iodophors were used at the time of insemination suggesting an unfavorable effect of iodophors on spermatozoa. However, non significant loss of eggs was observed when iodophors treatment was administered after 30 mn water hardening.

**Tableau 1 - Effets des iodophores appliqués à différentes étapes de l'insémination sur le succès de la fécondation.**

Etape de l'insémination	Milieu de dilution	% d'œufs embryonnés à 100 degré-jours
a) Mise en présence des gamètes (insémination proprement dite)	Dilueur 532	80
	Eau	44
	Dilueur 532 + iodophore	0
	Eau + iodophore	0
b) Avant le durcissement des œufs	Dilueur 532 + iodophore	30
c) Pendant le durcissement	Dilueur 532 → eau + iodophore	70
d) Après le durcissement	Eau → eau + iodophore	76