Influence of clay sediments incorporated in the insemination medium on fertilization success in rainbow trout (*Salmo Gairdneri*)

Roland Billard

► To cite this version:

Roland Billard. Influence of clay sediments incorporated in the insemination medium on fertilization success in rainbow trout (*Salmo Gairdneri*). *Water Research*, 1982, 16 (5), pp.725-728. 10.1016/0043-1354(82)90097-5 . hal-01600568

HAL Id: hal-01600568

<https://hal.science/hal-01600568>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike| 4.0 International License

INFLUENCE DE SEDIMENTS ARGILEUX INCORPORES AU MILIEU D'INSEMINATION SUR LE SUCCES DE LA FECONDATION CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL (*SALMO GAIARDNERI*)

INFLUENCE OF CLAY SEDIMENTS SUSPENDED IN INSEMINATION DILUENT ON THE FERTILIZATION OF THE EGGS OF TROUT (*SALMO GAIARDNERI*)

R. BILLARD

I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons F-78350 Jouy En Josas, France

(Reçu janvier 1981)

Résumé—L'objectif de la présente étude est d'étudier au Laboratoire et en conditions contrôlées le taux de fécondation et de survie embryonnaire d'oeufs de truite, placés dans des milieux de turbidité croissante avant et durant l'insémination. Des argiles (fraction granulométrique $< 2 \mu\text{m}$) sont mises en suspension dans une solution saline (po 250 mosmol, pH 9,0, tampon Tris 0,02 M glycolle 0,05 M) et mélangées à des ovules de truite arc-en-ciel pendant 10–20 min, avant fécondation et seulement lors de l'insémination à des températures de 8, 10–15 et 20°C. La présence d'argiles dans le dilueur d'insémination ne gêne pas la fécondation. On observe seulement une chute légère, mais significative ($P < 0,01$) des pourcentages de fécondation, lorsque les ovules sont exposés aux sédiments argileux pendant 10 mn avant la fécondation, suggérant un colmatage au moins partiel du micropyle. Les températures de 15 et 20°C ont un effet défavorable sur la survie des ovules.

Abstract—The aim of this paper is to determine whether clay sediments suspended in water can prevent trout eggs from being fertilized. Kaolinite-rich clays (granulometric fraction: $< 2 \mu\text{m}$) (Fig. 1) were suspended in an artificial insemination diluent in doses ranging between 0 and 20 g l^{-1} . The eggs were exposed for 1, 10 or 20 min (experiment A) or inseminated (experiment B) in the diluent-sediment mixture. In experiment (C), the eggs were exposed to this mixture at three different temperatures (10, 15, 20°C). After insemination, the eggs were incubated for 10 days at 10°C and the percentage of eyed-eggs was used as an approximation of the fertility rate. The presence of clay sediments in the medium in which artificial insemination was carried out did not affect fertilization rate after the ovules had been exposed during 1 min to clay suspensions, at any of the temperatures used (8°C: Fig. 3; 10–15 or 20°C: Fig. 5) or at any of the sperm dilution rates (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) (Fig. 3). On the contrary, there was a significant decline ($P < 0.01$) in the fertilization rate after the eggs had been exposed for 10 min at 8°C to doses of sediment exceeding 1.2 g l^{-1} (Fig. 2). The fertilization rate also decreased significantly ($P < 0.05$) when the dose of sediment in the medium increased after 20 min at 20°C and 40 min at 15°C (Fig. 4). The 15 and 20°C temperatures were unfavourable for the eggs anyway. It is probable that fertility decreased due to micropyle clogging when the eggs were exposed longer than 10 min to the sediments. It is concluded that presence of sediments in the medium in which the gametes meet does not prevent fertilization.

Les matières minérales en suspension dans les eaux constituent une source de pollution non négligeable. Elles sont dues à diverses activités industrielles et minières et aux extractions de graviers et granulats. En outre, l'érosion des sols résultant des activités agricoles conduit à libérer dans les eaux des quantités importantes de matières minérales, ce dont le monde rural n'a pas toujours conscience (Merchant & Martotz, 1974). Ces matières minérales vont diversement affecter la vie aquatique. Chez les poissons, on sait que la turbidité a des effets sur la physiologie des poissons, comme la ventilation et la consommation d'oxygène (Horkel & Pearson, 1976) et peut même

induire à long terme des variations morphologiques (Hubbs, 1940). Quant aux effets sur la reproduction, ils sont bien connus au cours du développement embryonnaire, en particulier chez les salmonidés, à la suite du colmatage des frayères (McNeil & Ahnell, 1964) ou dans les écloseries (Leitritz, 1962).

Par contre, peu de travaux ont été consacrés aux effets des matières minérales en suspension sur la fécondation et sur les gamètes, plus spécialement les ovules qui sont chez les téléostéens caractérisés par la présence d'un micropyle (Riehl & Gotting, 1974) par lequel pénètre le spermatozoïde fécondant. Ce micropyle peut aisément être obstrué mécaniquement et il a

déjà été montré que le micropyle d'ovules de truites pouvait être colmaté par des microparticules de fer et même des spermatozoïdes d'espèces différentes, comme celui de la carpe, dont la taille est plus grande (Billard, non publié).

Le but de ce travail est de vérifier si des matières minérales mises en suspension dans le milieu d'insémination sont susceptibles de réduire l'aptitude des ovules à être fécondés. Une éventuelle potentialisation des effets de la turbidité par la température a en outre été recherchée.

MATERIEL ET METHODE

Les géniteurs en provenance de piscicultures privées du Bassin Parisien sont introduits au laboratoire avant reproduction, où il sont stockés en eau recyclée (Petit, 1974). Les femelles sont utilisées dans la semaine qui suit l'ovulation et les mâles dans le mois qui suit l'entrée en pleine spermiation, c'est-à-dire lorsque la production par prélèvement hebdomadaire excède 10 ml. Les gamètes utilisés sont prélevés sur au moins 5 individus et poolés. Pendant la durée de stockage des géniteurs au laboratoire, la température de l'eau d'élevage varie entre 8 et 10°C.

Le principe de l'expérimentation a consisté à inclure le sédiment dans le dilueur d'insémination (Billard, 1977) à des doses croissantes comprises entre 0 et 20 g l⁻¹. Ce dilueur d'insémination à base de NaCl (250 mosmol) est tamponné à pH 9 (Tris 0,02 M—Glycocolle 0,05 M).

Dans une première expérience (exp. A) les ovules sont exposés au mélange dilueur-sédiment (200 ovules dans 10 ml de dilueur) pendant des temps croissants: 1, 10 et 20 min et à la température ambiante (8°C). Après exposition, l'insémination est pratiquée par simple addition de sperme dans le mélange: 1, 10 ou 100 µl, soit des taux de dilution respectivement de 10⁻⁴, 10⁻³ et 10⁻². Quinze minutes après insémination les oeufs sont transférés en incubateur en eau douce recyclée, thermorégulée à 10 ± 1°C.

Dans une autre expérience (exp. B) les ovules sont directement mélangés au sperme et dans les mêmes dilueurs que ci-dessus. Il s'agit en fait d'une insémination pratiquée avec un dilueur contenant les sédiments. Après insémination, les oeufs sont laissés à reposer pendant 15 min, puis sont rincés et mis en incubation dans les mêmes conditions que dans l'expérience (A).

Dans une exp. (C), l'exposition des ovules aux diverses concentrations de sédiments et l'insémination sont pratiquées à 3 températures différentes: 10, 15 et 20°C. Les ovules laissés dans le liquide coelomique après collecte sont placés au bain marie aux 3 températures expérimentales, pour équilibration pendant 10 min. Le liquide coelomique est ensuite éliminé, et les ovules sont placés par lots d'environ 200 pendant 20 min, dans les différents mélanges, amenés préalablement aux mêmes températures. Les oeufs sont ensuite ramenés en 10 min à 8°C où l'insémination a lieu à la dilution de 10⁻³. Quinze minutes plus tard, les oeufs sont transférés en incubateurs comme précédemment.

Dans tous les cas, une agitation des milieux est pratiquée lors de l'insémination, de façon à maintenir les sédiments en suspension. Après 10 jours d'incubation les oeufs sont fixés au liquide de stockard modifié (5% acide acétique, 5% glycerol, 5% formaldéhyde et 85% d'eau). Le dénombrement des oeufs embryonnés permet d'estimer le pourcentage de fécondation.

Les sédiments (fraction < 2 µm) sont extraits de dépôts du quaternaire ancien périalpin et sont caractérisés par la présence de vermiculite et une forte teneur en kaolinite (48%) (Fig. 1).

Fig. 1. Caractérisation de la fraction granulométrique (< 2 µm) utilisée dans les expériences. En haut: diffractogrammes de rayons x; les équidistances sont exprimées en angstroms et les enregistrements portent sur matériel non traité (normal) ou ayant subi un traitement au glycerol ou un chauffage à 490°C (four 490°C). En bas: courbe d'analyse thermopondérale montrant les variations pondérales en % (ΔP%) du sédiment argileux.

Fig. 1. Characterization of the granulometric fraction (< 2 µm) used in the experiments. Top: X-ray diffractograms; the epidistances are shown in angstroms and the recordings concern (i) normal material, (ii) glycerol-treated material and (iii) material heated to 490°C in an oven at 490°C. Bottom: thermopondal curve showing ponderal variations in % (Δ%) of clay sediment.

Fig. 2. Evolution de l'aptitude à la fécondation d'ovules de truite arc-en-ciel, mis en présence de particules argileuses en suspension, dans le milieu de dilution pendant 1, 10 et 20 min avant fécondation. Chaque lot comporte 200 ovules et 10 ml de dilueur; lors de l'insémination 10 µl de sperme sont ajoutés (dilution 10⁻³).

Fig. 2. Changes in fertilizability of rainbow trout ova when exposed to clay particles in suspension in the dilution medium for 1, 10 and 20 min before fertilization. Each lot contained 200 ova to which 10 ml of extender were added when the ova were inseminated with 10 µl of sperm at a 10⁻³ dilution.

Fig. 3. Effet de particules argileuses mises en suspension dans le dilueur d'insémination sur la succès de la fécondation.

Fig. 3. Effect of clay particles suspended in the insemination diluent on ova fertilizability.

Les comparaisons statistiques sont faites par test χ^2 . Sur les graphiques, chaque point correspond à un pourcentage établi sur environ 200 oeufs, de sorte que l'écart type est de l'ordre de 10% ($P < 0,05$).

RESULTATS

Exp. (A): effets de l'exposition des ovules aux sédiments (Fig. 2)

Après un séjour de 1 min au contact des argiles, les ovules ne présentent pas de variation de fécondabilité. Par contre, une diminution significative ($P < 0,01$) est observée après une durée d'exposition de 10 min. Pour la durée d'exposition de 20 min la présence de sédiments dans le dilueur ne modifie pas l'aptitude à la fécondation des ovules, mais cette durée de séjour de 20 min des ovules dans le dilueur seul entraîne une légère diminution du pourcentage de fécondation (non significative).

Fig. 4. Evolution de la fécondabilité des ovules exposés pendant 20 et 40 min, à des concentrations croissantes de sédiments et à 3 températures différentes 10-15 et 20°C.

Fig. 4. Changes in fertilizability of ova exposed for 20 or 40 min to increasing sediment concentrations and to three different temperatures: 10, 15 and 20°C.

Fig. 5. Influence de la température appliquée lors d'inséminations pratiquées dans des milieux contenant des quantités croissantes de sédiments.

Fig. 5. Effect of temperature at insemination in media containing increasing amounts of sediment.

Exp. (B): influence des sédiments incorporés au dilueur, sur le succès de l'insémination artificielle (Fig. 3)

Il n'y a pas de différence notable dans les pourcentages de fécondation obtenus pour les diverses concentrations en argiles dans le dilueur et cela quel que soit le taux de dilution utilisé.

Exp. (C): influence de la température (Figs 4 et 5)

Après une durée d'exposition des ovules aux sédiments de 20 ou 40 min, on observe toujours une légère diminution du taux de fécondation (de 5 à 15%) lorsque la concentration en argiles augmente et cela à toutes les températures testées. Ces diminutions ne sont significatives qu'après 20 min à 20°C et 40 min à 15°C (Fig. 4).

Lorsque les trois régimes thermiques ne sont appliqués que pendant l'insémination proprement dite, on n'observe pas d'influence notable de la température et de la concentration en sédiments dans le dilueur (Fig. 5).

DISCUSSION

La présence de sédiments argileux, même à très forte dose, dans le milieu d'insémination n'affecte pas notablement le taux de fécondation des ovules de truite arc-en-ciel, que ce soit à 8, 10, 15 ou 20°C et même lorsque la quantité de spermatozoïdes est diminuée lors de l'insémination (dilution 10^{-3}). Une diminution significative de l'aptitude à la fécondation des ovules n'est observée qu'après de longues expositions des ovules (10 min) aux argiles avant insémination. A 20 min, les effets des sédiments interfèrent avec la dilution prolongée des ovules dans le dilueur, laquelle en soi diminue la fécondabilité des ovules (Billard *et al.*, 1973) vraisemblablement du fait de la composition inadéquate du dilueur exclusivement composé du NaCl. Il se pourrait d'ailleurs que les faibles augmentations dans les pourcentages de fécondation observés à 10 et 20 min aux plus fortes concentrations de sédiments (Fig. 2) soient dues à un enrichissement du dilueur en éléments minéraux solubilisés à partir des sédiments.

Dans les conditions de la fécondation en situation naturelle en rivière où la pénétration du sperme dans l'ovule intervient dans les 30 s qui suivent l'émission des gamètes (Smirnov, 1963; Billard & Jalabert, 1974) il ne semble pas que la présence de forte concentration d'argiles en suspension puisse prévenir la fécondation. Cependant, lorsque les ovules restent exposés à ces argiles avant fécondation, il y a vraisemblablement des phénomènes d'obstruction mécanique du micropyle. Le diamètre de l'orifice interne de ce dernier est de l'ordre de 2,5 μm (Szöllösi & Billard, 1974) à 3,3–4,3 μm (Reihl, 1980) ce qui autorise juste le passage d'un spermatozoïde dont la tête mesure $1,5\text{--}2 \times 2,5 \mu\text{m}$ (Billard, 1969). Les phénomènes de colmatage restent cependant réduits, car la diminution des pourcentages de fécondation reste relativement faible (moins de 20%).

Il faut d'autre part noter que la présence des particules d'argile dans le milieu n'a pas constitué une gêne importante pour les mouvements des spermatozoïdes, car même lorsque le nombre de ces derniers est diminué (dilution 10^{-4}) il n'y a pas de réduction des pourcentages de fécondation (Fig. 3).

Ce travail démontre par ailleurs, un effet défavorable des températures de 15 et 20°C sur la survie des ovules (Fig. 4). Après un séjour de 20 et 40 min à 20°C, on assiste à une diminution significative de l'aptitude des ovules à être fécondés. Un tel effet a déjà été signalé chez *Salmo gairdneri* (Billard & Gillet, 1975; Billard & Breton, 1977), *Bairdiella* (May, 1975) *Fundulus* (Kuchnow & Foster, 1976) et *Perca* (Hokanson, 1977).

Il n'y donc pas de potentialisation des effets des sédiments, par une augmentation de la température, comme cela a été observé dans le cas de micropolluants organiques (Gillet & Billard, non publié).

En conclusion, les sédiments en suspension dans l'eau sont beaucoup moins néfastes sur la fécondation

des oeufs de truite qu'ils ne le sont sur le développement embryonnaire.

Remerciements—Ce travail a été pris en charge par le C.S.P. Nous remercions Mm Levilain et Le Brenn pour les soins apportés aux géniteurs. Les analyses des sédiments ont été réalisées par le laboratoire de géographie physique de Paris.

BIBLIOGRAPHIE

- Billard R. (1969) Ultrastructure comparée de spermatozoïdes de quelques poissons téléostéens. *Quaderno* 137, 71–79.
- Billard R. (1977) Utilisation d'un système Tris-glycocolle pour tamponner le dilueur d'insémination de truite. *Bull. Franç. Pisc.* 264, 102–112.
- Billard R. & Breton B. (1977) Sensibilité à la température des différentes étapes de la reproduction chez la truite arc-en-ciel. *Cahiers Lab. Montereau* 5, 5–24.
- Billard R. & Gillet C. (1975) Effets de la température sur la fécondation et la survie des gamètes chez la truite arc-en-ciel *Salmo gairdneri*. *Bull. Franç. Pisc.* 259, 54–65.
- 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.
- Billard R., Petit J., Jalabert B. & Szöllösi D. (1973) Artificial insemination in trout using a sperm diluant. In *The Early Life History of Fish* (Edited by Blaxter J. H. S.), pp. 715–723. Springer-Verlag, Berlin.
- Hokanson K. E. F. (1977) Temperature requirements of some percids and adaptations to the seasonal temperature cycle. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 34, 1524–1550.
- Horkel J. D. & Pearson W. D. (1976) Effects of turbidity on ventilation rates and oxygen consumption of green sunfish. *Lepomis cyanellus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1, 107–113.
- Hubbs C. L. (1940) Speciation in fishes. *Am. Nat.* 14, 198–211.
- Kuchnow K. P. & Foster R. S. (1976) Thermal tolerance of stored *Fundulus heteroclitus* gametes: fertilizability and survival of embryos. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 33, 676–680.
- Leitritz E. (1962) Trout and salmon culture. *Fish. Bull.* No. 107, 169 p.
- McNeil W. J. & Ahnell W. H. (1964) Success of pink salmon spawning to size of spawning bed material. U.S. Fish Wildlife. Rep. Fish. 469, 15 pp.
- May R. C. (1975) Effects of temperature and salinity of fertilization, embryonic development, and hatching in *Bairdiella icistia* (Pisces: Sciaenidae), and the effect of parental salinity acclimation on embryonic and larval salinity tolerance. *Fish. Bull.* 73, 1–18.
- Merchant J. W. & Marotz G. A. (1974) Perception of soil erosion–water quality relationships in a Kansas watershed. *Trans. Kansas. Acad. Sci.* 77, 71–86.
- Petit J. (1974) Recyclage et épuration en pisciculture: étude théorique et bibliographique. *Coll. Aquacult. CNEOX*, Brest 445–470.
- Riehl R. (1980) Micropyle of some salmonids and coregonids. *Envir. Biol. Fish.* 5, 59–66.
- Riehl R. & Gotting K. J. (1974) Zur Struktur und Vorkommen der Mikropyle an Eizellen und Eiern von Knochenfischen (Teleostei). *Archs Hydrobiol.* 74, 393–402.
- Smirnov A. I. (1963) Conservation de l'aptitude à la fécondation dans l'eau d'ovules et de spermatozoïdes chez *Oncorhynchus gorbuscha* W. Nautchnye Doklady Vyschei Shkoly. *Biol. Nauk.* 3, 37–41.
- Szöllösi D. & Billard R. (1975) The micropyle of trout eggs and its reactions to different incubation media. *J. Microscop.* 21, 55–62.