

IMPACT DU PHENOMENE DU VIEILLISSEMENT IN VIVO DES OVULES DE LA CARPE ARGENTÉE (*HYPOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX*) SUR LA PRODUCTION DES SEMENCES À LA STATION DE PISCICULTURE DE DEROUA (PROVINCE Fkih BEN SALAH, MAROC).

IMPACT OF SILVER CARP (*HYPOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX*) OVA POST-OVULATORY AGEING PHENOMENON ON SEED PRODUCTION (DEROUA FISH FARM, Fkih BEN SALAH, MOROCCO).

F. Z. MAJDOUBI^(1,2,*), A. OUIZGANE⁽¹⁾, M. HASNAOUI⁽¹⁾ et M. DROUSSI⁽³⁾

¹Laboratoire Gestion et Valorisation des Ressources Naturelles, Faculté Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Sliman, M'ghila BP. 523, 23 000 Béni-Mellal, Maroc.

²Station de pisciculture de la Deroua, Fkih Ben Saleh, Maroc.

³Consultant international en aquaculture, Béni-Mellal, Maroc.

*Corresponding author Email: fzmajdoubi@gmail.com

Reçu : 10 Décembre 2016, Accepté : 2 Mars 2017, En ligne : 30 Avril 2017

RESUME

Pour déterminer l'effet de la rétention des ovules dans la cavité ovarienne de la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*), des expérimentations ont été menées sur 9 femelles (dont le poids vari de 2,5 kg à 5,3 kg).

Les ovules ont été extraits au moment de l'ovulation et à 30, 60 et 90 minutes après ovulation fécondés immédiatement par la laitance de 3 mâles. Le suivi du développement des œufs a été effectué durant la période d'incubation. Les résultats ont indiqué que les taux de fécondation et de survie embryonnaire étaient, respectivement, 61,7 % et 61,5% au moment de l'ovulation (T0) et seulement 29,5% et 29,7 % pour les ovules fécondés après 90 minutes post-ovulation (T90).

Le taux de survie d'alevins est de 87,3 % à T0 mais ils ne dépassent pas 48,8% à T90. En revanche il a été noté qu'à T30 les taux de fécondation, de survie embryonnaire et de survie des alevins restent importants et ils sont respectivement de 59,6%, 56,5% et 86,6%. De ce fait la durée de rétention maximale au bout de laquelle les taux de viabilité des ovules (taux de fécondation, de survie des embryons) restent acceptables est estimée à 30 minutes.

Mots clés : *Hypophthalmichthys molitrix*, vieillissement, ovules, ovulation, œufs, fécondation, stripping, Deroua, Maroc.

SUMMARY

The aim of our study is to evaluate the impact of ova retention in the body cavity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) females after ovulation on their viability after stripping and on different development stages including mainly on the rate of fecundation, embryonic and larval development.

To carry out this study of the effect of ova retention in the ovarian cavity, nine silver carp females were induced to spawn and their ova were stripped and fertilized after 30,60 and 90 minutes post-ovulation. The results indicated that fertilization and embryonic survival rates ranged respectively from 61,7 % and 61,5% at ovulation (T0) to 29,5% and 29,7% at 90 minutes post of ovulation (T90), while the survival rate of fry ranged from 87,3 % at T0 to 48,8 % at T90.

In order to ensure the maximum viability of the ova of silver carp females reproduced artificially in the hatchery, it is recommended to strip and fertilize the eggs within 30 minutes after ovulation.

Keywords: *Hypophthalmichthys molitrix*, ageing, ovulation, eggs, fertilization, extraction, Deroua, Morocco.

1. INTRODUCTION

Le développement et le perfectionnement des pratiques de reproduction artificielle des poissons d'élevage, sont des éléments importants dans l'amélioration de la production de leurs semences. Il existe un besoin évident pour la détermination des facteurs altérant les résultats de la reproduction et y trouvé des remèdes. Parmi ces facteurs, on trouve le phénomène de vieillissement des ovules avant leur fécondation. Ces derniers, présentent une importance significative puisque leur qualité affecte la fécondité, le développement embryonnaire et la survie des alevins à la première éclosion et alimentation (Bromage et al., 1992).

La plupart des recherches menées sur le vieillissement des œufs ont été réalisées sur plusieurs espèces de poissons tels que: le sandre (*Sander lucioperca* L.) (Samarin et al., 2015), la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Samarin et al., 2008; Aegerter et Jalabert., 2004; Bromage et al., 1992; Springate et al., 1984), un poisson téléostéen neotropical (*Prochilodus marginatus*) (Rizzo et al., 2003), la carpe herbivore (*Ctenopharyngodon idella*) (Kharroubi et al., 2002) et le brochet (*Esox lucius*) (Bry et al., 1978).

Les expériences réalisées sur le brochet, par Bry et al. (1978), ont montré qu'après une rétention des ovules dans la cavité ovarienne des femelles, pendant une durée de 2 à 3 jours, une chute de fécondité apparaît rapidement. Alors que chez la carpe herbivore la viabilité des œufs n'est pas affectée par la rétention in vivo pour une durée allant jusqu'à 2 heures (Kharroubi et al., 2002). De plus, d'autres recherches ont montré que le taux de fertilisation, la facilité d'activation et de développement embryonnaire sont aussi des paramètres affectés, défavorablement, par le vieillissement in vivo des ovules (Escaffre et Billard, 1979).

La présente étude a été menée pour déterminer la durée de rétention des ovules dans la cavité ovarienne pendant laquelle ceux-ci restent viables après ovulation.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Poissons

Les expérimentations se sont déroulées en 2016 à la station de pisciculture Deroua située à la province de Fkih Ben Saleh au Maroc. Elles ont été

effectuées pendant la compagne de reproduction artificielle de la carpe argentée, qui débute du mois d'avril et s'étend jusqu'à la fin du mois de Juin dans cette zone.

1.2. Conditions expérimentales

Les poissons qui ont atteint la maturité sexuelle sont capturés et transportés à l'écloserie. Après pesage des individus et marquage, les géniteurs sont injectés par une solution d'extrait hypophysaire afin d'induire l'ovulation chez les femelles et la production de laitance chez les mâles. Au moment de l'ovulation, les géniteurs sont anesthésiés dans une solution à base du clou de girofle dans le but de faciliter leur manipulation et éviter leur stress. Ensuite, l'extraction des ovules est effectuée par une légère pression sur la partie postérieure du ventre et récupérés dans un récipient puis fécondés, immédiatement, par la laitance de trois mâles au minimum. Après, chaque lot est incubé dans des bouteilles coniques de 40 litres de volume thermo régulé à une température variant de 23°C à 24°C.

L'expérimentation de la rétention des ovules dans la cavité ovarienne des femelles a été conduite sur 9 femelles d'un poids variant de 2,5 kg à 5,3 kg. Pour assurer la rétention des ovules in vivo, nous avons procédé à la suture de l'orifice génital de la femelle après chaque extraction. Les quatre extractions des ovules ont été pratiquées à des temps croissants après l'ovulation, à intervalle de 30 minutes entre deux extractions successives.

Après incubation, le rendement des opérations de reproduction, pour chaque expérimentation, a été évalué à travers la détermination des taux de fécondation, de survie des embryons et de survie des alevins.

1.3. Traitement statistique des données

À l'aide du logiciel d'analyse statistique des données SPSS version 23, une analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA 1) a été réalisée afin d'évaluer l'effet de la rétention des ovules dans la cavité ovarienne pour des durées de 30, 60 et 90 minutes après ovulation sur le taux de fécondation, le taux de survie des embryons et le taux de survie des alevins. ($P < 0,05$ est considérée significatif).

Une analyse de régression linéaire a été également effectuée pour déterminer la corrélation entre le

taux de fécondation et le taux de survie des embryons au moment de l'ovulation et aux différents temps de rétention. De plus une comparaison de moyennes par paire (test de Tukey) est effectuée afin de déterminer celles qui sont significativement différentes (Tableau 1).

2. RÉSULTATS

A la lumière du tableau 1, les ovules extraits au moment d'ovulation atteignent un taux de fécondation (\pm ESM) de 61,7% (\pm 3,8%) et un taux de survie des embryons de 61,5 % (\pm 5,7%). Alors que pour les ovules retenus dans la cavité ovarienne pendant 30, 60 et 90 minutes, les taux de performance reproductive chutent significativement. Ces taux étaient de 59,6% (\pm 3,4%), 38,6 % (\pm 5,7%) et 29,5% (\pm 8,2%) pour le taux de fécondation, 56,5% (\pm 7,2%) , 38,2% (\pm 5,7%) et 29,7% (\pm 8,7%) pour le taux de survie des embryons respectivement obtenus à 30,60 et 90 minutes après ovulation. Le test d'ANOVA 1 montre l'effet significatif de la rétention post-ovulatoire ($P < 0,0005$) sur les taux de fécondation et de survie

des embryons.

En se basant sur le test de Tukey, la comparaison des moyennes a montré que les taux de fécondation moyens obtenus à T_0 et T_{30} sont statistiquement identiques ($p < 0,05$) alors que ceux obtenus à T_0 , T_{60} et T_{90} sont statistiquement différents ($p > 0,05$).

Une différence statistiquement significative a été observée entre la moyenne du taux de survie des embryons obtenus à T_{90} et celles atteintes à T_0 et T_{30} . En revanche, ce test de comparaison nous a permis de dépister l'existence d'une égalité de moyennes ($p > 0,05$) entre les paires suivantes : T_0 et T_{30} , T_0 et T_{60} , T_{30} et T_{60} , T_{60} et T_{90} .

Concernant le taux de survie des alevins, une moyenne de 87,3% (\pm 9,5%) a été enregistrée à T_0 , ce taux a chuté à 48,8% (\pm 21,8%) à T_{90} . Le test d'ANOVA 1 n'a pas révélé une différence significative entre ces moyennes ($P > 0,05$). Ceci est dû principalement à la grande variabilité intra-spécifique observée entre les femelles.

Tableau.1 : Taux moyens de viabilité (Taux de fécondation, Taux de survie des embryons et Taux de survie des alevins) des ovules extraits au moment d'ovulation et après 30, 60 et 90 minutes de post ovulation. Les moyennes suivies par la même lettre ne présentent pas une différence significative entre elles.

Table.1: Viability rates (fecundability rate, embryonic survival rate and alevins survival rate) of ova extracted at the ovulation time and at 30, 60 and 90 minutes post-ovulation. The means followed by the same letter do not show a significant difference between them.

Taux de viabilité	0 min	30 min	60 min	90 min
Taux moyen de fécondation \pm ESM	61,7% \pm 3,8% ^a	59,6 % \pm 3,4% ^a	38,6% \pm 5,7% ^b	29,5% \pm 8,2% ^b
Écart-type	11,4%	10,4%	17,3%	24,7%
Taux moyen de survie des embryons \pm ESM	61,5% \pm 5,7% ^c	56,5% \pm 7,2% ^c	38,2% \pm 5,7% ^{c,d}	29,7% \pm 8,7% ^d
Écart-type	17,1%	21,6%	17,3%	26,3%
Taux moyen de survie des alevins \pm ESM	87,3% \pm 9,5% ^e	86,6% \pm 6,8% ^e	79,8% \pm 9,2% ^e	48,8% \pm 21,8% ^e
Écart-type	23,3%	16,8%	22,6%	53,5%

L'analyse de la régression linéaire révèle que les taux de fécondation et de survie des embryons ne sont pas significativement corrélés pour les temps de rétention à T_0 ($r^2 = 0,21$), T_{30} ($r^2 = 0,18$) et T_{60} ($r^2 = 0,15$). Alors qu'après 90 minutes de rétention, l'analyse montre qu'il y'a une corrélation positive entre le taux de survie des embryons et le taux de

fécondation avec $r^2 = 0,67$. Ceci indique que la rétention des ovules in vivo 90 minutes après ovulation pourrait engendrer des changements biochimiques dans la composition des ovules qui affectent négativement le développement des embryons.

3. DISCUSSION

Les résultats révèlent que les taux de viabilité élevés des ovules de la carpe argentée, sont atteints lorsque les ovules sont extraits à moins de 30 minutes après ovulation. ces résultats sont identiques à ceux trouvés par plusieurs chercheurs pour d'autres espèces de poissons (McEvory, 1984 ; Springate et al., 1985; Kharroubi et al., 2002).

Cette étude montre que la qualité des ovules de la carpe argentée se garde in vivo 30 minutes après ovulation. La diminution des taux de fécondation, de survie des embryons et de survie des alevins à cause du vieillissement des ovules présente une grande variabilité interspécifique chez les espèces de poissons. Les recherches réalisées par Samarin et al. (2008) sur la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) ont montré que les ovules préservent leur qualité jusqu'au 30^{ème} jour post ovulation à 2°C et jusqu'au 14^{ème} jour à 8°C, alors que les taux de viabilité enregistrent des valeurs faibles à partir du moment de l'ovulation jusqu'au 3^{ème} jour après ovulation. Ces résultats montrent que la viabilité des ovules retenus in vivo après ovulation diffèrent considérablement entre les espèces des eaux tièdes et celles des eaux froides.

La durée pendant laquelle les ovules de la carpe argentée peuvent être retenus sans diminution de leur viabilité est, assez courte. Par conséquent, le pisciculteur doit pouvoir procéder au stripping des ovules aussitôt après ovulation pour assurer des taux de viabilité acceptables. Un planning rigoureux d'injection des femelles permettra de bien gérer leurs moments d'ovulation, à fin d'éviter l'ovulation synchronisée de l'ensemble des femelles pouvant aboutir à des strippings différés des ovules. En effet, il ne serait pas pratique à ce que les femelles arrivent à ovulation au même moment. Les femelles à faire regrouper doivent être rassemblées en lot de 3 à 4 femelles pour faciliter les manipulations d'extraction des ovules et éviter de différer le stripping de certaines femelles ayant ovulé au même moment que celles dont les ovules sont fécondés immédiatement après ovulation. Rappelons que le terme ovulation désigne la libération de l'ovule de son enveloppe folliculaire. L'ensemble des ovules libérés s'accumulent dans la cavité ovarienne et deviennent ainsi, prêtes à être extraites à

l'extérieur de cette cavité.

4. CONCLUSION

Au regard des résultats obtenus dans cette étude, le stripping des ovules de la carpe argentée peut être retardé jusqu'à 30 minutes après ovulation, au maximum. Pendant cette durée, ces ovules restent propres à la fécondation et donnent des taux de viabilité acceptables (59,6% pour le taux de fécondation, 56,5% pour le taux de survie des embryons et 86,6% pour le taux de survie des alevins). Cependant, ce laps de temps est assez court et par conséquent la durée entre le moment d'ovulation et de vieillissement rend le stripping une étape critique dans l'opération de la reproduction artificielle de cette espèce.

De ce fait, il est recommandé, aux pisciculteurs pratiquant la production des semences de la carpe argentée, d'établir un planning d'injection des femelles. Ce dernier, qui doit être strictement respecté, permettra de gérer le temps d'injection en prenant en considération le temps nécessaire de manipulation de chaque femelle et de telle manière à éviter que plusieurs femelles arrivent à ovulation en même temps.

Dans ce contexte, l'étude de la composition biochimique des ovules extraits au moment d'ovulation et aux différents temps de rétention (30, 60 et 90 minutes) s'avère nécessaire pour identifier, d'une part, la relation qui peut lier le vieillissement des œufs à la qualité biochimique des ovules et, d'autre part, les éléments qui peuvent servir de marqueurs de la qualité des ovules de la carpe argentée.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification du Maroc pour le soutien technique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AEGERTER S. & B. JALABERT (2004). Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* *Aquaculture*, 231(1), 59-71.

- BROMAGE N., J. JONES, C. RANDALL, M. THRUSH, B. DAVIES, J. SPRINGATE, J. DUSTON & G. BARKER (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100, 141-166
- BROOKS S., C. R. TYLER & J. P. SUMPTER (1997). Egg quality in fish: what makes a good egg? *Rev. Fish. Biol. Fisher.*, 7(4), 387-416.
- BRY C., R. BILLARD & G. DE MONTALEMBERT (1978). Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation par traitement hormonal chez le brochet (*Esox lucius*). *Bull. Fr. Pêche Pisc.*, 271, 21-32.
- ESCAFFRE A. M. & R. BILLARD (1979). Évolution de la fécondabilité des ovules de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) laissés dans la cavité abdominale au cours de la période post-ovulatoire. *Bull. Fr. Pêche Pisc.*, 272, 56-70.
- HARVEY B. & R.N. KELLEY (1984). Short-term storage of *Sarotherodon mossambicus* ova. *Aquaculture*, 37: 391-395
- KHARROUBI M., M. DROUSSI, A. BADRI, A. BOUZIDI & E. ELBOUSTANI (2002). Rétention des ovules après ovulation dans la cavité ovarienne de la carpe herbivore: composition des ovules et capacité de développement des œufs et des alevins. *Bull. Fr. Pêche Pisc.*, 365-366, 507-523.
- MC EVOY L. A. (1984). Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish. Biol.*, 24(4), 437-448.
- RIZZO E., H.P.GODINHO & Y. SATO (2003). Short-term storage of oocytes from the neotropical teleost fish *Prochilodus marginatus*. *Theriogenology*, 60(6), 1059-1070.
- SAMARIN A. M., M. R. AHMADI, T. AZUMA, G. R. RAFIEE, B. M. AMIRI & M. R. NAGHAVI (2008). Influence of the time to egg stripping on eyeing and hatching rates in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* under cold temperatures. *Aquaculture*, 278(1), 195-198.
- SAMARIN A. M., M. BLECHA, D. BYTYUTSKYY & T. POLICAR (2015). Post-ovulatory oocyte ageing in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations and ploidy anomalies. *Turk. J. Fish. Aqu. Sci.*, 15, 435-441.
- SPRINGATE J. R. C., N. R. BROMAGE, J. A. K. ELLIOTT & D. L. HUDSON (1984). The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eyeing, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 43(1-3), 313-322.