

Etude de la dynamique testiculaire du mâle carpe argentée *Hypophthalmichthys molitrix* (Cuvier et Valenciennes, 1844).

Sadouni soraya¹ Iguerouada Mokrane²
s.sadouni@cnrdpa.dz ; Sadsoraya1@gmail.com

Résumé : Dans le but d'explorer la dynamique de reproduction des mâles Carpe argentée, deux nouveaux paramètres biométriques histologiques au niveau testiculaire ont été introduits : le nombre et le diamètre des tubes séminifères. L'évolution du nombre et du diamètre des tubes séminifères est comparée à l'évolution des indices macroscopiques RGS, RHS et le facteur de condition K ainsi qu'aux stades de maturité sexuelle. L'interaction entre les deux paramètres (diamètres et nombre de tubes) montre que lorsque le diamètre moyen est maximal, le nombre de tubes est minimal et vice versa. Le stade 3 enregistre le nombre de tubes le plus bas et les diamètres les plus élevés par contre les stades 1 et 2 immature et en maturation possèdent les diamètres les plus bas mais le nombre de tubes séminifères est important. Le RGS et le facteur K montrent une relation inverse par rapport au nombre de tubes séminifères et une relation directe avec les diamètres des tubes séminifères. Le RHS par contre augmente avec l'augmentation du nombre de tubes séminifères et diminue avec l'augmentation de la surface des tubes.

Mots clés : diamètres, indices macroscopiques, *Hypophthalmichthys molitrix*, nombre, tubes séminifères

Abstract: In order to explore the reproductive dynamics of male Silver Carp, two new histological biometric parameters were introduced at the testicular level: the number and diameter of seminiferous tubules. The number of seminiferous tubules and their diameter are compared to the macroscopic indices GSI, HSI and the condition factor K, as well as to the stages of sexual maturity. The interaction between the two parameters (diameters and number of tubules) shows that when the average diameter is maximum, the number of tubules is minimum and vice versa. The mature stage 3 has the lowest number of tubes and the highest diameters, while immature and maturing stages 1 and 2 have the lowest diameters but the number of seminiferous tubules is high. The GSI and the K factor show an inverse relationship with the number of seminiferous tubules and a direct relationship with the diameters of the seminiferous tubules. The HSI, on the other hand, increases with the increase in the number of seminiferous tubules and decreases with the increase in the diameter of the tubules.

Keyword: diameter, *Hypophthalmichthys molitrix*, macroscopic indices, number, seminiferous tubules,

Introduction

Le processus gamétogénique chez le mâle téléostéen est divisé en deux phases, la spermatogenèse est la première phase qui inclut la prolifération des spermatogonies, la multiplication des spermatocytes I suite à plusieurs divisions mitotiques, la production de spermatocytes II par division méiotique et leur différenciation en spermatides, le processus se termine par la production de spermatozoïdes flagellés qui est la spermiogénèse (Billard, 1986). L'échelle macroscopique de l'étude du développement sexuel est basée sur des caractères externes. Une mesure objective mettant en relation le poids des gonades et celui du corps a été introduite : le rapport gonado-somatique (R.G.S.) (Monteiro, 2004), la forme de la courbe d'évolution mensuelle du R.G.S. peut aussi donner une indication sur la stratégie et la période de reproduction d'une espèce (West, 1990). L'évolution du rapport hépatosomatique (R.H.S.) est fondamentale pour voir les changements du poids et du volume subis par le foie au cours du cycle sexuel (Nagahama, 1994). Le facteur de condition (K), qui en absence d'analyses biochimiques, peut fournir une estimation des variations saisonnières d'énergie (Dutil et Lambert, 1995). Du fait, que l'échelle macroscopique de développement sexuel soit basée sur des caractères de la gonade, sur lesquels il peut y avoir ambiguïté, l'étude de l'échelle microscopique est nécessaire. En effet, elle constitue un moyen plus sûr de suivre l'évolution du développement des gonades (Bouaziz, 2007).

La présente étude porte sur les gonades du mâle carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*), un cyprinidé d'eau douce largement utilisé en aquaculture, originaire d'Asie et introduit dans le barrage d'Ighil emda par ensemencement d'alevins en 2006. Le but de

cette étude est de comprendre la dynamique testiculaire en fonction des paramètres individuels en considérant les paramètres macroscopiques qui sont le rapport gonado-somatiques (RGS), hépatosomatique (RHS) et le facteur de condition (K) ainsi que les différents stades de développement et de l'autre côté l'étude histologique où les tubes séminifères sont comptés et leurs diamètres mesurés sur des coupes de testicules.

Matériel et méthodes

Zone d'échantillonnage

Le barrage d'Ighil Emda de Kherrata est situé dans la wilaya de Bejaia, à 60 km au sud -est de la ville de Bejaia, et à 40 km environ au nord de Sétif. Le réservoir de Kherrata est installé au confluent des oueds El Berd et Embarek. Sa Superficie est de 719 ha avec une capacité de 117 millions de m³, sa profondeur est entre 0.5 et 74 m. Il est utilisé dans la production de l'énergie, l'irrigation, l'alimentation en eau potable et le pompage.

Echantillonnage

Cinquante (50) individus mâles, ont été pêchés dans le barrage d'Ighil emda entre novembre 2010 et septembre 2011. Le poisson a été pêché à la senne coulissante par les pêcheurs du barrage d'Ighil emda. Aussitôt arrivés au laboratoire, les poissons éviscérés et les gonades ont été pesés par une balance électronique, (Ohaus Adventurer AR2140). Les gonades ont été fixées dans du formol 10%.

Etude macroscopique

La détermination de la période de reproduction a été réalisée en calculant le rapport gonado-somatique (RGS) qui est le rapport entre le poids de la gonade et le poids du poisson éviscéré multiplié par 100. Ce dernier, défini par Bougis (1952), est basé sur la variation de

la masse des gonades au cours du cycle sexuel. Parallèlement au RGS, nous avons calculé le rapport hépato-somatique (RHS) ; celui-ci est basé sur la variation de la masse du foie au cours du cycle sexuel et défini par le rapport entre le poids du foie et le poids du poisson éviscéré multiplié par 100. Le coefficient de condition (K), permet d'estimer les modifications saisonnières de l'embonpoint sous l'influence des facteurs externes (milieu) ou internes (physiologiques). Il est défini par le rapport entre la masse du poisson et la longueur puissance 3 du poisson multiplié par 100.

Etude microscopique (histologique)

Les gonades ont été analysées par la technique histologique standard (Humason, 1979 ; Pearce, 1972). Elles ont été fixées dans du formol à 10 %, déshydratées dans une série de bains d'éthanol (70°, 96°, et 100°), éclaircies au xylène, puis imprégnées à la paraffine à 60 °C pendant 4 heures. Tous les blocs de tissus ont été coupés en sections fines de 3 µm, colorées à l'hématoxyline-éosine, puis observées au microscope optique (Optika DM binocular digital microscope 2.0 Mpx).

Calcul du diamètre et du nombre de tubes séminifères

L'étude de la dynamique de reproduction du mâle carpe argentée a été réalisée par le calcul du nombre et du diamètre des tubes séminifères. Les diamètres des tubes séminifères ont été mesurés par le logiciel Ecoview. Les diamètres moyens des tubes séminifères pour chaque mois ont été calculés en comptant 30-40 tubes séminifères de toutes les lames colorées au cours du même mois et représentées en moyenne $\pm$ écart-type. Le nombre de tubes séminifères a été calculé sur un Grossissement constant ($\times 10$) ce qui correspond donc à

l'examen d'une surface constante sur toutes les coupes histologiques.

Etude biométrique

Méthodes de calcul

Des images JPEG de coupes histologiques ont été capturées à partir d'un microscope avec caméra intégrée (Optika DM binocular digital microscope 2.0 Mpx). Une échelle intégrée de 100 µm a été défini dans le logiciel, 1pixel = X µm² à calibrer selon l'objectif utilisé 10X. Un outil de dessin a été utilisé et le logiciel calcule la longueur du tube séminifère à l'intérieur de cette forme. Le comptage du nombre de tubes séminifères a été réalisé pour chaque coupe sur un même champ microscopique.

Test statistiques

Les corrélations entre les variables RGS-diamètres des tubes séminifères et RGS-nombre de tubes séminifères, RHS-diamètre des tubes séminifères et RHS-nombre de tubes séminifères ainsi que la corrélation entre le facteur K- diamètre des tubes séminifères et facteur K-nombre de tubes séminifères ont été évaluées par le coefficient de Spearman.

Résultats et discussion

Différents stades microscopiques de développement du mâle *Hypophthalmichthys molitrix*

Trois stades ont été définis microscopiquement. Stade de spermatogonie qui est le stade immature (fig. 1a), stade de spermatides qui est le stade en maturation (fig. 1b) et le stade des spermatozoïdes qui est le stade mature (fig. 1c). Ces différents stades ont été définis selon Sadouni et Iguerouada (2019).

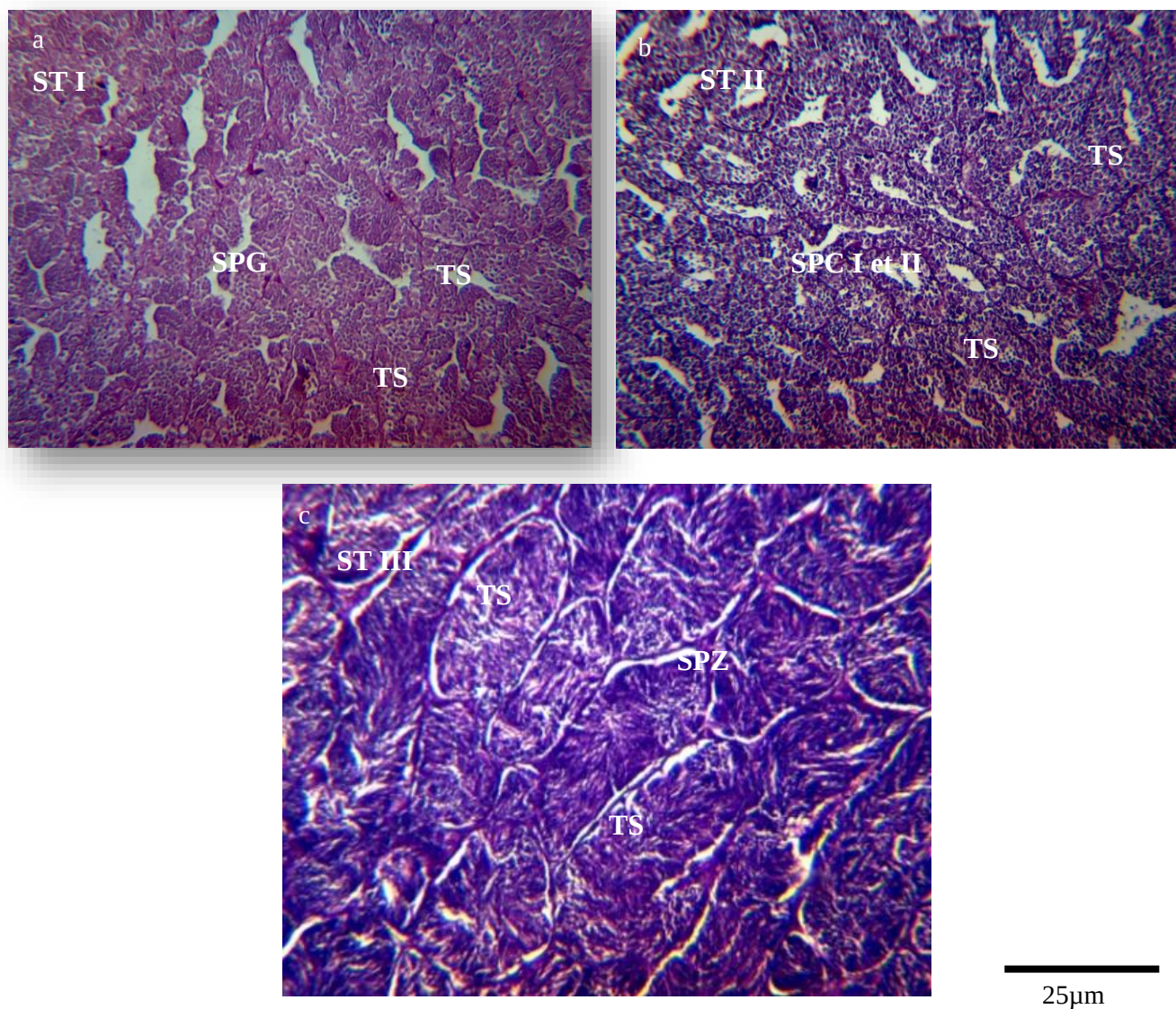


Figure 1. Différents stades microscopiques de développement du mâle *H. molitrix* SPG . spermatogonie ; TS. tubes séminifères ; SPCI. spermatocyste I ; SPCII .spermatocyste II ; SPZ .spermatozoïde ; I. stade I ; II. Stade II ; III . stade III

Variation du diamètre et du nombre moyens des tubes séminifères au cours du cycle

La moyenne des diamètres des tubes (Fig.2 a), atteint une valeur maximale en été (juin, juillet et août) avec un maximum de

981 μm en juillet, il diminue à partir de septembre, et remonte les mois d'hiver à partir de décembre pour atteindre 200 μm en février. L'augmentation du diamètre en été signifie que la maturation est active. L'interaction entre les deux paramètres diamètres et nombre de tubes montre que lorsque le diamètre moyen est maximal, le

nombre de tubes est minimal et vice versa Rahmani et al. (2017).

Le nombre des tubes séminifères (Fig.2 b) est minimal les mois de mai et juin (17 et 20 tubes) et atteint son maximum les mois d'hiver (décembre, janvier et février) avec un maximum de 130 en février, les mois d'automne à partir de septembre ainsi que le mois de mars enregistrent des valeurs de nombre de tubes intermédiaires entre 41 et 82 tubes. Le mois d'octobre n'a pas été considéré par absence de matériel biologique. Cela montre que durant le cycle de reproduction avant maturation le nombre de tube est minimal.

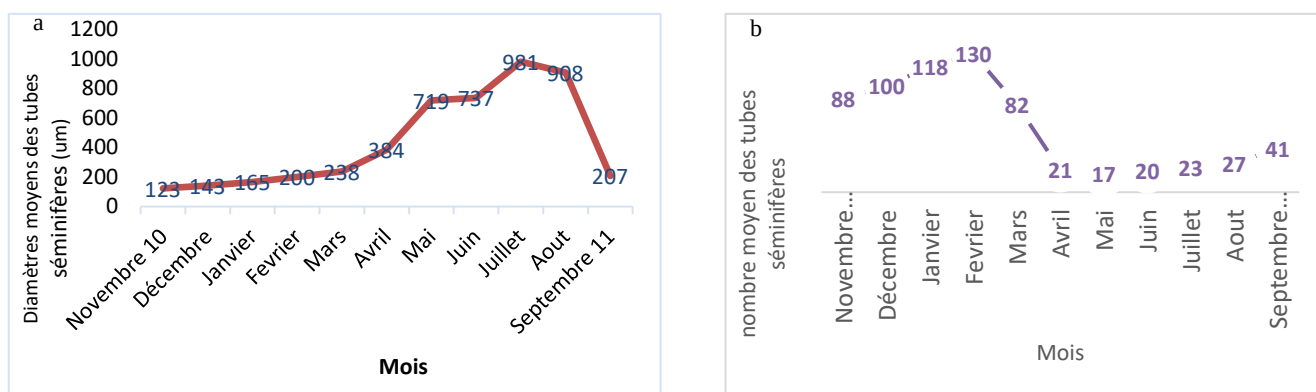


Figure 2 .Evolution du diamètre en (a) et du nombre moyen en (b) des tubes séminifères au cours des mois

Il y'a une amplification cellulaire induisant l'augmentation de la surface du tube, ce qui conduit à cette évolution inverse entre les deux paramètres. L'augmentation du diamètre reviendrait à conclure que la spermatogenèse est arrêtée et qu'elle est remplacée par la spermiogénèse. Cela veut dire que la spermiogénèse est active à partir d'avril et la spermatogénèse arrive par la suite au début de l'automne. Ces observations concordent avec les conclusions

de Djoudad-Kadji (2013) et Bouhbouh, (2002) sur le *barbus callensis*.

Evolution du diamètre et du nombre des tubes séminifères en fonction des stades de maturité au cours du cycle.

On remarque (Fig.3 a et b), que le stade 3, enregistre le nombre de tubes le plus bas et les diamètres les plus élevés par contre les stades 1 et 2 immature et en maturation possèdent les diamètres les plus bas mais le nombre de tubes séminifères est important.

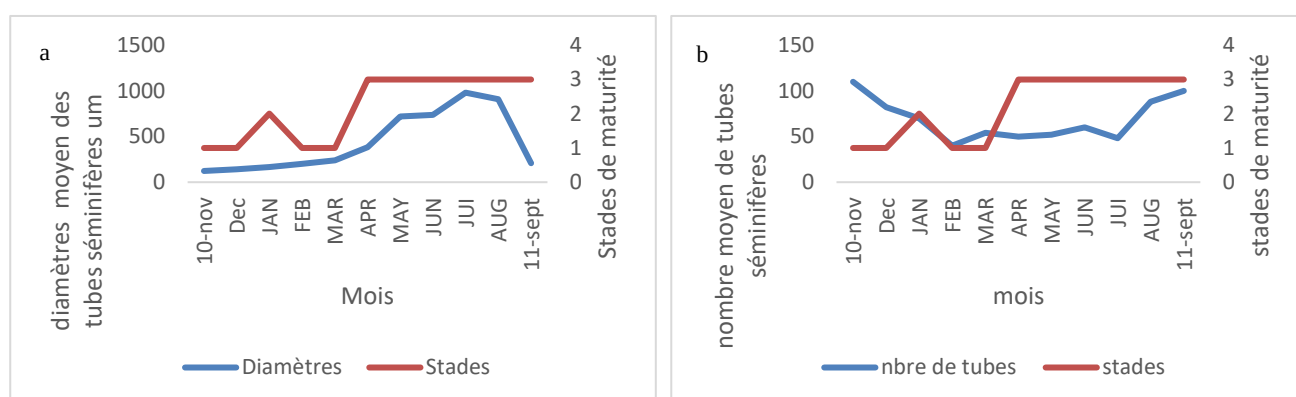


Figure 3 Evolution des diamètres en (a) et du nombre de tubes séminifères en (b) en fonction des stades de maturation

Interaction entre les diamètres et le nombre des tubes séminifères et le RGS en fonction des mois

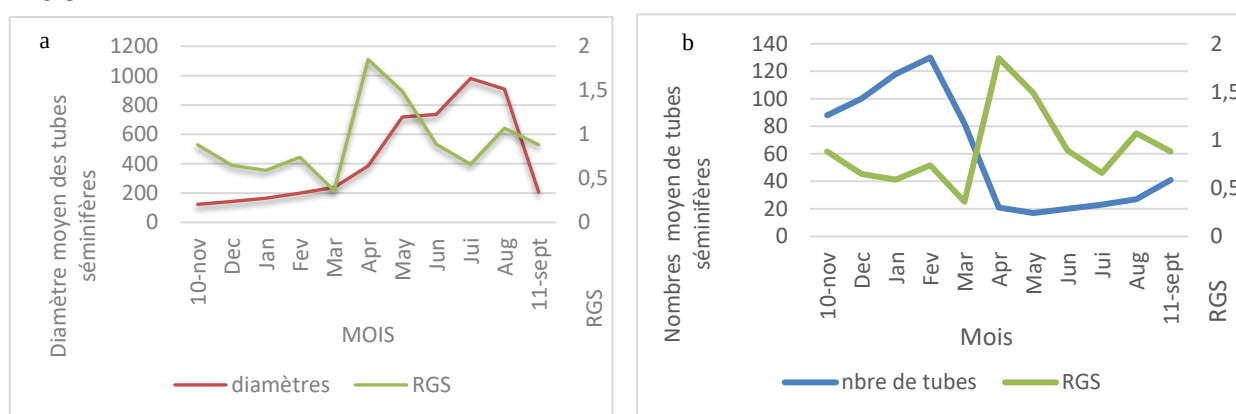


Figure 4 Courbe d'évolution du RGS en fonction du diamètre moyen en (a) et du nombre en (b) des tubes séminifères sur une période de 11 mois. La courbe du RGS est une version précédente couvrant une période de 18 mois publié par Sadouni et Iguerouada, (2019) adapté pour ce graphe.

Durant la saison de reproduction (Fig. 4 a et b), la surface des coupes de testicules est occupée par un nombre faible de tubes, ce qui est dû à la valeur élevée de leurs diamètres. Ceci explique la relation inverse entre le RGS et le nombre de tubes observé entre février et septembre. A ce moment, les tubes sont réduits et par conséquent le RGS prend des valeurs minimales. Entre avril et août, la spermatogenèse est intense, ce qui a pour conséquences l'augmentation des diamètres des tubes et leur saturation en spermatozoïdes, d'où l'élévation du RGS.

Les valeurs les plus élevées pour le RGS et les diamètres des tubes séminifères sont enregistrés au printemps et en été. Chez le Barbeau de l'oued Soummam, Djoudad-Kadji et *al.* (2013) sont arrivés aux mêmes conclusions chez *Barbus callensis*.

Il existe une corrélation faible ($p = 0.255$) mais positive entre le RGS et le diamètre des tubes séminifères, la relation est modérée et influencée par d'autres facteurs, il existe une tendance qui relie les deux paramètres à mesure que les diamètres augmentent le RGS tend également à augmenter. Biologiquement, cela reflète le début d'un

développement gonadique dans lequel les testicules commencent à se dilater parallèlement à l'augmentation du poids des gonades. Toutefois, la faiblesse de la corrélation indique que cette relation est encore peu marquée, probablement parce que les individus se trouvent à des stades de maturations différents.

La relation entre le RGS et le nombre de tubes séminifères ($p = -0.594$), est monotone décroissante, cette valeur signifie que la tendance est nette mais pas parfaite. Il y'a donc une relation inverse assez marquée entre les deux variables. Cette corrélation négative est modérément forte, ce qui suggère qu'il existe un lien biologique réel entre ces deux paramètres. Un testicule plus développé avec un RGS élevé présente des

tubes plus large, donc moins nombreux dans un champs fixe, bien que le volume globale des gonades soit plus important. Ce résultat est donc compatible avec une progression de la maturation sexuelle et l'hypertrophie des structures tubulaires.

La courbe du RGS suit de près celle des diamètres des tubes séminifères avec un léger décalage dans le temps, ce qui permet de conclure que la variation du RGS est occasionnée par la dynamique des diamètres des tubes séminifères, elle-même et une conséquence des variations du volume spermatique, des résultats comparables ont été obtenues chez *B.Callensis* de l'oued Agrioun à Bejaia (Aberkane, 2011).

Interaction entre les diamètres et le nombre des tubes séminifères et le RHS en fonction des mois

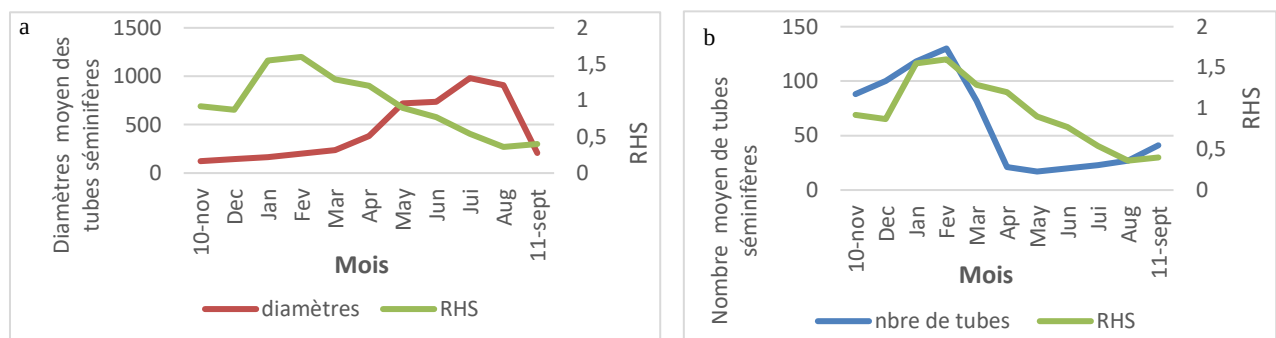


Figure 5 Courbe d'évolution du RHS en fonction du diamètre en (a) et du nombre des tubes séminifères en (b) sur une période de 11 mois. La courbe du RHS est une version précédente couvrant une période de 18 mois publié par Sadouni et Iguerouada, (2019) adapté pour ce graphe.

Les variations du RHS sont inverses à celles de la moyenne des diamètres des tubes et du RGS (Fig. 5 a et b.)

Le RHS minimal est observé en période de maturation des mâles entre mars et août au moment où les diamètres sont au maximum, et augmente entre novembre et février, le poisson durant cette période utilise ses réserves lipidiques, le RHS maximal est observé au

moment où le nombre de tubes est maximal. La relation entre le RHS – Diamètres ($p = -0.571$) est une Corrélation monotone négative modérée à forte, la relation est assez nette mais pas parfaite cela traduit une tendance inverse régulière : les valeurs ne sont pas alignées parfaitement, mais le sens général est clair, elle suggère un lien biologique.

Cette relation inverse suggère que chez les

individus présentant une activité testiculaire plus intense reflétée par des tubes séminifères plus large, les réserves hépatiques tendent à diminuer. Ce résultat s'explique par la mobilisation des ressources énergétiques du foie au profit du développement gonadique. Quant à la relation entre le nombre de tubes séminifères et le RHS, qui est de $p=0.692$, ce

résultat suggère que les individus ayant un plus grand nombre de tubes présentent un RHS plus élevé. Cela indique une activité hépatique soutenue accompagnant le développement testiculaire nutritionnel et énergétique qui favorise le développement des organes reproducteurs, y compris la croissance tubulaire dans les testicules.

Interaction entre les diamètres et le nombre de tubes séminifères ainsi que l'indice K en fonction des mois.

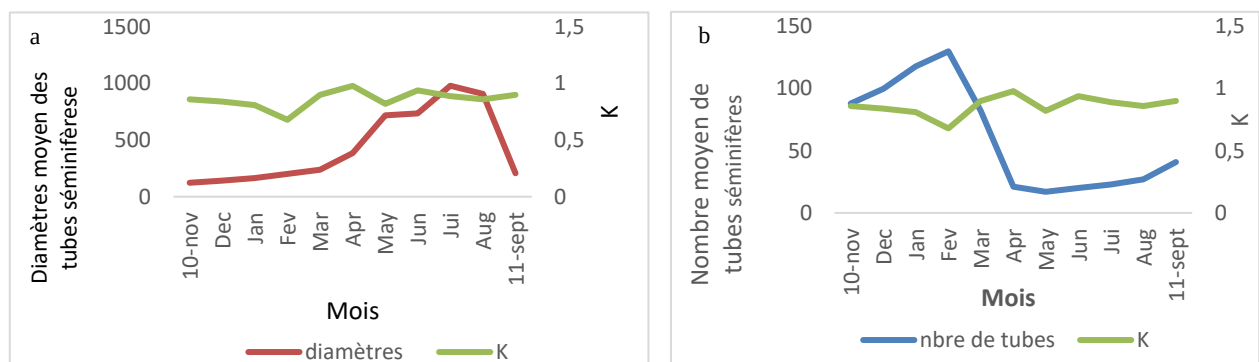


Figure 6 Courbe d'évolution du facteur K en fonction du diamètre en (a) et du nombre des tubes séminifères en (b) sur 11 mois.

L'évolution du facteur K (fig.6 a) par rapport aux diamètres et nombre de tubes séminifères est identique à celle du RGS. Le coefficient de Spearman ($p= 0.259$) indique une corrélation positive faible entre le facteur de condition K et le diamètre des tubes séminifères. Cela suggère qu'il existe une légère tendance selon laquelle les individus présentant un meilleur état général (valeur de K plus élevé) tendent à avoir des tubes séminifères plus larges. Biologiquement, cela peut s'expliquer par le fait qu'un bon état nutritionnel et énergétique favorise le développement des testicules y compris la croissance tubulaire. Le coefficient ($p= -0.686$) entre K et le nombre de tubes (fig.6b), indique qu'à mesure que l'état corporel du poisson s'améliore, K est élevé, le nombre de tubes visibles par champs diminue. Ce résultat peut s'expliquer

par l'hypertrophie des tubes séminifères au cours de la maturation sexuelle : les tubes deviennent plus larges ce qui réduit leur densité dans un champ fixe. Chez les individus en bon état corporel, souvent plus avancés en maturation, les tubes occupent d'avantage d'espaces, conduisant à un nombre apparent plus faibles dans le champ, même si le volume testiculaire est globalement plus développé. Cela reflète un lien indirect entre la qualité physiologique globale (via K) et le développement testiculaire fonctionnel.

Conclusion

Le but du présent travail est l'étude de la dynamique testiculaire de *H.molitrix* par une nouvelle approche quantitative. Les principaux paramètres considérés ont été le nombre et le diamètre des tubes (échelle microscopique), le RGS, le RHS ainsi que le facteur K (échelle macroscopique).

L'observation des lames histologiques des gonades mâles de *H.molitrix* a permis de distinguer trois stades évolutifs de la spermatogenèse. En effet, le diamètre maximal des tubes séminifères observés en période de fraie coïncide avec les valeurs minimales du nombre de tubes. Par conséquent, les courbes obtenues à partir de ces variations sont proportionnellement inverses. A l'examen des paramètres tels que le RGS ou le RHS, il est possible d'admettre que le poids des gonades de *H.molitrix* mâle est en lien avec le diamètre des tubes séminifères et que les réserves hépatiques sont mobilisées pour l'effort de reproduction.

Le diamètre et nombre de tubes séminifères, ont permis de confirmer le moment exact où les mâles arrivent à maturation. Cette validation ouvre des perspectives d'étude de la reproduction par le seul recours à l'histologie.

Références

Aberkane, B. (2011). *Etude de la reproduction du Barbeau (Barbus barbus callensis) en fonction des paramètres liés à l'individu et à l'environnement.* (Thèse de doctorat). Université Abderhmane mira, Bejaia.

Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod.Nutr.Dev*, 26(4): 877-920.

Bouaziz, A. (2007). *La sardinelle (Sardinella aurita Valenciennes, 1847) des côtes algériennes : distribution, biologie et estimation des biomasses.* (Thèse de Doctorat). USTHB, Alger.

Bougis, P. 1952. Recherches biométriques sur les rougets (*Mullus Barbatulus L.* et *Mullus surmuletus L.*). *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 58 , 59-174.

Bouhbouh, S. (2002). *Bio-Écologie de Barbus callensis (Valencienne1842) and Barbus fritschi (Günther 1874) au niveau du réservoir Allal el fassi*

(Maroc). (Thèse de Doctorat). Maroc.

Djoudad- Kadji, H. Kherraz,A. Chevalier, C. Iguerouada,M. Exbrayat,J.M. (2013). Etude de la dynamique testiculaire de l'espèce *Barbus callensis* (Valenciennes 1842) en fonction des paramètres macroscopiques et microscopiques. *Rev.Fr. Histotechnol.* 26 : 107-121

Dutil, J.D. Lambert, Y. (1995). Potential bias in growth rate measurements associated with differential mortality of cod in poor condition : the case of cod in the northern Gulf of St. Lawrence. *ICES C.M.*, 1995/P: 07, 1-9.

Humason, L. (1979). *Animal tissue techniques 4^e édition* (ed W.H Freeman and co). 661 pages.

Monteiro, A. (2004). *Biologie et pêche des anguilles Hemiramphus brasiliensis et Hyporhamphus unifasciatus (Poissons – Téléostéens – Hemiramphidae) dans la région Nord- Est du Brésil.* (Thèse de Doctorat). Université de Bretagne Occidentale, Bretagne.

Nagahama, Y. (1994). Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. Dev. Biol.*, 38: 217-229.

Pearse, A.G.E. (1972). *Histochemistry theoretical and applied volume2 analytical technology* (ed Churchill livingstone). London, England

Rahmani, A. Ichealal, K. Iguerouada, M. (2017). Seminiferous tubules number and surface : validation of objectives parameters to estimate reproduction activity of male European anchovy (*Engraulis encrasicolus,L.*). *Cybiuim* 42(2):169-176.

Sadouni, S. Iguerouada, M. (2019). Factors limiting successful reproduction in wild silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, in Kherrata Reservoir, Algeria. *Fisheries and aquatic life* 27 :159-168.

West, G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41: 199-222.