ÉVOLUTION HÉMATOLOGIQUE DU BLACK-BASS *MICROPTERUS SALMOIDES* SUR UN CYCLE ANNUEL DE REPRODUCTION

par

Marie-José KOKKIDIS (1), Vincent GOUBIER (2), Maryse MARTIN (1, 2),
Isabelle HARDY (1) & Jean-Marie EXBRAYAT (1)

RÉSUMÉ. L'évolution hématologique de 31 femelles black-bass (*Micropterus salmoides*) matures, maintenues en condition d'élevage intensif, a été décrite sur un cycle annuel de reproduction. Les valeurs annuelles moyennes de l'hématocrite, du nombre d'hématies et de la teneur en hémoglobine obtenues sont respectivement 34%, 2,0 $\times 10^6$ /l et 65 g/l. L'évolution hématologique annuelle suit dans l'ensemble l'évolution pondérale des animaux étudiés. Durant le mois de la ponte (mai 1999), on retrouve des valeurs équivalentes aux valeurs moyennes annuelles.

ABSTRACT. Haematological changes in the blood of cultured black-bass (*Micropterus salmoides*) during an annual sexual reproductive cycle.

To obtain data on a complete annual reproductive cycle of *Micropterus salmoides*, an haematological follow-up of three years old females black-bass, cultured in natural pond conditions, was undertaken from October 1998 to September 1999. Thirty-one fishes were caught at different times of the reproductive cycle, and the arterial blood collected and analysed. Annual means of blood parameters obtained such as haematocrit, erythrocyte count, haemoglobin concentration were respectively 34%, 2,0 $\times 10^6$ /l and 65 g/l. Annual haematological evolution was correlated to weight evolution. During spawning period, parameter values were similar to yearly means values.

Keywords. *Micropterus salmoides* - Intensive breeding - Reproduction - Physiology - Haematology.

Les critères hématologiques ont été utilisés chez de nombreuses espèces de poissons afin de caractériser l'état physiologique des animaux, de définir des "normes" de santé de l'animal et d'évaluer l'influence de différents facteurs environnementaux, pollutions, anémies ou stress (Romestand *et al.*, 1983; Adams *et al.*, 1993; Chen *et al.*, 1995; Houston, 1997). L'évolution hématologique d'un poisson, facilement réalisable, renseigne précisément sur la potentialité d'oxygénation des tissus et donc sur la performance globale de l'animal.

En ce qui concerne *Micropterus salmoides*, téléostéen à fort potentiel aquacole, la littérature ne fournit pas, ou peu, de références sur les critères hématologiques classiquement recherchés.

Nos études concernant le black-bass visent à une meilleure maîtrise de la reproduction de ce carnassier en condition d'élevage intensif. Différents aspects de son cycle annuel de reproduction ont déjà été pris en compte lors de nos travaux antérieurs (Goubier *et al.*, 1997;

(1) Laboratoire de Biologie générale et histologie, Université Catholique de Lyon et Laboratoire de Reproduction et Développement des Vertébrés, E.P.H.E., 25 rue du Plat, 69288 Lyon Cedex 02, FRANCE. [m]kokkid@univ-catholyon.fr

(2) Institut Supérieur Agriculture Rhône-Alpes, Cellule d'Aquaculture et de Gestion des Écosystèmes Aquatiques, 31 place Bellecour, 69288 Lyon Cedex 02, FRANCE.

Martin *et al.*, 1997; Kokkidis *et al.*, 1998). Le suivi hématologique sur un cycle annuel incluant la reproduction semblait être opportun afin d'obtenir, d'une part, des données reflétant l'évolution de son état de santé au cours d'une année et, d'autre part, un profil hématologique témoin d'un état de santé satisfaisant des femelles black-bass au moment de la période de ponte.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux

Trente et une femelles âgées de trois ans ont été pêchées d'octobre 1998 à septembre 1999. Élevés dans une ferme de production aquacole du Rhône (France), les animaux étaient nourris, sur l'ensemble de l'étude, au moyen de granulés pour Salmonidae complétés par du poisson fourrage pendant la saison froide (aliments Aqualife présentant des taux respectifs de protéines brutes, matières grasses, cendres et cellulose de 46, 18, 8 et 1,8%). Le bassin de culture en terre d'une superficie de 10000 m² contenait une charge en poissons variant de 2 à 4 tonnes par hectare.

Pêches

Sept périodes de pêches nous ont permis de réaliser notre échantillonnage d'octobre 1998 à septembre 1999. Deux pêches ont encadré la période probable de ponte se situant habituellement en mai lorsque la température de l'eau avoisine les 16-18°C.

Les animaux pêchés étaient maintenus dans un caisson rempli d'eau du bassin de culture afin d'être transportés (une heure environ) dans les meilleures conditions possibles jusqu'au laboratoire. Bien que reconnus comme étant un facteur de stress supplémentaire, les effets du transport des animaux sur les paramètres hématologiques restent encore mal maîtrisés. Nous avons donc pris soin durant ce protocole de traiter l'ensemble des animaux de la même manière, soit un temps de transport identique jusqu'au laboratoire, et des dosages effectués immédiatement après la ponction sanguine. Pour les mêmes raisons, aucun anesthésiant n'a été utilisé lors des prélèvements sanguins.

Prélèvements

Les prélèvements sanguins ont permis de ponctionner quatre à cinq millilitres de sang au niveau de l'arc hémal. L'EDTA a été utilisé comme anticoagulant afin de réaliser les dosages sur sang total (1,7 mg d'EDTA/ml de sang).

Dosages

L'hémoglobine, l'hématocrite et le dénombrement érythrocytaire ont été mesurés par les techniques d'analyses traditionnelles (spectrophotométrie du cyanure d'hémoglobine pour l'hémoglobine kit Merckotest Diagnostica, microhématocrite par centrifugation pour l'hématocrite et dénombrement des hématies sur cellule de Thoma après dilution en Unopette Becton-Dickinson RBC 5851 Vacutainer systems for manual determination methods).

Les constantes érythrocytaires ont été calculées de la manière suivante:

VGM: volume globulaire moyen (en fl) $\times$ Ht (en l/l) / Nb hématies (Téra/l);

TGM: teneur globulaire moyenne (en pg) $\times$ Hb (g/l) / Nb hématies (Téra/l);

CCMH: concentration corpusculaire moyenne de l'hémoglobine (en g/l) $\times$ Hb (g/l) / Ht (l/l).

RÉSULTATS

Le tableau 1 présente l'évolution de l'ensemble des paramètres morphométriques et hématologiques des femelles black-bass sur un cycle annuel de reproduction ainsi que les valeurs calculées des différentes constantes érythrocytaires.

Les données obtenues pour les deux pêches effectuées au mois de mai se sont révélées identiques, quel que soit le paramètre hématologique étudié. Nous avons donc choisi de regrouper ces deux périodes.

Habituellement utilisé afin de cibler la période de ponte, le suivi des index gonadosomatique [GSI = Poids gonades (g)/poids (g)*100], valeur maximale de 8% en mai 1999) et hépatosomatique [HSI = Poids foie (g)/poids (g)*100], valeur maximale de 3,3% en avril 1999) permet d'affirmer que la période de ponte a eu lieu en mai 1999.

L'hématocrite et le nombre d'hématies présentent tous deux des valeurs minimales en avril et maximales en juin 1999 pour l'hématocrite et décembre 1998 pour le nombre d'hématies (Tableau 1). Le taux d'hématies présente une valeur élevée lors des deux premières pêches pour ensuite diminuer vers un minimum en avril, puis augmenter à nouveau progressivement jusqu'en juin 1999. Il suit, de ce fait, le même profil d'évolution que l'hématocrite sans toutefois retrouver ses valeurs élevées de départ.

On note pour la teneur en hémoglobine des valeurs élevées en octobre et surtout en décembre 1998 (78 g/l) décroissant jusqu'à un taux minimum d'environ 40 g/l en avril 1999. Une progression régulière permet ensuite d'obtenir des taux de l'ordre de 67 puis 73 g/l en juin et septembre 1999. On constate pour ce dernier mois un écart-type important de ± 16 g/l.

La concentration corpusculaire moyenne de l'hémoglobine CCMH présente des valeurs basses en avril et juin 1999, et beaucoup plus élevées en décembre 1998 et septembre

Tableau 1. Evolution des paramètres morphométriques et hématologiques de femelles black-bass (*Micropterus salmoides*) sur un cycle annuel de reproduction. [Evolution of morphometric and haematologic parameters of females black-bass (*Micropterus salmoides*) during an annual reproductive cycle.]

Dates pêches	Nombre femelles	Poids		Longueur		GSI (%)	HSI (%)	Hématocrite	
		(g)	+/-	(cm)	+/-			(%)	+/-
28 octobre 98	3	240	41	28	3	2,2	1	-	-
20 décembre 98	4	182	31	24	1	2,2	2,3	34	6
1 avril 99	5	185	24	24	1	3,3	3,3	26	3
10 et 25 mai 99	11	219	30	26	3	8,0	2,3	34	4
24 juin 99	5	274	58	26	2	3,2	2,5	42	4
15 septembre 99	3	255	56	26	2	1,4	1	35	6
Moyenne annuelle		226		26				34	

Dates pêches	Nombre d'hématies		Taux d'hémoglobine		CCMH		TGM		VGM	
	(Téra/l)	+/-	(g/l)	+/-	(g/l)	+/-	(pg)	+/-	(fl)	+/-
28 octobre 98	2,1	0,4	70,5	13	-	-	34	5	-	-
20 décembre 98	2,5	0,1	78,0	5	235	32	31	3	134	23
1 avril 99	1,4	0,2	40,0	2	158	13	29	6	185	44
10 et 25 mai 99	1,9	0,4	62,0	9	179	17	34	9	186	40
24 juin 99	2,1	0,3	67,0	6	160	18	33	4	209	33
15 septembre 99	1,8	0,6	72,8	16	205	14	41	6	203	38
Moyenne annuelle	2,0		65,1		187		34		183	

1999. Le volume globulaire moyen VGM présente une valeur minimale en décembre 1999 et une progression régulière jusqu'en septembre de l'année suivante. La teneur globulaire moyenne, TGM, reflète de la quantité d'hémoglobine dans une hématie, montre un minimum en avril 1999 pour atteindre un maximum en septembre 1999.

DISCUSSION

Valeurs annuelles moyennes des paramètres hématologiques

L'hématocrite est la mesure la plus communément réalisée. Snieszko (1960) et Adams *et al.* (1993), travaillant sur la recherche de facteurs illustrant un état de santé des poissons, utilisent l'hématocrite comme premier outil de diagnostic de bonne santé des poissons. La valeur moyenne annuelle trouvée pour l'hématocrite (34%) rejoint la valeur moyenne (35%) observée par Clark *et al.* (1979) pour des black-bass âgés de 1 à 4 ans et se situe dans les "normes" de 20 à 35% définies par Korzhuev (1964). D'une manière plus générale, Romestand *et al.* (1983), étudiant plusieurs espèces de poissons d'eau douce, trouvent des hématocrites variant de 28 à 38% pour les Cyprinidae et 34 à 37% pour les Anguillidae et Percidae, sur des pêches réalisées à la saison chaude et sur des animaux sauvages. On constate, de même, que cette valeur annuelle moyenne de 34% correspond à la valeur obtenue durant la période de ponte (mai 1999) lors de notre étude, valeur obtenue aussi par Clark *et al.* (1979) lors de leur pêche de mai (34,6%) pour *Micropterus salmoides*.

Les valeurs annuelles moyennes obtenues pour le nombre d'hématies et la teneur en hémoglobine sont respectivement de $2,0 \times 10^6$ /l et $65 \mu\text{g/l}$ de plasma. Clark *et al.* (1979) relèvent, pour *Micropterus salmoides*, un nombre d'hématies moyen inférieur ($1,81 \times 10^6$ /l) avec toutefois des valeurs extrêmes allant de 0,98 à $2,76 \times 10^6$ /l, alors qu'ils obtiennent des concentrations similaires en hémoglobine ($62 \mu\text{g/l}$). Des nombres d'hématies aussi élevés sont relatés par Haws et Goodnight (1962) pour *Silurus glanis* ($2,16 \times 10^6$ /l). Romestand *et al.* (1983) présentent des taux d'hématies inférieurs pour toutes les espèces d'eau douce étudiées, mais relèvent des taux avoisinant ceux que nous avons trouvés lors de notre expérimentation pour la plupart des espèces marines suivies, avec un nombre d'hématies pouvant atteindre plus de 3×10^6 /l. En revanche, les teneurs en hémoglobine rapportées par ces auteurs sont supérieures à celles que nous proposons tout en sachant qu'ils observent des variations interspécifiques importantes allant de 64 à $105 \mu\text{g/l}$.

Évolution annuelle du profil hématologique

L'évolution annuelle de l'hématocrite montre une variation saisonnière de ce critère. Les valeurs obtenues pour décembre 1998 et surtout pour avril 1999 sont inférieures à celles qui ont été obtenues jusqu'en septembre 1999. Cette progression suit l'évolution du poids des animaux montrant une augmentation importante du poids et de l'hématocrite à partir d'avril, mois précédant la période de ponte, augmentation se poursuivant jusqu'en juin. Le suivi hématologique rapporté aux variations de poids des animaux permet d'obtenir plus de pertinence au niveau des résultats sachant que Dupree et Huner (1984) ont établi une relation longueur-masse relativement constante et représentative d'une croissance harmonieuse du black-bass.

Valeur relative variant en fonction du volume érythrocytaire et du volume plasmatique, une augmentation de l'hématocrite peut correspondre à une augmentation du volume érythrocytaire (qui se traduira par une augmentation du VGM constatée à partir d'avril 1999) ou à une diminution du volume plasmatique. La CCMH élevée de décembre 1999 reflète une forte teneur en hémoglobine des hématies. Clark *et al.* (1979) obtiennent des résultats simi-

res et corrélaient chez *Micropterus salmoides*, d'une part, les valeurs de l'hématocrite avec le nombre des hématies, l'âge et la longueur des animaux et, d'autre part, la diminution de la CCMH avec la longueur et le poids des animaux. Chen *et al.* (1995) relèvent une diminution significative de l'hématocrite de la carpe *Cyprinus carpio* soumise à des températures décroissantes.

L'évolution du nombre des hématies sur l'ensemble du cycle suit celle de l'hématocrite. Après une valeur minimale en avril 1999, il présente une progression régulière jusqu'en juin 1999 où l'on note une teneur équivalente à 2,1 $\mu\text{g}/\text{l}$ de plasma. Bien que suivant de ce fait la progression du poids, la valeur obtenue reste inférieure aux valeurs élevées notées durant la période hivernale. Smith (1977) corréla de manière significative nombre d'hématies et poids des animaux chez *Hippoglossoides platessoides*. Houston (1997) remarque l'existence de "normes" établies séparément en fonction de l'âge et du poids des poissons. À partir d'avril 1999, on remarque un VGM évoluant de la même manière que le poids et le nombre des hématies. Clark *et al.* (1979), Romestand *et al.* (1983) confirment l'existence d'une relation linéaire entre le poids, le nombre des hématies et le VGM en fonction des saisons chez plusieurs espèces.

La teneur en hémoglobine présente le même profil annuel que celui du nombre des hématies et de l'hématocrite. Plusieurs auteurs ont pu corréler de manière significative la teneur en hémoglobine avec la température, l'âge, la longueur, le poids et l'activité des animaux (Clark *et al.*, 1979). Il existe de même une relation linéaire entre cette teneur et le taux de l'hématocrite mais aussi entre la longueur du poisson, le nombre des hématies et l'augmentation de l'érythropoïèse (Clark *et al.*, 1979; Romestand *et al.*, 1983). D'une manière générale, il est admis que les critères hématologiques dépendent des caractères morphométriques des poissons et des conditions saisonnières, le calcul des constantes érythrocytaires permettant de visualiser l'ajustement des variations trouvées (Smeda et Houston, 1979). Le transport de l'oxygène dans l'organisme dépend de la quantité totale d'hémoglobine dans le sang. Si ce transport diminue, les tissus sont mal oxygénés et le TGM sera bas. La diminution du taux d'hémoglobine circulante s'accompagne généralement d'une diminution du nombre d'hématies.

La nature des hématies chez les téléostéens et principalement le chemin suivi pour leur maturation préconise donc l'utilisation de l'ensemble des paramètres hématologiques comme reflet d'un état physiologique satisfaisant. Les données obtenues pour ces différents critères hématologiques lors d'études en laboratoire semblent plus recevables, mais ne correspondent pas à celles qui sont obtenues sur une population naturelle ou d'élevage (Houston, 1997).

Cette étude permet de constater, d'une part, que l'évolution hématologique de femelles *Micropterus salmoides* sur un cycle annuel de reproduction suit l'évolution pondérale des animaux et, d'autre part, que quel que soit le paramètre hématologique étudié, les valeurs maximales ne se situent pas durant le mois de la ponte. Durant celui-ci, l'hématocrite, le nombre d'hématies et le taux d'hémoglobine présentent des valeurs équivalentes aux valeurs moyennes annuelles.

RÉFÉRENCES

- ADAMS S.M., BROWN A.M. & R.W. GOEDE, 1993. A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 122: 63-73.
- CHEN G.R., SUN L.T., LEE Y.H. & C.F. THANG, 1995. Characteristics of blood in common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to low temperatures. *J. Appl. Aquacult.*, 5(3): 21-31.

- CLARK S., WHITEMORE D.H. & R.F. McMAHON, 1979. □ Considerations of blood parameters of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *J. Fish Biol.*, 14: 147-158.
- DUPREE H.K. & J.V. HUNER, 1984. □ Third Report to the Fish Farmers. 270 □. Washington D.C.: U.S. Fish and Wildlife Service.
- GOUBIER V., MARTIN M., KOKKIDIS M.J. & J.M. EXBRAYAT, 1997. □ Observations on ovary maturation of reared black-bass (*Micropterus salmoides* L.). An histological description of the annual reproductive cycle. *Polskie Arch. Hydrobiol.*, 44(1-2): 159-169.
- HAWS T.G. & C.J. GOODNIGHT, 1962. □ Some aspects of the hematology of two species of catfish in relation to their habitats. *Physiol. Zool.*, 35: 8-17.
- HOUSTON A., 1997. □ Review: Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health □ *Trans. Am. Fish. Soc.*, 126(6): 879-894.
- KOKKIDIS M.J., MARTIN M., GOUBIER V. & J.M. EXBRAYAT, 1998. □ Étude du cycle annuel de reproduction du black-bass (*Micropterus salmoides* L.): mise en évidence du 17 □ oestradiol par immunocytochimie. *Rev. Fr. Histotechn.*, 10(1): 75-86.
- KORZHUEZ P.A., 1964. □ Methods of study of blood of fish. *In: Techniques for the Investigation of Fish Physiology* (Pavlovski E.N., ed.), pp. □-10. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations.
- MARTIN M., GOUBIER V., KOKKIDIS M.J. & J.M. EXBRAYAT, 1997. □ Comparative evolution of the ovary maturation of black-bass (*Micropterus salmoides* L.) according to the water temperature. *Polskie Arch. Hydrobiol.*, 44(1-2): 129-138.
- ROMESTAND B., HALSBAND E., BRAGONI G., KNEZEVIC B., MARIC D. & F. PROCHNOW, 1983. □ Étude hématologique comparée des constantes érythrocytaires de quelques poissons marins et d'eaux douces. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 46(2): 147-156.
- SMEDA J.S. & A.H. HOUSTON, 1979. □ Evidence of weight-dependant differential hematological response to increased environmental temperature in carp, *Cyprinus carpio*. *Environ. Biol. Fish.*, 4: 89-92.
- SMITH J.C., 1977. □ Body weight and the haematology of the American plaice *Hippoglossoides platessoides*. *J. Exp. Biol.*, 67: 17-28.
- SNIESZKO S.F., 1960. □ Microhaematocrit as a tool in fishery research and management. *Spec. Scient. Rep. U.S. Fish Wildl. Serv.*, 341/ 000-000.

Reçu le 01.04.2000.

Accepté pour publication le 15.11.2000.