

CINETIQUES DE QUELQUES PARAMETRES SECONDAIRES DU STRESS CHEZ LE LOUP D'ELEVAGE *DICENTRARCHUS LABRAX*

Narjess KHALFALLAH

Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche. Salammbô.

ملخص

ان المدة الزمنية التي تفصل بين عملية التعنيف وعملية اخذ الدم، عندما تكون الاستجابة لحالة الارهاق مثلي تتغير حسب فصيلة الاسماك وعمرها والظروف البيئية ونوعية عامل التعنيف بالنسبة لسماك القاروص المربي "*Dicentrarchus labrax*" البالغ من العمر 0 + (خلال السنة الاولى) وفي حرارة 18 درجة والحاض لعملية تعنيف ميكانيكية لمدة 5 دقائق فان الاستجابة الثانوية لحالة الارهاق المقدرة حسب الثوابت البلاسمية والدموية تكون هامة من 15 الى 60 دقيقة بعد عملية التعنيف. غير ان الاستجابة تكون مثلي بالنسبة لاغلبية العناصر الدموية التي تمت دراستها 30 دقيقة بعد عملية التعنيف. كما ابرزت النتائج انه بعد مرور 24 ساعة من عملية التعنيف لم يتمكن سمك القاروص من استرجاع حالته الطبيعية.

RESUME

Le temps séparant l'agression de la prise de sang, au moment duquel la réponse de stress est optimale, dépend de l'espèce, de son âge, des conditions du milieu et de la nature du stimulus. Pour le loup d'élevage, *Dicentrarchus labrax*, au stade O+ du prégrossissement et à 18°C stressé par une agression mécanique de 5 minutes la réponse secondaire de stress, évaluée par certains paramètres hématologiques et plasmatiques, est importante durant les 15 à 60 minutes succédants l'agression. Toute fois, cette réponse est optimale pour la majorité des paramètres sanguins étudiés 30 minutes après la fin de l'agression. 24 heures après cette faible agression la récupération n'est pas totale

Mots clés: Stress- Paramètres sanguins- Cinétique- Loup -Aquaculture.

ABSTRACT

The lapse of time separated stimuli from blood sampling, when stress response was optimal, depend from species, age, environmental conditions and stressor. For sea bass, *Dicentrarchus labrax*, in O+ et at temperature of 18°C after mecanic stressor during 5 minutes secondry stress response, valued by some hematological and plasmatical parameters, was imported between 15 at 60 minutes after the stressor. But the optimum for most blood parameters studied was observed at 30 minutes after the end of stimulus. 24 hours after this low stimulus recovery isn't complete.

I - INTRODUCTION

L'hématologie a été utilisée depuis longtemps en aquaculture pour l'évaluation de la qualité nutritionnelle des régimes alimentaires (Katz, 1950) et pour l'évaluation des effets métaboliques de maladies parasitaires et bactériennes (Karpenso et Vaslyshko, 1961). Son utilité a été élargie à l'appréciation des effets de stress et surtout de la toxicité due aux polluants (Bouck et Ball, 1966). Mais il est indispensable de connaître les taux "normaux" d'une espèce pour pouvoir déceler les anomalies. Il en est de même pour les paramètres plasmatiques.

Lors des études abordant le stress, les taux de ces paramètres dépendent de plusieurs facteurs l'espèce et son âge, les conditions du milieu, la durée du jeûn, de la méthode d'échantillonnage et de capture des poissons, de la prise du sang, de la nature de l'agression, du moment de la prise de sang par rapport à l'agression...

Dans le présent travail, nous révélerons la variation des taux de certains paramètres hématologiques et plasmatiques dans le temps séparant l'agression de la prise de sang, afin de montrer l'importance du moment de la prise de sang et de définir le moment où la réponse de ces paramètres est à son optimum.

II - MATERIEL ET METHODE

Protocole expérimental

Des loups d'élevage au stade de pregressissement O+, ayant un poids moyen de 57 g sont répartis à charge à peu près égale sur trois bacs de 300 l de volume. Ces bacs présentent les mêmes conditions du milieu durant toute la période de détention: température 18°C, 75% de renouvellement d'eau à l'heure, oxygène dissous 7mg/l, salinité 35 ‰.

Les poissons sont soumis à un jeûn de 48 heures précédant l'expérimentation afin d'éliminer les effets de l'alimentation sur les paramètres sanguins (Messenger et Aldrin, 1980).

12 poissons représentant "l'état de repos" sont échantillonnés dans les trois bacs, à raison de quatre poissons par un seul coup d'épuisette; ils servent de témoins. Ensuite les poissons de ces mêmes bacs sont soumis à un exercice forcé durant 5 minutes. 15 min, 30 min, 60 min. et 24 heures après la fin de cette agression des échantillons de poissons sont effectués à raison de 12 poissons à chaque temps.

Techniques de prélèvement et analyses

La capture des poissons, les prises de sang, la détermination du rapport spléno-somatique (%S.S), les analyses des érythrocytes (Er), de l'hémoglobine (Hb), de l'hématocrite (Ht), de la glycémie, de la protéinémie (P.T) et le calcul des constantes érythrocytaires (Seiverd, 1964): le Taux Globulaire Moyen en Hémoglobine (TGMH), la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH), le Volume Globulaire Moyen (VGM) sont effectuées selon des conditions et techniques précédemment décrites (Hadj Kacem/ Khalfallah et al, 1986).

Les moyennes et les écart types des valeurs des paramètres sanguins des poissons à chaque prélèvement sont calculés et le test "T" de Student est appliqué à chaque temps en comparaison avec les témoins.

III - RESULTATS (Tableau I)

En comparant les valeurs des paramètres des poissons témoins à celles des individus prélevés à 15 min., 30 min. et 60 min. après l'exercice forcé, plusieurs modifications sont visibles. En effet, les Er, l'Ht, l'Hb, la glycémie et les P.T ont augmenté de façon significative. Le %S.S a diminué significativement. Toute fois, en comparant les pourcentages de ces augmentations ou de cette diminution, nous constatons que les valeurs maximales de la majorité de ces changements se produisent à 30 min. après l'exercice, mis à part la glycémie qui est maximale à 60 min. et les P.T qui ont le même pourcentage à 15 min. et à 60 min.

24 heures après l'exercice, les taux des Ht, Hb, Er, de la glycémie et des P.T demeurent légèrement supérieures à ceux des témoins et le rapport %S.S légèrement inférieur. Seules les variations des Er et de l'Hb sont significatives.

IV - DISCUSSION

Yamamoto et al (1985) ont observé directement, chez *Spheroides maculatus* soumise à un exercice violent ou à une hypoxie, les contractions de la rate. Ils ont trouvé que 2 min. après le début de l'exercice, la rate se contracte fortement. Cette contraction reste stable durant les 25 min. succédant l'agression et commence progressivement à se relâcher au-delà de ce temps. Nos résultats du %S.S concordent avec ces observations. En effet, 15 min. et 30 min. après l'agression les valeurs de diminution du rapport sont identiques (-22% et 22.4%). A 60 min. la récupération commence (-19%) et à 24 heures elle est presque totale (fig.2).

Les valeurs des Er, Ht et Hb présentent un même profil: elles augmentent significativement à 15 min., 30 min. et à 60 min. avec un maximum à 15 min. (fig. 1, 3 et 4). Ce profil ne correspond pas aux observations de certains auteurs; Yamamoto et al (1980) trouvent chez la sériole soumise à un exercice forcé de 5 min. des valeurs d'Ht et d'Hb maximales après 5 min. et elles commencent à diminuer progressivement jusqu'à atteindre le niveau de repos une heure après le début de l'exercice. De même, Perrier et al (1978) constatent que l'Ht chez la truite est à son maximum 5 min. après une hypoxie à l'air de 90 secondes, cette valeur reste à peu près constante à 15 min. et retrouve le niveau de repos à 60 min. Alors que, Soivio et Oikari (1976) ont remarqué que suite à une hypoxie de 20 secondes à l'air répétée trois fois, *Esox lucius* L se comporte différemment selon qu'elle soit en eau douce ou en eau saumâtre. Chez les poissons eau saumâtre, l'Ht augmente dès les 5 premières min. et elle est à son maximum à 20 min., ensuite elle diminue progressivement pour atteindre le niveau de repos à 4 heures et à 24 heures. Donc, la récupération est totale à 24 heures ce qui coïncide avec nos résultats. Pour ce qui est de l'Hb, elle est maximale dès les 5 premières min. et garde le même niveau 60 min. après, au delà de ce temps une diminution progressive commence à s'opérer et elle dure jusqu'à 48 heures, moment où la valeur trouvée est inférieure à celle de l'état de repos. Par contre, chez les poissons en eau douce les Ht et Hb augmentent à partir de 5 min., sont maximales à 20 min., sont à peu près au même niveau que l'état initial à 60 min. et ont des valeurs inférieures au delà de ce temps.

Par ailleurs, suite à la décharge des catécholamines, la glycémie augmente de 15 à 60 min. succédant l'agression (Mazeaud, F., 1964 et 1965; Chavin et Young, 1970; Soivio et Oikari 1976). Lors de notre expérimentation nous constatons que la glycémie est fortement augmentée à 15 min. (+117%), que cette augmentation est plus importante à 30 min. (+167%), elle atteint son maximum à 60 min. (+176%) et le niveau de repos est atteint à 24 heures (fig.5). Ces changements sont similaires à ceux observés chez *Esox lucius* L aussi bien en eau douce qu'en eau saumâtre (Soivio et Oikari, 1976) et chez la truite (Perrier et al, 1978). De même, chez *Sciaenops ocellatus* soumise à 2

min. de manipulation (capture et transfert d'un bac à un autre) la glycémie augmente sensiblement à 15 min., elle est maximale à 30 min. ce taux est légèrement plus faible à 60 min. et la récupération est totale à 24 heures (Thomas et Robertson, 1991). Par contre, des truites manipulées durant 2 min. présentent un taux de la glycémie constant de 0 à 2 heures (Pickering et al, 1982). Cette augmentation coïncide avec le pic des corticostéroïdes, il est donc probable que le temps court de la perturbation et son manque de violence n'ont pas engendré de pic d'hyperglycémie dû aux catécholamines.

Enfin, nous avons trouvé une augmentation des protéines totales presque stable de 15 à 60 min. La récupération est presque totale à 24 heures (Fig.6). Alors que, Yamamoto et al (1981) ont noté un maximum d'augmentation des P.T dans les 5 min. qui suivent l'agression et une récupération une heure après. Perrier et al (1978) ont constaté une augmentation des P.T dès la première minute suivant l'agression, qui devient maximale à 15 min., un premier retour à la valeur des témoins est observé à 60 min. et la récupération totale se fait 16 heures après.

Tous ces résultats exposés révèlent que la cinétique des paramètres cités dépend de deux critères : l'espèce et son milieu, et de la nature de l'agression.

En conclusion, chez le loup d'élevage, dans les conditions précédemment citées, la réponse de stress à une agression mécanique se résume en une hyperglycémie très marquée, une hémococoncentration perçue à la suite de l'augmentation du taux des P.T plasmatiques (Yamamoto et al, 1980), qui contribue avec la contraction de la rate à l'augmentation des Er, de l'Hb et de l'Ht. La stabilité du V.G.M et de la C.C.M.H reflète l'absence du gonflement des Er donc absence d'hypoxie (Soivio et Nikinmma, 1981) et la réponse secondaire du stress est perceptible de façon optimale pour la majorité des paramètres étudiés 30 minutes après la fin de l'agression.

Prélv. Temps Paramètres		Témoins- To	15 min.	30 min.	60 min.	24 heures
Nbr Er en 10 ⁶ /mm ³	X	2.91	3.88	4.06	3.84	3.2
	Γ	0.31	0.21	0.31	0.51	0.2
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			***	***	***	*
%			+33	+39	+32	+10
Ht en %	X	28.66	38.29	41.92	38.41	30.83
	Γ	4.04	3.41	4.94	6.21	2.68
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			***	***	***	NS
% de variation			+33.6	+46	+34	+7.6
Hb g/100 ml	X	6.18	8.51	8.85	8.68	7.06
	Γ	0.96	0.46	0.79	1.34	0.73
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			**	***	***	*
% de variation			+37.7	+43	+40	+14
V.G.M. en μ/m ³	X	98.09	98.68	102.54	99.62	95.87
	Γ	4.95	7.08	6.59	5.68	4.32
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			NS	NS	NS	NS
%			-	-	-	-
C.C.M.H. en %	X	21.53	22.33	21.19	22.65	22.99
	Γ	1.43	1.64	0.98	1.49	1.51
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			NS	NS	NS	*
% de variation			-	-	-	+6.8
T.G.M.H. en pg	X	21.1	21.9	21.7	22.5	22.03
	Γ	1.3	0.8	0.8	1.6	1.40
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			NS	NS	*	NS
% de variation			-	-	+6.6	-
% S.S.	X	0.104	0.080	0.080	0.084	0.092
	Γ	0.028	0.016	0.02	0.024	0.015
	n	12	12	12	12	12
Test "T"			***	***	***	NS
% de variation			-22	-22.4	-19	-11
Glucose en g/l	X	0.64	1.39	1.71	1.77	0.68
	Γ	0.06	0.19	0.38	0.41	0.07
	n	11	12	12	11	12
Test "T"			***	***	***	NS
% de variation			+117	+167	+176	+4
P.T. en g/l	X	45.42	55.40	55.41	54.18	47.25
	Γ	8.70	6.42	6.03	5.84	4.70
	n	12	10	12	11	12
Test "T"			***	***	***	***
% de variation			+22	+22	+19	+4

Tableau I Cinétique de certains paramètres métaboliques suite à un exercice forcé.

Moyenne: X, Ecart-Type: Γ, Effectif: n.

Test "T": * < 5%, ** < 1%, *** < 1‰, NS.

‰: pourcentage de variations entre les poissons stressés et les témoins.

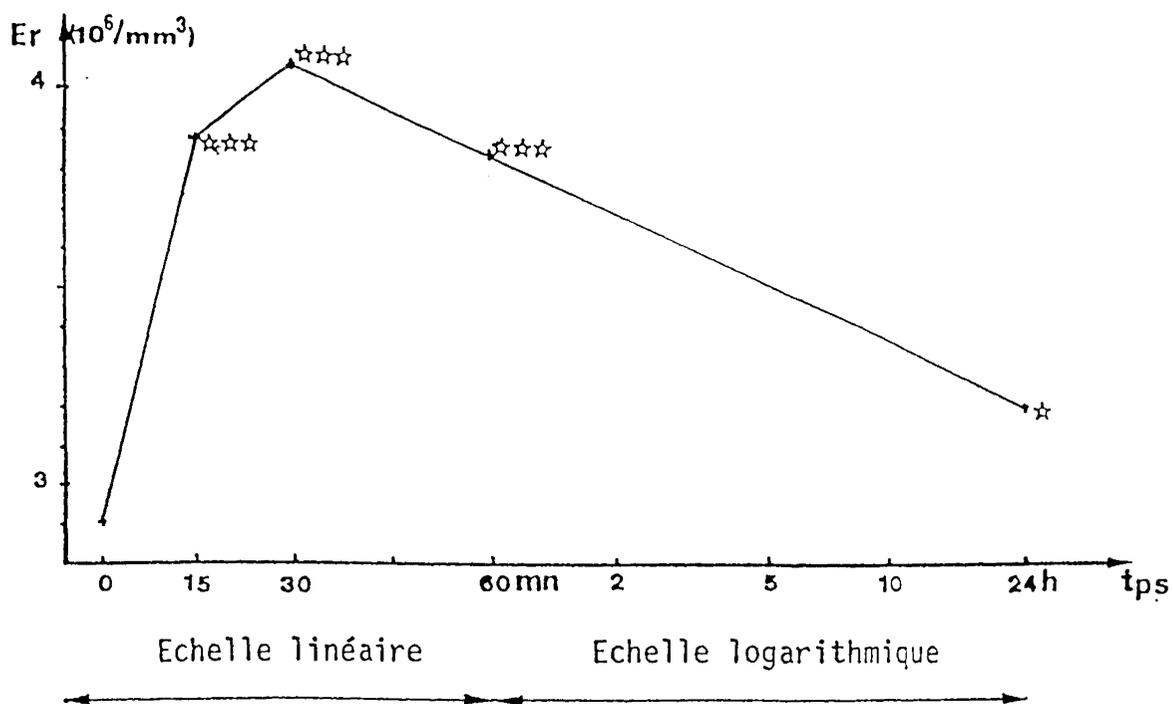


FIGURE 1 Evolution du nombre des érythrocytes après l'agression.

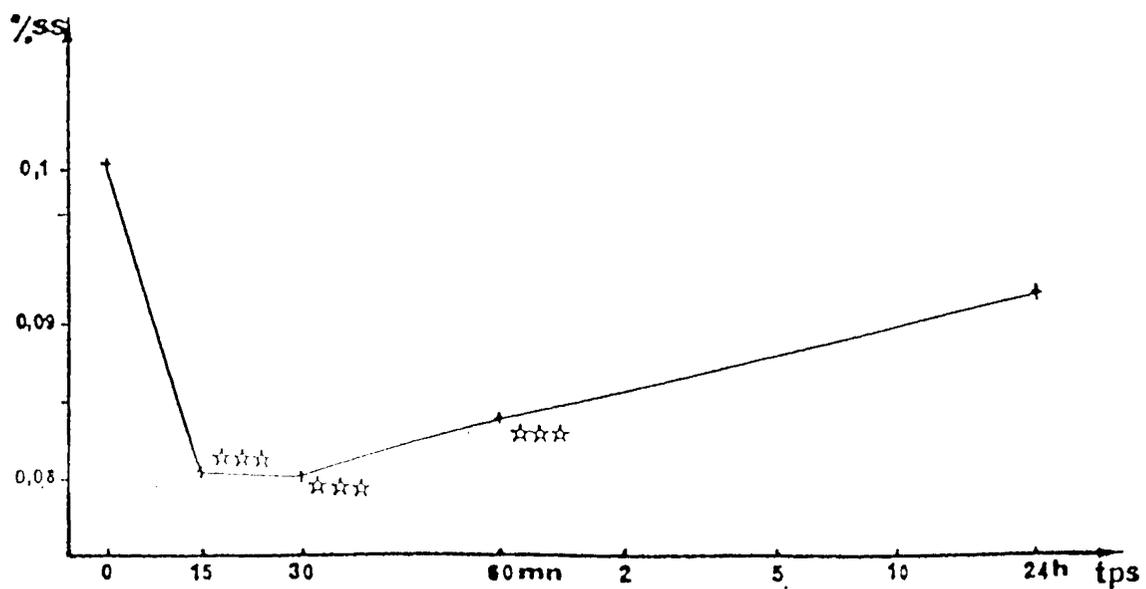


FIGURE 2 Evolution du rapport spléno-somatique après l'agression.

☆ < 5%
 ☆☆ < 1%
 ☆☆☆ < 1%

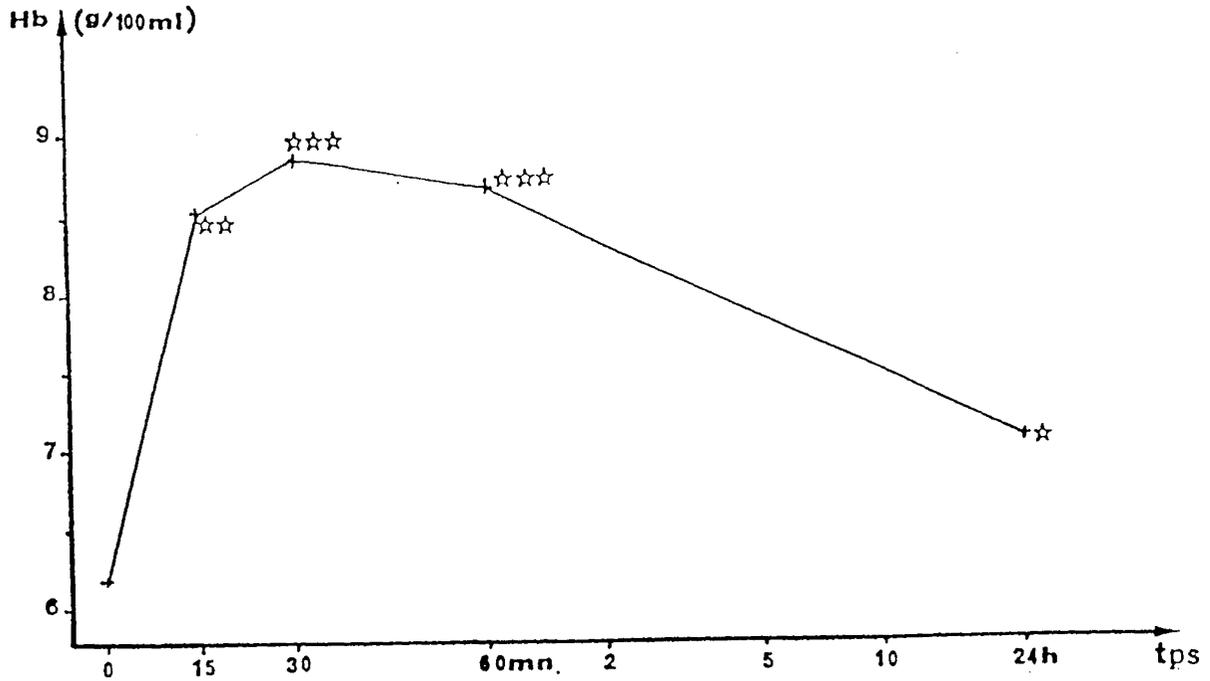


FIGURE 3 Evolution du taux d'hémoglobine après l'agression.

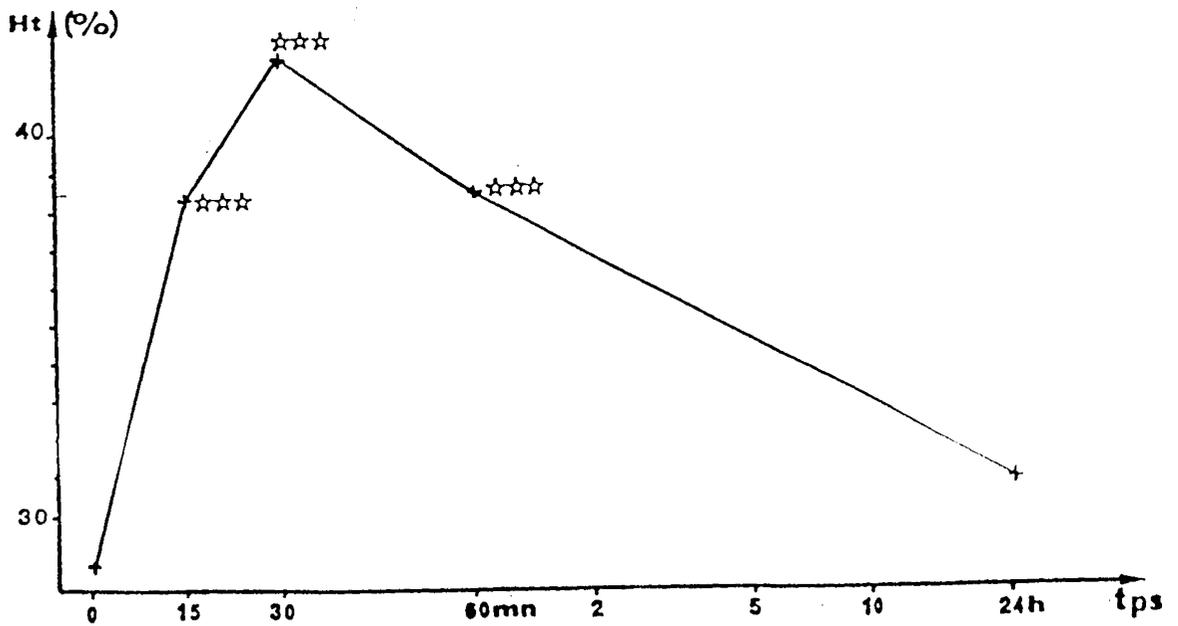


FIGURE 4 Evolution de l'hématocrite après l'agression.

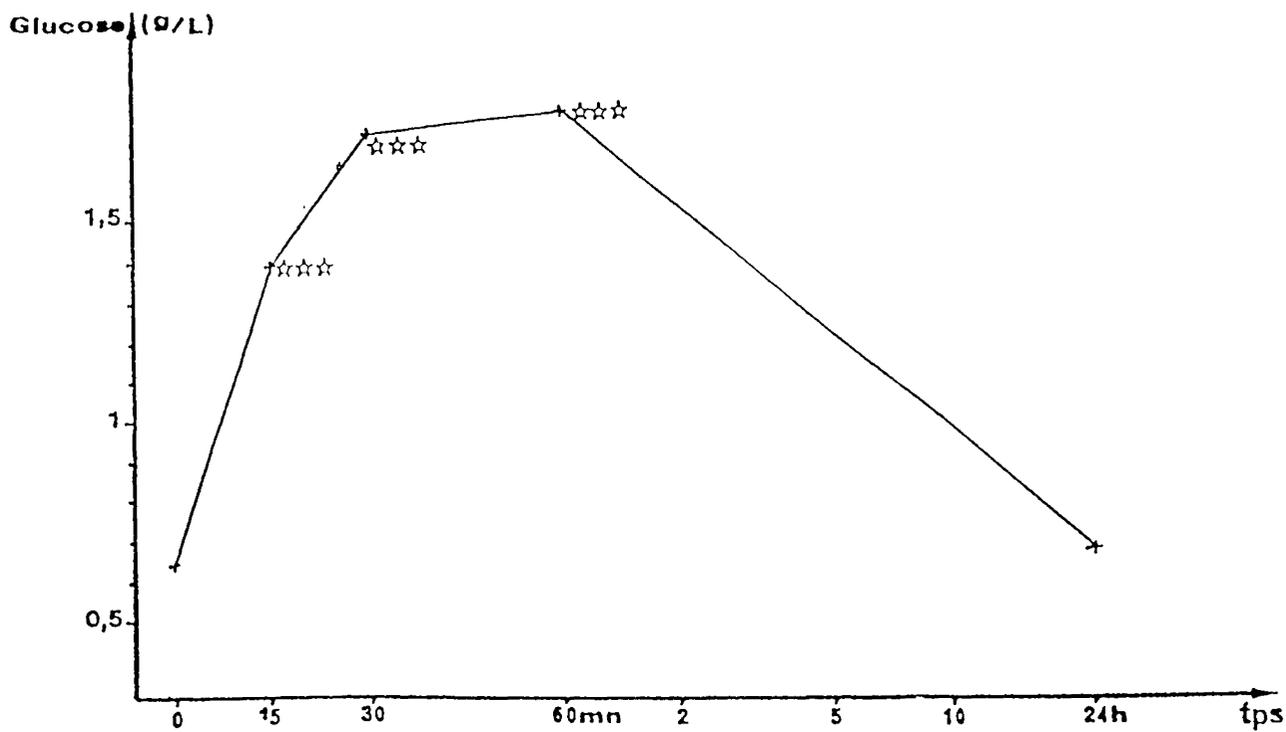


FIGURE 5 Evolution de la glycémie après l'agression.

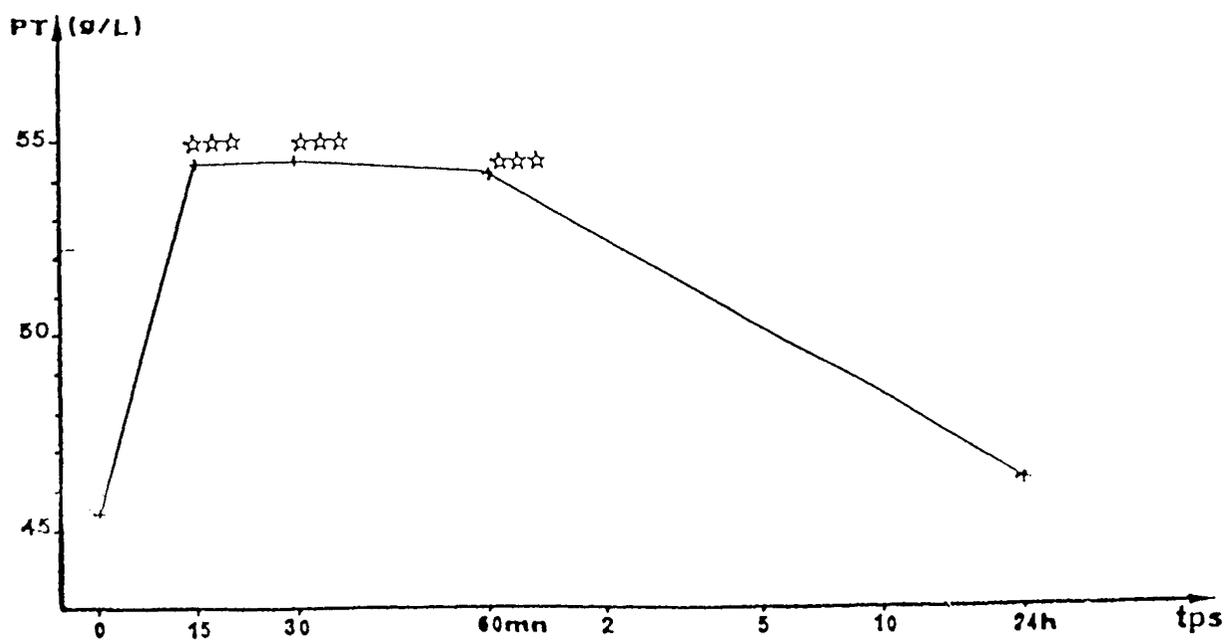


FIGURE 6 Evolution de la protéinémie après l'agression.

V - BIBLIOGRAPHIE

- BOUCK, G.R. and BALL, R.C. (1966). Influence of capture methods on blood characterization and mobility in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc., 95: 170-176.
- CHAVIN, W. and YOUNG, J.A. (1970). Factors in the determination of normal glucose levels of golgfish, *Carassius auratus*. Comp. Biochem. Physiol., 33: 629-653.
- HADJ KACEM/KHALFALLAH, N., ALDRIN, J.F. et ROMESTAND, B.(1986).Influence immédiate du broissage des bacs sur certains paramètres sanguins du loup d'élevage *Dicentrarchus labrax* L: Effet de stress. Aquaculture, 59: 53-59.
- KARPENKO, J.M. and VASLYSHKO, Y.A. (1961). The blood picture in carp with the ulcerative form of infectious dropsy. Referat. Zhur. Biol., 4D:345.
- KATZ, M. (1950). The number of erythrocytes in the blood of silver salmon. Trans. Am. Fish. Soc., 80: 185-193.
- MAZEAUD, F. (1964). Vitesse de production de l'hyperglycémie adrénalique en fonction de la température chez la carpe. Intensité de la réponse en fonction de la dose d'hormone. C.R. Seanc. Soc. Biol., 158: 36-40.
- MAZEAUD, F. (1965). Action de la noradrénaline sur la glycémie de la carpe. C.R. Seanc. Soc. Biol., 159: 2159-2161.
- MESSAGER, J.L. et ALDRIN, J.F. (1980). L'exploration sanguine en ichtyologie. Considérations pratiques. Ichthyophysiologica Acta., 4: 84-107.
- PERRIER, C., TERRIER, M. and PERRIER, H. (1978). A time course study of the effects of angling stress on cyclic AMP, lactate and glucose plasma levels in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, during a 64 hours recovery period. Comp. Biochem. Physiol., 60(A): 216-217.
- PICKERING, A.D., POTTINGER, T.G. and CHRISTIE, P. (1982). Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time-course study. J. Fish. Biol., 20: 229-244.
- SEIVERD, C.E. (1964). Haematology for medical technologists. Lea and Febiger. Philadelphia: 1-334.
- SOIVIO, A. and OIKARI, A. (1976). Haematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius* L. J. Fish. Biol., 8: 379-411.
- SOIVIO, A. and NIKINMAA, M. (1981). The swelling of erythrocytes to the oxygenaffinity of blood of the rainbow trout, *Salmon gairdneri* Richardso. In stress and fish (A.D. Pickering, ed) pp. 103-118. London and Newyork: Academic Press.

THOMAS, P. and ROBERTSON, L. (1991). Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum *Sciaenops ocellatus* to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine, sulfate and metomidate. *Aquaculture*, 96: 69-86.

YAMAMOTO, K., ITAZAWA, V. and KOBAYASHI, H. (1980). Supply of erythrocytes in the circulating blood from the spleen of exercise fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 65(A): 5-11.

YAMAMOTO, K., ITAZAWA, V. and KOBAYASHI, H. (1985). Direct observation of fish spleen by yellow tail. *Japan. Journal of fish Ichthyology.*, 31(4): 427-433.