



IDRC-TS21 f

La reproduction provoquée chez les poissons : Théorie et pratique

Brian J. Harvey et William S. Hoar

Le Centre de recherches pour le développement international, société publique créée en 1970 par une loi du Parlement canadien, a pour mission d'appuyer des recherches visant à adapter la science et la technologie aux besoins des pays en voie de développement; il concentre son activité dans cinq secteurs: agriculture, alimentation et nutrition; information; santé; sciences sociales; et communications. Le CRDI est financé entièrement par le Parlement du Canada, mais c'est un Conseil des gouverneurs international qui en détermine l'orientation et les politiques. Établi à Ottawa (Canada), il a des bureaux régionaux en Afrique, en Asie, en Amérique latine et au Moyen-Orient.

©Centre de recherches pour le développement international, 1980
Adresse postale : B.P. 8500, Ottawa, Canada K1G 3H9
Siège : 60, rue Queen, Ottawa

Harvey, B.J.
Hoar, W.S.

IDRC-TS21 f

Reproduction provoquée chez les poissons : théorie et pratique. Ottawa,
Ont., IDRC, 1980. 48 p. : ill.

/Publication CRDI/, /pisciculture/, /amélioration génétique des poissons/, /zone tropicale/ — /reproduction/, /fécondation/, /hormones/, /insémination artificielle/, /théorie/, /méthodologie/, /étude bibliographique/.

UDC : 639.3.034.2

ISBN: 0-88936-254-8

Édition microfiche sur demande

**LA REPRODUCTION PROVOQUÉE
CHEZ LES POISSONS :
THÉORIE ET PRATIQUE**

BRIAN J. HARVEY¹ ET WILLIAM S. HOAR²

1. Division des sciences biologiques, Conseil national de recherches du Canada, Ottawa.

2. Département de zoologie, Université de la Colombie-Britannique, Vancouver (Canada).

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS 5

1. INTRODUCTION 7

2. ENDOCRINOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES TÉLÉOSTÉENS 9
HYPOPHYSE ET HYPOTHALAMUS 9
GONADOTROPHINES DES TÉLÉOSTÉENS 10
MATURATION DES GONADES EN RÉPONSE À LA GONADOTROPHINE 12

3. REPRODUCTION PROVOQUÉE : THÉORIE 15
ADMINISTRATION DE GONADOTROPHINES EXOGÈNES 15
HORMONES LIBÉRANT LA GONADOTROPHINE 17
ADMINISTRATION DE STÉROÏDES SEXUELS 18
VOIES NOUVELLES 20

4. REPRODUCTION PROVOQUÉE : PRATIQUE 21
CARPE COMMUNE, CARPES CHINOISES ET PRINCIPALES CARPES
INDIENNES 21
MUGES 29
BANGO 31
POISSONS-CHATS 33

5. MÉTHODES DE BIOPSIE OVARIENNE 36

6. CONSERVATION DES GAMÈTES 38
CONSERVATION DU SPERME 38
CRYOCONSERVATION DES OVULES 42
CRITÈRES DE SUCCÈS 42

BIBLIOGRAPHIE 43

FOURNISSEURS DE MATÉRIEL DE PONTE 3^e PAGE DE COUVERTURE

REMERCIEMENTS

Nous remercions sincèrement E.M. Donaldson qui a lu le manuscrit d'une manière critique et fait des suggestions constructives. Les personnes suivantes, chacune dans son domaine d'intérêt ou de recherche, ont fait d'utiles commentaires : W.H.L. Allsopp, T.J. Lam, B. Morley, N.E. Stacey, W.E. Vanstone et F.C. Withler. Nous leur exprimons notre gratitude, ainsi qu'à D. Turnbull, qui nous a aidés dans la collation de la littérature sur le sujet. Les illustrations, à l'exception de la figure 6 et des motifs (carpes stylisées) placés en tête et à la fin de chaque chapitre qui sont dus à la plume de B. Bysouth, sont l'oeuvre de F. Zittin.

AVANT-PROPOS

En dépit de pratiques piscicoles datant de plusieurs années, ce n'est qu'à une date relativement récente que l'élevage commercial des poissons s'établit en Europe et en Amérique du Nord. De nos jours, la production industrielle des saumons du Pacifique dépend en grande partie de la prolifération des jeunes dans les écloséries de la région nord-ouest de la côte du Pacifique.

L'aquiculture, nom que l'on donne à l'élevage systématique, dans l'eau, d'organismes vivants, se consacre avant tout à l'élevage des poissons et suscite l'intérêt de bien des pays; parmi les poissons, ce sont les diverses espèces de carpes et de tilapias qui ont reçu le plus d'attention.

L'environnement et l'expérience passée sont les deux facteurs qui gouvernent en grande partie la préférence des peuples et leur acceptation en matière de poissons, comme d'ailleurs pour tout autre type d'aliments. Il conviendrait donc, idéalement, de propager et de cultiver des espèces indigènes connues et acceptées des populations locales. Malheureusement, beaucoup d'espèces de poissons ne se reproduisent pas facilement : les femelles pleines ne libèrent pas leurs oeufs en captivité. Chaque établissement piscicole (piscifactory) doit avoir un approvisionnement adéquat d'oeufs fécondés pour donner des alevins et des jeunes.

En 1934, von Ihering et al. découvrirent au Brésil qu'on pouvait provoquer, chez des poissons femelles en captivité, la reproduction à l'aide d'injections d'extraits de glande pituitaire de poissons contenant des hormones sexuelles gonadotropes. La reproduction provoquée par gonadotrophine est maintenant beaucoup étudiée et utilisée dans l'élevage des carpes en Chine et en Inde, et d'autres espèces ailleurs. L'Office des recherches sur les pêcheries du Canada a apporté des raffinements à la méthode d'extraction de l'hormone, et des scientifiques aux Philippines — avec l'aide du CRDI — l'ont appliquée au chanidé ou bango (*Chanos chanos*), provoquant la reproduction par injections d'extraits d'hypophyse de saumon du Pacifique. Une fois raffinée et adaptée plus largement, la reproduction provoquée, tant d'espèces indigènes que d'espèces exotiques désirables, alliée à des systèmes de gestion améliorés, permettrait de mieux réaliser le potentiel d'élevage de plusieurs espèces tropicales dans nombre de grands fleuves des pays en voie de développement, notamment l'Amazone, le Brahmapoutre, le Congo, l'Indus, le Mékong, le Niger et le Nil.

Comme pour l'élevage du bétail, il faudra croiser et sélectionner espèces et lignées supérieures d'après leurs moeurs alimentaires, potentiel de croissance, résistance aux maladies et acceptabilité. Jointe à la reproduction provoquée par hormones, la cryoconservation des ovules et de la laitance (sperme) dans l'azote liquide fournit une occasion unique d'élevage et d'hybridation sélectifs. Il faudra poursuivre des recherches sur les méthodes d'incubation, d'élevage des larves, ainsi que sur les besoins alimentaires des jeunes et des adultes et sur l'efficacité de conversion de la nourriture à tous les stades de croissance.

Nous croyons, au CRDI, au besoin urgent d'une compilation concise de l'état de nos connaissances théoriques et pratiques dans le domaine de la reproduction provoquée. Les D^{rs} Harvey et Hoar sont bien qualifiés pour répondre à ce besoin. Nul doute que la présente publication, fondée sur une revue des travaux publiés, terminée le 30 juillet 1979, sera d'un précieux concours à tous ceux qui oeuvrent dans le domaine de la science et de la pratique de l'aquiculture ou que ce domaine intéresse.

Joseph H. Hulse
DIRECTEUR
SCIENCES DE L'AGRICULTURE,
DE L'ALIMENTATION ET DE LA NUTRITION



1. INTRODUCTION

Pour que l'élevage à grande échelle de tout organisme pour consommation humaine réussisse, il faut que la ressource puisse se renouveler facilement. En agriculture, par exemple, la récolte doit être suivie d'un réensemencement, et la reproduction du bétail est assurée soit par des moyens naturels, soit par l'insémination artificielle. Il est bien évident qu'il serait désavantageux de cultiver un organisme, quel qu'il soit, si l'on ne peut renouveler facilement les jeunes sujets; pourtant, cela a été de tout temps le problème en aquiculture. Parmi les nombreuses espèces de poissons élevés dans le monde entier, il en est peu — un exemple notable en est *Tilapia* sp. — qui se reproduiront en captivité (Jhingran et Gopalakrishnan, 1974). Chez celles qui peuvent le faire, la carpe commune *Cyprinus carpio* par exemple, il n'est pas toujours possible de prédire le moment de la ponte, et la survie des alevins dans des conditions naturelles peut être beaucoup trop faible. Il y a à ce problème deux solutions : la première, tout à fait pratique et largement appliquée dans le passé, est le prélèvement d'alevins de sources naturelles. Cette méthode comporte cependant des difficultés inhérentes : elle prend du temps, requiert une habileté et une expérience considérables et dépend entièrement de la productivité de frayères naturelles. La seconde est plus directe : apprendre à inciter les poissons à se reproduire en captivité. C'est cette approche qui a retenu l'attention ces dernières années et qui a donné des résultats remarquables.

Les processus de la reproduction ne sont sûrement pas entièrement inhibés en captivité. En général, le développement progressif des gonades se poursuit normalement jusqu'aux stades finals de maturation des gamètes, et ce n'est qu'au moment de la libération de ces dernières que la séquence est interrompue. On sait depuis long-

temps que la maturation des gonades ainsi que le comportement reproducteur sont des réponses à des stimuli de l'environnement, comme la température, la longueur du jour (photopériode) et la pluviosité. Il a été possible, et le pisciculteur est chanceux sous ce rapport, d'intervenir avec succès au stade où les stimuli environnementaux font défaut, pour donner au processus une impulsion qui le complètera artificiellement. On y est arrivé grâce à la méthode de la reproduction provoquée par manipulation hormonale. L'application pratique de cette méthode est le sujet principal du présent ouvrage.

Bien qu'il ne faille pas perdre de vue l'importance primordiale des stimuli environnementaux dans la reproduction des téléostéens et que d'actives recherches visent à mieux comprendre leur influence, l'induction hormonale représente une solution pratique qui, en «hâtant les choses», tend en grande partie à ignorer ces facteurs. Nous ne traiterons donc pas du contrôle de la reproduction par la seule manipulation des conditions ambiantes, non plus que de l'endocrinologie du comportement sexuel. Ce dernier en effet n'entre pas en jeu quand on désire le contrôle complet de la libération et de la fécondation des gamètes. Tout au long du présent travail, nous supposons que pour le pisciculteur, l'objectif d'un programme de reproduction provoquée est la production de gamètes viables, pouvant ensuite être utilisées pour une fécondation dans des conditions contrôlées. La fécondation naturelle ne peut se produire que lorsqu'il y a déroulement complet du comportement sexuel. Cela prend du temps, demande beaucoup d'espace et comporte des pertes d'alevins. L'opération n'est donc pas considérée pratique.

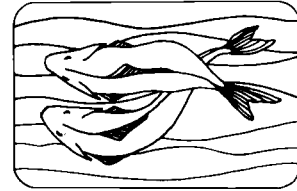
Nos lecteurs auront été formés à des disciplines diverses. Après tout, le biologiste des pêches détenteur d'un diplôme universitaire peut bien partager avec l'éleveur de poissons de l'Inde rurale un intérêt pour la pisciculture, bien que, en toute probabilité, sous un angle différent.

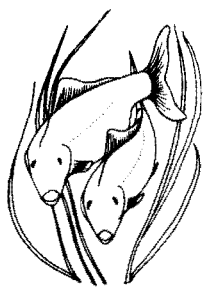
Le présent compte rendu a donc deux objectifs : en premier lieu, résumer et analyser les récents progrès de la connaissance de la physiologie de la reproduction chez les poissons de nature à influencer sur notre aptitude à inciter des espèces d'élevage en captivité à frayer; en second lieu, extraire des travaux publiés les détails pratiques de méthodes de reproduction provoquée d'usage courant et les présenter de manière à faire ressortir la logique de la méthode. C'est pourquoi nous avons voulu séparer le matériel théorique du matériel pratique. Le lecteur à vocation utilitaire, intéressé surtout à la reproduction de son propre stock de géniteurs, pourra ainsi aller directement au chapitre 4, qui passe en revue les récents essais publiés d'induc-

tion de la reproduction chez les espèces suivantes : carpes (commune, chinoise et principales carpes indiennes), poissons-chats (variétés asiatiques), muges et bango. L'information relative aux carpes et poissons-chats est présentée sous forme de tableau pouvant être consulté par le pisciculteur en quête d'idées et qui désire bénéficier de l'expérience des autres dans son domaine. Les chapitres 2 et 3, d'autre part, exposent le fondement théorique des méthodes pratiques et intéresseront surtout le lecteur qui possède de bonnes connaissances de base en biologie. Le chapitre 2 contient un bref compte rendu de l'endocrinologie de la reproduction chez les téléostéens, alors que le chapitre 3 décrit les récents progrès de la manipulation hormonale de la reproduction. Les chapitres 5 (Méthodes de biopsie ovarienne) et 6 (Conservation des gamètes) intéresseront à la fois le chercheur et le pisciculteur. Nous indiquons à la fin les fournisseurs de matériel de ponte, y compris d'hormones et d'hypophyses entières.

On donne le nom d'«hypophysation» à l'injection d'extraits bruts d'hypophyse de poissons pour déclencher l'ovulation. L'opération a été réussie pour la première fois par von Ihering et ses collègues, au Brésil, en 1934 (von Ihering, 1937). Tout en constituant encore l'élément essentiel d'un grand nombre d'opérations de reproduction provoquée, cette technique a engendré au cours des ans des solutions de plus en plus sophistiquées au problème de la résistance à la reproduction, au

point que les gonadotrophines purifiées, les hormones libérantes hypothalamiques, les hormones d'origine mammifère, les stéroïdes sexuels et des substances «extrabiologiques» telles que clomiphène antioestrogène, ont toutes été utilisées avec divers degrés de succès. Il existe de nombreux comptes rendus récents sur le sujet (voir, par exemple, Chaudhuri, 1976; Fontaine, 1976; Shehadeh, 1972 et 1976), portant entre autres sur la préparation et l'entreposage d'extraits hypophysaires, la spécificité phylogénétique d'hormones administrées, la sélection de géniteurs et l'évaluation de l'état de développement de leurs gonades, la normalisation de la dose et la conservation des produits sexuels. Le présent compte rendu met l'accent sur les poissons élevés dans les pays tropicaux et subtropicaux, bien que nous y introduisions d'importants développements survenus en régions tempérées, telle l'utilisation récente d'hormones libérantes de carpes reproductrices en Chine.





2. ENDOCRINOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES TÉLÉOSTÉENS

Les diverses étapes de la reproduction chez les vertébrés sont coordonnées par les systèmes nerveux et endocrinien agissant de concert. La figure 1 représente à l'aide d'un diagramme la suite des événements qui se produisent depuis la perception de stimuli ambiants jusqu'à la libération des gamètes. On y constate que l'action neurale prédomine au début, pour être remplacée par la suite par l'action hormonale.

La réception de stimuli de l'environnement, tels que longueur du jour (photopériode), température et précipitation, relève du système nerveux et comporte le passage de l'information, des récepteurs sensoriels au cerveau. Cette information, au moment où elle atteint l'hypothalamus, détermine l'activité hypophysaire par le biais de messagers chimiques appelés hormones libérantes. Ces dernières à leur tour incitent l'hypophyse à libérer dans l'appareil circulatoire général une hormone dont l'organe cible est la gonade. Cette hormone porte le nom de gonadotrophine. Elle a pour effet de stimuler la production de stéroïdes sexuels sur la gonade; ces derniers sont alors responsables de la maturation des gamètes. La transition entre l'information neurale et le contrôle hormonal se produit à l'interface hypothalamus-hypophyse, et c'est à ce carrefour que commence notre examen détaillé de l'endocrinologie de la reproduction chez les poissons.

HYPOPHYSE ET HYPOTHALAMUS

L'origine embryologique de l'hypophyse des vertébrés est double. Un composant épithélial, dérivé de la cavité buccale embryonnaire, s'appelle

adénohypophyse. Outre l'hormone gonadotrope qui nous intéresse plus particulièrement, l'adénohypophyse élabore la somatotrophine (hormone de croissance), la corticotrophine, la prolactine, la thyrotrope et l'hormone stimulant les mélanocytes. Anatomiquement, l'adénohypophyse peut se subdiviser en une *pars distalis* rostrale, une *pars distalis* proximale et une *pars intermedia* (fig. 2). Un composant d'origine neurale, la neurhypophyse, unit l'adénohypophyse à la base du cerveau et est formé en grande partie des fibres axonales de neurones dont les corps cellulaires sont situés dans l'hypothalamus. Ce tissu nerveux présente de nombreuses ramifications avec l'adénohypophyse, en particulier dans la *pars intermedia*. La présence de ce «cœur» neural est à l'origine de la notion que l'hypophyse est un organe «dualiste».

Les neurones hypothalamiques dont les axones constituent la neurhypophyse sont d'un type spécialisé qu'on appelle cellules neuro-sécrétrices. Elles répondent à un signal électrique du cerveau en libérant un messager chimique au terminal de l'axone, comblant de cette manière le vide entre l'information neurale et hormonale. Leurs corps cellulaires forment plusieurs groupes distincts ou «noyaux» dans l'hypothalamus, lesquels peuvent se distinguer tant par leur anatomie que par leurs affinités tinctoriales. Les deux noyaux hypophysaires de téléostéens qui nous intéressent plus particulièrement ici sont le *nucleus preopticus* (NPO) et le *nucleus lateralis tuberis* (NLT). Les hormones élaborées par les neurones du NPO sont libérées en grande partie dans un canal sanguin reliant la neurhypophyse à l'adénohypophyse; certains neurones peuvent innover directement les cellules de la *pars intermedia* (Ball et Baker, 1969). Ce sont cependant les neurones du NLT qui nous intéressent surtout, et leur disposition est unique chez les téléostéens. On voit ici que les cellules endocriniennes de l'adénohypophyse sont innervées *directement* par les axones neuro-sécréteurs (pour simplifier, nous ne montrons dans la figure que les cellules gonadotropes). Le messager chimique libéré à ce point s'appelle hormone libérante (RH). L'hormone libérante a pour effet de stimuler la production de gonadotrophine et sa libération subséquente dans l'appareil vasculaire de l'adénohypophyse. La gonadotrophine est ensuite transportée par l'appareil circulatoire systémique vers l'organe cible, la gonade, où elle déclenche à son tour la production de stéroïdes sexuels. Ces hormones — androgènes, oestrogènes et progestérones — sont les médiateurs directs du développement des gonades.

Des expériences au cours desquelles des lésions électrolytiques du NLT de carassins *Carassius*

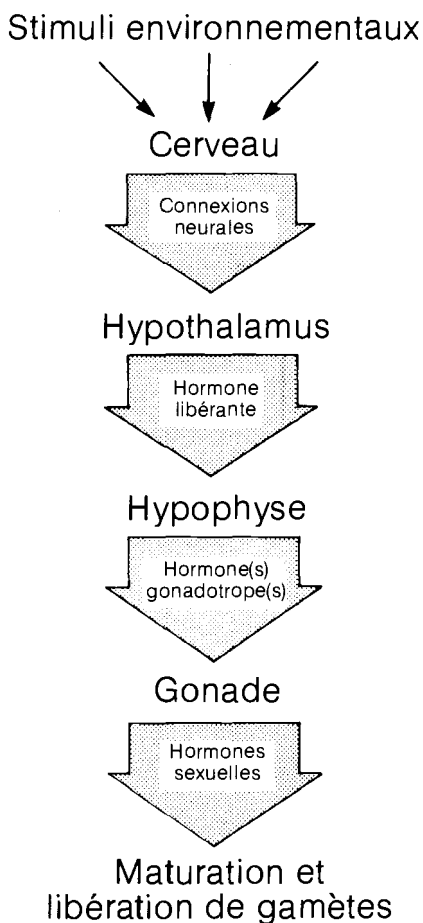


Fig.1. Principaux maillons de la chaîne physiologique des événements qui vont de la réception de stimuli environnementaux à la libération de gamètes matures.

auratus produisirent une diminution de l'indice gonadosomatique, un blocage de la recrudescence ovarienne et l'induction d'une atresie folliculaire (Peter et Crim, 1978) ont démontré le contrôle hypothalamique de gonadotrophine libérée par l'hypophyse des téléostéens. La notion qu'il y a dans l'hypothalamus un centre de GRH est corroborée par l'existence d'une activité de GRH dans des extraits de cette région chez diverses espèces de téléostéens (Crim et al., 1976). On ne connaît pas encore la nature chimique du facteur libérant chez les téléostéens. L'activité de GRH dans un extrait d'hypothalamus de carpe est associée à une substance dont le poids moléculaire est inférieur à 5 000; les neurotransmetteurs épinephrine, norépinephrine, sérotonine et dopamine sont dépourvus d'activité de GRH sur des

hypophysés de carpe *in vitro* (Breton et al., 1975b). Le fait que les hormones libérantes sont des molécules relativement petites est significatif. Il donne à penser qu'il serait possible de synthétiser l'hormone ou un analogue tout aussi actif capable de stimuler la maturation de la gonade en accélérant l'élaboration d'hormone gonadotrope. Cette approche a donné, en fait, des résultats préliminaires encourageants (chapitre 2).

GONADOTROPHINES DES TÉLÉOSTÉENS

On a isolé des gonadotrophines sous une forme relativement pure de plusieurs téléostéens, dont la carpe *Cyprinus carpio* (Fontaine et Gérard, 1963; Burzawa-Gérard, 1971), le saumon chinook *Oncorhynchus tshawytscha* (Donaldson et al., 1972) et *Tilapia mossambica* (Farmer et Papkoff, 1977). On a de bonnes preuves que les poissons élaborent deux types distincts d'hormones gonadotropes. Une seule, riche en glycoprotéines (Donaldson, 1973; Farmer et Papkoff, 1977) est considérée comme ayant une action ovulatrice. L'autre gonadotrophine est pauvre en glycoprotéines et l'on croit qu'elle ne joue un rôle que dans le contrôle de la vitellogénèse (Idler et al., 1975; Ng et Idler, 1978). Qu'il y ait deux gonadotrophines chimiquement distinctes est démontré par des méthodes cytologiques et histochimiques (Burlakov et al., 1976; Schreibman et al., 1973), et l'on a signalé des différences entre les sexes dans des gonadotrophines isolées (Breton et al., 1978). Une recherche systématique d'activité gonadotrope à différents stades de maturation des gonades permettra de clarifier ce tableau confus (Fontaine, 1976).

Étant donné la nature protéique des hormones gonadotropes, il n'est pas surprenant qu'à plusieurs reprises on ait démontré une spécificité phylogénique. Bien que certaines similitudes puissent exister d'un embranchement à l'autre — la gonadotrophine de *Tilapia* par exemple, révèle par chromatographie une identité avec une variété d'hormones lutéinisantes de mammifères et de non mammifères (Farmer et Papkoff, 1977) —, il y a spécificité zoologique partielle parmi les gonadotrophines de téléostéens. Fontaine et al. (1972) ont démontré que l'activité de la gonadotrophine de carpe, mesurée en terme d'activité de l'adényl cyclase chez les carassins, est 36 fois supérieure à celle d'*Oncorhynchus*. En outre, il n'est pas rare qu'avec une méthode d'hypophysation, l'efficacité d'un extrait hypophysaire homoplastique (d'un poisson de la même espèce) dépasse de beaucoup celle d'un donneur hétéroplastique. Il y a des exceptions — la carpe

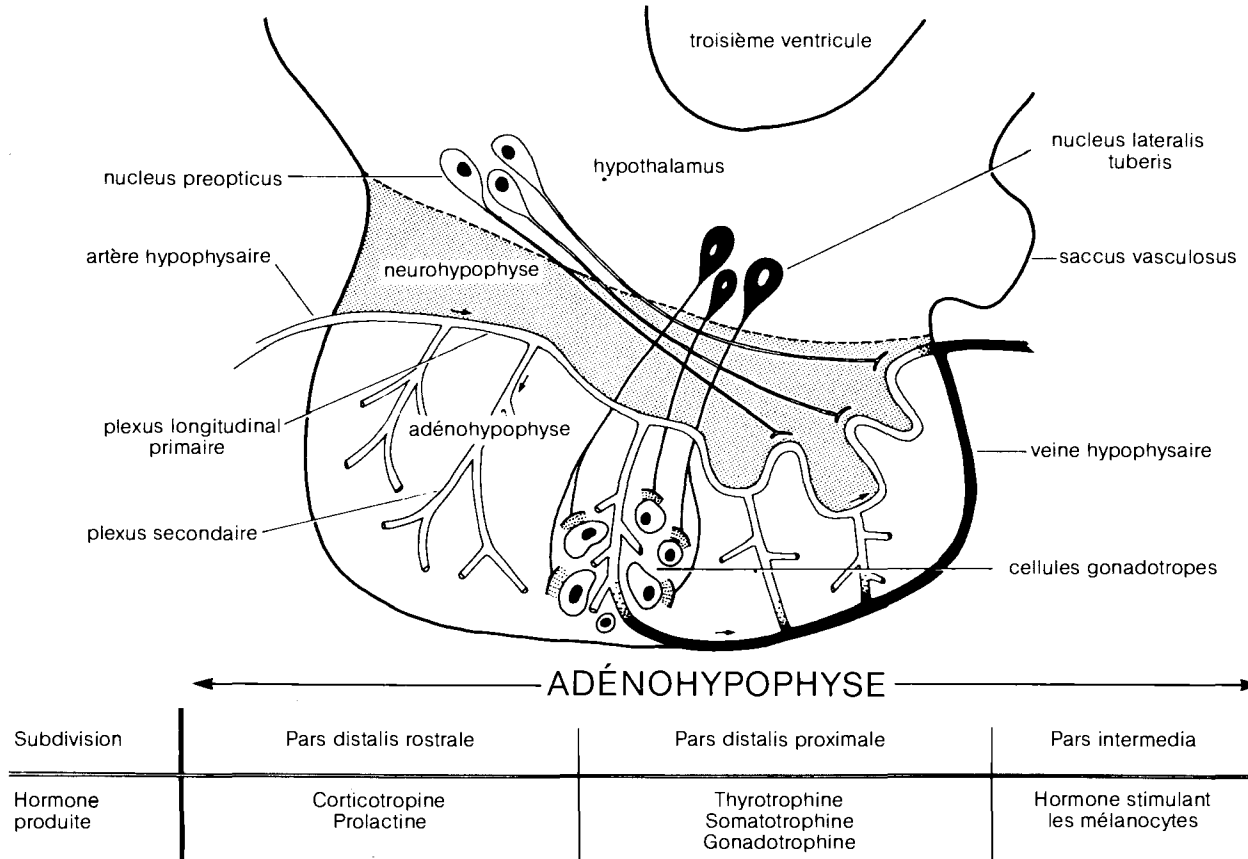


Fig.2. Schéma illustrant l'organisation de l'hypophyse, y compris la vascularisation de l'organe. La partie antérieure est à gauche. Le sang pénètre dans la glande par l'artère hypophysaire, continue vers le plexus longitudinal primaire entre la neurohypophyse et l'adénohypophyse et de là, à l'adénohypophyse par voie du plexus secondaire. Il est alors recueilli dans un réseau veineux superficiel (en noir) et sort par la veine hypophysaire. Les flèches indiquent la direction du flot sanguin. Un groupe de cellules gonadotropes apparaît dans l'adénohypophyse; ces cellules libèrent de la gonadotrophine dans le plexus secondaire lorsque stimulées par des hormones libérantes provenant des axones de cellules nerveuses du nucleus lateralis tuberis. Les lignes pointillées représentent l'hormone libérante. Modifié d'après Ball et Baker (1969) et Perks (1969).

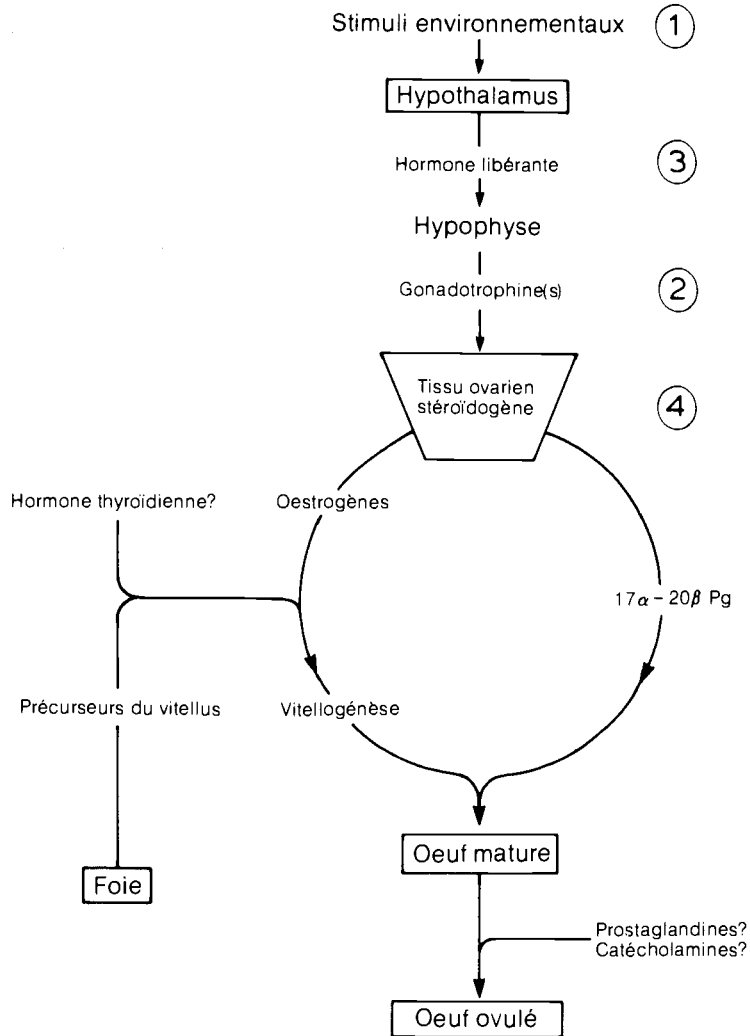


Fig.3. Maillons endocrinologiques de la chaîne reliant les stimuli environnementaux et l'ovulation. Les chiffres encadrés dénotent les stades où une intervention artificielle a réussi, du moins partiellement, à provoquer l'ovulation chez des poissons captifs.

commune, par exemple, est beaucoup utilisée comme donneur, tant pour les carpes chinoises que pour les principales carpes indiennes —, mais le problème touche directement le pisciculteur pratiquant l'hypophysation et nous y revenons plus loin dans le texte.

MATURATION DES GONADES EN RÉPONSE A LA GONADOTROPHINE

On croit présentement que la maturation des gonades chez les poissons est le résultat indirect

d'une élévation lente et régulière de sécrétion de gonadotrophine et que l'ovulation et la spermiogénèse sont précédées d'une augmentation plus forte. Des observations sur des salmonidés (Breton et al., 1975c; Crim et al., 1975) et sur des cyprinidés (Breton et al., 1972; Stacey et al., 1979) ont conduit à cette hypothèse. Dans le contrôle de la gamétogénèse, l'action de la gonadotrophine est en grande partie indirecte, par le biais d'hormones sexuelles stéroïdes, et c'est ce dernier maillon de la chaîne qui nous donne d'importants indices des causes possibles d'interruption de la maturation en captivité.

Il importe de savoir que la maturation des gonades chez les mâles peut souvent *ne pas* être interrompue en captivité et qu'on a généralement peu de difficulté à obtenir de la laitance d'un poisson élevé en étang. L'hypophysation des mâles n'est souvent pratiquée que par commodité : assurer la coordination précise de la mise en liberté des gamètes et aussi déclencher une dilution séminale qui facilite la manipulation de la laitance dans la fécondation artificielle. C'est pourquoi l'analyse qui suit se limitera au développement génital de la femelle : prolifération ovogonale, vitellogénèse, maturation de l'ovocyte et ovulation (fig.3). Nous faisons ressortir le fait que la ponte ou oviposition est un processus distinct de l'ovulation et que les deux ne réagissent pas aux mêmes contrôles hormonaux.

PROLIFÉRATION OVOGONIALE

Les ovogonies sont dérivées de cellules sexuelles primordiales situées dans l'épithélium germinale de l'ovaire. Très tôt dans le développement, elles s'entourent d'une couche de cellules épithéliales qu'on appelle follicule ovarien. A son début, le développement du follicule ovarien semble ne pas dépendre de l'hypophyse chez les poissons. Les cellules de l'épithélium folliculaire se différencient pour former une *granulosa* glandulaire, séparée de l'oeuf par une *zona pellucida* non cellulaire, et

une thèque distincte se développe à partir des tissus conjonctifs avoisinants. Ces structures — *granulosa*, *zona pellucida* et thèque — peuvent s'appeler enveloppe folliculaire (fig.4).

VITELLOGÉNÈSE

La vitellogénèse comporte l'incorporation du vitellus dans les ovocytes en voie de développement. Comme nous l'avons déjà noté, on croit que ce processus est réglé par une gonadotrophine faible en glycoprotéines (Ng et Idler, 1978). Les cellules cibles de la gonadotrophine hypophysaire semblent être les cellules thécales spéciales de l'enveloppe folliculaire (Hoar et Nagahama, 1978), et les stéroïdes sexuels produits ici jouent un rôle majeur dans la régulation de ce processus complexe. Le vitellus est déposé sous deux formes, normalement consécutives : vésicules vitellines et granules vitellines. Il a été récemment démontré que la formation de vésicules vitellines, la première à se produire, est déclenchée par des oestrogènes chez le carassin (Khoo, 1979); on croit que les granules vitellines sont formées sous l'influence de la prégénolone. La synthèse des précurseurs du vitellus se produit dans le foie et l'on a démontré qu'elle est stimulée par des oestrogènes (Ho et Vanstone, 1961; Campbell et Idler, 1976).

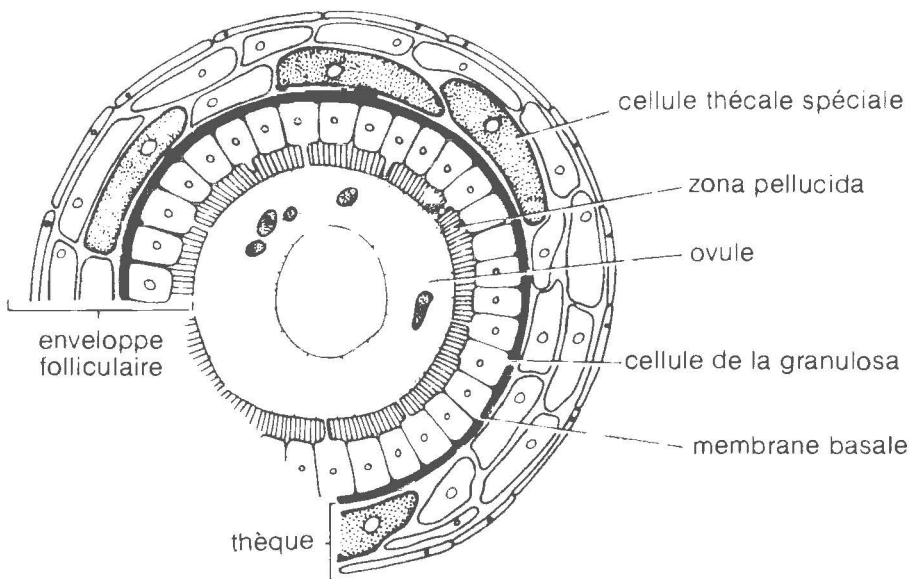


Fig.4 Représentation schématique de l'ovule en voie de développement. La stéroïdogénèse stimulée par la gonadotrophine hypophysaire se produit dans des cellules thécales spéciales de l'enveloppe folliculaire. Redessiné d'après Hoar et Nagahama (1978).



*Injection intramusculaire dorsale d'un extrait d'hypophyse dans une femelle gravide.
(Photo : H. Chaudhuri)*

Les hormones thyroïdiennes jouent également un rôle dans la vitellogénèse. De faibles doses de thyroxine stimulent la vitellogénèse chez des carassins immatures (Hurlburt, 1977a), et l'on croit que les hormones thyroïdiennes agissent de façon synergique avec la gonadotrophine pour influencer le développement ovarien, peut-être bien par le biais d'une sensibilité ovarienne accrue à la stimulation de la gonadotrophine.

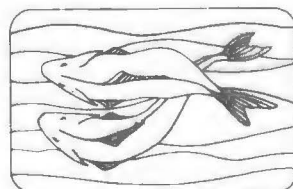
MATURATION DES OVOCYTES

Il est possible de dissocier expérimentalement de l'ovulation (expulsion de l'ovocyte dénudé du follicule dans la cavité ovarienne ou péritonéale) les stades finals du développement ovocytaire et folliculaire. Le stéroïde 17α -hydroxy- 20β -dihydroprogestérone (17α - 20β Pg), produit par l'enveloppe folliculaire en réponse à la gonadotrophine hypophysaire, serait le médiateur le plus probable de maturation des ovocytes chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*), le grand brochet (*Esox lucius*) et le carassin (*Carassius auratus*) [Jalabert, 1976]. Les corticostéroïdes peuvent intervenir indirectement, peut-être en sensibilisant

les ovocytes à l'action de la 17α - 20β Pg; ces hormones jouent un rôle plus important dans la maturation des ovocytes de poissons-chats (Sundararaj et Vasal, 1976; Jalabert, 1976).

OVULATION

La rupture folliculaire et l'expulsion des ovocytes dénudés semblent indépendantes du contrôle hypophysaire. Les prostaglandines et catécholamines ont toutes deux été suggérées comme médiateurs (Jalabert, 1976); Stacey et Pandey (1975) ont démontré *in vivo* le rôle des prostaglandines dans l'ovulation du carassin.





3. REPRODUCTION PROVOQUÉE : THÉORIE

Ce qui intéresse surtout l'aquiculteur poursuivant un programme de reproduction provoquée est la stimulation de l'ovulation. Il n'est pas nécessaire que l'oviposition (ponte) se produise spontanément; les oeufs peuvent être expulsés du poisson par pression des flancs et, en fait, cette façon de procéder est préférable si l'on vise à un contrôle complet de la fécondation. Il faudra toutefois que les pisciculteurs s'assurent avant tout que la maturation finale, effectuée par l'intermédiaire de la gonadotrophine hypophysaire, est terminée. A quels stades du cycle reproducteur peuvent-ils intervenir pour y arriver? Nous indiquons à la figure 3 les stades de maturation des femelles auxquels il a été possible jusqu'à maintenant d'intervenir et de stimuler l'ovulation en captivité.

Comme nous l'avons déjà mentionné, la manipulation des paramètres environnementaux (stade 1 du schéma), bien qu'elle soit l'objet d'une recherche extensive chez les espèces tempérées, sort du cadre de la présente revue. On devrait également noter que l'intervention chimique, telle que pratiquée couramment, ne vise que l'étape conduisant à la maturation des ovocytes. Objet ultime de toute stimulation, l'ovulation semble cependant se produire sous l'influence de stimuli endogènes une fois complétée la maturation finale des ovocytes, sans toutefois que la contribution des facteurs environnementaux puisse être éliminée. Il reste donc trois stades (2, 3 et 4), par ordre d'importance en termes de succès pratiques. L'administration de gonadotrophine exogène est de beaucoup la plus importante, l'intervention à l'interface hypothalamus-hypophyse par administration d'hormones libérantes (stade 3) est très

prometteuse et a récemment donné des résultats pratiques; l'intervention au niveau des stéroïdes sexuels (stade 4), soit par simple administration, soit par leur régulation rétroactive est présentement l'objet d'une recherche expérimentale.

ADMINISTRATION DE GONADOTROPHINES EXOGENES (STADE 2, FIG.3)

Par hypophysation, on entend l'injection, intramusculaire ou intrapéritonéale, d'extraits bruts d'hypophyse de poissons. La technique de base existe depuis un certain temps — les expériences préliminaires, par Houssay, remontent à 1931 — et elle a subi bien des raffinements au cours des ans. Pour des raisons à la fois économiques et techniques, elle demeure le seul choix réaliste pour l'éleveur de poissons rural. Le lecteur pourra consulter les récents comptes rendus de Chaudhuri (1976), Shehadeh (1972) et Yamazaki (1976) pour information relative aux méthodes de collecte, traitement et stockage d'hypophyses.

Les problèmes de dosage, d'une part, et d'approvisionnement, d'autre part, constituent les inconvénients de la méthode d'hypophysation. Les premiers découlent en grande partie de la grossièreté de la méthode: l'activité d'un extrait dépend de l'âge, du sexe et du degré de maturité du donneur, tout comme les méthodes de collecte et de conservation d'hypophyses (Jalabert et al., 1977). En outre, l'extrait contient de nombreuses hormones hypophysaires qui n'ont aucun lien avec la reproduction, ce qui rend plutôt aléatoire l'estimation de son activité spécifique. L'écart phylogénique entre donneur et receveur est un autre facteur qui rend le calcul du dosage en grande partie empirique. La pratique usuelle est d'augmenter le dosage dans le cas d'hypophyses hétéroplastiques; c'est ainsi que des hypophyses de poissons-chats de mer immatures ont été administrées à des concentrations cinq fois plus fortes qu'un dosage homoplastique pour stimuler l'ovulation de carpes indiennes (Varghese et al., 1975). Malgré ce fort dosage, les coûts de collecte et de transformation d'hypophyses de poissons-chats étaient encore cinq fois moins élevés que pour un donneur homoplastique; étant donné que les poissons-chats sont tranchés et séchés au soleil avant d'être commercialisés, le prélèvement de l'hypophyse — opération entraînant une mutilation de la tête — n'affecte pas leur valeur marchande.

Cette observation sert d'introduction au problème de l'approvisionnement en hypophyses. Pour prélever la glande, il faut sacrifier un géniteur éventuel (bien que l'opération puisse aussi être

conduite sur des poissons qui ont frayé), et la collecte d'hypophysés de poissons destinés au marché peut, dans bien des endroits, diminuer sérieusement la valeur du produit. En dépit du fait qu'il existe un substitut adéquat, la demande d'hypophysés dépasse généralement l'offre, et la récupération de la glande prend du temps. C'est donc une bonne chose que les hypophysés puissent être déshydratées, mises en ampoules et entreposées presque indéfiniment. On a vu récemment s'établir des banques d'hypophysés, notamment par l'Indian Central Inland Fisheries Research Institute et par le Programme de développement et de coordination de l'aquaculture FAO/PNUD à Rome (Anonyme, 1977d).

Il est toutefois impossible de normaliser le dosage sans connaître l'activité gonadotrope des extraits. Il est donc essentiel de mettre au point une méthode d'analyse convenable. Les gonadotrophines des téléostéens sont inactives dans la plupart des essais biologiques avec organismes autres que les poissons (Burzawa-Gérard et Fontaine, 1972); Burlakov et al. (1976) et Shehadeh (1972) passent en revue les efforts en vue d'une méthode convenable. Donaldson et ses collègues (Donaldson, 1973) ont utilisé pendant plusieurs années une analyse fondée sur l'assimilation de phosphate radioactif dans le tissu testiculaire de poussins d'un jour.

On est toujours à la recherche d'une gonadotrophine purifiée dont l'activité puisse être normalisée et dont l'approvisionnement serait assuré comme substitut d'extraits hypophysaires bruts. On a utilisé la gonadotrophine partiellement purifiée de saumon chinook *Oncorhynchus tshawytscha* (Donaldson et al., 1972) pour déclencher l'ovulation chez plusieurs espèces de poissons d'élevage, dont le poisson-chat (Sundararaj et al., 1972) et le mullet (Kuo et Nash, 1975). Le coût moyen (120 \$ canadiens par injection) est toutefois très élevé. En Malaysia, des tentatives d'induction de l'ovulation chez des carpes à grosse tête *Aristichthys nobilis* à l'aide d'une gonadotrophine de saumon partiellement purifiée (SG-G100) n'ont réussi qu'occasionnellement et seulement à des dosages (14 mg/kg) comparables au dosage effectif d'hypophysés de carpes communes séchées à l'acétone; on s'est rendu compte que les effets combinés de la spécificité selon l'espèce et du coût étaient excessifs (Tajuddin, 1978 — inédit).

Le facteur coût est moins important avec plusieurs gonadotrophines de mammifères. Ces hormones sont élaborées par le placenta et il en existe deux de disponibles sous forme purifiée : la gonadotrophine chorionique humaine (HCG) extraite de l'urine de femme enceinte et la PMS du

sérum de jument enceinte. La première est devenue de beaucoup la plus importante en pisciculture. Son action physiologique ressemble à celle de l'hormone lutéinisante des mammifères; cependant, les deux hormones sont de structure différente, et la réponse au facteur placental accuse une grande variabilité spécifique. En général, l'effet de ces hormones de mammifères est moins sûr que celui des gonadotrophines de poissons (Fontaine, 1976). Cela est probablement dû au grand écart phylogénique entre les deux groupes. Ce qui fait leur intérêt, c'est qu'à dosages efficaces elles peuvent être moins onéreuses que le matériel hypophysaire de poissons (Carreon et al., 1976). La gonadotrophine chorionique humaine (HCG) a été communément utilisée dans la ponte de poissons d'élevage (Pickford et Atz, 1957; Yamazaki, 1965), et l'on attribue généralement son succès à une activité ressemblant à celle de la LH (Chaudhuri, 1976). Seule ou combinée avec un extrait d'hypophyse de mammifères (le Synahorin est une préparation communément utilisée), la HCG s'est avérée efficace et économique pour provoquer la ponte chez les principales carpes indiennes (Chaudhuri, 1976; Bhowmick, 1979), le mullet cabot (*Mugil cephalus*) [Liao, 1975] et les carpes chinoises *Aristichthys nobilis* et *Hypophthalmichthys molitrix* (Tajuddin, 1978 — inédit), lorsqu'elle est administrée en même temps qu'un extrait d'hypophyse homo ou hétéroplastique. Sans cette addition, les cas de réussite sont rares, bien que Chen et al. (1969) et Carreon et al. (1976) signalent l'ovulation dans des conditions expérimentales chez les principales carpes chinoises et chez le poisson-chat *Clarias macrocephalus* respectivement. Kuo et al. (1973b) rapportent qu'une ponte naturelle eut lieu chez le mullet en réponse à un dosage d'amorce de 20 I/g, suivi 24 heures plus tard d'une injection de 40 UI/g.

On a fait très peu de recherche en vue d'évaluer l'influence de la température sur l'efficacité de la gonadotrophine administrée. Les pisciculteurs savent bien toutefois qu'une élévation de température de l'eau réduit le délai entre l'injection et l'ovulation (chapitre 4). Stacey et ses collègues (1979) montrent que chez des carassins dont l'ovulation est provoquée par injection de HCG ou de gonadotrophine de saumon (SG-G100), le temps de latence entre injection et ovulation dépend étroitement de la température, chaque augmentation de 4-5 °C diminuant de façon marquée le délai de libération des oeufs.

Malgré son raffinement apparent, la méthode d'hypophysation n'a rien de très scientifique. Il est peu probable qu'elle perde de sa popularité auprès de l'éleveur de poissons rural, d'autant plus qu'elle peut être pratiquée en l'absence de



Coupe transversale de tête de saumon montrant l'emplacement de l'hypophyse, le mésencéphale étant replié vers l'arrière pour exposer la glande à l'extraction.
(Photo : B.C. Research)

commodités, telles que réfrigération, centrifugation et balance électrique (Bhowmick et Kowtal, 1973). En attendant que devienne généralement disponible une substance ayant les qualités requises de coût peu élevé, d'activité connue et de stockage facile, le pisciculteur verra ses chances de succès augmenter plus par la mise au point d'une méthode fiable permettant de s'assurer de l'état de maturité de la gonade que par une manipulation chimique *ad hoc*. Il y a toutefois des signes encourageants qu'un agent approprié soit bientôt disponible. Les Syndel Laboratories Ltd, de Vancouver (C.-B.), produisent présentement à échelle commerciale une poudre d'hypophyse de saumon séchée à l'acétone; cette préparation possède les avantages de faible coût et d'activité

connue, et il se peut que dans toute l'Asie du Sud-Est, elle joue un rôle important dans tous les programmes d'élevage futurs.

HORMONES LIBÉRANT LA GONADOTROPHINE (STADE 3, FIG.3)

Grâce à l'introduction de la décapeptide synthétique LH-RH (hormone libérant l'hormone lutéinisante), il a été possible d'intervenir dans la chaîne endocrinologique à un point précédant celui de l'application de la gonadotrophine elle-même, nommément à l'interface hypothalamus-hypophyse. Les travaux dans ce domaine sont relativement récents et les résultats en grande

partie expérimentaux. Le champ est toutefois prometteur, et il est presque certain que le pisciculteur tirera profit de tout développement futur.

L'administration de la LH-RH synthétique entraîne une élévation, dans le plasma, d'hormone gonadotrope chez la carpe commune *Cyprinus carpio* (Breton et Weill, 1973) et chez la truite brune mâle *Salmo trutta* (Crim et Cluett, 1974), l'effet n'ayant été observé, pour cette dernière, que chez les poissons matures. On a aussi démontré cette action de la LH-RH par injection intracérébrale à des carassins (Crim et al., 1976). L'administration intracellulaire de la drogue à un dosage de $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ stimule la maturation ovarienne chez la carpe commune (Sokolowska et al., 1978). En fait, de fortes doses de LH-RH synthétique ont provoqué l'ovulation chez le carassin (Lam et al., 1975 et 1976) et l'ayu *Plecoglossus altivelis* (Hirose et Ishida, 1974). Lam et ses collègues (1978 — inédit) notent un changement saisonnier de l'efficacité de la LH-RH à provoquer l'ovulation. Le mode d'administration de l'agent libérateur n'étant pas toujours le même — injections intrapéritonéales, intracérébrales et intramusculaires ont toutes été essayées —, il est difficile de comparer les résultats, et une étude systématique de ce facteur serait utile.

Il a été suggéré que le dosage requis pour provoquer l'ovulation chez les poissons, relativement élevé par comparaison avec les mammifères, reflète une spécificité phylogénique de l'hormone libérante. Cependant, on dispose maintenant de plusieurs analogues structuraux synthétiques de la LH-RH, dont certains possèdent une demi-vie plus longue et sont plus efficaces chez les mammifères que le décapeptide LH-RH (Arimura et al., 1974; Monahan et al., 1973). De récents comptes rendus de leur utilisation chez les poissons laissent entrevoir un rôle futur important pour ces analogues dans le contrôle de la reproduction chez les poissons. Lam et ses collègues (1978 — inédit) constatent que le nonapeptide analogue de la LH-RH [D-Ala⁶-des-Gly-NH₂¹⁰]-LH-RH-éthylamide (Ayerst 25205) réussit partiellement à provoquer l'ovulation chez le carassin à un dosage ($10 \text{ ng}/\text{g}$) inefficace pour la LH-RH. Donaldson et al. (1978) constatent que le même analogue est plus puissant que la LH-RH à provoquer la maturation et l'ovulation finale chez le saumon coho (*Oncorhynchus gorbuscha*).

On a démontré une puissance encore plus grande de l'analogue de la LH-RH D-Ser-(Bu)⁶-des-Gly¹⁰-LH-RH éthylamide (Hoechst 766); des dosages aussi faibles que $0,011 \text{ mg}/\text{kg}$ réussissent à provoquer l'ovulation chez le saumon coho lorsqu'ils sont précédés d'une injection d'amorce de gonadotrophine de saumon (Donald-

son et al., 1979). Les travaux sur les analogues de la LH-RH ont été poussés le plus loin en Chine où, depuis 1974, on fait une recherche intensive sur l'aptitude de l'Ayerst 25205 à provoquer la ponte chez la carpe argentée *Hypophthalmichthys molitrix*, la carpe à grosse tête *Aristichthys nobilis*, la carpe de roseau *Ctenopharyngodon idellus* et la carpe noire *Mylopharyngodon piceus* (Anonyme, 1977a,b). Le composé (appelé LRH-A) est administré par injection soit intramusculaire soit intrapéritonéale, le dosage effectif minimal ayant été établi à $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ et $0,002 \mu\text{g}/\text{kg}$ respectivement. Chez la carpe de roseau, que des expériences antérieures avaient démontré réfractaire à la HCG seule, une injection unique de $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ de LRH-A produisit un taux d'ovulation de 86 %, se comparant aux résultats obtenus à l'aide d'hypophyse de carpe. Pour la carpe argentée et la carpe à grosse tête, les dosages minima étaient de $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ et $1,4 \mu\text{g}/\text{kg}$, administrés en deux injections; pour la carpe noire, un dosage de $5-200 \mu\text{g}/\text{kg}$ suivi de $0,5-2 \text{ mg}$ d'extrait hypophysaire produisit un taux de ponte de 74,6 %. On ne peut dire si l'expulsion des oeufs se fit naturellement ou par pression des flancs. La LRH-A a aussi déclenché la spermiogénèse chez des mâles mûrs. En outre — et c'est là un avantage inattendu —, elle agit sur la survie des géniteurs: en 1974, avec HCG et/ou un extrait hypophysaire de carpe, la mortalité après la ponte était de 57 %; en 1975 et 1976, avec LRH-A, elle tombait à 11,8 % et 3,5 % respectivement. Il faudra poursuivre l'expérimentation avant d'attribuer cette diminution entièrement au changement d'hormone.

ADMINISTRATION DE STÉROÏDES SEXUELS (STADE 4, FIG. 3)

On croit que la gonadotrophine, endogène ou exogène, stimule la biosynthèse du stéroïde $17\alpha-20\beta$ Pg dans l'enveloppe folliculaire; ce stéroïde déclenche ensuite la maturation finale des ovules. Les oestrogènes, bien que jouant un rôle aux stades antérieurs de développement ovocytaire, particulièrement dans la vitellogénèse, ne semblent pas être impliqués dans les stades de maturation qui suivent — point qui intéresse particulièrement l'éleveur. L'intervention chimique au niveau de l'ovocyte lui-même a un certain attrait intuitif; elle semble une solution plus simple grâce à laquelle des hormones intermédiaires telles que gonadotrophine et hormone libérante sont éliminées. Les rapports d'une induction d'ovulation réussie par stéroïdes sexuels sont toutefois très rares.

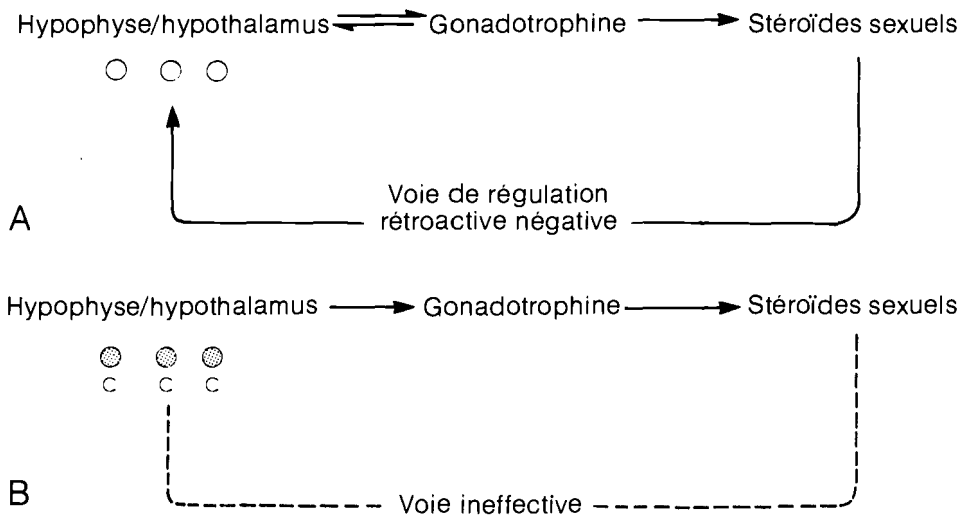


Fig.5. La régulation du niveau de stéroïdes sexuels : (A) le système fonctionne normalement et la production de gonadotrophine est ajustée par interaction des stéroïdes sexuels et des sites de fixation dans l'hypophyse et l'hypothalamus (cercles vides). (B) les sites de fixation sont occupés par des molécules de clomiphène avec, comme résultat, libération non contrôlée de gonadotrophine, de sorte que le niveau de stéroïdes sexuels continue de s'élever.

Kho0 (1974) prétend avoir provoqué l'ovulation chez le carassin par administration de progestérone; oestrogènes, androgènes et pregnénolone furent inefficaces. On a obtenu plus de succès avec le 17α - 20β Pg, attesté par Jalabert (1976) d'être un puissant stimulant de la maturation ovocytaire *in vitro* chez le carassin, la truite brune et le grand brochet. Bien que Lam et ses collègues (1978) n'aient pas réussi à provoquer l'ovulation chez le carassin avec cette substance, Jalabert et al. (1977) constatèrent son efficacité chez *Cyprinus carpio* après amorçage avec une faible dose d'extrait hypophysaire. L'injection de 17α - 20β Pg est, semble-t-il, efficace seulement aux derniers stades de maturation ovocytaire. Il faut donc observer un strict calendrier, et cela semble limiter son application pratique éventuelle, en particulier en l'absence d'une méthode fiable d'évaluation de l'état de maturation génitale des femelles (biopsie ovarienne).

Une deuxième méthode, moins directe, fait appel à la régulation rétroactive de la sécrétion de gonadotrophine. On croit que la libération de gonadotrophine dépend d'un système de régulation rétroactive négative, dans lequel des centres dans l'hypophyse et l'hypothalamus réagissent au niveau de stéroïdes génitaux circulants (Peter et Crim 1979). Une élévation du niveau des stéroïdes sexuels, par exemple, entraîne une diminution de sécrétion de gonadotrophine, ce qui en retour abaisse le niveau de stéroïde au palier approprié; mais une chute du niveau de stéroïde a l'effet

opposé (fig. 5A). Billard et al. (1977) ont démontré l'existence d'un tel système de contrôle. Ils signalent l'augmentation des niveaux de gonadotrophine après castration chez la truite arc-en-ciel, et la sensibilité de l'hypophyse et de l'hypothalamus aux stéroïdes sexuels a été attestée par leur captation dans ces régions chez le porte-épée *Xiphophorus maculatus* et le carassin (Kim et al., 1978). Ces centres peuvent être considérés comme des sites de fixation des stéroïdes, et l'on a récemment orienté l'effort de façon à profiter de leur sensibilité aux stéroïdes sexuels comme moyen de stimulation artificielle de libération de gonadotrophine.

Ce qu'il faut, c'est un composé capable de concurrencer les stéroïdes sexuels endogènes pour les sites de fixation dans l'hypophyse et l'hypothalamus, de sorte que la gonadotrophine est libérée quel que soit le niveau d'hormones. Une régulation rétroactive négative devient donc positive, qui se traduit par une élévation artificielle du niveau de stéroïdes sexuels (fig. 5B). On attribue cette propriété à une substance chimique, l'anti-oestrogène citrate de clomiphène (Pandey et Stacey, 1975). Une élévation des niveaux de gonadotrophine plasmatique a été produite par implantation de clomiphène dans l'hypophyse de carassins (Billard et Peter, 1977), et il se peut que cette poussée de gonadotrophine soit responsable de l'induction de l'ovulation chez le carassin qu'on sait causée par cette drogue (Pandey et Hoar, 1972).

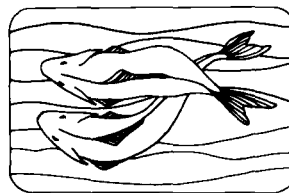
Le problème du choix du dosage de clomiphène suffisant pour provoquer l'ovulation demeure toujours; Breton et al., (1975a) font remarquer que, chez la carpe commune, une dose d'environ 1 mg/kg provoque la libération de gonadotrophine, alors que des dosages de beaucoup supérieurs à 10 mg/kg ont l'effet opposé. En outre, la réponse à la drogue dépend de l'état de maturité de la gonade. C'est pour des raisons de ce genre qu'il faudra attendre les résultats de recherches futures avant de pouvoir utiliser dans la pratique la clomiphène et d'autres antioestrogènes, telle la tamoxifène (Donaldson et al., 1978). On a toutefois suggéré des applications spécifiques: Abraham (1975) note que des cellules sécrétant de la gonadotrophine chez le mulot *Mugil cephalus* élevé en eau douce accusent une diminution d'activité synthétique comparativement à celle de poissons élevés en eau salée, et il suggère qu'on pourrait remédier à l'arrêt concomitant du développement ovarien par administration de clomiphène. Dans un des rares essais sur le terrain signalés à ce jour, les tentatives d'induction d'ovulation chez la carpe indienne *Labeo rohita* au moyen de cette drogue n'ont pas réussi (Bhowmick et al., 1979).

VOIES NOUVELLES

Les interrelations endocrinologiques sont d'une telle complexité qu'il est difficile d'affirmer catégoriquement que l'effet observé d'une hormone administrée est direct ou que, comme dans le cas de la gonadotrophine, il y a intervention de chaînons hormonaux secondaires. La situation est encore plus compliquée quand la substance administrée est elle-même un mélange d'hormones, ce qui est le cas de l'extrait hypophysaire brut utilisé dans l'hypophysation. La présence de tyrotrophine, par exemple, peut contribuer de façon significative à l'effet produit sur un développement sexuel généralement (et vaguement) attribué

à la gonadotrophine. Hurlburt (1977a,b) a démontré que l'hormone thyroïdienne pouvait jouer un rôle important dans la maturation ovarienne (chapitre 2), et l'on a constaté que, chez certains téléostéens, les cycles d'activité thyroïdienne coïncident avec la maturation des gonades (Sage, 1973). Nous avons mentionné plus haut le rôle du foie dans la vitellogénèse, et l'on a démontré que l'hormone thyroïdienne avait un effet régulateur sur le foie des poissons (Takashima et al., 1972). Il se peut que des recherches plus poussées sur le fonctionnement de la glande thyroïde chez les téléostéens conduisent à la découverte d'un rôle de l'hormone thyroïdienne dans le contrôle pratique de la reproduction des poissons.

Il ne faudrait pas négliger l'importance possible des hormones de croissance. L'ovaire de téléostéens peut augmenter de 1 % à 20 % du poids corporel total au cours de la maturation et ses besoins énergétiques sont très grands. Divers facteurs stimulant la croissance peuvent donc jouer des rôles importants dans le développement des gonades, et les programmes de recherche futurs devraient tenir compte de l'importance possible de ces substances en pisciculture. La prolactine et l'hormone de croissance sont toutes deux produites par l'hypophyse des téléostéens; la première est impliquée dans la reproduction et la croissance somatique d'une variété de vertébrés (Hoar, 1975). Donaldson et al. (1978) ont récemment passé en revue les effets de l'administration d'hormones de croissance chez les poissons.





4. REPRODUCTION PROVOQUÉE : PRATIQUE

CARPE COMMUNE, CARPES CHINOISES ET PRINCIPALES CARPES INDIENNES

Les publications relatives à l'induction artificielle de l'ovulation chez les carpes posent certains problèmes à celui qui veut en faire la revue. Si on les juge selon des critères scientifiques internationaux, elles sont, en grande partie, d'un calibre inférieur. Il arrive souvent, par exemple, que les espèces ne soient pas identifiées. Une méthode d'hypophysation peut être décrite pour «carpe chinoise» seulement — description qui n'est pas d'un grand secours au lecteur qui veut provoquer la ponte de la carpe de roseau et qui sait déjà que cette espèce se reproduit moins facilement que la carpe argentée ou la carpe à grosse tête. Souvent, l'origine des extraits hypophysaires injectés n'est pas claire, et un rapport peut négliger de mentionner s'il s'agit d'un poisson mâle ou femelle, mature ou immature. On spécifie rarement «poids humide» ou «poids sec» quand on décrit le calcul du dosage; cette information est pourtant indispensable à l'éleveur qui essaye d'adopter une méthode nouvelle. Les rapports de reproduction provoquée «réussie» sont rarement le résultat d'expériences contrôlées, et souvent les critères utilisés pour décrire le degré de succès sont inappropriés. On rencontre fréquemment le terme «réponse positive»; pourtant, on ne sait pas exactement s'il s'agit d'ovulation, de ponte, de fécondation ou d'éclosion. La méthode d'incubation des oeufs est une autre importante variable qui rend difficile la comparaison des résultats; la survie du frai en dépend étroitement, et pourtant, dans bien des cas, on ne précise pas.

Cette critique ne veut pas être péjorative : les travaux publiés sont difficiles à interpréter pour des causes profondes. D'abord, une bonne partie de la recherche est conduite par des pisciculteurs pratiques qui n'ont pas reçu de formation scientifique formelle. Ensuite, les installations à leur disposition pour l'expérimentation sont ordinairement celles d'une station de pisciculture, souvent dans une région du monde «en voie de développement», où il est difficile de se procurer un outillage scientifique. Enfin, troisième raison moins tangible, la pratique de l'hypophysation peut avoir acquis certaines caractéristiques d'un art, de sorte que la plupart des rapports publiés ont une saveur distinctement régionale; c'est un peu comme si chaque méthode représentait une addition au répertoire local, sans qu'on se préoccupe trop des raisons biologiques sous-tendant une réussite ou un échec.

On ne peut cependant échapper aux lois biologiques fondamentales, et le problème de l'induction de l'ovulation demeure un problème scientifique. Comme tel, le mieux est de l'attaquer au moyen d'expériences bien conçues et poursuivies dans des conditions contrôlées. Une recherche de cette nature peut sûrement coexister avec des rapports moins stricts émanant de stations sur le terrain; ce qui est important, c'est qu'elle soit entreprise. La recherche déjà effectuée sur l'induction de l'ovulation chez les muges et le bango démontre que cette sorte de programme peut donner d'importants résultats en un temps relativement court. Les travaux sur ces espèces, tout récents qu'ils soient, ont été en grande partie effectués dans des installations bien équipées d'Hawaï, de Taiwan et des Philippines. La conception expérimentale permise par ces laboratoires a donné des résultats d'un haut calibre.

Une même espèce de poisson pourra être élevée dans différentes parties du monde, et son taux de croissance et son développement sexuel pourront varier selon la zone climatique. Ainsi, élevées en Inde, les carpes chinoises sont des espèces «exotiques» et peuvent atteindre la maturité sexuelle en deux fois moins de temps que dans leur région d'origine. Pour cette raison et d'autres, il est difficile de présenter une «méthode standard» d'induction hormonale de l'ovulation chez l'une ou l'autre des carpes chinoises ou des principales carpes indiennes. Nous avons donc décidé de préparer un tableau comparatif des méthodes publiées qui ont enregistré une certaine mesure de succès (tableau 1). Bien que sélective, cette liste n'est pas, nous l'espérons, arbitraire. Dans la plupart des cas, les données ont été extraites de rapports publiés d'expériences d'élevage, bien que les méthodes recommandées dans divers

Tableau 1. Méthodes de reproduction provoquée — carpe commune, carpes chinoises et principales carpes indiennes.

Espèce (pays)	Époque de l'année	Âge du géniteur (a)	Nombre des femelles	Temp. de l'eau (°C)	Évaluation de l'état des gonades	Injection			
						Substance (voie)	Solvant	1 ^{re} dose	2 ^e dose
<i>Cyprinus carpio</i> (Népal)	—	—	—	25–28	F : ventre renflé, mou; cloaque renflé et rougeâtre M : écoulement de laitance par faible pression	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> séchées à l'acétone (IM)	NaCl 0,6 % : glycérine, 7 : 3	F : 1 hypophyse/kg de poids M : 1 hypophyse en tout	—
<i>Cyprinus carpio</i> (Singapour)	—	—	13	24–27	F : ventre renflé; cloaque rosâtre M : écoulement de laitance par faible pression	Hypophyses de <i>Puntius gonionotus</i> (IM)	NaCl 0,6 % ou eau distillée	F : 6 mg/kg poids humide	F : 6 mg/kg M : 12 mg/kg
Toutes les principales carpes indiennes (Inde)	Mai–juillet (mousson)	2–4	—	24–31	F : abdomen mou, renflé; orifice cloacal renflé, rose M : écoulement de laitance par faible pression	Hypophyses homoplastiques (IM)	NaCl 0,3 %	F : 2–3 mg/kg	F : 5–8 mg/kg M : 2–3 mg/kg
<i>Labeo rohita</i> (Inde)	Juillet–août	—	32	—	—	Hypophyses homoplastiques de donneur de taille comparable (IM)	Eau distillée	F : 0,5 glande dans 0,5 ml d'eau	F : 1 glande dans 0,75 ml d'eau M : 0,25 glande dans 0,5 ml d'eau
<i>Labeo rohita</i> , <i>Cirrhinus mrigala</i> (Inde)	Juillet	2–4	11	25–27	—	Hypophyses de <i>Tachysurus sp.</i> — poissons-chats marins (IM)	—	F : total de 30 mg/kg M : total de 20 mg/kg	—
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Israël)	—	2–4	60	—	F : ventre mou, dilaté M : écoulement de laitance par faible pression	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> (IM)	NaCl 0,75 %	—	—
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Malaysia)	—	2	12	27–28	F : ventre mou, dilaté cloaque rose, renflé M : laitance par pression	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> ou <i>Puntius gonionotus</i> M ou F (IM ou IP)	NaCl 0,6 %	F : 5–6 mg/kg poids humide	F : 5–6 mg/kg M : 5 mg/kg
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> (Malaysia)	—	2	10	27–28	—	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> ou <i>Puntius gonionotus</i> M or F (IM ou IP)	NaCl 0,6 %	F : 5–6 mg/kg poids humide	F : 5–6 mg/kg M : 5 mg/kg

Tableau 1. (suite)

ΔT^a (h)	Délai d'ovulation (h)	Méthode de fécondation	Méthode d'incubation	Résultats	Notes	Référence
-	8-10	Pression des flancs; à sec	Entonnoir à paroi de toile ou <i>hapa</i> ; 5-10 l d'eau/min	Manuel d'instruction; n'indique pas de résultats	Délai d'ovulation augmente avec abaissment de temp. de l'eau. Information sur hypophysation de carpes chinoises, mais détails sur injection obscurs; nombreux renseignements sur méthodes de fécondation et d'incubation.	Woynarovich (1975)
5	6-7	Ponte naturelle	-	Tous pondent; 65 000 alevins obtenus	Quantité exacte d'extrait hypophysaire requis encore indéterminée	Tay (1973)
6	3-6	Ponte naturelle dans <i>hapa</i> d'élevage	Double <i>hapa</i> stagnant; oeufs enlevés du <i>hapa</i> 6-8 h après fécondation	Manuel d'instruction; donne réussite à 60-100 %	Cette «méthode standard» pour carpes indiennes a subi peu de modification depuis 1963. On obtient les meilleurs résultats par journées fraîches, venteuses, pluvieuses	Chaudhuri (1972)
6	-	Fécondation naturelle	-	Résultats positifs à 72 %; 1 650 000 oeufs produits	Version simplifiée de la méthode précédente à l'intention de l'éleveur rural. Extrait préparé juste avant usage, sans centrifugation	Bhowmick et Kowtal (1973)
-	-	-	-	Réponse positive chez 7 femelles sur 11	Dosages de 20 mg/kg (femelle) et 15 mg/kg (mâle) inefficaces. Fortes doses utilisées à cause de l'écart phylogénique entre donneur et receveur. Coût ½ moindre qu'hypophysés homoplastiques	Varghese et al. (1975)
-	-	Pression des flancs; à sec	Incubateurs à eau courante	Éclosion de 3 millions de larves; 50 % de survie à 0,25 g, taille d'ensemencement	Injections effectuées sur des poissons dans l'eau pour éviter trauma	Pruginin et Cirlin (1976)
5	5-6	Pression des flancs; à sec	En écloserie: plateaux avec eau courante; en étangs: <i>hapas</i> stagnants	Fretin en excellente condition pour 30 % des femelles injectées	Addition de Synahorin à l'extrait a peu d'effet	Chen et al. (1969)
5	5-6	Pression des flancs; à sec	En écloserie: plateaux avec eau courante; en étangs: <i>hapas</i> stagnants	Fretin en excellente condition pour 40 % des femelles injectées	Maturité des femelles ne peut être évaluée par forme du tractus alimentaire, en raison de la présence de graisse mésentérique	Chen et al. (1969)

(à suivre)

Tableau 1. (suite)

Espèce (pays)	Époque de l'année	Âge du géniteur (a)	Nombre des femelles	Temp. de l'eau (°C)	Évaluation de l'état des gonades	Injection			
						Substance (voie)	Solvant	1 ^{re} dose	2 ^e dose
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> (Chine)	-	-	25	20-28	-	LRH-A ^b	Base aqueuse	F: 5-10 µg/kg M: 2,5-5 µg/kg	-
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> (Inde)	Juillet-août	-	11	28-31	-	Hypophyses homo et hétéroplastiques (IM)	-	F: 3-5 mg/kg	F: 7-10 mg/kg M: 2-3 mg/kg
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> (Thaïlande)	Juillet-octobre	1-2	8	27-33	-	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> plus Synahorin (IM)	NaCl 0,6 % ou eau distillée	F et M: 0,23-1 hypophyse	F: 1-3,4 hypophyses plus 20 unités-lapin de Synahorin
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> (É.-U., Arkansas)	Mai-juin	-	9	23-25	F: abdomen dilaté; M: laitance par pression	Hypophyses homoplastiques séchées à l'acétone (IP) plus HCG (IM)	-	F: 45 UI HCG/kg	F: 383 UI HCG/kg, suivies de 0,45 mg/kg d'hypophyse en 24 h (3 injections)
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> (Népal)	Mai-juin	4	12	20-28	F: orifice cloacal rosâtre M: laitance par pression	Hypophyses homoplastiques	-	F: 0,5-3 mg/kg poids sec	F: 2,5-3,5 mg/kg
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Malaysia)	-	-	-	25-27	-	HCG plus hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i>	-	F: 200 UI HCG/kg	F: 4 mg/kg d'hypophyse de <i>Cyprinus carpio</i>
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Chine)	-	-	198	20-28	-	LRH-A ^b	Base aqueuse	F: 10 µg/kg M: 5 µg/kg	-
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Inde)	Juillet-août	-	40	28-34	-	Hypophyses homo et hétéroplastiques (IM)	-	F: 4 mg/kg	F: 8-10 mg/kg M: 2-3 mg/kg
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Thaïlande)	Mai-août	1-2	10	27-33	-	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> plus Synahorin (IM)	NaCl 0,6 % ou H ₂ O distillé	F et M: 0,23-1 hypophyse	F: 1-3,4 hypophyses plus 20 unités-lapin de Synahorin
<i>Aristichthys nobilis</i> (Malaysia)	-	2	18	27-28	F: ventre plein, mou; cloaque renflé, rose M: laitance par pression	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> ou <i>Puntius gonionotus</i> M ou F (IM ou IP)	NaCl 0,6 %	F: 5-6 mg/kg poids humide	F: 5-6 mg/kg M: 5 mg/kg
<i>Aristichthys nobilis</i> (Malaysia)	-	-	-	25-27	-	HCG plus hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i>	-	F: 200 UI HCG/kg	F: 4 mg/kg d'hypophyse de <i>Cyprinus carpio</i>
<i>Aristichthys nobilis</i> (Chine)	-	-	108	20-28	-	LRH-A ^b	Base aqueuse	F: 1-2 µg/kg M: 0,5-1 µg/kg	F: 8-9 µg/kg M: 4-4,5 µg/kg
<i>Aristichthys nobilis</i> (Thaïlande)	Août-sept	1-2	5	27-33	-	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> plus Synahorin	NaCl 0,6 % ou H ₂ O distillé	F et M: 0,23-1 hypophyse	F: 1-3,4 hypophyses plus 20 unités-lapin de Synahorin

^aT = intervalle de temps entre première et deuxième injections

^bLRH-A = [D-Ala-Des-Gly-NH₂⁰]-LH-RH-éthylamide

Tableau 1. (fin)

ΔT^a (h)	Délai d'ovula- tion (h)	Méthode de fécondation	Méthode d'incubation	Résultats	Notes	Référence
-	15-20	-	-	Ponte de 88 %	Total de 139 poissons traités à la LRH-A avec divers modes d'injection; taux de ponte général de 86,3 %	Anonyme (1977 a, b)
-	5-6	Pression des flancs; à sec	<i>Hapas</i> stagnants	Fécondation à 15-80 %; 550 000 alevins produits	Mélange de Synahorin (25 IU) avec extrait hypophysaire s'avère inefficace	Singh et al. (1970)
6-8	4-6	Pression des flancs; à sec	<i>Hapas</i> à eau courante	Ovulation à 47 %	-	Boonbrahm et al. (1968)
24	10-16	Pression des flancs; à sec	Dans éclosérie: bocaux avec eau courante	Ovulation 66 %; éclosion 20-98 %	Poissons anesthésiés à 7-10 ppm Quinaldine pour injection et expulsion des oeufs	Bailey et Boyd (1970)
6	12-14	Pression des flancs; à sec	Entonnoirs d'éclosion (capacité 20-30 l) en eau courante (0,5-0,8 l/min)	Ovulation chez 11 femelles sur 12; production de 400 000 alevins	Aucun mâle injecté, laitance s'écoulant librement	Shrestha (1973)
6	6-7	-	-	Ovulation réussie à 80 %	Rapport préliminaire, CRDI	Tajuddin (1978 — inédit)
-	22-24	-	-	Ovulation provoquée 84 %	-	Anonyme (1977 a, b)
-	4-5	Pression des flancs; à sec	<i>Hapa</i> stagnant	Fécondation 5-80 %; 907 000 alevins obtenus	Addition de 25-50 UI de Synahorin aux deux injections des femelles aussi efficace. Production maximale d'alevins associée à pluie et temps frais. Meilleure temp. de l'eau 27-30 °C	Singh et al. (1970)
6-8	4-6	Pression des flancs; à sec	<i>Hapas</i> en eau courante	Ovulation 67,7 %	-	Boonbrahm et al. (1968)
5	5-6	Pression des flancs; à sec	En éclosérie: plateaux avec eau courante; en étangs: <i>hapas</i> stagnants	Alevins en bonne condition pour 66 % des femelles injectées	Addition de Synahorin à l'extrait hypophysaire a peu d'effet	Chen et al. (1969)
6	6-7	-	-	Ovulation réussie à 80 %	Rapport préliminaire, CRDI	Tajuddin (1978 — inédit)
12	-	-	-	Ovulation provoquée à 82 %	-	Anonyme (1977 a, b)
6-8	4-6	Pression des flancs; à sec	<i>Hapas</i> en eau courante	Ovulation 91 %	-	Boonbrahm et al. (1968)

manuels de pisciculture aient été incluses le cas échéant. La carpe commune, les carpes chinoises et les principales carpes indiennes sont groupées par espèce et, aux fins de comparaison, le pays d'élevage est indiqué. Dans l'état actuel de l'expérimentation en ce domaine, le lecteur pourra considérer ce tableau comme une source d'idées plutôt qu'une liste de méthodes définitives.

ÉPOQUE DE L'ANNÉE; ÂGE DES GÉNITEURS

On sait depuis longtemps que les espèces tempérées croissent plus rapidement et atteignent la maturité sexuelle plus tôt lorsqu'elles sont élevées dans un climat tropical. Les carpes chinoises en sont un exemple, qui ont été élevées avec succès dans des régions aussi éloignées les unes des autres que Russie et Malaysia. A Moscou, par exemple, les carpes chinoises atteignent leur maturité sexuelle à 10 ans alors qu'elles y arrivent après seulement 2 ans en Malaysia. Dans les climats chauds, on peut considérer que la haute température de l'eau et la longue photopériode constituent les facteurs primaires d'une maturation accélérée. Il ne faudrait toutefois pas négliger l'influence du régime alimentaire; Bienarz et ses collègues (1977) ont démontré que la maturation ovarienne était accélérée chez des carpes nourries à un régime riche en protéines. Une alimentation supplémentaire produisit le même effet chez la carpe indienne *Labeo rohita* (Bhowmick et al., 1977).

Une fois la maturité sexuelle atteinte, les ovaires des principales carpes chinoises et indiennes contiennent tout le temps des ovocytes à plusieurs stades de développement. Pour cette raison, dans des conditions appropriées de température et de régime alimentaire, les sujets peuvent produire des oeufs ovulés mûrs plus qu'une fois par année, surtout dans les pays tropicaux où des températures élevées uniformes fournissent d'excellentes conditions pour la croissance des poissons. D'après Chen et al. (1969), des carpes chinoises élevées en Malaysia peuvent avoir deux ou trois cycles reproducteurs en une année. Ils suggèrent qu'en manipulant le régime alimentaire, il devrait être possible d'espacer et de régler les cycles. Cela est faisable, comme le démontrent des résultats récents obtenus à Malacca; Tajuddin (1978 — inédit) rapporte qu'il est maintenant possible de faire pondre des carpes à grosse tête et des carpes argentées pratiquement à chaque mois de l'année.

Dans des pays comme l'Inde, où existent des saisons sèche et humide distinctes (mousson), le nombre des pontes possibles en une seule année n'est pas aussi élevé que sous les tropiques, bien

que Bhowmick et al. (1977) aient récemment réussi à provoquer la ponte de mêmes sujets chez les carpes indiennes *Labeo rohita* et *Catla catla* deux fois en une saison. Dans leur habitat naturel, les carpes indiennes pondent une fois par année. La ponte a lieu durant la mousson, et l'on croit que les précipitations et l'abaissement de température de l'eau sont les facteurs responsables de la maturation sexuelle finale. Comme on peut le constater au tableau 1, c'est aussi dans ces conditions que l'on provoque artificiellement la ponte.

ÉVALUATION DE L'ÉTAT DES GONADES

Pour réussir, l'hypophysation dépend d'une évaluation précise de l'état de maturation sexuelle de la femelle reproductrice. On reconnaît ordinairement facilement les mâles mûrs : il y a expulsion de laitance par légère pression de l'abdomen et, comme nous l'avons déjà noté, l'hypophysation des mâles est souvent superflue. Les études publiées sur l'élevage des carpes ont fait appel à des caractères externes, tels que «ventre renflé» et «orifice cloacal rosâtre» pour déterminer l'état de maturité sexuelle des femelles; cette méthode dépend toutefois d'une interprétation subjective des couleurs et des formes, et n'est pas très fiable. Un ventre plein, par exemple, peut refléter un tractus digestif dilaté. De même, un orifice génital renflé et rosâtre se rencontre communément chez des poissons dont l'ovaire a déjà commencé à régresser (Chen et al., 1969). Il est particulièrement difficile d'appliquer cette méthode à la carpe de roseau, et c'est probablement pour cette raison que, parmi les carpes chinoises, c'est l'espèce chez laquelle il est le plus difficile de provoquer la ponte par hypophysation. La mise au point de méthodes fiables et sûres de biopsie ovarienne augmentera de façon spectaculaire le succès de la reproduction provoquée chez tous les poissons d'élevage, et il y a un besoin urgent de recherche en ce domaine. Nous traitons le sujet plus en détail au chapitre 5 (Méthodes de biopsie ovarienne), dans lequel nous passons en revue les techniques actuelles utilisées avec les carpes, muges, bango et poissons-chats.

INJECTION

Substance : La plupart des méthodes résumées au tableau 1 comportent l'injection d'un extrait hypophysaire brut de poissons. Dans les cas où l'on utilise des hypophysés hétéroplastiques, l'écart phylogénique entre donneur et receveur n'est pas grand; c'est ainsi, par exemple, que la carpe commune est souvent utilisée comme donneur

tant pour les carpes chinoises qu'indiennes. Il convient cependant de noter l'emploi d'hypophysés de poissons-chats marins pour provoquer la ponte chez les carpes indiennes, car cela représente une économie considérable (Varghese et al., 1975). Nous avons déjà examiné l'usage de l'hormone synthétique LRH-A pour provoquer la ponte chez les carpes chinoises; une recherche future permettra peut-être de découvrir un rôle important à ce composé pour la pisciculture dans le monde entier.

Des extraits hypophysaires bruts de poissons peuvent être préparés à partir de glandes fraîchement disséquées ou de glandes conservées dans l'acétone ou l'alcool absolu. Les rapports dont on dispose n'identifient pas toujours la source de la glande et négligent souvent de mentionner s'il s'agit du « poids sec » ou du « poids humide » de l'hypophyse. Il est donc difficile de répéter ces expériences. Il en est de même du solvant utilisé qu'on ne mentionne pas toujours, bien que NaCl à 0,6 % semble donner des résultats uniformes. L'injection ne devrait pas dépasser 0,5 ml, et il faut enlever, soit par centrifugation soit par sédimentation, toutes particules insolubles qui restent après macération.

Détermination du dosage : L'ovulation est généralement provoquée par application de l'extrait hypophysaire ou de la gonadotrophine en deux doses. La première est dite de « stimulation » et la seconde, de « résolution »; l'injection des mâles se fait ordinairement au moment de la seconde injection de la femelle. Le dosage total semble divisé de façon quelque peu arbitraire, et l'intervalle de temps entre injections est déterminé par tâtonnements. La méthode de calcul du dosage est fonction du matériel dont dispose l'éleveur; les résultats les plus uniformes sont obtenus quand la substance administrée et le géniteur qui la reçoit sont pesés avec précision et le dosage calculé sur base de poids à poids. On peut cependant obtenir des résultats acceptables sans balance; Bhowmick et Kowtal (1973) décrivent une méthode simplifiée selon laquelle les hypophysés sont prélevés sur des donneurs de taille comparable à celle du receveur. Il est possible de déterminer le poids du donneur et du receveur en se basant sur un nomogramme reliant poids à longueur et circonférence mesurées des poissons (Makeyeva et Verigin, 1970).

Voie et méthode d'injection : La méthode de loin la plus fréquemment utilisée est l'injection intramusculaire d'hormones et d'extraits, bien que l'administration intrapéritonéale soit pratiquée à l'occasion. Cette dernière risque d'endommager

les organes internes et peut aussi entraîner une perte d'extrait par injection accidentelle du tractus digestif, et la méthode semble peu recommandable. L'injection intramusculaire peut être pratiquée entre la base de la nageoire dorsale et la ligne latérale. L'endroit où l'aiguille est introduite n'est pas trop important, mais l'éleveur doit soulever soigneusement les écailles et frotter doucement l'endroit une fois l'instrument retiré afin d'aider la répartition de l'extrait et prévenir un retour du liquide. On peut aussi empêcher ce retour en augmentant la viscosité de la solution par addition de glycérine à l'extrait dans le rapport de 3:7 (Woyanovich, 1975).

Manipulation des géniteurs : A la manipulation, l'enlèvement du mucus épidermique du poisson ouvre la voie à l'infection bactérienne, comme d'ailleurs des blessures plus sérieuses telles que contusion, abrasion et perte d'écailles. La capture au filet, l'injection et la ponte par pression des flancs sont toutes des opérations comportant un risque considérable de blessure, et il faut minimiser autant que possible les dommages. Un poisson manipulé sans soin mourra avant l'ovulation, alors qu'un autre qui aura été convenablement traité se reproduira avec succès pendant plusieurs années.

Après avoir capturé le poisson au filet et l'avoir retiré du vivier, l'éleveur devrait l'envelopper dans une serviette humide et ne jamais le jeter à l'eau. Un bain à l'acriflavine (0,01 %) s'est avéré utile pour prévenir le rougissement de l'écaille, blessure communément observée quand on provoque manuellement la ponte chez des carpes en captivité (Bhowmick et al., 1977), et la solution devrait être appliquée après la ponte. On n'emploie que rarement des anesthésiques; pourtant, leur usage pourrait nettement améliorer la survie. On a démontré que le MS-222 (Woyanovich, 1975) et la Quinaldine à des concentrations de 50-100 ppm (Chen et al., 1969) étaient tous deux efficaces chez les carpes. Le MS-222 peut être ajouté à l'eau par doses de 5-100 mg/litre, ou encore un bouchon de toile rempli d'ouate peut être trempé dans une solution de 0,04M et inséré dans la bouche du poisson. On a utilisé avec succès le MS-222 (1,6 ppm) dans le transport de carpes de roseau et de carpes argentées sur de longues distances (Gupta et Sharma, 1974). On trouvera dans Bell (1967) et Anonyme (1978) l'information concernant les anesthésiques généraux communément utilisés avec les poissons.

L'injection peut être faite sur un poisson maintenu dans l'eau. On élimine de cette façon le risque de blessure interne pouvant survenir quand les organes internes ne sont plus supportés par l'eau

environnante. Le poisson peut être soit anesthésié, soit retenu dans un filet.

DÉLAI D'OVULATION

Après l'injection finale, on remet les géniteurs dans leurs bassins et, à moins qu'on ne désire une fécondation naturelle, il faut les surveiller avec soin afin de détecter tout signe indiquant que les oeufs et la laitance sont prêts à être expulsés. Le moyen le plus fiable de prédire ce moment est le comportement nuptial; cependant, on peut capturer la femelle au filet et la masser doucement pour déterminer si ses oeufs ont commencé à couler librement. On peut empêcher la perte d'oeufs en liant l'orifice génital au moment de l'injection; cette opération doit s'effectuer sous légère anesthésie. La marge d'erreur dans la détection d'une femelle prête à pondre par pression des flancs est très faible. Les oeufs enlevés une heure trop tôt pourront être stériles. On ne peut escompter que les carpes chinoises en particulier pondront naturellement; il s'ensuit que les oeufs qui ne sont pas expulsés manuellement dégènerent et se résorbent. Le phénomène peut se produire à peine 30 minutes après que les oeufs sont devenus complètement mûrs (Chen et al., 1969).

L'intervalle entre injection et ovulation varie selon le nombre d'injections et la température de l'eau. S'il comprend bien l'influence de ces facteurs, le pisciculteur pourra établir un horaire des injections de façon que la ponte artificielle puisse se faire à une heure convenable. Le délai qui suit la dernière injection peut être nettement raccourci en administrant plus d'une injection, ce qui rend le moment de l'ovulation plus facile à prédire. Dans les endroits où il est possible de modifier la température de l'eau, on peut exercer un bon contrôle; chez la carpe commune, par exemple, l'ovulation se produit approximativement 8 heures après injection à 28 °C, alors qu'à 15 °C, il faut une période trois fois plus longue (Woynarovich, 1975).

MÉTHODE DE FÉCONDATION

La fécondation peut se faire soit par ponte manuelle et mélange des oeufs et du sperme, soit par des moyens naturels dans un étang de ponte. La fécondation artificielle se fait souvent selon la méthode «sèche»; les deux géniteurs sont asséchés, les oeufs sont expulsés dans un récipient sec, la laitance est répandue sur les oeufs et l'on mélange doucement les deux avec une plume ou une cuillère en plastique. Après 1-2 minutes, les oeufs sont lavés à grande eau et transférés dans un plus

grand volume d'eau (plusieurs litres) pour renfler et durcissement à l'eau. Une fois ce processus terminé, soit au bout d'une heure environ, les oeufs peuvent être placés dans un incubateur ou dispositif d'éclosion.

Étant adhésifs, les oeufs de carpe commune et de carpes chinoises peuvent s'agglutiner et priver d'oxygène les oeufs à l'intérieur de la masse. On peut parer à cet inconvénient en ajoutant aux oeufs, immédiatement après mélange avec le sperme, une solution de NaCl à 0,4 % et d'urée à 0,3 % (Woynarovich, 1975; Kossmann, 1976), d'abord en volume à peu près égal à celui des oeufs, qu'on complète ensuite, en agitant, au fur et à mesure de l'absorption. Un lavage subséquent dans une solution de tannin à 0,15 % avant transfert dans l'incubateur enlèvera toutes traces de matériel adhésif.

Pour les carpes indiennes, on a communément recours à la ponte naturelle, ce qui a l'avantage de limiter la manipulation des géniteurs. Il se peut toutefois que la maladie et la prédation abaissent le taux de survie à un niveau inadmissible si les oeufs sont incubés dans l'étang de ponte. Pour cette raison, les oeufs fécondés sont généralement recueillis après durcissement à l'eau et placés dans des appareils d'incubation spéciaux ou des enceintes d'éclosion. Cette opération doit se faire soigneusement et méthodiquement si l'on veut obtenir des taux de survie élevés.

MÉTHODE D'INCUBATION

Les oeufs fécondés par ponte naturelle et qu'on laisse éclore dans des étangs stagnants sont exposés à la prédation et à la maladie, et le pourcentage d'éclosion peut descendre à 1-5. Le *hapa* d'éclosion traditionnel fournit une certaine protection contre la prédation. Ce dispositif simple (fig.6) est constitué par plusieurs plateaux intérieurs peu profonds flottant à l'intérieur d'un cadre plus grand. Les plateaux intérieurs sont recouverts de filets à mailles plus grandes, tels que les filets à moustiques, et les larves provenant des oeufs placés dans les plateaux passeront à travers ces mailles, laissant derrière eux les oeufs morts et les membranes d'oeufs. Le *hapa* extérieur est couvert d'une nappe de filet à mailles fines qui retient les larves. Le *hapa* d'éclosion donne les meilleurs résultats, placé en eau courante et recouvert de façon à protéger le frai contre la prédation des oiseaux et des grenouilles. Un tel dispositif demeure néanmoins exposé à des risques incontrôlables, tels que les changements de température et l'abaissement du niveau de l'eau. Pour une production d'alevins à grande échelle, il faut une installation d'éclosion intérieure. Un appro-

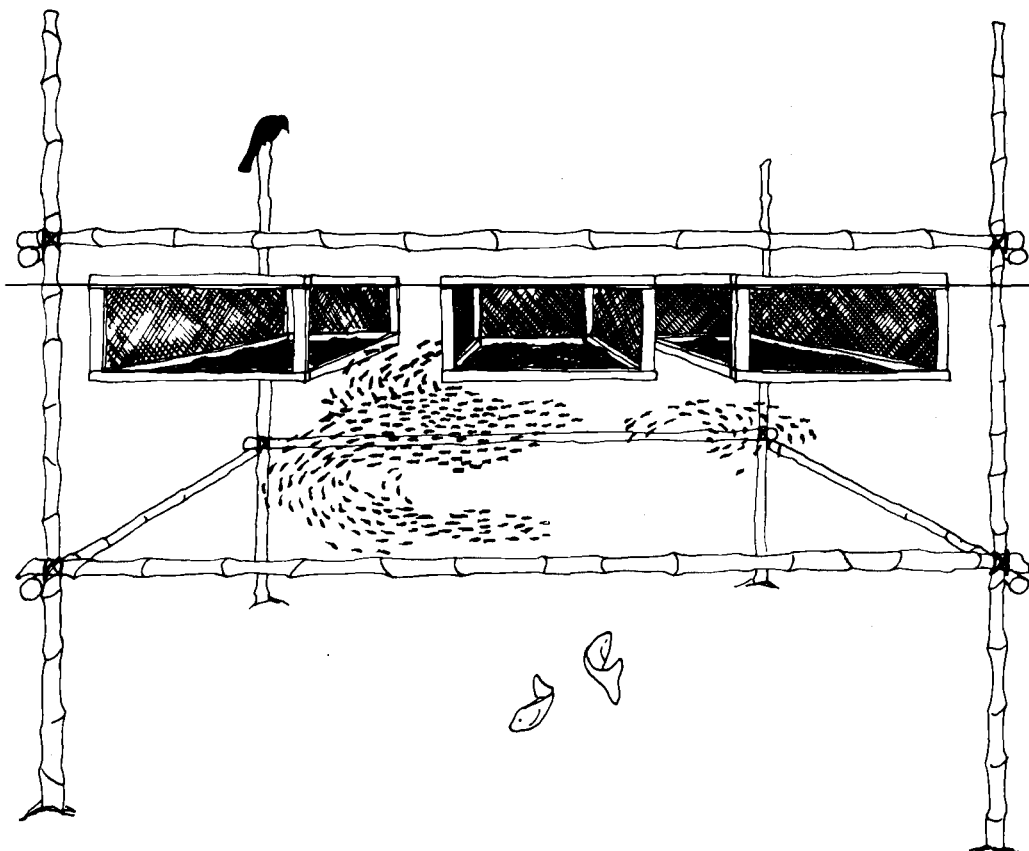


Fig.6. Schéma illustrant le principe d'opération d'un hapa d'éclosion. La nappe de filet à mailles serrées entourant le cadre extérieur n'y figure pas, afin de montrer les détails de construction. Les alevins produits par les oeufs placés dans les plateaux flottants passent à travers les mailles plus grandes entourant ces récipients, mais ne peuvent franchir la barrière du hapa extérieur.

visionnement d'eau par conduites est essentiel : on peut ainsi régler le débit et l'oxygénation, et permettre l'application contrôlée de produits bactéricides et fongicides.

Un appareil d'éclosion intérieur peut être de conception simple; ses principales fonctions consistent à fournir suffisamment d'eau courante pour assurer un lent mouvement de rotation des oeufs, à permettre d'éliminer facilement les débris tels qu'oeufs morts et membranes d'oeufs, et enfin à permettre l'enlèvement des larves pour leur transfert dans les étangs d'élevage. La figure 7 représente schématiquement un appareil simple pour l'incubation d'oeufs de carpes. Le dispositif a une capacité de 80 litres et peut contenir jusqu'à 70 000 oeufs de carpes chinoises. Le débit de l'eau doit être maintenu à 1-2 litres/minute. L'entonnoir peut être fait de tôle galvanisée ou de plastique (un seau en plastique pourra faire

l'affaire). Dans sa position la plus simple, l'incubateur est suspendu à un support et l'eau sort par un filet en nylon. On peut y apporter de nombreux raffinements : si le débit est ajusté de façon que les oeufs circulant lentement ne montent qu'à la moitié de l'entonnoir, les larves peuvent alors s'échapper par un orifice placé au-dessus d'un déversoir. Une pomme de douche ou un tamis assurera une meilleure circulation d'eau.

MUGES

Le mulot, *Mugil* sp., est une espèce d'élevage particulièrement intéressante; son aire est étendue, il peut vivre dans une gamme étendue de températures et il est omnivore. En outre, il est euryhalin et peut donc être maintenu en eau douce, saumâtre ou salée. La collection d'alevins

dans les eaux estuariennes est toutefois sujette à d'imprévisibles fluctuations d'abondance. C'est pourquoi on a fait beaucoup de recherche ces dernières années en vue d'assurer un approvisionnement de poissons élevés artificiellement

PONTE ARTIFICIELLE

Durant la dernière décennie, on a à plusieurs reprises provoqué avec succès l'ovulation chez des muges, bien qu'on n'ait pas encore trouvé de méthode combinant fiabilité et bas coût. On a utilisé une variété de substances stimulantes, notamment l'homogénéat d'hypophyse de carpe (Yashouv, 1969), l'homogénéat d'hypophyse de muge mélangé avec du Synahorin (Liao, 1975), la gonadotrophine de saumon partiellement purifiée, SG-G100 (Shehadeh et al., 1973a) et la gonadotrophine chorionique humaine, HCG (Kuo et al., 1973b).

Liao et ses collègues poursuivent depuis 1963 des recherches sur la ponte du mulot cabot *Mugil cephalus* à Taiwan, et les progrès accomplis jusqu'en 1973 ont été résumés (Liao, 1975). Deux points sont dignes de mention : les géniteurs étaient presque exclusivement des poissons sauvages capturés au moment de la migration reproductrice annuelle (décembre-février) et, en second lieu, on n'a pas tenté d'évaluer l'état de développement sexuel des femelles avant l'injection. Comme nous l'avons déjà mentionné, le succès de tout programme d'ovulation provoquée dépend étroitement de l'état de préparation des femelles. L'utilisation de géniteurs sauvages présente aussi de sérieux inconvénients; non seulement il est difficile de les obtenir, mais ils sont très souvent meurtris et écorchés durant leur capture; enfin, ils ne sont pas habitués à être manipulés. Malgré ces difficultés, la ponte a été provoquée à plusieurs reprises en utilisant une combinaison de Synahorin et d'hypophyses de muges matures séchées à l'acétone. Administré séparément l'hypophyse ou le Synahorin sont tous deux inefficaces. On a trouvé que le dosage total le plus efficace était de 2,5-6 hypophyses combinées avec 10-60 unités lapin de Synahorin, administré par voie intramusculaire à raison de deux injections à peu près égales à 24 heures d'intervalle. On rapporte que l'addition de vitamine E, 0-300 mg, avait augmenté le pourcentage de femelles réagissant : 71,4 % des femelles ainsi traitées eurent une ovulation réussie. Liao admet que l'estimation du dosage à partir du nombre d'hypophyses entières offre des inconvénients. Selon lui, on obtiendrait de meilleurs résultats en le calculant sur une base de poids/poids. Les essais de fécondation naturelle ne réussirent pas et la ponte fut provoquée

manuellement, tant chez les mâles que chez les femelles. La fécondation à sec et humide a été employée avec égal succès. On a constaté que l'hypophysation des mâles n'était pas nécessaire, observation commune dans les rapports publiés sur la ponte des muges en captivité.

Une méthode semblable a été utilisée avec un certain succès en Inde avec *Mugil macrolepis* (Sebastian et Nair, 1975). Là aussi, on a utilisé des géniteurs sauvages et on a injecté aux femelles un total de 7 hypophyses de muges matures, administrées en deux doses à intervalle de 6 heures. On n'a pas fait de biopsie ovarienne et la fécondation naturelle ne réussit pas. On rapporte que 40 % des femelles injectées eurent une ovulation réussie. Il est bon de noter que les dosages de matériel hypophysaire employés dans cette étude étaient très élevés; cependant, fait significatif, les hypophyses agirent en l'absence de substances synergétiques de mammifères, telles que le Synahorin et la HCG.

Il est difficile de pratiquer l'élevage des muges à grande échelle quand les approvisionnements de mâles et de femelles matures dépendent de sources naturelles. Les études poursuivies à l'Océanic Institute d'Hawaï sont, pour cette raison, importantes : les géniteurs sont obtenus à même des stocks élevés en étangs et pondent naturellement dans des bassins d'élevage. Il n'y a donc pas lieu de provoquer la ponte manuellement (Kuo et al., 1974).

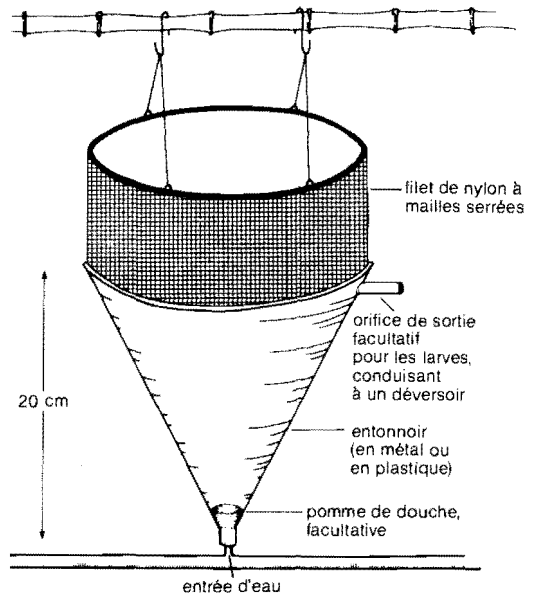


Fig.7. Un incubateur pour oeufs de carpes.

L'introduction d'une méthode sûre de biopsie ovarienne (Kuo et al., 1974) a éliminé un second obstacle (chapitre 5). On a provoqué l'ovulation avec le plus de fiabilité quand le diamètre moyen des ovocytes dépassait 0,6 mm (0,65 mm était la bonne taille). Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la gonadotrophine de saumon partiellement purifiée, SG-G100, administrée en deux injections intramusculaires : un dosage initial d'un tiers du total est suivi, après 48 heures, des deux tiers qui restent. Nous présentons à la figure 8 la relation entre le dosage de gonadotrophine requis pour déclencher la ponte et le diamètre initial des oeufs du receveur. La quantité d'hormone à injecter peut être calculée directement à partir de ce graphique. Dans les cas où le diamètre moyen des oeufs est inférieur à 0,6 mm, la ponte peut être provoquée par injection quotidienne de SG-G100 en doses croissantes de 0,12 à 3,4 $\mu\text{g/g}$ de poids corporel. L'opération se poursuit durant 6 à 8 jours et est suivie de l'hypophysation.

Le coût de SG-G100 est prohibitif dans bien des régions du monde en voie de développement. La gonadotrophine chorionique humaine (HCG) est meilleur marché et plus facile à obtenir; selon des études préliminaires de Kuo et ses collègues (1973b), cette hormone peut être utilisée seule pour provoquer l'ovulation chez *Mugil cephalus*. La meilleure méthode est d'injecter une dose d'amorce d'environ 20 UI de HCG/g de poids corporel quand le diamètre moyen des ovocytes a atteint 0,6 mm, suivie, 24 heures après, d'une seconde dose d'environ 40 UI/g. On a ainsi obtenu des taux de fécondation allant de 45 à 98 %.

La plus grande partie de la recherche sur l'induction de l'ovulation chez les muges a porté sur le déclenchement de la ponte durant la période de pointe de la saison de ponte naturelle. Dans le but de prolonger cette saison chez *M. cephalus* en captivité, Kuo et Nash (1975) ont provoqué avec succès la maturation ovarienne hors saison par manipulation de la photopériode et de la température. Ils constatèrent que le déclenchement de la vitellogénèse, qui suit normalement une période réfractaire d'après ponte de 235 jours, pouvait être provoqué en 56 jours avec photopériode constante de 6 heures de clarté/18 d'obscurité à une température de 21 °C. Ils purent ensuite provoquer la ponte des poissons «accélérés» par injection de SG-G100. Ceci laisse penser que le mullet cabot peut, dans certaines conditions contrôlées, pondre artificiellement plus d'une fois par an. Il s'agit d'une étape importante dans l'utilisation de stimuli environnementaux pour provoquer la maturation sexuelle.

ÉLEVAGE DES LARVES

Bien qu'on puisse maintenant régler l'ovulation et la ponte de plusieurs espèces de muges, l'élevage de larves à grande échelle se heurte encore à plusieurs obstacles majeurs. Si les taux d'éclosion peuvent être élevés, la survie durant les 42 premiers jours est inférieure à 5 % dans la plupart des études publiées, 20 % étant le chiffre le plus élevé (Liao, 1975). La mortalité est généralement associée à des changements de densité des larves, qui subissent deux descentes importantes dans la colonne d'eau : la première à 2,5 jours et la seconde, 8 jours après éclosion (Kuo et al., 1973a). Les mortalités qui suivent la seconde descente sont ordinairement plus nombreuses que celles subséquentes à la première et sont souvent totales. Nash et Kuo (1975) ont passé en revue les problèmes associés à l'élevage des muges et, selon eux, la teneur en eau douce de la nourriture larvaire peut contribuer de façon significative à la mortalité après descente, en affectant la densité des larves. Ils font également ressortir l'importance de la température, de la salinité et du régime alimentaire. Nash et al. (1973) donnent des méthodes détaillées d'élevage des larves du mullet cabot; les méthodes présentement en usage en URSS (Anonyme, 1976) et en Inde (Sebastian et Nair, 1975) offrent aussi un intérêt.

BANGO

Le bango *Chanos chanos* est une espèce euryhaline extrêmement cultivée dans les étangs saumâtres côtiers et dans des enceintes lacustres d'eau douce en Indonésie, aux Philippines et à Taiwan. Le bango est abondant dans toute la région indo-pacifique, et l'on s'efforce, dans plusieurs autres pays, de l'élever pour la consommation humaine et comme appât pour le thon. Sous bien des rapports, les problèmes d'induction de la reproduction sont semblables à ceux que soulève l'élevage des muges et en fait, les travaux de recherche récents sur la ponte du bango ont été entrepris par des équipes qui s'étaient déjà occupées de reproduction des muges. Les chercheurs dans les instituts de recherche marine de Taiwan et d'Hawaï, de même que ceux du Southeast Asian Fisheries Development Centre aux Philippines ont fait les premiers pas vers la production d'alevins dans des conditions contrôlées. Il faut bien noter que le travail ne fait que commencer et que les rapports sont en général de nature préliminaire.

Les expériences d'élevage avec des bangos fraîchement capturés présentent plusieurs problèmes



*Un type d'incubateur simple à remontée d'eau, utilisé pour les oeufs de carpes en Thaïlande.
(Photo : W.H.L. Allsopp)*

semblables à ceux rencontrés avec des muges sauvages. Souvent, le stress de la manipulation est mal toléré, bien que Vanstone et al. (1976a) signalent des méthodes de capture, de transport et de domestication qui ont effectivement diminué la mortalité. Autre point plus important, parmi les bangos matures capturés en mer, une forte proportion ont déjà pondu et ne peuvent donc servir à des essais d'élevage. Pour cette raison, il est

essentiel que les bangos vides ainsi capturés soient maintenus en captivité jusqu'à ce qu'ils mûrissent de nouveau, ou encore qu'on élève jusqu'à maturité des jeunes en captivité. Cette dernière opération n'est pas facile. En Indonésie, par exemple, des bangos maintenus dans de grands étangs d'eau saumâtre n'avaient pas encore atteint la maturité sexuelle à 8 ans (Alikunhi, 1976). Des chercheurs indonésiens et philippins ont entrepris

des programmes d'élevage de poissons de 2 ans dans de vastes bassins intertidaux et enceintes flottantes, utilisant des régimes alimentaires contrôlés pour vaincre cette résistance. On étudie aussi la possibilité de se servir de réservoirs de retenue ensemencés de bangos d'un an comme source de géniteurs. Par ailleurs, Liao et Chang (1976), qui ont élevé dans de grands bassins de ciment extérieurs des alevins recueillis naturellement, démontrèrent que le bango peut atteindre la maturité sexuelle en captivité. Plusieurs mâles produisirent du sperme mature à l'âge de 5 ans (l'âge normal de la maturité sexuelle à Taiwan est de 4-5 ans), et l'on a constaté qu'une femelle de 6 ans contenait des ovocytes au stade de vésicule vitelline. D'après ces auteurs, un élevage de quelques mois de plus serait suffisant pour atteindre le diamètre critique des oeufs auquel l'ovulation peut être provoquée. Nash et Kuo (1976) établissent provisoirement cette limite à 0,7-0,8 mm; ils donnent également des renseignements concernant l'élevage d'un stock reproducteur en captivité.

Bien qu'on ait réussi la ponte artificielle du bango chez seulement quelques poissons, les résultats sont suffisamment encourageants pour nous porter à croire que d'ici quelques années, il sera possible de contrôler la reproduction. Nash et Kuo (1976) et Vanstone et al. (1976b) rapportent l'ovulation chez des femelles capturées et auxquelles on avait injecté de la gonadotrophine de saumon partiellement purifiée (SG-G100); dans ces essais préliminaires, il n'y eut pas fécondation. Les résultats les plus significatifs à ce jour ont été obtenus par les chercheurs du Southeast Asian Fisheries Development Centre aux Philippines. Ils ont réussi à provoquer l'ovulation chez deux bangos femelles matures fraîchement capturées et auxquelles on avait injecté un mélange de poudre acétonique d'hypophyse de saumon et de gonadotrophine chorionique humaine (HCG). Les oeufs furent fécondés avec de la laitance obtenue chirurgicalement de mâles qui avaient pondu naturellement et qui contenaient encore des traces de laitance viable pour être ensuite incubés dans un bassin de toile caoutchoutée de 4 m de diamètre, avec eau de mer aérée à une profondeur de 1 m. Trente-deux larves vécurent 74 jours nourries à un régime de *Chlorella*, de *Brachionus* immatures, de zooplancton sauvage mixte et de diatomées mixtes cultivées; à ce moment-là, elles furent transférées dans des bassins plus grands, avec fleurs algales naturelles et nourries à un régime supplémentaire de poisson haché (Vanstone et al., 1977). Vers la fin de 1979, les 32 poissons étaient toujours vivants (W.E. Vanstone, communication personnelle). La HCG et la poudre acétonique d'hypo-

physe de saumon sont toutes deux relativement bon marché, et il est encourageant de noter que l'ovulation peut être provoquée sans qu'on ait à faire appel à la SG-G100 qui est plus dispendieuse.

POISSONS-CHATS

Les poissons-chats sont des poissons comestibles de haute qualité, pouvant supporter des peuplements denses et des conditions ambiantes défavorables. Des espèces des genres *Pangasius* et *Clarias* prennent de plus en plus d'importance dans l'aquiculture du Sud-Est asiatique et en Inde. Les membres de la famille des Clariidae sont particulièrement résistants, car ils possèdent un organe accessoire de respiration atmosphérique leur permettant de survivre dans des eaux pauvres en oxygène. *Clarias batrachus* et *Clarias macrocephalus* sont l'objet d'un élevage intense en Thaïlande, où une nourriture à bon marché sous forme de poissons de rebut provenant de la pêche hauturière a stimulé la production de ces espèces de façon spectaculaire au cours de la dernière décennie.

Parmi les espèces de poissons-chats élevées en assez grand nombre dans l'Asie du Sud-Est et en Inde, seul *C. batrachus* pond en captivité, et l'on a récemment entrepris de mettre au point des méthodes d'induction de la ponte. Les travaux publiés sur le sujet sont toutefois limités; la critique énoncée plus haut à l'endroit des publications traitant de la ponte provoquée chez les carpes vaut aussi pour la littérature sur les poissons-chats. On constate au tableau 2 que bien des rapports sont incomplets. Les notes explicatives relatives à la reproduction provoquée chez les carpes sont généralement applicables ici. Il faudrait cependant mentionner brièvement les différences qui existent dans le contrôle environnemental de la reproduction et des méthodes d'incubation.

CONTRÔLE ENVIRONNEMENTAL DE LA REPRODUCTION

La ponte, chez les variétés asiatiques de poissons-chats, est saisonnière, comme celle des autres poissons élevés en étang; l'induction de l'ovulation par injection hormonale est ordinairement tentée entre mai et octobre. Nous avons déjà signalé que, chez les carpes, il a souvent été possible de faire pondre une même femelle plus d'une fois en une saison. Bien que la chose n'ait pas été signalée chez des poissons-chats élevés dans des conditions naturelles, une récente recherche sur le poisson-chat indien *Heteropneustes*

Tableau 2. Reproduction provoquée — méthodes utilisées chez les poissons-chats.

Espèce (pays)	Époque de l'année	Âge du géniteur (a)	Nombre des femelles	Temp. de l'eau (°C)	Évaluation de l'état des gonades	Injection		
						Substance (voie)	Solvant	Dosage
<i>Pangasius sutchi</i> (Thaïlande)	Juin-sept	3	—	28–32	F : ventre dilaté; orifice cloacal rosâtre; oeufs dégagés, jaune luisant M : laitance par pression	Hypophyses de poissons-chats fraîches ou préparées (IM)	Eau distillée	Pas clairement indiqué: 2 ^e dose des femelles 1,5 à 3 fois la 1 ^{re} ; mâle reçoit 1/4 de la dose des femelles au moment de la 2 ^e injection
<i>Pangasius pangasius</i> (Thaïlande)	Août	5–6	2	27–31	—	Hypophyses de <i>Clarias batrachus</i> (IM)	NaCl 0,8 %	F : 3 injections : 2, 6 et 12 hypophyses M : 2 hypophyses au moment de la 1 ^{re} injection des femelles
<i>Clarias fuscus</i> (Taiwan)	—	1,5–2	—	26–29	F : ventre mou, dilaté; orifice génital rouge	Hypophyses de <i>Cyprinus carpio</i> mélangées avec Synahorin	NaCl 0,7 %; KCl 0,03 %; CaCl ₂ 0,026%; NaHCO ₃ 0,003%;	F : 1 hypophyse de donneur 2–3 fois poids corporel du receveur mélangée avec 20 unités-lapin de Synahorin; administrée en 2 injections
<i>Clarias macrocephalus</i> (Philippines)	Mai-sept	1	153	—	F : ventre dilaté; orifice génital rouge M : papille génitale blanchâtre, prééminente	HCG (IM)	—	F : injection unique : 400–500 UI M : 150–250 UI
<i>Clarias batrachus</i> (Inde)	—	—	7	27–31	—	Hypophyses de carpes indiennes	—	80–90 mg/kg, pas d'autre information

fossilis suggère fortement qu'elle est possible. Sundararaj et Vasal (1976) ont démontré que des poissons-chats femelles pouvaient devenir gravides 2 mois plus tôt que dans la nature après exposition à une longue photopériode (14 heures par jour) à une température de 25 °C pendant 6 semaines, et que la ponte pouvait être provoquée avec succès chez ces poissons par administration d'hormone lutéinisante ovine. De plus, l'exposition continue de femelles à cette photopériode stimule le départ d'une nouvelle vitellogénèse en moins de 30 jours, de sorte qu'une nouvelle ponte pourrait être provoquée artificiellement chez ces poissons. Entre avril et juillet de la même année, on a répété avec succès ce processus au moins quatre fois, obtenant ainsi quatre récoltes d'oeufs

pendant la période ordinairement requise pour en produire une. Ces découvertes ont une importance considérable dans l'élevage des poissons-chats et il est probable qu'avec les raffinements appropriés, cette méthode pourra s'appliquer à d'autres espèces de poissons d'élevage. Il faudra toutefois plus de recherche en vue de déterminer si une semblable manipulation de l'environnement est possible sur le terrain.

INCUBATION D'OEUFS FÉCONDÉS

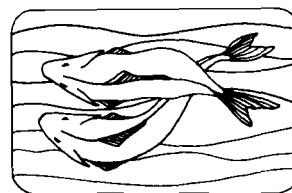
En général, la fécondation d'oeufs de poissons-chats se fait par le processus de ponte naturelle, bien que la ponte artificielle par pression des flancs et mélange à sec soit pratiquée à l'occasion.

Tableau 2. (suite)

ΔT^a (h)	Délai d'ovulation (h)	Méthode de fécondation	Méthode d'incubation	Résultats	Notes	Référence
-	8-12	Pression des flancs; à sec	Oeufs fécondés étendus sur herbes dans le <i>hapa</i>	Non indiqués	Femelle peut être cathétérisée pour déterminer maturité des oeufs. Injection de HCG à des femelles augmente le nombre réagissant; 1 ^{re} injection: 100-250 UI ajoutées à l'extrait; 2 ^e injection: 300-700 UI	Potaras et Sitasit (1976)
6	4	Pression des flancs; à sec	Oeufs fécondés fixés à des herbes aquatiques et étendus dans des récipients d'éclosion	Ovulation avec fécondation à 100 %	-	Boonbrahm et al. (1968)
8-10	18-24	F: pression des flancs M: testicules enlevés et bandes mélan- gées avec les oeufs	Écran de nylon dans l'étang d'éclosion	Survie des alevins 80-90 %, 40 jours après éclosion	Injection de la moitié du dosage des femelles à de jeunes petits mâles au moment de la seconde injection des femelles	Chen (1976)
-	-	Ponte naturelle	-	Ponte provoquée à 5,8 % en moyenne avec HCG, taux d'éclosion 68 %	Femelle peut être cathétérisée à l'aide d'un compte-gouttes pour biopsie ovarienne. Ponte à 75 % avec extrait hypophysaire de poisson-chat, mais plus dispendieux que HCG	Carreon et al. (1976)
-	-	Ponte naturelle dans petites rizières (3,5 × 3 m; profondeur 15-20 cm)	-	Réponse à près de 100 %	Hypophysés de poisson-chat <i>Tachysurus</i> également efficaces	Anonyme (1977c)

Comme nous l'avons déjà noté dans le cas des carpes, les taux d'éclosion maxima sont obtenus quand les oeufs fécondés sont recueillis et incubés dans des conditions contrôlées; pourtant, les méthodes couramment employées en Asie avec les poissons-chats montrent peu de raffinements. Les oeufs de poissons-chats sont petits et adhésifs, et peuvent être étendus sur des écrans de nylon submergés dans de petits étangs d'éclosion stagnants munis de systèmes d'aération (Chen, 1976); communément, on les laisse s'attacher à des faisceaux de plantes aquatiques ou fibres de palmier, et l'on place ensuite ces «porte-oeufs» dans un *hapa* d'éclosion (Potaras et Sitasit, 1976; Boonbrahm et al., 1968). On a conçu des dispositifs plus élaborés comportant des bacs d'incubation

suspendus en eau courante pour l'élevage industriel des poissons-chats dans le sud des États-Unis (Bardach et al., 1972). Il est probable que les rendements en alevins en Asie pourraient être considérablement augmentés par l'adoption de techniques semblables.





5. MÉTHODES DE BIOPSIE OVARIENNE

La quantité d'hormone requise pour provoquer l'ovulation varie en fonction du degré de maturité des ovocytes. L'échec de bien des essais d'hypophysation est probablement imputable à une évaluation imprécise du développement des oeufs. Nous avons déjà noté que des caractères externes tels que «ventre renflé» et «cloaque rosâtre» sont des indicateurs grossiers et peu fiables du développement ovarien et qu'on devrait les remplacer le plus tôt possible par des méthodes plus précises. Pour convenir, une méthode devrait remplir les conditions suivantes : exécution rapide et techniquement simple, ne nécessitant pas un outillage compliqué et entraînant un minimum de stress pour le poisson, de façon à pouvoir répéter l'opération si nécessaire.

Le prélèvement et l'examen des oeufs semblent actuellement l'approche la plus prometteuse. Le prélèvement se fait généralement par cathétérisme, processus consistant à insérer dans l'ovaire par l'orifice génital un fin tube en plastique (diamètre variant selon la grosseur des oeufs), pour prélever par succion un petit échantillon d'oeufs. Cette méthode donne de bons résultats avec les carpes, les muges et les poissons-chats. Il faut toutefois s'assurer qu'une manipulation peu soignée des poissons ne cause une atresie (Chen et al., 1969). On devrait sous ce rapport considérer l'emploi d'anesthésiques. Bienarz et ses collègues (1977) ont récemment décrit une méthode comportant une ponction abdominale qui s'est révélée sûre pour l'échantillonnage répété chez la carpe commune *Cyprinus carpio*. Selon cette méthode, une aiguille de 2,5 mm de diamètre sert à percer la paroi abdominale à 2 cm au-dessus de la nageoire abdominale, et l'on retire les échantillons d'oeufs à une profondeur de 2-3 cm.

Le degré de maturité des oeufs est indiqué par la couleur, l'aspect histologique et la taille. Chez la carpe, la couleur des oeufs est communément employée comme critère de maturité; pourtant, l'interprétation est nettement subjective et les rapports publiés sont souvent contradictoires. Un examen histologique des ovocytes pourra renseigner davantage : l'aspect microscopique des oeufs à divers stades de développement a été décrit chez les carpes (Chen et al., 1969; Bienarz et al., 1977) et les muges (Kuo et al., 1974). Les techniques histologiques prennent toutefois beaucoup de temps et comportent une interprétation subjective des résultats. Il est probable que la méthode de biopsie la plus rapide et la plus sûre sera fondée sur la seule taille des ovocytes.

Shehadeh et al. (1973b) ont mis bien au point une biopsie pour le mulet *Mugil cephalus*, fondée sur le principe du diamètre moyen des ovocytes. Plusieurs ovocytes sont prélevés par succion d'une femelle non anesthésiée à l'aide d'une canule en polyéthylène insérée dans l'oviduct à une distance de 6-7 cm de l'orifice génital. Les oeufs sont lavés, fixés dans 1 % de formaline dans NaCl à 0,6 % et placés sur une lamelle en plexiglass pour mesure au micromètre oculaire. La dose effective d'hormone est inversement proportionnelle au diamètre moyen des oeufs et l'on obtient les meilleurs résultats quand le diamètre des oeufs est supérieur à 0,65 mm. Un pisciculteur peut estimer le dosage simplement par interpolation sur un graphique reliant le diamètre moyen des oeufs à la dose effective (fig.8). La

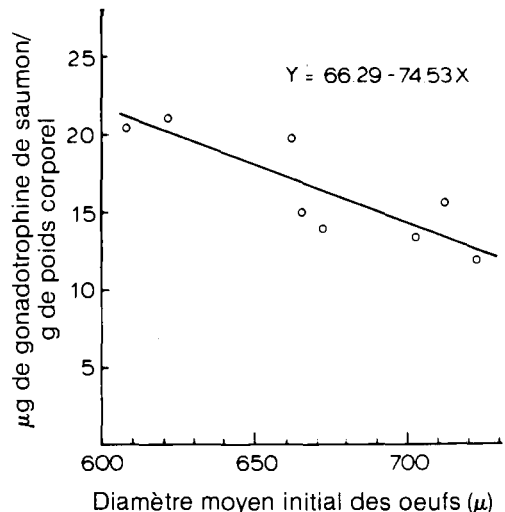


Fig.8. Relation entre diamètre moyen initial des oeufs de mulet femelle receveur et quantité de gonadotrophine requise pour provoquer la ponte. D'après Kuo et al. (1974).

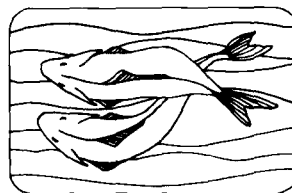
méthode est précise, rapide et, si elle est suivie avec soin, sûre pour des échantillonnages répétés. Elle ne pourra toutefois être adaptée aux autres espèces qu'aux conditions suivantes :

- L'anatomie du tractus génital de la femelle est telle que l'on puisse prédire le parcours de la canule. Les muges, carpes et poissons-chats ne semblent pas poser de problème sous ce rapport, l'ovaire et l'oviduct étant continus, de sorte qu'un tube introduit dans l'orifice génital passera invariablement dans la masse ovarienne. Chez le bango, cependant, les oeufs mûrs se répandent dans la cavité péritonéale et de là passent à un entonnoir collecteur conduisant à l'orifice génital. Dans ce cas, ovaire et oviduct ne sont pas continus, et une canule introduite dans l'orifice génital peut perforer des organes internes. Cette méthode peut donc ne pas convenir à l'espèce (Nash et Kuo, 1976).

- Les ovocytes se développent synchroniquement, c'est-à-dire qu'il ne doit pas y avoir de différence significative quant au degré de maturité entre les échantillons d'ovocytes prélevés dans différentes régions de l'ovaire. La méthode, par exemple, ne sera pas sûre si les oeufs provenant de la portion antérieure de l'ovaire sont uniformé-

ment plus avancés que ceux du segment postérieur, car il n'est pas toujours possible d'introduire la canule à l'endroit désiré. Un développement synchrone a été démontré chez le mullet (Shehadeh et al., 1973b), et l'on devrait poursuivre des études afin de s'assurer si c'est bien le cas des autres espèces de poissons d'élevage.

- Le diamètre des oeufs doit être connu à tous les stades de maturité, de sorte que, pour chaque espèce, on puisse assembler un « atlas » de développement ovocytaire. On possède déjà cette information pour le mullet et l'on est en train de la rassembler pour le bango (Nash et Kuo, 1976); des études semblables sur les carpes et les poissons-chats devraient être entreprises en vue de déterminer si le diamètre moyen des oeufs peut servir d'indicateur fiable de maturité des ovocytes.





6. CONSERVATION DES GAMÈTES

Il est souhaitable de conserver les gamètes de poissons d'élevage aux fins suivantes : compenser toutes déficiences d'approvisionnement, assurer la reproduction, que la maturité des mâles ou des femelles coïncide ou non, et enfin établir une banque de matériel génétique de qualité connue en vue de programmes d'élevage sélectif. Ces objectifs sont ordinairement atteints par l'entreposage de sperme, et c'est le problème qui a retenu le plus l'attention. Il est peu probable que le stockage d'oeufs d'espèces d'élevage prenne beaucoup d'importance, sauf dans les cas où l'on veut conserver des gamètes à patrimoine génétique désirable comme moyen d'élargir la base d'élevage. Les travaux sur le sujet en sont encore au stade expérimental, et nous ne les mentionnons ici qu'en passant.

Chez les groupes de poissons considérés dans le présent compte rendu, oeufs et spermatozoïdes sont expulsés simultanément dans l'eau ambiante, un comportement reproducteur approprié assurant le moment exact et la bonne position du mâle et de la femelle, de façon que le mélange et la fécondation puissent se produire immédiatement. On définit la laitance comme la suspension de spermatozoïdes dans le liquide séminal provenant de l'hydratation du testicule. Il est important de noter que les spermatozoïdes ne deviennent motiles que lorsqu'ils viennent en contact avec l'eau. On appelle activation le processus d'acquisition de cette motilité, et elle se produit à l'instant même de la libération de la laitance dans l'eau ambiante. Dans ce contexte, «eau» désigne le milieu dans lequel la fécondation se produit normalement et peut donc être de l'eau douce, saumâtre ou salée, selon l'espèce. Les stimuli responsables de l'activation du sperme chez la plupart des espèces de poissons d'élevage n'ont pas encore été identifiés;

il se peut que le pH, la pression osmotique et le contenu ionique du milieu environnant aient tous une importance (Hines et Yashouv, 1971).

Cette motilité des spermatozoïdes après activation est variable. Elle dure beaucoup plus longtemps chez les poissons qui pondent en eau saumâtre et en eau salée que chez ceux qui pondent en eau douce; un cas limite est celui du hareng du Pacifique *Clupea harengus* chez lequel les spermatozoïdes peuvent conserver leur motilité pendant 4-5 jours (Yanagimachi, 1957). Chez la plupart des poissons frayant en eau douce, cependant, la motilité des spermatozoïdes ne dépasse pas 2-3 minutes. Chez *Cyprinus carpio*, par exemple, le mouvement vigoureux dure de 20 à 60 secondes et, après 5 minutes, aucune motilité n'est décelable (Ginzburg, 1972). Bien que la motilité en elle-même ne soit pas une garantie absolue de fécondité, les spermatozoïdes qui l'ont perdue sont incapables de fécondation. En règle générale, il est donc essentiel d'éviter tout contact avec l'eau de la laitance entreposée, jusqu'au moment du mélange avec les oeufs.

CONSERVATION DU SPERME

On peut conserver le sperme soit à court terme, soit à long terme. Dans le premier cas, ce peut être par commodité : on veut provoquer la spermiogénèse avant l'ovulation, afin que la laitance soit disponible au moment où l'on fait pondre manuellement la femelle; de cette façon, il n'y a qu'un seul poisson à manipuler pour la fécondation. La conservation à court terme (de quelques heures à 5 jours) est une opération relativement simple, comportant le maintien de la laitance fraîche sur la glace ou dans un réfrigérateur à des températures entre 0 et 10 °C. Le stockage à long terme (cryoconservation) est effectué à des températures beaucoup plus basses (entre -20 et -196 °C) et devrait, idéalement, conserver le sperme viable pendant plusieurs années. La plupart des techniques de cryoconservation présentement en usage comportent un refroidissement rapide et l'entreposage soit dans le CO₂ solide ou l'azote liquide (Liq. N₂). Les résultats de récentes expériences avec laitance de salmonidés séchée sous vide sont encourageants mais préliminaires (Zell, 1978).

On a fait beaucoup de recherche sur la conservation du sperme des salmonidés (V. Wiltzius, 1973; Horton et Ott, 1976). Par ailleurs, on s'est occupé relativement peu d'espèces d'élevage tropicales et subtropicales. Les quelques études sur la conservation du sperme de carpe sont préliminaires et, à ce jour, il n'y a eu de publiés que deux rapports sur la cryoconservation du sperme de

Tableau 3. Cryoconservation du sperme de carpe et de mullet.

Poisson (référence)	Diluant	Cryo-protecteur	Rapport	Équilibre	Taux de congélation	Entreposage	Méthode de décongélation	Succès
<i>Cyprinus carpio</i> (Moczarski, 1977)	Solution d'Alsever ^a	DMSO 10 %	1:1/1:2	5 sec	Ampoules maintenues 3-5 cm au-dessus de la surface de Liq.N ₂ jusqu'à congélation	Liq.N ₂ ; -196 °C; durée non indiquée	Bain d'eau à 30 °C	Éclosion 12 % Fécondation 47 %
<i>Cyprinus carpio</i> (Stein et Bayrle, 1978)	Mélange ^b	DMSO 10 %	1:3	0 sec	Boulettes de 2 ml sur CO ₂ solide	Liq.N ₂ ; -196 °C; 7 jours	3 boulettes/10 ml NaHCO ₃ à 1 %, pas de fécondation agitée	Haute motilité; pas de fécondation
<i>Cyprinus carpio</i> (Pavlovici et Vlad, 1976)	Mélange ^c	DMSO 5 %	1:3	60-180 min; 0-2 °C	Ampoules dans vapeurs de Liq.N ₂ ; taux non spécifié	Liq.N ₂ ; -196 °C; 24 h	Bain d'eau à 21 °C; 1-2 min	Fécondation 11 %
<i>Aristichthys nobilis</i> (Sin, 1974)	Mélange ^d	Combinaison: DMSO 7,4 %/glycérine 9,3 %	1:9 ^e	-	CO ₂ /acétone; taux non contrôlé	CO ₂ ; -79 °C; 30-60 min	Bain d'eau à 6-10 °C	Fécondation 2,7 %-5,7 %
<i>Cyprinus carpio</i> , <i>Aristichthys nobilis</i> , <i>Ctenopharyngodon idellus</i> (Anonyme, 1974)	-	Éthylène-glycol	-	-	-	Liq.N ₂ ; -196 °C; 1 an	-	Larves produites: 1/10 par rapport aux témoins
<i>Cyprinus carpio</i> , <i>Labeo rohita</i> , <i>Puntius gonionotus</i> (F.C. Withler — inédit)	Mélange ^f	DMSO 10 %	1:4	0 sec	Ampoules maintenues 2 cm au-dessus de la surface de Liq.N ₂ ; 5-10 min	Liq.N ₂ ; -196 °C; 24 h	Bain d'eau à 25-30 °C	<i>C. carpio</i> et <i>P. gonionotus</i> : 5-20 % motilité; <i>L. rohita</i> : survie de 58 % aux premiers stades d'alevin
<i>Mugil cephalus</i> (Pruginin et Cirlin, 1976)	51 % eau de mer; 34 % eau distillée	Glycérol 15 %	1:1	-	Boulettes de CO ₂ ; 1 min	Liq.N ₂ ; -196 °C; 2-4 mois	-	«Certaine» motilité; pas de fécondation
<i>Mugil cephalus</i> (Chao et al., 1975)	Ringer pour téléostéens marins ^g	DMSO 10 %	1:1	≤ 1 h	Païlles de 0,5 ml maintenues dans vapeur de Liq.N ₂ ; 4 min	Liq.N ₂ ; -196 °C; 1 an	Bain d'eau à «température de la pièce»; 4-5 min	Fécondation 2,7 %; éclosion 31,85 % ^h

^aSolution d'Alsever (Hodgins et Ridgeway, 1964: citrate de sodium (C₆H₅Na₃O₇), 0,8 %; dextrose, 2,05 %; NaCl, 0,4 %.

^bNaCl, 750 mg; NaHCO₃, 200 mg; Na₂HPO₄, 53 mg; MgSO₄·7H₂O, 23 mg; KCl, 38 mg; CaCl₂·2H₂O, 46 mg; glucose, 100 mg; glycine, 500 mg; jaune d'oeuf, 20 ml; H₂O, 100 ml.

^cKCl, 0,75 %; lécithine, 10 %; H₂O jusqu'à 100 ml.

^dNaCl, 0,6 %; KCl, 0,038 %; CaCl₂·2H₂O, 0,023 %; NaHCO₃, 0,1 %; NaHPO₄·H₂O, 0,041 %; MgSO₄·7H₂O, 0,023 %.

^eMotilité grandement accrue à une dilution de 1:3; cependant, on n'a pu obtenir de sperme à cette dilution pour les essais de fécondation.

^fNaCl, 730 mg; NaHCO₃, 500 mg; fructose, 500 mg; lécithine, 750 mg; mannitol, 500 mg; H₂O, 100 ml.

^gSolution de Ringer pour téléostéens marins (Burton, 1975): NaCl, 231 mM; KCl, 8 mM; CaCl₂, 2,2 mM; MgCl₂, 3,7 mM.

^hAvec addition de 10 % de glycérine comme cryoprotecteur, les résultats suivants ont été obtenus: fécondation 2,47 %; éclosion 52,5 %.

mulet. Étant donné le manque d'information, l'analyse qui suit est générale et tente de présenter certains principes qui, bien qu'établis en grande partie pour les salmonidés, peuvent probablement s'adapter à d'autres poissons. Le tableau 3 donne les détails des méthodes qui se sont avérées au moins partiellement efficaces chez les carpes et

les mullets (aucune n'a été publiée pour le bango et les poissons-chats); on conçoit, par la grande variation des techniques, qu'elles en sont encore à leur début. Il convient de noter que la cryoconservation du sperme est une pratique courante dans les installations d'insémination artificielle du bétail et qu'on peut généralement se procurer de

l'azote liquide à ces institutions. Il faudrait donc encourager les contacts entre pisciculteurs et éleveurs de bétail.

CRYOCONSERVATION DU SPERME

Collecte de la laitance : Les pisciculteurs doivent à tout prix éviter d'activer les spermatozoïdes : il leur faut donc maintenir scrupuleusement secs à la fois l'orifice génital et le récipient de collection. Pour y arriver, il y a avantage à anesthésier le donneur et à le faire jeûner le jour qui précède l'opération, de façon à éviter l'évacuation du tractus alimentaire.

Il est souvent nécessaire, en particulier sur le terrain, d'entreposer la laitance fraîchement recueillie pendant plusieurs heures avant dilution et congélation. D'après l'expérience acquise dans la conservation à court terme, cela devrait se faire sur glace, et les bocalaux devraient être assez grands pour permettre un échange gazeux adéquat. Horton et Ott (1976) recommandent un rapport de 1:10 entre le liquide séminal et l'espace d'air, si les bocalaux doivent être hermétiquement fermés.

Préparation et addition du diluant : Un diluant convenable (appelé aussi produit de charge) doit pouvoir maintenir le sperme vivant mais inactif avant congélation; il doit être isotonique par rapport au liquide séminal et devrait être tamponné de manière à contrer l'acidité ou l'alcalinité de l'agent cryoprotecteur (F.C. Withler, communication personnelle). On a essayé nombre de variants, la plupart à base de saline physiologique pour téléostéens marins ou d'eau douce, avec ou sans addition de divers «éléments nutritifs» et «stabilisateurs» (p. ex. fructose, mannitol, jaune d'oeuf, lécithine, glycine). Horton et Ott (1976) recommandent de maintenir au minimum le nombre des constituants et de déterminer expérimentalement les concentrations de chacun sur la base de la motilité du sperme. Cette approche simple semble la bonne. Parmi les essais de cryoconservation du sperme de carpe et de mullet publiés et résumés au tableau 3, celui qui a le mieux réussi avait fait appel, comme diluant, à une solution de Ringer non modifiée pour téléostéens marins (Chao et al., 1975). On ne peut toutefois éviter une approche empirique, car il est tout à fait impossible de prédire le succès de transferts de diluants d'un poisson à un autre; selon Ott (1975), chaque espèce d'*Oncorhynchus* requiert des dilutions et des concentrations différentes d'agents cryoprotecteurs; de même, plusieurs diluants couramment employés pour congeler du sperme de salmonidés ont donné des résultats préliminaires encourageants avec la carpe commune *Cyprinus*

carpio et la carpe indienne *Labeo rohita* (F.C. Withler — inédit).

On ne s'accorde pas sur la quantité de diluant à ajouter, et ceci doit également être déterminé expérimentalement. Les rapports sperme/diluant qui réussissent chez les salmonidés varient de 1:4 à 1:9 (Ott, 1975; Horton et Ott, 1976). Moczarski (1977) a toutefois constaté que la viabilité du sperme de carpe commune cryoconservé est plus grande à 1:1 ou 1:2 qu'à 1:6. Sin (1974) note un effet semblable chez la carpe argentée et la carpe à grosse tête, chez lesquelles la motilité et la viabilité augmentent à mesure que le rapport de dilution passe de 1:9 à 1:3. Un rapport de dilution de 1:1 a donné une cryoconservation à long terme réussie de sperme de mullet (Chao et al., 1975). Quel que soit le rapport, diluant et sperme devraient être isothermes avant mélange.

Agent cryoprotecteur : Les dommages causés par congélation et décongélation sont minimisés par l'addition d'agents tels que le DMSO (diméthyl sulfoxyde), éthylène-glycol ou glycérol, au diluant avant mélange avec le sperme. On recommande le DMSO pour les oeufs de salmonidés (Horton et Ott, 1976), et c'est cet agent protecteur qui a le mieux réussi dans la cryoconservation en pisciculture (tableau 3). La concentration utilisée dans le diluant doit être déterminée expérimentalement; on utilise communément 10 %. A cause de la rapidité avec laquelle le DMSO pénètre les membranes cellulaires, il ne semble pas y avoir besoin d'équilibrage entre le sperme et le diluant, et la congélation peut commencer immédiatement. Chao et ses collègues (1975) prévoient une période d'équilibrage pouvant aller jusqu'à 1 heure avant de congeler le sperme de mullet, mais n'en donnent pas les raisons.

Vitesse de congélation : La majorité des méthodes de cryoconservation comportent l'entreposage du sperme congelé dans Liq. N₂ à -196 °C; ceci peut se faire par prélèvements de 1 ml dans des ampoules de verre ou dans des pailles en plastique de 0,5 ml scellées aux deux extrémités. L'abaissement initial de température de l'échantillon peut se faire soit en suspendant le sperme dilué et protégé dans la vapeur de Liq. N₂, moins communément, en formant des boulettes sur CO₂ solide. La première méthode permet de contrôler la vitesse de congélation, la congélation la plus rapide se produisant dans les fioles les plus près de la surface du liquide. La congélation prend ordinairement 4-5 minutes à une distance de 2 cm de la surface. Des taux de refroidissement beaucoup

plus rapides sont obtenus avec la méthode de boulettes sur CO₂ (Nagase, 1964), méthode selon laquelle les portions de liquide séminal dilué sont introduites dans des trous pratiqués dans le CO₂ solide pendant environ 1 minute, et sont ensuite enlevées pour entreposage dans des éprouvettes couvertes et placées dans Liq.N₂. Cette méthode a été utilisée pour la carpe commune (Stein et Bayrle, 1978) et le mullet (Pruginin et Cirlin, 1976). On s'accorde peu sur la période optimale requise pour congeler le sperme de téléostéens : le processus doit s'accomplir le plus rapidement possible, de façon à réduire au minimum le choc thermique, mais pas trop rapidement non plus, pour éviter la formation de cristaux de glace intracellulaires (Meryman, 1966; Farrant, 1972).

Décongélation et fécondation : Selon Horton et Ott (1976), le sperme de salmonidés cryoconservé devrait être décongelé aussi rapidement que possible. Ils recommandent de faire tourner l'ampoule dans de l'eau à 50–60 °C. Cependant, Withler et Morley (1968) obtinrent d'aussi bons résultats avec du sperme de salmonidés décongelé à 11 °C et 45 °C; l'effet de ce facteur n'a pas été systématiquement étudié chez la carpe et le mullet, et, comme le démontre le tableau 3, on a essayé une variété de méthodes. Le sperme congelé suivant la méthode de boulettes sur CO₂ doit être décongelé par addition de NaHCO₃ à 1 % (Stein et Bayrle, 1978). Comme la motilité du sperme décongelé, une fois activé, ne dure que quelques secondes, le contenu des ampoules devrait être combiné avec des oeufs frais aussitôt atteint le stade de bouillie de glace.

CONSERVATION DU SPERME À COURT TERME

Dans bien des cas, les installations requises pour un programme de stockage cryogénique de laitance font défaut. Il est techniquement plus facile de la conserver à court terme, et cette méthode peut profiter beaucoup à l'éleveur, car la collection du liquide séminal, ne serait-ce que quelques heures avant de faire pondre une femelle, est une façon simple de coordonner le mélange des oeufs et du sperme. En outre, l'éleveur peut s'assurer de la motilité d'une petite portion avant usage et avoir de cette façon quelque idée de la viabilité générale du sperme. Cependant, les méthodes actuelles d'entreposage à court terme ne sont pas au point et sont contradictoires. Une recherche cohérente s'impose en vue de normaliser les modes opératoires.

Il y a confusion, par exemple, sur la dilution du liquide séminal. La laitance de truite arc-en-ciel demeure féconde après entreposage à 4 °C à l'oxygène ou à l'air pendant 21 jours en condition non diluée (Stoss et al., 1978). Withler (inédit) a démontré que le liquide séminal non dilué de carpe commune *Cyprinus carpio*, de poisson-chat *Pangasius sutchi*, de carpe indienne *Labeo rohita* et de tawes *Puntius gonionotus* pouvait être activé jusqu'à 24 heures après expulsion s'il est maintenu refroidi dans un réfrigérateur ou sur glace. De même, la laitance non diluée de mullet *Mugil capito* entreposée à 10 °C pourrait être activée par addition d'eau de mer en moins de 36 heures; le nombre des spermatozoïdes motiles est faible toutefois (Hines et Yashouv, 1971). Divers diluants ont néanmoins été essayés. Du sperme de mullet, dilué dans la proportion 1:1 avec la solution de Ringer pour téléostéens marins (Burton, 1975) et entreposée à 5 °C, conserva sa motilité pendant 23 jours, et sa capacité de fécondation après entreposage de 3–6 jours était de 1–3 % (Chao et al., 1975). On a constaté que la solution de Ringer était supérieure à l'eau de mer pour prolonger la motilité après activation. J.D. Funk (inédit) a fait des essais préliminaires de conservation de sperme avec *Puntius gonionotus* en Malaysia. Il note que le liquide séminal dilué à 4:2 avec la saline de Cortland (Wolf, 1963) produit une fécondation de 74 % après 5 jours d'entreposage à 1–5 °C. La laitance de carpe indienne *Labeo rohita* et de carpe commune *Cyprinus carpio* est motile après entreposage de 72 heures à 0–5 °C dans un diluant de glycérine à 1 % en solution de Ringer pour grenouilles (Wolf, 1963); l'élimination de la glycérine nuit à la survie du sperme (Bhowmick et Bagchi, 1971). La laitance de *L. rohita* entreposée dans une solution de Ringer-glycérine pendant 4 heures à 28 °C maintient son pouvoir fécondant.

L'utilisation d'un diluant offre-t-elle des avantages ou représente-t-elle une étape supplémentaire de valeur douteuse? Les avis sont partagés quant à l'inclusion de cryoprotecteurs; à des températures supérieures à 0 °C, cela ne semble pas nécessaire. Tout diluant doit maintenir les spermatozoïdes vivants mais inactifs; c'est ainsi, par exemple, que l'addition d'eau au sperme de carpe déclenche une activation immédiate qui dure moins d'une minute; le prélèvement de la laitance pour entreposage doit donc se faire à sec. Étant donné que les stimuli responsables de l'activation du sperme chez la plupart des poissons d'élevage n'ont pas été identifiés, la composition d'un diluant doit être établie empiriquement. On ignore encore toutefois quel est le moment le plus approprié pour l'addition du

diluant à la laitance, car il n'est pas nécessaire que cette dilution se fasse avant la réfrigération. La laitance peut être diluée *après* entreposage à basses températures et incubée dans le diluant pour une période allant jusqu'à 1 heure avant l'addition d'oeufs frais. Zell (1978) mentionne que le pourcentage d'oeufs oculés produits par de la laitance de truite arc-en-ciel non diluée entreposée pendant 2 jours à 0 °C augmenta, passant d'une moyenne de 10 à 78 après incubation dans la solution de Poulik. Funk (inédit) note également cette «restauration» d'un sperme vieillissant chez la carpe chinoise.

Il faut s'assurer qu'il y a échange gazeux dans la laitance réfrigérée. Les fioles ne doivent pas être remplies plus qu'aux trois quarts, ni être fermées hermétiquement. Il faut éviter l'agitation (Stoss et al., 1978).

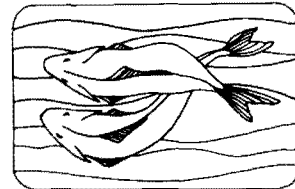
CRYOCONSERVATION DES OVULES

La cryopréservation des ovules de téléostéens, à cause de leur taille et de leur complexité, présente un défi technique beaucoup plus grand que celle des spermatozoïdes; cependant, si l'on en juge par le succès de la cryoconservation d'embryons de mammifères, cette difficulté ne serait pas insurmontable (Whittingham et al., 1972; Leibo, 1977). Zell (1978) rapporte la cryoconservation réussie d'oeufs non fécondés et de zygotes de téléostéens. Au cours d'études menées sur des oeufs de saumon atlantique, de truite arc-en-ciel et de truite de ruisseau, des ovules non fécondés congelés à -20 °C dans l'azote liquide pendant 5 minutes étaient féconds après décongélation, et de forts pourcentages de zygotes ou oeufs oculés survécurent à l'exposition à des températures aussi basses que -50 °C. La solution de sel de Hanks a servi de milieu de congélation (Wolf, 1963); aucun cryoprotecteur ne fut ajouté. L'éclosion de tous les oeufs surgelés ou congelés à -12 ou -5 °C était uniformément élevée; on a constaté que le contrôle de la vitesse de refroidissement représentait la difficulté technique majeure.

CRITÈRES DE SUCCÈS

Il est clair, à l'examen du tableau 3, que non seulement les études effectuées sur la cryoconservation du sperme d'espèces de poissons d'élevage sont rares, mais aussi que les critères de succès sont à tout le moins disparates. Décrire le sperme comme «hautement motile» n'est pas d'une rigoureuse précision; on ne sait pas si cela signifie qu'une forte proportion des spermatozoïdes observés montraient une motilité quelconque, ou qu'on avait noté une vigueur exceptionnelle de gamètes individuelles. La fécondation est un meilleur étalon; cependant, ce critère n'a pas, lui non plus, grande signification si l'on ne spécifie pas le stade de développement atteint. L'éclosion, pour sa part, est un événement qui ne présente pas d'ambiguïté; elle se produit suffisamment tard dans le développement pour représenter une viabilité réelle des gamètes, sans toutefois survenir si tard que l'expérience en cryoconservation devient une expérience en élevage de larves. Nous suggérons que ce critère soit adopté comme mesure de succès dans les études futures.

Peu de publications sur les expériences de conservation du sperme mentionnent le rapport sperme/ovules appliqué lors d'essais de fécondation. Ce facteur a toutefois une importance critique: l'application de 2 ml de sperme décongelé à une demi-douzaine d'oeufs produira, par exemple, presque certainement un taux de fécondation trop élevé pour être réaliste. Nous suggérons donc de plus que l'on mentionne les quantités de sperme et le nombre des ovules approximatifs utilisés dans chaque expérience de fécondation.





BIBLIOGRAPHIE

- Abraham, M. 1975. The pituitary of *Mugil cephalus* during adaptation to biotopes of different salinities. *Aquaculture (Pays-Bas)*, 5, 199-204.
- Alikunhi, K.H. 1976. Ongoing research studies on maturation and spawning of milkfish *Chanos chanos* at the Brackishwater Shrimp and Milkfish Culture Applied Research and Training Project, Jepara, Indonesia. International Milkfish Workshop Conference, Iloilo, Philippines, 1976. 29-34.
- Anonyme. 1972. Induced breeding of *Clarias batrachus*. *FAO Aquaculture Bull. (Italie)*, 5, 4.
1974. Cryopreservation of fish spermatozoa. *FAO Aquaculture Bull. (Italie)*, 6, 3.
1976. Artificial breeding of mullet. *FAO Aquaculture Bull. (Italie)*, 8, 3-4.
- 1977a. A new highly effective ovulating agent for fish reproduction. *Sci. Sin. (Chine)*, 4, 469-474.
- 1977b. Further research into the effects of LRH-A on induced ovulation of farm fish. *Fish. Mar. Serv. Transl.* 4469. Originally published in *Biophys. Sinica* 9, 14-23.
- 1977c. Induced spawning of *Clarias batrachus*. *FAO Aquaculture Bull. (Italie)*, 8, 4.
- 1977d. Announcements: pituitary bank. *FAO Aquaculture Bull. (Italie)*, 6, 37.
1978. Aquaculture products for anesthesia and disease control. Vancouver, BC, Syndel Laboratories, 15p.
- Arimura, A., Vilchez-Martinez, J.A., Coy, D.H., Coy, E.J., Hirotsu, Y. et Schally, A.V. 1974. D-Ala⁶, Des-Gly-NH₂¹⁰-LR-RH-ethylamide: a new analogue with unusually high LH-RH/FSH-RH activity. *Endocrinology (É.-U.)*, 95, 1174-1177.
- Atz, J.W. et Pickford, G.E. 1959. The use of pituitary hormones in fish culture. *Endeavour (Éd. angl.) (Angleterre)*, 18, 125-129.
- Bailey, W.M. et Boyd, R.L. 1970. A preliminary report on spawning and rearing of grass carp *Ctenopharyngodon idella* in Arkansas. Presented at the 24th Annual Conf. Southeastern Association of Game and Fisheries Commissioners, Atlanta, Georgia, 1970.
- Ball, J.N. et Baker, R.I. 1969. The pituitary gland: anatomy and histophysiology. In Hoar, W.S. et Randall, D.J., ed, *Fish physiology*, Vol. 2. New York, N.Y., Academic Press Inc., 1-111.
- Barannikova, I.A., Boev, A.A., Moiseeva, E.B. et Travkin, B.G. 1975. Methods of determining the gonadotropic activity of the pituitary glands of fishes in connection with the standardization of a preparation for hypophyseal injections. *Fish. Mar. Serv. Trans.* 3819 (1976).
- Bardach, J.E., Ryther, J.H. et McLarney, W.O. 1972. *Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms*. New York, N.Y., John Wiley & Sons Inc. (Interscience).
- Barrington, E.J. 1975. *An introduction to general and comparative endocrinology*. Oxford, Clarendon Press.
- Bell, G.R. 1967. *A guide to the properties, characteristics and uses of some general anesthetics for fish*, 2nd ed. Ottawa, Queen's Printer.
- Bhowmick, R.H. 1979. Observations on the use of human chorionic gonadotropin prepared in the laboratory in induced spawning in the major carp *Labeo rohita*. *Tech. Pap.* 16. Presented at the Symposium on Inland Aquaculture, Barrackpore, India, 1979.
- Bhowmick, R.H. et Bagchi, M.M. 1971. A note on the preservation of sperms of carps. *J. Inland Fish. Soc. India (Inde)*, 3, 119-120.
- Bhowmick, R.H. et Kowtal, G.V. 1973. Simplified technique of hypophysation of major carps. *J. Inland Fish. Soc. India (Inde)*, 5, 218-222.
- Bhowmick, R.H., Kowtal, G.V., Jana, R.K. et Gupta, S.D. 1977. Experiments on second spawning of major Indian carps in the same season by hypophysation. *Aquaculture (Pays-Bas)*, 12, 149-155.
1979. Observations on the use of various hormones and clomiphene citrate in hypophysation of Indian major carps. *Tech. Pap.* 14. Presented at the Symposium on Inland Aquaculture, Barrackpore, India, 1979.
- Bienarz, K., Epler, P. et Popek, W. 1977. Histological changes in the ovaries of mature female carp in the summer time. *Inv. Pesq. (Espagne)*, 41, 95-102.
- Billard, R. et Escaffre, A.M., 1973. Effects of HCG and carp gonadotropin on the maintenance of spermatogenesis in hypophysectomized goldfish (*Carassius auratus*). *Int. Res. Commun.*

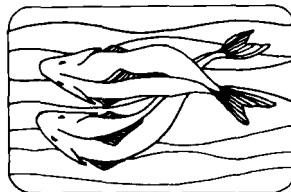
- Syst. 73, 12-15.
- Billard, R. et Peter, R.E. 1977. Gonadotropin release after implantation of antiestrogens in the pituitary and hypothalamus of goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 32, 213-220.
- Billard, R., Richard, M. et Breton, B. 1977. Stimulation of gonadotropin secretion after castration in rainbow trout. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 33, 163-165.
- Boonbrahm, M., Tamchalanukit, W. et Chuapoehek, W. 1968. Induced spawning by pituitary hormone injection of pond-reared fishes. Proc. Indo-Pacific Fish. Comm. 13, 162-170.
- Breton, B., Billard, R., Jalabert, B. et Kann, G. 1972. Dosage radioimmunologique des gonadotrophines plasmatiques chez *Carassius auratus*, au cours de nycthémère et pendant l'ovulation. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 18, 463-468.
- Breton, B., Jalabert, B. et Fostier, A. 1975 a. Induction de décharges gonadotropes hypophysaires chez la carpe (*Cyprinus carpio*) à l'aide du citrate de cislomiphène. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 25, 400-404.
- Breton, B., Jalabert, B., Fostier, A. et Billard, R. 1975 b. Étude sur le cycle reproducteur de la truite arc-en-ciel et de la tanche. Effet de variations expérimentales de la température. J. Physiol. (Paris) (France), 30, 561-564.
- Breton, B., Jalabert, B. et Weill, C. 1975 c. Caractérisation partielle d'un facteur hypothalamique de la libération des hormones gonadotropes chez la carpe (*Cyprinus carpio*): étude *in vitro*. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 25, 405-415.
- Breton, B., Prunet, P. et Reinaud, P. 1978. Sexual differences in salmon gonadotropin. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France), 18, 759-767.
- Breton, B. et Weill, C. 1973. Effets du LH/FSH-RH synthétique et d'extraits hypothalamiques de carpe sur la sécrétion d'hormone gonadotrope *in vivo* chez la carpe (*Cyprinus carpio*). C.R. Acad. Sci. 277, 2061-2064.
- Burlakov, A.B. 1975. On the quantity of gonadotropic hormones in the hypophysis of the carp, *Cyprinus carpio*. J. Ichthyol. (Engl. Transl. VOPR. Ikhtiol.) (É.-U.), 15, 635-644.
- Burlakov, A.B., Belova, N.V. et Belyanov, N.I. 1976. Specificity of gonadotropic hormones of the hypophysis of fish. Fish. Mar. Serv. Trans. 4152 (1977). Originally published in Minist. Rybn. Khoz. SSSR Tsentr. Nauchno Issled. Inst. Tekh. Ekon. Issled. 1, 143-146.
- Burton, R.F. 1975. Ringer solutions and physiological salines. Scientifica, Bristol.
- Burzawa-Gérard, E. 1971. Purification d'une hormone gonadotrope hypophysaire de poisson téléostéen, la carpe (*Cyprinus carpio*). Biochimie (Paris)(France), 53, 545-552.
- Burzawa-Gérard, E. et Fontaine, Y.A. 1972. The gonadotropins of lower vertebrates. Gen. Comp. Endocrinol. Suppl. (É.-U.), 3, 715-728.
- Burzawa-Gérard, E., Goncharov, B., Dumas, A. et Fontaine, Y.A. 1976. Further biochemical studies on carp gonadotropin; biochemical and biological comparison of c-GTH and a gonadotropin from *Acipenser stellatus* (Chondrostei). Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 29, 498-505.
- Campbell, C.M. et Idler, D.R. 1976. Hormonal control of vitellogenesis in hypophysectomized flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 28, 143-150.
- Carreon, J.A., Estocapio, F.A. et Enderez, E.M. 1976. Recommended procedures for induced spawning and fingerling production of *Clarias macrocephalus* Gunther. Aquaculture (Pays-Bas), 8, 269-281.
- Chao, N-H., Chen, H-P. et Liao, I-C. 1975. Study on cryogenic preservation of grey mullet sperm. Aquaculture (Pays-Bas), 5, 389-406.
- Chaudhuri, H. 1972. Production of fish seed by induced breeding. Presented at the Seminar on production of quality fish seed for fish culture, Barrackpore, India, 1972. 270-286.
1976. Use of hormones in induced spawning of carps. J. Fish. Res. Board Can. (Canada), 33, 940-947.
- Chen, T.P. 1976. Aquaculture practices in Taiwan. Page, Norwich, Fishing News (Books) Ltd.
- Chen, F.Y., Chow, M. et Sin, B.K. 1969. Induced spawning of the three major Chinese carps in Malacca, Malaysia. Malay. Agric. J. (Malaysia), 47, 24-38.
- Crim, L.W. et Cluett, D.M. 1974. Elevation of plasma gonadotropin concentration in response to mammalian gonadotropin-releasing hormone (GRH) treatment of the male brown trout as determined by radioimmunoassay. Endocrinol. Res. Commun. 1, 101-110.
- Crim, L.W., Peter, R.E. et Billard, R. 1976. Stimulation of gonadotropin secretion by intraventricular injection of hypothalamic extracts in the goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 30, 77-82.
- Crim, L.W., Watts, E.G. et Evans, D.M. 1975. The plasma gonadotropin profile during sexual maturation in a variety of salmonid fishes. Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.), 27, 62-70.

- Donaldson, E.M. 1973. Reproductive endocrinology of fishes. *Am. Zool. (É.-U.)*, 13, 909-927.
1976. Technological improvements in controlled reproduction of fish. Manuscript, FAO Tech. Conf. Aquaculture, Kyoto, Japan. 10p.
- Donaldson, E.M., Fagerlund, U.H.M., Higgs, D.A. et McBride, J.R. 1979. Hormonal enhancement of growth. In Hoar, W.S., Randall, D.J. et Brett, J.R., ed., *Fish physiology*, Volume 8. New York, N.Y., Academic Press Inc., 456-599.
- Donaldson, E.M., Hunter, G. et Dye, H.M. 1978. Induced ovulation in the coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*) using salmon pituitary preparations, gonadotropin releasing hormones and an antiestrogen. *Western Reg. Conf. Gen. Comp. Endocrinol.*, Santa Cruz. (Abstr. 24).
1979. Relative potency of gonadotropin releasing hormone and gonadotropin releasing hormone analogues for induced ovulation in the coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). *Western Reg. Conf. Gen. Comp. Endocrinol.*, Eugene, Oregon.
- Donaldson, E.M., Yamazaki, F., Dye, H. et Philleo, W.W. 1972. Preparation of gonadotropin from salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) pituitary glands. *Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.)*, 18, 469-481.
- Farmer, S.W. et Papkoff, H. 1977. A teleost (*Tilapia mossambica*) gonadotropin that resembles luteinizing hormone. *Life Sci. (É.-U.)*, 20, 1227-1232.
- Farrant, J. 1972. Mechanisms of injury and protection in living cells and tissues at low temperatures. In Smith, A.V., ed., *Current trends in cryobiology*. New York, N.Y., Plenum Publishing Corp., 139-153.
- Fontaine, M. 1976. Hormones and the control of reproduction in aquaculture. *J. Fish. Res. Board Can. (Canada)*, 33, 922-939.
- Fontaine, Y.A. et Gérard, E. 1963. Purification d'un facteur gonadotrope de l'hypophyse d'un téléostéen, la carpe (*Cyprinus carpio*). *C.R. Hebd. Séances Acad. Sci. (France)*, 256, 5634-5637.
- Fontaine, Y.A., Salmon, C., Fontaine-Bertrand, E., Burzawa-Gérard, E. et Donaldson, E.M. 1972. Comparison of the activities of two purified fish gonadotropins on adenylcyclase activity in the goldfish ovary. *Can. J. Zool. (Canada)*, 50, 1673-1676.
- Ginzburg, A.S. 1972. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. Israel. Program for Scientific Translations, Jerusalem.
- Gupta, M.V. et Sharma, B.K. 1974. A note on the transport of Chinese carp breeders using MS 222. *J. Inland Fish. Soc. India (Inde)*, 6, 99-100.
- Hines, R. et Yashouv, A. 1971. Some environmental factors influencing the activity of spermatozoa of *Mugil capito* Cuvier, a grey mullet. *J. Fish. Biol. (Angleterre)*, 3, 123-127.
- Hirose, K. et Ishida, R. 1974. Induction of ovulation in the ayu, *Plecoglossus altivelis*, with LH-releasing hormone (LH-RH). *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. (Japon)*, 40, 1235-1240.
- Ho, F.C-W. et Vanstone, W.E. 1961. Effect of estradiol monobenzoate on some serum constituents of maturing sockeye salmon (*Onchorhynchus nerka*). *J. Fish. Res. Board Can. (Canada)*, 18, 859-864.
- Hoar, W.S. 1975. *General and comparative physiology*. New York, Prentice-Hall.
- Hoar, W.S. et Nagahama, Y. 1978. The cellular sources of sex steroids in teleost gonads. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France)*, 18, 893-898.
- Hodgins, J.O. et Ridgeway, G.J. 1964. Recovery of viable salmon spermatozoa after fast-freezing. *Prog. Fish-Cult. (É.-U.)*, 26, 95.
- Horton, H.F. et Ott, A.G. 1976. Cryopreservation of fish spermatozoa and ova. *J. Fish. Res. Board Can. (Canada)*, 33, 995-1000.
- Houssay, B.A. 1931. Action sexuelle de l'hypophyse sur les poissons et les reptiles. *C. P. Soc. Biol.* 106, 377-378.
- Hurlburt, M.E. 1977a. Role of the thyroid gland in ovarian maturation of the goldfish *Carassius auratus* L. *Can. J. Zool. (Canada)*, 55(11), 1906-1913.
- 1977b. Effects of thyroxine administration on plasma thyroxine levels in the goldfish *Carassius auratus* L. *Can. J. Zool. (Canada)*, 55, 255-258.
- Idler, D.R., Bazar, L.S. et Hwang, S.J. 1975. Fish gonadotropin(s). III. Evidence for more than one gonadotropin in chum salmon pituitary glands. *Endocr. Res. Commun.* 2, 237-249.
- Jalabert, B. 1976. *In vitro* oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*) L. *J. Fish. Res. Board Can. (Canada)*, 33, 974-988.
- Jalabert, B., Bry, C., Breton, B. et Campbell, C. 1976. Action de la 17α hydroxy- 20β dihydroprogesterone et de la progesterone sur la maturation et l'ovulation *in vivo* et sur le niocase d'hormone gonadotrope plasmatique t-GtH chez la truite arc-en-ciel. *C.R. Acad. Sci.* 281, 811-814.

- Jalabert, B., Breton, B., Brzuska, E., Fostier, A. et Wieniawski, J. 1977. A new tool for induced spawning. The use of 17α hydroxy- 20β dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquaculture (Pays-Bas)*, 10, 353-364.
- Jhingran, V.G. et Gopalakrishnan, V. 1974. A catalogue of cultivated aquatic organisms. Rome, FAO, Fisheries Technical Paper No. 130.
- Khoo, K.H. 1974. Steroidogenesis and the role of steroids in the endocrine control of oogenesis and vitellogenesis in the goldfish, *Carassius auratus*. Ph.D. thesis, University of British Columbia, Vancouver, BC, 126p.
1975. The corpus luteum of goldfish (*Carassius auratus*) and its functions. *Can. J. Zool. (Canada)*, 53, 1306-1323.
1979. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in goldfish ovaries. *Can. J. Zool. (Canada)*, 57, 617-626.
- Kim, Y.S., Stumpf, W.E., Sar, M. et Martinez-Vargas, M.C. 1978. Estrogen and androgen target cells in the brain of fishes, reptiles and birds: phylogeny and ontogeny. *Am. Zool. (É.-U.)*, 18, 425-435.
- Kossmann, H. 1976. Rearing of carp fry under laboratory conditions. EIFAC Workshop on Controlled Reproduction of Cultivated Fishes, Hamburg, 1973. Tech. Pap. No. 10, 127-129.
- Kuo, C-M. et Nash, C.E. 1975. Recent progress on the control of ovarian development and induced spawning of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *Aquaculture (Pays-Bas)*, 5, 19-29.
- Kuo, C-M, Nash, C.E. et Shehadeh, Z.H. 1974. A procedural guide to induced spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *Aquaculture (Pays-Bas)*, 3, 1-14.
- Kuo, C-M., Shehadeh, Z.H. et Milisen, K.K. 1973a. A preliminary report on the development, growth and survival of laboratory-reared larvae of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *J. Fish. Biol. (Angleterre)*, 5, 459-470.
- Kuo, C-M. Shehadeh, Z.H. et Nash, C.E. 1973b. Induced spawning of captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.) females by injection of human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture (Pays-Bas)*, 1, 429-432.
- Lam, T.J., Pandey, S. et Hoar, W.S. 1975. Induction of ovulation in goldfish by synthetic luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH). *Can. J. Zool. (Canada)*, 53, 1189-1192.
- Lam, T.J., Pandey, S., Nagahama, Y. et Hoar, W.S. 1976. Infective synthetic luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) on ovulation and pituitary psychology of the goldfish *Carassius auratus*. *Can. J. Zool.* 54, 816-824.
1978. Endocrine control of oogenesis, ovulation and oviposition in goldfish. In Gaillard, P.J. et Boer, H.H., ed., *Comparative Endocrinology*. Amsterdam, Elsevier, 55-64.
- Leibo, S.P. 1977. Preservation of mammalian cells and embryos by freezing. In Simatos, D., Strong, D.M. et Turc, J.M. *Cryoimmunologie, Colloq. INSERM*, 62, 311-334.
- Liao, I-C. 1975. Experiments on induced breeding of the grey mullet in Taiwan from 1963-1973. *Aquaculture (Pays-Bas)*, 6, 31-58.
- Liao, I-C. et Chang, Y-S. 1976. A preliminary report on the gonadal development of adult milkfish, *Chanos chanos*, reared in tanks. Presented at the Intl. Milkfish Workshop Conf., Iloilo, Philippines, 1976. 121-133.
- Makeyeva, A.P. et Verigin, B.V. 1970. Use of the method of pituitary injections in the propagation of silver carp and grass carp. *J. Ichthyol.* 11, 174-185.
- Meryman, H.T. 1966. Review of biological freezing. In Meryman, H.T., ed., *Cryobiology*. New York, N.Y., Academic Press Inc., 1-114.
- Moczarski, M. 1977. Deep freezing of carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm. *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol. (Pologne)*, 25, 187-190.
- Monahan, M.W., Amoss, M.S., Anderson, H.A. et Vale, W. 1973. Synthetic analogs of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor with increased agonist properties. *Biochemistry (É.-U.)*, 12, 4616-4620.
- Nagase, H. 1964. Deep freezing bull semen in concentrated pellet form. *Proc. Intl. Congr. Reprod. Anim. Insem. Artif. Trento*, 3, 503.
- Nash, C.E. et Kuo, C-M. 1975. Hypothesis for problems impeding the mass propagation of grey mullet and other finfish. *Aquaculture (Pays-Bas)*, 5, 119-133.
1976. Preliminary capture, husbandry and induced breeding results with the milkfish, *Chanos chanos*. Presented at the Intl. Milkfish Workshop Conf., Iloilo, Philippines, 1976. 139-160.
- Nash, C.E., Kuo, C-M. et McConnel, S.C., 1973. Operational procedures for rearing. In The grey mullet: induced breeding and larval rearing. National Sea Grant Report No. 73-128, 23-37.
- Ng, T.B. et Idler, D.R. 1978. 'Big' and 'little' forms of plaice vitellogenic and maturational hormones. *Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.)*, 34, 408-420.
- Ott, A.G. 1975. Cryopreservation of pacific salmon and steelhead trout sperm. Ph.D. thesis, Oregon State University, Corvallis, Oregon, 145p.
- Pandey, S. et Hoar, W.S. 1972. Induction of ovulation in goldfish by clomiphene citrate. *Can. J. Zool. (Canada)*, 50, 1679-1680.

- Pandey, S. et Stacey, N. 1975. Antiestrogenic action of clomiphene citrate in goldfish. *Can. J. Zool. (Canada)*, 53, 102–103.
- Pavlovici, I. et Vlad, C. 1976. Some data on the preservation of carp (*Cyprinus carpio*) seminal material by freezing. *Fis. Mar. Serv. Transl. No. 3965*. Publié originellement dans *Cresterea Anim.* 4, 45–48.
- Perks, A.M. 1969. The neurohypophysis. In Hoar, W.S. et Randall, D.J., ed., *Fish physiology*, Volume 2. New York, N.Y., Academic Press Inc., 112–206.
- Peter, R.E. et Crim, L.W. 1978. Hypothalamic lesions of goldfish: effects on gonadal recrudescence and on gonadotropin secretion. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France)*, 18, 819–823.
1979. Reproductive endocrinology of fishes: gonadal cycles and gonadotropin in teleosts. *Ann. Rev. Physiol. (É.-U.)*, 41, 323–335.
- Pickford, G.E. et Atz, J.W. 1957. *The physiology of the pituitary gland of fishes*. New York Zoological Society, New York.
- Potaros, M. et Sitasit, P., 1976. Induced spawning of *Pangasius sutchi* (Fowler). Tech. Pap. 15, Freshwater Fisheries Division, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand.
- Pruginin, Y. et Cirlin, B. 1976. Techniques used in controlled breeding and production of larvae and fry in Israel. Tech. Pap. 25, EIFAC Workshop on Controlled Reproduction of Cultivated Fish, Hamburg, 1973. 90–100.
- Sage, M. 1973. The evolution of thyroidal function in fishes. *Am. Zool. (É.-U.)*, 13, 899–905.
- Schreibman, M.P., Leatherland, J.F. et McKeown, B.A. 1973. Functional morphology of the teleost pituitary gland. *Am. Zool. (É.-U.)*, 13, 719–742.
- Sebastian, M.J. et Nair, V.A. 1975. The induced spawning of the grey mullet (*Mugil macrolepis*) and the large-scale rearing of its larvae. *Aquaculture (Pays-Bas)*, 5, 41–52.
- Shehadeh, Z.H. 1972. Controlled breeding of culturable species of fish — a review of progress and current problems. In Pillay, T.V.R., ed., *Coastal Aquaculture in the Indopacific Region*. London, Fishing News (Books) Ltd., 180–194.
1976. Induced breeding techniques — a review of progress and problems. Tech. Pap. 5, Workshop on Controlled Reproduction of Cultivated Fishes, Hamburg, 1973, 72–88.
- Shehadeh, Z.H., Kuo, C.-M. et Milisen, K.K. 1973a. Induced spawning of grey mullet *Mugil cephalus* with fractionated salmon pituitary extract. *J. Fish Biol. (Angleterre)*, 5, 471–478.
- 1973b. Validation of an *in vivo* method for monitoring ovarian development in the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *J. Fish Biol. (Angleterre)*, 5, 489–496.
- Shrestha, S.B. 1973. Induced breeding of grass carp in Nepal. *Bamidgeh* 25, 10–16.
- Sin, A.W. 1974. Preliminary results on cryogenic preservation of sperm of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead (*Aristichthys nobilis*). *Hong Kong Fish. Bull.* 4, 33–36.
- Singh, S.B., Sukumaran, K.K. et Chakrabarti, P.C. 1970. Further observations on induced breeding of silver carp and grass carp during 1968. *Proc. Nat. Acad. Sci. India* 40, 88–98.
- Sokolowska, M., Popek, W. et Bienarz, K. 1978. Synthetic releasing hormones LH/FSH-RH and LH-RH: effect of intracerebral and intramuscular injection on female carp (*Cyprinus carpio* L.) maturation. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France)*, 18, 963–969.
- Stacey, N.E., Cook, A.F. et Peter, R.E. 1979. Ovulatory surge of gonadotropin in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.)*, 37, 246–249.
1979. Spontaneous and gonadotropin-induced ovulation in the goldfish, *Carassius auratus*: effects of several external factors. *J. Fish. Biol. (Angleterre)*.
- Stacey, N.E. et Pandey, S. 1975. Effects of indomethacin and prostaglandins on ovulation of goldfish. *Prostaglandins (É.-U.)*, 9, 597–607.
- Stein, H. et Bayrle, H. 1978. Cryopreservation of the sperm of some freshwater teleosts. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France)*, 18, 1073–1076.
- Stoss, J., Buyukhatipoglu, S. et Holtz, W. 1978. Short-term and cryopreservation of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) sperm. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France)*, 18, 1077–1082.
- Sundararaj, B.I., Anand, T.C. et Donaldson, E.M. 1972. Effects of partially purified salmon gonadotropin on ovarian maintenance, vitellogenesis and ovulation in the hypophysectomized catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol. (É.-U.)*, 18, 102–114.
- Sundararaj, B.I. et Vasal, S. 1976. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish *Heteropneustes fossilis*. *J. Fish. Res. Board Can. (Canada)*, 33, 959–973.
- Takashima, F., Hibiya, T. Ngan, P. et Aida, K. 1972. Endocrinological studies on lipid metabolism in rainbow trout II. Effects of sex steroids, thyroid powder and adrenocorticotropin on plasma lipid content. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. (Japon)*, 38, 43–49.

- Tay, S.H. 1973. Induced breeding of "koi" (Japanese fancy carp). Singapore J. Pri. Ind. 1, 1-6.
- Vanstone, W.E., Tiro, L.B., Villaluz, A.C., Ram-singh, D.C., Kumagni, S., Dulduco, P.J., Barnes, M.M.L. et Duenas, C.E. 1977. Breeding and larval rearing of the milkfish *Chanos chanos* (Pisces: Chanidae). SEAFDEC Tech. Rep. 3, 3-17.
- Vanstone, W.E., Villaluz, A.C., Bombeo, P.E. et Belicano, R.B. 1976a. Capture, transport and domestication of adult milkfish, *Chanos chanos*. Presented at the Intl. Milkfish Workshop Conf., Iloilo, Philippines, 1976. 204-222.
- Vanstone, W.E., Villaluz, A.C. et Tiro, Jr., L.B. 1976b. Spawning of milkfish, *Chanos chanos*, in captivity. Presented at the Intl. Milkfish Workshop Conf., Iloilo, Philippines, 1976. 222-228.
- Varghese, T.J., Satyanarayana, G.P., Devaraj, K.V. et Chandrasekhar, B. 1975. Preliminary observations on the use of marine catfish pituitary glands for induced spawning of the Indian major carps. Curr. Sci. (Bangalore)(Inde), 44, 75-78.
- von Ihering, R. 1937. A method for inducing fish to spawn. Prog. Fish-Cult. (É.-U.), 34, 15-16.
- Whittingham, D.C., Leibo, S.P. et Mazur, P. 1972. Survival of mouse embryos frozen to -196 and -296 °C. Nature (Lond)(Angle-terre), 236, 411-414.
- Wiltzius, W.J. 1973. Selected bibliography on the collection, fertilization, vitality, storage and cryopreservation of gametes, particularly salmonids. Colo. Dep. Nat. Resour. Fish. Inf. Leaflet No. 23, 4p.
- Withler, F.C. et Morley, R.B. 1968. Effects of chilled storage on viability of stored ova and sperm of sockeye and pink salmon. J. Fish. Res. Board Can. (Canada), 25, 2695-2699.
- Wolf, K. 1963. Physiological salines for fresh-water teleosts. Prog. Fish-Cult. (É.-U.), 25, 135-140.
- Woynarovich, E., 1975. Elementary guide to fish culture in Nepal. Rome, FAO. 138p.
- Yamazaki, F. 1965. Endocrinological studies on the reproduction of the female goldfish *Carassius auratus* L., with special reference to the function of the pituitary gland. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ. (Japon), 13, 1-64.
1976. Application of hormones in fish culture. J. Fish. Res. Board Can. (Canada), 33, 948-958.
- Yanagimachi, R. 1957. Studies of fertility in *Chupea pallasi* II. Structure and activity of spermatozoa. Zool. Mag. (Tokyo)(Japon), 5, 222-225. (En japonais avec résumé anglais)
- Yashouv, A. 1969. Preliminary report on induced spawning of *Mugil cephalus* L. reared in captivity in freshwater ponds. Bamidgeh (Israël), 21, 19-24.
- Yu, Y.S., Sin, A.W. et Chan, Y.W. 1973. Results of induced spawning of the bighead (*Aristichthys nobilis*), grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in Hong Kong, 1969-1971. Hong Kong Fish. Bull. 3, 55-76.
- Zell, S.R. 1978. Cryopreservation of gametes and embryos of salmonid fishes. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. (France), 18, 1089-1099.



FOURNISSEURS DE MATÉRIEL DE PONTE

Syndel Laboratories Ltd, 8879 Selkirk Street, Vancouver, C.-B.

The 1979 Buyer's Guide. 1978. Commercial fish farmers and aquaculture news.
5(1), November, 10-49.

