

REPRODUCTION ARTIFICIELLE

Les publications Hongroises font apparaître des résultats de reproduction artificielle qui situent les taux de fécondation entre 70 et 90 % et des taux d'éclosion compris entre 60 et 80 % (Horvath, 1984) des oeufs fécondés, soit entre 42 et 72 % des ovules produits.

Par rapport aux techniques décrites par les Hongrois, un certain nombre de progrès ont été accomplis qui simplifient les procédures ou offrent des solutions techniques nouvelles.

Le détail des opérations est décrit dans les différents comptes-rendus d'expérimentations que le CEMAGREF a réalisé pour le Ministère de l'Agriculture ou l'ADARC. Une publication spécifique sur la technique de reproduction artificielle devrait paraître prochainement reprenant les différentes opérations.

GESTION DES REPRODUCTEURS

SEXAGE

Le sexage des géniteurs a fait l'objet d'une mise au point technique à la demande de l'USEERC dès 1988. Ainsi l'usage d'un otoscope permet il de lever toute ambiguïté quant au sexe d'un géniteur. Le test du crayon, couramment utilisé dans l'ex-Yougoslavie par exemple, permet d'obtenir une bonne sécurité au moment du sexage. La confrontation des différents indicateurs, tels que :

- La présence d'un peigne rugueux au niveau des pectorales, chez le mâle,
- l'impossibilité de faire pénétrer la mine d'un crayon à papier par l'orifice de la papille uro-génitale, chez le mâle
- l'absence d'ovocytes lors de l'observation à l'otoscope, qui ne peut passer l'orifice de la papille uro-génitale, chez le mâle,

sont autant d'éléments qui confortent le diagnostic du pisciculteur.

Sur des poissons de taille réduite, sexuellement immature (généralement d'un poids inférieur à 2 kg), le sexage exige le recours à d'autres techniques qui demanderont à être précisées. Sur des poissons élevés dès leur plus jeune âge en eau chaude, le sexage est possible, dès que la maturité est suffisante, c'est à dire environ 12 à 16 mois pour les mâles et 18 à 24 mois pour les femelles élevés à 25- 27°C.

CONDUITE DES GENITEURS

Il va sans dire qu'une attention particulière doit être portée aux géniteurs. Une prophylaxie sanitaire rigoureuse doit leur être appliquée au moment de leur stockage, notamment un déparasitage systématique (contre ciliés, vers monogènes). Par ailleurs, une alimentation abondante doit leur être fournie, notamment au cours de la phase de maturation.

L'âge de première maturité est atteint au bout de 3 à 4 ans pour des mâles et 4 à 5 ans pour des femelles élevés en bassins à température naturelle.

Pour des poissons élevés en eau chaude (25°C), la maturité est atteinte plus rapidement : environ 11 000 degrés jours (12 à 16 mois) pour des mâles et 14 à 15 000 degrés jours (18 à 24 mois) pour des femelles. Ces données demandent à être précisées.

Il devient indispensable de séparer les géniteurs à l'approche de la ponte, du fait des risques de pontes non contrôlés et de leur agressivité.

Il n'est pas indispensable de ligaturer la gueule des poissons dès lors que l'on dispose de structures résistantes, permettant de les séparer.

Enfin, les géniteurs doivent être manipulés si possible en douceur pour ne pas les stresser.

INDUCTION DE L'OVULATION ET DE LA SPERMIATION

En saison, la ponte peut être induite environ 950 à 1200 degrés jours après que la température de l'eau des bassins ou des étangs ait dépassée 15 °C. L'utilisation de la migration de la vésicule germinative comme seul critère de décision de l'induction doit se faire avec une grande prudence : les ovocytes prélevés sont souvent ovoïdes et il se produit fréquemment des erreurs de lecture de cette position. La date de ponte se situe généralement en France à la mi-juin (fin mai à début juillet).

Mais il est aussi possible d'anticiper voire de décaler la date normale de la ponte des silures par un contrôle des conditions de températures, la photopériode ne semblant pas avoir d'influence. Ceci a été mentionné dans un rapport du CEMAGREF au Ministère de l'Agriculture dès 1989, et les techniques ont été mises au point et améliorées depuis : elles sont en cours de transfert vers des producteurs équipés des structures adéquates, car il faut bien entendu assurer la croissance des jeunes larves obtenues dans des conditions artificielles.

L'induction de l'ovulation peut être obtenue simplement par injection d'extraits hypophysaires de carpe à la dose de 4 à 5 mg/kg pour les femelles (temps d'attente, 16 à 18 heures à 24°C) et 2 à 4 mg/kg pour les mâles temps d'attente, 18 à 24 heures à 24°C). Deux modes d'administration des extraits hypophysaires sont possibles, avec ou sans "priming" mais une seule injection semble préférable, car cela limite les manipulations des géniteurs. Des échecs dans l'emploi d'extraits hypophysaires de Carpe sont rapportés par certains auteurs, alors que l'utilisation de LH-RHa (50 à 100 µg/kg) associé à du Pimozide (5mg/kg) peut se révéler plus efficace. Par ailleurs, on peut parfois observer un nombre important de malformations sur les larves (qualité des gamètes mâles ou femelles?).

GESTION DES GAMETES MALES

L'obtention de sperme chez le Silure glane n'est pas aussi simple qu'avec d'autres espèces, mais est tout à fait possible et ne constitue pas un facteur de blocage à la reproduction de ce poisson. Il faut toutefois une certaine rigueur et une bonne organisation dans la conduite des opérations.

On recueille en moyenne 2,5 ml de sperme par kg de poids vif, à une concentration de 0,1 à $10 \cdot 10^9$ spermatozoïdes par ml. Il faut commencer par éliminer l'urine, de couleur plus claire et prélever le sperme dans un volume d'une solution d'immobilisation, au plus égal à celui du sperme.

IMMOBILISATION DES SPERMATOZOÏDES

L'utilisation d'une solution d'inhibition de la motilité des spermatozoïdes (11,6 g NaCl, TRIS, 2,4 g, QSP 1L, pH fixé à 7 par addition de HCL), permet d'éviter le recours au sacrifice des mâles. Cela confère en outre une plus grande souplesse aux opérations de fécondation en autorisant une conservation pendant quelques jours du sperme. On peut ainsi prélever le sperme la veille de la récolte des ovules.

En pratique, on utilisera autant de mâles que de femelles, ce qui permettra de disposer d'une quantité suffisante de sperme. On calcule systématiquement la dilution du sperme dans le liquide d'immobilisation avant de procéder à un mélange, dont on calculera la dilution. Une vérification de la reprise de la motilité des spermatozoïdes est nécessaire avant son emploi : elle s'effectue au microscope (X 200 fois), après addition d'une goutte d'eau.

CRYOCONSERVATION

Des techniques de cryopréservation mises au point récemment (Linhart et al 1990), (Linhart et al, 1992) permettent d'envisager une conservation à plus long terme des spermatozoïdes.

GESTION DES GAMETES FEMELLES

Les ovules sont recueillis à sec après un délai d'attente de 16-18 heures (Induction CPE) ou 38 heures (Induction LHRH-a), par lots d'environ 200 à 300 g.

CONSERVATION

Les ovules doivent être fécondés le plus tôt possible, mais peuvent être conservés jusqu'à une demi-heure après leur prélèvement, à sec, mais en atmosphère humide pour qu'il ne se déshydrate pas.

FERTILISATION

On ajoute 1 ml de sperme dans la solution immobilisation pour 100 g d'ovule, qu'on laisse en contact après avoir rapidement mélangé l'ensemble, 1 à 3 minutes.

LES LIQUIDES DE FECONDATION

Les spermatozoïdes retrouvent leur motilité après addition d'une solution de fécondation, qui peut être de l'eau d'élevage ou une solution saline tamponnée à pH 7 (3 g NaCl, 2,4 g TRIS, QSP 1 l). On en ajoute 50 % du volume des ovules, on agite l'ensemble et on laisse en contact environ 3 minutes. L'ensemble est rincé puis placé en incubateur (bouteilles de Zug).

INCUBATION

On place environ 500 g d'oeufs par bouteilles de 5 l et on assure un renouvellement de l'eau faible au départ puis plus important au bout de 10 à 12 heures, moment où l'on pratique un décollage des oeufs à l'aide d'une solution d'alcalase. L'incubation dure environ 55 à 60 heures à 25 °C et il faudra siphonner délicatement les oeufs quelques temps avant l'éclosion pour les placer en auge de résorption.