

DÉTERMINATION DU NOMBRE OPTIMUM DE SPERMATOZOÏDES NECESSAIRES A LA FÉCONDATION D'UN OVULE AU COURS DE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE DE LA TRUITE

par R. BILLARD et M. CARPENTIER

Laboratoire de Physiologie des Poissons
I.N.R.A. - 78350 JOUY-EN-JOSAS (FRANCE)

Si un seul spermatozoïde est nécessaire pour féconder un ovule, il faut, pour obtenir un pourcentage de fécondation satisfaisant, mettre en œuvre une quantité de spermatozoïdes beaucoup plus élevée. La connaissance du nombre minimum de spermatozoïdes par œuf est particulièrement importante dans la pratique de l'insémination artificielle où l'on doit chercher à obtenir le maximum de fécondation avec le minimum de sperme. Si ce nombre de spermatozoïdes est maintenant bien connu chez les animaux domestiques, on ne dispose pas d'informations nombreuses chez les Poissons. La quantité de spermatozoïdes à mettre en œuvre chez l'Esturgeon est de 10 000 par ovule selon PERSOV (1953). Chez le Guppy il faut entre 50 et 100 000 spermatozoïdes par ovule pour obtenir un pourcentage de fécondation satisfaisant (BILLARD, 1966).

Chez la Truite nous ne disposons d'aucune information et dans le cadre de la mise au point d'une technique d'insémination artificielle, nous avons été conduit à définir ce paramètre.

MATERIEL ET METHODES

Les conditions expérimentales ont été décrites précédemment (PETIT et al., 1973). Dans la présente expérience, des lots de 100, 200, 400, 600, 800 et 1 000 ovules ont été inséminés avec des quantités croissantes de sperme (0,2 - 2 - 200 et 2 000 μ l) soit un taux de dilution variant de 10^{-5} à 10^{-1} puisque le sperme est dilué dans 20 ml de dilueur. Ce dernier est une solution de ClNa (Prolabo RP)

développant une pression osmotique de 250 milliosmoles et ajusté au pH 9,5 grâce à un tampon tris 0,02 M.

Après mélange des gamètes dans le dilueur, les œufs sont transférés dans l'eau douce des incubateurs, 15 minutes plus tard.

L'incubation conduite à 12°C est interrompue au 10^e jour où les œufs sont clarifiés dans la solution de Stockard modifiée (acide acétique 5 volumes, glycerol 5 volumes, formol 5 volumes, eau 85 volumes). Il est alors facile d'identifier les œufs embryonnés et le pourcentage de fécondation est établi.

La concentration du sperme utilisé dans cette expérience est de 17 milliards de spermatozoïdes par ml.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats des pourcentages de fécondation sont rapportés dans la fig. 1

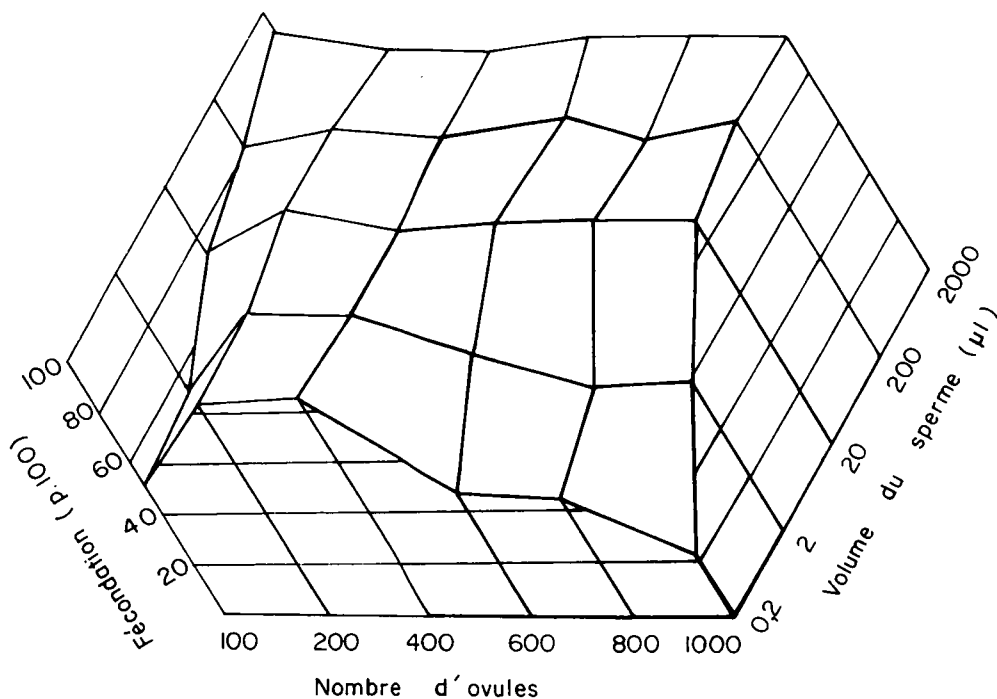


fig. 1 — Pourcentages de fécondation

Représentation tridimensionnelle des effets des variations dans les quantités de gamètes mises en présence lors de l'insémination sur le pourcentage de fécondation. Dans cette expérience un échantillonnage des ovules a été fécondé selon la méthode sèche utilisée en pisciculture et le taux de fécondation obtenu était de 79 %.

où il apparaît que le taux de fécondation reste élevé pour les volumes de 20, 200 et 2 000 μ l de sperme, quelle que soit la quantité d'ovules inséminés. Pour les plus faibles volumes de sperme, 0,2 et 2 μ l, le pourcentage de fécondation reste à un niveau satisfaisant seulement pour des quantités d'ovules de 200 et 400. Au-delà de 400 ovules, le taux de fécondation diminue régulièrement. Il faut insister sur le faible taux de fécondation obtenu avec 100 ovules, ce qui montre l'importance du rapport volume du dilueur/nombre d'œufs dans le rendement de la fécondation, lorsque les quantités de sperme sont faibles.

Connaissant la concentration du sperme utilisé il est facile de déterminer le nombre de spermatozoïdes par œuf fécondé pour chacune des combinaisons (tableau). Pour les taux de dilution de 10^{-2} et 10^{-1} il y a manifestement excès

TABLEAU
NOMBRE DE SPERMATOZOÏDES PAR ŒUF FECONDE

Nombre d'ovules	Taux de dilution	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
	100		40 962	333 333	5 000 000	29 310 000
200		21 784	155 963	1 910 112	18 578 000	188 888 000
400		11 118	100 000	1 021 021	9 826 000	99 706 000
600		10 862	80 952	652 591	6 795 000	61 594 000
800		9 238	70 833	472 222	4 829 000	43 824 000
1 000		15 178	55 464	372 399	3 692 000	37 444 000

de spermatozoïdes, mais pour les taux de dilution les plus faibles, le nombre de spermatozoïdes par œuf est peu élevé : à 10^{-5} il est de 10 à 20 000 pour des taux de fécondation de 85 % à des concentrations d'ovules de 200 et 400/20 ml. Les mêmes pourcentages de fécondation sont obtenus pour les mêmes concentrations en œufs avec 100 000 à 150 000 spermatozoïdes par œuf à la dilution de 10^{-4} . Il apparaît donc que les quantités minimum de spermatozoïdes à mettre en œuvre au cours de l'insémination artificielle soient de l'ordre de 20 000 à 150 000 ce qui correspond à des valeurs déjà trouvées dans des expériences précédentes (BILLARD et al., 1973). Dans ces conditions, et sachant que l'on peut obtenir de l'ordre de 250 milliards de spermatozoïdes par mâle et par an chez la Truite arc-en-ciel (BILLARD et al., 1971) il est théoriquement possible de féconder 1 million d'œufs, soit la production de 500 à 1 000 femelles avec un seul mâle. Pour obtenir une plus grande sécurité il est peut-être préférable d'utiliser les plus faibles dilutions (10^{-3} par exemple), ce qui suppose des quantités de 400 000 à 1 000 000 de spermatozoïdes par œuf. Même dans ces conditions, un seul mâle peut encore féconder les œufs de plus de 100 femelles. On peut ainsi envisager une exploitation plus rationnelle des mâles limitant les stocks de géniteurs inutiles dans les piscicultures par une meilleure utilisation des mâles sélectionnés pour l'insémination artificielle. Cette technique d'insémination est actuellement au point au laboratoire et reste à

être adaptée à la pratique courante des piscicultures. Elle doit s'appuyer sur une très bonne connaissance de la qualité du sperme utilisé, problème qui retient actuellement notre attention au laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BILLARD R., 1966. Contribution à l'étude de la reproduction chez le Poisson Téléostéen *Lebistes reticulatus*, au moyen de l'insémination artificielle. Thèse 3^e cycle, Fac. Sci. LYON, 83 p.
- BILLARD R., BRETON B., JALABERT B., 1971. La production spermatogénétique chez la Truite.
Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 11, 190-212.
- BILLARD R., PETIT J., JALABERT B., 1973. Sperm dilution in Trout, an improvement in artificial insemination (abstr.).
FAO Fisheries Circular n° 37, 5.
- PERSOV, 1953. Quantité de sperme pour assurer la fécondation des œufs d'esturgeon.
Dokl. Akad. Nauk. SSSR 90, 1183-1186.
- PETIT J., JALABERT B., CHEVASSUS B., BILLARD R., 1973. L'insémination artificielle de la Truite. I - Effets du taux de dilution du pH et de la pression osmotique du dilueur sur la fécondation.
Ann. Hydrobiol., sous presse.
-