NOTE TECHNIQUE

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DU BROCHET

R. BILLARD *, M. DEBRUILLE ***, J.-P. GERARD **, G. de MONTALEMBERT *

* : I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons, 78350 Jouy-en-Josas

** : I.N.R.A., Laboratoire d'Ichtyopathologie, 78850 Thiverval-Grignon

*** : C.S.P. Le Paraclet B.P. 5, 80440 Boves

Un dilueur d'insémination mis au point pour la Truite Arc-en-Ciel s'est révélé être utilisable pour l'insémination artificielle du Brochet. Dès essais ont été conduits avec succès aussi bien en laboratoire qu'en ésoeculture (C.S.P., Paraclet) au cours des années 1975 et 1976. Bien que le dilueur et le procédé d'insémination puissent être dans un proche avenir adaptés plus spécifiquement au Brochet, il nous a semblé utile de développer dès maintenant dans une note technique la méthode d'insémination pratiquée sur le Brochet.

LE DILUEUR

Il a été mis au point à la suite d'expériences sur la Truite Arc-en-ciel et rapportées précédemment par BILLARD *et al.* (1973).

Il s'agit d'une solution saline développant une pression osmotique de 250 miliosmoles et tamponnée à un pH 9 par un système Carbonate-bicarbonate, ou Tris-glycocolle (1).

Préparation

— Verser le contenu du sachet dans un litre d'eau douce (eau de source ou de rivière dépourvue de matières organiques en suspension).

— Agiter jusqu'à dissolution complète.

— Amener le dilueur ainsi préparé à la température à laquelle se trouvent les géniteurs afin d'éviter les chocs thermiques.

(1) Ce dilueur a été fabriqué sous la dénomination « Dilueur 532 » par les Laboratoires LATHEVET et il est commercialisé par la Coopérative Nationale de Pisciculture : 28, rue Milton, 75009 PARIS. Il se présente sous la forme de dose en sachet pour 1 litre d'eau.

Précautions

Entre deux inséminations pratiquées le même jour avec le même dilueur, éviter toute exposition au soleil ou à température élevée afin d'éviter les chocs thermiques.

STOCKAGE ET MATURATION DES GENITEURS

Après prélèvements dans le milieu naturel ou dans des étangs de production, les géniteurs, principalement les femelles, ne sont pas toujours en état de produire leurs gamètes et doivent subir une préparation pour provoquer la maturation ovocytaire et l'ovulation.

Pour cela il est conseillé de stocker les femelles et les mâles séparément dans des étangs de maturation à raison d'une dizaine d'animaux à l'are (Fig. 1).

Ces étangs seront d'une faible hauteur d'eau, 30 à 50 cm, sur un substrat herbeux avec une température d'eau variant, suivant les conditions climatiques, entre 5 et 11°C ; ils seront exempts de tout autre poisson. Les stimuli de maturation doivent être complétés par la présence de quelques brochets de sexe opposé à ceux mis dans les étangs. Ceux-ci seront placés dans un récipient type « tonneau » ayant environ un mètre de hauteur et 50 cm de diamètre, percé d'une centaine de trous permettant la circulation de l'eau tout en maintenant les géniteurs dans une relative obscurité.

Fig. 1 — Etang de maturation avec substrat herbeux.

PRELEVEMENT DES GAMETES

Entre le moment de l'ovulation et le prélèvement des gamètes, on peut stocker les géniteurs, toujours séparément, 1 à 3 jours dans les tonneaux dési-

gnés ci-dessus. Ce mode de stabulation semble réduire l'agitation et l'agressivité, conserver les animaux en parfait état, et ne pas perturber l'ovulation (Fig. 2).

Fig. 2 — Bassins de stockage des géniteurs avant insémination avec les tonneaux perforés dans lesquels les animaux sont maintenus en stabulation.

Il est essentiel que le sperme et les œufs ne soient pas mis au contact de l'eau, de plus ils doivent être mis à l'abri d'une trop grande luminosité et en particulier des rayons solaires.

Afin de bien effectuer les manipulations, il est recommandé d'anesthésier les géniteurs et de les essuyer avec des serviettes. Le MS222 est habituellement utilisé (20 ppm soit 20 mg/l).

Les œufs

Une femelle est considérée comme mature lorsque les ovules coulent spontanément, l'animal étant tenu en position verticale la tête en haut. Les ovules de bonne qualité sont translucides et parfaitement sphériques ; des œufs légèrement blanchâtres ou présentant à l'intérieur des précipités ou des hétérogénéités dans le vitellus sont anormaux ou surmatures et, si leur pourcentage est trop élevé, il est préférable de les jeter.

A noter que le tractus génital du Brochet femelle comporte à la différence des Salmonidés un oviducte de sorte que le liquide recueilli avec les œufs est un liquide ovarien et non un liquide coelomique comme chez la Truite. Le liquide est d'ailleurs peu abondant.

Pour le prélèvement des gamètes, les femelles sont maintenues au-dessus d'une cuvette ou d'un cristalliseur sec et peu profond par un opérateur, tandis qu'un autre opérateur effectue une pression abdominale dans le sens antéro-postérieure pour expulser les ovules. L'orifice génital doit être très près du récipient afin d'éviter aux œufs des chocs préjudiciables (cf. schéma).

- Schémas :**
- 1 — Prélèvement des gamètes :**
à gauche pour la femelle par pression abdominale
à droite pour le mâle par pression abdominale et aspiration dans la pipette
 - 2 — Verser simultanément le dilueur et le sperme sur les œufs**
 - 3 — Mélanger intimement par transvasement**
 - 4 — Laisser reposer 10 à 12 mn à l'abri de la lumière**

Le sperme

Pour le prélèvement du sperme, les mâles sont maintenus sur le dos. Le sperme est expulsé par pression abdominale et recueilli par aspiration dans une seringue ou une pipette au niveau de la papille génitale préalablement essuyée.

L'INSEMINATION

Mélanger tout d'abord les ovules avec un mélange égal de dilueur, puis ajouter immédiatement 1 ml de sperme par litre de mélange, ovule-dilueur et transvaser l'ensemble dans un autre récipient. Renouveler ce transvasement 2 ou trois fois. De cette façon, les spermatozoïdes se trouvent instantanément dilués et mis en présence des œufs. Laisser le mélange reposer pendant 10 à 15 minutes et le transférer en eau douce, soit en bouteille de Zug selon la méthode classique, soit en clayette d'incubation si on ne dispose pas de bouteilles de Zug. Après passage dans le dilueur, les œufs sont en effet beaucoup moins collants, de sorte que l'incubation sur incubateur du type salmonidé est possible, à condition que le diamètre des trous ne dépasse pas 1 mm.

Dés recherches sont en cours sur plusieurs points permettant d'une part d'améliorer la maturation des ovocytes et l'augmentation du volume de sperme par stimulation hormonale, et d'autre part d'optimiser l'insémination proprement dite en s'attachant tout particulièrement à une utilisation maximum du sperme recueilli.

LISTE DU MATERIEL NECESSAIRE A L'INSEMINATION

- Le dilueur en sachet
- Un litre d'eau douce
- Un bac pour anesthésier les animaux
- Des serviettes
- Une pipette ou une seringue pour recueillir le sperme
- Des bacs propres et peu profonds pour la collecte des ovules
- Bouteilles de Zug propres et préalablement traitées au vert de malachite

Une loupe binoculaire est également très utile pour apprécier la qualité des ovules et pour suivre le développement embryonnaire.

CONCLUSION

Cette technique d'insémination qui fera l'objet de perfectionnements au cours des années à venir doit s'intégrer dans un ensemble de mesures destinées à contrôler l'ensemble de la reproduction. Cela conduira à contrôler l'élevage pendant la totalité du cycle. Il est impensable de baser une production de brochetons exclusivement sur la fourniture de géniteurs pris dans des milieux non contrôlés et soumis aux aléas de la production naturelle. La méthodologie de production en étangs déjà en partie établie, doit être affinée (étang de production, de maturation, puis d'élevage), surtout en se concentrant sur des aspects quantitatifs (rapport optimum entre surface, nombre de géniteurs ou de jeunes et quantité de nourriture disponible). C'est sur l'ensemble de ces aspects que les recherches devront porter au cours des années à venir.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Conseil Supérieur de la Pêche de l'aide qu'il nous a apportée pour la réalisation de cette étude (contrat I.N.R.A. - C.S.P.) et Monsieur CAVITTE, Directeur du Domaine du Paraclet, qui a bien voulu nous accueillir dans son établissement et mettre des facilités expérimentales à notre disposition.

ADDENDUM : Il est porté à la connaissance des lecteurs du **Bulletin Français de Pisciculture** que l'article de MM. LAURENT et LAMARQUE : « Utilisation de la méthode des captures successives (De Lury) pour l'évaluation des peuplements piscicoles », paru dans le N° 259 du 4^e trimestre 1975, a été publié avec l'autorisation de la Rédaction des Annales d'Hydrobiologie dans lesquelles il avait déjà paru en 1974, vol. 5, n° 2.