

## ÉVOLUTION DE LA FÉCONDABILITÉ DES OVULES DE TRUITE ARC-EN-CIEL

*Salmo gairdneri*

## LAISSÉS DANS LA CAVITÉ ABDOMINALE AU COURS DE LA PÉRIODE POST-OVULATOIRE

Anne-Marie ESCAFFRE et R. BILLARD \*

I.N.R.A., Centre de recherches hydrobiologiques  
Laboratoire de Nutrition des Poissons  
B.P. 3, St-Pée-sur-Nivelle, 64310 ASCAIN

---

### RESUME

L'évolution de la fécondabilité des ovules de Truite arc-en-ciel laissés dans la cavité abdominale au cours de la période post-ovulatoire a été étudiée, sur trois populations différentes (P, G et K), en relation avec quelques caractéristiques relevées sur les femelles : date de ponte, âge, poids du corps, variation du poids individuel des ovules au cours de la période de rétention.

---

\* I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons, 78350 JOUY-EN-JOSAS.

La survie des ovules laissés dans la cavité générale après ovulation dépend des populations étudiées ; la fécondabilité se maintient au-dessus de 90 % pendant 8 jours dans la population K et 15 jours dans les populations P et G, et elle est indépendante du poids du corps des femelles et du poids moyen des ovules. Par contre, la diminution de l'aptitude à la fécondation des ovules peut être mise en relation avec leur variation de poids et leurs modifications morphologiques au cours de leur séjour intra-abdominal.

## SUMMARY

The change in fertilizability of rainbow trout eggs, left in the abdominal cavity during the post-ovulatory period, was studied in three different populations (P, G and K) in relation to laying, age, body weight and variation of the individual weight of the eggs during their sojourn in the abdomen. The survival of eggs left in the abdominal cavity after ovulation depended on the population studied. Fertilizability remained higher than 90 p. 100 for 8 days in population K and for 15 days in populations P and G ; it was independent of female body weight and of mean egg weight. On the other hand, the decrease in egg fertilizability might be correlated with variability in the weight of the eggs and with their morphological changes during their sojourn in the abdomen.

## INTRODUCTION

La durée de vie de l'ovule a été particulièrement étudiée chez les Mammifères et les limites dans lesquelles la fécondation peut se produire, sans provoquer des anomalies dans le développement ultérieur de l'œuf, ont été résumées par THIBAUT (1969). Chez les Poissons, les données sont peu nombreuses. La chute de fécondabilité des ovules conservés *in vitro* dans leur milieu naturel (liquide coélomique ou ovarien) apparaît respectivement à 48 heures pour *Fundulus heteroclitus* (KUCHNOW et FOSTER, 1976) et 96 heures pour *Oncorhynchus nerka* et *Oncorhynchus keta* (FOERSTER, 1965 ; TAKANO et al., 1973). *In vivo*, la conservation des ovules ne dépasse pas 48 heures chez *Esox lucius* (de MONTALEMBERT et al., 1978) et *Plecoglossus altivelis* (SAKAI, 1974).

Chez *Salmo gairdneri*, SAKAI et al. (1975) ont montré que la fécondabilité des ovules laissés dans la cavité abdominale après ovulation chute à partir de 10 jours, alors que ESCAFFRE et al. (1976, 1977) avancent des durées allant de 15 jours à plus de 30 jours selon les femelles. Cette différence de durée de conservation des ovules chez *Salmo gairdneri* nous a conduit à définir si les facteurs tels que la saison de ponte, l'âge, le poids du corps des femelles, le poids individuel des ovules et sa variation au cours de la rétention, influent sur la fécondabilité de l'ovule.

## MATERIEL ET METHODE

### 1) Matériel animal

— 3 populations différentes de Truites arc-en-ciel (tableau 1), composées de ♂ et ♀ individualisés par marque « Presadon », sont introduites au laboratoire juste avant la saison de reproduction.

Population	Origine de la population	Age	Poids corporel (extrême) g		N° du cycle reproducteur
			♀	♂	
P	Française	3 ans	950 à 2 200	700 à 1 200	2
G	Italienne	3 ans	550 à 900	550 à 900	2
K	Danoise	2 ans	350 à 500	300 à 700	1

**Tableau 1 : Caractéristiques des animaux utilisés dans les expériences**

## 2) Conditions expérimentales

— Au cours de l'expérience, la température de l'eau a varié entre 6,5 °C et 13 °C.

— Les femelles sont examinées quotidiennement afin de déterminer le jour de l'ovulation ( $J_0$ ) et la collecte des gamètes s'effectue par massage abdominal sur des animaux anesthésiés au phénoxy-éthanol (0,03 %).

— Les caractéristiques suivantes ont été mesurées :

— le poids du corps avant ovulation sur toutes les femelles ;

— le nombre total d'ovules recueillis par femelle (fécondité). Des ovules éventuellement perdus lors des manipulations ne sont pas comptés de sorte que la quantité réelle d'œufs produits est légèrement supérieure.

— le rapport gonado-somatique qui a été établi en fin d'expérience après sacrifice des femelles, pesée des ovaires et des ovules restants dans la cavité générale.

— Pour chaque femelle, une partie des ovules pondus dans la cavité abdominale est prélevée au temps  $J_0$  (ovulation),  $J_8$ ,  $J_{15}$ ,  $J_{21}$ ,  $J_{30}$ , et quelquefois  $J_{38}$  et  $J_{45}$  après ovulation. A chaque prélèvement, 10 de ces ovules sont pesés individuellement pour déterminer la variation du poids des ovules frais, non hydratés, les autres étant répartis en trois lots fécondés par un mâle différent, mais originaire de la même population que la femelle.

— Lors du prélèvement, l'apparition des ovules dit « lunés » (condensation du vitellus et globules lipidiques à un pôle) est notée.

— L'insémination artificielle est réalisée à 8 °C à l'aide du dilueur « 532 » (BILLARD, 1977) et suivant le mode opératoire décrit par PETIT *et al.* (1973). L'incubation des œufs est pratiquée en eau recyclée, thermorégulée à 10 °C et à saturation d'oxygène.

Après 10 jours d'incubation, les œufs blancs sont dénombrés à la sortie de l'incubateur et le nombre d'œufs embryonnés est établi après éclaircissement au liquide de Stockard.

## 3) Méthodes statistiques

La signification des différences entre les pourcentages a été estimée par le test du  $\chi^2$ . La comparaison des moyennes a été effectuée, soit par l'analyse de

variance à un facteur pour les échantillons aléatoires et indépendants les uns des autres, soit par la méthode des séries appariées pour les échantillons correspondant à deux prélèvements consécutifs sur les mêmes animaux. Les liaisons entre les différentes variables ont été estimées, soit pour deux variables par les corrélations totales, soit par trois variables pour les corrélations partielles qui permettent de connaître la liaison indépendamment des variations de la troisième.

Du fait du nombre restreint d'animaux et pour permettre le calcul plus précis de certaines corrélations, les données des trois populations ont été regroupées, après transformation en écart réduit, suivant la formule :

$$Y_i = \frac{X_i - \bar{X}_i}{SD_i}$$

$X_i$  : valeur d'un individu d'une population.

$\bar{X}_i$  : moyenne de cette population.

$SD_i$  : écart type de cette population.

$Y_i$  : écart réduit.

## RESULTATS

### A - Durée de vie fertile des ovules (fig. 1)

La fécondité des ovules se maintient au-dessus de 90 % pendant les 8 jours qui suivent l'ovulation pour la population K et les 15 jours pour les populations P et G.

L'aptitude à la fécondation des ovules des femelles G est plus hétérogène que pour les femelles P et K avec un coefficient de variation supérieur à 10 % pendant la phase plateau.

Lorsque la fécondabilité chute, la variabilité augmente brusquement pour les trois populations.

### B - Evolution de la fécondabilité des ovules en fonction de la date d'ovulation

#### 1 - Entrée en ovulation des femelles des trois populations.

Toutes les femelles des populations P et G (3 ans) sont matures contrairement à la population K (2 ans) ou seulement 64 % des femelles ont ovulé.

#### 2 - Date d'ovulation.

L'entrée en ovulation des femelles, au cours de la saison de reproduction, se répartit différemment pour les trois populations.

Les femelles P sont les plus précoces et leur période d'ovulation est circonscrite entre le 15 novembre et le 13 décembre, soit 5 semaines.

Les femelles G et K débutent leur saison d'ovulation le 2 décembre mais, alors que les femelles K ont toutes ovulé le 28 décembre, certaines femelles G tardent jusqu'au 14 janvier, soit des durées respectives de 5 et 7 semaines (fig. 2).

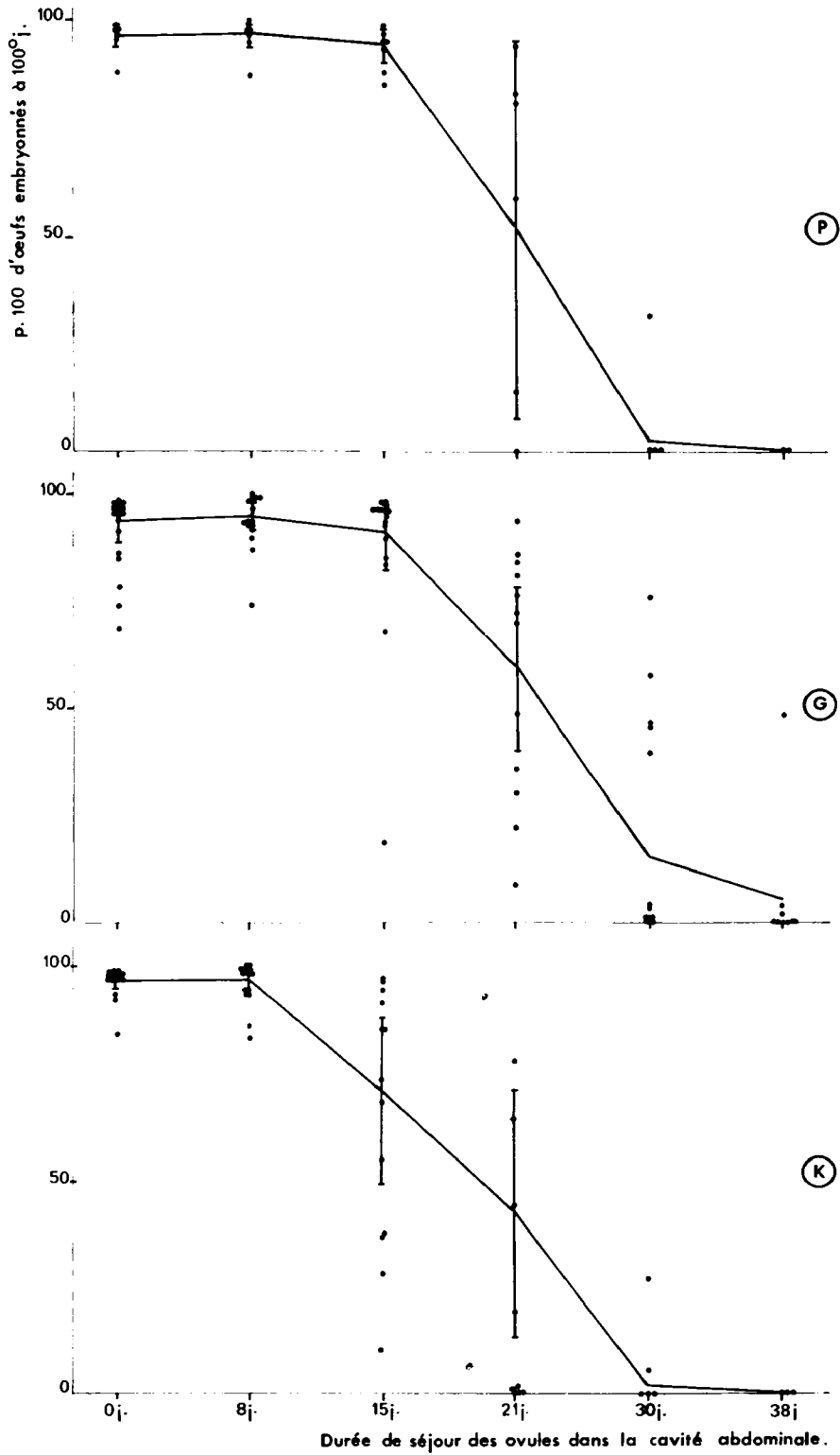


Fig. 1 : Fécondabilité des ovules en fonction de leur durée de séjour post-ovulatoire dans la cavité abdominale.

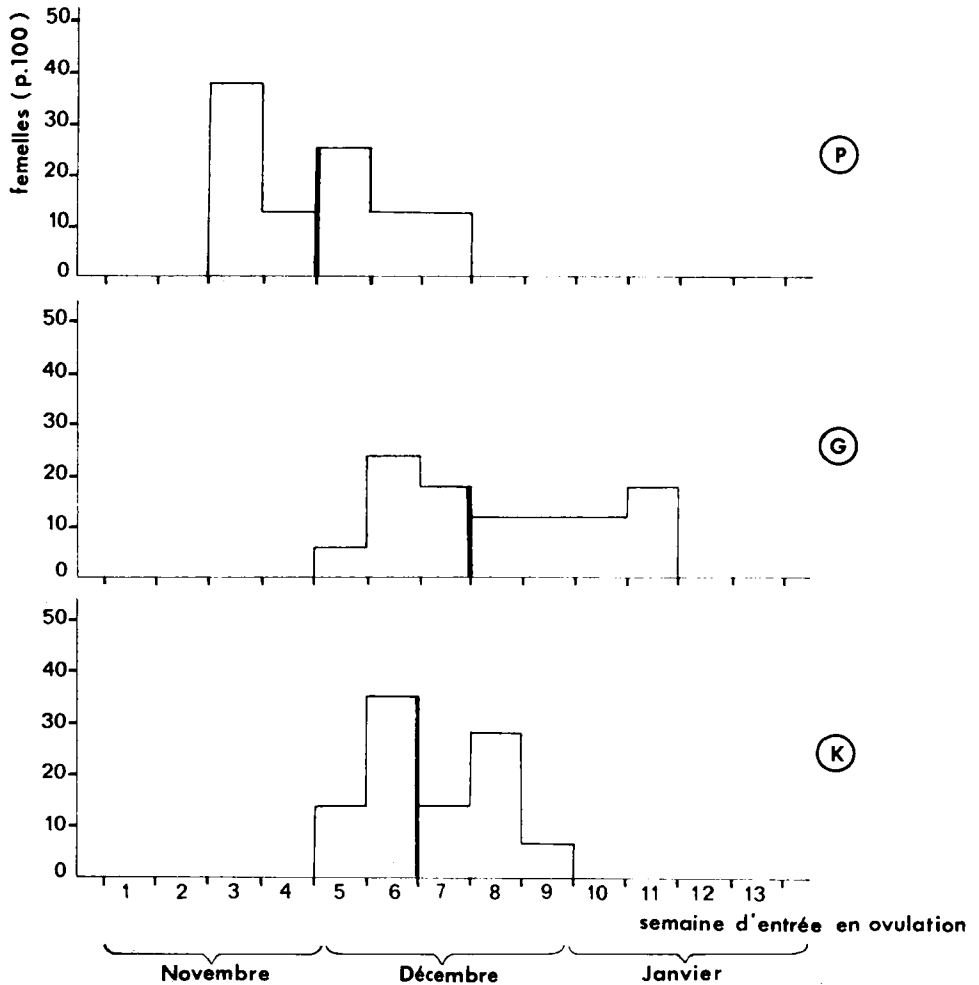


Fig. 2 : Distribution des fréquences d'ovulation au cours de la saison de reproduction. (Le trait épais vertical correspond à 50 p. 100 des femelles ovulées).

3 - influence de la date d'ovulation sur la fécondabilité des ovules.

L'évolution du pourcentage d'œufs embryonnés à  $J_0$  est stable au cours des 5 semaines de reproduction dans les populations P et K. Une chute de ce pourcentage apparaît dans la population G à partir de la 5<sup>e</sup> semaine. Une différence significative entre la qualité des ovules des femelles G entrées en ovulation au début et à la fin de la saison de reproduction a été mise en évidence à  $J_0$  et  $J_8$  (tableau 2). En fin de saison, les femelles G donnent des ovules de qualité médiocre.

**C - Relation entre quelques caractéristiques des femelles et la fécondabilité des ovules.**

1 - Age des femelles.

La fécondabilité des ovules se maintient à son niveau initial pendant les 15 jours qui suivent l'ovulation dans les populations P et G de 3 ans d'âge, et pendant 8 jours seulement dans la population K de 2 ans d'âge (fig. 1).

**Tableau 2**

**Comparaison du pourcentage d'œufs embryonnés à 100 degrés-jour chez les femelles G, du début et de la fin de saison de reproduction.**

% : pourcentage d'œufs embryonnés.  
CV : coefficient de variation.

	Age des ovules à la fécondation (en jours)			
	J <sub>0</sub>	8	15	21
5 premières semaines	96,20	97,8	95,1	60,4
CV	10,24	6,68	6,86	34,50
	n = 12	n = 11	n = 11	
2 dernières semaines	84,3	87,5	78,23	61,00
CV	11,01	9,77	36,97	44,76
	n = 5	n = 5	n = 5	
Analyse de variance	7,732	14,702	4,478	0,076
Test F	x	xxx	NS	NS

x : P < 0,025

xxx : P < 0,001

2 - Poids du corps, poids des ovules et fécondité.

Il existe, pour le poids du corps, le nombre d'ovules collectés (fécondité) et le poids moyen d'un ovule à J<sub>0</sub>, une différence hautement significative entre les trois populations (p < 0,001) alors que le rapport gonado-somatique (valeur moyenne : 11,07 ± 0,74) ne présente pas de différence significative entre ces trois populations (fig. 3).

Le calcul des corrélations partielles chez deux populations d'âge différent, G et K, entre poids du corps, nombre d'ovules recueillis et poids moyen d'un ovule à J<sub>0</sub>, montrant des résultats équivalents, mais pas significatifs pour la population K, ceci vraisemblablement dû au nombre restreint d'animaux, permet de donner les estimations communes des corrélations (tableau 3 A).

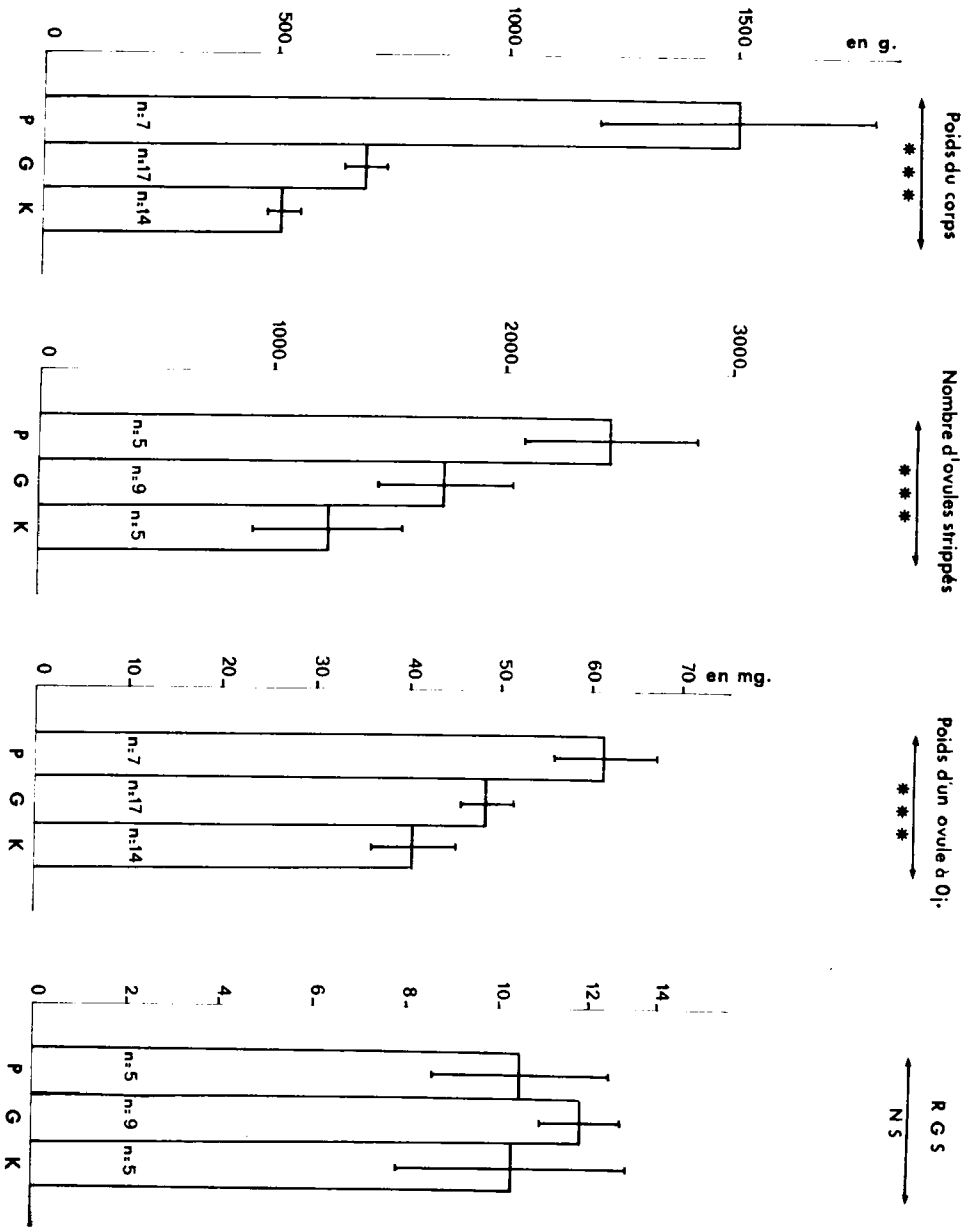


Fig. 3 : Comparaison des caractéristiques femelles des trois populations.  
 Signification : \*\*\* P < 0,001 - NS non significatif,



— Le poids du corps et le poids moyen d'un ovule à  $J_0$  sont des caractéristiques indépendantes ( $r = 0,39$  NS).

— Le poids du corps est corrélé positivement avec la fécondité pour un poids moyen d'ovule constant à  $J_0$  ( $r = 0,71$ ,  $P < 0,01$ ).

— Le poids moyen d'un ovule à  $J_0$  est corrélé négativement, mais faiblement ( $r = -0,55$ ,  $P < 0,05$ ) avec la fécondité pour un poids du corps constant.

**Tableau 3**

**Caractéristiques des femelles des trois populations**

(Traitement des valeurs individuelles des femelles des trois populations après transformation en écart réduit)

Corrélation partielle	Paramètre constant	Valeur	Signification
- Nombre d'ovules collectés - Poids moyen d'1 ovule à $J_0$	Poids du corps	- 0,55	$P < 0,05$
- Poids du corps - Poids moyen d'1 ovule à $J_0$	Nombre d'ovules collectés	0,39	NS
- Poids du corps - Nombre d'ovules collectés	Poids moyen d'1 ovule à $J_0$	0,71	$P < 0,01$

A) Corrélation partielle entre le poids du corps, nombre d'ovules collectés (fécondité) et poids moyen d'un ovule à  $J_0$  ( $n = 19$ ).

Prélèvements étudiés Corrélation totale	Jour de l'ovulation	Fin du plateau de haute fécondabilité	Chute de fécondabilité
- % d'œufs embryonnés à 100 degrés-jour - poids du corps	$n = 36$ 0,13 NS	$n = 36$ — 0,11 NS	$n = 29$ — 0,30 NS
- % d'œufs embryonnés à 100 degrés-jour - poids moyen d'1 ovule	$n = 31$ 0,34 NS	$n = 34$ 0,31 NS	$n = 29$ 0,10 NS

B) Corrélations totales à trois moments précis du vieillissement des ovules au cours de la période post-ovulatoire :

- entre le pourcentage d'œufs embryonnés à 100 degrés-jour et le poids du corps des femelles ;
- entre le pourcentage d'œufs embryonnés à 100 degrés-jour et le poids moyen d'un ovule.

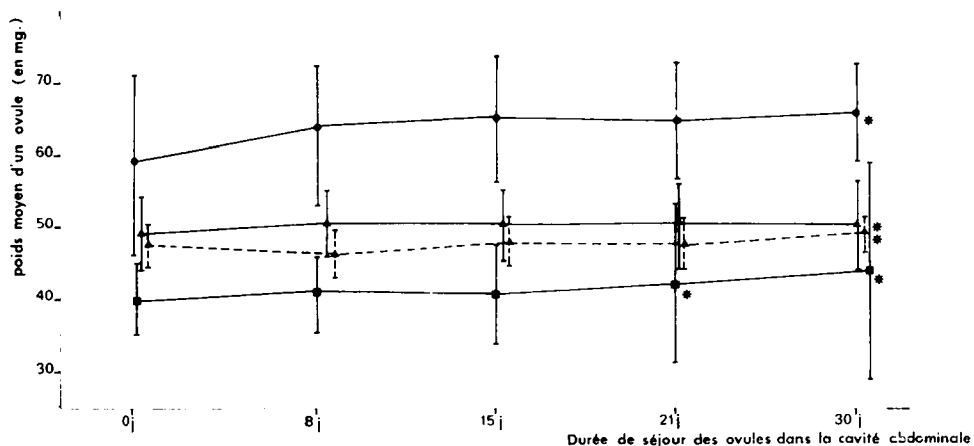


Fig. 4 : Evolution du poids moyen de l'ovule conservé dans la cavité abdominale après ovulation.

- population P
- ▲ — population G (début de saison)
- ▲ - - - population G (fin de saison)
- population K
- \* présence d'ovules « lunés ».

Tableau 4

Gain de poids des ovules entre les prélèvements  
(Analyse statistique : méthode des couples)

Population	Gain de poids des ovules (en mg)			
	J <sub>0</sub> - J <sub>8</sub>	J <sub>8</sub> - J <sub>15</sub>	J <sub>15</sub> - J <sub>21</sub>	J <sub>21</sub> - J <sub>30</sub>
P	1,34 ± 0,37 xxx	1,49 ± 3,29 NS	- 0,76 ± 1,95 NS	2,07 ± 4,33 NS
G début de saison	1,58 ± 0,83 xxx	0,36 ± 0,79 NS	0,41 ± 1,05 NS	0,26 ± 1,20 NS
G fin de saison	- 0,74 ± 0,39 NS	1,49 ± 0,37 xxx	0,06 ± 0,98 NS	1,36 ± 3,18 NS
K	0,78 ± 0,39 xxx	0,12 ± 0,71 NS	1,28 ± 1,09 x	1,27 ± 1,65 NS

x : P < à 0,05

xxx : P < à 0,001

α) Influence du poids du corps des femelles sur la fécondabilité des ovules.

Le poids du corps des femelles et la fécondabilité des ovules sont des caractéristiques indépendantes aux trois moments testés du vieillissement des ovules. Les moments précis correspondent au jour de l'ovulation, à la fin du plateau de haute fécondabilité des ovules et à la chute de ce plateau (tableau 3 B).

β) Relation entre le poids moyen des ovules et leur fécondabilité.

— Evolution du poids moyen des ovules au cours du « vieillissement ».

Le poids moyen d'un ovule à  $J_0$  est indépendant de la date d'entrée en ovulation de la femelle. L'évolution du poids moyen d'un ovule au cours du « vieillissement » dans la cavité abdominale est représentée sur la figure 4.

L'analyse de gain de poids par la méthode des couples (tableau 4) a permis de mettre en évidence une différence hautement significative entre les ovules prélevés à  $J_0$  et  $J_8$  chez les femelles des populations P, K et les femelles G du début de saison.

Il y a stabilisation du poids des ovules entre  $J_8$  et  $J_{15}$ , sauf pour les ovules des femelles G de fin de saison où l'augmentation de poids devient hautement significative. Cette méthode statistique n'a pas permis de mettre en évidence des différences significatives entre les poids des ovules de  $J_{15}$  à  $J_{30}$ , sauf pour les femelles K entre  $J_{15}$  et  $J_{21}$ . Toutefois, l'apparition d'ovules « lunés » caractérisés par un poids significativement plus élevé que les ovules normaux prélevés en même temps chez quelques femelles de la population K à 21 jours et quelques femelles des populations P et G à 30 jours, fait sensiblement augmenter le poids moyen d'un ovule.

— Poids moyen d'un ovule et fécondabilité.

Les analyses ont été effectuées sur le prélèvement d'ovules du jour de l'ovulation, de la fin du plateau de haute fécondabilité et à la chute de ce plateau, et montrent une indépendance entre la fécondabilité des ovules et leur poids moyen (tableau 3 B).

#### D - Apparition des œufs blancs

Au début de la saison de reproduction, pour les trois populations, il n'y a pas d'œufs blancs après 10 jours d'incubation dans le cas des ovules prélevés à  $J_0$ . Les œufs blancs apparaissent en fin de saison de reproduction chez une femelle K et chez toutes les femelles G ; toutefois, ce pourcentage d'œufs blancs à  $J_0$  reste faible (1,08 % pour K et 0,43 % à 3,56 % pour G). Par contre, le nombre d'œufs blancs augmente avec la durée de rétention des ovules dans la cavité générale (fig. 5).

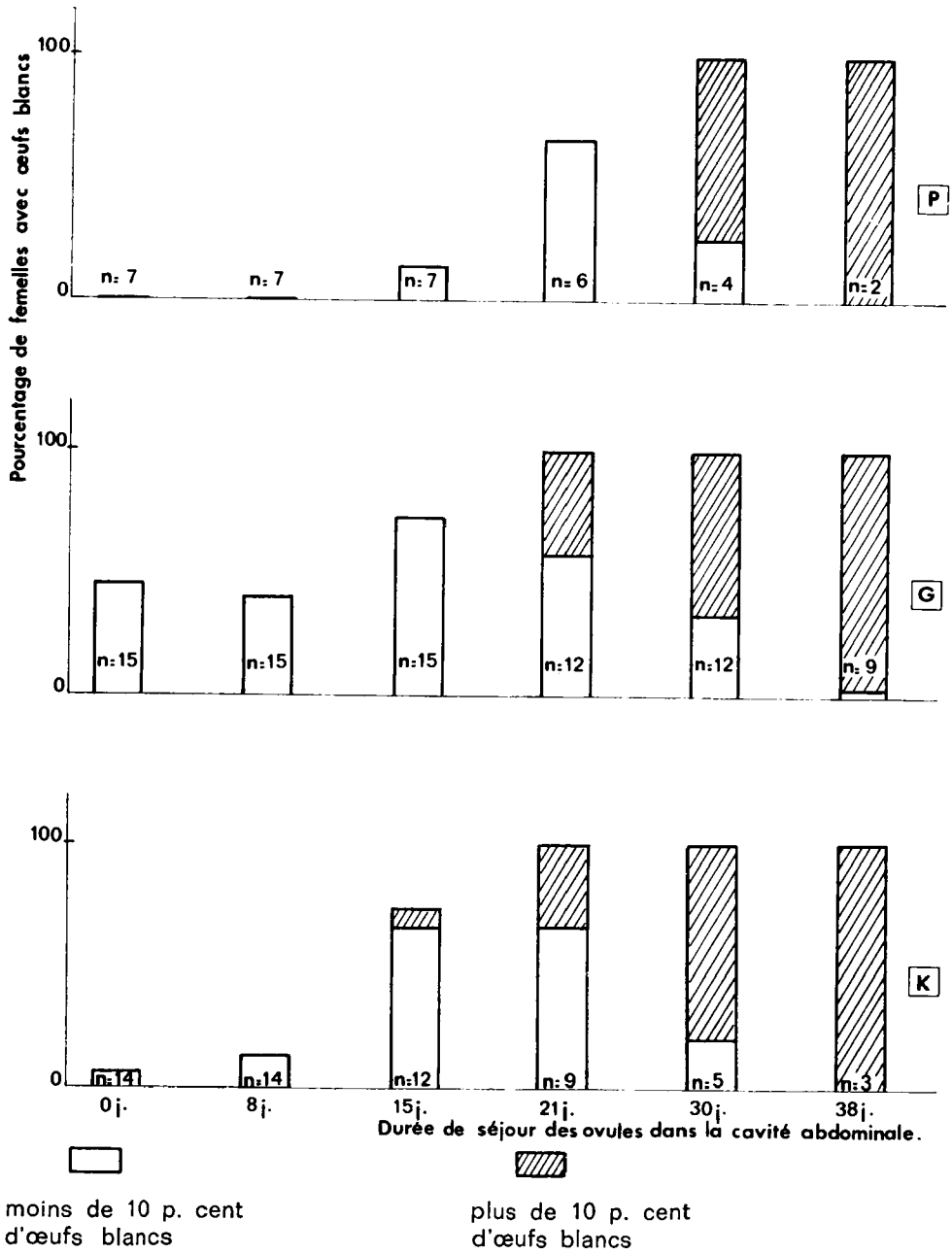


Fig. 5 : Evolution du pourcentage de femelles présentant des œufs blancs au cours de la période post-ovulatoire (le pourcentage d'œufs blancs a été établi après une durée d'incubation de 100 degrés-jour).

## DISCUSSION

La durée de vie fertile des ovules maintenus dans la cavité générale des femelles après ovulation apparait plus longue dans le cas des femelles plus âgées, ce qui confirme les résultats d'une précédente étude (ESCAFFRE *et al.*, 1977). Les femelles de 2 ans accomplissant leur première reproduction ont une durée de conservation de la fécondabilité de leurs ovules plus brève que les femelles de 3 ans se reproduisant pour la deuxième fois. Pour les femelles de 3 ans, la durée de conservation des ovules dans la cavité abdominale est identique à celle de ESCAFFRE *et al.* (1977). Ces auteurs donnaient en outre une durée de conservation des ovules de 30 jours ou au-delà pour des femelles de plus de 4 ans, alors que SAKAI *et al.* (1975) n'avancent qu'une durée de 10 jours chez des animaux de 3 à 4 ans. Cet écart peut provenir des conditions expérimentales différentes, par exemple au niveau des conditions d'insémination artificielle pour lesquelles PETIT *et al.* (1973) et BILLARD *et al.* (1974) ont montré que l'emploi d'un dilueur d'insémination augmentait le pourcentage d'œufs fécondés, mais aussi d'autres facteurs comme l'état physiologique des femelles qui, d'après TAKASHIMA *et al.* (1975), se trouve affecté dans le cas de rétention des ovules.

La rétention des ovules chez la Truite arc-en-ciel se traduit par des modifications morphologiques importantes décrites par NOMURA *et al.* (1974) et retrouvées chez le Saumon Ayu par HIROSE *et al.* (1977). Ces modifications aboutissent à l'apparition, 21 jours et 30 jours après ovulation respectivement pour la population K et les populations P et G, d'ovules « lunés » de poids supérieur aux normaux.

La présence d'œufs blancs, à 10 jours d'incubation, chez les femelles venant d'ovuler coïncide avec la diminution du taux de fécondabilité des ovules et l'augmentation du pourcentage de ces œufs blancs au cours de la rétention des ovules, semble liée à des phénomènes de surmaturation.

Entre  $J_0$  et  $J_8$ , le poids des ovules tend à augmenter, sauf pour les dernières femelles G où il reste stable, sans pour autant affecter l'aptitude à la fécondation des ovules. Ce maintien ou ce gain de poids pourrait être dû à une plus grande perméabilité de l'ovule à l'eau, aux ions et substances organiques contenus dans le liquide coélomique, comme le montrent HIROSE *et al.* (1977) sur le Saumon Ayu et ROSENTHAL et AUDERDICE, (1976). Cette perméabilité pourrait s'exercer au niveau de la membrane ou du micropyle puisque celui-ci reste ouvert (SZOLLOSI et BILLARD, 1974). La variation de poids de l'ovule serait ainsi directement liée à l'état physiologique de la femelle.

En fin de saison de reproduction des femelles G, les œufs récoltés ne sont pas plus légers que ceux des femelles de début de saison, contrairement aux résultats de ISLAM *et al.* (1973). Pourtant, ils ont une fécondabilité médiocre et montrent une fragilité qui se traduit par l'apparition d'œufs blancs dès l'ovulation et un gain de poids, non pas entre  $J_0$  et  $J_8$ , mais entre  $J_8$  et  $J_{15}$ .

Parmi les caractéristiques femelles étudiées, la corrélation positive entre le nombre d'ovules et le poids du corps des femelles a déjà été rapportée par NOMURA (1963) et ISLAM *et al.* (1973). Nous n'avons pas trouvé de liaison entre la durée de vie fertile de l'ovule et le poids du corps des femelles ; par contre, ce dernier montre une différence significative entre les populations de même âge.

Si la taille de l'ovule a une grande importance dans la survie de l'alevin (BAGENAL, 1969), le poids d'un ovule à  $J_0$ , qui est un caractère indépendant du poids du corps des femelles, n'est pas lié à la durée de vie fertile de l'ovule.

En conclusion, l'âge des femelles et leur état physiologique semblent jouer un rôle important dans la survie des ovules conservés dans la cavité abdominale, alors que des paramètres comme le poids du corps des femelles et le poids moyen des ovules, lors de l'ovulation, ne sont pas déterminants.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une convention Ministère de la Qualité de la Vie. I.N.R.A. (n° 3 676).

## BIBLIOGRAPHIE

- BAGENAL T.B., 1969. Relationship between egg size and fry survival in brown Trout (*Salmo trutta* L.). *J. Fish. Biol.*, 1, 349-353.
- BILLARD R., 1977. Utilisation d'un système tris-glycocolle pour tamponner le dilueur d'insémination pour truite. *Bull. Franç. Pisc.*, 264, 102-112.
- BILLARD R., PETIT J., SZÖLLOSI D., JALABERT B., 1974. Artificial insemination in trout using a sperm diluant in J.M.S. BLAXTER. *Early life History of Fish*, Springer Verlag Heidelberg, 715-723.
- ESCAFFRE A.M., PETIT J., BILLARD R., 1976. Evolution de la fécondabilité des ovules de Truite arc-en-ciel laissés dans la cavité coélomique après ovulation. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 40, 561-562.
- ESCAFFRE A.M., PETIT J., BILLARD R., 1977. Evolution de la quantité d'ovules récoltés et conservation de leur aptitude à être fécondés au cours de la période post-ovulatoire chez la Truite arc-en-ciel. *Bull. Franç. Pisc.*, 265, 134-142.
- FOERSTER R.E., 1965. Effect of retention of spermatozoa and ova of Sockeye Salmon, *Oncorhynchus nerka*, in water and without addition of water, on fertility. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 22, 1503-1521.
- HIROSE K., ISHIDA R., SAKAI K., 1977. Induced ovulation of Ayu using human chorionic gonadotropin (HCG) with special reference to changes in several characteristics of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 43, 409-416.
- ISLAM M.A., NOSE Y., YASUDA F., 1973. Egg characteristics and spawning season of Rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 39, 741-751.
- KUCHNOW K.P. and FOSTER IV R.S., 1976. Thermal tolerance of stored *Fundulus heteroclitus* gametes : fertilizability and survival of embryos. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 33, 676-680.
- de MONTALEMBERT G., BRY C., JALABERT B., 1978. Control of reproduction in northern pike (*Esox lucius*). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, sous presse.
- NOMURA M., 1973. Studies on reproduction of Rainbow trout *Salmo gairdneri* with special reference to egg taking. IV - The fecundity of number and weight of eggs taken. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 29, 325-335.

- NOMURA M., SAKAI K., TAKASHIMA F., 1974. The over-ripening phenomenon of Rainbow trout. I - Temporal morphological changes of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 40, 977-984.
- PETIT J., JALABERT B., CHEVASSUS B., BILLARD R., 1973. L'insémination artificielle de la Truite (*Salmo gairdneri* Richardson). I - Effets du taux de dilution, du pH et de la pression osmotique du dilueur sur la fécondation. *Ann. Hydrobiol.*, 4, 201-210.
- ROSENTHAL H., ALDERDICE D.F., 1976. Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine Fish eggs and larvae. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 33, 2047-2065.
- SAKAI K., 1974. Suisan Gaku Series n° 6 (Ed. by Jap. Soc. Sci. Fish.) Koseisha-Koseikahu, Tokyo, 1974, pp. 100-112.
- SAKAI K., NOMURA M., TAKASHIMA F., OTO H., 1975. The over-ripening phenomenon of Rainbow trout. II - Changes in the percentage of eyed eggs, hatching rate and incidence of abnormal alevins during the process of over-ripening. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 41, 855-860.
- SZÖLLÖSI D., BILLARD R., 1974. The micropyle of Trout eggs and its reaction to different incubation media. *J. Microscop.*, 21, 55-62.
- TAKANO K., HIROI O., YASUKAWA M., SUETAKE T., 1973. Studies on the retention of gametes of salmonids fishes. I - On the fertility of Chum Salmon eggs after storage. *Scient. Rep. Hokkaido Salmon Hatchery*, 27, 31-37.
- TAKASHIMA F., NOMURA M., SAKAI K., 1975. The over-ripening phenomenon of Rainbow trout. III - Histological studies on the physiological condition of over-ripened female. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 41, 861-867.
- THIBAUT C., 1969. Formation et maturation des gamètes. *Traité de Zoologie, P.P. Grassé, Tome XVI, fascicule VI, p. 942.*