

LA SPERMATION CHEZ LE BROCHET

1 – ÉVOLUTION DE LA QUANTITÉ DE SPERME RÉCOLTÉ AU COURS DE LA SAISON DE REPRODUCTION

G. DE MONTALEMBERT, Jacqueline MARCEL, R. BILLARD

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

INTRODUCTION

Le développement de la pratique de l'insémination artificielle chez le brochet en éclosérie suppose la gestion d'un stock de géniteurs important. Dans le cadre d'un programme de recherches visant à une meilleure utilisation des gamètes, un travail a été conduit sur la spermiation du brochet. Deux problèmes majeurs se posent dans le cas de cette espèce : le premier est lié à la très faible quantité de sperme produit et le deuxième à un décalage entre les périodes de production de gamètes des mâles et des femelles ; la période de spermiation débute, et quelquefois s'achève, avant la période d'ovulation. La présente expérience a pour but d'estimer l'évolution de la quantité de sperme susceptible

d'être recueillie, au cours de la période de spermiation, sur des mâles stockés en étang et soumis à des prélèvements répétés.

MATERIEL ET METHODES

L'expérience s'est déroulée à la Pisciculture du Paraclet. Au début de février, 14 brochets mâles, pesant entre 100 et 1 225 g (voir tableau 2), ont été capturés par pêche électrique en rivières et placés dans un étang vidangeable d'une superficie de 400 m². Tous les mâles mis en expérience sont en début de spermiation (apparition de sperme à l'orifice génital après pression abdominale). Entre le 10 février et le 31 mars, l'étang est vidangé chaque semaine et, après capture, les mâles sont anesthésiés au Phénoxyéthanol (Merck) (0,3 ml/l) et tout le sperme susceptible d'être prélevé par massage abdominal est recueilli à l'aide d'une pipette appliquée sur le pore génital. La pipette est d'une contenance de 0,5 ml et le volume de sperme est mesuré à 10 µl près. La concentration du sperme en spermatozoïdes est mesurée à chaque prélèvement et pour chaque mâle par établissement du spermatocrite selon la procédure suivante. Des microtubes à hématocrite de 50 µl sont remplis de sperme et mis à centrifuger à 12 000 tours/mn pendant 20 mn. La correspondance entre le spermatocrite et le nombre de spermatozoïdes a été établie après numération des têtes spermatiques à l'hématimètre de Thoma et les résultats sont rapportés dans le tableau 1 et la figure 1.

Tableau 1 : Reproductibilité des mesures du spermatocrite et des numérations de spermatozoïdes sur cellule de Thoma.

Répétition n° Echantillon n°	Spermatocrite				Nombre de spermatozoïdes/ml de sperme Y			Calcul (1)
	1	2	3	X	1	2	X	
1	10	11	11	10,7	8,4	8,5	8,45	7,41
2	—	39	—	39,0	21,0	20,0	20,50	20,0
3	52	51	51	51,3	25,9	26,3	26,10	25,5
4	16	16	16	16,0	9,6	9,6	9,60	9,77
5	57	55	55	55,0	26,8	26,0	26,40	27,15
6	21	21	21	21,0	11,5	9,5	11,00	12,0
7	38	39	38	38,3	19,3	19,0	19,15	19,7
8	—	55	55	55,0	27,7	26,3	27,00	27,15
9	71	72	72	71,6	36,0	34,0	35,00	34,5
10	29	—	—	29,0	15,6	15,6	15,6	15,60

(1) : Nombre de spermatozoïdes calculé d'après la relation $Y = 2,6368 + 0,4457X$ (cf. figure 1).

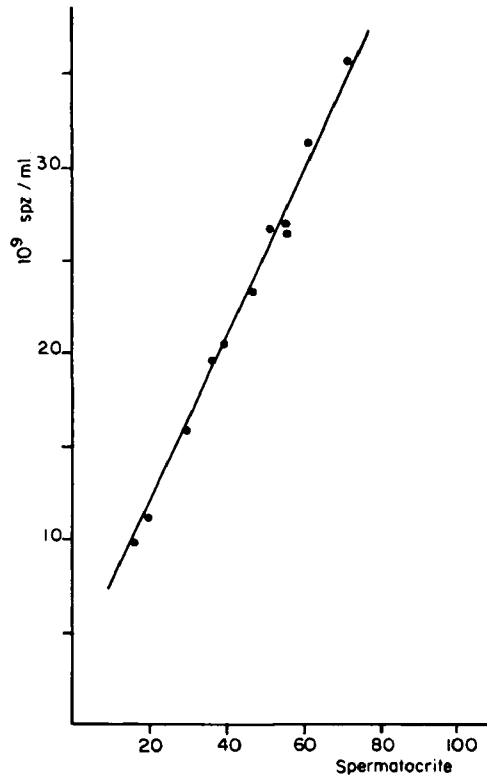


Figure 1 : Correspondance entre le spermatocrite X et le nombre de spermatozoïdes par ml Y de sperme de brochet. Le détail des comptages est donné pour 10 échantillons dans le tableau 1.
 $Y = 2,63 + 0,44 X - p = 0,98.$

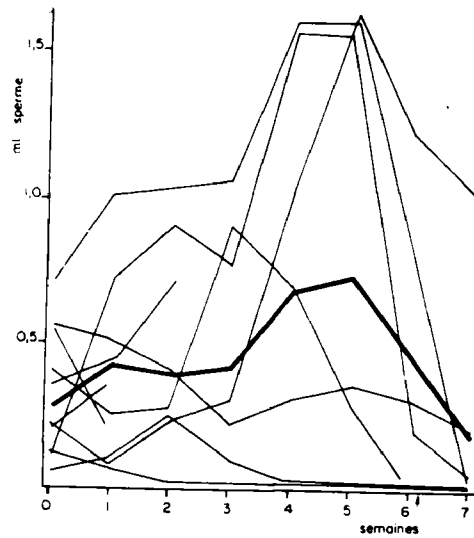


Figure 2 : Evolution du volume de sperme recueilli par prélèvements hebdomadaires au cours de la periode de prélèvements.

La relation entre la concentration du sperme en spermatozoïdes Y (10^3 spermatozoïdes/ml) et le spermatochrome X : $Y = 2,6368 + 0,4457 X$ ($r = 0,98$) permet le calcul de la quantité de spermatozoïdes recueillis.

A chaque prélèvement, on mesure en outre des paramètres plus qualitatifs sur les spermatozoïdes produits, en particulier la durée et l'intensité de la motilité. Après dilution au 1/100 dans le dilueur 532 pour truite (BILLARD, 1977), mais utilisable pour le brochet (BILLARD *et al.*, 1976), le sperme est examiné sous le microscope ($X 100$). L'intensité est évaluée selon une échelle arbitraire allant de 0 (aucun mouvement) à 5 (forte activité de la totalité des spermatozoïdes) (SANCHEZ-RODRIGUEZ et BILLARD, 1977). La durée de motilité correspond à la période pendant laquelle on observe une intensité égale ou supérieure à 1.

Afin de connaître à quelle époque se produit l'ovulation, 52 femelles capturées en janvier par pêche électrique en rivières, ou provenant d'étangs d'hivernage, ont été stockées dans 3 étangs de 400 m² semblables à celui servant à l'expérimentation chez le mâle. La densité de femelles est de 5 à 6/are. Dans les étangs à femelles on a introduit des mâles, lesquels sont placés en tonneaux percés afin d'éviter tout comportement reproducteur. Ces conditions de stockage des femelles sont pratiquées en routine au Paralet et permettent d'obtenir des ovulations pour couvrir les besoins de l'écloserie. Le pourcentage de femelles qui ovulent ainsi reste modéré, mais les observations de terrain montrent que ces ovulations observées en captivité se produisent en même temps que dans le milieu naturel. Des femelles ont été capturées par pêche électrique chaque semaine entre le 10 mars et la mi-avril afin de dénombrer le nombre de femelles ovulées. Les 10 et 17 mars, seules quelques femelles semblant montrer un comportement de reproduction sont capturées. Les autres prélèvements portent sur la totalité du stock.

Les valeurs moyennes indiquées dans le texte, les figures et tableaux sont accompagnés de la déviation standard (DS) ou du coefficient de variation. Les comparaisons de production de sperme sont faites par analyse de variance (AV).

RESULTATS

L'évolution des volumes de sperme recueillis après massage abdominal sur les mâles expérimentaux, au cours de la période de prélèvements, est présentée dans la figure 2, et les données quantitatives d'ensemble apparaissent dans le tableau 2. Les mâles produisent tous au moins une faible quantité de sperme en début d'expérience (ce qui en permettait le sexage et indique que la spermiation avait déjà commencé), les quantités produites ensuite augmentent dans le cas de plus de 50 % des individus. La production reste faible dans le cas de 3 mâles seulement. De nombreuses mortalités ont été déplorées et 50 % des mâles seulement survivent en fin d'expérience. Les productions maximales ont dépassé 1,5 ml de sperme par prélèvement. La production individuelle moyenne est de l'ordre de 0,7 ml/semaine et est atteinte après la 5^e semaine de prélèvement. Elle chute considérablement à la 6^e et la 7^e semaines (17 et 24/3). Chez les femelles maintenues dans les mêmes conditions d'environnement, l'ovulation n'a pas été détectée avant la 6^e semaine (24/3), date à laquelle 10 % des femelles ont ovulé. Ensuite 29 % des nouvelles ovulations sont dénombrées à la 7^e semaine et 32 % entre la 8^e et la 10^e semaine. Les femelles restantes, soit environ 30 %, n'ont pas ovulé spontanément.

Tableau 2 : Evolution de quelques caractéristiques du sperme de brochet au cours d'une série de prélèvements hebdomadaires portant sur une période de 8 semaines.

No du mâle	Poids corporel (g)	Nombre de prélèvements		Volume de sperme récolté			Spermatozite $\bar{x} \pm SD$	Nombre de spermatozoïdes/ml (10^6)	Nombre de spermatozoïdes produits			
		+	—	Total (ml) (1)	\bar{x} /semaine (ml)				par kg poids vif (10^6)	Total (10^6)	\bar{x} /semaine (10^6)	
					\bar{x}	/kg poids vif					/♂	/kg poids vif
1	1 225	8	0	11,7	1,468	1,20	42,3 ± 11,0	21,49	205,22	31,547	25,88	
2	955	8	0	7,5	0,942	0,99	39,4 ± 11,8	20,19	155,35	19,018	19,99	
3	935	6	2	2,1	0,359	0,38	43,3 ± 4,8	21,94	49,27	7,876	8,34	
4	480	8	0	2,9	0,360	0,75	44,9 ± 3,9	22,65	136,83	8,154	16,99	
5	200	8	0	5,7	0,716	3,58	50,1 ± 6,9	24,97	711,65	17,878	89,39	
6	200	4	4	0,7	0,175	0,87	45,2 ± 6,1	22,78	79,75	3,986	10,71	
7	150	3	5	0,2	0,070	0,47	40,0 ± 9,9	20,46	27,27	1,432	9,62	
8	170	5	1	—	0,610	3,59	34,0 ± 10	17,79	—	10,852	63,87	
9	100	0	6	—	0	—	—	—	—	0	—	
10	190	3	1	—	0,525	2,76	45,0 ± 11,3	22,69	—	11,912	62,62	
11	380	3	0	—	0,483	1,27	48,6 ± 6,6	24,30	—	10,959	28,82	
12	800	2	0	—	0,275	0,34	40,0 ± 2,8	20,46	—	5,626	6,96	
13	500	2	0	—	0,280	0,56	35,0 ± 7,1	18,24	—	5,107	10,21	
14	560	1	0	—	0,420	0,75	44,0	22,25	—	9,345	16,69	
\bar{X}						1,35	42,4	21,55			28,47	
CV						89	11	9,8			93	

(1) : établi seulement pour les mâles qui ont survécu pendant la durée totale de l'expérience.

Il est à noter que la production de sperme a déjà fortement diminué lorsque les premières femelles ovulent ; le pic moyen de production se situe une semaine avant les premières ovulations, tandis que chez les mâles pris individuellement, les individus les plus précoces présentent leur production maximale 1 mois avant l'ovulation des femelles.

Les données quantitatives rassemblées dans le tableau 2 montrent que la production de sperme est très variable d'un mâle à un autre et le volume de sperme et le nombre de spermatozoïdes paraissent plus élevés chez les mâles de petite taille que chez les plus gros, mais cette différence n'est pas significative.

L'évolution du spermatocrite (fig. 3) montre d'assez fortes variations pour un même mâle d'un prélèvement à l'autre (pouvant atteindre 20 %), mais le spermatocrite moyen par prélèvement ne varie pas significativement (AV : $P < 0,05$) au cours de la période expérimentale. Le spermatocrite moyen par mâle (tableau 2) oscille entre 34 et 50 %, ce qui correspond à des concentrations en spermatozoïdes relativement élevées : 18 à 25 10^9 /ml. La stabilité du spermatocrite au cours de la période de prélèvement montre qu'il n'y a pas eu de dilution, de sorte que les conclusions tirées à partir de la production en volume de sperme restent valables pour la production en nombre de spermatozoïdes.

L'évolution de la motilité est rapportée dans la figure 4. L'intensité de motilité se situe entre 3 et 4 en début de spermiation, puis augmente pendant les 4 premières semaines de prélèvement. Elle diminue ensuite dans la plupart des cas. La durée de motilité présente une évolution similaire avec des valeurs plus élevées en milieu de période de spermiation et des valeurs plus faibles en début et en fin de période.

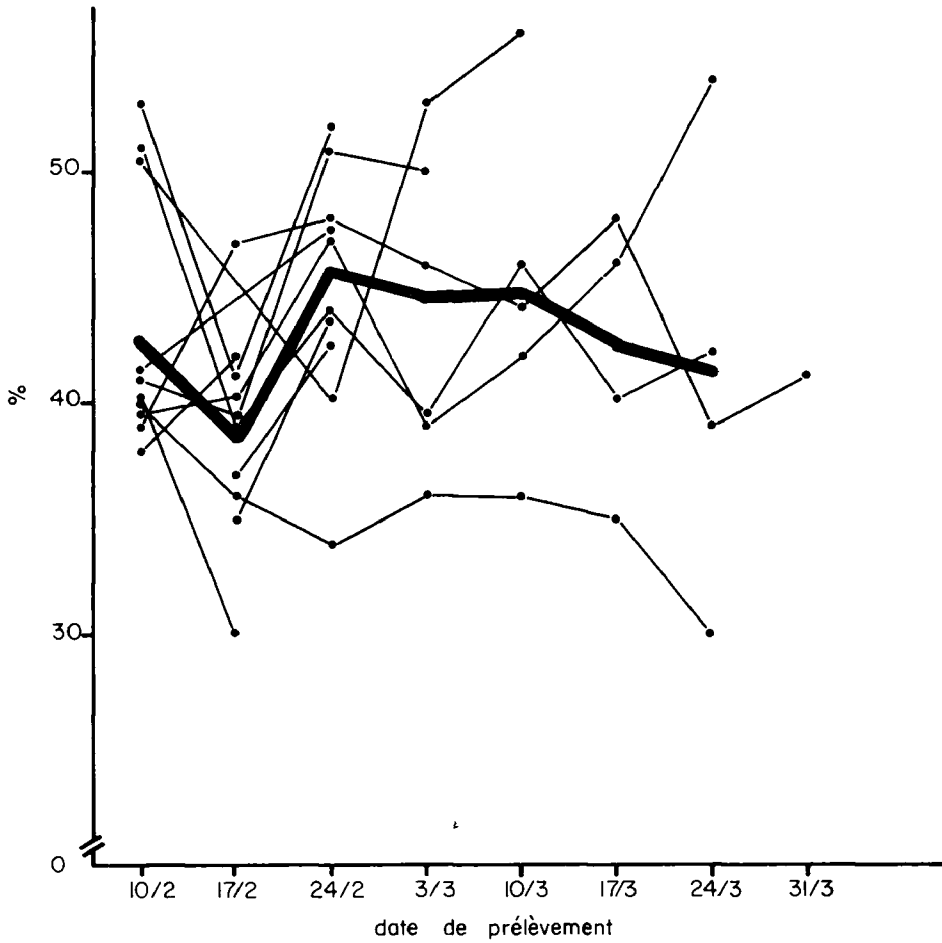


Figure 3 : Evolution de la concentration du sperme en spermatozoïdes mesurée par le spermatocrite chez le brochet.

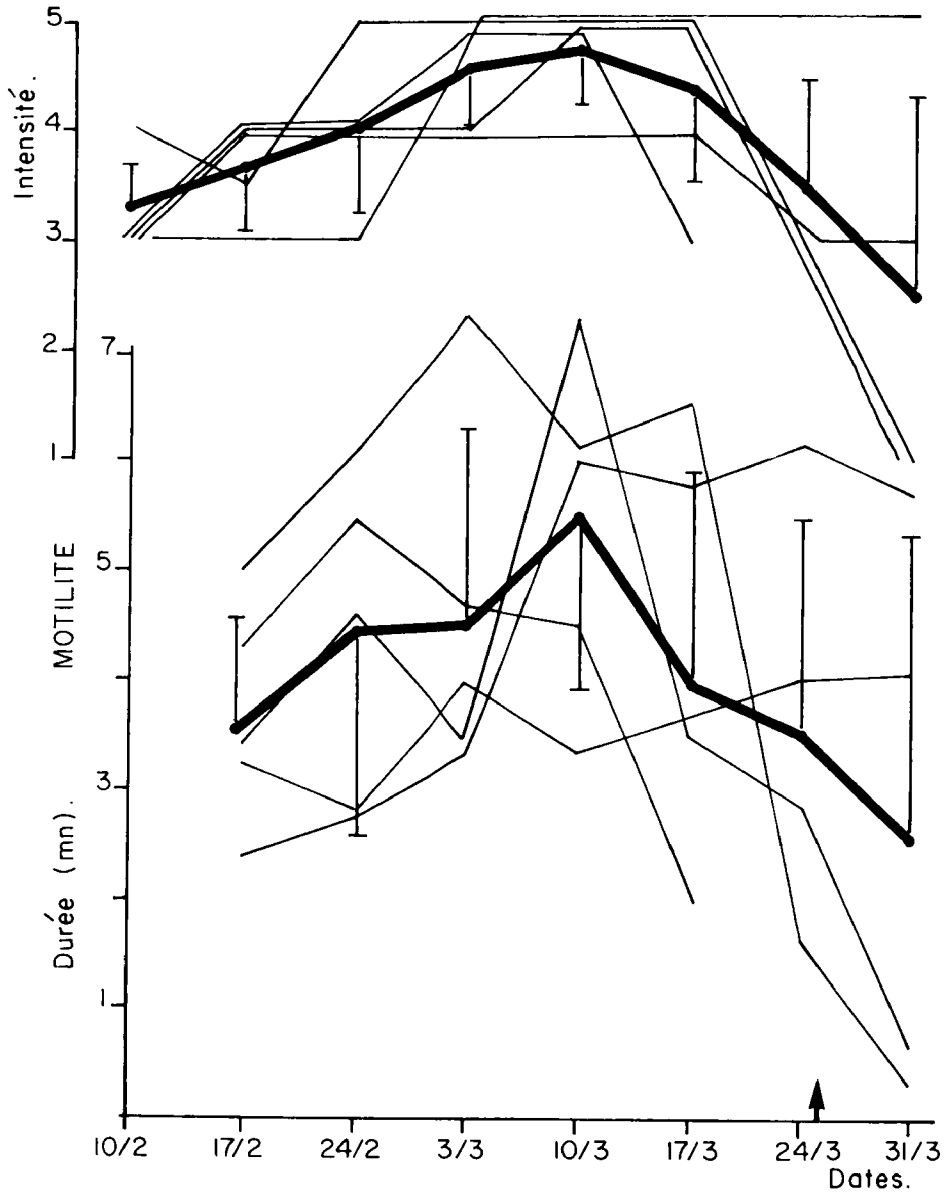


Figure 4 : Evolution de la durée de motilité du sperme de brochet au cours de la période de prélèvement. Seuls les mâles ayant produit du sperme pendant presque toute l'expérience ont été retenus. L'intensité est mesurée selon une échelle arbitraire (0 à 5). La flèche indique la date à laquelle les premières ovulations ont été observées chez la femelle.

DISCUSSION

Cette étude montre que la production et la qualité du sperme de brochet subissent une évolution marquée au cours de la période de 8 semaines qui recouvre à peu près la période où la spermiation est la plus intense. C'est au début de la deuxième partie de cette période que le volume de sperme et le nombre de spermatozoïdes émis sont les plus élevés. Au même moment et même légèrement plus tôt, on observe aussi les valeurs maximales pour l'intensité et la durée de motilité des spermatozoïdes après dilution. Paradoxalement, ces performances maximales sont observées avant que ne débute l'ovulation chez des femelles de même origine. Le décalage entre spermiation et ovulation fait l'objet d'observation courante de la part des ésoïculteurs, qu'il s'agisse de brochet originaire des eaux libres ou des eaux closes. Les données de cette étude tendent à confirmer ces observations de terrain et montrent en outre que ce décalage affecte aussi des paramètres plus qualitatifs comme l'intensité et la durée de la motilité des spermatozoïdes. Il convient cependant de discuter ces données. Dans le cas du mâle, la production et la qualité du sperme s'améliorent incontestablement après le début de la spermiation, comme cela a été observé chez les Salmonidés (SANCHEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 1978 ; BILLARD, non publié). Mais après plusieurs prélèvements, le brochet qui est extrêmement sensible aux manipulations et au confinement (au moins dans le cas de la femelle, DE MONTALEMBERT *et al.*, 1978 a et b, BRY *et al.*, 1978) pourrait être affecté par ces traitements (capture, anesthésie, manipulations) qui provoqueraient alors une baisse prématurée des performances de la spermiation. Les fortes mortalités observées chez les animaux montrent bien que les conditions expérimentales étaient défavorables. Dans le cas des femelles, il est possible que l'échantillonnage limité ne donne pas une idée exacte du moment où débute les ovulations dans le milieu naturel. En outre, les conditions stressantes de capture, les manipulations fréquentes et la semi-séparation des sexes peuvent avoir contribué à retarder les ovulations des femelles captives. Il n'en reste pas moins que les conditions de cette expérience représentent celles souvent mises en œuvre pour la reproduction artificielle du brochet et les faits observés doivent retenir notre attention en vue d'une bonne gestion du stock des reproducteurs. C'est donc moins en regard du problème général de la biologie du brochet dans un environnement naturel que de celui de la reproduction en éclosérie qu'il faut considérer ces résultats.

Il faut tout d'abord examiner le rendement de la spermiation. Dans le cas le plus favorable, le nombre total de spermatozoïdes collectés n'a pas excédé $250 \cdot 10^9$ (soit $205 \cdot 10^6$ par g de poids corporel). La quantité moyenne de spermatozoïdes récoltés est de $195 \cdot 10^9$ /kg de poids vif pour les 7 mâles qui ont survécu pendant toute la durée de l'expérience, avec des extrêmes importants : 27 et $712 \cdot 10^9$ (tableau 2). Les quantités récoltées ne sont pas plus élevées chez les petits mâles que chez les gros, contrairement à ce que ROTH (1960) a signalé. Pour comparaison, on dispose de quelques informations chez les Salmonidés où le nombre total de spermatozoïdes récoltés est de $438 \cdot 10^9$ par kg de poids corporel chez le jeune mâle de truite arc-en-ciel (BILLARD, 1974) et $370 \cdot 10^9$ chez le mâle plus âgé (BILLARD *et al.*, 1971). TURDAKOV (1968) rapporte des valeurs individuelles plus élevées pour des truites sauvages (906 à $1\,424 \cdot 10^9$). Chez les corégones où les quantités récoltées sont réputées plus faibles (PROKES, 1975), les données de HOCHMAN *et al.* (1974) font état de 40 à $70 \cdot 10^9$ de spermatozoïdes/kg, ce qui reste inférieur aux performances enregistrées dans la présente expérience sur le brochet. On peut se demander si les quantités de

spermatozoïdes récoltés n'ont pas été évaluées ici par défaut, en particulier du fait d'émissions non contrôlées de sperme. Les mâles ayant été stockés en l'absence de femelles, il est exclu qu'une émission liée à un comportement reproducteur se soit produite. Des émissions spontanées de sperme ont déjà été suggérées dans le cas de la truite par TURDAKOV (1968). Des possibilités de stimulations liées à des substances de type phéromones sexuelles émises par des femelles présentes dans la rivière ou les canaux alimentant les étangs ne sont pas à exclure, mais, toujours d'après les résultats de TURDAKOV (1968) chez la truite, de telles stimulations augmentent au contraire la quantité de spermatozoïdes récoltés et seraient par conséquent plus de nature à stimuler la spermiation que « l'éjaculation ».

On doit cependant admettre que le rendement de la spermiation reste faible, car après la période de reproduction, alors qu'aucune émission de sperme n'est décelable, il subsiste des quantités importantes de spermatozoïdes dans les testicules. On sait que chez le brochet, la production spermatogénétique totale est de beaucoup supérieure à la quantité récoltée. Cette production est de l'ordre de 4.10^{12} spermatozoïdes pour un mâle de 1 kg, soit 4.10^9 /g de poids corporel (MARCEL *et al.*, non publié). Il apparaît donc qu'une partie seulement, de l'ordre de 5 %, est libérée au cours de la spermiation, les spermatozoïdes restants dans le testicule dégénèrent et sont résorbés par des macrophages et les cellules de sertoli comme chez la truite (BILLARD *et al.*, 1972). Le rendement de la spermiation établi chez la truite est de 50 % pour le jeune mâle (BILLARD, 1974) et de 20 % pour des mâles adultes (BILLARD *et al.*, 1971). Ces valeurs sont supérieures à celles rapportées ici pour le brochet. Les raisons d'un aussi mauvais rendement de la spermiation chez le brochet restent mal connues. Les plus vraisemblables résident dans une insuffisance de la sécrétion gonadotrope pouvant être liée à des conditions d'environnement défavorables, puisqu'un apport exogène de stéroïdes sexuels (DE MONTALEMBERT *et al.*, 1978 a) ou de GTH (MARCEL *et al.*, en préparation) stimule la spermiation.

La concentration du sperme en spermatozoïdes est relativement élevée chez le brochet, comme chez les téléostéens en général. La concentration moyenne sur les 13 mâles de la présente expérience est de 21,5 milliards par ml (extrêmes individuels 12 et $27 \cdot 10^9$). Chez les salmonidés, la littérature fait état de concentration de 10 à $20 \cdot 10^9$ spermatozoïdes/ml pour diverses espèces de saumon pacifique (SMIRNOV, 1963), et 10 - $30 \cdot 10^9$ pour le saumon atlantique (TRUSCOTT et IDLER, 1960) et de 8 à $15 \cdot 10^9$ pour la truite (SCHLENK et KAHMANN, 1938 ; BRATANOV et DIKOV, 1961 ; GINSBURG, 1963 ; HAMOR, 1966 ; TURDAKOV, 1968 ; BILLARD *et al.*, 1961 ; BILLARD, 1974). Chez le corégone, HOCHMAN *et al.*, (1974) rapportent des concentrations de $7 \cdot 10^9$ spermatozoïdes/ml (extrêmes $2,4$ et $14,2 \cdot 10^9$) et chez le hotu, PROKES et PENAZ (1974) dénombrent $10,4 \cdot 10^9$ spermatozoïdes/ml. Dans le testicule, la concentration en spermatozoïdes est encore plus élevée : de l'ordre de $40 \cdot 10^9$ /g chez le brochet (MARCEL *et al.*, non publié), 60 à $40 \cdot 10^9$ chez la truite arc-en-ciel (BILLARD *et al.*, 1971) et $7,1 \cdot 10^9$ chez le poisson chat *Ictalurus* (GUEST *et al.*, 1976).

La durée de motilité du sperme de brochet est relativement longue ; elle peut dépasser 5 minutes après dilution dans une solution physiologique, mais n'excède pas 0,5 à 1 mn dans l'eau douce (BILLARD, 1978). Chez les salmonidés, elle est plus brève dans des solutions physiologiques : 0,5 à 2 mn et 0,25 à 0,5 mn dans de l'eau douce (HOCHMAN, 1966 ; BILLARD, 1978)

Des variations quantitatives et qualitatives dans la production de sperme ont été rapportées au cours de la période de spermiation dans plusieurs espèces :

corégone (HOCHMAN et PENAZ, 1970 ; HOCHMAN et al., 1974), truite (CHEMAYEL, 1975), loup (BILLARD et al., 1977). L'ensemble de ces résultats montre que le sperme évolue pendant la période de reproduction et qu'il faut tenir compte des variations qualitatives pour décider du taux de dilution à appliquer lors de l'insémination. Il n'existe cependant pas d'études mettant en parallèle la diminution qualitative du sperme et une réduction du pourcentage de fécondation ou d'éclosion des alevins. Il est d'ailleurs possible que dans les conditions naturelles, l'excès de spermatozoïdes mis en œuvre lors de l'insémination compense une diminution de qualité comme cela a été observé *in vitro* pour la truite (CARPENTIER et BILLARD, 1978). Il n'existe pas non plus d'études sur le rendement de la spermiation dans les conditions naturelles et on ne sait pas si la quantité de sperme libéré au cours des fraies d'une même saison est supérieure à celle recueillie manuellement.

Dans le cas du brochet, il reste à vérifier si les changements de motilité observés s'accompagnent de modifications du pouvoir fécondant au cours de la saison de reproduction. Il conviendrait aussi de rechercher si divers traitements hormonaux (gonadotropines et stéroïdes) sont susceptibles de prolonger la durée pendant laquelle les mâles produisent du sperme afin d'améliorer le rendement de la spermiation et de mettre en correspondance les périodes de spermiation et d'ovulation.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été pris en charge par le Conseil Supérieur de la Pêche. Nous remercions vivement le Directeur de la Pisciculture du Paraclet, M. CAVITTE, qui a bien voulu nous procurer le matériel animal et mettre à notre disposition les facilités expérimentales de l'établissement. Nous remercions aussi M. DEBRUILLE pour l'aide considérable apportée au cours de l'expérience. Nous remercions également M. BRY pour la lecture critique du manuscrit.

RESUME

L'évolution quantitative et qualitative de la production de sperme au cours de la période de spermiation a été étudiée chez des brochets maintenus en captivité dans un étang de 400 m². Le sperme est prélevé toutes les semaines à partir du début de février, et pendant près de 2 mois. La quantité de sperme recueillie est très faible et présente de fortes variations individuelles ; elle augmente progressivement jusqu'à la 5^{me} semaine et décroît ensuite. La quantité moyenne de sperme récoltée par mâle est de l'ordre de 0,7 ml/semaine et varie considérablement d'un mâle à l'autre (0,07 à 1,5 ml). La concentration du sperme en spermatozoïdes varie entre 18 et 25 milliards par ml ($\bar{x} = 21,5 \cdot 10^9 \pm 2,11$). La quantité de spermatozoïdes récoltée par semaine est de $28,5 \cdot 10^9 \pm 26,4$ kg de poids corporel. La qualité du sperme appréciée par l'intensité et la durée de motilité suit une évolution similaire à celle de la quantité de sperme récoltée avec des valeurs maximales à 4 semaines et minimales en début et fin de période de prélèvement. Les premières ovulations détectées sur des femelles stockées dans les mêmes conditions que les mâles ont été observées à la 6^{me} semaine de prélèvements alors que les performances de spermiation avaient déjà fortement déclinées. Il est vraisemblable que les conditions expérimentales particulièrement traumatisantes pour

les mâles ont affecté prématurément la spermiation, amplifiant ainsi le décalage fréquemment observé entre les périodes de spermiation et d'ovulation.

SUMMARY

The quantitative and qualitative evolution of sperm release during the spermiation period has been studied in pike that were kept in captivity in a 400 m² pond. Sperm was collected every week from the start of spermiation and over a period of two months. The sperm quantity gathered is very small and shows strong individual variations. It gradually increases until the fifth week and then decreases. The average quantity of sperm collected per male is of about 0.7 ml/week and varies with the large variation between males (extreme varies between 18 and 25 billions per ml ($\bar{x} = 21.5 \cdot 10^9 \pm 2.11$). The number of spermatozoa collected each week is $28.5 \cdot 10^6 \pm 26.4$ per kg of body weight. The quality of the sperm, estimated by activity and motility length follows a similar evolution to that of total quantity of sperm gathered with peak values after about four weeks, and lower quantities at the beginning and end of collecting periods. The first ovulations concerning females kept in the same conditions as males were noticed 6 weeks after the beginning of the experiment, whereas by that time the spermiation rate among the males has already substantially declined. It is likely that the particularly stressing experimental conditions for the males have prematurely affected spermiation, thus increasing the difference in time between the occurrence of the spermiation and the ovulation periods.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BILLARD R., 1974. La production spermatogénétique de la truite arc-en-ciel au cours du premier cycle reproducteur. Bull. Fr. Pisc., 253, 139-149.
- BILLARD R., 1977. Utilisation du système Tris-glycocolle pour tamponner le dilueur d'insémination pour truite. Bull. Fr. Pisc., 264, 102-112.
- BILLARD R., 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and fresh-water fish spermatozoa diluted in media of various salinities. Aquaculture, 14, 187-198.
- BILLARD R., BRETON B., JALABERT B., 1971. La production spermatogénétique de la truite. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 11, 190-212.
- BILLARD R., JALABERT B., BRETON B., 1972. Les cellules de sertoli des poissons téléostéens. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 12, 19-32.
- BILLARD R., DEBRUILLE M., GERARD J.P., de MONTALEMBERT G., 1976. L'insémination artificielle du brochet Bull. Fr. Pisc., 262, 30-34.
- BILLARD R., DUPONT J., BARNABE G., 1977. Diminution de la motilité et de la durée de conservation du sperme de *Dicentrachus labrax* L. (poisson téléostéen) pendant la période de spermiation. Aquaculture, 11, 363-367.
- BRATANOV C., DIKOV V., 1961. Sur certaines particularités du sperme chez les poissons. Proc. IVth Intern. Congr. Anim. Reprod., The Hague, 895-897.

- BRY C., BILLARD R., de MONTALEMBERT G., 1978. Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation par traitement hormonal chez le brochet (*Esox lucius*). Bull. Fr. Pisc., 271, 21-32.
- CHEMAYEL M., 1975. Etude de la variabilité du pouvoir fécondant du sperme en relation avec ses caractéristiques chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.). Thèse 3^e cycle, Univ. Paris VI, 52 pp.
- CARPENTIER P., BILLARD R., 1978. Conservation à court terme des gamètes de salmonidés à des températures voisines de 0°C. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 18, 1083-1088.
- GINSBURG A.S., 1963. Sperm-egg association and its relationship to the activation of the egg in Salmonid fishes. J. Embryol. exp. Morph., 11, 13-33.
- GUEST W.C., AVAULT J.W. Jr., ROUSSEL J.D., 1976. A spermatology study of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Trans. Am. Fish. Soc., 105, 63-468.
- HAMOR T., 1966. A study of the genital product of the brown trout (*Salmo trutta* L.) and the rainbow trout (*Salmo irideus* Gibbons) (en hongrois). Allatt. Kozl. Magyar, 43, 63-68.
- HOCHMAN L., 1966. Reproductive properties of *Coregonus lavaretus maraena* (Bloch) in pond culture. Sb. Vyo. Skoly Zem. V Brne, 150, 453-468.
- HOCHMAN L., PENAZ M., 1970. The volume of milt and vitality of sperms in *Coregonus lavaretus maraena* (Block) from pond culture. Zool. listy, 19, 281-292.
- HOCHMAN L., PENAZ M., PROKES M., 1974. The volume of milt, quantity and quality of sperm in *Coregonus peled* (Gmelin, 1788) from pond culture. Zool. Listy, 23, 367-380.
- de MONTALEMBERT G., BRY C., BILLARD R., 1978 a. Control of reproduction in Northern Pike. Am. Fish. Soc. Spec. Publ., 11, 217-225.
- de MONTALEMBERT G., JALABERT B., BRY C., 1978 b. Precocious induction of maturation and ovulation in northern pike (*Esox lucius*). Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 18, 969-975.
- PROKES M., 1975. Hand-stripping and embryonic development of *Coregonus peled* (Gmelin 1788). Zool. Listy, 24, 185-196.
- PROKES M., PENAZ M., 1974. Characteristics of male sexual products in *Chondrostoma nasus* (Linnaeus, 1758) from the Oslava river. Zool. Listy, 23, 175-183.
- ROTH H., 1960. Die Fortpflanzung des Hechtes und die Entwicklung der Brut. Schweiz. Fischerei-Zeitung, 68, 214-216, 239-243.
- SANCHEZ-RODRIGUEZ M., BILLARD R., 1977. Conservation de la motilité et du pouvoir fécondant du sperme de truite arc-en-ciel maintenu à des températures voisines de 0°C. Bull. Fr. Pisc., 265, 143-152.
- SANCHEZ-RODRIGUEZ M., ESCAFFRE A.M., MARLOT S., REINAUD P., 1978. The spermiation period in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Plasma gonadotropin and androgen levels, sperm production and biochemical changes in the seminal fluid. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 18, 943-948.

- SCHLENK W., KAHMANN H., 1937. Reaktionskinetische Untersuchung der bewegung der forellenspermatozoen. Z. Veryl. Physiol., 24, 518-531.
- SMIRNOV A.J., 1963. Production de sperme dans le genre *Oncorhynchus* (en russe) Vopr. Ichtyol., 3, 84-98.
- TRUSCOTT B.R., IDLER D.R., 1969. An improved extender for freezing Atlantic salmon spermatozoa. J. Fish. Res. Bd. Can., 26, 3254-3258.
- TURDAKOV A.F., 1968. Production of sperm by the males of Issyk Kuli trout. Vopr. Ichtyol., 8, 253-265.