

53
INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
PARIS-GRIGNON

BA_TH 358
CIRAD-EMVT
GAMET

THESE

Présentée par

Philippe CACOT

Pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

**ETUDE DU CYCLE SEXUEL ET MAITRISE DE LA REPRODUCTION
DE *Pangasius bocourti* (SAUVAGE, 1880) et *Pangasius hypophthalmus*
(SAUVAGE, 1878) DANS LE DELTA DU MEKONG AU VIET-NAM**

Soutenue le 1^{er} juillet 1999

Devant le jury composé de :

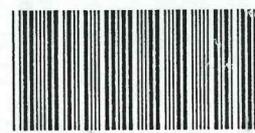
Roland BILLARD
Julien COLEOU
Bernard JALABERT
Jérôme LAZARD
Marc LEGENDRE
Catherine MARIOJOULS

Professeur, MNHM
Professeur Emérite, INA P-G
Directeur de Recherche, INRA
Directeur Unité Aquaculture, CIRAD-EMVT
Directeur de Recherche, IRD
Maître de Conférences, INA P-G

Rapporteur

Rapporteur

CIRAD
Dist-Unité Bibliothèque
Baillarguet



TH03334

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
PARIS-GRIGNON

CIRAD-EMVT
GAMET

THESE

Présentée par

Philippe CACOT

Pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

**ETUDE DU CYCLE SEXUEL ET MAITRISE DE LA REPRODUCTION
DE *Pangasius bocourti* (SAUVAGE, 1880) et *Pangasius hypophthalmus*
(SAUVAGE, 1878) DANS LE DELTA DU MEKONG AU VIET-NAM**

Soutenue le 1^{er} juillet 1999

Devant le jury composé de :

Roland BILLARD

Julien COLEOU

Bernard JALABERT

Jérôme LAZARD

Marc LEGENDRE

Catherine MARIOJOULS

Professeur, MNHM

Professeur Emérite, INA P-G

Directeur de Recherche, INRA

Directeur Unité Aquaculture, CIRAD-EMVT

Directeur de Recherche, IRD

Maître de Conférences, INA P-G

Rapporteur

Rapporteur

CIRAD
Dist-Unité Bibliothèque
Baillarguet

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS.....	10
INTRODUCTION	13
CHAPITRE 1 : INTÉRÊT AQUACOLE DE <i>P. BOCOURTI</i> ET <i>P. HYPOPHTHALMUS</i> ET ENJEUX DES RECHERCHES POUR LA MAÎTRISE DE LEUR REPRODUCTION	16
1.1. Présentation des espèces.....	17
1.1.1. Identification des espèces.....	17
1.1.1.1. <i>Classification et appellations</i>	17
1.1.1.2. <i>Principaux critères d'identification</i>	17
1.1.2. Distribution géographique.....	21
1.1.3. Caractéristiques biologiques d'intérêt aquacole	21
1.1.3.1. <i>Croissance rapide</i>	21
1.1.3.2. <i>Régime alimentaire omnivore</i>	22
1.1.3.3. <i>Tolérance vis à vis de la qualité de l'eau</i>	22
1.1.3.4. <i>Qualité de la chair</i>	23
1.2. Production des deux espèces dans le Sud Viêt-Nam.....	25
1.2.1. Présentation de l'aquaculture au Viêt-Nam	25
1.2.2. La production de <i>P. hypophthalmus</i> en étangs	25
1.2.2.1. <i>La pisciculture intégrée dans le delta du Mékong</i>	25
1.2.2.2. <i>Les espèces élevées</i>	27
1.2.2.3. <i>Performances et limites de la production de <i>P. hypophthalmus</i></i>	27
1.2.3. La production de <i>P. bocourti</i> en cages flottantes.....	29
1.2.3.1. <i>Historique de la pisciculture vietnamienne en cages flottantes</i>	29
1.2.3.2. <i>Principe de la pisciculture en cages flottantes</i>	30
1.2.3.3. <i>Performances de la production de <i>P. bocourti</i></i>	32
1.2.4. Approvisionnement en alevins de Pangasiidae.....	34
1.3. Reproduction des poissons en élevage	36
1.3.1. Bases biologiques de la reproduction chez les poissons	36
1.3.1.1. <i>Justification de la reproduction contrôlée</i>	36
1.3.1.2. <i>Les différentes modalités de la reproduction contrôlée</i>	36
1.3.1.3. <i>Contrôle endocrinien de la reproduction</i>	38
1.3.1.4. <i>Induction hormonale de la reproduction</i>	40

1.3.2. Etat des recherches chez les Pangasiidae.....	42
1.3.2.1. Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation.....	42
1.3.2.2. Induction de la spermiation et gestion du sperme.....	43

CHAPITRE 2 : POISSONS GÉNITEURS ET CONDITIONS D'ÉLEVAGE.....44

2.1. Améliorations apportées à l'élevage des poissons géniteurs.....	45
2.1.1. Bilan des pratiques locales en 1994.....	45
2.1.2. Vers une meilleure gestion du stock de poissons géniteurs.....	45
2.2. Elevage des poissons géniteurs en étangs.....	48
2.2.1. Description des poissons géniteurs.....	48
2.2.1.1. Origine des différents lots de poissons.....	48
2.2.1.2. Données biométriques.....	50
2.2.2. Structures d'élevage.....	50
2.2.2.1. Les étangs.....	50
2.2.2.2. Empoisonnement des étangs.....	52
2.2.3. Alimentation des poissons géniteurs.....	56
2.2.3.1. Les aliments composés.....	56
2.2.3.2. Les matières premières.....	56
2.2.3.3. Modes de préparation de l'aliment.....	59
2.2.3.4. Les apports nutritionnels.....	61
2.2.4. Suivi du stock de géniteurs.....	63
2.2.4.1. Marquage individuel des poissons.....	63
2.2.4.2. Déroulement d'un inventaire.....	63
2.2.4.3. Fréquence des inventaires.....	64
2.2.5. Données climatiques.....	66
2.2.5.1. Photopériode.....	66
2.2.5.2. Pluviométrie à Can-Tho.....	66
2.2.5.3. Température de l'air ambiant.....	66
2.2.6. Physico-chimie de l'eau des étangs.....	66
2.2.6.1. Température de l'eau.....	66
2.2.6.2. Transparence de l'eau.....	68
2.2.6.3. Teneur en oxygène dissous.....	68
2.2.6.4. Mesures de pH.....	70
2.2.6.5. Mesures du potentiel d'oxydo-réduction.....	70
2.2.7. Synthèse des évolutions hydrologiques saisonnières en étangs.....	73

2.3. Elevage des poissons géniteurs en cages flottantes	75
2.3.1. Description de l'élevage.....	75
2.3.1.1. <i>Les poissons géniteurs</i>	75
2.3.1.2. <i>Structures d'élevage</i>	75
2.3.1.3. <i>Alimentation des poissons géniteurs</i>	77
2.3.1.4. <i>Suivi du stock de poissons géniteurs</i>	77
2.3.2. Caractéristiques de l'environnement à Chau-Dôc et comparaison avec celles de Can-Tho.....	79
2.3.2.1. <i>Pluviométrie à Chau-Dôc</i>	79
2.3.2.2. <i>Débit du Mékong</i>	79
2.3.2.3. <i>Température de l'eau</i>	83
2.3.2.4. <i>Transparence de l'eau</i>	85
2.3.2.5. <i>Concentration en oxygène dissous</i>	85
2.3.2.6. <i>Synthèse des évolutions hydrologiques saisonnières en cages flottantes</i>	88
<u>CHAPITRE 3 : ETUDE DES VARIATIONS SAISONNIÈRES DE L'ACTIVITÉ SEXUELLE</u>	<u>89</u>
3.1. Intérêt du suivi de la maturation gonadique.....	90
3.2. Techniques employées	91
3.2.1. Mesure des échantillons d'ovocytes	91
3.2.2. Conservation des échantillons d'ovocytes	93
3.2.3. Suivi de la spermiation des poissons mâles	93
3.3. Maturation gonadique de <i>P. bocourti</i> élevés en étangs.....	95
3.3.1. Maturation gonadique des femelles de <i>P. bocourti</i>	95
3.3.1.1. <i>Maturation gonadique de l'ensemble des femelles</i>	95
3.3.1.2. <i>Maturation gonadique de chaque femelle</i>	95
3.3.2. Maturation gonadique des mâles de <i>P. bocourti</i>	97
3.3.2.1. <i>Proportion de mâles spermiantes dans le stock de géniteurs</i>	97
3.3.2.2. <i>Durée de la spermiation de chaque géniteur mâle</i>	97
3.3.2.3. <i>Relation entre la maturation gonadique des mâles et celle des femelles</i>	99

3.3.3. Cycle sexuel et facteurs de l'environnement	99
3.3.3.1. Relation avec la température de l'eau	99
3.3.3.2. Relation avec la transparence de l'eau.....	103
3.3.3.3. Relation avec la pluviométrie.....	103
3.3.3.4. Relation avec la photopériode.....	103
3.4. Maturation gonadique de <i>P. bocourti</i> élevés en cages flottantes	106
3.4.1. Le caractère saisonnier de la reproduction.....	106
3.4.2. Comparaison de la maturation gonadique entre les deux milieux d'élevage.....	108
3.5. Maturation gonadique de <i>P. hypophthalmus</i> élevés en étangs.....	110
3.5.1. Maturation gonadique des femelles de <i>P. hypophthalmus</i>	110
3.5.1.1. Maturation gonadique de l'ensemble des femelles	110
3.5.1.2. Maturation gonadique de chaque femelle.....	112
3.5.2. Maturation gonadique des mâles de <i>P. hypophthalmus</i>	112
3.5.2.1. Proportion de mâles spermiantes dans le stock de géniteurs	112
3.5.2.2. Durée de la spermiation de chaque géniteur mâle.....	114
3.5.2.3. Relation entre la maturation gonadique des mâles et celle des femelles.....	114
3.5.3. Cycle sexuel et facteurs de l'environnement	114
3.5.3.1. Relation avec la température de l'eau	114
3.5.3.2. Relation avec la transparence de l'eau.....	116
3.5.3.3. Relation avec la pluviométrie.....	116
3.5.3.4. Relation avec la photopériode.....	116
3.6. Maturation gonadique de <i>P. hypophthalmus</i> élevés en cages flottantes	119
3.6.1. Le caractère saisonnier de la reproduction.....	119
3.6.2. Comparaison de la maturation gonadique entre les deux milieux d'élevage.....	121

CHAPITRE 4 : MISE AU POINT DE LA REPRODUCTION ARTIFICIELLE123

4.1. Le déroulement des recherches	124
4.2. Techniques employées	125
4.2.1. Manipulation et traitement des poissons géniteurs	125
4.2.1.1. <i>Manipulation des poissons géniteurs femelles</i>	125
4.2.1.2. <i>Manipulation des poissons géniteurs mâles</i>	125
4.2.1.3. <i>Les bacs de stockage des poissons durant les traitements</i>	126
4.2.1.4. <i>Injection des hormones</i>	126
4.2.2. Nature des hormones employées.....	126
4.2.2.1. <i>Les extraits hypophysaires</i>	126
4.2.2.2. <i>Le GnRHa associé à un anti-dopaminergique</i>	126
4.2.2.3. <i>L'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG)</i>	127
4.2.3. Gestion du sperme collecté	127
4.2.3.1. <i>Conservation du sperme</i>	127
4.2.3.2. <i>Mesure de la concentration en spermatozoïdes</i>	129
4.2.3.3. <i>Observation de la motilité des spermatozoïdes</i>	129
4.2.4. Evaluation de la fécondation et de la qualité des œufs et des larves	131
4.2.4.1. <i>Description des tests de fécondation</i>	131
4.2.4.2. <i>Calcul des taux de fécondation, d'éclosion et de larves normales</i>	131
4.3. Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation chez les femelles de <i>P. bocourti</i>.....	133
4.3.1. La première reproduction de <i>P. bocourti</i>	133
4.3.2. Mise au point d'un traitement progressif à l'hCG sur les femelles élevées en étangs.....	137
4.3.2.1. <i>Description du traitement</i>	137
4.3.2.2. <i>Effet du traitement sur la taille des ovocytes</i>	137
4.3.2.3. <i>Facteurs déterminant le résultat du traitement hormonal</i>	141
4.3.2.4. <i>Les poissons témoins</i>	143
4.3.2.5. <i>Le processus de maturation ovocytaire</i>	143
4.3.3. Application du traitement aux femelles élevées en cages flottantes.....	145

4.4. Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation chez les femelles de <i>P. hypophthalmus</i>	150
4.4.1. Mise au point de traitements à l'hCG sur les poissons élevés en étangs	150
4.4.1.1. <i>Description des traitements</i>	150
4.4.1.2. <i>Effet des traitements sur la taille des ovocytes</i>	150
4.4.1.3. <i>Facteurs déterminant le résultat des traitements</i>	154
4.4.1.4. <i>Le processus de maturation ovocytaire</i>	154
4.4.2. Application des traitements aux poissons élevés en cages flottantes.....	156
4.4.2.1. <i>Description des traitements et résultats obtenus</i>	156
4.4.2.2. <i>Le processus de maturation ovocytaire</i>	156
4.4.3. Détermination de la durée de survie des ovules <i>in vivo</i>	160
4.4.3.1. <i>Matériel et méthodes spécifiques</i>	160
4.4.3.2. <i>Résultats</i>	160
4.5. La fécondité de <i>P. bocourti</i> et de <i>P. hypophthalmus</i>	167
4.5.1. Fécondité relative dans les deux milieux d'élevage.....	167
4.5.2. Facteurs déterminants la fécondité.....	167
4.5.2.1. <i>L'influence des traitements hormonaux</i>	167
4.5.2.2. <i>L'influence de la morphologie des poissons</i>	169
4.5.2.3. <i>Influence de la composition corporelle chez <i>P. bocourti</i></i>	169
4.5.3. Le cas des pontes multiples.....	173
4.5.3.1. <i>Fréquence des secondes pontes</i>	173
4.5.3.2. <i>Fécondité des secondes pontes</i>	173
4.5.3.3. <i>Autres observations</i>	173
4.6. Etude de la fonction reproductrice mâle	177
4.6.1. Induction de la spermiation chez les poissons mâles élevés en cages flottantes	177
4.6.1.1. <i>Matériel et méthodes spécifiques</i>	177
4.6.1.2. <i>Traitement de <i>P. bocourti</i> avec l'hCG ou le GnRHα associé au dompéridone</i>	177
4.6.1.3. <i>Traitement de <i>P. hypophthalmus</i> avec l'hCG et comparaison avec <i>P. bocourti</i></i>	179
4.6.1.4. <i>Relation entre le volume de sperme collecté et la concentration en spermatozoïdes</i>	181
4.6.2. Observation de la motilité des spermatozoïdes.....	181

4.6.3. Conservation du sperme à l'état frais.....	185
4.6.3.1. Salinité de la solution d'immobilisation du sperme de <i>P. hypophthalmus</i>	185
4.6.3.2. Taux de dilution du sperme de <i>P. hypophthalmus</i> dans la solution d'immobilisation.....	185
4.6.3.3. Durée de conservation du sperme de <i>P. hypophthalmus</i>	187
4.6.3.4. Durée de conservation du sperme de <i>P. bocourti</i>	187
4.7. Optimisation des conditions de fécondation et d'incubation.....	190
4.7.1. Conditions de fécondation	190
4.7.1.1. Dilution du sperme de <i>P. hypophthalmus</i> dans la solution d'activation.....	190
4.7.1.2. Dilution du sperme de <i>P. bocourti</i> dans la solution d'activation	190
4.7.1.3. Salinité de la solution d'activation du sperme de <i>P. hypophthalmus</i>	192
4.7.1.4. Salinité de la solution d'activation du sperme de <i>P. bocourti</i>	192
4.7.1.5. Effet de la pollution aqueuse sur la fécondabilité des ovules de <i>P. hypophthalmus</i>	194
4.7.2. Développement des embryons et des larves	196
4.7.2.1. Développement embryonnaire.....	196
4.7.2.2. Développement larvaire	196
4.7.3. Gestion des gamètes en conditions de production	198
4.7.3.1. Modalités de fécondation	198
4.7.3.2. Incubation des œufs sur claies en filet.....	198
4.7.3.3. Incubation des œufs en bouteilles de Zoug.....	198
<u>CHAPITRE 5 : DISCUSSION DES RÉSULTATS.....</u>	<u>201</u>
5.1. Caractéristiques des poissons géniteurs	202
5.1.1. Dimorphisme sexuel	202
5.1.2. Age à la première maturation sexuelle.....	202
5.2. Variations saisonnières de l'activité sexuelle	204
5.2.1. Développement des ovocytes.....	204
5.2.2. Spermiation des mâles	205
5.2.3. Influence des fluctuations de l'environnement sur la maturation gonadique	205

5.3. Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation.....	210
5.3.1. Choix des femelles matures	210
5.3.2. Traitement hormonal progressif adapté au stade de maturité	211
5.3.3. Traitement ovulatoire et taux d'ovulation obtenu.....	213
5.3.4. Le temps de latence.....	214
5.3.4.1. <i>Cinétique des processus de maturation ovocytaire et d'ovulation.....</i>	<i>214</i>
5.3.4.2. <i>Durée de survie des ovules in vivo</i>	<i>216</i>
5.3.4.3. <i>Influence de la température.....</i>	<i>217</i>
5.4. Variations de la fécondité.....	218
5.4.1. Influence du traitement hormonal.....	218
5.4.2. Influence des conditions d'élevage.....	218
5.4.3. Influence des fluctuations de l'environnement	219
5.4.4. Influence de la physiologie des poissons géniteurs	220
5.4.5. Rôle de l'alimentation des poissons géniteurs	221
5.4.6. Déterminisme génétique	222
5.4.6.1. <i>Variabilité intraspécifique.....</i>	<i>222</i>
5.4.6.2. <i>Différences interspécifiques</i>	<i>224</i>
5.4.6.3. <i>Stratégies de reproduction</i>	<i>224</i>
5.4.7. Qualité des gamètes et conditions d'élevage	225
5.5. Production spermatique.....	226
5.5.1. Choix des mâles pour la reproduction.....	226
5.5.2. Hétérogénéité de la spermiation.....	226
5.5.3. Comparaisons interspécifiques	228
5.5.4. Réponse aux traitements hormonaux	230
5.5.4.1. <i>Effets comparés de l'hCG et du GnRHα associé au dompéridone.....</i>	<i>230</i>
5.5.4.2. <i>Relation entre volume de sperme et concentration en spermatozoïdes..</i>	<i>231</i>
5.6. Gestion du sperme	233
5.6.1. Motilité des spermatozoïdes.....	233
5.6.2. Conservation du sperme.....	233

5.7. Conditions de fécondation.....	238
5.8. Caractéristiques des œufs.....	241
<u>CONCLUSION.....</u>	<u>242</u>
<u>ILLUSTRATIONS</u>	<u>244</u>
<u>RÉFÉRENCES.....</u>	<u>252</u>
<u>ANNEXES</u>	<u>262</u>

AVANT-PROPOS

Remerciements

Ce travail de recherche a été réalisé dans le cadre d'une coopération franco-vietnamienne, réunissant le CIRAD et l'IRD (ex. ORSTOM) du côté français, et, du côté vietnamien, l'Université de Can Tho et l'entreprise AGIFISH (An Giang Fisheries Co.). Ont également participé de façon active l'INAP-G et l'ENSAR, en France, et le Collège d'Agriculture et de Foresterie au Viêt-Nam. Ces recherches ont reçu le soutien financier du Ministère des Affaires étrangères et de la Communauté Européenne.

Je remercie chaleureusement Jérôme Lazard, Marc Legendre, Catherine Mariojouis et Julien Coléou pour l'aide qu'il m'ont apportée durant toute la durée de mon travail, accompagnant mes premiers pas sur le terrain et guidant les suivants avec une attention constante. Merci également à M. Pierre-Charles Lefèvre, alors directeur du département EMVT au CIRAD, pour son soutien apporté au projet.

MM. Roland Billard et Bernard Jalabert ont été de bon conseil durant mes recherches et ils ont aussi prêté leurs compétences à l'évaluation du travail réalisé. Je leur adresse toute ma reconnaissance.

Les portes de l'aquaculture vietnamienne m'ont été ouvertes par le Pr. Luu Trong Hieu, responsable des relations internationales à l'Université d'Agronomie et de Foresterie, à qui je témoigne toute ma reconnaissance. Je tiens à remercier le Pr. Tran Thuong Tuan, recteur de l'Université de Can Tho, et M. Ngo Phuoc Hau, directeur de l'entreprise AGIFISH, pour leur accueil respectif et leur engagement personnel dans cette coopération. Merci également à tous les membres de ces universités et de cette entreprise, responsables locaux, chercheurs, ingénieurs et techniciens qui ont participé aux recherches. Je pense notamment à M. Le Thanh Hung qui fût mon premier guide sur les cages flottantes puis mon compagnon de thèse. Merci pour ton soutien dynamique. Toute ma gratitude va à MM. Tran Quoc Dan, Dua, Ngay, Nguyen Van Thuy, Le Thanh Tung, Nguyen Huy Hoang, Do Thanh Muon, Pham Thanh Liêm et Mmes Tran Thi Lam Loan et Trieu. Nous avons partagé le quotidien du projet et la sympathie de ces collègues fut aussi précieuse que leur compétence technique.

Merci également à Marc Campet et à Philippe Eeckhoutte que j'ai eu le plaisir d'encadrer au cours de leurs stages. Leur travaux respectifs ont largement contribué à l'avancement des recherches présentées. Bon courage à toi Marc pour ta thèse.

L'accueil de Philippe Godon, délégué du CIRAD au Viêt-Nam, fût précieux, de même que le soutien de Stéphane Dovert, conseiller culturel et scientifique au Consulat Général de France à Hô-Chi-Minh Ville. Je leur en suis chaleureusement reconnaissant.

Merci enfin aux collègues du GAMET qui, toujours dans la bonne humeur, m'ont rendu d'innombrables services lors de mes séjours à Montpellier et de mes préparatifs de départ. Merci en particulier à Brigitte Bournier pour son dévouement et sa gentillesse.

Ce travail est dédié à Isabelle et à nos enfants, Guillaume et Mathieu. Que nos parents respectifs et nos proches trouvent ici l'expression de ma plus profonde gratitude pour leur soutien et leurs encouragements.

Présentation du document

- Les poissons-chats sont nommés par leur nom scientifique uniquement (*Clarias macrocephalus*, *Ictalurus punctatus*, ...). Les autres poissons sont nommés par leur nom français abrégé suivi de leur nom scientifique (carpe *Cyprinus carpio*, truite *Onchorynchus mykiss*, ...).
- Les données présentées dans les tableaux indiquent généralement, pour chaque variable numérique, la valeur moyenne avec l'écart type associé et les valeurs minimale et maximale de la distribution. Par exemple : $38,3 \pm 8,3 \%$ [24,5 ; 51,2].
- Les graphiques représentent les valeurs moyennes avec l'écart type associé (barres de variations). Néanmoins, lorsque la variabilité est très importante (coefficient de variation¹ > 50 %), les graphiques représentent les valeurs moyennes avec les valeurs extrêmes associées. Cette seconde présentation est mentionnée avec chaque figure concernée.
- Afin d'apporter un complément d'information, le détail des données récapitulées par les graphiques est souvent placé en annexe du rapport.

Traitement statistique des données

Des tests statistiques ont été réalisés afin de comparer les moyennes, d'une part, et de mettre en évidence les corrélations, d'autre part. Les comparaisons deux à deux ont été effectuées avec un test de Student, précédé d'un test de Levene sur l'égalité des variances. Les comparaisons multiples ont été réalisées avec un test de Duncan, précédé d'une analyse de variance à un facteur. Les corrélations entre variables ont été mises en évidence avec un test de corrélation bivariée de Pearson ou de Spearman, pour des variables ayant une distribution respectivement Normale ou non Normale. Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel de statistique SPSS (version 8.0).

¹ : Le coefficient de variation correspond l'écart-type exprimé en pourcentage de la moyenne.

Les planches de synthèse

Les résultats contenus dans ce document ont été synthétisés en dix planches, offrant au lecteur la possibilité d'accéder rapidement aux informations essentielles. Ces planches dont la liste suit sont insérées dans le texte au niveau de chaque thème concerné.

Planche 1 : Répartition des stocks de poissons géniteurs et des expérimentations	47
Planche 2 : Alimentation des poissons géniteurs élevés en étangs.....	55
Planche 3 : Maturation gonadique des deux espèces, mâles et femelles, en relation avec les facteurs de l'environnement dans les deux milieux d'élevage	122
Planche 4 : Dynamique des processus de maturation gonadique et de maturation ovocytaire chez les femelles de <i>P. bocourti</i> élevées en étangs	147
Planche 5 : Bilan des traitements progressifs à l'hCG appliqués aux femelles de <i>P. bocourti</i> élevées en étangs et en cages flottantes	148
Planche 6 : Dynamique des processus de maturation gonadique et de maturation ovocytaire chez les femelles de <i>P. hypophthalmus</i> élevées en étangs.....	164
Planche 7 : Bilan des traitements à l'hCG appliqués aux femelles de <i>P. hypophthalmus</i> élevées en étangs et en cages flottantes	165
Planche 8 : Bilan de la fécondité obtenue chez les deux espèces.....	175
Planche 9 : Induction de la spermiation et caractéristiques du sperme collecté chez les mâles des deux espèces élevés en cages flottantes	183
Planche 10 : Gestion des gamètes chez les deux espèces, de la collecte du sperme et des ovules à l'éclosion des larves	200

INTRODUCTION

Pangasius bocourti et *P. hypophthalmus* sont deux espèces de poissons-chats appartenant à la famille des Pangasiidae et au genre *Pangasius* (Roberts et Vidthayanon, 1991). Elles sont originaires du fleuve Mékong qui traverse la péninsule indochinoise, et, pour *P. bocourti*, de la rivière Chao Phraya en Thaïlande ; toutes deux sont donc naturellement présentes dans le Sud Viêt-Nam. A des fins piscicoles, *P. hypophthalmus* a été introduit dans d'autres régions en Malaisie, en Indonésie et en Chine (Pan et Zheng, 1983). *P. hypophthalmus* présente une respiration aérienne accessoire (Browman et Kramer, 1985), comme *P. bocourti* vraisemblablement aussi, ce qui leur permet de vivre dans une eau pauvre en oxygène. En outre, la croissance rapide de ces deux espèces et leur régime alimentaire omnivore contribuent également à leur intérêt pour la pisciculture (Lenormand, 1996).

Dans le Sud Viêt-Nam, *P. bocourti* est élevé en cages flottantes sur le Mékong depuis 1960, alors que cette espèce n'est jamais présente en étang de pisciculture (Cacot, 1993). *P. bocourti* constitue la principale espèce élevée en cages flottantes pour une production annuelle de 15.000 tonnes. Celle-ci est essentiellement destinée à la transformation sous forme de filets de poissons congelés, exportés pour une recette annuelle d'environ 132 millions FF. A l'opposé, *P. hypophthalmus* est une espèce très populaire, depuis des siècles, en pisciculture d'étangs dans le delta du Mékong (Peignen, 1993). La production annuelle de *P. hypophthalmus* est estimée à 20.000 tonnes, destinées essentiellement à l'autoconsommation et à la commercialisation locale, sous forme de poissons frais ou séchés.

En 1994, l'élevage de ces deux espèces reposait sur la capture de poissons juvéniles dans le Mékong, principalement dans la partie cambodgienne du fleuve, pour au moins 23 millions de juvéniles par espèce chaque année (poissons d'un poids moyen individuel de 50 g). Depuis 1989, la demande en juvéniles est croissante et l'effort de pêche s'est accru, mais les quantités pêchées tendent à diminuer, rendant les juvéniles rares et chers (1 à 3 FF pièce). Pour faire face à cette pénurie, la mise au point d'une technique de reproduction artificielle des deux espèces était devenue indispensable, afin de répondre à la demande des éleveurs, d'une part, et d'éviter une surexploitation des stocks naturels, d'autre part.

La première reproduction artificielle de *P. hypophthalmus* a eu lieu en Thaïlande en 1959 (Boonbrahm, 1959), et, plus tard, elle a été réalisée en Indonésie (Hardjamulia *et al.*, 1981) et en Malaisie (Thalathiah *et al.*, 1983). Dans ces pays, l'approvisionnement en juvéniles repose maintenant sur la production des écloséries. Au Viêt-Nam, la première reproduction artificielle de *P. hypophthalmus* a été obtenue en 1981 (Anh *et al.*, 1981), mais le manque de fiabilité des résultats n'a pas permis leur reproductibilité et le développement d'une production d'alevins. Les performances étaient variables et globalement moyennes aux différents stades de la reproduction artificielle, d'une part, et la survie des larves et des juvéniles était faible, d'autre part (Annexe 1). En moyenne, seulement 38 % des femelles de *P. hypophthalmus* élevées étaient reproduites et seulement 0,5 % des œufs collectés fournissaient des juvéniles. Xuan (1994) indique que la fécondité relative est comprise entre 139.10^3 et 150.10^3 ovules.kg⁻¹ chez cette espèce, mais il s'agit plus vraisemblablement des valeurs maximales obtenues. Quant à *P. bocourti*, aucune reproduction artificielle n'avait été rapportée chez cette espèce en 1994, ni au Viêt-Nam ni ailleurs.

Les recherches qui ont commencé en 1994 s'inscrivaient dans le prolongement des travaux menés par les pisciculteurs et les chercheurs vietnamiens¹. Ces recherches ont pu bénéficier d'un stock important de poissons géniteurs et des structures d'élevage associées : des *P. bocourti* élevés en cages flottantes et des *P. hypophthalmus* élevés en cages flottantes et en étangs. Des *P. bocourti* ont été transférés en étangs, puis les recherches ont été menées de façon comparée, entre les deux espèces et dans deux milieux d'élevage. La comparaison s'est faite de manière relativement simultanée et standardisée, au niveau de l'alimentation des poissons géniteurs et des traitements hormonaux notamment. Cette approche était d'autant plus originale qu'aucune comparaison des performances de reproduction entre cages flottantes et étangs n'avait été rapportée ni sur ces espèces ni sur d'autres poissons, d'après une étude bibliographique exhaustive².

En réponse à la demande des partenaires vietnamiens, l'objectif des recherches était la mise au point d'une technique de reproduction fiable des deux espèces et reproductible chez les pisciculteurs. Quatre questions scientifiques majeures ont orienté les recherches. La première concernait la détermination des cycles sexuels et du rôle associé des facteurs de l'environnement. La seconde question visait à évaluer les stades de maturation sexuelle permettant de sélectionner des géniteurs aptes à répondre au traitement hormonaux. La troisième question portait sur la mise au point de traitements hormonaux destinés à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez les femelles, et la production spermatique chez les mâles. Enfin, la dernière question concernait la caractérisation des gamètes collectés et leur gestion pour une fécondation optimale, incluant notamment la conservation du sperme à l'état frais.

Le contexte des recherches a par ailleurs imposé deux contraintes qui ont également orientées les recherches. Il était tout d'abord impératif de prendre soin des poissons géniteurs, considérés comme précieux compte tenu de leur âge, plusieurs fois supérieur à la durée de l'élevage d'embouche. Par conséquent, les sacrifices de poissons ayant été exceptionnels, les données concernant le développement des gonades entières et la composition corporelle des poissons sont issues essentiellement de poissons morts accidentellement. Par ailleurs, la priorité a été donnée à l'induction de la reproduction artificielle, chez les mâles et les femelles. Le suivi de la maturation gonadique a pu être réalisé en parallèle, mais, ne s'agissant pas d'un objectif prioritaire, les observations n'ont pas toujours été faites avec la régularité souhaitée.

¹ : Principalement : l'entreprise AGIFISH et le Département Aquaculture de la province de An-Giang, l'Institut de Recherche en Aquaculture n° 2 et l'Université de Can-Tho.

² : D'après les références issues d'une interrogation bibliographique, réalisée le 25 novembre 1997, dans les bases de données suivantes : AGRIS, ASFA, BIOSIS, PASCAL, CAB, AGRICOLA, avec les mots clés suivants (en français et en anglais) : reproduction, élevage, captivité, cage, étang, maturation. Au total, 90 références ont été trouvées.

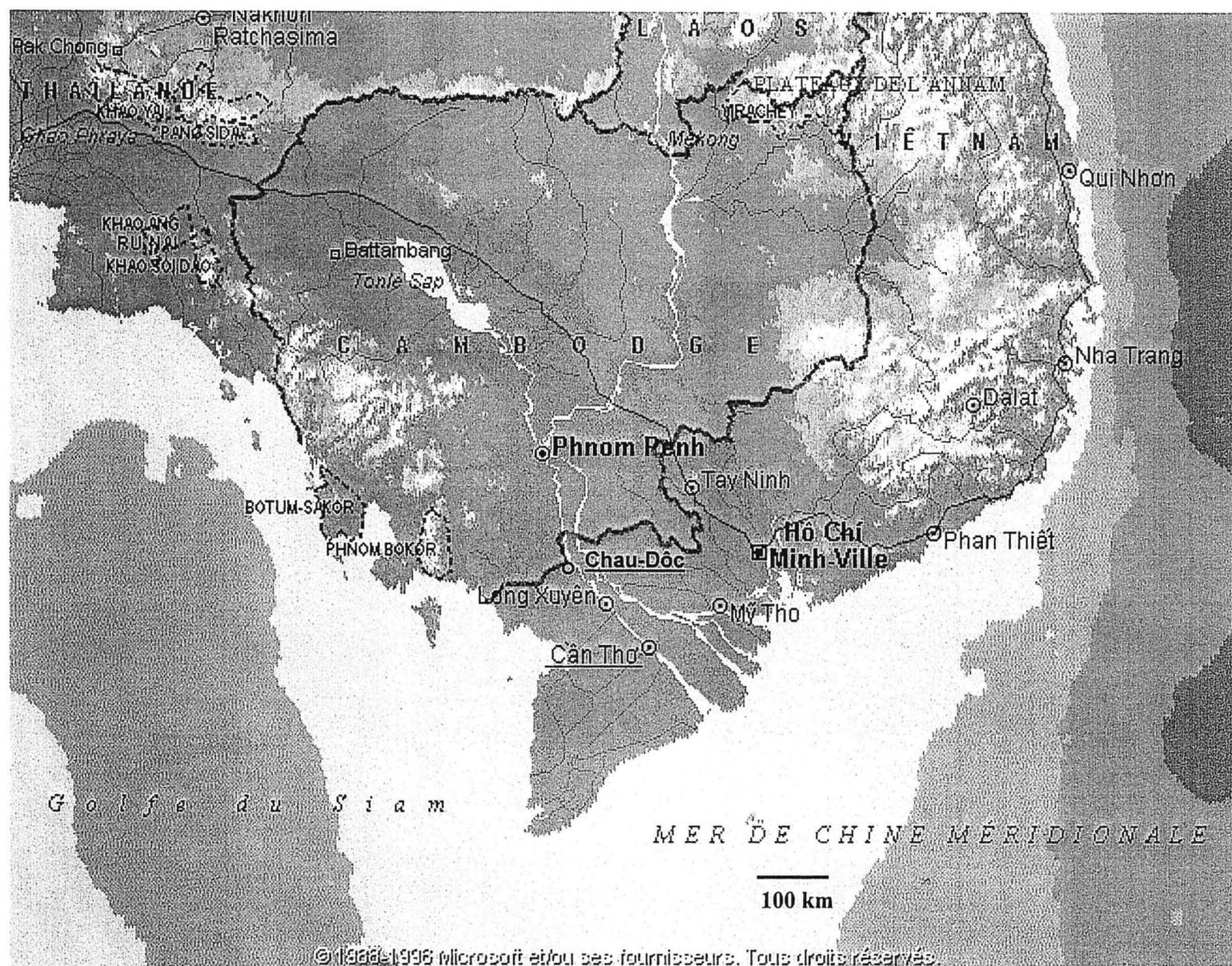


Figure 1 : Carte du delta du Mékong

Sites d'expérimentation : Chau-Dôc (élevage en cages flottantes) et Can-Tho (élevage en étangs)

CHAPITRE 1

**INTERET AQUACOLE DE *P. BOCOURTI* ET
P. HYPOPHthalmus ET ENJEUX DES RECHERCHES
POUR LA MAITRISE DE LEUR REPRODUCTION**

1.1. PRESENTATION DES ESPECES

1.1.1. Identification des espèces

1.1.1.1. Classification et appellations

Pangasius bocourti et *P. hypophthalmus* appartiennent au genre *Pangasius* (Valenciennes, 1840) de la famille des Pangasiidae, ordre des Siluroidei qui regroupe les poissons-chats, classe des poissons Téléostéens (Roberts et Vidthayanon, 1991).

La famille des Pangasiidae compte 21 espèces réparties en deux genres : *Pangasius* (Valenciennes, 1840) et *Helicophagus* (Bleeker, 1858) qui comprennent 19 et deux espèces respectivement. Roberts et Vidthayanon (1991) ont reclassé 39 espèces précédemment décrites en seulement 18 espèces, en éliminant les appellations correspondant à des identifications erronées, et auxquelles se sont ajoutées trois nouvelles espèces. D'après ces auteurs, les nombreuses redondances découlent des études taxinomiques antérieures, menées en différents endroits et de façon indépendante, alors que certaines espèces se trouvaient représentées dans plusieurs régions. D'autres erreurs auraient été commises en employant des poissons juvéniles, car la morphologie de ces poissons évolue avec la taille : les juvéniles dont la longueur est inférieure à 30 cm ont souvent un museau relativement allongé qui diminuera ensuite.

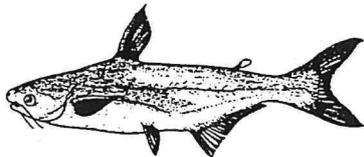
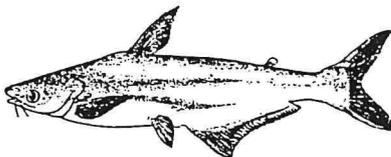
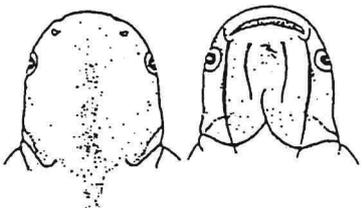
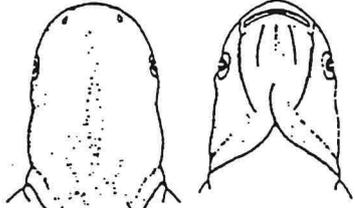
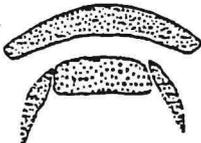
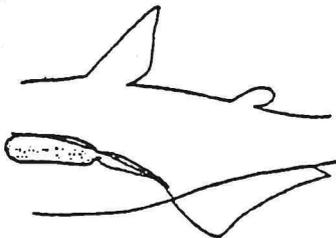
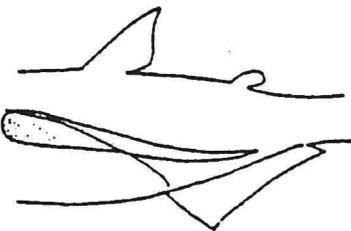
Au Viêt-Nam, avant cette révision de la classification en 1991, les deux espèces étudiées portaient le nom de *P. pangasius* pour *P. bocourti* et de *P. micronemus* pour *P. hypophthalmus*. Dans d'autres pays d'Asie, *P. hypophthalmus* apparaissait généralement sous l'appellation *P. sutchi*. Il faut également remarquer que *P. pangasius* désignait aussi, et désigne toujours, une espèce différente de *P. bocourti* dans d'autres pays d'Asie que le Viêt-Nam.

Au Viêt-Nam, *P. bocourti* est le plus couramment appelé « ca ba sa », mais il peut également être désigné par « ca bong » ou « ca giau » (Lenormand, 1996). « Ca », à prononcer en montant la voix, est le préfixe qui désigne les poissons. « Ca ba sa » signifie littéralement « poisson à trois couches de graisse », et ce nom illustre bien l'engraissement important observé chez ces poissons élevés en cages flottantes (Cacot, 1993). *P. hypophthalmus* est généralement appelé « ca tra » ou, plus rarement, « ca vo ». Cette espèce est la plus abondante des Pangasiidae dans le delta du Mékong et son nom est employé comme préfixe pour désigner certaines espèces proches. Ainsi, « ca va dem » désigne *P. larnaudi* et « ca tra dau » désigne *P. gigas*.

1.1.1.2. Principaux critères d'identification

P. bocourti et *P. hypophthalmus* peuvent être identifiés grâce à la clef définie pour les Pangasiidae de la péninsule indochinoise et de Thaïlande (Annexe 2) ; ces deux espèces se distinguent aisément l'une de l'autre au niveau de plusieurs critères morphologiques (Tableau 1). Il faut cependant noter plusieurs différences entre les spécimens observés par Roberts et Vidthayanon (1991) et les poissons géniteurs utilisés pour les travaux exposés ici.

Tableau 1 : Critères morphologiques discriminants de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*

Caractéristiques	<i>P. bocourti</i>	<i>P. hypophthalmus</i>
Forme du corps ^(a)		
Forme de la tête ^(a)		
Position de la bouche	Subterminale	Terminale
Dentition sur la mâchoire supérieure ^(a)		
N rayons aux nageoires pelviennes	6	8 (rarement 9)
N branchiospines sur le premier arc branchial	41,5 ± 3,8 [36 ; 46] (n = 10) ^(a) * 45,4 ± 3,7 [39 ; 52] (n = 22) ^(b)	34,4 ± 3,2 [29 ; 38] (n = 8) ^(a) *** 44,5 ± 2,4 [37 ; 47] (n = 20) ^(b)
Forme de la vessie natatoire ^(a)		
N vertèbres abdominales ^(c)	16,3 ± 0,8 [15 ; 17] (n = 7) ^(a) *** 14,0 ± 0,8 [13 ; 15] (n = 8) ^(b)	11,9 ± 0,4 [11 ; 12] (n = 8) ^(a) 11,2 ± 1,5 [9 ; 14] (n = 9) ^(b)
N vertèbres caudales	26,5 ± 0,8 [25 ; 27] (n = 8) ^(a) 26,3 ± 0,7 [25 ; 27] (n = 8) ^(b)	25,8 ± 0,7 [25 ; 27] (n = 8) ^(a) * 26,6 ± 0,5 [26 ; 27] (n = 9) ^(b)
N vertèbres total	43,1 ± 1,2 [41 ; 45] (n = 8) ^(a) *** 40,3 ± 1,0 [38 ; 41] (n = 8) ^(b)	38,6 ± 0,9 [37 ; 40] (n = 8) ^(a) 37,8 ± 1,4 [36 ; 40] (n = 9) ^(b)

^(a) : D'après Roberts et Vidthayanon (1991),

^(b) : observations effectuées sur les géniteurs en octobre 1996,

^(c) : il existe quatre vertèbres abdominales supplémentaires, soudées entre elles dans la partie antérieure du poisson (Roberts et Vidthayanon, 1991), qui ne sont pas prises en compte ici.

- Différences significatives entre les données présentés par Roberts et Vidthayanon (1991) et les données issues des poissons géniteurs : * (P < 0,05) ; *** (P < 0,001).

Les principales différences sont les suivantes :

- La forme de la tête des géniteurs de *P. hypophthalmus* est plus tronquée.
- Un tiers des géniteurs de *P. hypophthalmus* (trois poissons sur neuf observés) présentent une anomalie à la colonne vertébrale ; une des vertèbres abdominale porte deux ou trois paires de côtes, au lieu d'une seule normalement.
- La vessie natatoire des géniteurs de *P. bocourti* observés au Viêt-Nam présente fréquemment une troisième chambre qui peut s'enfoncer légèrement dans le muscle caudal (4 poissons sur 11 observés), au lieu de deux chambres situées dans la cavité abdominale.
- Le nombre de vertèbres abdominales est inférieur chez les géniteurs de *P. bocourti* (- 2, $P < 0,001$).
- Le nombre de branchiospines sur le premier arc branchial est supérieur chez les géniteurs de *P. bocourti* (+ 4, $P < 0,05$) et *P. hypophthalmus* (+ 10, $P < 0,001$).

Il est possible que certaines caractéristiques évoluent au cours de la croissance, telles que la forme de la tête et de la vessie natatoire, ainsi que le nombre de branchiospines. Concernant le nombre de branchiospines, en particulier, Agnèse *et al.* (1997) ont montré que celui-ci augmente avec la longueur des poissons chez *Clarias anguillaris*. C'est peut-être le cas ici car les poissons observés sont des spécimens de grande taille et donc vraisemblablement plus grands que ceux observés par Roberts et Vidthayanon (1991). En revanche, les différences au niveau de la colonne vertébrale reflètent probablement l'existence d'une variabilité intraspécifique importante de ce caractère.

Chacune des deux espèces étudiées présente des similitudes avec d'autres Pangasiidae (Roberts et Vidthayanon, 1991). *P. bocourti* est proche de *P. macronema*, mais il diffère de celui-ci par une tête plus large et plus ronde, par des branchiospines plus courts et par une taille maximale plus grande que celle de *P. macronema* qui n'atteint que 20 cm. *P. bocourti* est plus proche encore de *P. djambal*, duquel il se distingue par un nombre de branchiospines et par un ratio N vertèbres abdominales / N vertèbres caudales plus élevé. Toutefois, compte tenu de la variabilité de ces deux caractères précédemment évoquée, il est nécessaire d'étendre les observations à un plus grand nombre de spécimens, d'une part, et de procéder à une caractérisation génétique, d'autre part, afin de s'assurer de la différence réelle entre ces deux espèces¹.

De son côté, *P. hypophthalmus* est proche de *P. gigas*. Tous deux sont les seuls Pangasiidae présentant huit ou neuf rayons aux nageoires pelviennes, contre six chez les autres espèces, ainsi qu'une bouche en position terminale, alors qu'elle est subterminale ou inférieure chez les autres espèces. *P. hypophthalmus* se distingue de *P. gigas* par des branchiospines plus développés, des barbillons plus longs, une tête plus étroite et par une taille maximale de l'ordre de 90 cm, au lieu de 3 m ou plus chez *P. gigas*. Enfin, *P. hypophthalmus* présente une vessie natatoire qui se prolonge dans le muscle de la partie caudale, alors que celle de *P. gigas* se limite à la cavité abdominale.

¹ : Des recherches visant à confirmer l'identification des Pangasiidae sont en cours (Pouyaud *et al.*, 1999).

Tableau 2 : Longueur à la fourche et poids maximaux de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* observés dans le milieu naturel et en élevage

Espèces	Milieu naturel ^(a)	Elevage
<i>P. bocourti</i>	7,45 kg – 79 cm	10,7 kg – 91 cm ^(b)
<i>P. hypophthalmus</i>	14,5 kg – 105 cm	12,7 kg – 97,5 cm ^(c)

^(a) : Deux poissons pêchés dans le Mékong au Laos (Cacot et Campet, 1998),

^(b) : un poisson géniteur élevé en cages flottante,

^(c) : un poisson géniteur élevé en étang.

1.1.2. Distribution géographique

Les 21 espèces de Pangasiidae recensées par Roberts et Vidthayanon (1991) se répartissent en Asie du Sud et en Asie du Sud-est, dans une aire qui s'étend du tropique nord au Pakistan jusqu'au dessous de l'équateur à Java.

Les Pangasiidae semblent affectionner les fleuves qui présentent une vaste plaine d'inondation, dont notamment le Mékong qui comporte 11 espèces (Lenormand, 1996 ; Roberts et Vidthayanon, 1991) et le Chao Phraya en Thaïlande avec dix espèces. Bornéo constitue la troisième zone d'importance avec dix espèces représentées. Dans les autres régions d'Asie, on dénombre une à trois espèces par pays. *P. bocourti* se trouve naturellement présent dans le Mékong et dans le Chao Phraya. *P. hypophthalmus* est également originaire du Mékong, mais il a été introduit dans le Chao Phraya (Roberts et Vidthayanon, 1991) et dans d'autres rivières en Malaisie (Thalathiah *et al.*, 1988), en Indonésie (Hardjamulia *et al.*, 1981) et en Chine (Huang, 1985).

P. bocourti et *P. hypophthalmus* vivent en eau douce, comme la plupart des Pangasiidae, mais la limite aval de leur aire de distribution dans le Mékong n'est pas connue avec précision. Comme quatre autres espèces sont euryhalines, *P. krempfi*, *P. pangasius*, *P. polyuranodon* et une autre espèce appelée « ca tra ban » au Viêt-Nam¹ (David, 1963 ; Lenormand, 1996 ; Roberts et Vidthayanon, 1991), il n'est pas exclu que *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* puissent vivre en milieu saumâtre. Dans ce sens, des tests ont montré que la survie de juvéniles de *P. hypophthalmus* est meilleure dans une eau à faible salinité (3,2 g.l⁻¹) que dans l'eau douce (Hardjamulia *et al.*, 1986).

Par ailleurs, *P. bocourti* est distribué dans les bras principaux du Mékong au Viêt-Nam, comme la plupart des autres Pangasiidae du delta. En revanche, *P. hypophthalmus* est le seul Pangasiidae qui se rencontre à proximité de la berge du fleuve et dans les canaux de faible profondeur (Lenormand, 1996).

1.1.3. Caractéristiques biologiques d'intérêt aquacole

1.1.3.1. Croissance rapide

La longueur à la fourche et le poids vif maximaux observés atteignent respectivement 91 cm et 10,7 kg chez *P. bocourti* en élevage, et 105 cm et 14,5 kg chez *P. hypophthalmus* dans le milieu naturel (Tableau 2). Des valeurs plus grandes encore peuvent être atteintes, en particulier chez *P. hypophthalmus*, puisque les géniteurs poursuivent leur croissance en conditions d'élevage (données non présentées). Or, chez les poissons en général, la longueur maximale observée constitue un bon indicateur du potentiel de croissance des espèces considérées (Legendre et Albaret, 1991). Cela semble être le cas ici, d'après les résultats obtenus en élevage de production à partir de juvéniles d'environ 50 g. En cages flottantes sur le Mékong, *P. bocourti* atteint 850 g en moyenne après 1,5 an d'élevage (Cacot, 1993). En étangs, la durée d'élevage est inférieure à un an pour 79 % des élevages de *P. hypophthalmus* (Peignen, 1993), une partie des poissons atteignant alors 800 g.

¹ : « Ca tra ban » est probablement une nouvelle espèce, proche de *P. krempfi*, qui fait actuellement l'objet d'un travail d'identification (Pouyaud *et al.*, 1999).

Par ailleurs, *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* ont probablement une taille maximale intermédiaire par rapport aux autres Pangasiidae. Il existe en effet deux espèces naines, *P. macronema* et *P. pleurotaenia*, dont la longueur maximale est respectivement de 20 et 30 cm. A l'opposé, deux espèces géantes, *P. gigas* et *P. sanitwongsei*, peuvent atteindre 3 m et peser 300 kg selon Roberts et Vidthayanon (1991). Ces auteurs rapportent également que *P. laraudi* et *P. gigas* ont une croissance rapide en élevage. D'une manière générale, la croissance rapide des Pangasiidae est liée à leur grande capacité d'ingestion. Les larves sont pourvues d'une dentition développée et, à toutes les tailles, les poissons sont voraces. En outre, ils possèdent un tube digestif et un abdomen capables de se distendre pour contenir une grande quantité de nourriture.

1.1.3.2. Régime alimentaire omnivore

La longueur du tube digestif fournit chez les poissons une indication du régime alimentaire (Grasset, 1958)¹. D'après ce critère, *P. bocourti* serait omnivore à tendance carnivore et *P. hypophthalmus* essentiellement phytophage.

Lorsque le Mékong est en crue dans le Sud du Laos, l'observation de contenus stomacaux a montré que *P. bocourti* semble se nourrir essentiellement de fruits et de feuilles (Cacot et Campet, 1998). Dans les mêmes circonstances, Roberts (1993) rapporte également que *P. bocourti* consomme des feuilles et des fruits, mais aussi des insectes et des poissons. Enfin, cette espèce se nourrit également de mollusques (gastéropodes, bivalves).

Plus de détails sont fournis sur l'alimentation de *P. pangasius* dans son milieu naturel, dans les rivières de l'Inde et du Bangladesh. Son régime alimentaire omnivore a été démontré par l'étude du contenu stomacal (Mohsin Ali *et al.*, 1985) et la mise en évidence des enzymes qui permettent la digestion de l'amidon, amylase et invertase, dans l'intestin (Ghosh et Saigal, 1981). Le régime alimentaire de *P. pangasius* évolue au cours de l'ontogenèse (David, 1963). Les larves de *P. pangasius* s'alimentent essentiellement d'insectes qui seront moins consommés par la suite. Les juvéniles se nourrissent principalement de déchets d'origine animale (déchets de cuisine, excréments, carcasses), de crustacés et de végétaux. Les adultes consomment toujours beaucoup d'abats d'origine animale mais plus de végétaux et de mollusques. Globalement, la consommation d'abats d'origine animale est importante à proximité des villes et dans les ports. Enfin, quel que soit son stade, *P. pangasius* consomme relativement peu de poissons. Au niveau du comportement alimentaire, *P. pangasius* est un poisson fouisseur bien que ses larves se nourrissent en surface. Voraces tout au long de leur vie, les *P. pangasius* ingèrent de grande quantité d'aliments qui peuvent représenter près du cinquième du poids vif.

1.1.3.3. Tolérance vis à vis de la qualité de l'eau

Les poissons-chats présentent généralement une adaptation au niveau des branchies qui leur permet de tolérer de faibles concentrations en oxygène dissous (Das et Ratha, 1996). Par ailleurs, les Pangasiidae et d'autres genres de poissons-chats (*Clarias*, *Heteropneustes*, *Hoplosternum*, *Heterobranchus*) peuvent respirer de l'air. Chez *P. hypophthalmus*, cette capacité résulte d'une adaptation de la vessie natatoire ; elle présente un épithélium épais et vascularisé, ainsi qu'une structure filamenteuse qui permet la respiration (Danguy et Lenglet, 1988). La respiration aérienne chez *P. hypophthalmus* est complémentaire mais obligatoire (Browman et Kramer, 1985) ; la fréquence de respiration en surface augmente lorsque la concentration en oxygène dissous diminue et l'accès à la surface est vital. La vessie natatoire

¹ : Cité par Lenormand (1996).

étant du même type chez tous les Pangasiidae (Roberts et Vidthayanon, 1991), il est probable que les autres espèces présentent la même aptitude que *P. hypophthalmus* : chez *P. bocourti* en particulier, les poissons viennent respirer en surface plus fréquemment lorsque la densité est élevée ou lorsque le renouvellement d'eau est faible, en cages flottantes comme en étangs (observations personnelles).

L'adaptation à la respiration aérienne permet aux poissons de tolérer des eaux faiblement oxygénées, comme c'est parfois le cas en conditions d'élevage pour *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. En cages flottantes sur le Mékong, la concentration en oxygène dissous peut être faible (2 mg.l^{-1}), lorsque se cumulent une biomasse élevée en cages flottantes (jusqu'à 200 kg.m^{-3}) et un faible renouvellement d'eau (absence de courant). En étangs, la concentration en oxygène dissous peut être plus faible encore ($1-2 \text{ mg.l}^{-1}$), en fin de nuit notamment, lorsque la biomasse est élevée et / ou que la fertilisation de l'étang est importante. Comme pour *P. hypophthalmus* au Viêt-Nam, en Inde, Tripathi (1996) rapporte que *P. pangasius* est fréquemment élevé dans des étangs d'eau stagnante qui ne sont pas propices aux carpes.

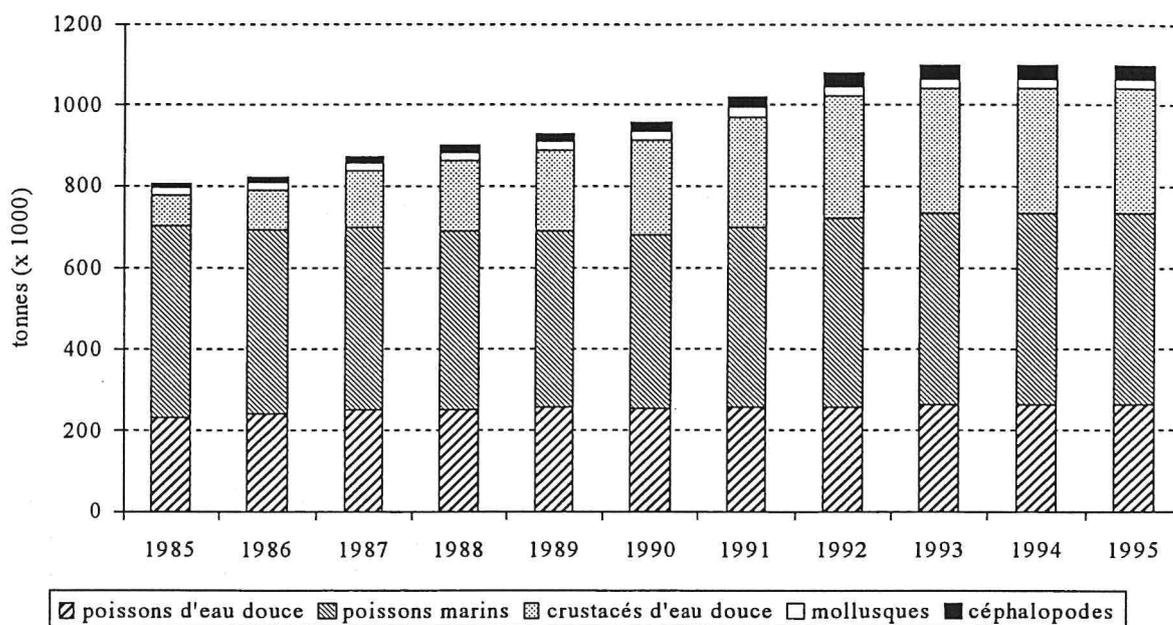
Par ailleurs, deux poissons-chats, *Heteropneustes fossilis* et *Clarias batrachus*, possèdent un cycle physiologique de l'azote particulier qui leur permet de tolérer une eau chargée en ammoniacque (Das et Ratha, 1996). Compte tenu de la présence de *P. hypophthalmus* dans des étangs fertilisés et avec une biomasse souvent très élevée (jusqu'à 6 kg.m^{-2}), il serait intéressant de rechercher si cette espèce dispose d'une adaptation au niveau du cycle de l'azote corporel.

1.1.3.4. Qualité de la chair

Outre une croissance rapide et un régime alimentaire omnivore, les Pangasiidae sont appréciés pour leur chair dépourvue d'arêtes et de couleur généralement grise ou blanche. Cette qualité de chair est réputée chez les poissons-chats en général (Fauconneau et Laroche, 1996).

Dans le Sud Viêt-Nam, *P. bocourti* constitue l'espèce la plus prisée parmi les Pangasiidae, après *P. krempfi* et avec *P. larnaudi*, tant sur le marché local que pour l'exportation, car elle présente une chair blanche et tendre (Lenormand, 1996). En revanche, *P. hypophthalmus* possède la plus faible valeur marchande des Pangasiidae, à cause de la moindre qualité de sa chair, jaune et relativement maigre, mais surtout à cause de la mauvaise réputation de ce poisson auprès des consommateurs, du fait de sa production en étangs à latrines (§ 1.2.2.3, p 27).

A) Productions totales de la pêche et de l'aquaculture (FAO, 1998a)



B) Productions aquacoles (FAO, 1998b)

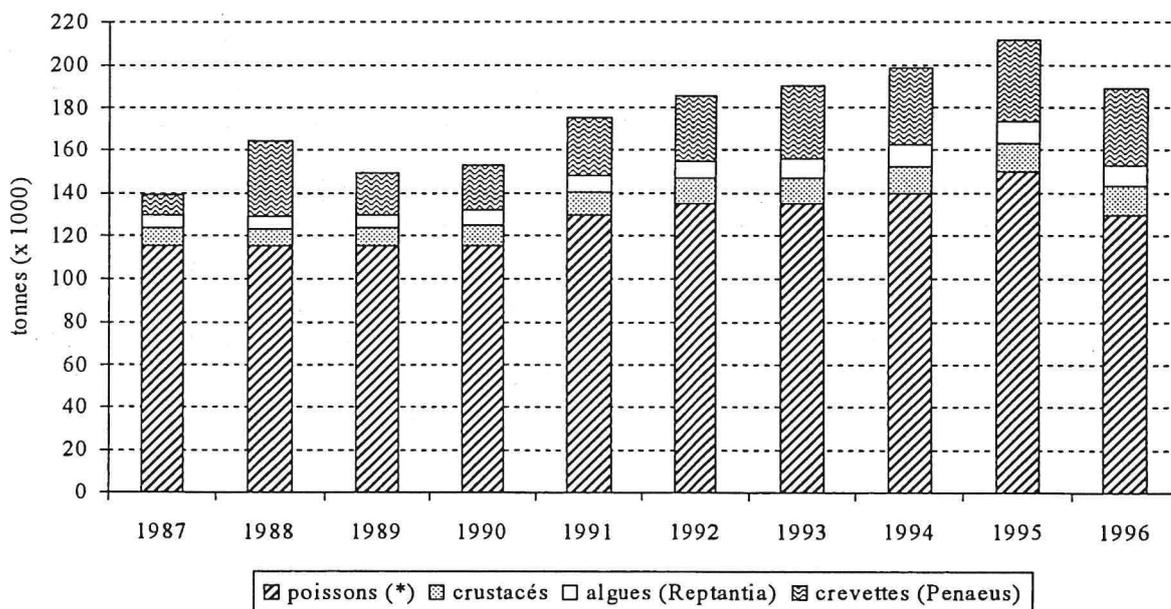


Figure 2 : Evolution des productions aquatiques du Viêt-Nam

(*) : poissons d'eau douce essentiellement.

1.2. PRODUCTION DES DEUX ESPECES DANS LE SUD VIET-NAM

1.2.1. Présentation de l'aquaculture au Viêt-Nam

Au Viêt-Nam, les produits d'origine aquatique constituent 35 % en moyenne des apports en protéines animales (Csavas, 1992). Dans le sud du pays, en 1993, l'alimentation en protéines animales se décomposait ainsi, en kg par habitant et par an¹ :

- poisson : 22 kg
- porc : 6 kg
- volaille : 2 kg
- bœuf : 2 kg

Les ressources aquatiques produites au Viêt-Nam représentaient 1.100.000 tonnes en 1995, dont 211.000 tonnes issues de l'aquaculture (19,1 %) pour une valeur de 548 millions de dollars (FAO, 1998 a ; FAO, 1998 b). La production totale de poissons d'eau douce était de 263.000 tonnes, dont environ 150.000 tonnes issues de l'aquaculture (53,2 %) (Figure 2). L'aquaculture est, pour les trois quarts, réalisée en eau douce, compte tenu de l'importance des surfaces disponibles ; le delta du fleuve rouge au nord (16.500 km²) et le delta du Mékong au sud (39.500 km²) constituent des zones privilégiées (5 et 12 % de la surface du pays).

Dans le Sud Viêt-Nam, 23 espèces de poissons font l'objet d'élevage, dont 12 espèces locales et 11 espèces introduites (Cacot, 1993). Trois principaux systèmes de production sont développés, avec les proportions correspondantes en 1990 : rizipisciculture (21 %), pisciculture en étangs (64 %) et pisciculture en cages flottantes (15 %) (Lazard et Legendre, 1993). Ces systèmes de production se différencient par leur degré d'intensification ; l'alimentation des poissons repose sur la productivité naturelle du milieu en rizipisciculture, sur la valorisation des sous produits agricoles locaux en cages flottantes, et sur une combinaison de ces deux types d'alimentations en étangs (Lazard et Cacot, 1997).

La rizipisciculture est une activité traditionnelle qui consiste à cultiver du riz et élever du poisson en même temps dans la rizière. Dans le Sud Viêt-Nam, des espèces locales comme le gourami *Trichogaster pectoralis*, ou exotiques comme les carpes *Puntius altus* et *Cyprinus carpio*, sont élevées en rizières, mais les Pangasiidae ne sont pas exploités dans ce système de production. En revanche, *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* constituent des espèces majeures pour la pisciculture, pratiquée respectivement en cages flottantes et en étangs.

1.2.2. La production de *P. hypophthalmus* en étangs

1.2.2.1. La pisciculture intégrée dans le delta du Mékong

La pisciculture en étangs constitue la plus ancienne forme d'aquaculture continentale. Partie de la Chine, elle s'est développée au Viêt-Nam jusqu'au sud du pays, où elle est pratiquée depuis trois siècles (Lazard et Cacot, 1997). Le delta du Mékong constitue une vaste plaine d'inondation durant la crue du fleuve, au moins trois mois par an, imposant de surélever tout ce qui doit rester au sec durant cette période. Les habitations, les routes, les

¹ : Communication personnelle du Professeur LUU TRONG HIEU (directeur du bureau des relations internationales, Université d'Agronomie et de Foresterie, Thu-Duc, Hô-Chi-Minh Ville) en 1993.

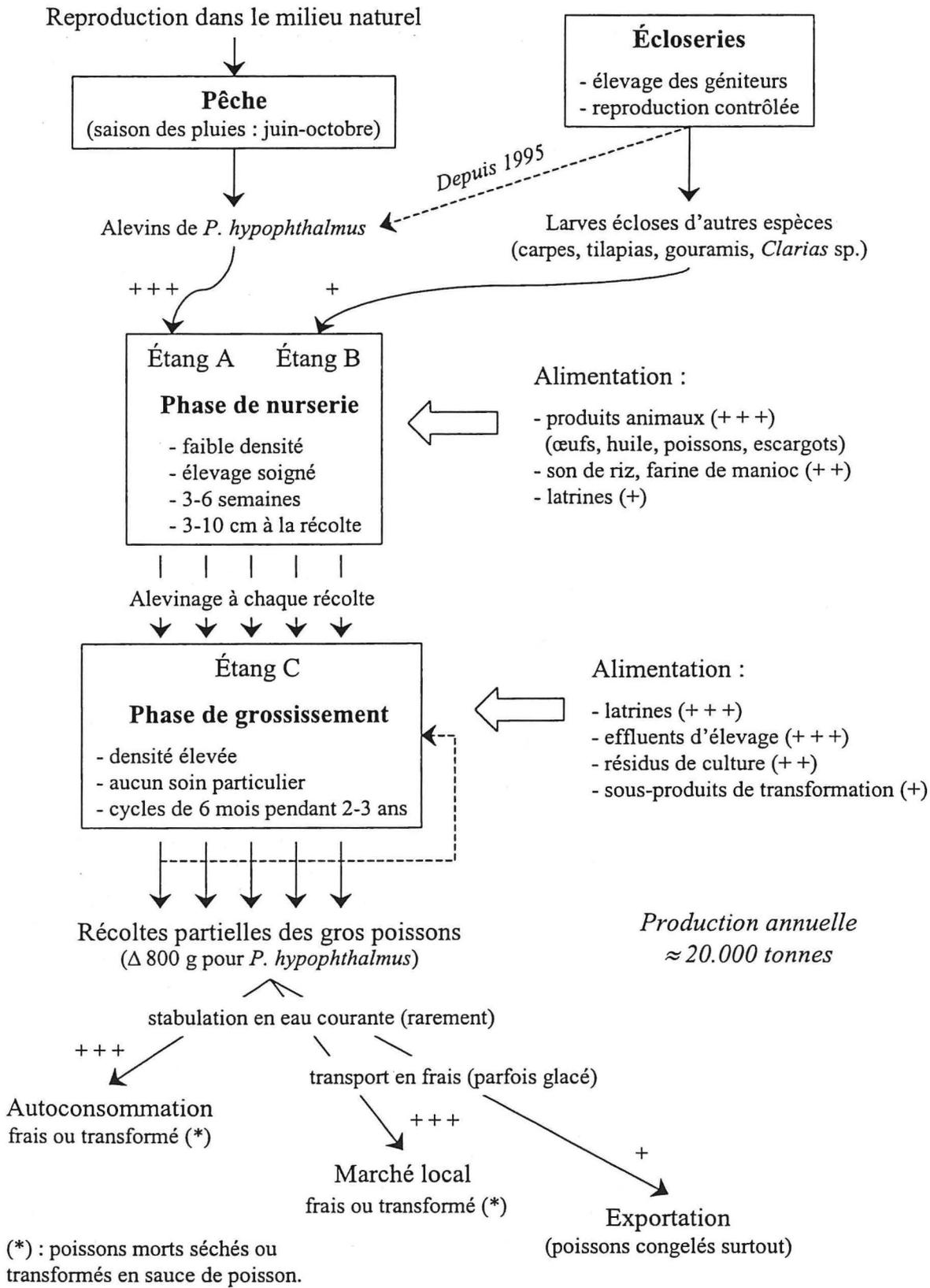


Figure 3 : Filière de l'élevage de *P. hypophthalmus* en étangs dans le delta du Mékong

D'après Peignen (1993).

cultures pérennes et les élevages terrestres jouxtent donc des zones d'emprunts qui sont autant d'étangs propices à la pisciculture.

L'agriculture dans le delta du Mékong est caractérisée par l'association des productions végétales (rizières, vergers, potagers), des élevages terrestres (porcs, chèvres, poulets, canards) et de la pisciculture en étangs. Dans ce système intégré, les résidus de culture et de transformation, les restes d'aliments ainsi que les effluents des élevages terrestres sont déversés dans l'étang. Les latrines sur les étangs font également partie intégrante de ce système (Peignen, 1993). Tous ces résidus vont être valorisés par la pisciculture ; ils sont consommés soit directement par les poissons, soit indirectement par le biais du réseau trophique de l'étang.

Les étangs sont généralement de petite taille (58 % font moins de 300 m²), mais ils peuvent toutefois atteindre de grande dimension (1-2 ha). L'eau des étangs est généralement stagnante et elle n'est renouvelée qu'une fois tous les 2-3 ans, après plusieurs cycles d'élevage. Une fois l'étang vidé, la vase est retirée et utilisée comme engrais pour les cultures, le fond de l'étang est asséché puis aseptisé par chaulage avant un nouveau remplissage.

1.2.2.2. Les espèces élevées

P. hypophthalmus constitue l'espèce la plus répandue dans les étangs du delta du Mékong, élevée dans la moitié des exploitations (Figure 3). Ce poisson particulièrement tolérant se prête à l'élevage en étang fertilisé, un milieu où la teneur en oxygène dissous fluctue et est souvent basse. En outre, son régime alimentaire omnivore lui permet de consommer directement les résidus déversés dans l'étang, les détritiques sur le fond de l'étang et les petits animaux aquatiques, dont les mollusques en particulier. Mais cette espèce est surtout réputée pour son aptitude à consommer directement les fèces sous les latrines ; *P. hypophthalmus* est donc LE poisson des étangs à latrines.

Depuis une dizaine d'années, d'autres espèces sont associées à *P. hypophthalmus* : carpes, gouramis, tilapias et *Clarias* sp. Il s'agit principalement d'espèces exotiques dont la reproduction est contrôlée, alors que l'élevage de *P. hypophthalmus* est resté dépendant de la pêche des juvéniles dans le Mékong. En outre, ces espèces associées permettent d'exploiter au mieux les différents niveaux trophiques de l'étang ; parmi les carpes chinoises, *Hypophthalmichthys molitrix* se nourrit de phytoplancton, *Aristichthys nobilis* de zooplancton, et *Ctenopharyngodon idellus* de végétaux divers.

1.2.2.3. Performances et limites de la production de *P. hypophthalmus*

Le rendement de ce système d'élevage est très variable en fonction des pratiques (choix des espèces, densité, fertilisation, alimentation des poissons). Des rendements particulièrement élevés peuvent être obtenus avec *P. hypophthalmus*, tant en phase de pré-grossissement (56 t.ha⁻¹ durant cinq mois) qu'en phase de grossissement (43 t.ha⁻¹ durant un an) (Tableau 3). A titre de comparaison, dans le Sud Viêt-Nam, les étangs intégrés aux productions végétales et animales terrestres, où sont élevées d'autres espèces que *P. hypophthalmus* (carpes, gouramis, tilapias, *Clarias* sp.), ont un rendement¹ compris entre 1 et 10 t.ha⁻¹.an⁻¹, avec une moyenne de 5 t.ha⁻¹.an⁻¹. Plus généralement, en Asie, Sinha (1986)

¹ : Communication personnelle de M. LE THANH HUNG (enseignant et chercheur à la Faculté des Pêches et d'Aquaculture, Université d'Agronomie et de Foresterie de Thu Duc, Hô-Chi-Minh Ville).

Tableau 3 : Bilan de deux élevages de *P. hypophthalmus* en étangs à latrines

Paramètres	Elevage de pré-grossissement	Elevage de grossissement
Dimensions de l'étang	55 m × 8 m × 1,7 m ^(a) = 440 m ²	60 m × 54 × 2 m ^(a) = 3240 m ²
Mise en charge initiale	<i>P. hypophthalmus</i> ≈ 22,5 kg (4500 alevins, < 5 g) = 51 g.m ⁻²	<i>P. hypophthalmus</i> : 6,7 t (250-500 g) + <i>Oreochromis niloticus</i> : 1 t (< 5 g) = 2,09 kg.m ⁻² (20,9 t.ha ⁻¹)
Quantité récoltée	<i>P. hypophthalmus</i> : 2,5 t (400-700 g) = 5,68 kg.m ⁻² (56,8 t.ha ⁻¹)	<i>P. hypophthalmus</i> : 20 t (700-2500 g) + <i>Oreochromis niloticus</i> : 1 t (300-500 g) = 6,48 kg.m ⁻² (64,8 t.ha ⁻¹)
Durée de l'élevage	5 mois	12 mois
Rendement	5,63 kg.m ⁻² (56,3 t.ha ⁻¹) (135,1 t.ha ⁻¹ .an ⁻¹)	4,39 kg.m ⁻² (43,9 t.ha ⁻¹) (43,9 t.ha ⁻¹ .an ⁻¹)
Alimentation	Aliment composé (son et brisures de riz, farine de manioc, hypomée) + latrines familiales	- Six premiers mois : Aliment composé (son de riz, patate douce, hypomée) + latrines ^(b) - Six derniers mois : Latrines ^(b) uniquement
Mortalité signalée ^(c)	< 0,5 %	1,5 % (<i>P. hypophthalmus</i> uniquement)

^(a) : Profondeur maximale de l'étang,

^(b) : latrines publiques (jusqu'à 100 personnes par jour),

^(c) : mortalité en début d'élevage uniquement.

Source : données d'enquêtes auprès de deux pisciculteurs à Chau-Dôc en 1993.

rapporte que le rendement de l'élevage de carpes intégré à l'élevage de canards varie de 1 à 5 t.ha⁻¹.an⁻¹. Des rendements en étangs aussi élevés que ceux atteints chez *P. hypophthalmus* ont été rapportés chez le Clarias hybride (*Clarias gariepinus* x *C. macrocephalus*) par Little *et al.* (1994). Des Clarias, nourris avec un aliment à base d'os de poulets broyés, sont produits en 4-5 mois à partir de fingerlings de 6 g, avec un taux de survie supérieur à 90 % et un rendement compris entre 46 et 62 t.ha⁻¹.

Il est remarquable que, dans les deux cas présentés, aucun aliment d'origine animale n'était utilisé (Tableau 3) ; la farine de poisson et le poisson fourrage étaient jugés trop onéreux par les pisciculteurs. L'apport des latrines semble donc essentiel dans ce type d'élevage. Les performances de ce type de pisciculture restent toutefois à préciser, et, en outre, l'aspect sanitaire de la production est à considérer. En effet, si le poisson constitue un moyen efficace de contribuer au « lagunage » des effluents domestiques, il devient également un vecteur potentiel de parasitoses pour le consommateur. Dans ce sens, d'autres observations, effectuées sur des poissons élevés en cages flottantes sur le Mékong, ont révélé la présence de nématodes dans le tube digestif de *P. hypophthalmus*. La provenance et l'identification de ces parasites restent encore à déterminer, mais, d'après Kinkelin *et al.* (1985), certains nématodes comme *Capillaria* sp. et *Contracaecum* sp. peuvent occasionner des zoonoses (i.e. contamination des mammifères). Afin d'éliminer de tels risques sanitaires, certainement accrus en étangs à latrines, Peignen (1993) proposait de généraliser la stabulation des poissons en eau propre et courante, après la récolte et avant la consommation, pour les débarrasser d'éventuels agents pathogènes. L'auteur suggérait également d'aseptiser les effluents domestiques par compostage, avant leur déversement dans l'étang.

Dans l'esprit des Vietnamiens du Sud, *P. hypophthalmus* est associé aux étangs à latrines et la réputation de ce poisson est donc mauvaise. De nombreux pisciculteurs qui l'élevaient déclarent ne pas en consommer (44 %), et, sur les marchés, les vendeuses n'hésitent pas à couper la tête et les nageoires du poisson afin de le vendre comme du « ca bong lau » (*Pangasius krempfi*), un autre Pangasiidae qui est au contraire très recherché. Une telle image négative se retrouve en Inde chez *P. pangasius*, dont le régime alimentaire est essentiellement détritivore durant la saison de basses eaux (David, 1963) ; sa valeur marchande est faible durant cette période de l'année.

Pour raison sanitaire, l'élevage en étangs à latrines est régulièrement prohibé dans le delta du Mékong par les autorités locales, ce qui équivaut à bannir la production de *P. hypophthalmus*. Même si cette directive n'est pas encore appliquée, il convient de prendre les devants d'une telle mesure, à savoir garantir la qualité sanitaire de ce poisson et réhabiliter son image auprès des consommateurs. Car les étangs à latrines, si choquant soient-ils, constituent un moyen intéressant de recycler les effluents domestiques qu'il convient donc d'aménager pour être pérennisé.

1.2.3. La production de *P. bocourti* en cages flottantes

1.2.3.1. Historique de la pisciculture vietnamienne en cages flottantes

La pisciculture en cages flottantes est pratiquée au Cambodge depuis environ un siècle (Chevey et Le Poulain, 1940 ; Coche, 1978). Cette structure était utilisée à l'origine pour stocker le produit de la pêche et permettre son transport jusqu'aux lieux de vente. En outre, les poissons capturés en période d'abondance, lors de la décrue du Mékong, pouvaient être gardés vivants plusieurs mois et commercialisés lorsque les captures diminuaient, en période de

basses eaux, à un prix plus intéressant. Les poissons ainsi stockés étaient nourris avec du poisson fourrage. L'utilisation des cages flottantes a pris son essor au Viêt-Nam au début des années 1970, avec l'arrivée massive de migrants du Cambodge fuyant la répression du régime « Khmer rouge ». Du reste, Chevey et Le Poulain (1940) rapportaient que les activités de pêche et de pisciculture au début du siècle dans le delta du Mékong, englobant le centre du Cambodge et le sud du Viêt-Nam, étaient essentiellement pratiquées par les Annamites. Or, les Annamites n'étaient autres que des Vietnamiens ; les techniques inhérentes aux productions aquatiques n'étaient d'ailleurs décrites en détail qu'en langue vietnamienne « l'annamite ». Il semble donc que la pisciculture en cages flottantes soit connue des Vietnamiens depuis fort longtemps.

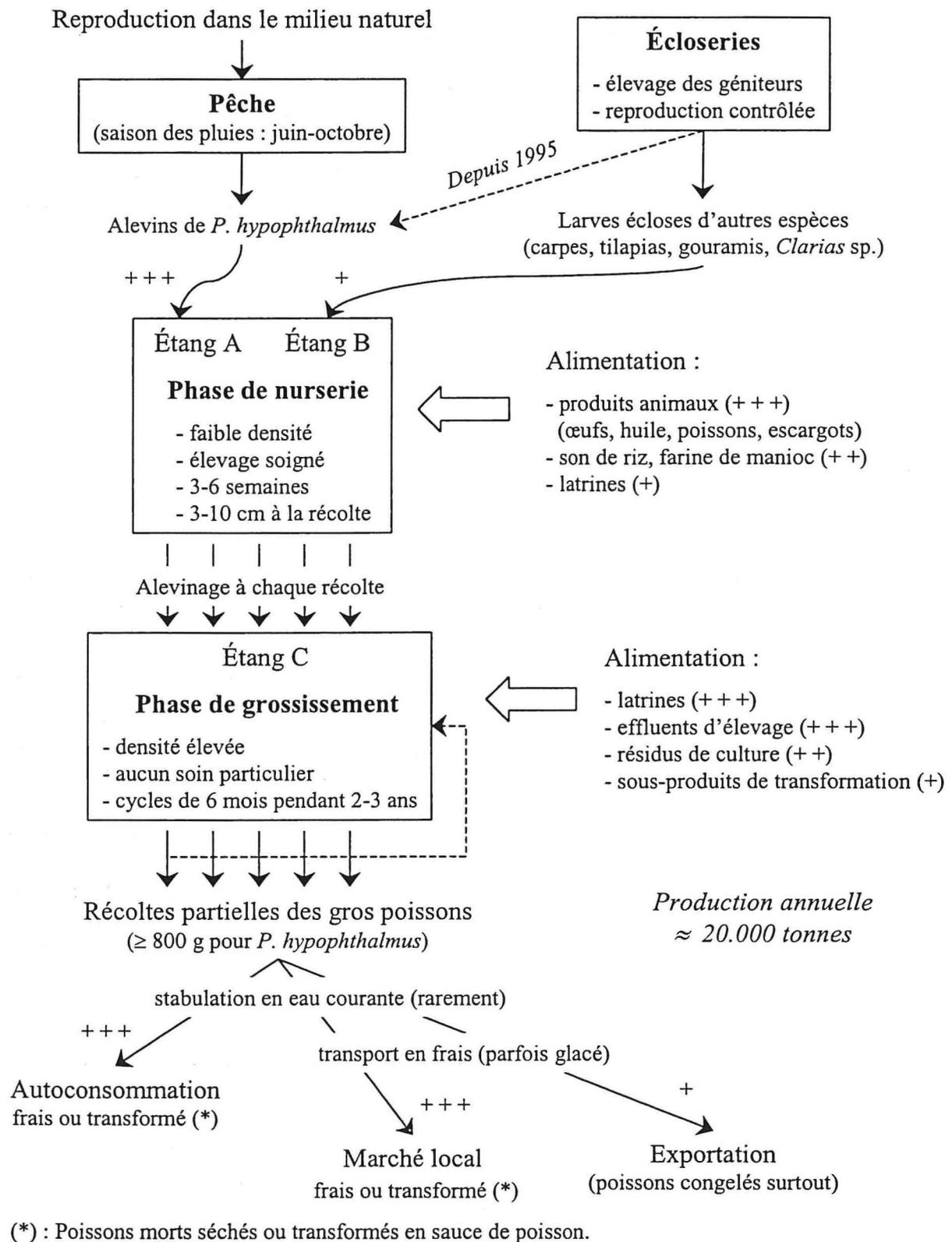
La pisciculture en cages flottantes au Viêt-Nam connaît actuellement une seconde phase de développement rapide. Elle a commencé en 1989, grâce au développement du secteur privé et à la possibilité pour les pisciculteurs d'exporter leur production. Dans le Sud Viêt-Nam, le nombre de cages flottantes en eau continentale était estimé à 1830 unités en 1994, pour une production annuelle de 17.300 tonnes (Cacot, 1993 ; Bazir, 1994).

Deux types de production sont réalisés : l'une sur le Mékong (Cacot, 1993) et l'autre sur les lacs de barrage (Bazir, 1994). Sur le Mékong, la pisciculture concerne principalement des espèces omnivores (Pangasiidae, Cyprinidae, tilapias) ; leur alimentation repose en grande partie sur la valorisation des sous-produits agricoles du delta. En revanche, sur les lacs de barrage, les deux principales espèces cultivées sont carnassières, snakehead fish *Channa micropeltes* et sand goby *Oxyeleotris marmorata* ; leur élevage est un moyen de valoriser le poisson fourrage qui est abondant dans ces lacs.

1.2.3.2. Principe de la pisciculture en cages flottantes

Les cages flottantes comprennent généralement deux parties : la cage elle-même, en forme de parallélépipède, et un abri au dessus. Cet abri est destiné au logement du pisciculteur et de sa famille, ainsi qu'au stockage du matériel et des fournitures nécessaires à l'élevage. L'ensemble est construit en bois brut, provenant d'essences tropicales résistantes à l'eau, à l'exception des faces amont et aval, faites de grillage inoxydable et qui vont permettre la circulation de l'eau. La flottaison est assurée par des ballasts fixés latéralement (tiges de bambous ou de PVC, fûts) et l'ensemble est maintenu en place par un solide ancrage sur le fond du plan d'eau. Le volume moyen des cages flottantes sur le Mékong est de 121 m³ ; il varie de quelques dizaines de mètres cubes à 1620 m³ (29 m × 11 m × 5,2 m).

Le renouvellement d'eau est continu dans la cage placée en eau courante ; l'oxygène dissous est maintenu à un niveau élevé et les déchets du métabolisme des poissons sont éliminés. En outre, la cage peut se déplacer le long de ses cordes d'ancrages et se rapprocher de la berge lorsque le courant est trop fort, ou bien s'en éloigner lorsque le courant diminue. Ainsi, cette structure permet d'élever des poissons toute l'année, alors que la pisciculture en étangs est interrompue durant la crue du fleuve, lorsque les digues sont submergées. Mais, à l'opposé de l'élevage en étangs, les apports nutritifs du milieu aquatique en cages flottantes sont négligeables ; l'alimentation des poissons repose donc exclusivement sur la nourriture qui va être distribuée par le pisciculteur.



(^a) : % effectif total de poissons en cages flottantes ; (^b) : % production issue d'élevage de grossissement ; (^c) : % produits issus de la transformation ; (^d) : % production commercialisée.

Figure 4 : Filière de l'élevage de *P. bocourti* en cages flottantes sur le Mékong

D'après Cacot (1993).

1.2.3.3. Performances de la production de *P. bocourti*

P. bocourti est la principale espèce cultivée en cages flottantes puisqu'elle représentait près des trois quarts de la production en 1994 (13.400 tonnes). Comme l'élevage des *P. hypophthalmus* en étangs, l'élevage de *P. bocourti* comporte deux phases (Figure 4, Annexe 3). Le taux de survie global est de 70 %. Les pertes résultent essentiellement de la capture des juvéniles dans le milieu naturel, directement (blessures) ou indirectement (difficulté d'adaptation), et de la mauvaise qualité de l'eau en période de basses eaux (courant faible).

Une vingtaine de matières premières entrent dans la formulation de l'aliment, mais le son de riz représente plus de la moitié de la ration. Les matières premières sont cuites à l'eau dans un four installé sur la cage, puis la pâte humide ainsi préparée est distribuée sous forme de boulettes. Des Cyprinidae de petite taille sont généralement associés, afin de valoriser les particules d'aliment que les *P. bocourti* ne peuvent consommer. Des *P. hypophthalmus* sont également associés ; en raison de leurs voracité, ils entraînent les *P. bocourti* à s'alimenter en surface. L'alimentation est distribuée à satiété et le taux de conversion moyen observé est de 3,1 en phase de pré-grossissement, et de 4,6 en phase de grossissement (Cacot, 1993).

Le rendement moyen de ce type de production est de $7,9 \text{ kg.m}^{-3}.\text{mois}^{-1}$ en phase de grossissement. Ce résultat est relativement faible par rapport à d'autres élevages en cages flottantes pratiqués en eau douce (Tableau 4, Annexe 4). Il est inférieur à celui obtenu chez la carpe (*Cyprinus carpio*), *Ictalurus punctatus*, les tilapias (*Oreochromis aureus*, *O. niloticus*) et la truite (*Onchorynchus mykiss*). Il est du même ordre que celui obtenu chez le black-bass (*Micropterus salmoides*). A titre de comparaison, les rendements moyens sont de 23,8 et $17,7 \text{ kg.m}^{-3}.\text{mois}^{-1}$ respectivement chez la carpe *Cyprinus carpio* et *Ictalurus punctatus*. En revanche, le rendement moyen par cycle d'élevage chez *P. bocourti* ($82,4 \text{ kg.m}^{-3}$) est proche de celui de *Ictalurus punctatus* ($107,8 \text{ kg.m}^{-3}$) et de la carpe *Cyprinus carpio* ($92,2 \text{ kg.m}^{-3}$). La faiblesse relative du rendement mensuel chez *P. bocourti* est donc essentiellement liée à une durée d'élevage relativement longue (10,8 mois), par rapports aux espèces qui présentent un meilleur rendement, dont *Ictalurus punctatus* (6 mois) et *Cyprinus carpio* (4 mois). La meilleure croissance rapportée chez ces autres espèces est permise par une alimentation généralement adaptée aux besoins des poissons, sous forme de granulés secs contenant 36 à 40 % de protéines. Toutefois, Coche (1978) rapporte un rendement élevé avec des tilapias *Oreochromis aureus* ($17 \text{ kg.m}^{-3}.\text{mois}^{-1}$) qui s'alimentent exclusivement sur un bloom planctonique. Chez *P. bocourti*, l'alimentation repose uniquement sur la distribution d'aliment artificiel, mais la teneur en protéines de cet aliment n'est que de 20 % en moyenne et elle est variée de 13 à 32 % (Cacot, 1993).

En fin d'élevage de grossissement chez *P. bocourti*, la biomasse en cages flottantes peut atteindre $201,3 \text{ kg.m}^{-3}$. Une biomasse du même ordre est également rapportée chez *Ictalurus punctatus* ($196,4 \text{ kg.m}^{-3}$) et *Cyprinus carpio* (189 kg.m^{-3}). Ces biomasses sont nettement supérieures à celles rapportées chez d'autres espèces, tilapias, truite et black-bass.

P. bocourti est une espèce prisée pour la qualité de sa chair : sans arête, blanche et tendre. Comme *P. hypophthalmus*, *P. bocourti* est associé à son milieu d'élevage, et, dans l'esprit des consommateurs, il constitue LE poisson des cages flottantes. Mais, à la différence des étangs à latrines, où sont élevés les *P. hypophthalmus*, les cages flottantes ont la réputation d'être un milieu propre et sain.

Tableau 4 : Rendements moyens de plusieurs élevages piscicoles pratiqués en cages flottantes en eau douce

Espèce	Milieu	Charge initiale (kg.m ⁻³)	Charge finale (kg.m ⁻³)	Rendement (kg.m ⁻³)	Durée de l'élevage (mois)	Rendement (kg.m ⁻³ .mois ⁻¹)
Carpe, <i>Cyprinus carpio</i> ^(a)	Tempéré et eau réchauffée	23,2	115,4	92,2	4,0	23,8
<i>Ictalurus punctatus</i> ^(a)	Subtropical	10,0	117,9	107,8	6,0	17,7
Black-bass, <i>Micropterus salmoides</i> ^(a)	Tempéré	14,3	34,5	20,2	3,6	7,3
Truite, <i>Onchorynchus mykiss</i> ^(a)	Tempéré et eau réchauffée	22,1	64,9	42,8	4,7	10,5
Tilapia, <i>Oreochromis aureus</i> ^(a)	Tempéré et tropical	8,6	76,0	67,4	2,9	23,3
Tilapia, <i>(Oreochromis niloticus)</i> ^(a)	Tropical	10,5	67,6	57,1	4,0	14,2
<i>P. bocourti</i> ^(bc)	Tropical	14,5	63,6	49,1	7,0	8,8
<i>P. bocourti</i> ^(bd)	Tropical	22,9	105,3	82,4	10,8	7,9

^(a) : D'après Coche (1978),

^(b) : d'après Cacot (1993),

^(c) : élevage de pré-grossissement,

^(d) : élevage de grossissement.

Les *P. bocourti* de taille marchande présentent cependant un engraissement excessif : la graisse périvercérale constitue en moyenne 16 % du poids vif et elle peut atteindre 25 %. Cet engraissement résulte certainement d'une alimentation à la fois excessive (distribuée à satiété) et trop glucidique (riche en son de riz). En partie à cause de cet engraissement, le rendement de filetage est faible chez *P. bocourti* (23,5 %). A titre de comparaison, le rendement de filetage est de 30 % chez *Ictalurus punctatus* (Fauconneau et Laroche, 1996) et de 49,7 %, avec la peau, chez *Silurus glanis* (Vallod, 1987). Le faible rendement de filetage chez *P. bocourti* n'est pas considéré comme un problème majeur, car la graisse est transformée en huile alimentaire. En outre, la tendreté de la chair de *P. bocourti* paraît associée à une teneur élevée en lipides dans le muscle du poisson¹, et, du reste, les poissons gras sont appréciés au Viêt-Nam. Fauconneau et Laroche (1996) soulignent d'ailleurs l'importance des lipides musculaires dans la texture et le goût de la chair des poissons. Toutefois, l'engraissement excessif de *P. bocourti* fragilise les poissons ; les pertes sont importantes peu avant la récolte, lorsque les poissons sont littéralement gavés avec un mélange son de riz (90 %) et farine de poisson (10 %).

1.2.4. Approvisionnement en alevins de Pangasiidae

L'approvisionnement en juvéniles constitue le principal facteur limitant pour l'élevage de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Pas moins de 23 millions de juvéniles par espèce sont nécessaires chaque année (Tableau 5) et l'approvisionnement est dépendant de la capture des poissons dans le Mékong. Or, la demande en juvéniles n'a cessé de croître depuis 1989, de même que l'effort de pêche, et plusieurs pêcheurs rencontrés sur le site de Chau-Dôc ont noté une nette diminution des captures. Les juvéniles étaient initialement capturés au Viêt-Nam en nombre suffisant, mais, actuellement, quatre poissons sur cinq sont capturés au Cambodge contre seulement un seul au Viêt-Nam.

En 1996, soucieux de préserver ses ressources naturelles, le Ministère des pêches du Cambodge a interdit l'exportation vers le Viêt-Nam des juvéniles de poissons, du moins au dessous du seuil de poids vif de 100 g par individu pour *P. bocourti*. Cette mesure a eu pour effet d'augmenter considérablement le prix des juvéniles sur les sites vietnamiens de production. En 1996, les juvéniles de *P. bocourti* se négociaient jusqu'à 8000 Dôngs pièce (env. 3,80 FF), soit près de la moitié du prix du kilogramme de poisson marchand. En 1993, le prix de revient des juvéniles représentait déjà la moitié du coût de production en élevage de grossissement, et, depuis, cette part n'a cessé d'augmenter. Le même phénomène s'est produit avec la filière de pisciculture de *P. hypophthalmus* en étangs.

Le recours à la reproduction artificielle était donc devenu une nécessité pour la pérennité de l'élevage de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus*, de même que pour la préservation des stocks naturels de poissons, en danger de surexploitation.

¹ : Communication personnelle de M. NGUYEN DINH HUAN (directeur de l'usine AGIFISH de transformation des produits aquatiques à Long Xuyen).

Tableau 5 : Estimation des besoins en alevins et juvéniles de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* pour l'aquaculture vietnamienne

Phases de l'élevage	<i>P. bocourti</i>	<i>P. hypophthalmus</i>
Elevage de grossissement :		
- production annuelle (tonnes)	15.000	20.000
- N poissons produits (850 g pièce)	17,6.10 ⁶	23,5.10 ⁶
- taux de survie (%) (*)	74	98
- N poissons nécessaires (50 g pièce)	23,7.10 ⁶	23,9.10 ⁶
Elevage de pré-grossissement :		
- taux de survie (%) (*)	70	50
- N alevins éclos nécessaires	33,9.10 ⁶	47,9.10 ⁶

(*) : estimation d'après communication des producteurs (Cacot, 1993) et communication personnelle des ingénieurs de l'entreprise AGIFISH.

1.3. REPRODUCTION DES POISSONS EN ELEVAGE

1.3.1. Bases biologiques de la reproduction chez les poissons

1.3.1.1. Justification de la reproduction contrôlée

La pisciculture exige un approvisionnement en alevins en quantité suffisante et en temps voulu. Plusieurs stratégies sont possibles en milieu tropical, en fonction des espèces et surtout du contexte naturel, technique et économique, et de son évolution.

Les juvéniles issus du milieu naturel peuvent coloniser spontanément les étangs de pisciculture et les rizières, comme c'est le cas généralement pour les poissons indigènes tels que Clariidae, carpes, Channidae et gouramis. Mais, afin de contrôler l'empoisonnement des étangs (espèces, taille des juvéniles, densité), les pisciculteurs ont souvent recours à un empoisonnement artificiel. Par ailleurs, ce type d'empoisonnement est le seul possible pour l'élevage en enclos ou en cages flottantes. La capture des juvéniles dans le milieu naturel est alors la pratique la plus courante, privilégiée tant que la ressource est abondante. C'est le cas de la plupart des espèces, poissons ou crustacés, en milieu continental, saumâtre ou marin.

Ensuite, lorsque la ressource naturelle se tarit ou que les coûts d'approvisionnement augmentent, les pisciculteurs envisagent la reproduction contrôlée pour subvenir aux besoins en juvéniles. Par ailleurs, c'est parvenus à ce stade d'évolution que les pisciculteurs font souvent appel à des espèces exotiques, comme les carpes chinoises ou indiennes, dont la reproduction est déjà maîtrisée en conditions d'élevage (Nandeesh, 1994). La pisciculture des Pangasiidae au Viêt-Nam suit ce type de cheminement, et, si la reproduction de *P. bocourti* n'avait pu être maîtrisée en 1995, *Ictalurus punctatus* aurait peut-être été introduit d'Amérique du Nord, tout comme il l'a été en Inde (Tripathi, 1996).

1.3.1.2. Les différentes modalités de la reproduction contrôlée

La reproduction contrôlée implique de disposer de poissons géniteurs, en âge de se reproduire, d'une part, et pouvant être reproduits en captivité, d'autre part. Ces poissons sont généralement issus d'élevages, mais, pour certaines espèces, les géniteurs sont capturés dans le milieu naturel. Cette seconde pratique est justifiée par un âge à la première maturation gonadique trop avancé, nécessitant un élevage de plusieurs années, ou bien par une maturation gonadique qui n'est pas obtenue en élevage. C'est le cas de trois Pangasiidae : *Pangasius gigas*, *P. sanitwongsei* et *P. pangasius* sont capturés respectivement dans le Mékong, le Chao Phraya et le Gange (Chanthasoo *et al.*, 1990 ; Roberts et Vidthayanon, 1991 ; Tripathi, 1996). Cette technique est également employée chez deux autres poissons-chats d'Asie, *Wallago attu* et *Aorichthys aor* (Tripathi, 1996).

Certains poissons-chats peuvent se reproduire spontanément en conditions d'élevage. C'est le cas notamment de *Ictalurus punctatus*, *Silurus glanis*, *Clarias macrocephalus* et *Hoplosternum littorale* (Legendre *et al.*, 1996). Il s'agit d'espèces nidificatrices ; la ponte s'effectue sur un substrat ou dans un réceptacle qui permet de récupérer les œufs, ou les alevins, avec un bon rendement (Woynarovitch et Horvath, 1980). D'autres espèces peuvent également pondre naturellement en captivité mais avec un résultat médiocre, telle que *Clarias gariepinus* qui ne présente pas de comportement nidificateur et disperse ses œufs.

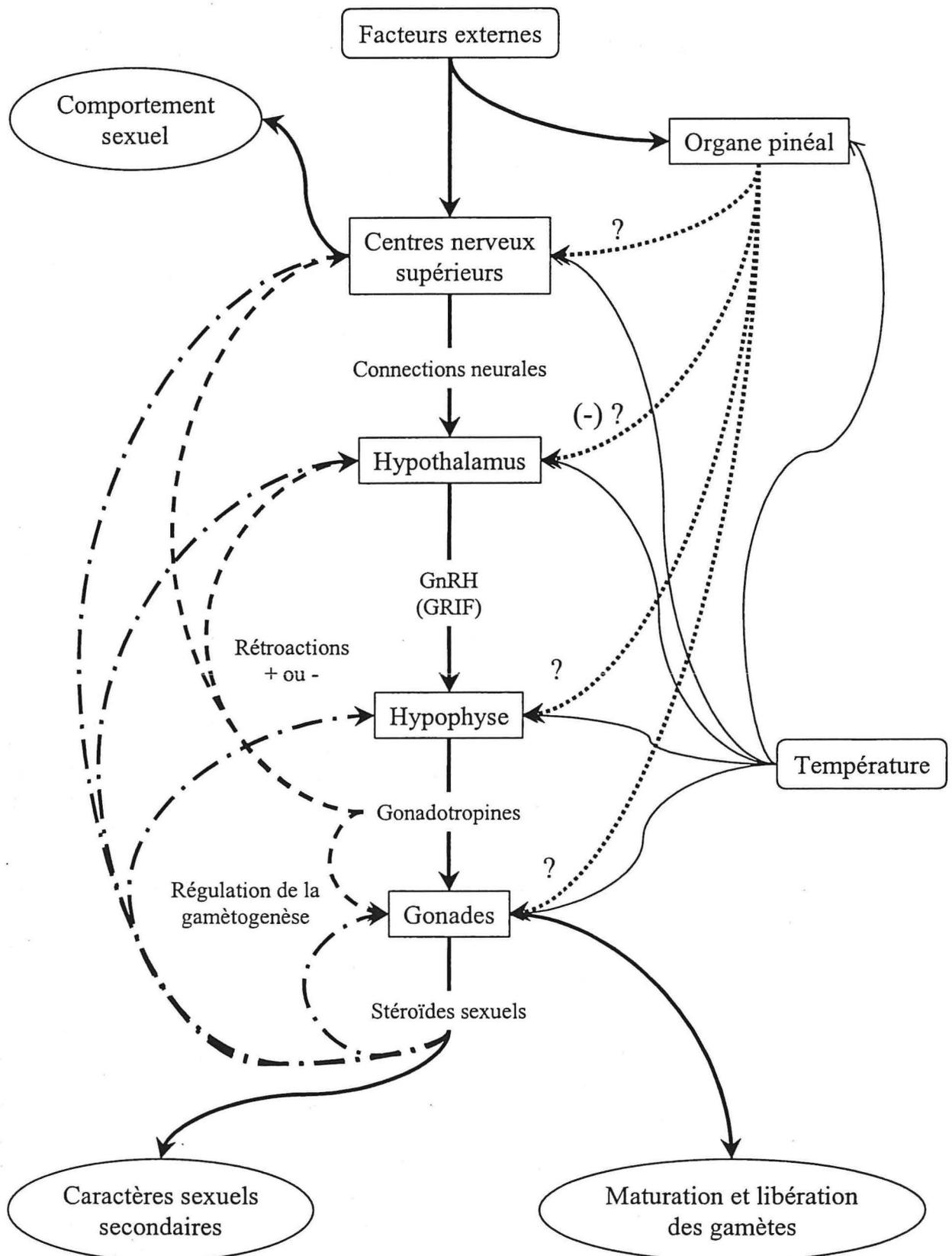


Figure 5 : Représentation schématique des mécanismes impliqués dans le contrôle de la reproduction chez les poissons téléostéens

D'après Legendre et Jalabert (1988).

A l'opposé, d'autres espèces ne peuvent pas se reproduire spontanément en captivité, dans un milieu où il manque les stimuli qui vont induire la gamétogenèse et / ou déclencher la ponte (Donaldson et Hunter, 1983). Le stress dû à l'élevage peut également interférer avec la reproduction. C'est le cas de certaines espèces qui ont été introduites dans des milieux très différents de leur milieu d'origine, comme la carpe *Ctenopharyngodon idellus*, originaire de Chine et introduite dans de nombreux pays où sa reproduction pose problème.

En Amérique du Sud, Kossowski (1996) rapporte que les poissons-chats adaptés à la vie dans les eaux torrentielles, espèces dites rhéophiles (*Sorubim lima*, *Eremophilus mutissi*, *Pseudoplatystoma fasciatum*, *Callophysus macropterus*), ne se reproduisent pas spontanément, alors que les espèces dites non-rhéophiles se reproduisent spontanément en étangs (*Hypostomus walwata*, *Hoplosternum littorale*). Pour les espèces rhéophiles, la reproduction doit être induite par stimulation hormonale.

1.3.1.3. Contrôle endocrinien de la reproduction

Le développement des gonades et le comportement reproducteur sont contrôlés par des mécanismes endocriniens complexes, eux-mêmes déterminés par les fluctuations de l'environnement naturel (de Vlaming, 1983 ; Donaldson et Hunter, 1983 ; Harvey et Carolsfeld, 1993 ; Legendre et Jalabert, 1988). Il peut s'agir de fluctuations de la photopériode ou de la température, ou bien du déclenchement de la pluie. La Figure 5 récapitule le fonctionnement de l'axe gonadotrope.

Les fluctuations de l'environnement perçues par le poisson vont agir en cascade sur le cerveau, l'hypothalamus, l'hypophyse puis les gonades. La gamétogenèse est stimulée par la gonadotropine (GtH), hormone protéique sécrétée par l'adénohypophyse. Il existe généralement deux types de GtH (I et II) qui peuvent intervenir à des moments différents de la gamétogenèse. La production de GtH est elle-même activée par une autre hormone sécrétée par l'hypothalamus, le GnRH (gonadotropin-releasing hormone). La GtH stimule au niveau des gonades la production de stéroïdes sexuels chez la femelle (testostérone et œstrogène) et chez le mâle (testostérone et 11-kéto-testostérone), qui vont induire la gamétogenèse. En retour, ces stéroïdes sexuels vont stimuler la synthèse de GtH tout en limitant sa sécrétion, régulant ainsi la fonction gonadotrope de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Chez certaines espèces dont les carpes, un cinquième type d'hormone, facteur hypothalamique inhibiteur ou GRIF (gonadotropin release – inhibitory factor), intervient pour inhiber la production de GtH, directement au niveau de l'hypophyse, ou indirectement au niveau de la production de GnRH par l'hypothalamus. Les GRIF sont des neuro-amines comme la dopamine.

Chez les femelles, l'ovogenèse, ou multiplication des ovogonies, ainsi que la croissance primaire des ovocytes sont des phénomènes dont le contrôle endocrinien est encore méconnu (Donaldson et Hunter, 1983). Les étapes ultérieures ont été en revanche bien étudiées. Ainsi, le développement des ovocytes, alors au stade prévitellogénique, est stimulé par une augmentation modérée de la GtH circulante. Au cours d'une première étape se forment les vésicules vitellines qui deviendront plus tard les alvéoles corticales. Ces vésicules vitellines sont composés de glycoprotéines synthétisés dans les ovocytes. Au cours d'une seconde étape, la vitellogenèse, les ovocytes vont accumuler de la vitellogénine pour former les plaquettes vitellines (ou globules vitellins). La vitellogénine est une phospholipoprotéine produite par le foie, en réponse à l'œstrogène produit par les ovaires en cours de maturation.

Interventions exogènes

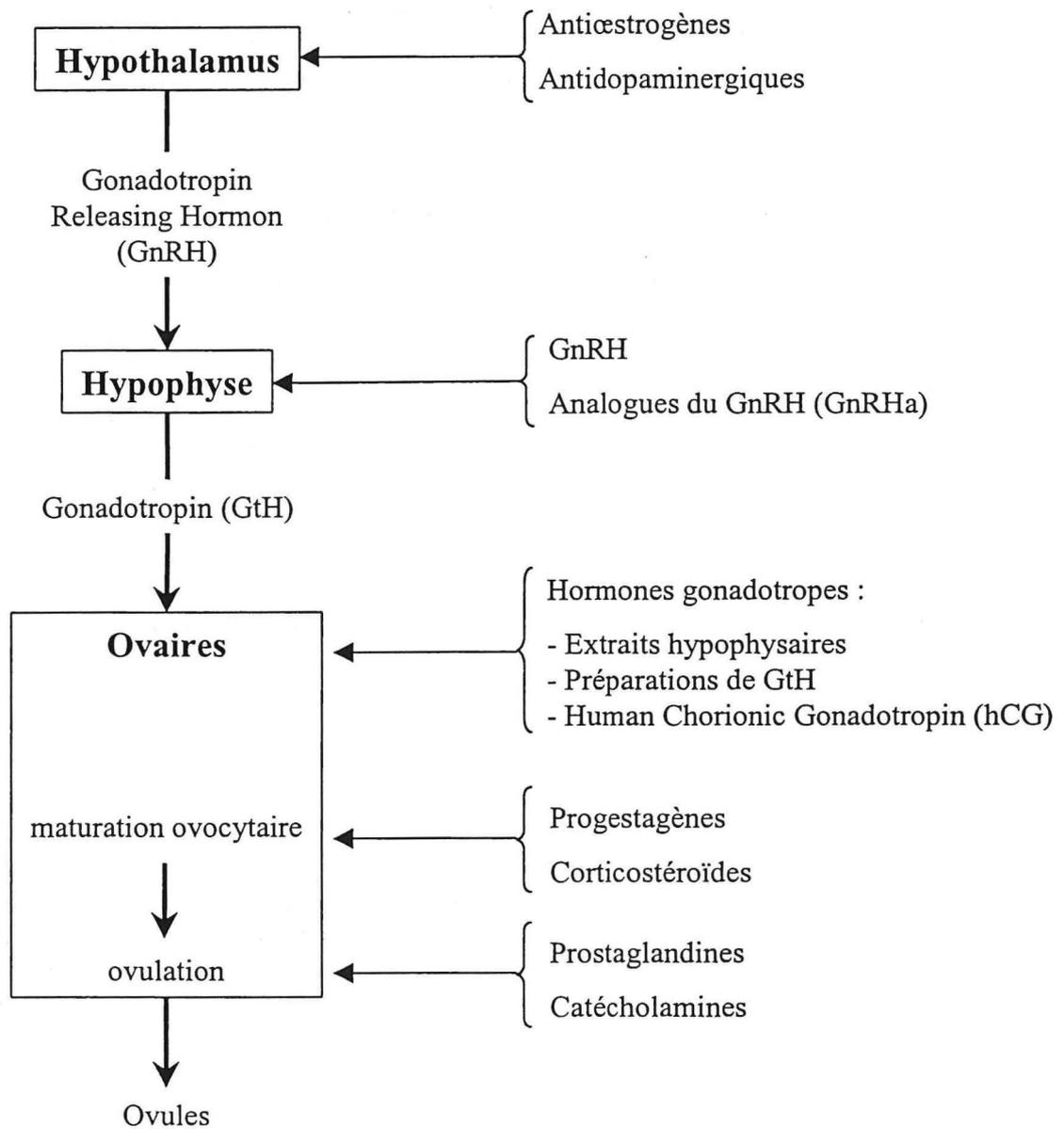


Figure 6 : Interventions exogènes sur l'axe gonadotrope destinées à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez les femelles de poissons téléostéens

D'après Donaldson et Hunter (1983).

La fin de l'ovogénèse est marquée par une chute de la production ovarienne d'œstrogène. L'inhibition de la sécrétion de GtH est alors levée et il s'ensuit une libération importante de cette hormone. Ce pic de GtH va induire, au niveau de l'ovaire, la synthèse d'un stéroïde de maturation (17 α -hydroxy-20 β -dihydro-progestérone) et de prostaglandines qui vont déclencher respectivement le processus de maturation ovocytaire suivi de l'ovulation (Jalabert, 1978). La ponte intervient ensuite, après un délai variable en fonction des espèces, et elle est conditionnée par l'environnement (présence d'un substrat de ponte notamment).

Chez les mâles en maturation, l'augmentation de GtH circulante induit dans les testicules la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig (Donaldson et Hunter, 1983). La testostérone induit à son tour la division des spermatogonies en spermatozoïdes. Le développement ultérieur des spermatozoïdes en spermatozoïdes durant la spermiogenèse peut se poursuivre sans la stimulation par la GtH. Les spermatozoïdes matures sont ensuite libérés dans la lumière du testicule où ils constituent alors les spermatozoïdes. Cette étape est induite par la GtH via la sécrétion de 11-Kétotestostérone (11K) par les cellules de Leydig. Juste avant la reproduction, la GtH induit la sécrétion de 17 α -hydroxy-20 β -dihydro-progestérone par les cellules de Leydig, qui va provoquer la production de liquide séminal et accélérer la spermiation.

Chez les mâles, la production de spermatozoïdes est un processus relativement continu en période de reproduction. Néanmoins, chez les poissons des deux sexes, la libération des gamètes, voire la phase finale de maturation gonadique, sont conditionnées par la présence d'un poisson du sexe opposé également prêt à se reproduire. Cette synchronisation entre mâles et femelles s'effectue par l'intermédiaire de phéromones produites par les gonades de chaque poisson.

1.3.1.4. Induction hormonale de la reproduction

Le processus de maturation gonadique est incomplet chez les poissons qui ne se reproduisent pas spontanément en captivité (Donaldson et Hunter, 1983). Un blocage de la maturation intervient à différents stades, en fonction des espèces et du milieu d'élevage : très précocement chez les anguilles (*Anguilla anguilla* et *A. japonica*) ou en fin de gamétogenèse chez les carpes. La maturation des mâles et des femelles peut être différemment affectée en fonction des espèces. Chez les saumons, les mâles sont généralement matures (spermiation abondante) alors que la maturation ovocytaire doit être provoquée chez les femelles. A l'opposé, chez les Clariidae, les mâles ne sont jamais spontanément spermiant alors que les femelles atteignent un stade avancé de maturation (Legendre *et al.*, 1996).

Le blocage de la maturation gonadique est causé par une ou plusieurs déficiences(s) hormonale(s) à différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Il s'agit généralement d'une production insuffisante de GtH due à une stimulation trop faible de l'hypophyse par le GnRH de l'hypothalamus. Chez certaines espèces (carpes, anguilles), cette déficience est associée à une inhibition directe de la production de GtH par la dopamine. L'induction hormonale consiste à pallier le déficit de GtH ; plusieurs stimulations sont possibles le long de l'axe gonadotrope pour induire la maturation ovocytaire et l'ovulation (Figure 6).

Chez les poissons-chats, trois traitements sont privilégiés, de façon pratique, pour induire la maturation ovocytaire et l'ovulation (Legendre *et al.*, 1996). Les deux premiers traitements font intervenir une hormone gonadotrope qui va remplacer la GtH endogène et agir directement sur la gonade. Des extraits hypophysaires de poissons matures peuvent être

employés : c'est la méthode d'hypophysation, la plus ancienne pour induire la reproduction des poissons (Von Ihering, 1937)¹. Une hormone gonadotrope de mammifère peut également être employée, l'hCG (human chorionic gonadotropin), extraite et purifiée à partir de l'urine de femme enceinte (Tangtrongpiros *et al.*, 1988). Le troisième traitement fait intervenir un analogue du GnRH² (GnRHa) qui va stimuler la libération de GtH endogène, agissant ainsi indirectement sur la gonade. Une molécule anti-dopaminergique (dompéridone, pimozide) peut être associée au GnRHa, afin de lever l'inhibition de la production de GtH par la dopamine, comme c'est le cas chez les carpes : c'est la méthode de Linpe (Lin et Peter, 1981)¹.

Les mêmes types d'hormones sont employés chez les mâles pour stimuler la spermiation, avec toutefois une dose généralement plus faible que celle des femelles.

Chacun de ces trois traitements présente des avantages et des inconvénients. Les extraits hypophysaires entiers sont généralement disponibles au Viêt-Nam et bon marché, mais il s'agit d'un produit dont l'activité biologique n'est pas standardisée. Le contenu des hypophyses en hormone gonadotrope est en effet sujet à des variations individuelles entre poissons donneurs.

L'hCG est une hormone disponible au Viêt-Nam, pour usage médical (importée d'Europe) ou piscicole (produite localement). De plus, l'activité biologique de l'hCG présente l'avantage d'être standardisé, la quantité d'hormone étant exprimée en unité internationale (UI). Ces hormones gonadotropes, extraits hypophysaires et hCG, sont des molécules de grande taille (30 KD pour l'hCG), injectées à des doses importantes (en mg.kg⁻¹ pour les extraits hypophysaires) et donc susceptibles d'entraîner une réaction immunitaire chez les poissons traités. Ce phénomène a été suspectée chez la carpe *Aristichthys nobilis*, traitée à l'hCG, pour justifier des résultats variables d'une année sur l'autre chez les mêmes individus (Freshwater commercial fish artificial propagation work groups in Fujian, Jaingsu, Zhejiang, Shanghai, 1977)¹. Une réaction immunitaire à l'hCG a été également suspectée chez la carpe *Cyprinus carpio* (Avtalion et Zohar, 1981)³. Toutefois, d'après une étude immunologique faite par Van der Kraak *et al.* (1989)¹, cet effet secondaire est mineur et les mauvaises performances éventuelles de la reproduction avec l'hCG ont d'autres causes. Dans ce sens, l'utilisation répétée d'hCG n'altère pas les performances de reproduction chez *Heterobranchus longifilis* (Legendre, 1986), la loche *Misgurnus anguillicaudatus* (Suzuki, 1983) et l'anguille *Anguilla japonica* (Ohta *et al.*, 1996).

En revanche, le GnRHa est une petite molécule (nano ou décapeptide) très active et donc injectée à faible dose (µg.kg⁻¹ ou dizaines de µg.kg⁻¹), et, par conséquent, peu ou pas antigénique. Mais il existe plus de 2000 formes de GnRHa dont l'efficacité est variable (Sherwood *et al.*, 1988). Par ailleurs, un seul analogue est actuellement disponibles au Viêt-Nam (mGnRHa, importé de Chine).

¹ : Cité par Donaldson et Hunter (1983).

² : Parmi les analogues du GnRH disponibles (GnRHa), on distingue : 1) les analogues du GnRH de mammifère ou mGnRHa mais couramment appelés LHRHa (Luteizing Hormone Releasing Hormone) ; 2) les analogues du GnRH d'autres animaux, comme le GnRHa de saumon (sGnRHa).

³ : Communication personnelle citée par Billard *et al.* (1987).

1.3.2. Etat des recherches chez les Pangasiidae

1.3.2.1. Induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation

D'après une recherche bibliographique exhaustive¹, les travaux publiés sur la reproduction des Pangasiidae concernent essentiellement *P. hypophthalmus* en Thaïlande (Boonbrahm, 1959 ; Boonbrahm *et al.*, 1970), en Malaisie (Thalathiah *et al.*, 1988) et en Indonésie (Hardjamulia *et al.*, 1981 ; Meenakarn, 1986). Dans ces pays, l'approvisionnement en juvéniles est assuré maintenant par la reproduction artificielle. Des résultats ont également été rapportés au Viêt-Nam sur la reproduction de *P. hypophthalmus* (Huy *et al.*, 1990 ; Kiem, 1992 ; Xuan, 1994), mais, peu fiables, ils n'ont pas permis l'extension de la technique pour la production de juvéniles à grande échelle (Annexe 1). La reproduction de quatre autres Pangasiidae a également été rapportée : *P. pangasius* en Indonésie (Meenakarn, 1986) et en Inde (Tripathi, 1996), *P. sanitwongsei* (Chanthasoo *et al.*, 1990), *P. gigas* (Pholprasith, 1983)² et *P. larnaudi*³ en Thaïlande. En 1994, la reproduction artificielle de 16 autres espèces de Pangasiidae, dont *P. bocourti*, n'avait pas encore été étudiée ou restait à mettre au point.

Les traitements destinés à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation, recensés en 1994 chez trois espèces de Pangasiidae, sont récapitulés en Annexe 5. Les extraits hypophysaires sont employés chez *P. hypophthalmus* et *P. pangasius*. Chez *P. hypophthalmus*, les extraits hypophysaires utilisés sont homologues ou hétérologues (carpes, *Clarias* sp.) et ils peuvent être associés avec l'hCG ou le GnRH α . Le GnRH α a également été employé seul avec succès chez *P. hypophthalmus*, et associé avec du dompéridone chez *P. sanitwongsei*. En revanche, l'hCG n'a jamais été employée seule. Par ailleurs, les auteurs ne décrivent pas les processus de maturation ovocytaire et d'ovulation, ils ne fournissent pas non plus de détail sur la qualité des ovules obtenus. De même, aucune indication du cycle sexuel au cours de l'année n'est précisée.

Les partenaires vietnamiens de l'entreprise AGIFISH avait tenté, à plusieurs reprises et sans succès, d'induire la maturation ovocytaire et l'ovulation des femelles de *P. bocourti* élevées en cages flottantes. Voici, à titre indicatif, l'un des traitements testés en 1992 et en 1993 :

1^{ère} injection :2 doses d'extraits hypophysaires de *P. hypophthalmus*
2^{ème} injection (8 h après i1) : 4000 UI hCG.kg⁻¹
3^{ème} injection (10 h après i2) : 10.000 UI hCG.kg⁻¹
volume de solution : 5 ml par injection

L'hCG utilisée était produite au Viêt-Nam, où elle est toujours employée avec succès pour induire la reproduction d'espèces telles que carpes, *Clarias* sp. et gouramis. Les injections pratiquées chez *P. bocourti* étant répétées, avec des doses d'hCG très élevées, l'absence d'ovulation était probablement liée à une mauvaise réceptivité du poisson. Les femelles de *P. bocourti* traitées étaient âgées de 4-5 ans. Elle présentaient des follicules bien

¹ : Ces travaux incluent les références issues d'une interrogation bibliographique, réalisée le 15 juillet 1997, dans les bases de données suivantes : CAB, AGRIS, BIOSIS, ASFA, PASCAL, AGRICOLA, avec le mot « Pangasius». Au total, 18 références concernaient la reproduction, dont sept en anglais, sept en thaïlandais, une en chinois, une en indonésien, et une en vietnamien.

² : Cité par Roberts et Vidthayanon (1991).

³ : Mentionné par Roberts et Vidthayanon (1991).

développés (couleur jaune, facilement dissociables) avant l'application du traitement, bien qu'aucune mesure du diamètre ovocytaire ni observation précise de la vésicule germinative n'aient été effectuées.

1.3.2.2. Induction de la spermiation et gestion du sperme

Aucun travail particulier n'a porté spécifiquement sur l'induction de la spermiation des mâles de Pangasiidae. Les mâles de *P. hypophthalmus* sélectionnés pour la reproduction sont spontanément spermiantes, mais ils reçoivent quand même un traitement destiné à augmenter le volume de sperme collecté. L'hormone est la même que celle injectée aux femelles, mais à une dose généralement deux fois plus faible. Une seule injection est appliquée aux mâles, lorsque les femelles reçoivent la dernière injection de leur traitement. Ils reçoivent ainsi une injection d'hCG à 50 UI.kg⁻¹ (Thalathiah *et al.*, 1988), ou bien une injection d'extraits hypophysaires (EH) : 1-2 mg.kg⁻¹ (Xuan, 1994) ou 0,20-0,23 dose d'EH de *Clarias batrachus* (Boonbrahm *et al.*, 1970).

Huy *et al.* (1990) remarquent une spermiation hétérogène chez *P. hypophthalmus*, au niveau du volume de sperme émis et de la concentration en spermatozoïdes, sans toutefois rapporter de mesures de ces paramètres. La dose d'extraits hypophysaires est augmentée, de 0,5 à 1,0 dose, lorsque le volume de sperme émis est jugé trop faible, ou bien lorsque le sperme paraît peu concentré (couleur claire).

Chez *P. hypophthalmus*, le sperme était collecté par striping et ajouté directement sur les œufs, l'ensemble mélangé 30 secondes, puis l'eau était ajoutée pour déclencher la fécondation (Huy *et al.*, 1990). Bien que la qualité des ovules puisse intervenir, ce mode d'utilisation du sperme n'était probablement pas optimal compte tenu du faible taux d'éclosion obtenu (27,9 % en moyenne). Plus généralement, la conservation du sperme à l'état frais et les modalités de fécondation n'avaient pas été étudiées chez les Pangasiidae. En revanche, en Thaïlande, une méthode de cryoconservation du sperme avait été mise au point chez *P. gigas* (Mongkonpunya *et al.*, 1995 ; Pupipat, 1986) et *P. sanitwongsei* (Pupipat, 1986). Cette technique a été tentée chez *P. hypophthalmus*, mais sans succès (Withler, 1982).

CHAPITRE 2

POISSONS GENITEURS ET CONDITIONS D'ELEVAGE

2.1. AMELIORATIONS APPORTEES A L'ELEVAGE DES POISSONS GENITEURS

2.1.1. Bilan des pratiques locales en 1994

Lorsque l'étude a commencé en 1994, les partenaires vietnamiens disposaient déjà d'un stock de poissons géniteurs, dont 1500 *P. bocourti* et 300 *P. hypophthalmus* élevés en cages flottantes à Chau-Dôc, et 32 *P. hypophthalmus* élevés en étangs à Can-Tho. La conduite de ces élevages était le fruit de pratiques empiriques, prolongement des élevages de grossissement conduits dans le delta du Mékong, sans réel aménagement spécifique à l'élevage d'un stock de poissons destinés à la reproduction. Les trois points suivants illustrent les principales lacunes de ces pratiques :

1) Une densité d'empoissonnement élevée en cages flottantes, avec 1300 poissons de 5,3 kg stockés dans un volume de 222 m³ (répartis entre trois cages), soit huit poissons (43 kg) par mètre cube. Cette densité nécessite l'aération de la cage en saison sèche, pour compenser la baisse de débit du fleuve.

2) Un suivi aléatoire du stock de géniteurs : les poissons n'étaient généralement capturés que durant les quelques mois de la saison de reproduction. De ce fait, ni la biomasse du stock de poisson, ni le déroulement du processus de maturation gonadique n'étaient connus avec précision. Enfin, le marquage des poissons se limitait à graver sur la tête des animaux un numéro. Outre la blessure occasionnée, cette technique a pour inconvénient la tenue limitée de la marque à quelques semaines.

3) Une alimentation inadaptée en cages flottantes, constituée par un aliment complet et distribué à satiété sous forme de pâte humide cuite. Cette pâte était préparée à base de son de riz (30 %), de farine de poisson (60 %), de grains de maïs germés (10 %) et d'un concentré vitaminique (0,3 % du total). Cet aliment présentait l'inconvénient d'être relativement glucidique, et préparé à partir de matières premières conservées sur la cage, donc exposées à l'humidité. En étangs, les *P. hypophthalmus* ne recevaient d'alimentation qu'en saison de reproduction, sous forme de pâte humide constituée de son de riz et de farine de poisson, distribuée à satiété.

En 1994, les femelles de *P. bocourti* élevées en cages flottantes et en cours de maturation présentaient un rapport gonado-somatique (RGS) moyen faible (0,5 %), associé à un important dépôt de tissus adipeux péri-viscérale important (12 %). Ce déséquilibre était probablement imputable à l'inadaptation des conditions d'élevage, aux besoins des poissons en période de maturation gonadique. L'étude a donc commencé par l'amélioration de la gestion du stock de poissons géniteurs disponibles.

2.1.2. Vers une meilleure gestion du stock de poissons géniteurs

En 1994, la première phase du projet a été consacrée à l'aménagement des structures d'élevage. Les étangs disponibles à l'Université de Can-Tho ont été sur-creusés et équipés d'une adduction d'eau. A Chau-Dôc, avec l'entreprise AGIFISH, de nouvelles cages flottantes ont été construites en grillage souple et sans toit. Ensuite, les poissons géniteurs ont été mis en élevage dans ces structures.

Pour les deux espèces, l'étude a été conduite simultanément en cages flottantes et en étangs, afin d'évaluer l'influence du milieu d'élevage sur l'efficacité de la reproduction. Cette démarche est relativement originale par rapport aux pratiques locales, car *P. hypophthalmus* n'est pratiquement élevé qu'en étangs, alors que *P. bocourti* est élevé exclusivement en cages flottantes. Cette spécialisation est héritée de pratiques traditionnelles, selon lesquelles chaque espèce se prête à un seul milieu d'élevage, ce qui n'est cependant justifié par aucune donnée tangible.

D'après une recherche bibliographique exhaustive¹, l'élevage des poissons géniteurs en étangs est généralement pratiqué chez les espèces dulçaquicoles. Cela concerne en particulier 14 espèces répertoriées, réparties en trois catégories : les poissons carnassiers, les carpes et les poissons-chats. Ces trois catégories de poissons sont présentes à la fois en milieu tropical et tempéré. Inversement, l'élevage des poissons géniteurs en cages flottantes concerne essentiellement des espèces marines (13 espèces répertoriées). Quelques espèces dulçaquicoles présentent cependant des géniteurs élevés en cages flottantes : le tilapia *Oreochromis niloticus* (Fermin, 1988) et les carpes *Aristichthys nobilis* (Santiago *et al.*, 1991) aux Philippines et *Cyprinus carpio* en Indonésie (Subagyo et Hardjamulia, 1992), ainsi que le corégone *Coregonus peled* en Pologne (Mamcarz et Worniallo, 1985). Le stockage en cages flottantes est également rapporté en Indonésie chez un Pangasiidae, *Pangasius pangasius* (Meenakarn, 1986). Il s'agit d'ailleurs du seul élevage répertorié de poissons géniteurs en cages flottantes sur une rivière en eau courante, les autres élevages en cages flottantes en eau continentale s'effectuant sur des lacs en eau stagnante. Les géniteurs de *P. hypophthalmus* sont généralement élevés en étangs (Thalathiah *et al.*, 1988 ; Huy *et al.*, 1990). Quelles que soient les espèces, aucune étude n'est rapportée concernant la comparaison des performances de la reproduction, obtenues en cages flottantes et en étangs.

Près de 100 poissons géniteurs de *P. bocourti* ont été transférés des cages flottante en étangs. Les poissons étaient mis en élevage dans ces structures, à des densités relativement faibles, en comparaison de celles observées en élevages de grossissement. Depuis 1994, ces poissons ont pu être suivis de façon rigoureuse, grâce à des inventaires réguliers et au marquage individuel de tous les individus du stock.

L'alimentation des poissons a été améliorée de façon progressive, au niveau de la qualité et de la nature des matières premières incorporée (riches en protéines). Dans le même temps, la préparation de l'aliment a été rendue plus facile, par la confection d'une pâte humide crue, puis par la fabrication de granulés secs. Un rationnement différent a été appliqué pour les deux espèces, plus important pour *P. hypophthalmus* que pour *P. hypophthalmus*, en raison d'un engraissement plus important observé chez *P. bocourti*.

Les conditions d'élevage qui sont décrites sont donc le fruit d'améliorations des pratiques mises en œuvres par les partenaires vietnamiens. C'est dans ces conditions qu'ont été obtenues les premières reproductions artificielles de *P. bocourti*, et qu'a été mise au point la reproduction artificielle de *P. hypophthalmus*. Néanmoins, aucun test comparatif n'a été réalisé, notamment au niveau de la densité d'élevage et de l'alimentation ; aussi est-il peut-être possible d'améliorer encore les conditions d'élevage avec ce type d'approche.

¹ : Ces travaux incluent les références issues d'une interrogation bibliographique, réalisée le 25 novembre 1997, dans les bases de données suivantes : AGRIS, ASFA, BIOSIS, PASCAL, CAB, AGRICOLA, avec les mots clefs suivants (en français et en anglais) : reproduction, élevage, captivité, cage, étang, maturation. Au total, 90 références ont été trouvées.

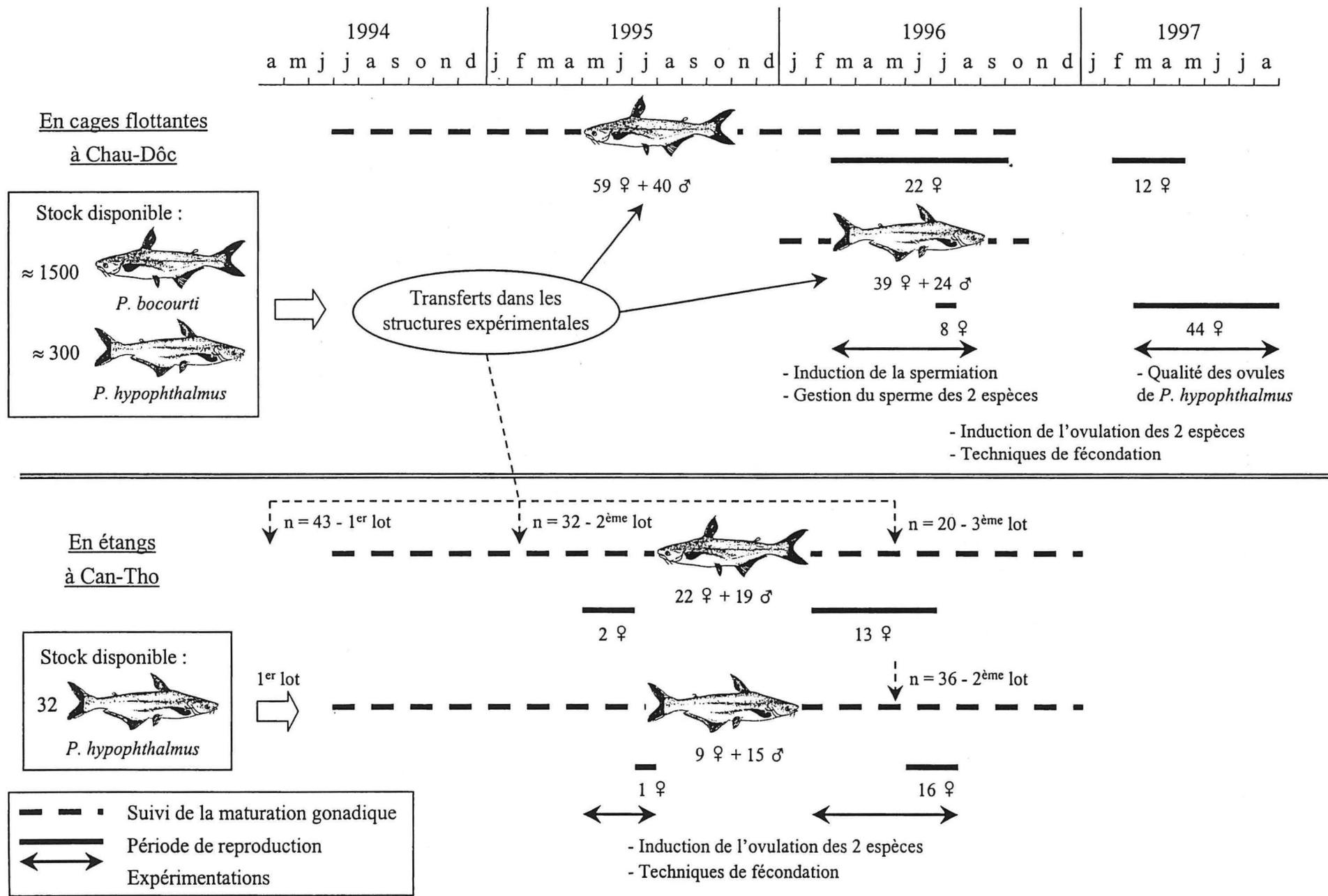


Planche 1 : Répartition des stocks de poissons géniteurs et des expérimentations

2.2. ELEVAGE DES POISSONS GENITEURS EN ETANGS

2.2.1. Description des poissons géniteurs

2.2.1.1. Origine des différents lots de poissons

Les géniteurs de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont des poissons sauvages issus de la capture de juvéniles dans le milieu naturel. L'emploi de ce type de géniteurs a été rapporté avec des *P. pangasius* en Indonésie ; des juvéniles sont capturés en rivière puis élevés en cages flottantes durant plusieurs années (Meenakarn, 1986). De même, chez *Heterobranchus longifilis*, des juvéniles sauvages qui ont colonisé spontanément un étang de pisciculture sont devenus des géniteurs (Legendre, 1986). En outre, des géniteurs sauvages capturés en période de reproduction peuvent aussi être employés (§ 1.3.1.2, p 36).

Les futurs poissons géniteurs étaient probablement âgés de quelques semaines à six mois lors de leur capture dans le Mékong (i.e. poids vif n'excédant pas 200 g). Ensuite, ces poissons ont été élevés durant au moins trois années avant que ne débutent nos suivis en 1994. Cet élevage était pratiqué en étangs ou en cages flottantes pour *P. hypophthalmus*, et en cages flottantes pour *P. bocourti*. Afin de compléter l'effectif du cheptel étudié, plusieurs lots de poissons ont été acquis auprès de l'entreprise AGIFISH depuis 1994, dont deux pour *P. hypophthalmus* et trois pour *P. bocourti* (Planche 1, Annexe 6). Au total, 163 poissons géniteurs ont été transférés dans les étangs expérimentaux sur le campus de l'Université de Can-Tho. Sur ce cheptel, 49 poissons sont morts, accidentellement suite aux manipulations, ou bien ont été sacrifiés pour des observations.

Dans le cas des poissons initialement élevés en cages flottantes sur le Mékong, leur transfert en étangs a été effectué par transport en bateau vivier. Ce bateau présente une coque submersible avec une fenêtre grillagée qui permet la circulation de l'eau. Trois transferts ont été réalisés depuis Chau-Dôc, ville située à 120 km en amont de Can-Tho, en naviguant sur le Mékong puis en empruntant un canal jusqu'à la station piscicole. Les transferts ont eu lieu lorsque le niveau du Mékong était à un niveau suffisamment haut pour que le bateau puisse passer dans le canal, généralement au moment de la nouvelle lune. Pour prévenir une baisse de la teneur en oxygène dissous dans l'eau de la coque, lors du passage dans le canal, l'aération a été assurée par des diffuseurs d'air. Après le transfert des poissons, l'eau des étangs a été aérée par pompage de l'eau, de façon constante toutes les nuits durant une semaine, pour habituer progressivement les poissons à leur nouvel environnement. La teneur en oxygène dissous est notamment plus faible en étang que dans le Mékong, la nuit en particulier. Ces précautions ont permis d'effectuer le transfert de 131 poissons géniteurs avec seulement huit pertes, soit un taux de survie de 94 %.

Tableau 6 : Biométrie des poissons géniteurs élevés en étangs

A) Géniteurs de *P. bocourti* (3 lots confondus)

Poissons	Paramètres	Déc. 94	Déc. 95	Déc. 96	Total	
					Min.	Max.
Mâles	Lf (cm)	62,9 ± 2,4	66,1 ± 3,0	68,1 ± 3,5	58,0	77,0
	PV (kg)	4,2 ± 0,6	5,0 ± 1,0	5,8 ± 1,0	3,4	8,4
	CC	1,68 ± 0,12	1,71 ± 0,20	1,83 ± 0,17	1,41	2,16
	N	21	21	19	-	-
Femelles	Lf (cm)	*** 67,8 ± 3,4	*** 71,3 ± 3,4	*** 73,2 ± 3,4	62,5	79,5
	PV (kg)	*** 5,4 ± 0,9	*** 6,6 ± 1,3	*** 7,2 ± 1,1	3,2	9,2
	CC	1,71 ± 0,17	1,81 ± 0,18	1,83 ± 0,16	1,28	2,13
	N	19	39	30	-	-

B) Géniteurs de *P. hypophthalmus*

Poissons	Paramètres	Lot 1			Lot 2	total	
		Déc. 94	Déc. 95	Déc. 96	Déc. 96	Min.	Max.
Mâles	Lf (cm)	74,0 ± 6,6	80,8 ± 5,8	84,2 ± 5,7	75,6 ± 3,4	67,5	97,5
	PV (kg)	5,4 ± 1,6	6,6 ± 1,5	8,7 ± 1,6	6,3 ± 1,0	4,0	11,9
	CC	1,31 ± 0,07	1,24 ± 0,07	1,44 ± 0,09	1,45 ± 0,10	1,16	1,61
	N	18	17	15	9	-	-
Femelles	Lf (cm)	* 81,8 ± 7,9	* 86,4 ± 5,3	* 89,0 ± 5,3	76,7 ± 4,4	70,5	95,0
	PV (kg)	** 7,7 ± 2,2	** 8,7 ± 1,6	*10,6 ± 1,6	6,9 ± 1,2	4,8	12,7
	CC	* 1,38 ± 0,06	* 1,34 ± 0,07	1,49 ± 0,09	1,53 ± 0,13	1,24	1,74
	N	9	10	11	11	-	-

- Lf : longueur à la fourche,
- PV : poids vif,
- CC : coefficient de condition,
- N : effectif observé,
- différences significatives entre mâles et femelles d'une même espèce : * (P < 0,05) ; ** (P < 0,01) ; *** : (P < 0,001).

2.2.1.2. Données biométriques

Le poids vif individuel des poissons géniteurs varie de 3,2 à 9,2 kg chez *P. bocourti* et de 4,0 à 12,7 kg chez *P. hypophthalmus* (Tableau 6.A et B). Pour les trois années et pour les poissons des deux sexes, les poissons du premier lot de *P. hypophthalmus* sont de plus grande taille et de poids supérieur à tous les autres poissons ($P < 0,01$); ces poissons sont probablement plus âgés que tous les autres. Le poids moyen des *P. hypophthalmus* du second lot n'est en revanche pas significativement différent de celui des *P. bocourti* en 1996. Pour les trois années, les femelles sont plus développées que les mâles au niveau du poids vif et de la longueur totale, respectivement de 29 et 8 % en moyenne pour *P. bocourti* et de 32 et 8 % pour *P. hypophthalmus*.

L'embonpoint des poissons peut être apprécié précisément en calculant le coefficient de condition dont la formule est la suivante (Kartas et Quignard, 1984) :

$$\text{Coefficient de condition} = 10^5 \times \frac{\text{poids vif (g)}}{\text{longueur à la fourche (mm)}^3}$$

Le coefficient de condition varie de 1,28 à 2,16 chez *P. bocourti* et de 1,16 à 1,74 chez *P. hypophthalmus*. Il est significativement plus élevé chez *P. bocourti* que chez *P. hypophthalmus*, en moyenne de 30 % pour les mâles et de 25 % pour les femelles. Chez *P. bocourti*, en considérant le poids vif comme covariable de l'analyse de variance, le coefficient de condition des mâles n'est pas significativement différent de celui des femelles. Pour les poissons du premier lot de *P. hypophthalmus*, le coefficient de condition des femelles est légèrement supérieur de 7 % en moyenne à celui des mâles en 1994 et en 1995.

La différence d'embonpoint entre les deux espèces est peut-être liée à une différence d'engraissement, évalué par le développement du tissu adipeux péri-viscéral chez les poissons morts ou sacrifiés (Figure 7). En effet, bien que le nombre d'observations chez *P. hypophthalmus* soit limité, le rapport adipo-somatique (RAS) de *P. bocourti* (2,6 à 20,1 %) paraît nettement plus important que celui de *P. hypophthalmus* (0,9 à 2,8 %) en 1995 et en 1996. Le RAS a toutefois diminué presque de moitié chez *P. bocourti* de 1994 à 1996, en passant de 13,0 à 7,4 % ($P < 0,05$). Cette évolution est probablement due à une amélioration du régime alimentaire des poissons géniteurs élevés en étangs. Par ailleurs, pour les deux espèces, le développement du tissu adipeux péri-viscéral n'apparaît pas corrélé avec aucun autre paramètre biométrique mesuré.

2.2.2. Structures d'élevage

2.2.2.1. Les étangs

L'Université de Can-Tho, avec la station piscicole, se trouve en plein cœur du delta du Mékong sur le bord du « Hau-Giang », ou bras inférieur de ce fleuve. La station piscicole elle-même et les étangs expérimentaux sont localisés en bordure d'un large canal relié au Mékong. Le fleuve se jette en Mer de Chine Méridionale¹, au niveau d'une embouchure située à 120 km en aval de Can-Tho. La faible altitude du delta du Mékong rend le débit du fleuve sensible aux flux et reflux des marées en Mer de Chine, jusqu'au niveau de Can-Tho et même plus haut en amont. L'eau salée ne pénètre cependant qu'à environ 50 km dans les terres. Cette

¹ : La Mer de Chine Méridionale est appelée « Mer de l'Est » au Viêt-Nam.

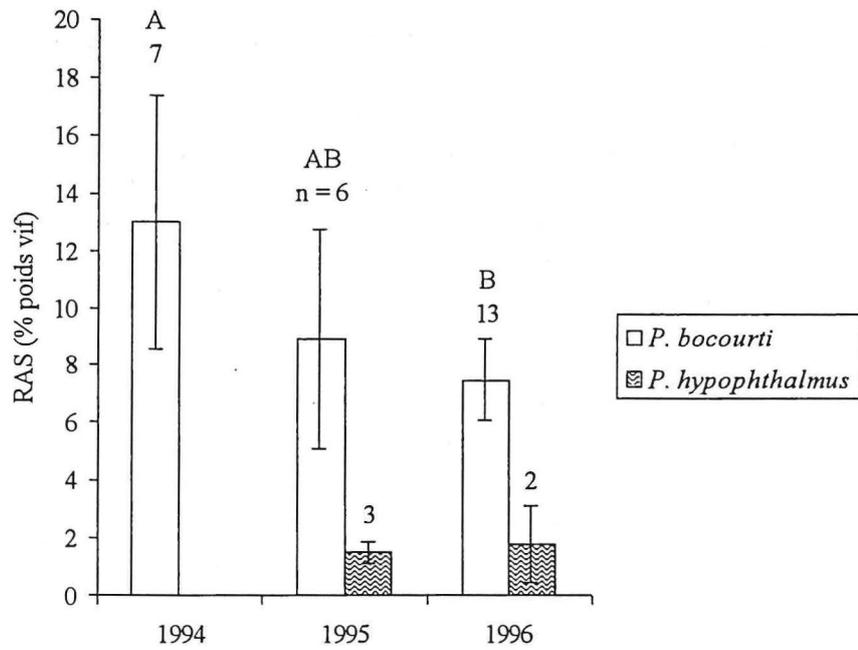


Figure 7 : Rapport adipo-somatique (RAS) chez les poissons géniteurs, mâles et femelles confondus, élevés en étangs

- n : nombre de poissons,
- différences significatives entre les années chez *P. bocourti* notées par des lettres différentes : A, B, AB ($P < 0,05$).

situation hydrographique se traduit par de fortes variations de la hauteur d'eau dans tout le réseau de canaux aux alentours de Can-Tho, variations qui se manifestent quatre fois par jour durant toute l'année. Ce phénomène est exploité pour renouveler l'eau des étangs de la station par gravité. Au rythme quotidien des marées se superpose le rythme annuel des crues qui influe également sur le débit de l'eau dans les canaux.

En période de crue, dans le delta du Mékong, les berges des étangs sont généralement submergées. Cela n'a pas été le cas des étangs employés pour les géniteurs de *Pangasius*, situés à Can-Tho sur un terrain relativement élevé. Par ailleurs, la quasi-totalité de la surface du canal d'adduction des étangs est couverte d'ipomées (*Ipomoea aquatica*), une sorte de cresson local, flottant naturellement et cultivé pour la consommation humaine et animale. La présence de ce végétal contribuerait à une certaine épuration naturelle de l'eau du canal.

Quatre étangs, en terre et de forme rectangulaire, sont utilisés pour l'élevage du stock de poissons géniteurs (Tableau 7). Ils existaient déjà en 1994 et des aménagements ont été apportés avant leur mise en service pour les *Pangasius*. Les étangs ont été sur-creusés pour augmenter la profondeur et les berges ont été consolidées et plantées d'herbe afin de limiter l'érosion due principalement à la pluie. Une canalisation a été posée entre chaque étang et le canal aux ipomées afin de permettre le renouvellement de l'eau. Les deux extrémités des canalisations sont équipées de vannes à clapet qui permettent un contrôle simple de la vidange et du remplissage par gravité. Ces vannes permettent de maintenir constant le niveau de l'eau dans les étangs, en compensant automatiquement les pertes dues à l'évaporation. De plus, le quart du volume est renouvelé chaque mois à l'occasion des fluctuations importantes survenant dans le canal à chaque nouvelle lune.

L'équipement de chaque étang est complété par une pompe à eau électrique de 2 CV (1,6 kilowatt). La pompe aspire l'eau de l'étang et la rejette à l'air libre au-dessus de l'étang, à travers un tuyau percé de 1,5 m de long. Ce circuit fermé permet d'aérer l'eau et d'induire un certain courant dans l'étang, augmentant ainsi la teneur en oxygène dissous. Ces pompes sont utilisées la nuit durant la saison de reproduction des deux espèces, de mars à juillet, afin d'améliorer la qualité de l'eau. Elles servent aussi à aérer l'eau lors de la manipulation des poissons, principalement lors de leur capture.

2.2.2.2. Empoisonnement des étangs

Pour *P. bocourti*, l'empoisonnement des étangs 1 et 2 est semblable, respectivement de 19,3 et 19,7 m² par poisson et de 326 et 283 g par m² en moyenne (Tableau 8A). Les étangs 3 et 4 d'élevage des *P. hypophthalmus* sont plus chargés puisque l'empoisonnement moyen est respectivement de 13,5 et 17,1 m² par poisson et de 577 et 333 g par m² (Tableau 8B).

Ces densités sont très faibles en comparaison à l'empoisonnement employé en condition de production (jusqu'à 6 kg.m⁻² chez *P. hypophthalmus*), procurant ainsi des conditions optimales pour les poissons géniteurs. La densité d'élevage pour les géniteurs de *P. hypophthalmus* est cependant deux à trois fois supérieure à celle qui avait été employée par Huy *et al.* (1990) (100-210 g.m⁻²) et Xuan (1994) (200-300 g.m⁻²). Cependant, les géniteurs bénéficient ici d'un renouvellement d'eau bimensuel et d'une aération de l'eau en période de reproduction. Les densités employées ici sont également supérieures à celle des géniteurs de *Ictalurus punctatus* (≤ 130 g.m⁻²) (Bush, 1985)¹ et à celle des géniteurs de carpes

¹ : Cité par Legendre *et al.* (1996).

Tableau 7 : Dimensions des étangs

Etangs n°	Dimensions (m)	Surface (m ²)	Profondeur (m)	Espèces élevées
1	14,4 × 45,7	658	1,5	<i>P. bocourti</i> (3 lots)
2	14,9 × 48,7	725	1,5	<i>P. bocourti</i> (3 lots)
3	10,5 × 39,7	416	1,5	<i>P. hypophthalmus</i> (lot 1)
4	24,5 × 24,5	600	1,0	<i>P. hypophthalmus</i> (lot 2)

Tableau 8 : Empoisonnement des étangsA) Géniteurs de *P. bocourti* (3 lots confondus)

Paramètres d'empoisonnement	Etang 1	Etang 2	Total	
			Min.	Max.
Effectif total	35 ± 5	38 ± 6	26	43
Surface (m ²) par poisson	a 19,3 ± 3,1	a 19,7 ± 3,4	16,0	27,9
Biomasse totale (kg)	214,7 ± 38,3	205,2 ± 26,8	134,2	243,9
Biomasse (g) par m ²	a 326,3 ± 58,3	a 283,1 ± 36,9	185,0	396,7

B) Géniteurs de *P. hypophthalmus*

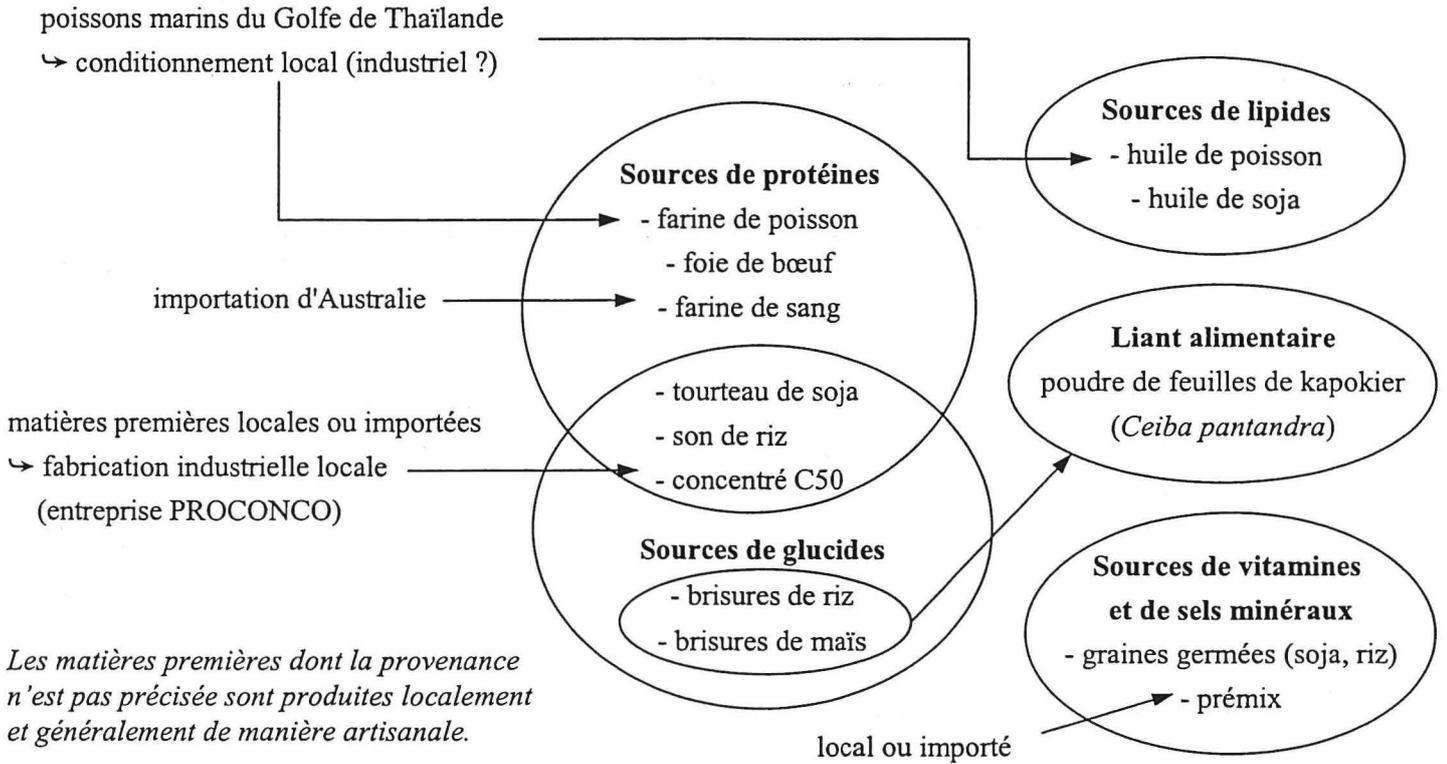
Paramètres d'empoisonnement	Etang 3 (lot 1)	Etang 4 (lot 2)	Total	
			Min.	Max.
Effectif total	31 ± 2	35 ± 0	28	35
Surface (m ²) par poisson	b 13,5 ± 0,8	b 17,1 ± 0,0	12,2	17,1
Biomasse totale (kg)	240,1 ± 26,1	199,8 ± 5,8	196,1	286,8
Biomasse (g) par m ²	b 577,2 ± 62,7	a 333,0 ± 9,7	326,8	689,4

- Données récapitulées jusqu'au mois de septembre 1996,
- l'effectif du cheptel est réduit en octobre 1996 et les poissons restant sont regroupés dans deux étangs :
 - *P. bocourti* dans l'étang 2 :
(59 poissons = 12,3 m² par poisson et 397,7 kg = 549 g.m⁻²),
 - *P. hypophthalmus* dans l'étang 1 :
(52 poissons = 12,7 m² par poisson et 421,9 kg = 641 g.m⁻²),
- différences significatives entre les quatre étangs notées par une lettre différentes :
a, b (P < 0,001).

(150-250 g.m⁻²) (Woynarovitch et Horvath, 1980). Néanmoins, les Pangasiidae sont probablement plus tolérants vis à vis de la qualité de l'eau que les Ictaluridae et les carpes, en particulier vis à vis de la teneur en oxygène dissous puisqu'ils peuvent également respirer de l'air atmosphérique (§ 1.1.3.3, p 22). Les densités employées ici correspondent à celle des géniteurs de gourami *Osphronemus gorami* (300-500 g.m⁻²), une autre espèce à respiration aérienne (Dung *et al.*, 1994). Enfin, la densité d'élevage des géniteurs de *P. bocourti* est proche de celle des géniteurs d'un autre poisson-chat tropical, *Wallago attu* (250-300 g.m⁻²) (Tripathi, 1996).

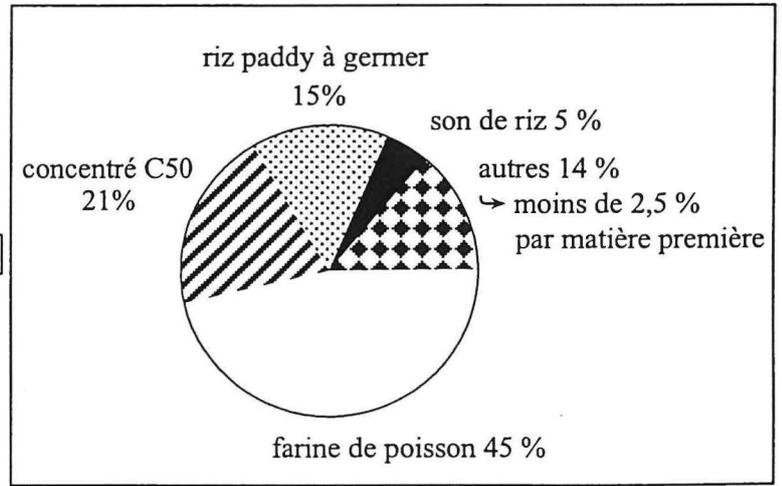
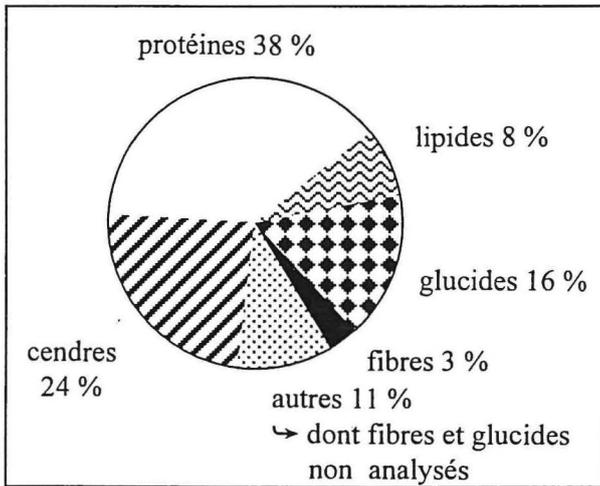
Les élevages de géniteurs de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont mixtes, associant les poissons des deux sexes toute l'année, avec un sex-ratio respectivement de 1,7-2 et de 0,4-1. Il en est de même chez la plupart des géniteurs de poissons-chats, comme chez *Heterobranchus longifilis* et *Chrysichthys nigrodigitatus* élevés en enclos (Nunez Rodriguez *et al.*, 1995). Cependant, les mâles et les femelles de *Silurus glanis* élevés en étangs sont séparés avant que ne commence la période de reproduction (Vallod, 1987). Cette ségrégation permet d'éviter les pontes incontrôlées et les blessures que les mâles peuvent causer aux femelles.

Critères de choix et provenance des 12 matières premières employées :

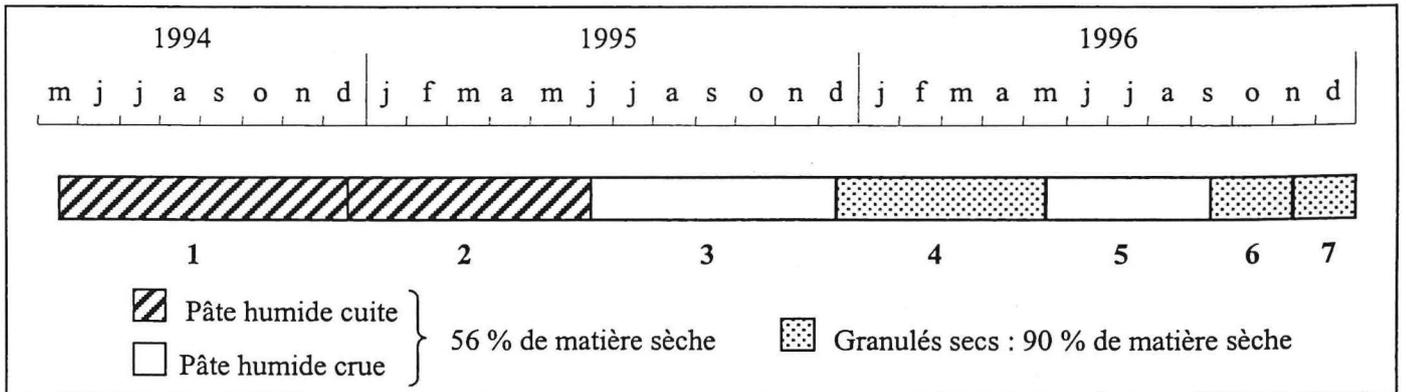


Valeur nutritionnelle moyenne de l'aliment :

↳ 5,5 tonnes d'aliments consommés en deux ans et demi :



3 types de préparation et 7 formules alimentaires employés :



Taux de rationnement : *P. bocourti* (1,3 %.j⁻¹) ; *P. hypophthalmus* (1,5 %.j⁻¹)

Planche 2 : alimentation des poissons géniteurs élevés en étangs

2.2.3. Alimentation des poissons géniteurs

2.2.3.1. Les aliments composés

Durant 2,5 ans, les poissons géniteurs ont été nourris avec plusieurs aliments composés, préparés de trois façons (pâte humide cuite ou crue, granulés secs) et selon sept compositions (Planche 2, Tableau 9). Chaque aliment est confectionné avec deux à six matières premières, principalement de la farine de poisson qui représente 45 % des 5,5 tonnes d'aliments préparés au total. Dans un premier temps, les pratiques locales et traditionnelles en alimentation des poissons géniteurs ont été mises en œuvre, pour préparer une pâte humide cuite, à partir de son de riz et de farine de poisson, à laquelle est incorporée une grande quantité de riz germé (1^{er} aliment). Cet aliment s'est révélée médiocre, par sa faible teneur en protéines (25 % MS), et relativement fastidieux à préparer, puisqu'il implique la cuisson des matières premières. Par la suite, l'alimentation a été améliorée, par essais successifs, en fonction de la disponibilité des matières premières et des possibilités techniques, avec les deux objectifs suivants :

1) La commodité d'emploi : par la préparation d'une pâte humide crue, en incorporant du concentré alimentaire « C 50 » qui permet une bonne tenue de l'aliment sans nécessiter de cuisson. La fabrication de granulés secs a également été mise en œuvre, permettant ainsi de stocker l'aliment et de réduire le temps consacré à la préparation devenue bimensuelle.

2) L'amélioration de la valeur nutritive, par :

- L'augmentation de la teneur en protéines totales, en incorporant davantage de matières premières riches en protéines ; entre le 1^{er} et le 7^{ème} aliment, la teneur en protéines a doublé, en passant graduellement de 25 à 51 %.
- La garantie de la qualité des protéines, en diversifiant les sources de protéines : incorporation simultanée de farine de poisson et de tourteau de soja (6^{ème} aliment) et de farine de sang (7^{ème} aliment).
- La réduction de la teneur en cendres, en diminuant l'incorporation de farine de poisson qui en contient beaucoup. La réduction de moitié de la quantité de farine de poisson (de 87 à 43 %), entre le 4^{ème} et le 7^{ème} aliment, a ainsi permis de diminuer de près de moitié la teneur en cendres (de 35 à 18 %).

En moyenne et en pourcentages de matière sèche, l'aliment des poissons géniteurs contient 38 % de protéines, 8 % de lipides et 16 % de glucides, avec une teneur en cendres de 24 % (Tableau 10). La teneur en eau de l'aliment est de 44 et 10 %, respectivement pour la pâte humide et les granulés secs (% matière totale).

2.2.3.2. Les matières premières

Douze matières premières ont été employées au total pour la préparation des différents aliments (Annexe 7). Elles sont généralement produites localement, à l'exception de la farine de sang et de certains concentrés vitaminiques. La teneur en eau des matières premières dites sèches varie de 10 à 16 %, alors qu'elle est plus élevée dans les aliments frais : les grains germés - riz (46 %) et soja (85 %) - ainsi que le foie de bœuf cru (70 %).

Tableau 9 : Préparation, ingrédients et composition des différents aliments employés pour nourrir les poissons géniteurs élevés en étangs

Aliment n°	1	2	3	4	5	6	7
Début d'utilisation	Mai-94	Déc-94	juin-95	déc-95	mai-96	sept-96	nov-96
Durée (mois)	7,5	6	6	5	4	2	1,5
Type de préparation	pâte cuite	pâte cuite	pâte crue	granulés secs	pâte crue	granulés secs	granulés secs
<u>Ingrédients ^(a) :</u>							
Farine de poisson	34,3	76,8	-	87,4	50,0	60,0	42,7
Concentré C50	-	-	93,4	-	50,0	-	-
Riz germé	39,1	3,8	-	-	-	-	-
Son de riz	24,5	8,4	-	-	-	-	-
Tourteau de soja	-	-	-	-	-	23,3	30,0
Soja germé	-	3,3	6,6	-	-	-	-
Brisure de riz	-	-	-	5,7	-	7,5	9,9
Vitamines	2,2	2,7	-	0,5	-	0,5	0,7
Poudre de kapokier	-	5,0	-	-	-	-	-
Huile de poisson	-	-	-	5,4	-	-	-
Farine de sang	-	-	-	-	-	-	13,8
Maïs	-	-	-	-	-	7,3	-
Huile de soja	-	-	-	1,0	-	1,5	3,0
<u>Composition :</u>							
Humidité ^(b)	47,9	41,4	41,7	8,6	42,7	14,5	9,8
Protéines ^(c)	24,5	38,4	39,5	46,5	42,9	45,8	51,2
Lipides ^(c)	8,3	8,2	5,1	13,4	4,3	3,7	4,5
Glucides ^(c)	12,7	6,2	35,2	-	27,8	19,5	11,3
Fibres ^(c)	3,8	2,2	6,6	-	4,3	3,5	1,4
Autres ^(cd)	29,8	12,0	0,8	5,0	-	-	13,4
Cendres ^(c)	20,9	33,1	12,8	35,2	20,7	27,6	18,2
Echantillons analysés	- ^(e)	- ^(e)	- ^(e)	5	1	5	2

(a) : % d'ingrédients frais,

(b) : % de matière totale,

(c) : % de matière sèche,

(d) : « autres » incluent les glucides et les fibres quand ceux-ci n'ont pas été analysés,

(e) : composition calculée en comptant 30 % d'eau ajoutée pour la préparation de la pâte.

Tableau 10 : Bilan de la composition des aliments employés pour nourrir les poissons géniteurs élevés en étangs

	Composition (%)	
<u>Humidité</u> ^(a) :		
- pâte humide	43,7 ± 2,9	[41,4 ; 47,9]
- granulés secs	10,2 ± 2,5	[8,6 ; 14,5]
- total	34,6 ± 15,2	[8,6 ; 47,9]
Protéines ^(b)	38,3 ± 8,3	[24,5 ; 51,2]
Lipides ^(b)	7,5 ± 3,1	[4,3 ; 13,4]
Glucides ^(b)	16,0	[6,2 ; 35,2]
Fibres ^(b)	3,4	[2,2 ; 6,6]
Autres ^(bc)	10,7	[0,8 ; 29,8]
Cendres ^(b)	24,0 ± 8,1	[12,8 ; 35,2]

(a) : % de matière totale,

(b) : % de matière sèche de l'aliment préparé,

(c) : incluent les glucides et les fibres quand ceux-ci n'ont pas été analysés.

La farine de poisson constitue la principale source de protéines, mais sa qualité est mauvaise compte tenu de sa teneur en protéines brutes, très variable (28 à 54 %) et globalement faible (45 % en moyenne), sur les sept échantillons analysés. De plus, sa teneur en éléments minéraux est globalement très élevée (37 % en moyenne) et variable (19 à 63 %). La farine de poisson est fabriquée à partir de poissons marins, mais il est probable qu'elle soit faite à partir des sous-produits du filetage des poissons, ce qui justifierait la faible teneur en protéines et la forte teneur en cendres. L'aliment « concentré C50 » est un produit industriel fabriqué par l'entreprise PROCONCO et destiné aux élevages de *Pangasius* sp.. Sa formule n'est pas communiquée mais son taux de protéines est relativement élevé (40 %), et il est associé avec un faible taux de cendres (13 %). Les matières premières dites sèches sont généralement achetées et employées sans délai, bien qu'elles puissent être conservées jusqu'à deux semaines, à l'abri et isolées du sol.

2.2.3.3. Modes de préparation de l'aliment

1) Pâte humide cuite

Elle est préparée, avec comme ingrédient liant, du son de riz uniquement, pour 40 % du total des ingrédients secs dans le 1^{er} aliment, ou bien du son de riz (9 %) associé avec de la poudre de kapokier (5 %) dans le 2^{ème} aliment. La poudre de kapokier est riche en mucilage, un polysaccharide qui a la propriété de former un gel au contact de l'eau, permettant ainsi de diminuer la quantité d'ingrédient glucidique employé comme agent liant. La préparation de la pâte commence par la cuisson du son de riz dans de l'eau (20 à 30 % du total des ingrédients secs), avec la poudre de kapokier, durant une heure. Les autres matières premières sont ensuite incorporées, les vitamines puis les grains germés de riz ou de soja, en dernier, lorsque le mélange a refroidi à température ambiante. La proportion de grains germés incorporés à la pâte ne doit pas excéder 10 % des matières premières pour que la tenue de l'aliment reste suffisante.

2) Pâte humide crue

Elle est préparée avec le concentré alimentaire « C 50 », comme unique ingrédient sec dans le 3^{ème} aliment, ou bien mélangé avec autant de farine de poisson dans le 5^{ème} aliment. Le concentré alimentaire présente l'avantage de former une pâte humide de bonne tenue, par simple ajout d'eau (30 % du total) sans nécessité de cuisson. Comme pour la pâte cuite, 5 à 10 % de riz ou de soja germés peuvent être incorporés à la pâte crue.

Les deux types de pâtes humides contiennent entre 40 et 45 % d'eau et, de ce fait, se conservent peu à température ambiante. Elles sont donc préparées et utilisées dans un délai qui ne dépasse pas 12 h. L'utilisation d'une pâte humide comprenant du son de riz est aussi rapportée pour l'alimentation des géniteurs de *P. hypophthalmus* (Huy *et al.*, 1990 ; Meenakarn, 1986 ; Xuan, 1994), *P. pangasius* (Meenakarn, 1986) et *Aorichthys aor* (Tripathi, 1996), *Clarias macrocephalus* et *C. gariepinus* (Dung *et al.*, 1994). Ce type de préparation est, en revanche, abandonné lorsque des granulés secs sont disponibles.

Tableau 11 : Taux de rationnement et apports nutritionnels quotidiens pour les poissons géniteurs élevés en étangs

	<i>P. bocourti</i>	<i>P. hypophthalmus</i>
Taux de rationnement (%.j ⁻¹) ^(a)	1,3 ± 0,8 [0,3 ; 2,5]	1,5 ± 0,7 [0,9 ; 3,8]
Apports en nutriments (g.kg ⁻¹ .j ⁻¹) ^(b) :		
- protéines	3,5 ± 1,5 [0,7 ; 7,7]	4,7 ± 1,8 [3,0 ; 11,8]
- lipides	0,8 ± 0,5 [0,1 ; 1,6]	1,0 ± 0,5 [0,3 ; 2,5]
- glucides	1,2 ± 0,8 [- ^(c) ; 2,5]	1,6 ± 1,1 [- ^(c) ; 3,4]

^(a) : Quantité d'aliment humide distribuée par jour (sans l'eau ajoutée pour sa préparation), exprimée en pourcentages de la biomasse de poissons à nourrir,

^(b) : exprimés en grammes de nutriments par kilogramme de poids vif et par jour,

^(c) : indéterminé car la teneur en glucides de l'aliment n'a pas été toujours analysée.

3) Granulés secs

Ils sont confectionnés exclusivement avec des matières premières sèches, dont 6 à 10 % de brisures de riz, indispensables pour assurer une bonne tenue de l'aliment. Les ingrédients sont tout d'abord broyés en poudre fine puis mélangés. De l'eau est ajoutée ensuite, à raison de 20 à 30 %, puis le mélange est passé dans une presse à vis dont les trous de sortie ont un diamètre de 10 mm. Les granulés humides ainsi obtenus sont séchés dans une étuve par un courant d'air chaud à 36 °C. Après 6 h de séchage, le taux d'humidité passe de 25-40 % à 11-15 %. Les granulés ainsi produits peuvent être stockés durant une à deux semaines avant emploi. Afin de prévenir la dégradation des vitamines qui pourrait être occasionnée par le chauffage dans la presse, le concentré vitaminique est généralement ajouté aux granulés secs, juste avant leur distribution, deux fois par semaine. L'ajout du concentré vitaminique se fait par enrobage des granulés secs d'un mélange d'huile de soja (2 %) et de concentré (0,5 %).

4) Aliments humides

Il s'agit de foie de bœuf cru et de riz germé, distribués seuls et sans préparation particulière, le foie étant simplement découpé en morceaux. Le riz germé est distribué de cette façon lorsque la quantité employée dépasse celle incorporable à la pâte humide. Le foie de bœuf est également employé comme complément de l'aliment composé chez *Ictalurus punctatus* et *Chrysichthys nigrodigitatus* (Legendre *et al.*, 1996). L'emploi de riz germé pour l'alimentation des géniteurs a été rapporté que chez la carpe *Ctenopharyngodon idellus* qui a un régime alimentaire herbivore (Kumarasiri et Seneviratne, 1988).

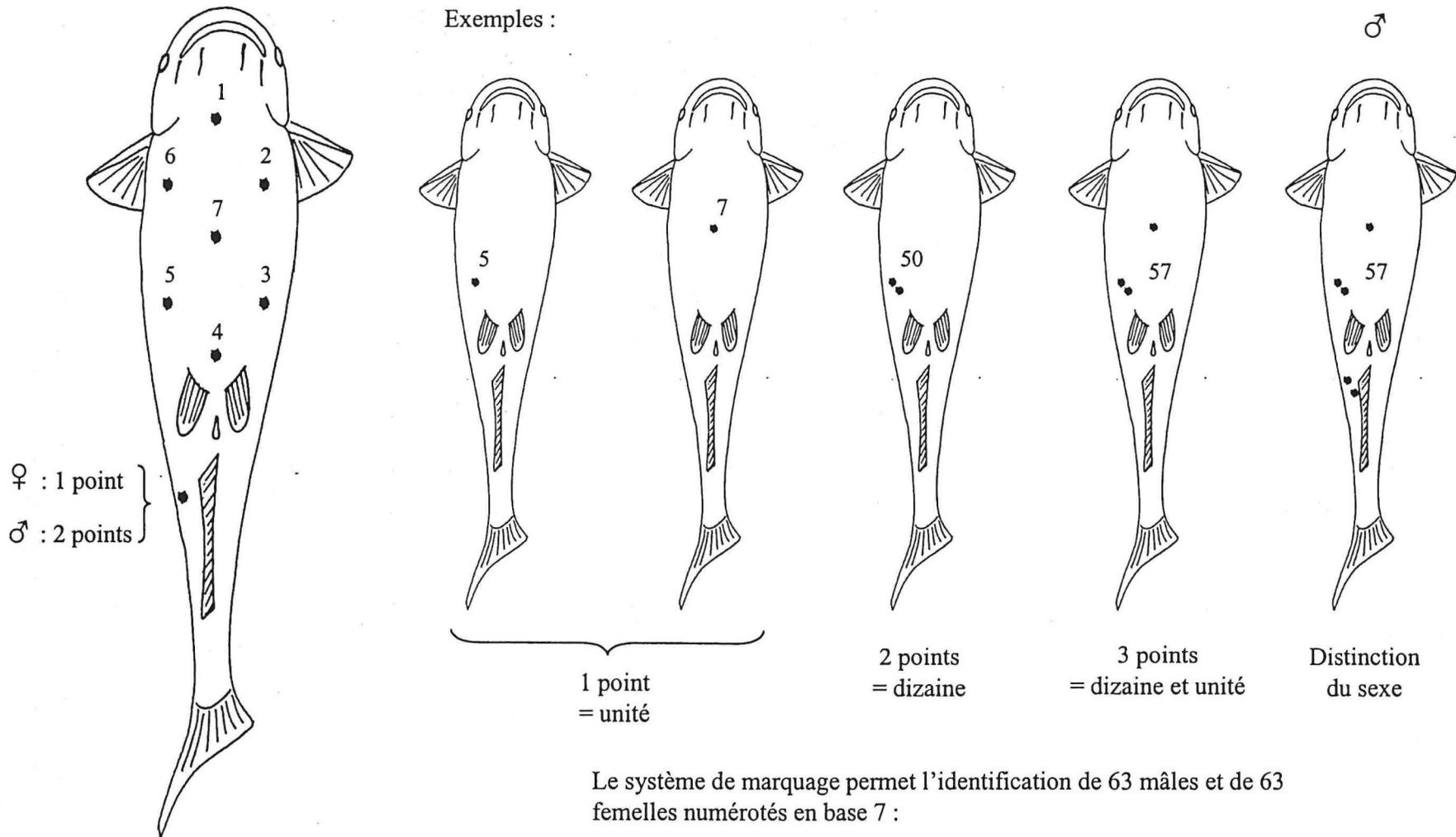
L'aliment est distribué aux poissons deux fois par jour, le matin avant 8 h et en fin d'après-midi à partir de 17 h. Dans un premier temps, l'aliment était déposé dans un panier plat immergé à un mètre de profondeur, puis l'aliment a été distribué à la volée le long d'une berge de l'étang. Ce mode de distribution semble convenir puisque les poissons viennent prendre l'aliment en surface. En revanche, le riz germé seul a toujours été distribué dans un panier immergé.

L'aliment distribué aux deux espèces est le même, à l'exception du foie de bœuf qui n'a été employé que pour nourrir *P. bocourti*, 14 fois de 1994 à 1995 et une fois en 1996. Le foie de bœuf est distribué une fois par semaine et se substitue à l'aliment normalement utilisé, pâte ou granulés secs. La distribution de foie pour *P. bocourti* ne modifie pas sensiblement la valeur nutritionnelle de l'aliment distribué aux deux espèces.

2.2.3.4. Les apports nutritionnels

Le taux de rationnement quotidien des poissons géniteurs n'a pas été constant au cours de l'élevage : ne connaissant pas les besoins exacts, il a été modulé en fonction de la prise alimentaire et de la physiologie des poissons (Tableau 11). Il est globalement plus élevé pour *P. hypophthalmus* que pour *P. bocourti*, respectivement de 1,3 et de 1,5 %.^{j-1} pour les trois raisons suivantes :

- Les deux espèces ne consomment pas spontanément la même quantité d'aliment ; ainsi le rationnement à satiété pour *P. hypophthalmus* semble plus élevé que celui de *P. bocourti*, respectivement de 0,6-0,8 % et de 1,0-1,5 % avec des granulés secs.



Emplacement des marques sur l'abdomen des poissons et correspondance avec les numéros

n° 1 à 7 :	7 marques
n° 10 à 17 :	8 marques
...	
<u>n° 70 à 77 :</u>	<u>8 marques</u>
total :	63 marques

Figure 8 : Code de numérotation des poissons par marquage cutané au bleu alcian

- *P. bocourti* tend à développer un tissu adipeux péri-viscéral important alors que *P. hypophthalmus* ne présente pas cette tendance (§ 2.2.1.2, p 50).
- La croissance en longueur des géniteurs de *P. bocourti* est très faible alors que celle des géniteurs de *P. hypophthalmus* est encore sensible (données non présentées).

Par conséquent, les apports nutritionnels pour *P. hypophthalmus* sont globalement supérieurs à ceux des *P. bocourti*, respectivement de 4,7 et 3,5 g.kg⁻¹.j⁻¹ pour les apports en protéines.

2.2.4. Suivi du stock de géniteurs

2.2.4.1. Marquage individuel des poissons

Deux techniques de marquage successives ont été employées pour reconnaître individuellement chaque poisson. Dans un premier temps, les poissons ont reçu une marque cutanée par l'injection d'un colorant à l'aide d'un piston à main, le « dermojet », couramment employé en médecine pour l'injection de solutions anesthésiantes ou de vaccins. Son usage pour le marquage des géniteurs de poissons-chats, *Chrysichthys nigrodigitatus* et *Heterobranchus longifilis*, a été rapporté par Hem *et al.* (1999). Le liquide est injecté dans la peau, sans contact avec l'appareil, par l'envoi d'un jet sous pression.

Dans notre cas, le liquide est une solution saturée de bleu alcian. La marque produite est un spot de couleur bleu, n'excédant généralement pas 0,5 cm de diamètre. Elle est effectuée sur l'abdomen du poisson en tenant l'appareil à une dizaine de centimètres de la peau. L'abdomen de ces poissons est parfaitement blanc et il se prête donc bien à ce type de marquage. Par la pose d'une à quatre marques par poisson, associées à un code de numérotation correspondant à des emplacements sur l'abdomen, il est possible d'identifier jusqu'à 63 couples de poissons géniteurs (Figure 8). Bien qu'une tenue du marquage de deux ans ait été rapportée chez *C. nigrodigitatus* et *H. longifilis*, la tenue du marquage n'est satisfaisante que durant trois à quatre mois chez les géniteurs de *Pangasius*. Les marques s'estompent ensuite et elles doivent être renouvelées.

Pour pallier cet inconvénient, un second type de marques a été employé à partir du mois d'avril 1995 pour *P. hypophthalmus*, et du mois d'août 1995 pour *P. bocourti*. Il s'agit de marques électroniques, couramment appelées transpondeurs, qui portent chacune un numéro identifiable avec un lecteur approprié (Saladin, 1993). Le transpondeur présente une forme allongée de 1,2 mm de long et de 0,2 mm de diamètre. Il est implanté à l'aide d'un piston dans le muscle dorsal du poisson préalablement anesthésié. La blessure occasionnée cicatrise rapidement et le poisson conserve sa marque à vie.

Le coût d'un « dermojet » est de l'ordre de 2500 F et le coût du colorant est de l'ordre de 100 FF pour 50 g de poudre à diluer, utilisable pour plusieurs centaines de marques. Le coût du marquage avec les transpondeurs est bien plus élevé : le lecteur coûte de l'ordre de 2500 FF et la marque coûte environ 30 FF pièce. Néanmoins le prix de la marque s'amortit sur une durée en principe infinie.

2.2.4.2. Déroulement d'un inventaire

Les poissons géniteurs ne reçoivent pas de nourriture la veille de l'inventaire, de façon à ne pas biaiser les pesées par la présence d'éventuels contenus stomacaux importants. Les poissons géniteurs sont capturés avec une senne tirée par quatre ou cinq personnes dans le

sens de la longueur de l'étang. Ensuite, sur le bord de l'étang, une poche est aménagée dans le filet et maintenue à l'aide de piquets, afin de contenir les poissons en attente d'être pêchés. Les poissons sont capturés à l'épuisette ou à la main puis anesthésiés par balnéation dans un bac de 300 litres d'eau contenant du phénoxy-2-éthanol à la concentration de 0,25 ml.l⁻¹. L'utilisation du phénoxy-2-éthanol est d'usage courant en pisciculture pour l'anesthésie des poissons (Woynarovitch et Horvath, 1980). L'anesthésie est obtenue après cinq minutes et les poissons peuvent ensuite être manipulés. Il convient de maintenir les poissons immobiles dans le bac durant les premières minutes de l'anesthésie afin d'éviter tout soubresaut. Une fois les observations effectuées, les poissons sont remis en étang et doivent être réanimés en agitant l'eau doucement à proximité des ouïes, jusqu'à ce que le poisson soit capable de nager. Chaque poisson est transporté dans un sac en toile plastifiée, sorte de brancard maintenu par deux tiges en bois.

Ces précautions de manipulation doit être respectées pour ne pas blesser les poissons de grande taille, relativement nerveux et d'autant plus fragiles qu'aucune écaille ne les protège. Une fois les poissons anesthésiés, chez les femelles, la biopsie d'un ovaire est effectuée à l'aide d'une canule souple en plastique ou « pipelle de Cormier ». Chez les mâles, une légère pression sur les flancs permet de constater ou non l'émission de sperme. Chaque géniteur est ensuite mesurée dans un ichtyomètre et pesé sur une balance à cadran (portée de 15 kg et précision de 50 g).

2.2.4.3. Fréquence des inventaires

Le stock de poissons géniteurs élevés en étangs a été suivi durant 30 mois, de juin 1994 à décembre 1996, avec 23 et 19 inventaires mensuels réalisés respectivement chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. L'objectif des inventaires réguliers du cheptel est triple :

- 1) mesure de la biomasse pour adapter la ration alimentaire distribuée,
- 2) suivi de la maturation gonadique,
- 3) choix de poissons matures destinés à la reproduction.

Les intervalles entre inventaires sont variables, en raison des contraintes imposées par le programme d'expérimentations mené sur la reproduction. Les effectifs observés sont également variables, et en augmentation depuis le début du suivi en raison de l'apport de nouveaux lots de poissons. Entre les trois-quarts et la totalité des poissons sont capturés lors de chaque inventaire.

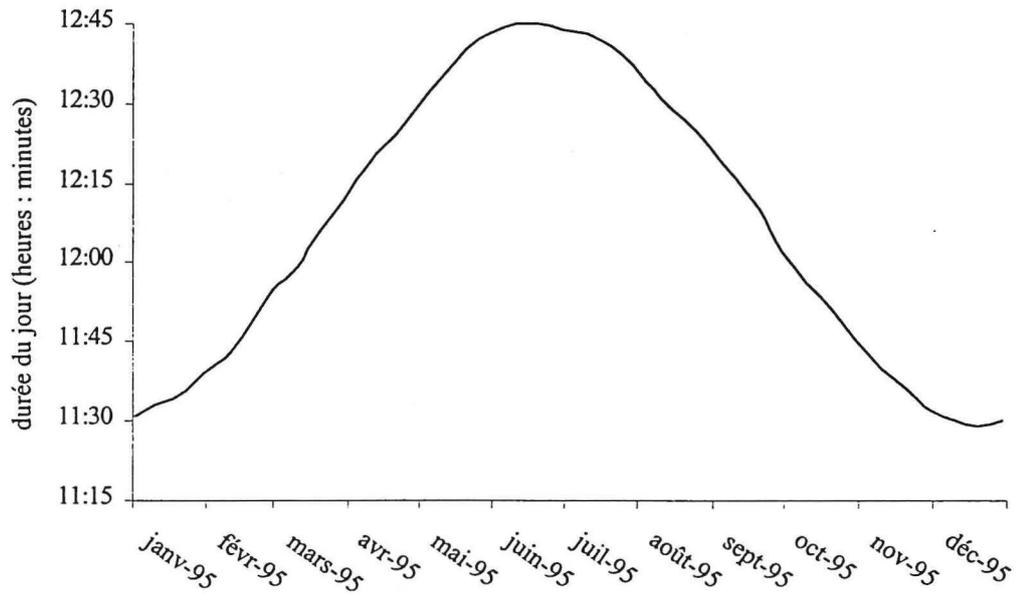


Figure 9 : Evolution de la durée du jour à Hô-Chi-Minh Ville (Sud Viêt-Nam) en 1995

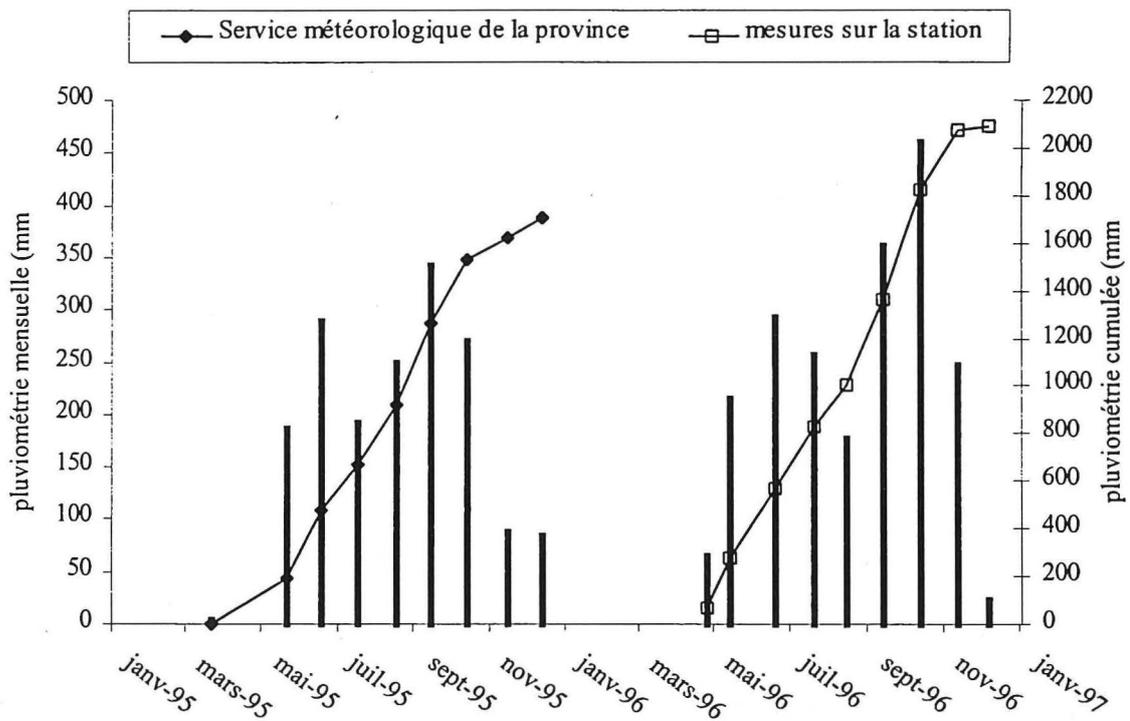


Figure 10 : Répartition de la pluviométrie à Can-Tho en 1995 et en 1996

2.2.5. Données climatiques

2.2.5.1. Photopériode

Les données concernant la photopériode proviennent des éphémérides à la latitude de Hô-Chi-Minh Ville dans le Sud Viêt-Nam. L'évolution de la durée du jour a une amplitude de 1 h 15 (Figure 9), ce qui est relativement faible mais caractéristique de la latitude subéquatoriale (10 degrés nord).

2.2.5.2. Pluviométrie à Can-Tho

Les données pluviométriques sont fournies par la province de Can-Tho en 1995. En 1996, la pluviométrie est mesurée sur la station expérimentale de Can-Tho, à l'aide d'un pluviomètre placé en hauteur à 1,5 m du sol et à un endroit éloigné des bâtiments.

La période étudiée se caractérise par une saison des pluies marquée durant sept mois, qui commence en mai 1995 et en avril 1996, puis qui se termine en décembre des deux années (Figure 10). Les pluviométries cumulées en 1995 et en 1996 sont respectivement de 1704 et 2094 mm. Ce régime de précipitations est caractéristique du climat de mousson de cette région.

2.2.5.3. Température de l'air ambiant

La température ambiante est mesurée sur la station de Can-Tho, sous un abri en feuilles sèches, à l'aide d'un thermomètre à mercure enregistrant les températures minimales et maximales. Les températures sont relevées une fois par jour jusqu'au mois de janvier 1996, puis une fois tous les deux jours.

En 1995 et 1996, la température varie de 21 à 35,5 °C avec une amplitude journalière moyenne de $6,3 \pm 0,8$ °C en 1995 (Figure 11). La température moyenne en 1996 est de $26,6 \pm 1,4$ °C, cette donnée étant fournie par le service météorologique de la province de Can-Tho. La température augmente à partir de la fin de l'année, jusqu'à un maximum atteint en avril 1995 et en mai 1996, puis elle baisse et augmente à nouveau en septembre en 1995 et en août 1996, et elle baisse enfin jusqu'au mois de décembre.

2.2.6. Physico-chimie de l'eau des étangs

2.2.6.1. Température de l'eau

La température de l'eau est mesurée dans chaque étang à l'aide de thermomètres à mercure enregistrant les températures minimales et maximales. Dans les étangs 1, 2 et 3, deux thermomètres sont placés dans l'eau à respectivement à 0,5 et 1,5 m de profondeur. La température moyenne est calculée en utilisant les deux valeurs extrêmes des quatre valeurs enregistrées, ce qui permet d'évaluer au mieux la température moyenne dans toute la colonne d'eau. Dans l'étang 4, moins profond, un seul thermomètre est placé à mi-profondeur (0,5 m) ; les deux valeurs enregistrées sont utilisées pour le calcul de la température moyenne. Les températures sont relevées une fois par jour jusqu'au mois de décembre 1995, puis une fois tous les deux jours.

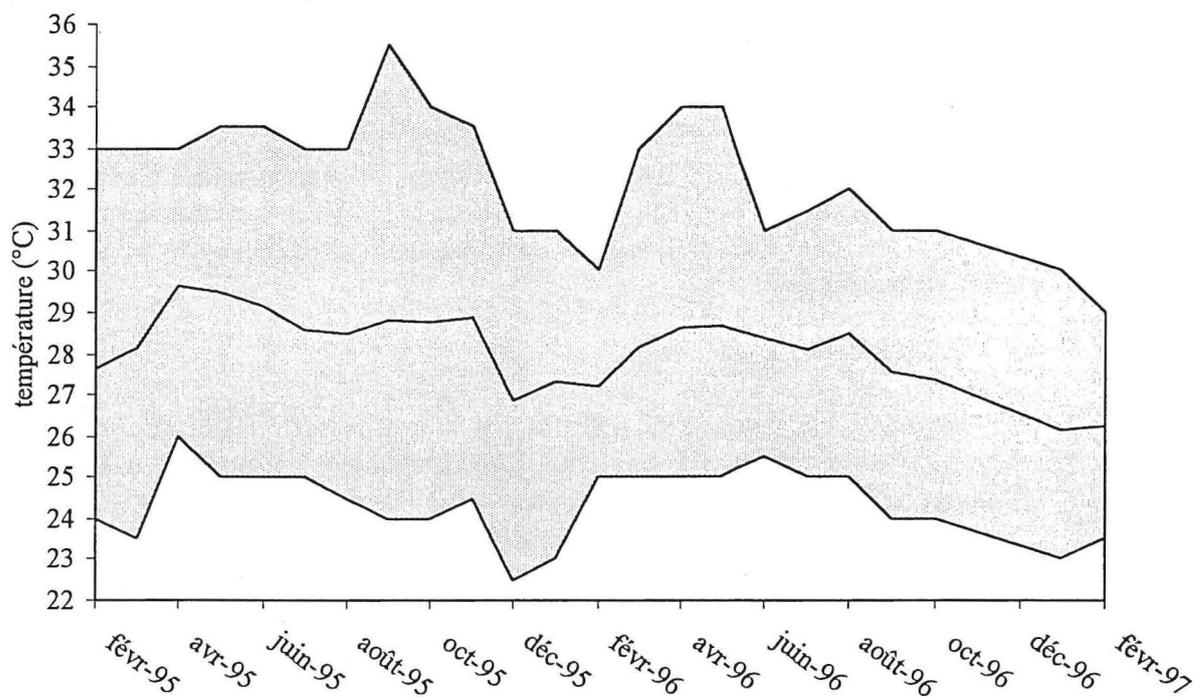


Figure 11 : Evolution de la température moyenne, minimale et maximale de l'air ambiant à Can-Tho en 1995 et 1996

Données manquantes en décembre 1996.

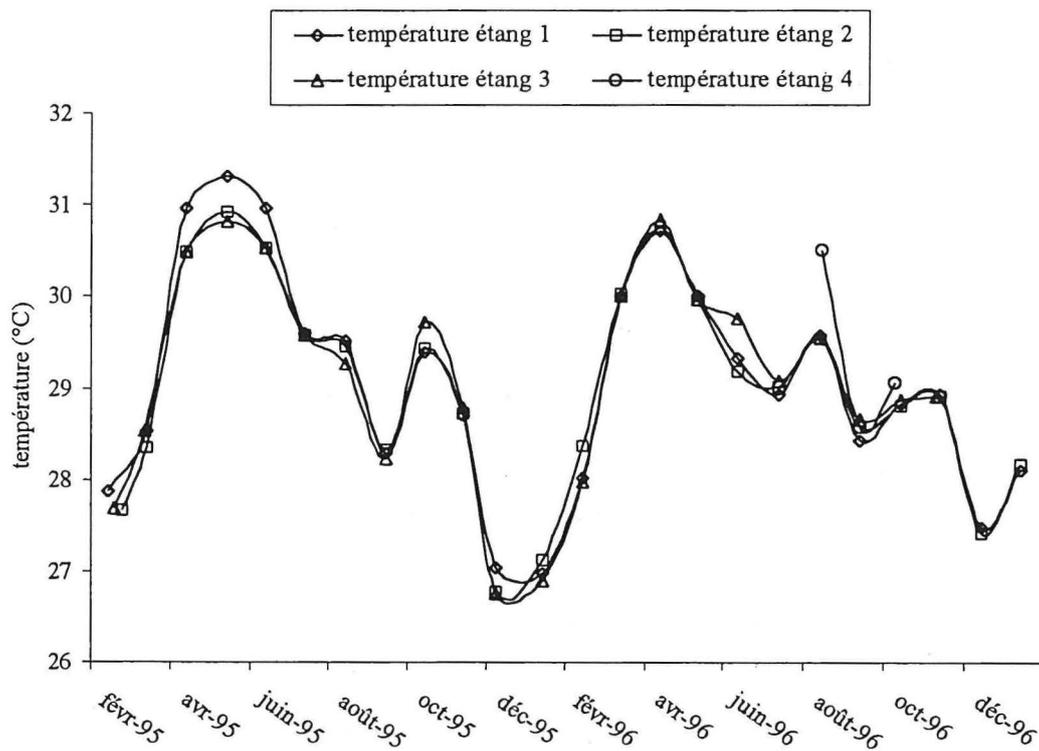


Figure 12 : Evolution de la température moyenne dans l'eau des étangs en 1995 et 1996

Pour les étangs 1, 2 et 3, la température varie de 22,5 à 34 °C pour une moyenne sur deux ans de 29 °C et une amplitude journalière moyenne de 1,7 °C dans toute la colonne d'eau. Il existe un gradient thermique dans les étangs puisque la température en surface est en moyenne de 1,5 °C plus élevée que celle mesurée au fond ($P < 0,001$). L'évolution de la température est similaire dans les quatre étangs (Figure 12, Annexe 8 et Annexe 9). Néanmoins, la température de l'étang 4 est plus élevée que celle des étangs 1, 2 et 3 en août 1996, vraisemblablement à cause de sa faible profondeur. Dans ces trois étangs, la température augmente à partir de la fin de l'année jusqu'à un maximum atteint en mai 1995 et en avril 1996, puis elle baisse et augmente à nouveau en octobre 1995 et en août 1996, pour baisser à nouveau jusqu'au mois de décembre.

Le gradient thermique entre la surface et le fond évolue de la même façon que la température moyenne, avec un maximum en mai et un minimum en décembre (Figure 13, Annexe 10).

2.2.6.2. Transparence de l'eau

La transparence de l'eau est mesurée avec un disque de Secchi, quatre à cinq fois par mois en moyenne dans chaque étang. Comme il s'agit d'une mesure visuelle, chaque mesure est répliquée trois fois pour plus de précision et la valeur moyenne est enregistrée.

La transparence de l'eau varie de 11 à 56 cm sur l'ensemble des étangs, pour une moyenne de 29,6 cm. La transparence de l'eau est relativement différente entre les étangs, et globalement décroissante de l'étang 2 à l'étang 1, 3 et 4 (Figure 14, Annexe 11 et Annexe 12). La transparence des étangs 1 et 2 est élevée en janvier. Elle diminue ensuite jusqu'au mois d'août ou mai respectivement dans l'étang 1 et 2. Puis dans les deux étangs elle remonte jusqu'à un maximum en novembre et diminue ensuite.

La transparence de l'étang 3 évolue différemment puisqu'elle reste basse de janvier à août avant d'augmenter jusqu'au mois de novembre. La transparence de l'étang 4 semble évoluer de la même façon que celle de l'étang 3. La transparence de l'eau dans les étangs 3 et 4 est globalement plus faible que celle des étangs 1 et 2, peut-être en raison d'un phénomène de turbidité induite par l'empoisonnement. En effet, les étangs 1 et 2 contiennent des *P. bocourti* alors que les étangs 3 et 4 contiennent des *P. hypophthalmus* avec une densité d'empoisonnement plus élevée. Outre l'effet de la densité, les deux espèces pourraient présenter des différences de comportement dans leur interaction avec le fond des étangs, comportement fouisseur en particulier chez *P. hypophthalmus* qui se répercuterait sur la transparence de l'eau par une mise en suspension des sédiments.

2.2.6.3. Teneur en oxygène dissous

Des mesures de la teneur en oxygène dissous dans l'eau des étangs ont été effectuées de façon ponctuelle en 1996, avec un oxy-thermomètre électronique (YSI 50), en surface et au fond de chaque étang. Les mesures sont répétées le matin à 6 h et l'après-midi à 14 h, aux moments correspondants respectivement au minimum et au maximum de la teneur en oxygène dissous.

Sur l'ensemble des quatre étangs, la teneur en oxygène durant les mois d'octobre et de novembre varie entre 0,9 et 6,5 mg.l⁻¹, pour une valeur moyenne de 2,9 mg.l⁻¹. Exprimée en pourcentage de la saturation, la teneur en oxygène varie de 12 à 88 % pour une valeur moyenne de 39 %. Il n'y a pas de différences significatives entre les étangs au niveau des moyennes mensuelles d'octobre et de novembre. Il n'y a pas non plus de différence entre les

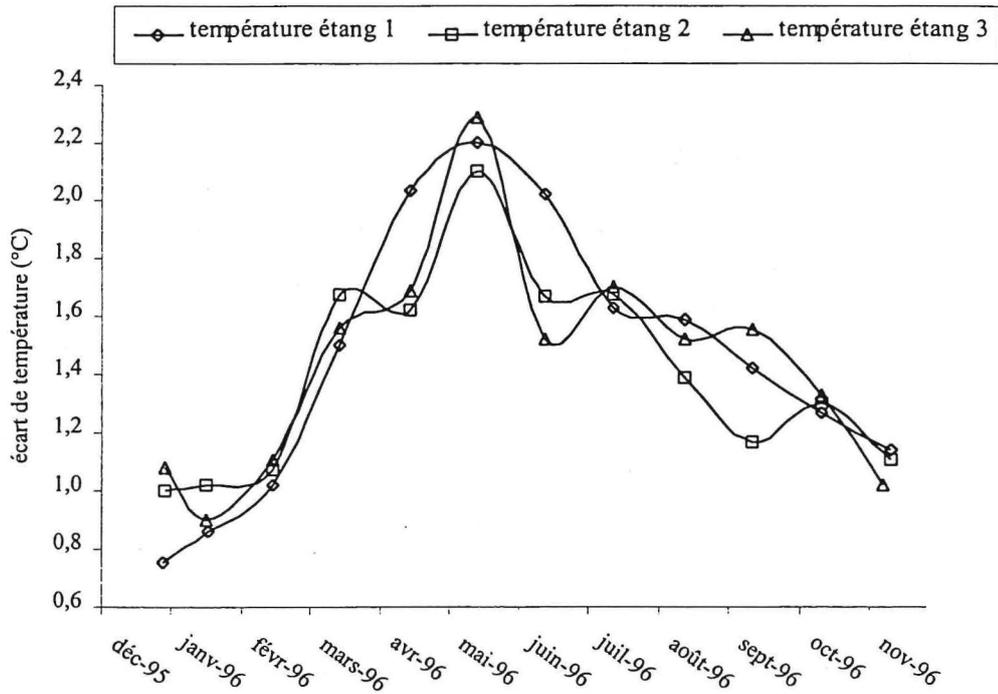


Figure 13 : Ecart moyen de température dans l'eau entre la surface et le fond des étangs au cours de l'année en 1996

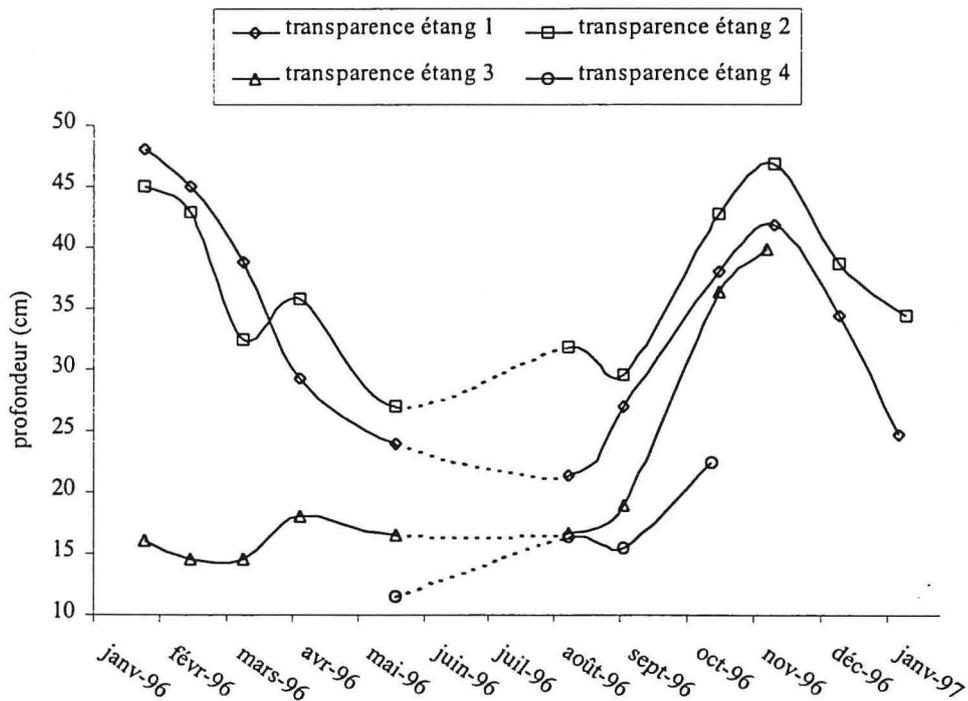


Figure 14 : Evolution de la transparence moyenne de l'eau dans les étangs en 1996

Données manquantes en juin et juillet 1996.

mesures effectuées en surface et au fond, mais, en revanche, la teneur en oxygène est deux fois plus élevée l'après-midi à 14 h que le matin à 6 h (Figure 15, Annexe 13 et Annexe 14). Ce phénomène est normal compte tenu de production d'oxygène par le phytoplancton durant la journée.

2.2.6.4. Mesures de pH

Des mesures de pH dans l'eau des étangs ont été réalisées avec un pH-mètre électronique (HANNA) en surface des étangs, le matin à 6 h et l'après-midi à 14 h. Ces mesures ont été effectuées en 1996 de façon ponctuelle dans trois étangs de janvier à mai et ensuite en octobre et en novembre.

Pour l'ensemble des trois étangs, le pH varie entre 6,7 et 7,6 pour une valeur moyenne de 7,1. Le pH tend à baisser de janvier à novembre, dans les étangs 1 et 2 en particulier, mais il ne s'agit que d'une tendance puisque qu'il n'y pas de différences significatives entre les mesures mensuelles de chaque étang (Figure 16, Annexe 15 et Annexe 16). Globalement, le pH est sensiblement plus faible le matin que l'après-midi, de 0,1 unité en moyenne (non significatif). Ces variations reflètent probablement les fluctuations de la teneur en gaz carbonique dissous (non mesurée) : généralement plus élevée le matin que l'après-midi.

2.2.6.5. Mesures du potentiel d'oxydo-réduction

Des mesures de potentiel d'oxydo-réduction ont été effectuées avec un oxymètre électronique (HANNA), le matin à 6 h et l'après-midi à 14 h. Il s'agit de mesures ponctuelles, réalisées en octobre et en novembre 1996.

La conductivité varie sur l'ensemble des étangs de 2,6 millivolts à 16,2 millivolts, pour une valeur moyenne de 9,5 millivolts. Au mois d'octobre, le potentiel d'oxydo-réduction moyen de l'étang 4 est significativement différent de celle des étangs 1 et 2 (Figure 17, Annexe 17). Le nombre de mesures est trop faible pour conclure quant aux différences entre le matin et l'après-midi. Ces données sont seulement fournies à titre indicatif sur la qualité de l'eau des étangs.

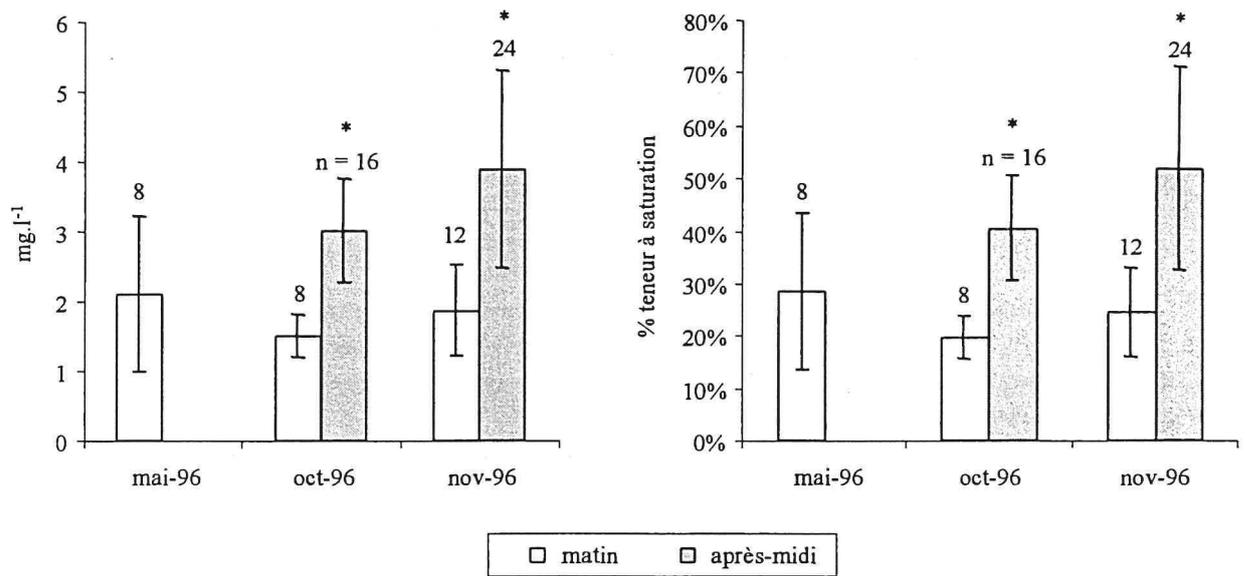


Figure 15 : Concentration moyenne en oxygène dissous dans l'eau des étangs

- n : nombre de mesures,
- différences significatives entre le matin et l'après-midi : * ($P < 0,05$).

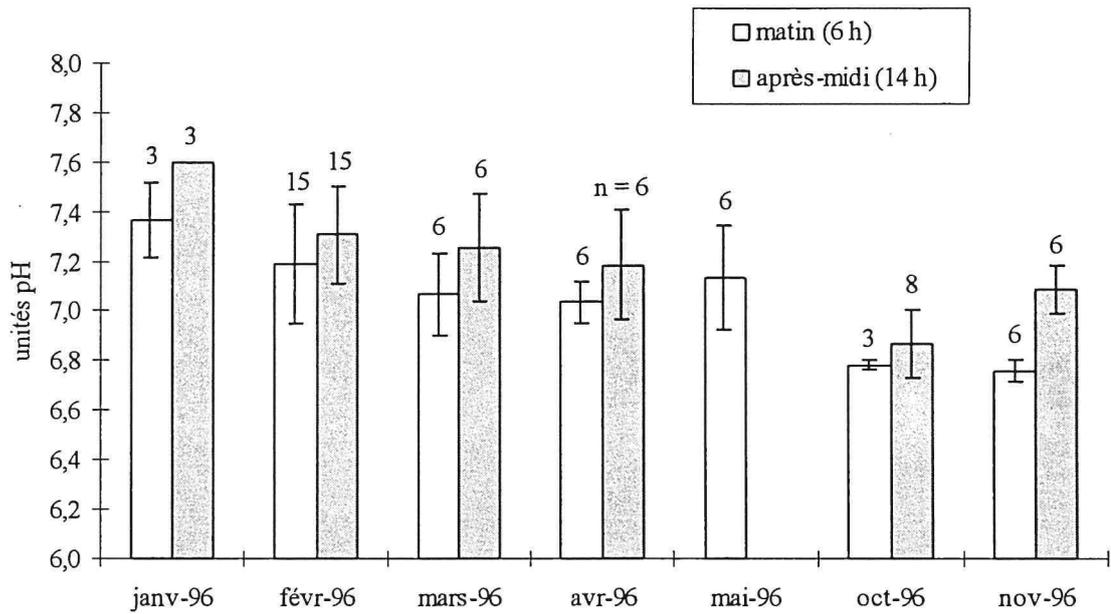


Figure 16 : Mesures moyennes de pH dans l'eau des étangs

n : nombre de mesures.

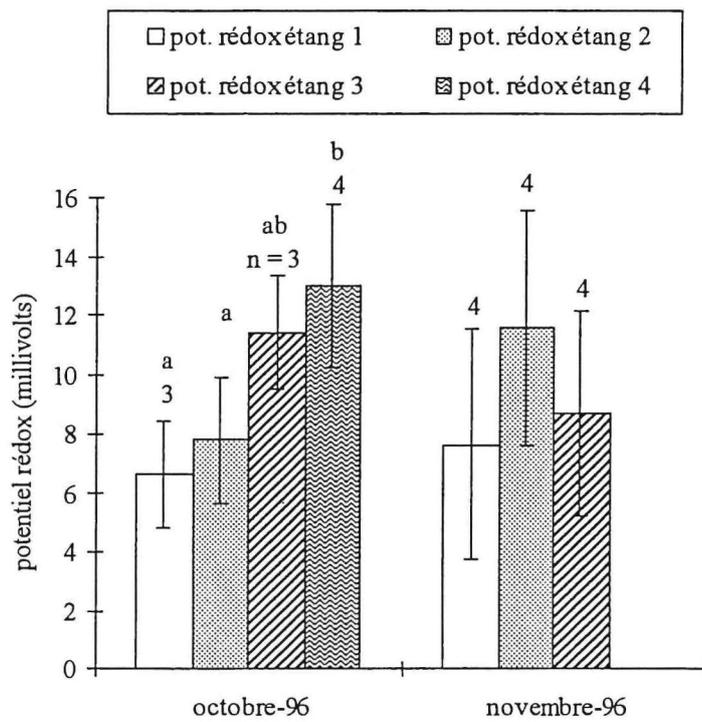


Figure 17 : Potentiel d'oxydo-réduction moyen dans l'eau des étangs

Différences significatives indiquées par des lettres différentes : a, b, ab ($P < 0,05$).

2.2.7. Synthèse des évolutions hydrologiques saisonnières en étangs

L'évolution annuelle des températures dans l'eau des étangs correspond à celle de la température de l'air ambiant. La transparence de l'eau est conditionnée simultanément par la température et la pluviométrie : la turbidité augmente avec le développement phytoplanctonique, stimulé par la température, et les apports de limon en période de forte pluie. Sur la base de ces relations, les conditions hydrologiques dans les étangs 1 et 2 en 1996 peuvent être décrites en trois phases fortement influencées par le climat de mousson :

1) Janvier à avril : saison sèche

L'augmentation de la température ambiante entraîne celle des étangs (de 27 à 30,8 °C). La poussée phytoplanctonique se traduit par une chute de la transparence de l'eau (de 47 à 33 cm).

2) Mai à août : début de la saison des pluies

Les fortes pluies provoquent une baisse graduelle de la température de l'air et de l'eau des étangs. La transparence de l'eau varie peu et reste basse (26,5 à 25,5 cm).

3) Septembre à décembre : fin de la saison des pluies

La baisse de la température de l'eau des étangs se poursuit. La transparence de l'eau augmente.

Les conditions hydrologiques dans les étangs 3 et 4 suivent une évolution comparable au niveau de la température. Ils diffèrent cependant des étangs 1 et 2 au niveau des fluctuations de la transparence de l'eau.

Tableau 12 : Biométrie des poissons géniteurs élevés en cages flottantes

Sexe	Paramètres	<i>P. bocourti</i> (déc. 96)	<i>P. hypophthalmus</i> (déc. 96)
Mâle	Lf (cm)	67,5 ± 6,3 [61,0 ; 89,5]	72,4 ± 4,7 [64,0 ; 80,5]
	PV (kg)	5,2 ± 1,0 [3,0 ; 7,6]	5,0 ± 1,0 [3,2 ; 7,1]
	CC	1,72 ± 0,32 [0,81 ; 2,08]	1,30 ± 0,16 [1,04 ; 1,55]
	N	29	17
Femelle	Lf (cm)	*** 72,0 ± 4,5 [64,0 ; 91,0]	** 76,5 ± 4,3 [66,5 ; 90,0]
	PV (kg)	*** 6,6 ± 1,2 [3,4 ; 10,7]	5,6 ± 1,2 [3,8 ; 11,2]
	CC	1,76 ± 0,21 [1,01 ; 2,21]	1,24 ± 0,14 [0,91 ; 1,57]
	N	55	63

- Lf : longueur à la fourche,

- PV : poids vif,

- CC : Coefficient de condition = $10^5 \times \frac{\text{poids vif (g)}}{\text{longueur à la fourche (mm)}^3}$

- N : effectif observé,

- différences significatives entre mâles et femelles d'une même espèce : ** (P < 0,01) ;

*** (P < 0,001).

Tableau 13 : Dimensions des cages flottantes sur le Mékong employées pour les poissons géniteurs

Cages	Types de cages	Dimensions (m) (L × l × p)	Volume (m ³)	Volume utile (m ³) (*)	Espèce élevée
N° 1	traditionnel	6 × 3 × 2,5	45	40,5	<i>P. bocourti</i>
N° 2	nouveau	6 × 3 × 3	54	49,5	<i>P. bocourti</i>
N° 3	traditionnel	6 × 3 × 1,5	27	22,5	<i>P. hypophthalmus</i>
N° 4	nouveau	6 × 3 × 3	54	49,5	<i>P. hypophthalmus</i>

(*) : volume utile = volume de la cage – (partie émergée = 0,25 m × 18 m² = 4,5 m³)

Tableau 14 : Empoissonnement des cages flottantes en décembre 96

Espèce	<i>P. bocourti</i>		<i>P. hypophthalmus</i>	
	1	2	3	4
Cage n°				
Nombre de poissons	50	50	50	50
Poissons par m ³	1,2	1,0	2,2	1,0
Biomasse totale (kg)	305,2	304,0	236,0	282,7
Biomasse (kg) par m ³	6,8	6,1	10,5	5,7

2.3. ELEVAGE DES POISSONS GENITEURS EN CAGES FLOTTANTES

2.3.1. Description de l'élevage

2.3.1.1. Les poissons géniteurs

En cages flottantes, le stock de poissons géniteurs est constitué d'environ 100 *P. bocourti* et de 100 *P. hypophthalmus* dont l'âge estimé en 1996 est respectivement de cinq et huit ans¹. Comme pour les poissons géniteurs élevés en étangs, ils sont issus de la capture de juvéniles dans le Mékong.

En période de repos sexuel, le poids vif de *P. bocourti* varie de 3 à 10,7 kg pour *P. bocourti* et de 3,2 à 11,2 kg pour *P. hypophthalmus* (Tableau 12). Chez *P. bocourti*, les femelles sont plus développées que les mâles au niveau du poids vif et de la longueur à la fourche, respectivement de 27 et 7 % en moyenne ($P < 0,001$). Chez *P. hypophthalmus*, les femelles sont également plus développées que les mâles, de 6 % au niveau de la longueur totale ($P < 0,01$), mais la différence au niveau du poids vif n'est pas significative (+ 12 %). Le coefficient de condition n'est pas différent entre les mâles et les femelles chez les deux espèces. Le coefficient de condition de *P. bocourti* est en revanche plus élevé que celui de *P. hypophthalmus*, de 32 % chez les mâles et de 42 % chez les femelles ($P < 0,001$).

2.3.1.2. Structures d'élevage

Le stock de poissons géniteurs est réparti entre quatre cages flottantes (Tableau 13), construites selon un modèle traditionnel ou nouveau. Les cages traditionnelles sont construites en bois pour le fond et les faces latérales, et en grillage inox sur les faces avant et arrière ce qui permet la circulation de l'eau à l'intérieur de la cage. Les cages d'un type nouveau sont constituées d'une poche en grillage poly-vinyle semi-rigide, accrochée à une armature en bois. Les cages traditionnelles sont surmontées d'une habitation, ce qui n'est pas le cas des cages de type nouveau.

Dans les deux cas, la flottaison des cages est assurée par des tiges de bambou ou des containers en plastique. Les cages sont disposées dans l'axe du fleuve et maintenues à leur emplacement par des cordes reliées à des ancres disposées sur le lit du fleuve. Ces cages expérimentales sont juxtaposées les unes aux autres à deux mètres d'intervalle et reliées entre elles par des passerelles.

Les densités et les biomasses moyennes en cages flottantes pour *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont respectivement de 1,1 et 1,6 poissons par m³ et de 6,5 et 8,1 kg par m³ (Tableau 14). Ces mises en charge sont nettement inférieures à celles observées dans le cas des élevages de grossissement, avec au minimum 55 poissons par m³ et 7,1 kg par m³ en début d'élevage, puis 59 kg par m³ en fin d'élevage. Il n'est donc pas nécessaire d'aérer la cage en saison sèche lorsque le courant du Mékong est insuffisant².

¹ : D'autres poissons géniteurs ont été également observés au niveau de la maturation gonadiques en 1994 et 1995. Ils avaient la même origine que ceux présentés ici, mais ils étaient élevés dans des conditions sensiblement différentes (cages plus grandes et densité plus élevée). Ces poissons n'ont pas été employés pour les reproductions décrites ici.

² : L'aération des cages flottantes est généralement requise lorsque le courant est nul en saison de basses eaux et que la biomasse en cage dépasse 40 kg.m⁻³.

Tableau 15 : Caractéristiques des différents aliments employés pour nourrir les poissons géniteurs en cages flottantes

Aliment n°	1	2	3
Début d'utilisation	Janv-96	juin-96	janv-97
Durée (mois)	6	6	6
Type de préparation	Pâte crue	granulé sec	granulé sec
<u>Ingrédients ^(a) :</u>			
Farine de poisson	33,0	40,0	35,4
Concentré	33,0	30,0	-
Tourteau de soja	-	20,0	33,4
Son de riz	33,0	-	-
Farine de sang	-	10,0	17,6
Brisures de riz	-	-	9,8
Huile de soja	-	-	3,0
Vitamines	-	-	0,8
<u>Composition :</u>			
Humidité ^(b)	34,5	14,9	10,9
Protéines ^(c)	41,5	46,7	50,7
Lipides ^(c)	12,0	2,9	7,2
Glucides ^(c)	7,1	21,8	22,6
Cendres ^(c)	32,4	23,9	16,8
Fibres ^(c)	6,9	4,6	2,7
Nombre d'analyses	1	1	1

^(a) : Proportions en % d'ingrédients frais,

^(b) : en % de matière totale,

^(c) : en % de matière sèche.

Tableau 16 : Composition moyenne des aliments employés en cages flottantes

	Composition (%)	
Humidité ^(a)	18,2 ± 9,6	[10,9 ; 34,5]
Protéines ^(b)	47,0 ± 3,6	[41,5 ; 50,7]
Lipides ^(b)	6,9 ± 3,5	[2,9 ; 12,0]
Glucides ^(b)	18,5 ± 6,6	[7,1 ; 22,6]
Fibres ^(b)	4,4 ± 1,6	[2,7 ; 6,9]
Cendres ^(b)	23,2 ± 6,2	[16,8 ; 32,5]

^(b) : En % de matière totale,

^(c) : en % de matière sèche.

Les biomasses en cages pour les géniteurs de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont néanmoins supérieures à celles des géniteurs de deux autres genres de poissons dont les cages sont implantées sur un lac : le corégone *Coregonus peled* ($5,5 \text{ kg.m}^{-3}$) (Mamcarz et Worniallo, 1985) et la carpe *Aristichthys nobilis* ($3,1 \text{ kg.m}^{-3}$) (Santiago *et al.*, 1991). En revanche, elles sont nettement inférieures à celle rapportée chez *P. pangasius* élevés en cages flottantes sur une rivière en Indonésie (30 kg.m^{-3}) (Meenakarn, 1986).

L'élevage des poissons géniteurs est mixte et le sex-ratio femelles / mâles est de 1,8 et 2,6 respectivement pour *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*.

2.3.1.3. Alimentation des poissons géniteurs

Durant un an et demi, trois types d'aliments ont été employés, préparés sous forme d'une pâte humide crue, puis de granulés secs (Tableau 15). La composition moyenne des matières premières employées est présentée en Annexe 7. Leur mode de préparation est identique à ceux décrits pour les poissons élevés en étangs (§ 2.2.3.3, p 59). Les teneurs moyennes en protéines, lipides et glucides sont respectivement de 47 %, 7 % et 19 %, avec une teneur moyenne en cendres de 23 % (Tableau 16). Les aliments employés sont les mêmes pour les deux espèces.

Le taux de rationnement moyen est de 1 et 1,5 % du poids vif, pour respectivement *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* (Tableau 17). Comme pour les poissons élevés en étangs, cette différence tient à la fois à une différence d'appétit, d'engraissement et de croissance entre les deux espèces. En raison du rationnement supérieur pour *P. hypophthalmus*, les apports en nutriments sont plus élevés pour cette espèce que pour *P. bocourti*, dont respectivement $5,6$ et $3,4 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour les apports en protéines.

2.3.1.4. Suivi du stock de poissons géniteurs

Les poissons géniteurs élevés en cages flottantes ont été suivi durant 30 mois pour *P. bocourti*, de juin 1994 à décembre 1996, avec 14 inventaires mensuels. Le suivi des géniteurs de *P. hypophthalmus* a été plus court, durant 11 mois, de janvier à décembre 1996, avec 6 inventaires mensuels. Lors de chaque inventaire, les poissons sont examinés selon un protocole identique à celui pratiqué en étangs. Les poissons sont tout d'abord pêchés avec une senne, tirée à l'intérieur de la cage flottante par quatre personnes, puis ils sont anesthésiés et les différentes mesures et prélèvements sont effectués.

Tableau 17 : Taux de rationnement et apports nutritionnels quotidiens pour les poissons géniteurs élevés en cages flottantes

	<i>P. bocourti</i>	<i>P. hypophthalmus</i>
Taux de rationnement (%.j ⁻¹) ^(a)	1,0 ± 0,6 [0,5 ; 2,1]	1,5 ± 0,3 [1,0 ; 2,1]
Apports en nutriments (g.kg ⁻¹ .j ⁻¹) ^(b) :		
- Protéines	3,4 ± 1,3 [2,0 ; 5,7]	5,6 ± 1,2 [4,0 ; 6,8]
- Lipides	0,6 ± 0,6 [0,1 ; 1,7]	0,9 ± 0,5 [0,2 ; 1,7]
- Glucides	1,2 ± 0,4 [0,7 ; 1,9]	2,2 ± 0,9 [0,7 ; 3,0]

^(a) : Quantité d'aliment humide distribuée par jour (sans l'eau ajoutée pour sa préparation), exprimée en pourcentages de la biomasse de poissons à nourrir,

^(b) : exprimés en grammes de nutriments par kilogramme de poids vif et par jour.

2.3.2. Caractéristiques de l'environnement à Chau-Dôc et comparaison avec celles de Can-Tho

2.3.2.1. Pluviométrie à Chau-Dôc

La pluviométrie est mesurée à l'aide d'un pluviomètre placé sur une cage flottante non couverte, à 1,5 m du plancher de la cage. Les mesures de précipitations sont effectuées chaque jour de pluie.

En 1996, la saison des pluies commence au mois d'avril à Chau-Dôc (cages flottantes) et à Can-Tho (étangs), puis elle se termine respectivement fin novembre et début décembre sur les deux sites (Figure 18). La période de la mousson est donc semblable sur les deux sites. En revanche, les précipitations cumulées à Chau-Dôc et Can-Tho sont respectivement de 1336 et 2094 mm en 1996. Outre une éventuelle variation de climat entre les deux sites, distants de 120 km, la différence de pluviométrie plus faible à Chau-Dôc est peut-être due à la proximité du pluviomètre des maisons flottantes, ce qui biaiserait les mesures de précipitation.

La Figure 9 (p 65) et la Figure 11 (p 67) illustrent respectivement les évolutions saisonnières de la photopériode et de la température ambiante dans le Sud Viêt-Nam, dont Chau-Dôc fait partie.

2.3.2.2. Débit du Mékong

La vitesse du courant est mesurée avec un objet flottant approprié (partie immergée en forme d'hélice) dont le parcours est chronométré le long d'une cage flottante. Connaissant la longueur de la cage, ce temps de parcours permet de calculer la vitesse du courant. L'opération est répétée trois fois lors de chaque mesure et le temps moyen est enregistré. La mesure est effectuée huit jours par mois et, chaque jour, une à quatre fois en fonction de la variabilité quotidienne du courant. La hauteur du fleuve est mesurée au niveau de la berge du Mékong sur un pilier en ciment gradué. La mesure est effectuée cinq jours par mois et, chaque jour, une à deux fois en fonction de la variabilité quotidienne du niveau de l'eau.

Au cours de l'année, la hauteur d'eau et la vitesse du courant suivent la même évolution (Figure 19 et Figure 20), caractéristique d'un régime de crue. Le débit du fleuve augmente à partir du mois de mai, jusqu'à un maximum atteint au mois d'octobre. La hauteur d'eau se trouve alors à 4,6 m au dessus de son niveau le plus bas, et la vitesse du courant atteint $55 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$. Le débit du fleuve diminue ensuite à partir du mois de novembre.

Durant quatre mois, de mars à juin, le débit du fleuve se caractérise par un courant qui provient alternativement de l'amont ou de l'aval. Cette période correspond à l'étiage du fleuve pendant laquelle son débit est plus faible que la poussée exercée par la mer située à 210 km de Chau-Dôc. Le courant s'inverse donc quatre fois par jour, à chaque basculement de marée, et, ce phénomène étant progressif, le courant est pratiquement nul durant environ 6 h par jour. Durant l'étiage, la vitesse du courant est donc comprise entre 0 et $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, à l'amont comme à l'aval.

Outre ces fluctuations liées au phénomène de crue, ou à la marée dans le delta d'un grand fleuve, le Mékong est également soumis à des variations de débit rythmées par le cycle de la lune, particulièrement sensibles en période d'étiage. C'est en effet principalement la lune qui est à l'origine des variations mensuelles de hauteur d'eau, de 0,8 m en moyenne et comprises entre 0,2 m (août) et 1,5 m (mai).

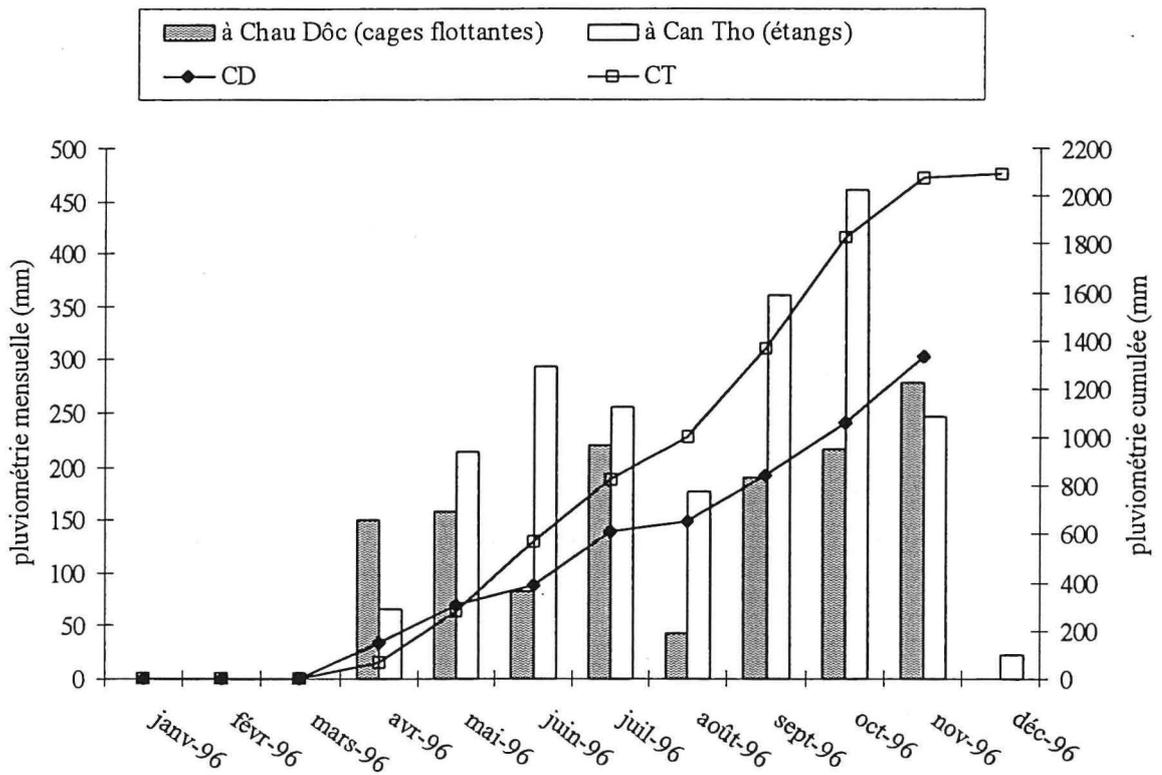


Figure 18 : Evolution de la pluviométrie sur les deux sites d'expérimentation en 1996

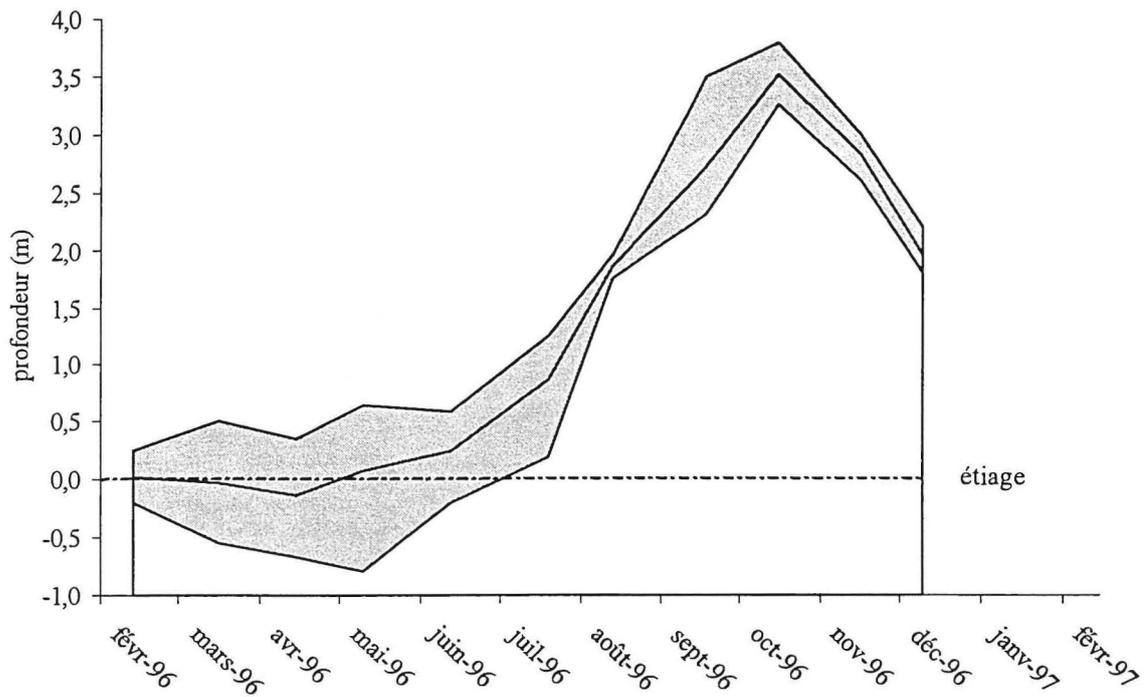


Figure 19 : Evolution de la hauteur d'eau relative moyenne, minimale et maximale du Mékong à Chau-Dôc en 1996

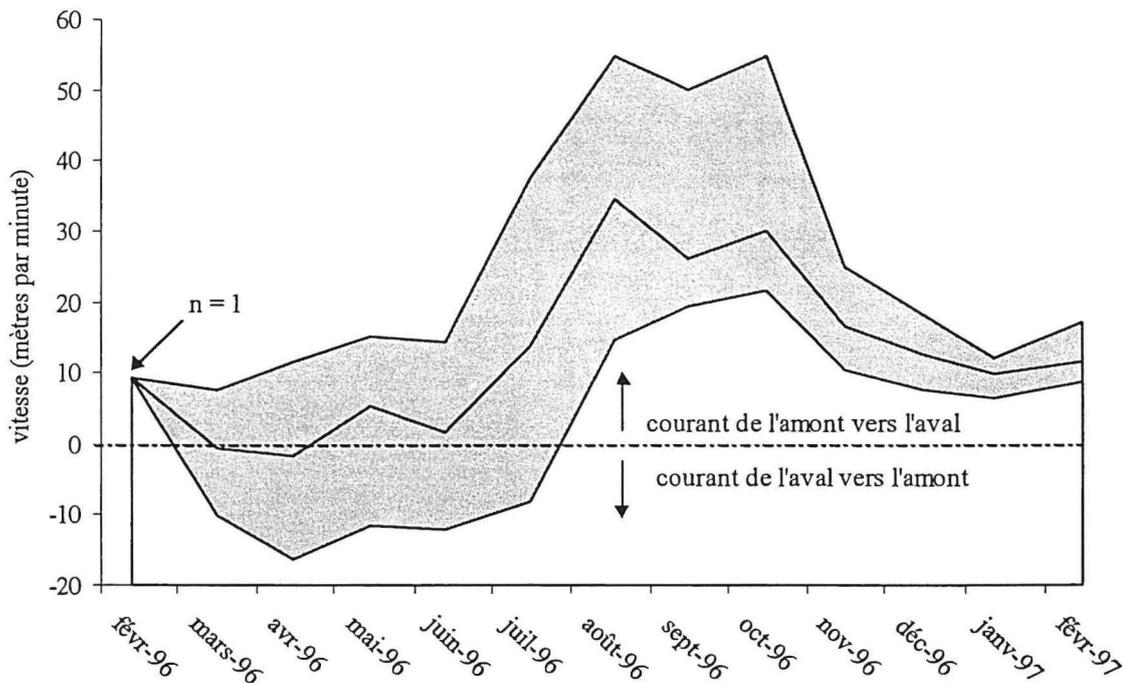
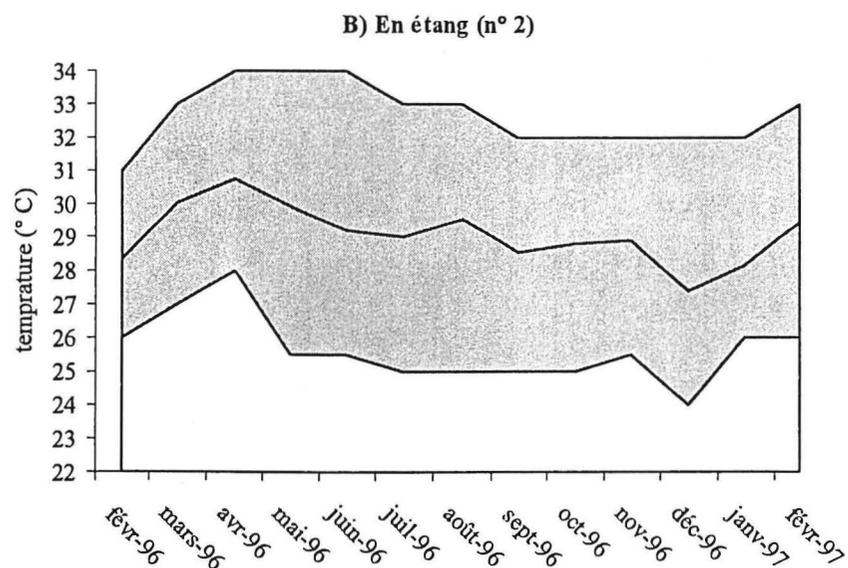
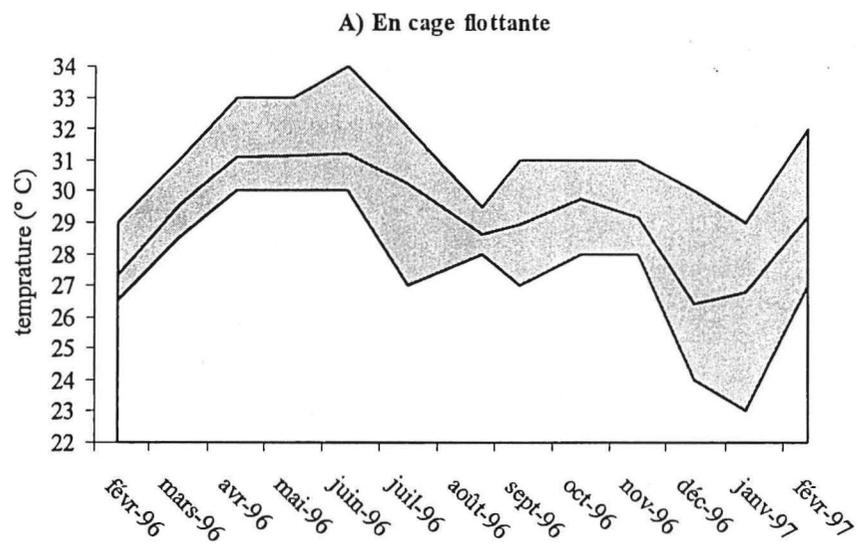
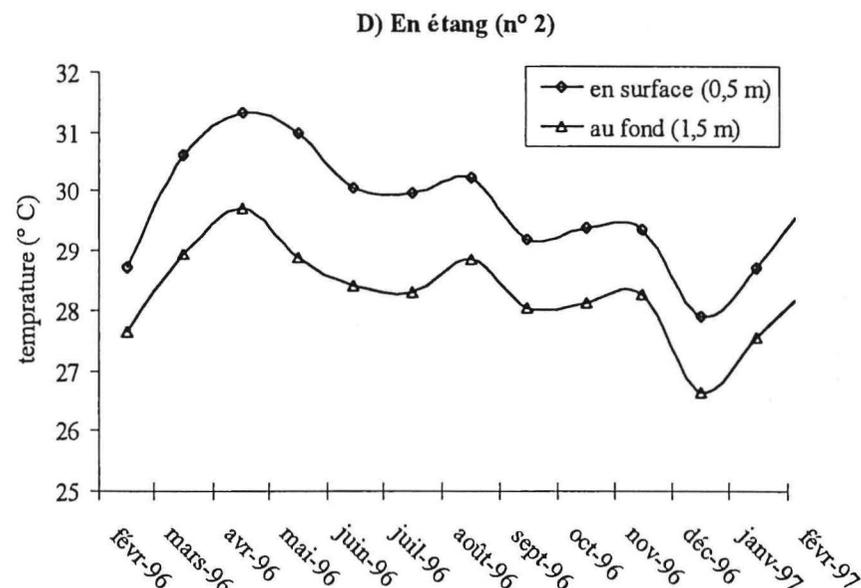
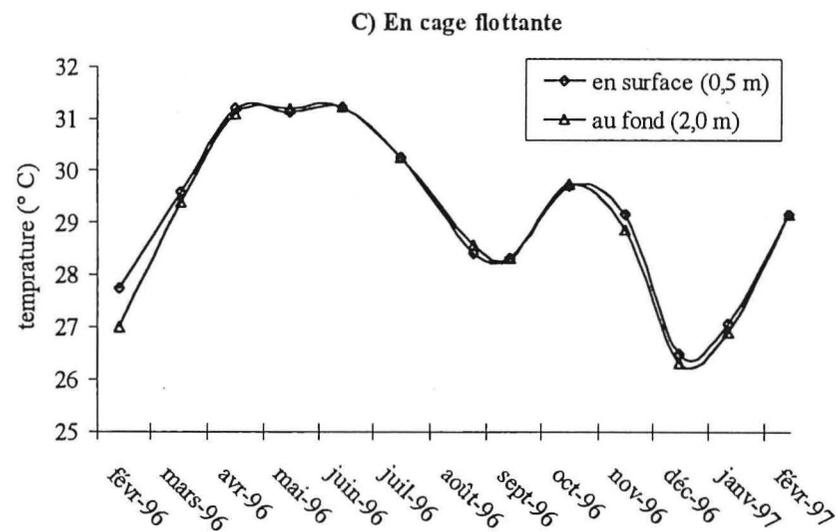


Figure 20 : Evolution de la vitesse du courant moyenne, minimale et maximale sur le Mékong à Chau-Dôc en 1996



Température moyenne, minimale et maximale dans toute la colonne d'eau



Température moyenne à 2 profondeurs

Figure 21 : Evolution comparée de la température de l'eau dans les deux milieux d'élevage en 1996

En étang, le débit d'eau est nul, à deux exceptions près :

- le pompage, effectué la nuit, de mars à juillet au cours de la saison de reproduction et qui induit un certain courant dans les étangs,
- le renouvellement d'eau par gravité, effectué deux fois par mois toute l'année, et qui occasionne une variation du niveau d'eau n'excédant pas 0,3 m (20 % de la profondeur maximale).

2.3.2.3. Température de l'eau

La température est mesurée dans une cage flottante en grillage semi-rigide et non couverte, à l'aide de thermomètres à mercure enregistrant les températures minimales et maximales. Un thermomètre est placé en surface à 0,5 m de profondeur et l'autre est placé au fond à 2 m de profondeur. La température moyenne est calculée en utilisant les deux valeurs extrêmes des quatre valeurs enregistrées, ce qui permet d'évaluer au mieux la température moyenne dans toute la colonne d'eau. Les relevés de température sont effectués toutes les 48 h et 15 mesures ont donc été effectuées par mois (Figure 21).

De février 96 à février 97, la température de l'eau dans les deux milieux d'élevage est la suivante :

- $29,2 \pm 1,6$ °C [23 ; 34] en cage flottante à Chau-Dôc,
- $29,1 \pm 0,9$ °C [24 ; 34] en étang (n° 2) à Can-Tho.

La température moyenne et la plage thermique sont donc similaires dans les deux milieux. La température en cage flottante augmente du mois de février au mois d'avril, de 27,3 °C à 31,1 °C en moyenne, puis elle se maintient durant deux mois jusqu'au mois de juin. Elle diminue ensuite graduellement jusqu'à un minimum au mois de décembre de 26,4 °C, puis elle remonte à partir de janvier. La température en étang présente la même évolution saisonnière, avec un pic en avril et un minimum en décembre (Figure 22). Néanmoins, la température moyenne en étang diminue rapidement après le pic atteint en avril, alors qu'elle reste à un niveau élevé en cage flottante durant les mois de mai et de juin. L'écart moyen de température entre les deux milieux, durant ces deux mois, est respectivement de 1,2 °C ($P < 0,01$) et de 2,0 °C ($P < 0,001$). En revanche, la température moyenne est plus élevée en étang qu'en cage flottante au mois de janvier de 1,4 °C ($P < 0,05$).

La plage de température est plus étendue en étang qu'en cage flottante tout au long de l'année : chaque mois, l'écart moyen entre le minimum et le maximum de température est de $7,0 \pm 1,1$ °C en étang contre $3,7 \pm 1,4$ °C en cage flottante. Cette différence est liée à l'existence d'un gradient thermique important en étang (Figure 21.C), la température en surface étant plus élevée qu'au fond de $1,4 \pm 0,6$ °C en moyenne. Par contre, ce gradient est pratiquement nul en cage flottante (Figure 21.D). L'étang constitue une masse d'eau inerte et isolée, soumise aux fluctuations de l'air ambiant, en surface notamment. La masse d'eau du Mékong est en revanche courante et très importante, ce qui contribue à amortir les variations thermiques.

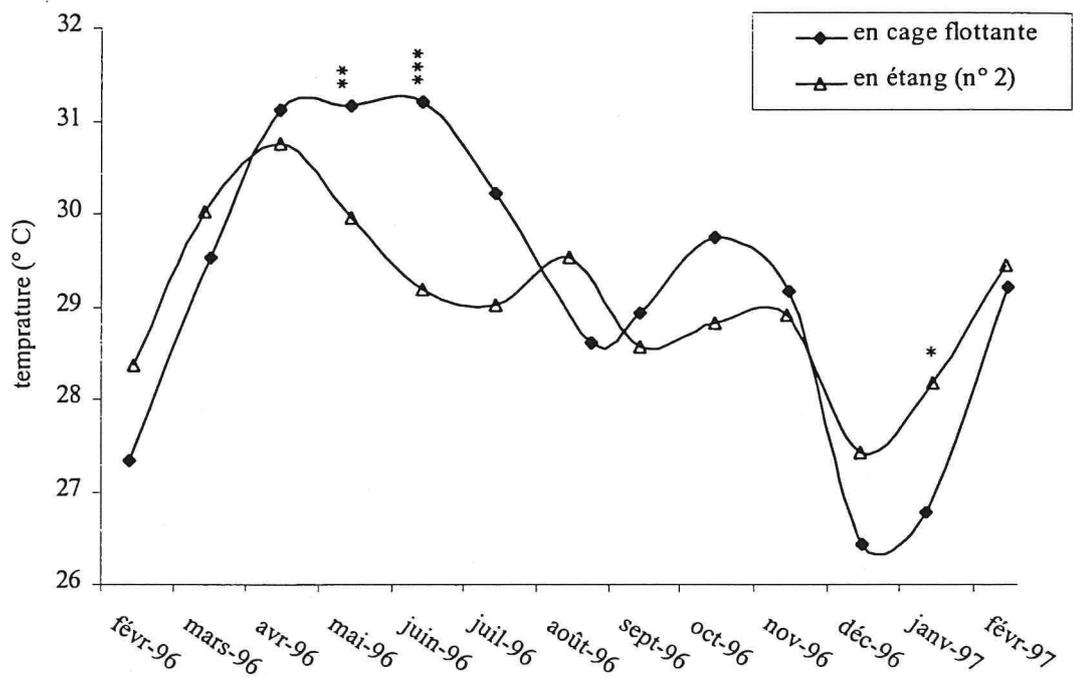


Figure 22 : Evolution de la température moyenne de l'eau dans les deux milieux d'élevage en 1996

Différences significatives entre les deux milieux d'élevage : * ($P < 0,05$) ; ** ($P < 0,01$) ; *** ($P < 0,001$).

2.3.2.4. Transparence de l'eau

La transparence de l'eau est mesurée avec un disque de Secchi. Comme il s'agit d'une mesure visuelle, celle-ci est répliquée trois fois pour plus de précision, et la valeur moyenne est enregistrée. Huit mesures moyennes sont ainsi effectuées par mois.

De février 96 à février 97, la transparence de l'eau dans les deux milieux d'élevage est la suivante :

- $44,7 \pm 25,1$ cm [5 ; 103] sur 12 mois en cage flottante,
- $47,7 \pm 26,2$ cm [5 ; 103] sur 10 mois en cage flottante,
- $36,6 \pm 6,2$ cm [15 ; 56] sur 10 mois en étang (données manquantes en juin et juillet).

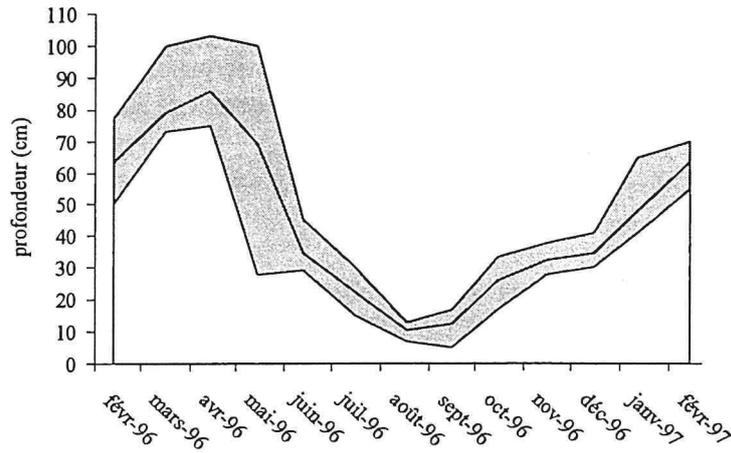
Globalement, la transparence moyenne de l'eau n'est pas significativement différente entre les deux milieux, bien qu'elle tende à être plus variable et plus élevée en cage flottante (Figure 23). En cage flottante, la transparence augmente de février à avril en passant de 64 à 86 cm en moyenne. Elle diminue ensuite jusqu'à un minimum, en août, de 11 cm en moyenne, puis elle remonte à partir du mois de septembre. La transparence de l'eau en étang évolue de façon moins marquée mais il semble qu'elle suive une évolution similaire à celle observée en cage flottante. Entre les deux milieux, la transparence de l'eau est significativement différente durant neuf mois de l'année, et, en particulier, au mois d'avril (+ 50 cm en cage flottante) et au mois d'août (+ 21 cm en étang).

2.3.2.5. Concentration en oxygène dissous

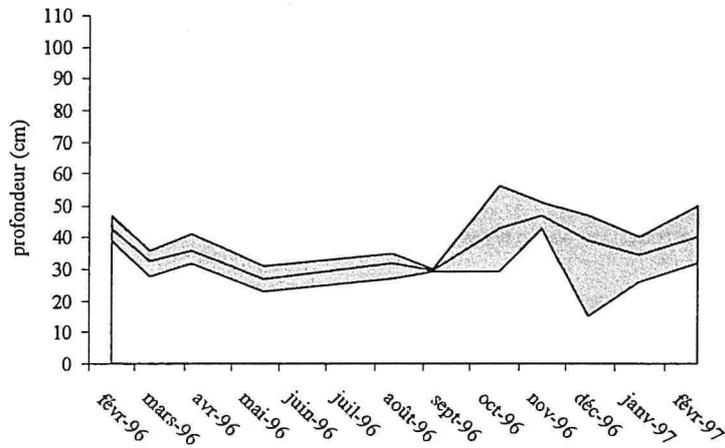
La concentration en oxygène dissous a été mesurée dans l'eau des cages flottantes avec un oxy-thermomètre électronique (YSI-50), en surface et au fond, à respectivement 0,5 et 2,0 m de profondeur. Ces mesures ont été effectuées de façon ponctuelle durant cinq mois en 1996 avec 2 à 15 mesures par mois. Les mesures sont répétées le matin à 6 h et l'après-midi à 14 h, aux moments qui correspondent, a priori, respectivement au minimum et au maximum de la teneur en oxygène dissous.

Au mois d'octobre, la concentration en oxygène dissous est globalement deux fois plus élevée en cage flottante qu'en étang ($P < 0,001$) (Figure 24, Annexe 18). Par ailleurs, cette concentration varie fortement durant la journée en étang, de $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$ le matin à $3,0 \text{ mg.l}^{-1}$ l'après-midi en moyenne, alors qu'elle n'est pas significativement différente entre le matin et l'après-midi en cage flottante. Enfin, les deux milieux d'élevage ne présentent pas de différence significative de concentration entre la surface et le fond.

A) En cage flottante
(transparence moyenne, minimale et maximale)



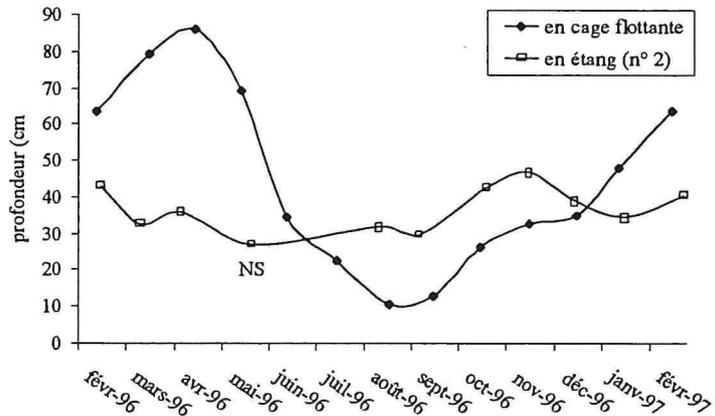
B) En étang (n° 2)
(transparence moyenne, minimale et maximale)



Les données en étangs sont manquantes au mois de juin et de juillet 1996

Données manquantes aux mois de juin et de juillet 1996

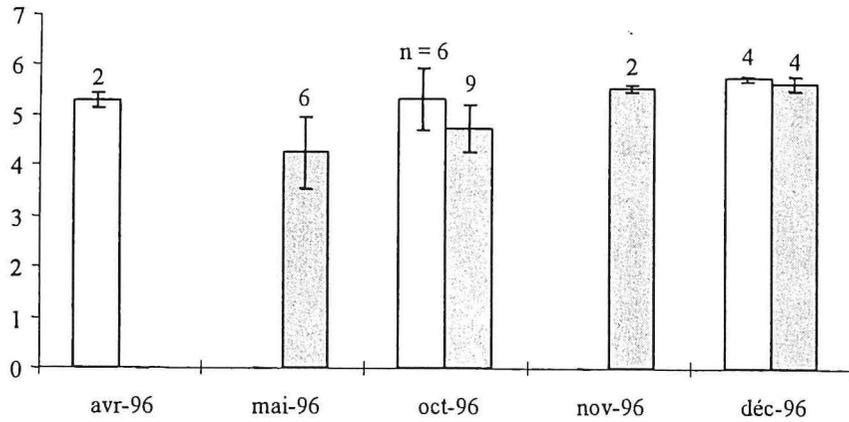
C) Transparence moyenne de l'eau dans les 2 milieux



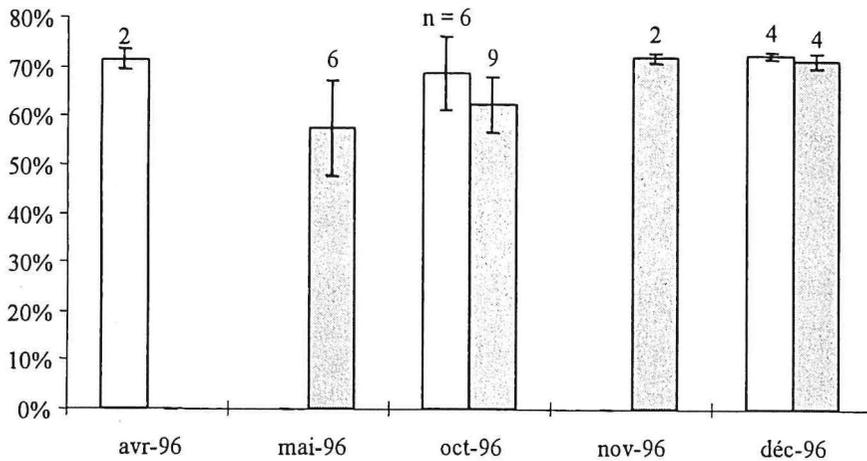
NS : différences non significatives entre les 2 milieux au mois de mai

Figure 23 : Evolution de la transparence de l'eau dans les deux milieux d'élevage en 1996

mg O₂ par litre



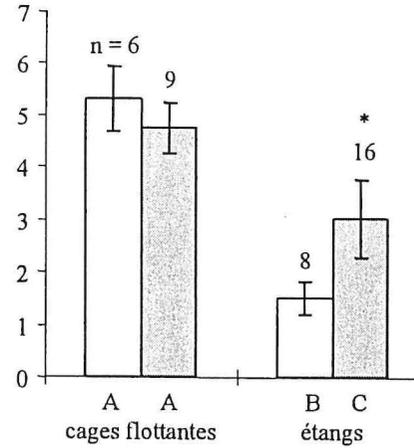
% de la teneur à saturation en O₂



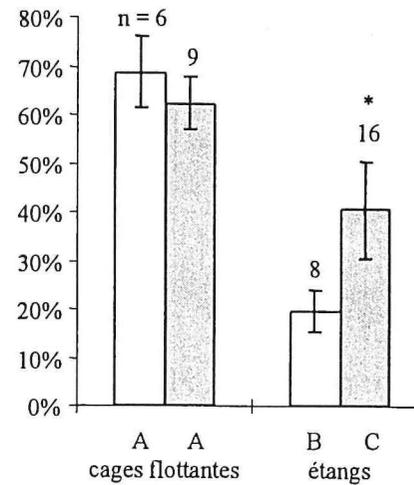
A) Concentration moyenne d'oxygène dissous en cage flottante

□ le matin (6 h) □ l'après-midi (14 h)

mg O₂ par litre



% de la teneur à saturation en O₂



B) Concentration moyenne d'oxygène dissous dans les 2 milieux d'élevage au mois d'octobre 1996

- différences entre le matin et l'après-midi : * (P < 0,05),
- différences entre les quatre mesures : A, B, C (P < 0,05).

Figure 24 : Concentration en oxygène dissous dans l'eau en cage flottante

2.3.2.6. Synthèse des évolutions hydrologiques saisonnières en cages flottantes

D'après les données disponibles, les conditions hydrologiques observées en cage flottante sur le Mékong peuvent se décomposer en trois phases suivantes au cours de l'année 1996 :

1) Janvier à avril : saison sèche et étiage du Mékong

Le débit du fleuve se caractérise par un courant qui s'inverse quatre fois par jour, avec une vitesse globalement faible (nulle à $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$). Le réchauffement de l'air ambiant dans la région en aval du Mékong entraîne une augmentation rapide de la température de l'eau (jusqu'à $31,1 \text{ }^\circ\text{C}$). Le fleuve en étiage charrie peu de particules en suspension, d'où l'augmentation de la transparence de l'eau (jusqu'à 86 cm).

2) Mai et juin : début de la saison des pluies et étiage du Mékong

La température de l'eau reste élevée et la transparence de l'eau baisse (jusqu'à 35 cm), en raison d'une augmentation de la quantité de limon charriée par le fleuve.

3) Juillet à décembre : saison des pluies et crue du Mékong

Le fleuve coule d'amont en aval uniquement et son débit culmine au mois d'octobre, tant au niveau du courant ($30 \text{ m}\cdot\text{mn}^{-1}$) que de la hauteur d'eau ($+ 3,7 \text{ m}$). La température moyenne de l'eau baisse graduellement (jusqu'à $26,4 \text{ }^\circ\text{C}$) et la transparence de l'eau reste basse.

En cages flottantes comme en étangs, la saison sèche (phase 1) se caractérise par une augmentation rapide de la température. En revanche, la transparence de l'eau augmente en cages flottantes alors qu'elle baisse en étangs, en raison de la poussée phytoplanctonique dans ce milieu. En début de la saison des pluies (phase 2), la température diminue de façon plus rapide en étangs qu'en cages flottantes, et la transparence diminue dans les deux milieux en raison de l'apport de limon. En fin de saison des pluies (phase 3), la température est basse dans les deux milieux et la transparence de l'eau augmente en étangs, alors qu'elle reste basse en cages flottantes. Enfin, les étangs se distinguent des cages flottantes par l'absence de courant, hormis durant la fin de la saison sèche et le début de la saison des pluies, lorsque l'eau a été aérée artificiellement durant la nuit.

CHAPITRE 3

**ETUDE DES VARIATIONS SAISONNIERES
DE L'ACTIVITE SEXUELLE**

3.1. INTERET DU SUIVI DE LA MATURATION GONADIQUE

Traditionnellement, l'élevage des *Pangasius* sp. commence par la capture des juvéniles dans le Mékong. Celle-ci se déroule essentiellement durant cinq mois, de juillet à novembre, lors de la saison des pluies et de la crue du fleuve (Cacot, 1993 ; Lenormand, 1996). Les juvéniles de *P. bocourti* ainsi capturés mesurent de 3-4 cm à 3-10 cm, respectivement en début et fin de saison de pêche. Les juvéniles de *P. hypophthalmus* sont sensiblement plus petits. En extrapolant sur la croissance des poissons dans le milieu naturel, ces informations indiquent que la reproduction de ces espèces interviendrait à partir du mois de mai ou du mois de juin. Par ailleurs, les essais de reproduction réalisés sur *P. bocourti*, élevés en cages flottantes, avaient été effectués sur des poissons sub-matures au mois de mai et de juin. Enfin, les reproductions de *P. hypophthalmus* élevés en étangs étaient obtenues, dans les années 80, durant la saison des pluies. En 1994, ces informations constituaient les seules disponibles sur la maturation gonadique des deux espèces étudiées.

Chez les poissons en captivité, il s'avérait nécessaire de préciser la saison de reproduction, d'une part, et de définir la dynamique du processus de maturation gonadique, d'autre part. C'est ce qui a pu être effectué durant 2,5 ans dans les deux milieux d'élevage, avec toutefois plus de précision en étangs qu'en cages flottantes. Cette étude a été menée sur la base d'observations régulières de gamètes, à savoir : la taille des ovocytes¹ chez les femelles et la présence de sperme chez les mâles. Dans le même temps, des paramètres de l'environnement ont été suivis, afin de déceler le, ou les, facteurs climatiques et hydrologiques susceptibles d'intervenir.

L'accès au développement des gonades entières a été limité, à quelques exceptions près, par l'impossibilité de sacrifier des poissons, compte tenu de leur valeur élevée pour les partenaires vietnamiens. Par ailleurs, le déroulement du processus de maturation gonadique a été généralement interrompu par l'application d'un traitement hormonal, destiné à induire la reproduction. De ce fait, les données enregistrées ne reflètent peut-être pas la dynamique réelle de la maturation gonadique, pour ce qui est de sa phase terminale.

¹ : Les follicules ovariens (ovocytes recouverts des cellules folliculaires) sont assimilés aux ovocytes dans la suite du document, car le diamètre ovocytaire constitue le principal paramètre observé.

3.2. TECHNIQUES EMPLOYEES

3.2.1. Mesure des échantillons d'ovocytes

La maturation gonadique des femelles de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* a été évaluée en mesurant le diamètre ovocytaire sur des échantillons d'ovocytes, collectés régulièrement par biopsie ovarienne d'un ovaire à l'aide d'un cathéter souple en plastique ou « pipelle de Cormier ». Cette méthode évite le sacrifice des poissons et permet ainsi le suivi individuel de la maturation des femelles marquées.

En conditions d'élevage, cette méthode a déjà été employée pour suivre la maturation chez plusieurs autres espèces : *Heterobranchus longifilis*, avec des ovocytes frais (Legendre, 1986) ; *Chrysichthys nigrodigitatus*, avec des ovocytes fixés dans le liquide de Serra (Nunez Rodriguez *et al.*, 1995) ; le milkfish *Chanos chanos* (Tamaru *et al.*, 1988) ; le mullet *Mugil cephalus* (Shehadeh *et al.*, 1973)¹ et la loche *Misgurnus anguillicaudatus* (Suzuki, 1983), avec des ovocytes fixés dans du formol 10 % ; les anguilles *Anguilla anguilla* (Pankhurst, 1982) et *A. japonica* (Sato *et al.*, 1996), avec des ovocytes frais. La même méthode a été appliquée à l'étude de poissons sauvages, sacrifiés après leur capture, chez le capelan *Mallotus villosus villosus*, avec une solution qui conserve l'aspect des ovocytes (Forberg, 1983), et chez *P. pangasius* (David, 1963). La mesure du diamètre ovocytaire est également rapportée chez la carpe *Cyprinus carpio* (Horvath, 1986).

En moyenne, 22 et 59 échantillons d'ovocytes ont été prélevés par inventaire chez les femelles de *P. bocourti*, élevées respectivement en étangs et en cages flottantes, ainsi que 9 et 39 échantillons chez *P. hypophthalmus* (Annexe 19). Le nombre d'échantillons dépendait du nombre de femelles capturées, mais, surtout, de la facilité à prélever les ovocytes. Le prélèvement est en effet plus difficile chez les femelles présentant de petits ovocytes car les ovaires sont moins développés, d'où un nombre plus faible d'échantillons observés en dehors de la saison de reproduction, en début de suivi notamment lorsque les opérateurs étaient encore inexpérimentés.

Les mesures de diamètre ovocytaire ont été effectuées sous loupe binoculaire, à l'aide d'une règle micrométrique placée dans l'un des deux oculaires. Les ovocytes sont au préalable étalés sur un support en verre, boîte de Pétri ou lame. La surface de la plaque de verre est divisée en petits carrés de 5 à 10 mm de côté afin de faciliter les mesures. Les plus grands diamètres observés pour *P. hypophthalmus* et *P. bocourti* sont respectivement de 1,2 mm et de 2,0 mm. Les grossissements généralement employés sont de 12,5 et 21 fois, et, plus rarement, de 34 fois, de façon à ce que les ovocytes de grande taille atteignent 2,0 unités micrométriques (UM). Les ovocytes de diamètre inférieur à 0,5 UM sont ignorés pour que la mesure décrive au mieux la distribution des ovocytes les plus grands.

La mesure est effectuée jusqu'à ce que le mode de la distribution atteigne 15 ovocytes, le nombre total d'ovocytes mesurés étant variable. En moyenne, 45 et 38 ovocytes ont été mesurés par échantillon, respectivement chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Les mesures sont effectuées en binôme, une personne mesurant et l'autre notant les valeurs mesurées ; une trentaine d'échantillons peuvent ainsi être mesurés en une demi-journée. A chaque inventaire, sont retenus comme indicateur de la maturation gonadique la valeur modale du diamètre des ovocytes pour chaque femelle et la moyenne de ces valeurs pour le stock de géniteurs.

¹ : Cités par Tamaru *et al.*(1988).

3.2.2. Conservation des échantillons d'ovocytes

Les échantillons d'ovocytes peuvent être observés frais ou fixés dans une solution d'attente. Il s'agit du liquide de Gilson qui permet à la fois de fixer et de dissocier les ovocytes. La dissociation des ovocytes est obtenue par digestion du stroma ovarien tout en laissant les ovocytes intacts. L'effet dissociant n'est pas immédiat il peut être accéléré en agitant le flacon juste après y avoir déposé l'échantillon ; la dissociation complète est généralement obtenue après une à deux semaines. Notons que la biopsie à l'aide de la canule permet une première séparation mécanique des ovocytes, entraînant ainsi une dissociation relativement rapide dans le liquide de Gilson.

La composition du liquide de Gilson est la suivante, pour un litre de solution :

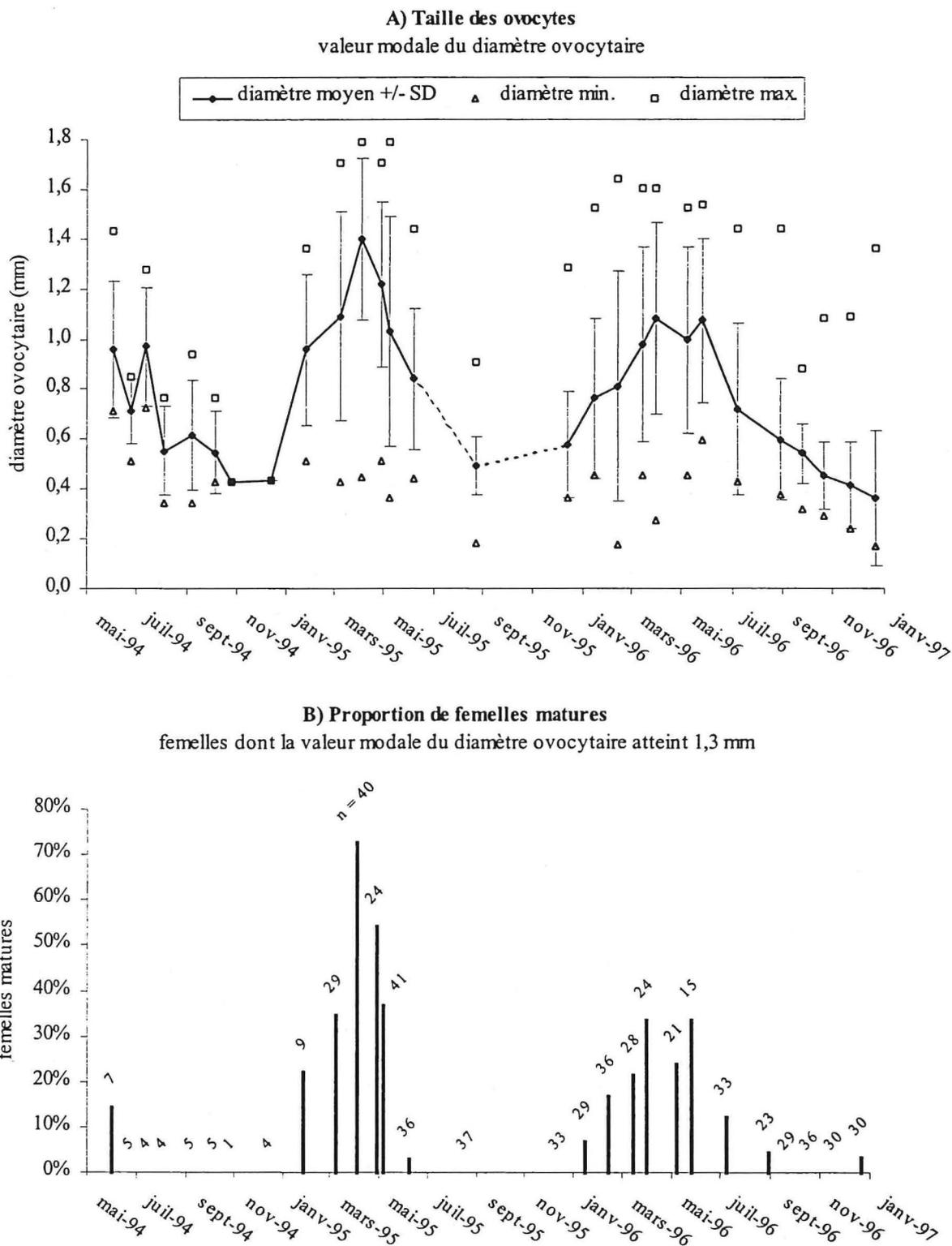
- alcool éthylique à 60° 100 ml
- eau..... 880 ml
- acide nitrique 15 ml
- acide acétique glacial..... 9 ml
- chlorure de mercure 20 g

Le liquide de Gilson présente l'inconvénient de rétrécir sensiblement les ovocytes fixés. L'effet rétrécissant a été étudié en considérant l'évolution de la valeur modale du diamètre ovocytaire. Pour les deux espèces, il a été évalué par trois mesures de quatre échantillons, effectuées pour *P. bocourti* à l'état frais et après 24 h puis 120 h de fixation, et, pour *P. hypophthalmus*, à l'état frais et après 6 h puis 240 h de fixation. Les rétrécissements aux temps intermédiaires ont été extrapolés, en considérant le rétrécissement comme un phénomène linéaire dans le temps. Ce travail a permis de définir une correction par un coefficient de réduction de 6,0 à 12,0 % chez *P. bocourti* et de 11,1 % chez *P. hypophthalmus* (Tableau 18).

3.2.3. Suivi de la spermiation des poissons mâles

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, le degré de maturité sexuelle est évalué par l'émission, ou non, de sperme en réponse au massage abdominal du poisson. Cette méthode, n'impliquant pas le sacrifice des poissons, permet donc de suivre la maturation individuelle des individus marqués. Un tel suivi de la spermiation naturelle au cours de l'année a été rapporté chez le bar *Dicentrarchus labrax* (Carrillo *et al.*, 1995). Le suivi de la spermiation a été rapporté également lorsque des mâles ont reçu un traitement destiné précisément à induire la spermiation, durant sept jours chez *Silurus glanis* (Linhart et Billard, 1994), neuf jours ou neuf mois chez la carpe *Cyprinus carpio* (Saad et Billard, 1987) et durant 14 semaines chez l'anguille *Anguilla japonica* (Ohta *et al.*, 1996).

L'indicateur de la maturation gonadique des mâles est une valeur binaire, égale à 0 pour un mâle non spermiant ou égale à 1 pour un mâle spermiant. La proportion de mâles spermiant observés constitue l'indicateur de maturation du stock de géniteurs. Par inventaire, 19 et 41 poissons mâles de *P. bocourti* ont été observés en moyenne, respectivement en étangs et en cages flottantes, ainsi que 15 et 24 poissons mâles de *P. hypophthalmus* (Annexe 19).



3.3. MATURATION GONADIQUE DE *P. BOCOURTI* ELEVES EN ETANGS

3.3.1. Maturation gonadique des femelles de *P. bocourti*

3.3.1.1. Maturation gonadique de l'ensemble des femelles

L'évolution du diamètre ovocytaire moyen est comparable pour les trois lots de géniteurs, malgré un développement relativement faible du troisième lot (Annexe 20). Ce lot étant arrivé tardivement en étangs, il semble que les poissons aient dépassé leur pic de maturation en 1996. Les femelles des trois lots ont été étudiées ensemble pour caractériser la maturation gonadique du stock de géniteurs.

L'évolution du diamètre ovocytaire moyen du stock de géniteurs présente chaque année l'alternance d'une phase d'augmentation, un pic puis une phase de diminution (Figure 25.A). Il s'agit donc d'un processus saisonnier qui dure environ 3,5 mois, de mi-décembre 1994 à début avril 1995, et de mi-décembre 1995 à fin mars 1996. La même figure montre également que le diamètre ovocytaire est variable au cours des cycles de maturation. Le coefficient de variation moyen sur l'ensemble du suivi en 1995 et en 1996 est de 38 % et il peut atteindre 76 %. Même si la variabilité tend à diminuer en dehors de la période de reproduction, le coefficient de variation le plus faible est encore de 24 % fin août 1995 et de 22 % fin septembre 1996. En revanche, les valeurs maximales suivent la même évolution que les valeurs moyennes ce qui confirme le caractère saisonnier du processus de maturation gonadique.

Les femelles sont considérées comme sexuellement matures lorsqu'elles présentent des ovocytes dont la valeur modale du diamètre atteint au moins 1,3 mm. Cette taille correspond à un seuil à partir duquel les ovocytes sont susceptibles de répondre à un traitement hormonal destiné à induire la reproduction (§ 4.3.2, p 137). Ainsi définie, la proportion de femelles matures suit la même évolution saisonnière que le diamètre ovocytaire moyen (Figure 25.B). Le diamètre ovocytaire moyen qui est atteint au pic de maturation gonadique et la proportion correspondante de femelles matures sont les suivants : 1,4 mm et 73 % en 1995 (n = 18), 1,1 mm et 33 % en 1996 (n = 10). Le stock de géniteurs présente au moins une femelle mature durant quatre mois en 1995, de fin janvier à début juin, et durant sept mois en 1996, de mi-janvier à fin août. Fin décembre 1996, lors du dernier inventaire effectué dans le cadre de ce travail, le stock de géniteurs présente 3 % de femelles matures (n = 30), indiquant une reprise de la maturation gonadique pour la saison de reproduction de 1997. La proportion cumulée de femelles matures en 1995 et 1996 est respectivement de 71 % (n = 44) et 62 % (n = 37).

3.3.1.2. Maturation gonadique de chaque femelle

Compte tenu de la variabilité importante au niveau du stock de géniteurs (Figure 25.A), il paraît nécessaire d'étudier la maturation gonadique au niveau individuel afin d'avoir plus de précisions quant à la dynamique de ce processus. Cette étude concerne des données collectées entre août 1995 et décembre 1996, sur 15 femelles observées chacune tous les 31 jours en moyenne (16 à 59 jours). Ces observations régulières permettent de situer avec une précision moyenne de 31 jours les dates de début de maturation gonadique. Le paramètre suivi est le diamètre ovocytaire correspondant au mode de la distribution des ovocytes (Annexe 21 et Annexe 22).

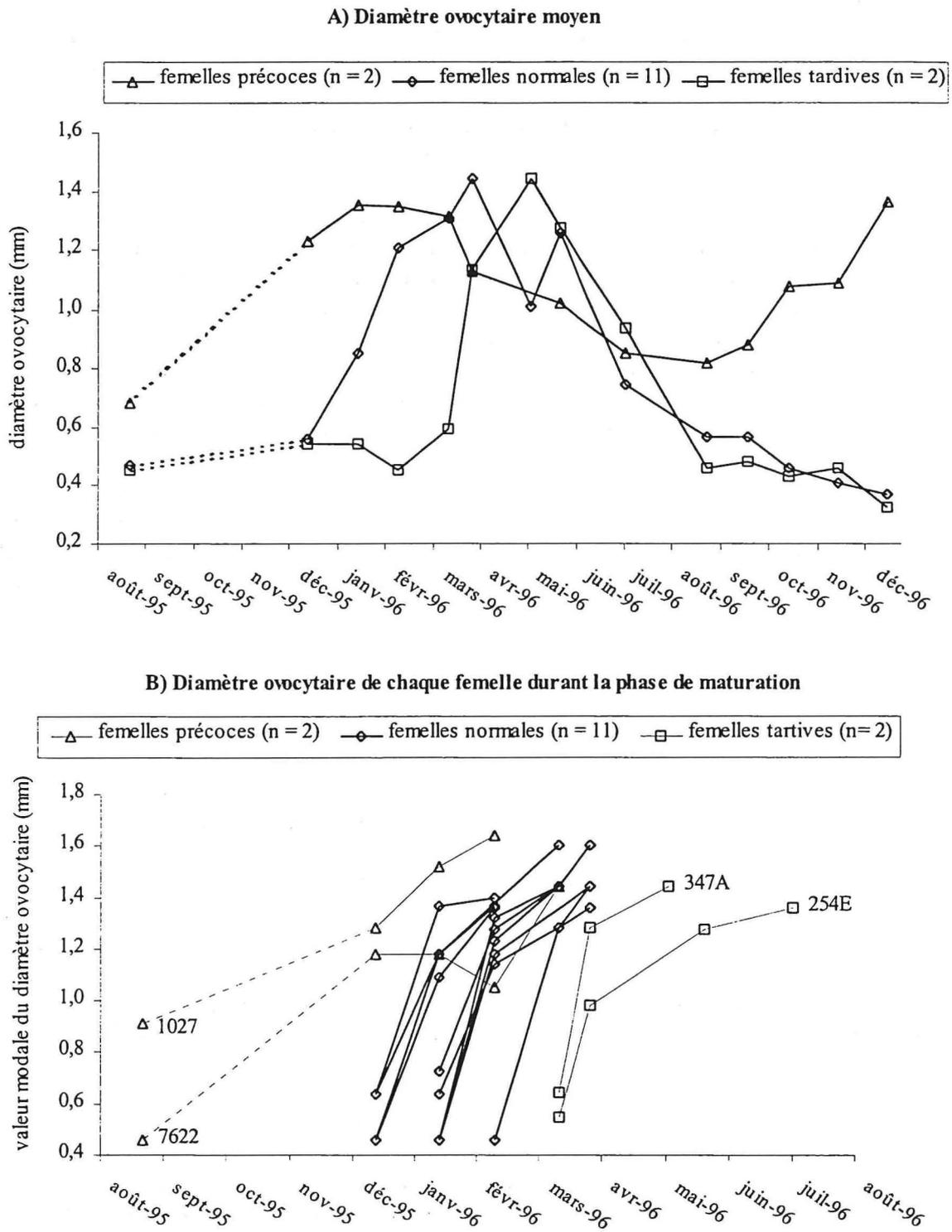


Figure 26 : Evolution comparée de la valeur modale du diamètre ovocytaire des femelles de *P. bocourti* normales, précoces et tardives élevées en étangs

Mi-décembre 1995, 13 femelles présentent un diamètre ovocytaire de 0,5-0,7 mm. Deux autres femelles (n° 7622 et 1027) se distinguent par un diamètre ovocytaire nettement supérieur, de 1,2-1,3 mm : elles sont considérées comme précoces. Parmi les 13 autres femelles, deux se distinguent par une phase de maturation commençant mi-mars et se terminant respectivement début mai et début juillet, pour les femelles n° 347A et 254E, alors que la phase de maturation est antérieure pour les autres femelles. Ces deux femelles sont considérées comme tardives. La Figure 26.A met en évidence le décalage entre les évolutions du diamètre ovocytaire moyen des trois catégories de femelles, précoces (n = 2), normales (n = 11) et tardives (n = 2).

A partir de fin août 1995, l'évolution du diamètre ovocytaire des femelles qualifiées de normales présente deux phases. Durant la première phase, le diamètre ovocytaire varie légèrement ou bien reste stable pour respectivement 8 et 3 des 11 femelles, et, dans les deux cas, il reste compris entre 0,4 et 0,7 mm. La seconde phase de maturation gonadique, qualifiée de rapide, se caractérise par une nette augmentation du diamètre ovocytaire, en moyenne de 0,5 à 1,4 mm, durant 65 jours à partir de début janvier 1996 (Figure 26.B, Annexe 23). La fin de la phase de maturation gonadique correspond au moment où le diamètre ovocytaire atteint sa valeur observée la plus élevée, avant l'application de tout traitement expérimental sur les femelles.

Le début de la phase de maturation des femelles précoces n'est pas connu ; il intervient entre mi-août 1995 et mi-décembre 1995 (Figure 26.B). La fin de leur maturation est observée dans le même intervalle de temps que celui des femelles normales. La durée de maturation des deux femelles tardives est de 32 jours (n° 1027) et de 115 jours (n° 254E), soit respectivement la durée la plus courte et la plus longue observées.

3.3.2. Maturation gonadique des mâles de *P. bocourti*

3.3.2.1. Proportion de mâles spermiantes dans le stock de géniteurs

La spermiation des mâles appartenant aux trois lots de poissons géniteurs intervient sensiblement durant les mêmes périodes (Annexe 24). Les données des trois lots ont été rassemblées pour étudier la maturation du stock de géniteurs.

La proportion de mâle spermiantes suit une évolution saisonnière qui culmine début avril en 1995 et fin mars en 1996 (Figure 27), avec respectivement 92 % (n = 13) et 60 % (n = 15) de mâles spermiantes. Au moins un mâle spermiant a été observé à chaque inventaire entre début juin 1994 et mi-août 1995, durant 14,5 mois. Pendant cette période, la proportion la plus faible de mâles spermiantes était de 14 %, en octobre 1994 (n = 21). Ensuite il y a interruption de la spermiation, puis reprise à partir de mi-janvier jusqu'à fin août 1996, durant une période de sept mois.

3.3.2.2. Durée de la spermiation de chaque géniteur mâle

Le marquage individuel des poissons a permis de montrer que certains mâles peuvent être observés spermiantes d'un inventaire à l'autre. Ainsi, parmi les poissons appartenant aux deux premiers lots, le suivi effectué en 1995 et en 1996 a mis en évidence que 88 % des mâles peuvent être spermiantes d'un inventaire à l'autre (n = 40). Pour ces poissons, la durée de spermiation, considérée comme le délai entre la première et la dernière spermiation observée sur un individu suivi pendant un an, est variable et comprise entre 0,5 et 11,5 mois (Figure 28), pour une moyenne de 3 mois.

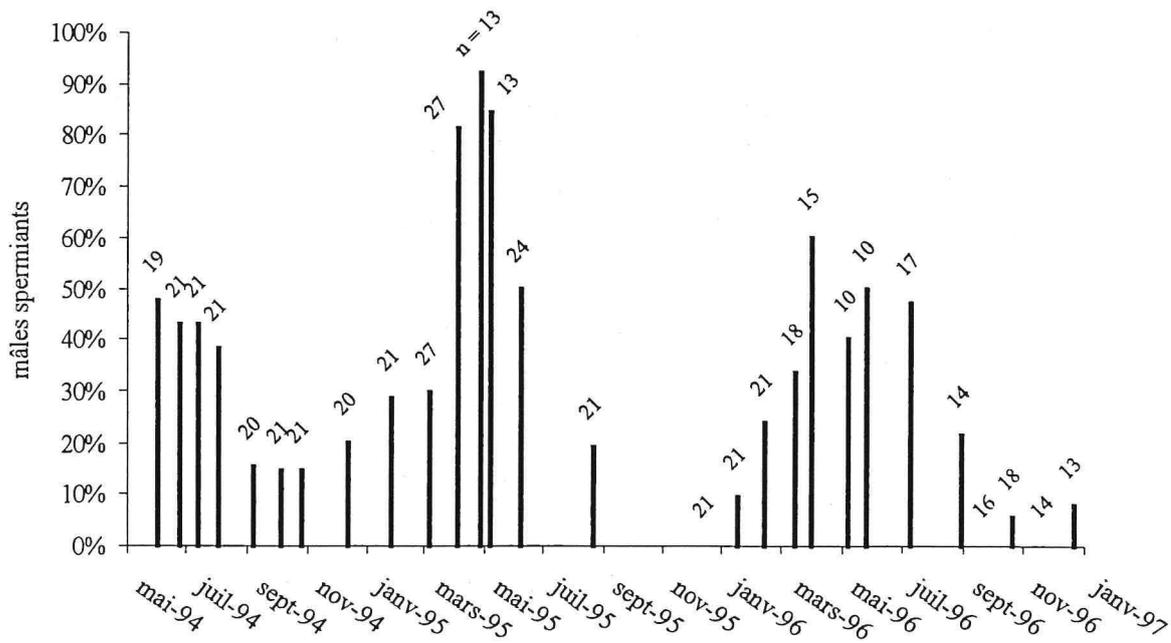


Figure 27 : Evolution de la proportion de mâles de *P. bocourti* spermiantes élevés en étangs

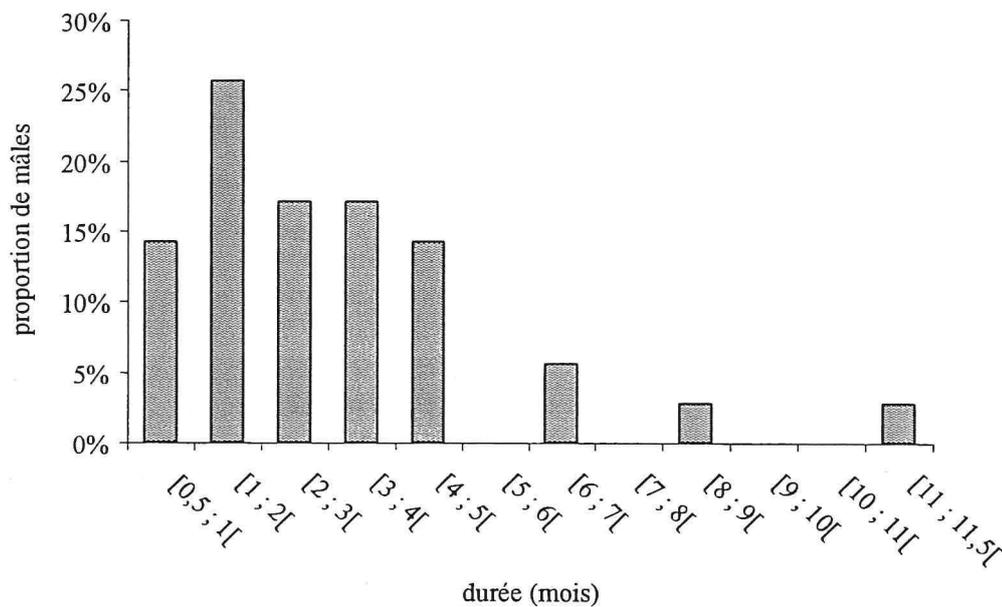


Figure 28 : Durée de la spermiation des mâles de *P. bocourti* élevés en étangs au cours de l'année en 1995 et 1996

N = 35 mâles observés.

3.3.2.3. Relation entre la maturation gonadique des mâles et celle des femelles

Au cours du temps, les proportions de mâles spermiantes et de femelles matures suivent des évolutions saisonnières similaires (Figure 29). Les pics de maturation sont décalés de trois semaines en 1995, observés début et fin avril respectivement pour les femelles (60 %) et les mâles (92 %). Le pic de maturation est observé fin mars en 1996, pour les femelles (33 %) et pour les mâles (60 %).

3.3.3. Cycle sexuel et facteurs de l'environnement

3.3.3.1. Relation avec la température de l'eau

La phase de maturation gonadique des femelles et des mâles correspond à la phase d'augmentation de la température, en 1995 et 1996 (Figure 30). Cette correspondance est plus nette en 1996, en raison de la période plus étendue du suivi. Le pic de maturation des femelles précède le pic de température en 1995 alors que les deux pics sont synchrones en 1996. La température moyenne au pic de maturation est de 29,6 °C en 1995 et de 31,0 °C en 1996. Les pics de maturation des mâles et les pics de température sont synchrones les deux années, à 31,5 °C en 1995 et 31,0 °C en 1996. Les premiers poissons, femelles et mâles, sont matures en 1996 lorsque la température moyenne dépasse 26,0 °C. Le pic de maturation est ensuite observé à 31 °C, soit après un accroissement de la température de 5 °C, puis la proportion de poissons matures diminue, en même temps que la température, et aucun poisson mature n'est observé à 28,1 °C fin août 1996. Il faut noter que la température diminue plus graduellement que la proportion de poissons matures.

Le développement ovocytaire concorde avec une augmentation continue de la température, pour les femelles précoces et normales, respectivement de 1,5 et 2,8 °C en moyenne (Figure 31, Annexe 25). Pour les deux femelles tardives, la température augmente dans un premier temps de 1,1 et 1,5 °C, puis elle diminue. Cette baisse vient du fait que les femelles tardives terminent leur maturation après le pic thermique en étangs, survenant au mois d'avril, alors que les femelles précoces et normales effectuent leur maturation avant le pic thermique. Les femelles tardives diffèrent également par une température en début de maturation plus élevée que les femelles normales, respectivement de 29,7 et 26,7 °C en moyenne.

La variable « somme de degrés jours » est le produit de la durée du processus de maturation gonadique et de la température moyenne, lorsque cette température est supérieure ou égale à celle du début de la maturation. Cette variable fournit une indication sur la « quantité de chaleur » reçue par le poisson durant la phase de maturation. Pour les 11 femelles normales, la somme de degrés jours moyenne est de 1691, soit 65 jours à 26 °C. Parmi ces femelles, quatre présentent une valeur supérieure à la moyenne ; il s'agit des femelles dont la durée de maturation est relativement longue, de 75 ou 91 jours. Par ailleurs, ce critère rapproche les femelles tardives des femelles normales, puisque la somme de degrés jours de ces deux catégories de femelles est relativement proche (1624 et 1691 en moyenne).

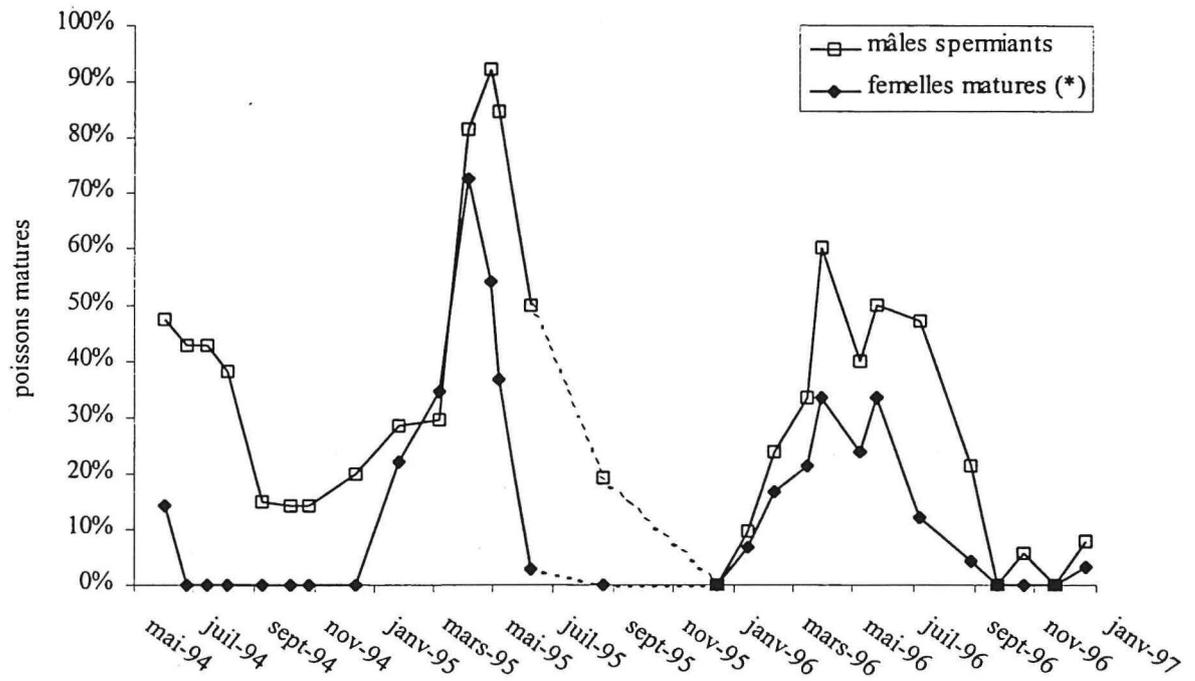


Figure 29 : Evolution de la proportions de mâles et de femelles matures chez les géniteurs de *P. bocourti* élevés en étangs

(*) : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,3 mm.

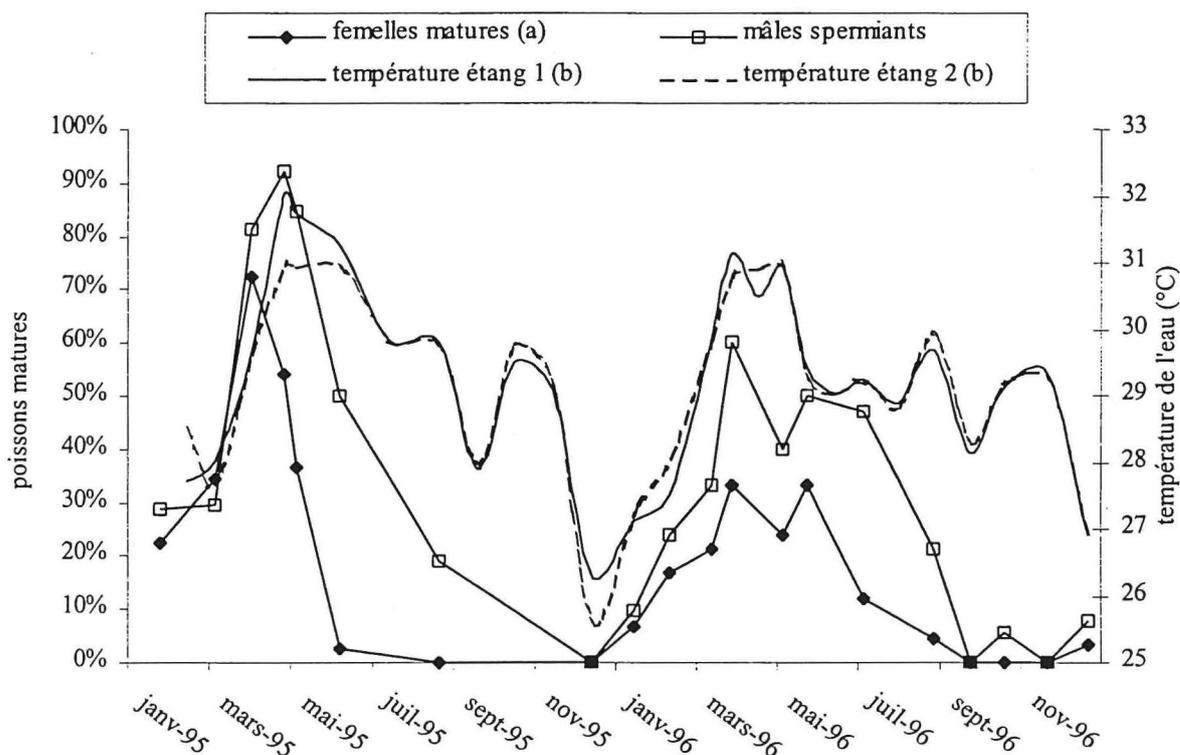


Figure 30 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. bocourti* matures et de la température moyenne de l'eau en étangs

- (a) : femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,3 mm,
 (b) : température moyenne de l'eau calculée sur une période de 15 jours, centrée sur la date d'inventaire des poissons, ou bien entre deux observations éloignées.

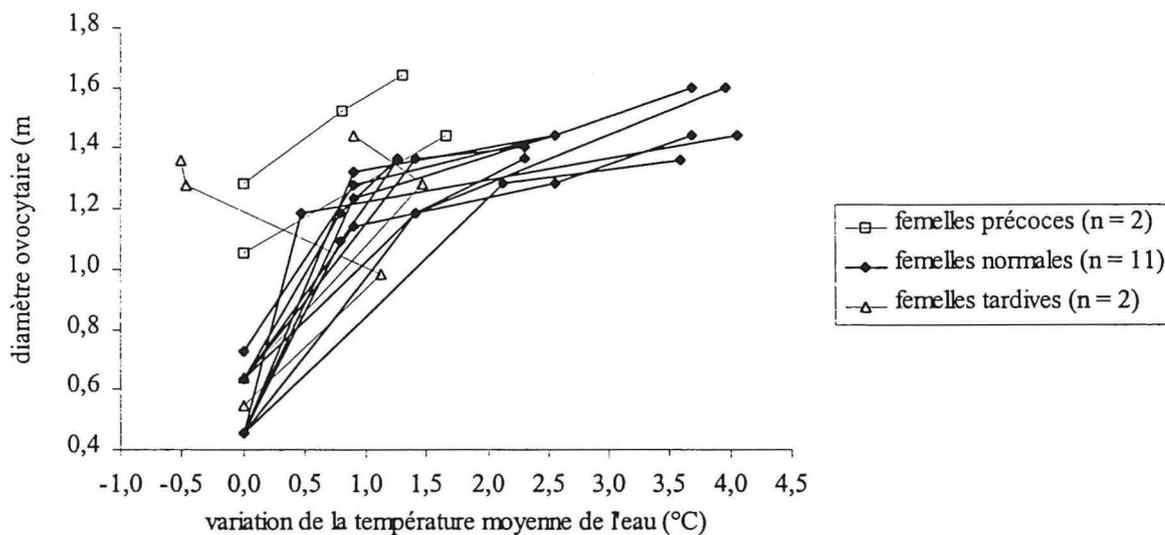


Figure 31 : Développement des ovocytes chez les femelles de *P. bocourti* normales, précoces et tardives en fonction des variations de température de l'eau en étangs

Les mesures sont effectuées durant la phase de maturation gonadique rapide.

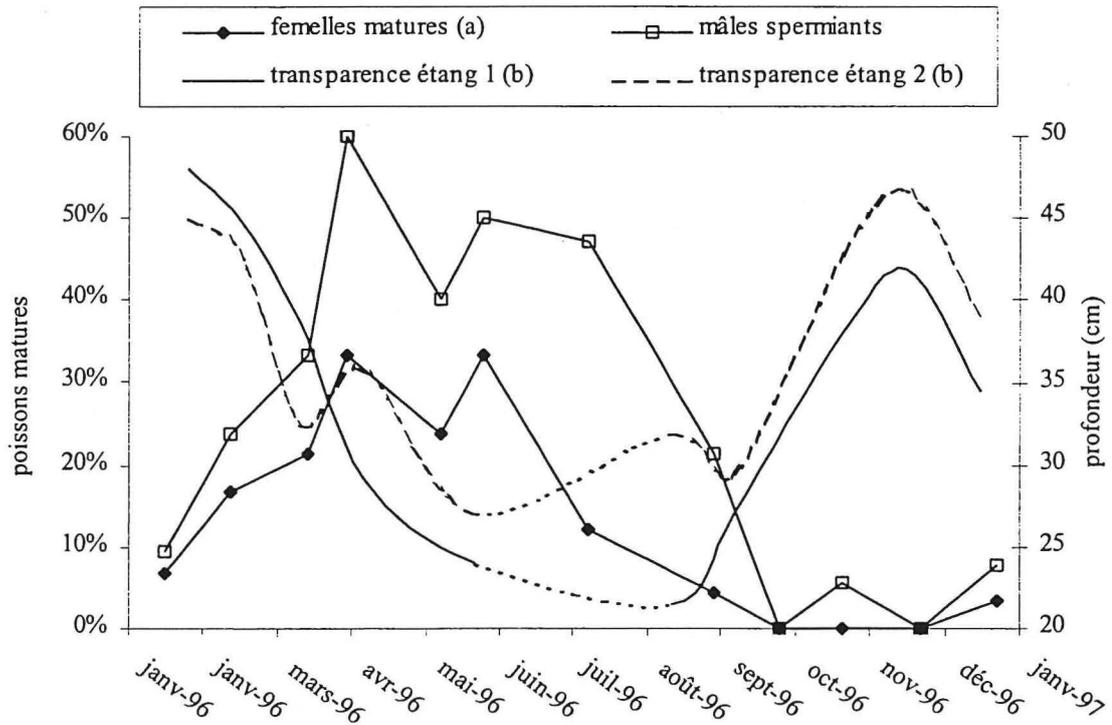


Figure 32 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. bocourti* matures et de la transparence moyenne de l'eau en étangs

- (a) : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,3 mm,
 (b) : moyenne mensuelle de la transparence de l'eau (données manquantes en juin et juillet).

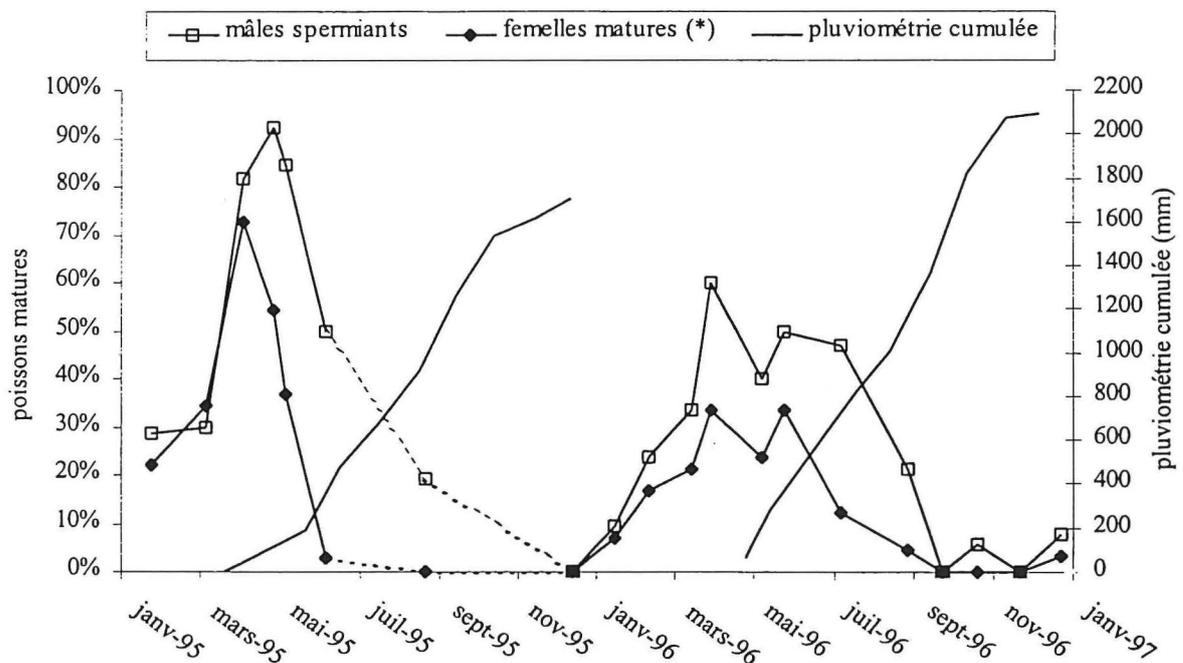


Figure 33 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. bocourti* matures élevés en étangs et de la pluviométrie cumulée à Can-Tho

* : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,3 mm.

3.3.3.2. Relation avec la transparence de l'eau

La phase de maturation correspond à une baisse de la transparence de l'eau dans les étangs 1 et 2 (Figure 32). A la fin du mois de mars 1996, lorsque la proportion de poissons matures est maximale, la transparence de l'eau est de l'ordre de 33 cm. Puis celle-ci reste basse, après le pic de maturation et pendant que la proportion de poissons matures diminue. Ensuite, elle augmente à partir de début septembre, culmine mi-novembre à 44 cm, alors que la proportion de poissons matures reste basse durant cette période. Globalement, la proportion de poissons matures est faible lorsque la transparence de l'eau dépasse 40 cm, puisqu'elle est comprise entre 0 et 7 % pour les femelles et entre 0 et 10 % pour les mâles.

3.3.3.3. Relation avec la pluviométrie

La maturation gonadique débute et culmine en saison sèche, pour les femelles et les mâles en 1995 et en 1996 (Figure 33). La saison des pluies a commencé le 12 mai en 1995 et le 24 avril en 1996. Le décalage entre l'arrivée de la pluie et le pic de maturation est de cinq et deux semaines, respectivement pour les femelles et les mâles. La proportion de poissons matures diminue ensuite, et les derniers poissons matures sont observés en 1995 après qu'il soit tombé 191 mm de pluie pour les femelles et 811 mm pour les mâles, soit respectivement 11 et 48 % des précipitations annuelles (1704 mm). Les derniers poissons matures sont observés en 1996 après qu'il soit tombé 1005 mm de pluie pour les mâles et les femelles, soit 48 % des précipitations annuelles (2094 mm). L'étude de la maturation individuelle de 15 femelles montre que 13 d'entre elles présentent le pic de maturation avant l'arrivée des pluies en 1996. Seules les deux femelles tardives terminent leur maturation après le début de la saison des pluies, lorsqu'il est tombé 75 et 598 mm respectivement pour les femelles n°347A et 254E.

3.3.3.4. Relation avec la photopériode

La phase de maturation des femelles et des mâles s'accompagne d'une augmentation de la durée du jour (Figure 34, Annexe 26). Néanmoins, le pic de maturation précède le pic de durée du jour, qui est de 12 h 45 le 21 juin. Le pic de maturation intervient à une durée du jour de 12 h 15 pour les femelles et de 12 h 27 pour les mâles en 1995, et à 12 h 13 pour les femelles et les mâles en 1996. Le développement ovocytaire des 15 femelles étudiées individuellement s'accompagne d'une augmentation de la durée du jour, pour les femelles normales de 16 à 39 minutes avec une moyenne de 27 minutes. Le pic de maturation observé intervient avant le pic de photopériode pour 14 des 15 femelles ; seule la femelle tardive n° 254E termine sa maturation après le 21 juin, début juillet.

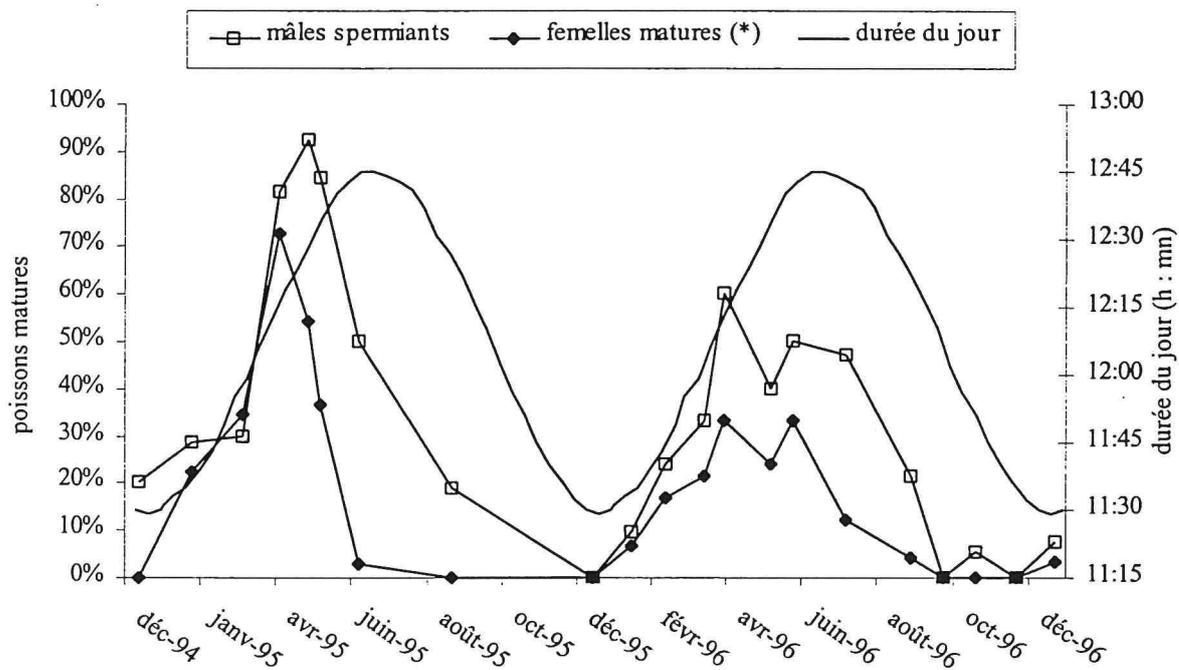


Figure 34 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. bocourti* matures élevés en étangs et de la durée du jour à Hô-Chi-Minh Ville

* : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,3 mm.

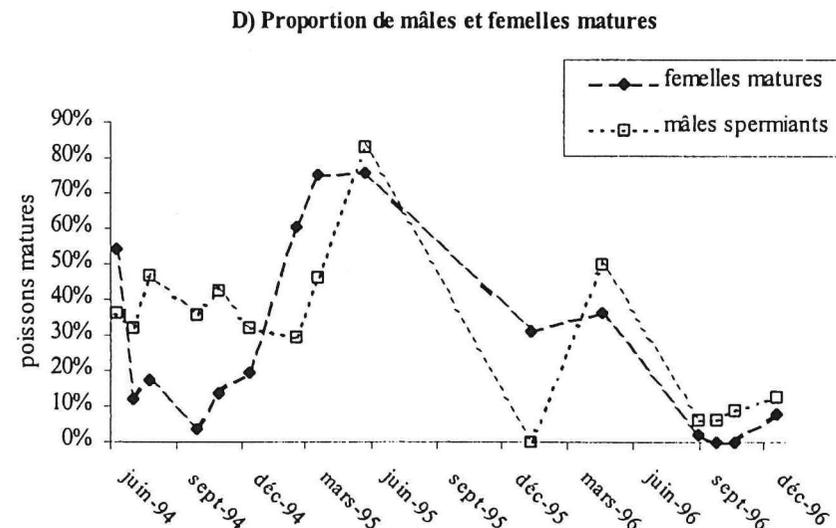
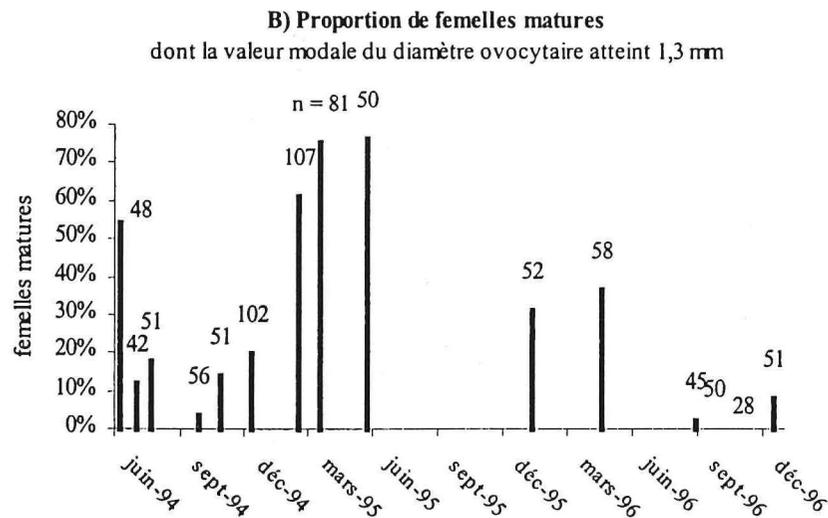
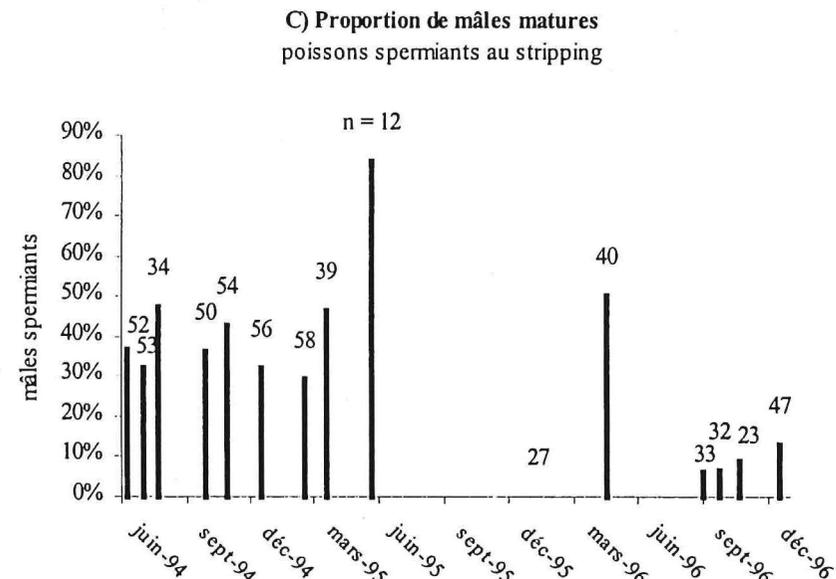
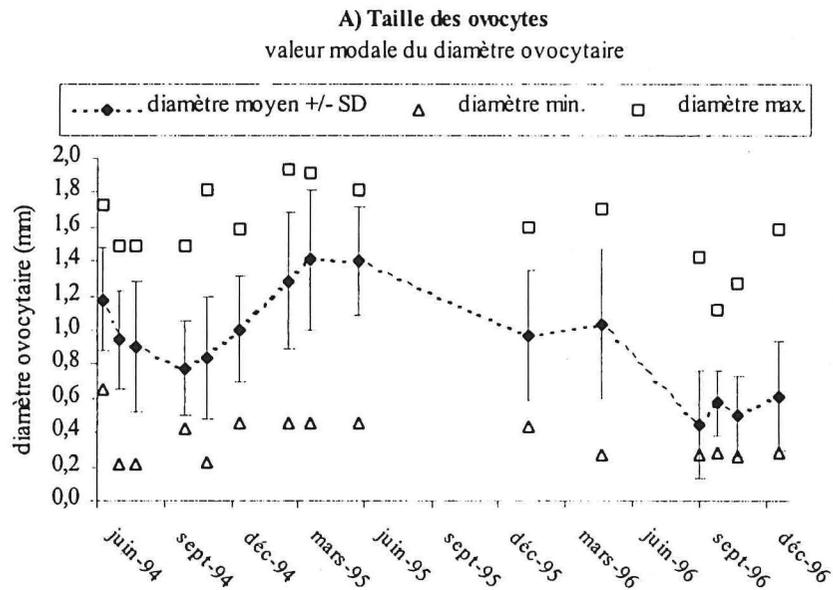


Figure 35 : Evolution de la maturation gonadique du stock de mâles et femelles de *P. bocourti* élevés en cages flottantes

3.4. MATURATION GONADIQUE DE *P. BOCOURTI* ELEVES EN CAGES FLOTTANTES

3.4.1. Le caractère saisonnier de la reproduction

La maturation gonadique du stock de géniteurs élevés en cages flottantes a été suivie de juin 1994 à décembre 1996 durant 30 mois. Ce suivi est toutefois bien moins régulier qu'avec les poissons élevés en étangs puisque des données manquent de juin à décembre 1995 (7 mois) et de mai à juillet 1996 (3 mois). En revanche, les effectifs observés à chaque inventaire sont globalement importants puisqu'ils sont en moyenne de 59 femelles et de 41 mâles. Les résultats présentés constituent donc une première indication sur la période de reproduction mais ils ne permettent pas de définir avec précision la cinétique du processus de maturation des poissons élevés en cages flottantes.

L'évolution du diamètre ovocytaire montre que la maturation gonadique des femelles *P. bocourti* est un processus saisonnier (Figure 35.A). En cumulant les informations collectées de 1994 à 1996, on observe que plus de 30 % des femelles sont matures durant 6 mois, de janvier à juin, et cette proportion atteint 76 % (n = 50) en mai 95 et 36 % (n = 58) en avril 96 (Figure 35.B). La maturation gonadique des mâles est également saisonnière, comme le montre l'évolution de la proportion de mâles matures au cours de l'année, qui culmine à 83 % (n = 12) en mai 95 et à 50 % (n = 40) en avril 96 (Figure 35.C), aux mêmes moments que la maturation des femelles (Figure 35.D). Néanmoins, plus de 20 % de mâles matures ont été observés lors de chaque inventaire durant une année entière entre juin 94 et mai 95, indiquant ainsi que l'aspect saisonnier de la reproduction est moins marqué chez les mâles que chez les femelles. Par ailleurs, en début de saison de reproduction, la proportion de femelles matures est plus importante que celle des mâles, respectivement de 61 et 29 % en février 1995 et de 31 et 0 % en janvier 1996. Enfin, chez ces *P. bocourti* élevés en cages flottantes, les reproductions artificielles ont été obtenues entre mars et mai, en 1995 et 1996.

La comparaison des courbes de maturation gonadique avec celles des paramètres de l'environnement révèle que la maturation gonadique de *P. bocourti* élevés en cages flottantes intervient de janvier à juin, lorsque le milieu présente les caractéristiques suivantes :

- le Mékong est à son niveau d'étiage,
- la température de l'eau augmente et reste élevée,
- la transparence de l'eau est globalement élevée,
- fin de saison sèche et en début de saison des pluies (à partir d'avril).

Cette période correspond aux phases 1 et 2 des conditions environnementales décrites en cages flottantes sur le Mékong (§ 2.3.2.6, p 88).

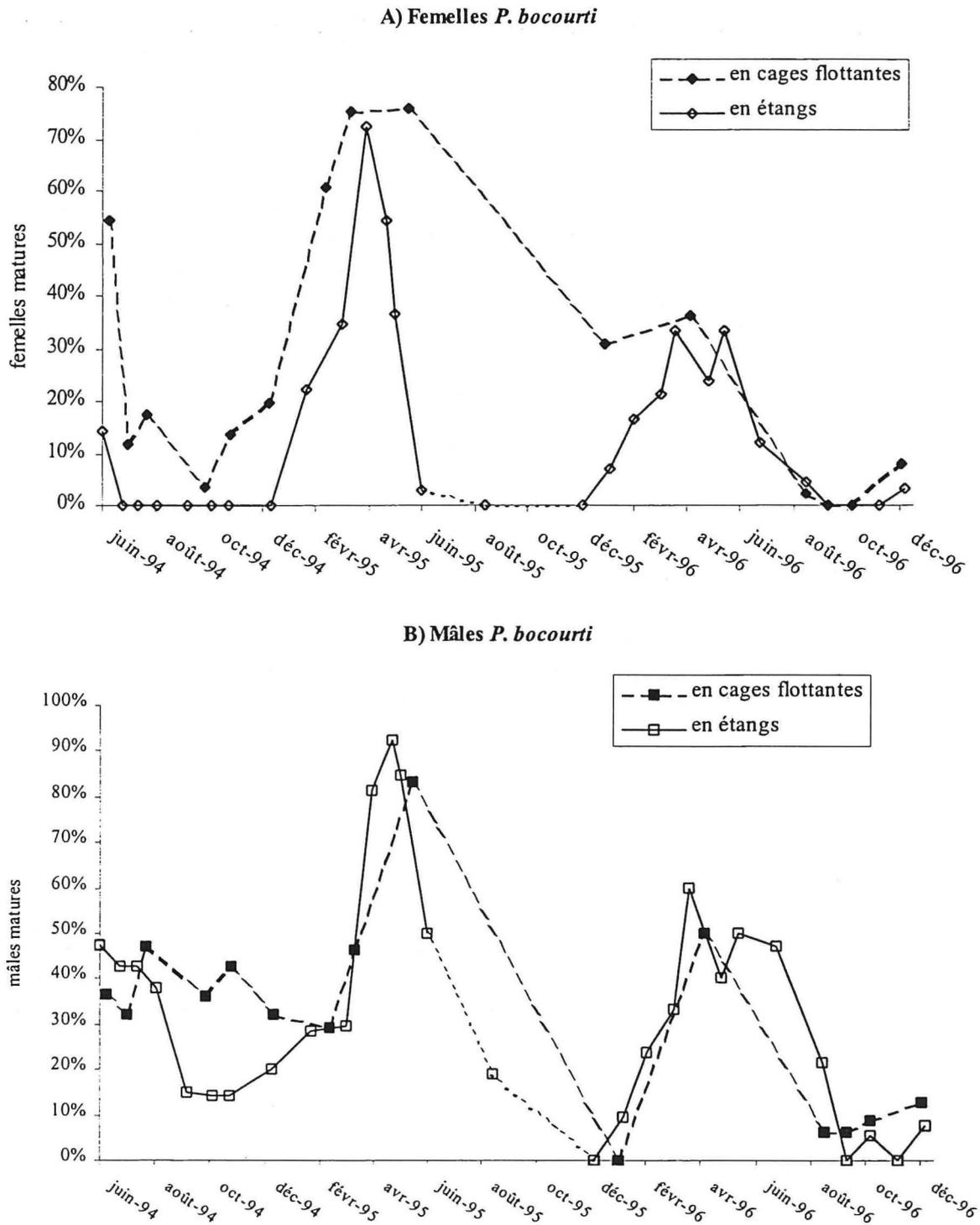


Figure 36 : Evolution comparée de la proportion de mâle et de femelles de *P. bocourti* matures dans les deux milieux d'élevage

3.4.2. Comparaison de la maturation gonadique entre les deux milieux d'élevage

Chez les femelles et les mâles de *P. bocourti*, la maturation gonadique, étudiée de 1994 à 1996, suit une évolution comparable en cages flottantes et en étangs (Figure 36.A et B). Dans les deux milieux d'élevage, la maturation gonadique culmine entre les mois de janvier et de juin. Néanmoins, en janvier 1996, les proportions de femelles matures, en cages flottantes et en étangs, sont respectivement de 31 % (n = 52) et de 7 % (n = 29), ce qui indique que la maturation gonadique des femelles intervient plus tôt, ou plus rapidement, en cages flottantes. Par ailleurs, des reproductions artificielles ont été obtenues de mars à mai dans les deux milieux en 1996 (Figure 53, p 142).

En 1996, chez les mâles et les femelles, la maturation gonadique culmine en avril dans les deux milieux d'élevage. Durant ce mois-ci, la transparence de l'eau est 2,4 fois plus élevée en cages flottantes qu'en étangs, le débit d'eau est moindre en étangs (Tableau 19) et la température de l'eau est la plus haute de l'année dans les deux milieux. En début d'année, l'augmentation de la température est similaire en cages flottantes et en étangs (Figure 22, p 84), et, plus tard, la saison des pluies commence juste après le pic de maturation. Dans l'hypothèse où les fluctuations de l'environnement induisent le processus de maturation gonadique, l'ensemble de ces observations suggère que l'augmentation de la température de l'eau est le facteur déterminant. En effet, il s'agit du seul paramètre de l'environnement dont les évolutions coïncident, jusqu'au pic de maturation gonadique, dans les deux milieux d'élevage. En outre, il est possible que la photopériode intervienne, puisque la proportion de poissons matures augmente également avec la durée du jour.

La proportion maximale de poissons matures atteinte en 1996 est plus faible que celle observée en 1995, de plus de deux fois pour les femelles et de un tiers pour les mâles. En 1996, les poissons qui présentent un stade de maturité avancé sont régulièrement triés et ils reçoivent un traitement hormonal destiné à induire la reproduction. En revanche, en 1995, peu de poissons ont été traités car le protocole d'induction hormonal n'était pas encore mis au point. En 1995, le processus de maturation gonadique s'est donc déroulé naturellement pour la majorité des poissons, alors qu'en 1996 ce processus a généralement été interrompu par une induction hormonale. Cette hypothèse expliquerait la différence entre les pics de maturation observés entre 1995 et 1996.

Tableau 19 : Conditions hydrologiques dans les deux milieux d'élevage au mois d'avril 1996

Milieu d'élevage	Température de l'eau (°C)	Transparence de l'eau (cm)	Vitesse du courant
Cage flottante	31,1 ± 0,7 [30 ; 33]	85,8 ± 9,6 [75 ; 103]	0 m.mn ⁻¹ (6 h par jour) à 16,4 m mn ⁻¹
Etang (n° 2)	30,7 ± 2,1 [28 ; 34]	35,8 ± 4,5 [32 ; 41]	≥ 0 m mn ⁻¹ induit par pompage 8 h par jour

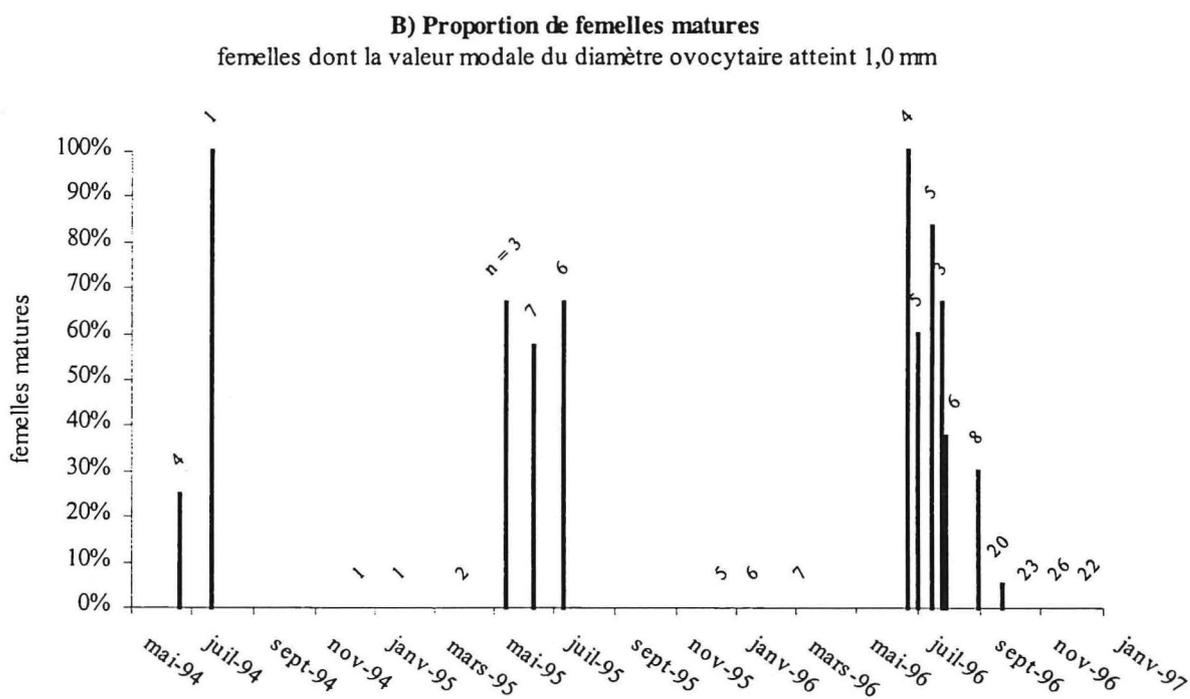
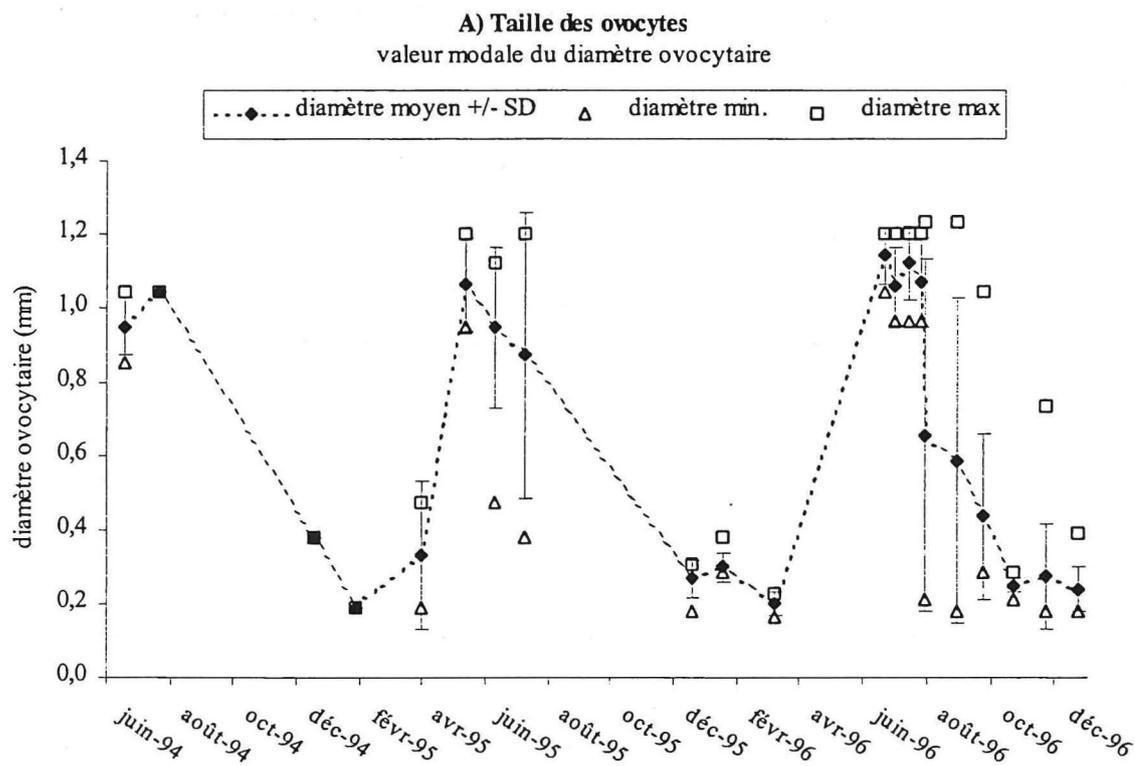


Figure 37 : Evolution de la maturation gonadique du stock de femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs

3.5. MATURATION GONADIQUE DE *P. HYPOPTHALMUS* ELEVES EN ETANGS

3.5.1. Maturation gonadique des femelles de *P. hypophthalmus*

3.5.1.1. Maturation gonadique de l'ensemble des femelles

En 1996, chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs, le diamètre ovocytaire moyen des poissons du premier et du second lot culmine respectivement fin juin et mi-juillet, avec un décalage de trois semaines (Annexe 27). Le début de la phase de maturation des femelles second lot n'est pas déterminé, compte tenu de l'absence de mesures avant début juillet 1996 sur ces poissons, mais les deux lots suivent la même évolution après le pic de maturation. Les données des deux lots sont rassemblées pour présenter la maturation gonadique du stock de géniteurs.

Chaque année, l'évolution du diamètre ovocytaire moyen présente l'alternance d'une phase d'augmentation, un pic, puis une phase de diminution (Figure 37.A). Il s'agit donc d'un processus saisonnier, qui commence et culmine, en 1995, de fin janvier à mi-mai durant 3,5 mois, et, en 1996, de début mars à mi-juillet durant 4,5 mois. Le début de la phase de maturation est antérieur au début du suivi des poissons en 1994, du fait de la mise en place des stocks de géniteurs dans les infrastructures expérimentales, mais elle culmine fin juillet.

Lors de chaque inventaire, le diamètre ovocytaire est variable mais cette variabilité évolue durant la maturation (Figure 37.A). Sur toute la durée du suivi, en 1995 et 1996, le coefficient de variation moyen est de 29 % et peut atteindre 75 %. En 1996, la variabilité est faible avant la période de maturation gonadique, mi-janvier (13 %). Elle reste faible au pic de maturation, fin juin (7 %), puis elle augmente nettement fin juillet (73 %). Enfin, elle diminue lorsque la saison de reproduction est terminée, fin octobre (8 %). A l'exception de la période qui suit immédiatement le pic de maturation, les valeurs extrêmes du diamètre ovocytaire suivent la même évolution que le diamètre moyen.

Les femelles sont considérées comme sexuellement matures lorsqu'elles présentent des ovocytes bien développés, dont la valeur modale du diamètre atteint au moins 1,0 mm. Cette taille correspond à un seuil, à partir duquel les ovocytes sont susceptibles de répondre à un traitement hormonal destiné à induire la reproduction (§ 4.4.1, p 150). Ainsi définie, la proportion de femelles matures suit la même évolution, au cours de l'année, que le diamètre ovocytaire moyen (Figure 37.B). Au pic de maturation gonadique, le diamètre ovocytaire moyen et la proportion de femelles matures sont de 1,0 mm et 1 femelle sur 1 en 1994 ; 1,1 mm et 2 femelles sur 3 en 1995 ; 1,1 mm et 4 femelles sur 4 en 1996. L'ensemble du stock de géniteurs présente au moins une femelle mature durant deux mois en 1995, de mi-mai à mi-juillet, et durant trois mois en 1996, de fin juin à fin septembre.

Pour des raisons inhérentes à l'organisation du programme de recherche, le suivi du stock de géniteurs présente des données manquantes de août à novembre 1995, ainsi qu'en avril et en mai 1996. Par conséquent, et par rapport aux données disponibles, le début de la maturation en 1996 est peut-être plus précoce et la fin de la maturation en 1995 est peut-être plus tardive.

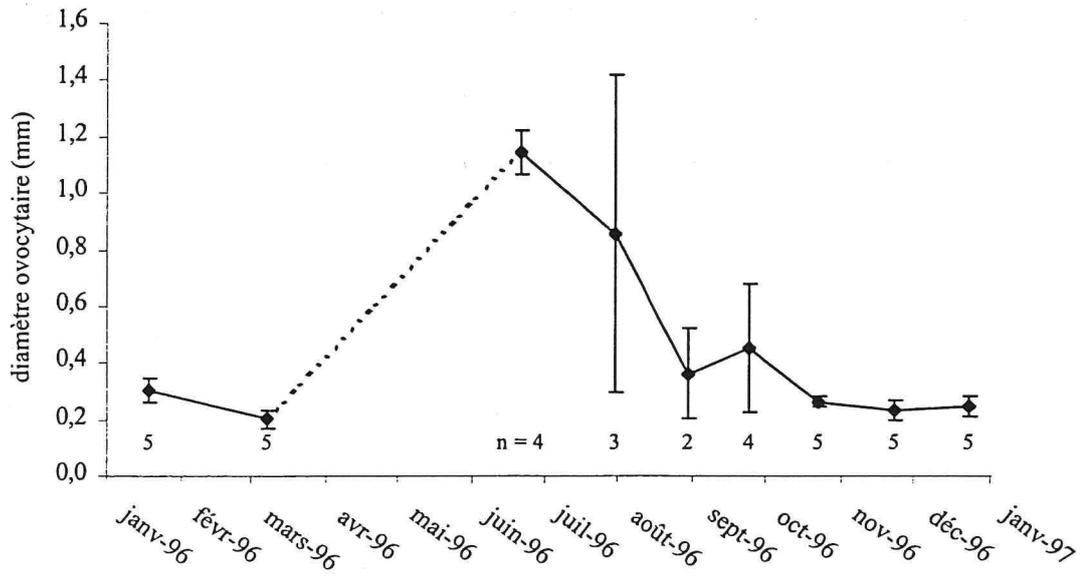


Figure 38 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen des cinq femelles de *P. hypophthalmus* suivies individuellement

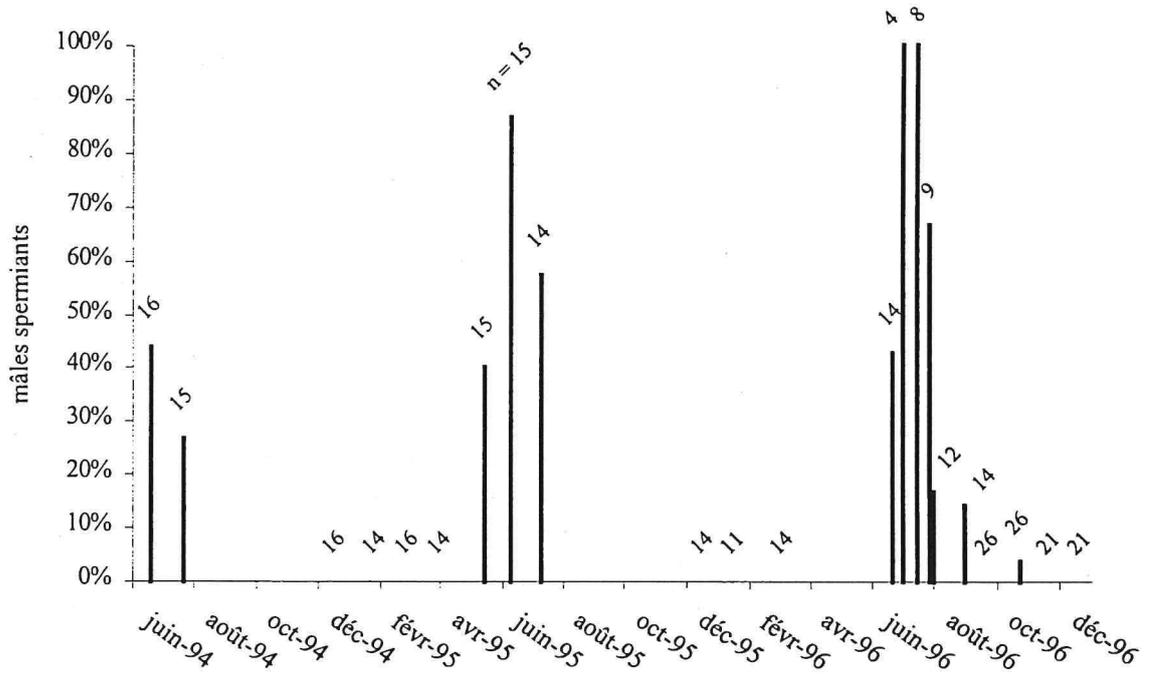


Figure 39 : Evolution de la proportion de mâles de *P. hypophthalmus* spermiantes élevés en étangs

En cumulant les informations sur les deux années, la phase de maturation commencerait en mars et culminerait en mai, soit un accroissement du diamètre ovocytaire durant deux mois. Au moins une femelle mature serait présente dans le stock de géniteurs entre mai et septembre, soit durant une période de quatre à cinq mois. Cette durée est du même ordre que celle observée chez *P. bocourti*, avec la présence de femelles matures durant quatre mois en 1995 et durant sept mois en 1996 (§ 3.3.1.1, p 95).

3.5.1.2. Maturation gonadique de chaque femelle

Le suivi du diamètre ovocytaire individuel complète les informations obtenues sur l'ensemble du stock de géniteurs. Les résultats présentés concernent la période du mois de janvier au mois de décembre 1996. Cinq femelles sont observées chacune à des intervalles de 31 jours en moyenne.

Entre mi-janvier et début mars, le diamètre ovocytaire des cinq femelles est faible et il est de 0,2-0,4 mm (Annexe 28). Il augmente ensuite nettement entre début mars et fin juin pour quatre femelles et entre début mars et fin juillet pour une femelle (n° 1E5C) - qui n'a pas été observée fin juin. Le diamètre ovocytaire moyen est initialement de 0,2 mm, il atteint ensuite un pic de 1,0-1,2 mm (Figure 38). Ce pic de maturation est observé avant l'application de tout traitement expérimental sur les femelles. La durée de maturation moyenne observée est de 114 jours : 106 et 145 jours respectivement pour quatre et une femelle (n° 1E5C). Le diamètre ovocytaire baisse ensuite, à l'exception d'une femelle (n° 303E) pour laquelle il reste élevé et passe de 1,1 à 1,2 mm entre fin juin et fin juillet, puis diminue. Après une première ponte, cette femelle présente donc une reprise de la maturation gonadique dans la même année. Fin octobre, le diamètre ovocytaire est revenu à son niveau initial : il est de 0,3 mm pour les cinq femelles. Compte tenu de l'absence de données intermédiaires entre les minima et maxima de diamètres ovocytaire, il convient de considérer les durées de croissance ovocytaire indiquées comme des valeurs maximales.

3.5.2. Maturation gonadique des mâles de *P. hypophthalmus*

3.5.2.1. Proportion de mâles spermiantes dans le stock de géniteurs

En 1996, parmi les poissons du premier et du second lot élevés en étangs, la proportion de mâles spermiantes atteint un pic respectivement fin juin et début juillet, soit avec un décalage d'une dizaine de jours entre les deux lots (Annexe 27). Le début de la phase de maturation des mâles du second lot n'est pas déterminé, compte tenu de l'absence de mesures sur ces poissons, avant début juillet 1996. Néanmoins, les mâles des deux lots suivent la même évolution après le pic de maturation. Les données des deux lots sont rassemblées pour présenter la maturation gonadique du stock de géniteurs.

La proportion de mâles spermiantes suit un profil saisonnier, culminant mi-juin 1995 à 87 % (n = 15) et en juillet 1996 à 100 % (n = 12) (Figure 39). Au moins un mâle spermiant est présent durant 2 mois en 1995, de mi-mai à mi-juillet, et durant 2,5 mois en 1996, de mi-juin à fin août.

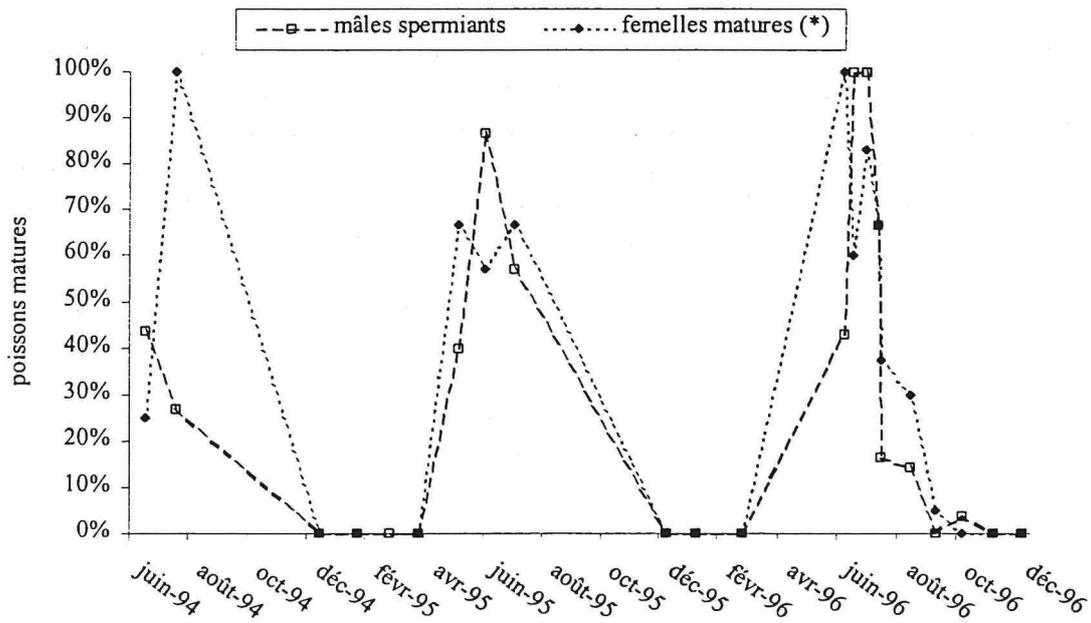


Figure 40 : Evolution de la proportions de mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* matures élevés en étangs

(*) : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm.

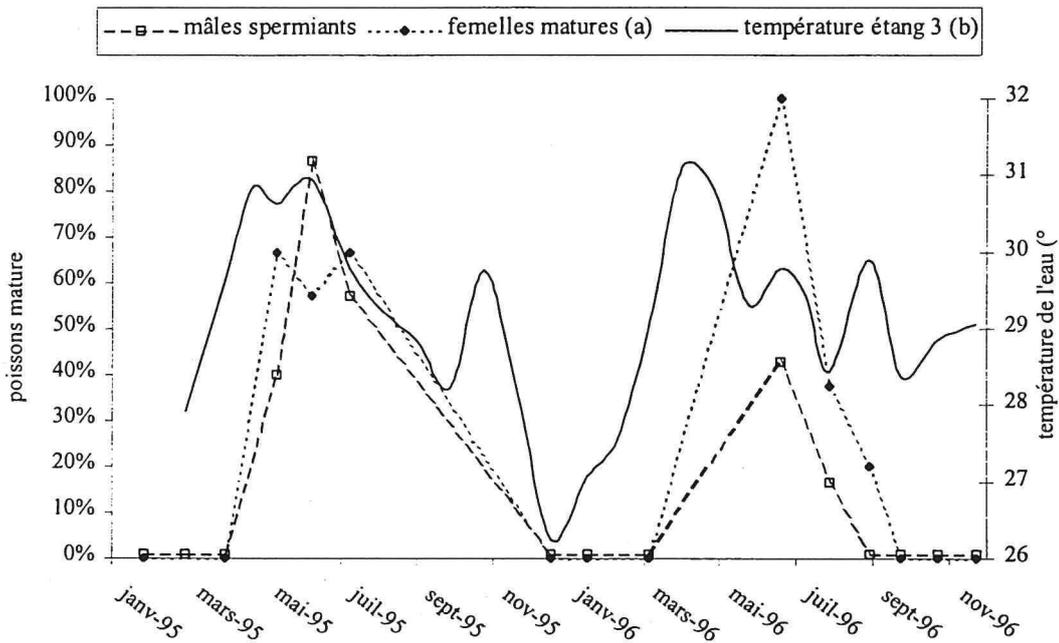


Figure 41 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* matures et de la température moyenne de l'eau en étang

(a) : femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm,

(b) : température moyenne de l'eau calculée sur une période de 15 jours, centrée sur la date d'inventaire des poissons, ou bien entre deux observations éloignées.

Le suivi du stock de géniteurs est incomplet pour certaines périodes, suite à l'absence de données de août à novembre 1995 ainsi qu'en avril et en mai 1996. Par conséquent et par rapport à l'étude présentée, le début de la spermiation en 1995 et en 1996 est peut-être plus précoce et la fin de la spermiation en 1995 est peut-être plus tardive. En cumulant les informations sur les deux années, la présence de mâles spermiantes s'étendrait sur trois à quatre mois, de mai à août. Cette durée est plus courte que chez *P. bocourti*, sachant que pour cette espèce, certains mâles spermiantes peuvent même être observés toute l'année (§ 3.3.2.1, p 97).

3.5.2.2. Durée de la spermiation de chaque géniteur mâle

Le suivi individuel de la spermiation des mâles du premier lot, effectué en 1995 et en 1996, a mis en évidence que 52 % des mâles peuvent être spermiantes d'un inventaire à l'autre (n = 21). La durée de la spermiation, considérée comme l'intervalle de temps entre la première et la dernière spermiation observées sur une année chez un même mâle, est comprise entre quatre et huit semaines et de cinq semaines en moyenne. Compte tenu des données manquantes en fin de saison en 1995 et en début de saison en 1996, il convient de considérer cette estimation comme une durée minimale.

3.5.2.3. Relation entre la maturation gonadique des mâles et celle des femelles

Au cours du temps, les proportions de femelles et de mâles matures suivent des évolutions similaires (Figure 40). Les pics de maturation sont toutefois décalés de quatre semaines en 1995, observés mi-mai pour les femelles (67 %) et mi-juin pour les mâles (87 %). Ils sont décalés d'une dizaine de jours en 1996, observés mi-juin pour les femelles (100 %) et début juillet pour les mâles (100 %).

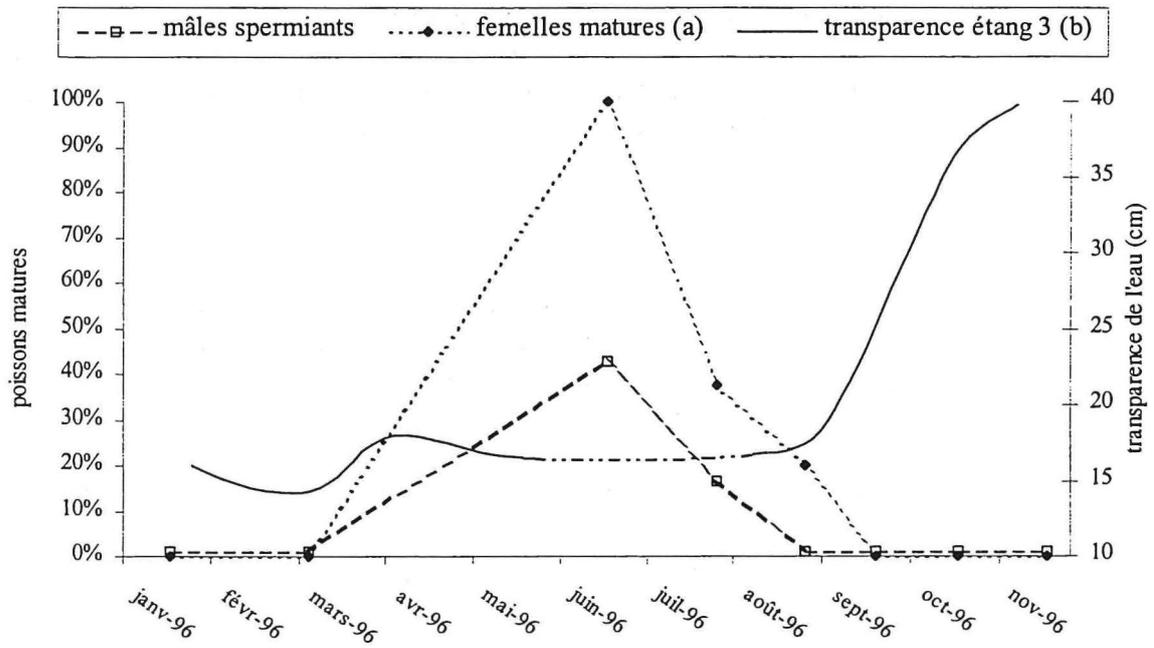
3.5.3. Cycle sexuel et facteurs de l'environnement

3.5.3.1. Relation avec la température de l'eau

Les mesures sur les poissons du second lot et le suivi de la température dans l'étang n° 4 ont été effectuées sur une période trop courte pour permettre tout rapprochement entre l'évolution de la maturité sexuelle et celle de la température de l'eau. Pour cette raison, l'analyse suivante porte sur les poissons du lot 1 élevés dans l'étang 1.

La proportion de femelles et de mâles matures augmente avec la température en 1995 et en 1996 (Figure 41). Les proportions de poissons matures les plus élevées correspondent aux températures moyennes suivantes : pour les femelles, à 30,6 °C en 1995 et à 31,0 °C en 1996 ; pour les mâles, à 31,0 °C en 1995 et à 29,8 °C en 1996. Aucun poisson mature n'est observé lorsque la température moyenne est inférieure à 28,4 °C sur la durée totale du suivi. Pour les cinq femelles suivies individuellement, la maturation gonadique s'accompagne d'une élévation de la température de 0,5 °C en moyenne, à partir de 29,0 °C, avec une somme de degrés jours moyenne de 3225, soit 114 jours à 28,3 °C (Annexe 29).

A) Poissons du 1er lot



B) Poissons du 2ème lot

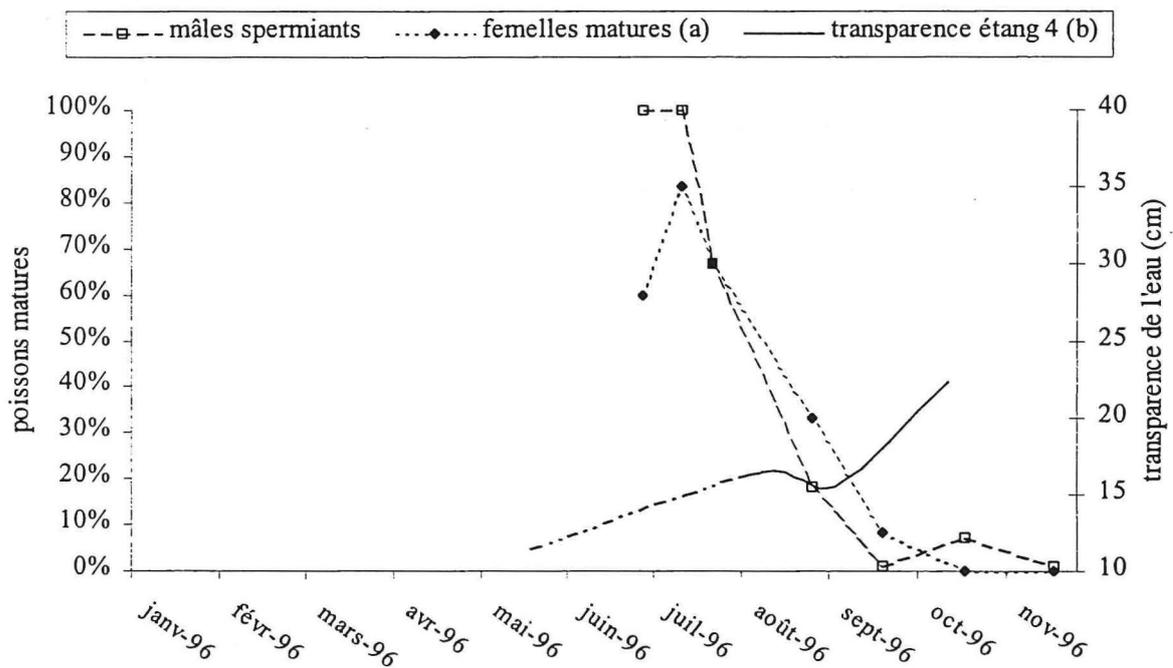


Figure 42 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* matures et de la transparence moyenne de l'eau en étang

- (a) : femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm,
 (b) : moyenne mensuelle de la transparence de l'eau.

3.5.3.2. Relation avec la transparence de l'eau

Pour les deux lots de poissons étudiés, les proportions de femelles et de mâles matures évoluent indépendamment de la transparence de l'eau, qui reste basse, jusqu'au mois de septembre 1996 (Figure 42). La transparence de l'eau augmente ensuite, et, lorsqu'elle dépasse 21 cm en moyenne dans les deux étangs, la proportion de poissons matures est faible et varie de 0 à 8 % chez les femelles et de 0 à 7 % chez les mâles.

3.5.3.3. Relation avec la pluviométrie

Les poissons matures, mâles et femelles, ne sont observés que pendant la saison des pluies (Figure 43). En 1995, les mâles et les femelles matures sont observés depuis les premières pluies et jusqu'à ce qu'il soit tombé 556 mm, soit 33 % des précipitations annuelles (1704 mm). En 1996, les femelles et les mâles matures sont observés après qu'il soit tombé 531 et 1005 mm, soit respectivement 25 et 48 % des précipitations annuelles (2094 mm). Pour les cinq femelles suivies individuellement en 1996, la pluviométrie cumulée au pic de maturation est de 554 mm pour quatre d'entre elles et de 829 mm pour la dernière femelle.

3.5.3.4. Relation avec la photopériode

La proportion de femelles et de mâles matures augmente avec la durée du jour jusqu'au pic de maturation (Figure 44). La proportion de femelles matures culmine aux durées de jour suivantes : 12 h 29 en 1995, et 12 h 45 en 1996. Pour les cinq femelles suivies individuellement en 1996, la durée du jour passe de 11 h 57 à 12 h 45 durant la phase de maturation gonadique, soit un accroissement de 48 minutes. La proportion de mâles spermiantes augmente également avec la durée du jour et culmine à 12 h 45 en 1995 et en 1996. Néanmoins, la turbidité de l'eau en étang est élevée durant la phase de développement ovocytaire, ce qui atténue peut-être la perception de la photopériode par les poissons.

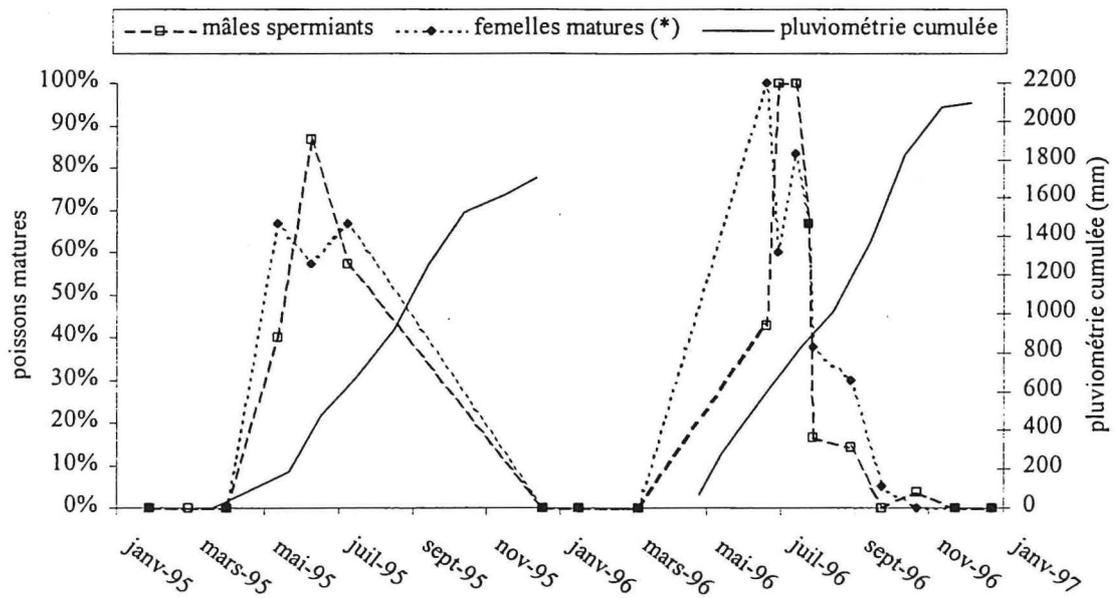


Figure 43 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* matures élevés en étangs et de la pluviométrie cumulée à Can-Tho

(*) : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm.

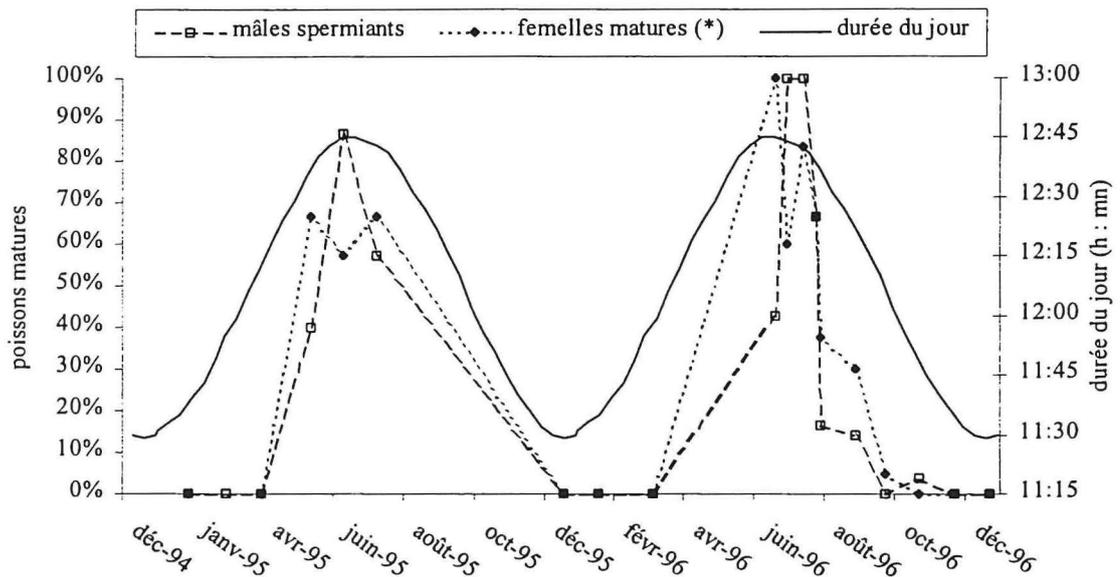


Figure 44 : Evolution de la proportion de mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* matures élevés en étangs et de la durée du jour à Hô-Chi-Minh Ville

(*) : Femelles dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm.

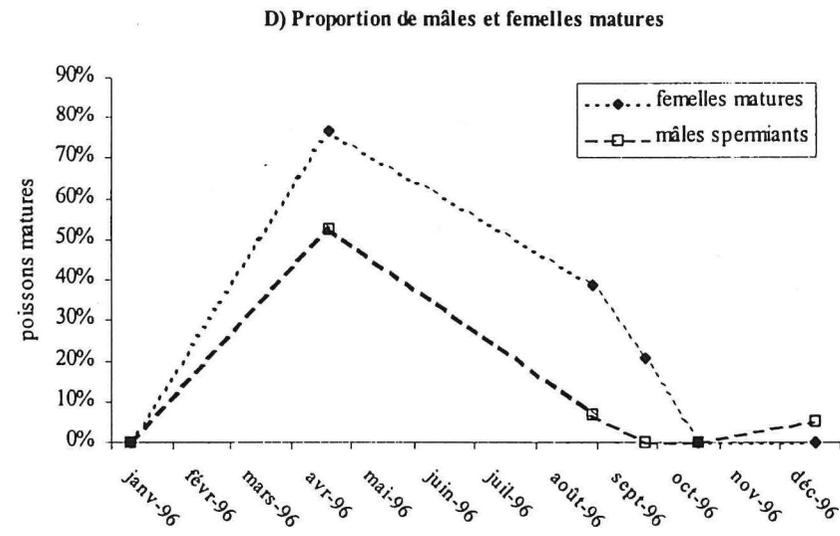
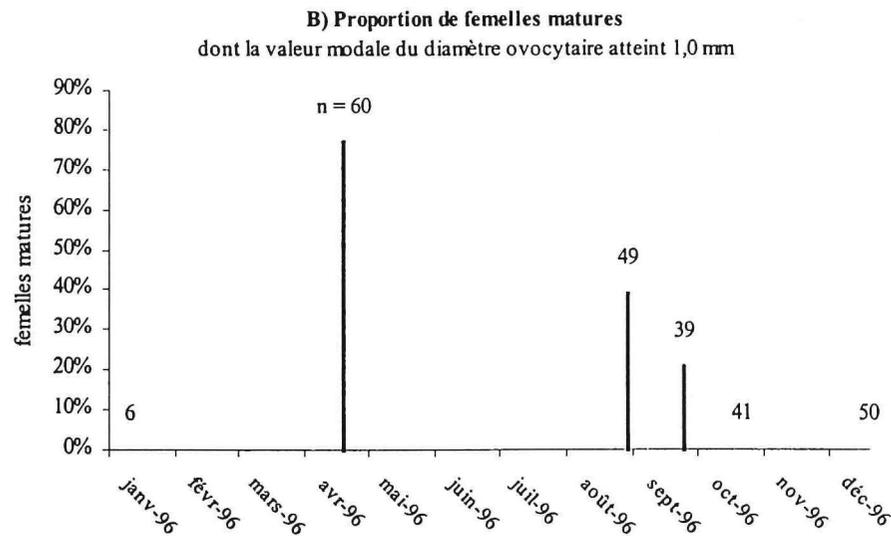
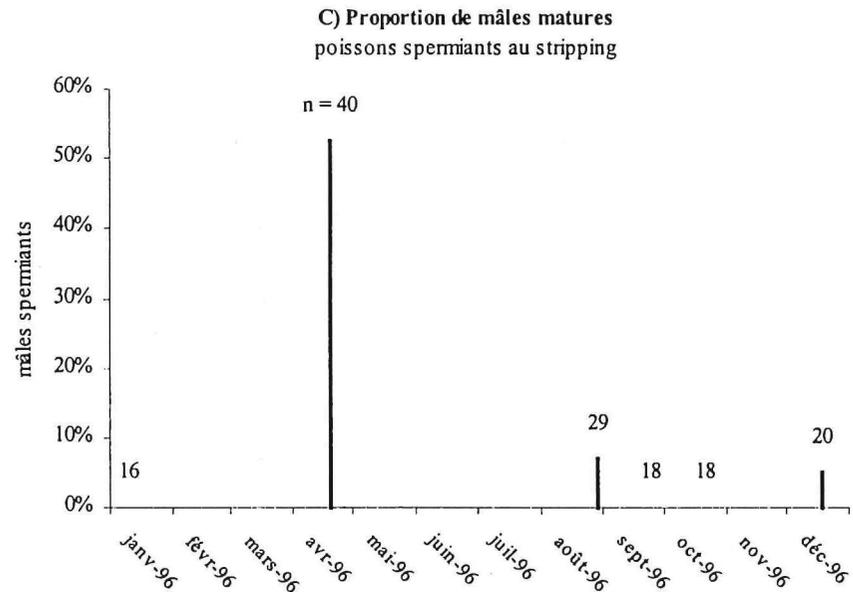
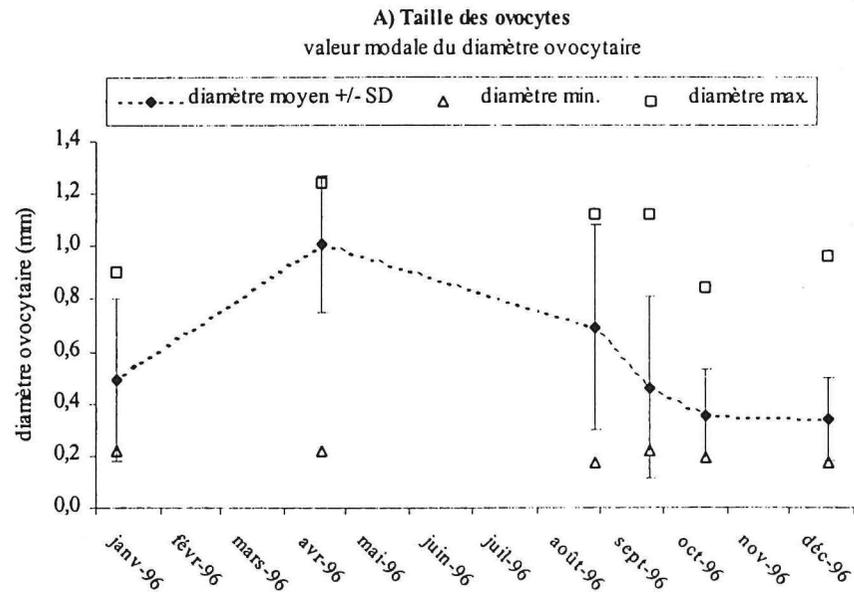


Figure 45 : Evolution de la maturation gonadique du stock de mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* élevés en cages flottantes

3.6. MATURATION GONADIQUE DE *P. HYPOPTHALMUS* ELEVES EN CAGES FLOTTANTES

3.6.1. Le caractère saisonnier de la reproduction

La maturation gonadique du stock de géniteurs élevés en cages flottantes a été suivie de janvier 1996 à décembre 1996 durant 11 mois. Néanmoins ce suivi comporte des données manquantes de mai à juillet 1996 (3 mois). En revanche les effectifs observés à chaque inventaire sont globalement importants puisqu'ils sont en moyenne de 41 femelles et de 24 mâles. Les résultats présentés constituent donc une première indication sur la période de reproduction mais ils ne permettent pas de définir avec précision la cinétique du processus de maturation des poissons élevés en cages flottantes.

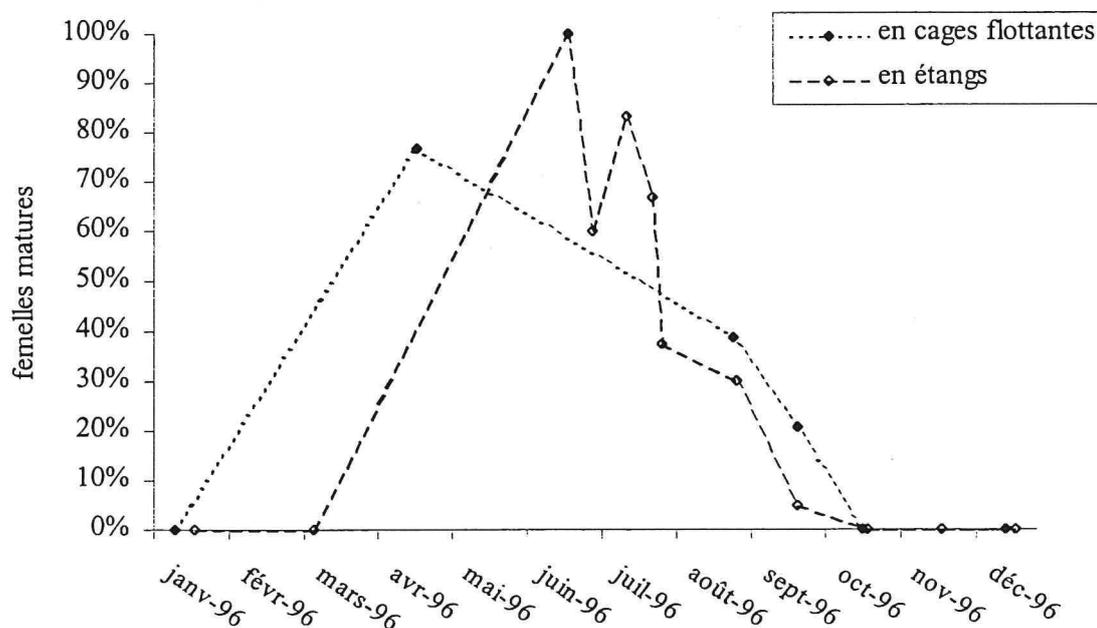
Chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes, l'évolution du diamètre ovocytaire indique que la maturation gonadique est un processus saisonnier (Figure 45.A). En 1996, aucune femelle mature n'est observée en janvier (n = 6), puis en avril la maturation culmine à 77 % de femelles matures (n = 60) (Figure 45.B). Ensuite, des femelles matures sont encore observées en août et septembre, puis plus aucune femelle mature n'est observée en octobre (n = 41). La maturation gonadique des mâles de *P. hypophthalmus* est également un processus saisonnier, qui culmine en avril 1996, à 53 % de mâles spermiantes (n = 40) (Figure 45.C). Enfin, la maturation des mâles et des femelles est simultanée en 1996 (Figure 45.D). Par ailleurs, des pontes sont obtenues en juillet ce qui indique que la saison de reproduction s'étendrait durant quatre mois, du mois d'avril au mois de juillet.

Le rapprochement de ces données, avec les courbes d'évolution des paramètres de l'environnement, révèle que la maturation gonadique de *P. hypophthalmus* élevés en cages flottantes (avril à juillet) intervient lorsque le milieu présente les caractéristiques suivantes :

- le Mékong est à son niveau d'étiage, puis il augmente en juillet,
- la température de l'eau est à son niveau le plus élevé, puis elle baisse en juillet,
- la transparence de l'eau diminue d'avril à juillet,
- en saison des pluies.

Cette période correspond à la phase 2 et au début de la phase 3 des conditions environnementales précédemment décrites (§ 2.3.2.6, p 88).

A) Femelles *P. hypophthalmus* matures
dont la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm



B) Mâles *P. hypophthalmus* matures
poissons spermants au stripping

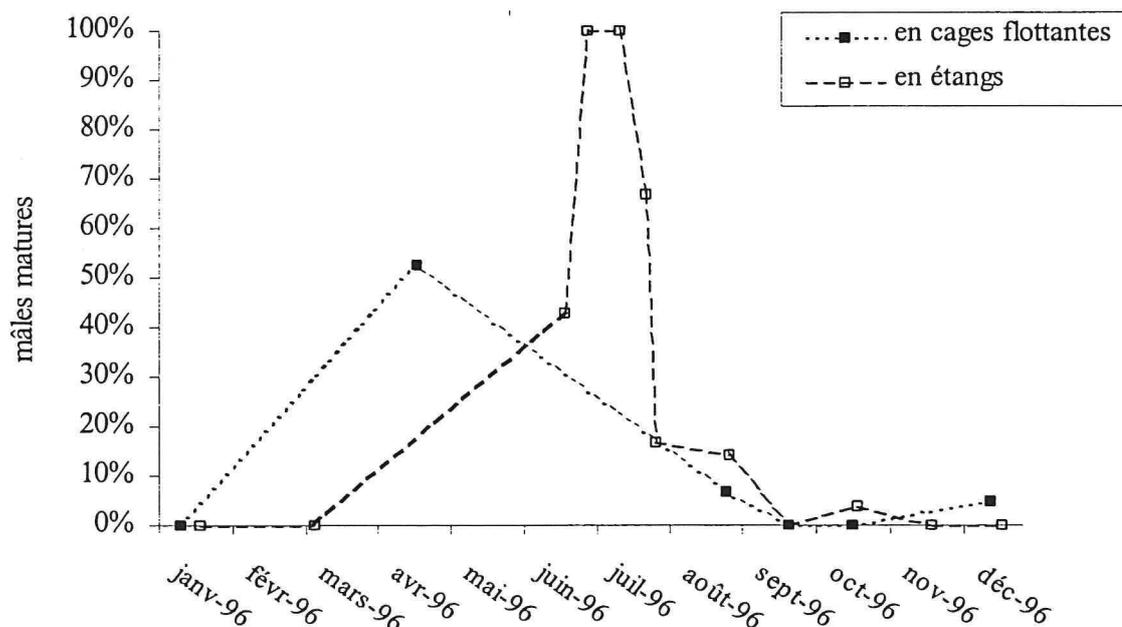


Figure 46 : Evolution comparée de la proportion mâles et de femelles de *P. hypophthalmus* matures dans les deux milieux d'élevage

3.6.2. Comparaison de la maturation gonadique entre les deux milieux d'élevage

Chez *P. hypophthalmus*, mâles et femelles, la maturation gonadique est un phénomène saisonnier dans les deux milieux d'élevage (Figure 46). Les pontes obtenues, en cages flottantes et en étangs, en juillet 96, indiquent que la saison de reproduction coïncide, durant ce mois, entre les deux milieux d'élevage (Figure 59, p 158).

Dans l'hypothèse où les fluctuations de l'environnement jouent un rôle dans le déclenchement de la maturation gonadique, la présence de poissons matures au mois d'avril suggère que l'augmentation de la température est un facteur stimulant (Tableau 20). D'autre part, les pontes obtenues en juillet indiquent que l'arrivée des pluies ainsi que la crue du fleuve seraient susceptibles d'intervenir. En juillet 96, la température et la transparence de l'eau sont comparables dans les deux milieux d'élevage, alors que le débit d'eau est faible en étang (aération par pompage durant la nuit). Cette comparaison suggère que le débit du fleuve n'est probablement pas un facteur essentiel au déclenchement de la maturation gonadique. L'augmentation de la température de l'eau, et la pluviométrie, seraient donc les deux facteurs impliqués dans le déclenchement de la maturation de *P. hypophthalmus*.

Tableau 20 : Conditions hydrologiques dans les deux milieux d'élevage au mois de juillet 1996

Milieu d'élevage	Température de l'eau (°C)	Transparence de l'eau (cm)	Vitesse du courant
Cage flottante	30,2 ± 1,4 [27 ; 32]	22,5 ± 5,9 [15 ; 30]	0 m.mn ⁻¹ quelques heures par jour à 37,5 m mn ⁻¹
Etang (n° 3)	29,1 ± 3,2 [24,5 ; 33]	[12 ; 23] (*)	≥ 0 m.mn ⁻¹ induit par pompage 8 h par jour

(*) : Les données étant manquantes en juillet dans l'étang n° 3, la transparence est extrapolée à partir des données de mai et d'août.

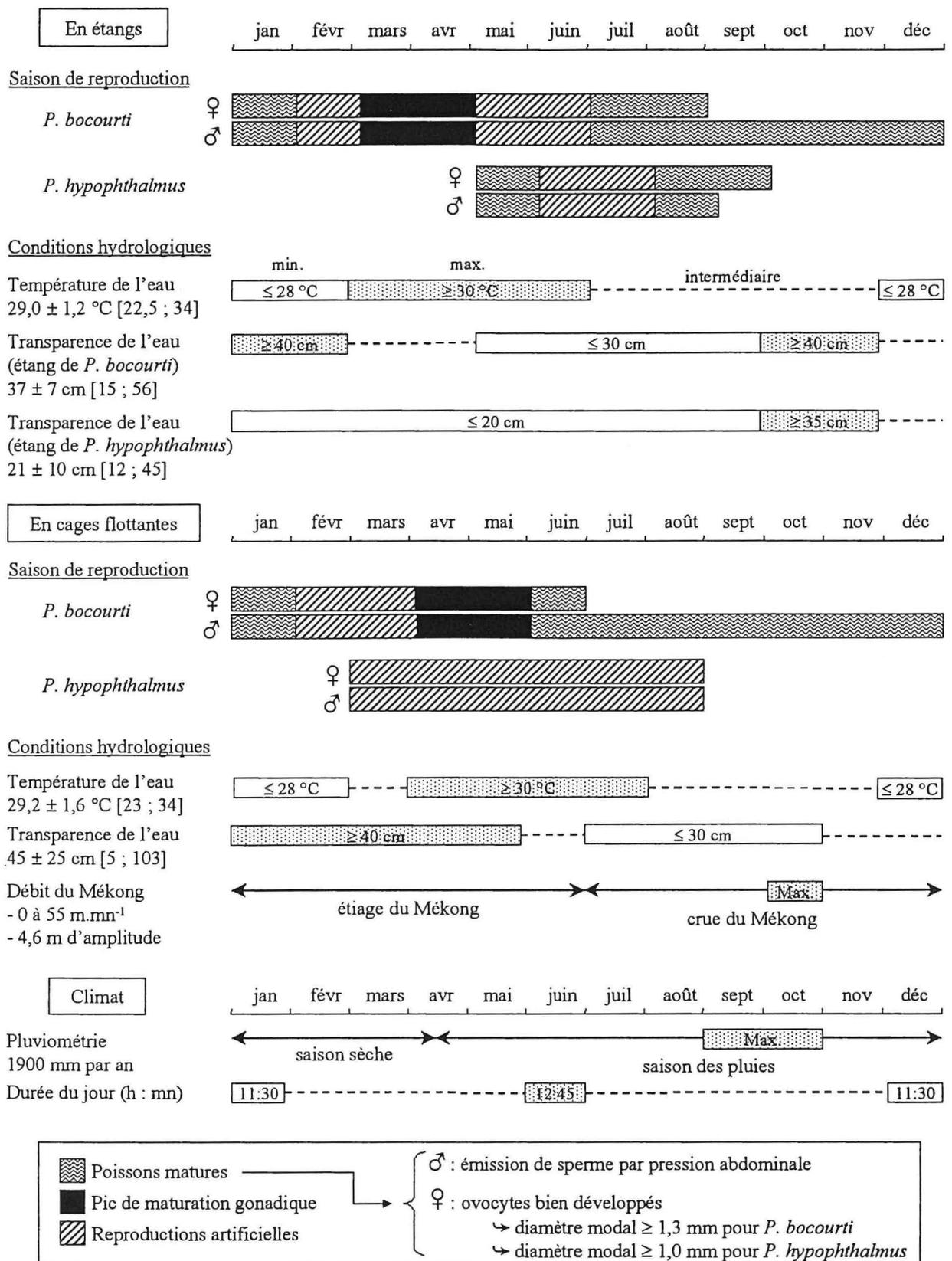


Planche 3 : Maturation gonadique des deux espèces, mâles et femelles, en relation avec les facteurs de l'environnement dans les deux milieux d'élevage

CHAPITRE 4

MISE AU POINT DE LA REPRODUCTION ARTIFICIELLE

4.1. LE DEROULEMENT DES RECHERCHES

Après une série d'essais préliminaires, et infructueux, avec diverses hormones sur *P. bocourti*, la chance nous a permis d'obtenir une première ovulation complète suite à un traitement à l'hCG, en mai 1995. Un traitement fiable a ensuite été testé chez *P. bocourti*, puis appliqué avec succès aux femelles de *P. hypophthalmus*. Pour les deux espèces, les premiers essais ont eu lieu sur des géniteurs élevés en étangs, puis en cages flottantes. Les reproductions ont été obtenues principalement en 1996 et 1997.

Parvenus à maturité, les mâles sont naturellement spermiantes chez les deux espèces, permettant ainsi une collecte de sperme aisée pour réaliser la fécondation artificielle. La quantité de sperme collecté étant toutefois variable, des tests visant à stimuler la production de sperme ont été réalisés chez les deux espèces. Dans le même temps, les modalités de la conservation du sperme à l'état frais, ainsi que les conditions de fécondation ont été étudiées chez les deux espèces. Ces expérimentations ont été réalisées en 1996, avec des poissons géniteurs élevés en cages flottantes.

Alors que les fécondations obtenues chez *P. bocourti* étaient généralement excellentes, les taux de fécondations chez *P. hypophthalmus* se sont avérés très fluctuants. Des tests ont donc été réalisés sur des femelles de *P. hypophthalmus* afin de préciser la cinétique de l'ovulation et d'évaluer la durée de survie des ovules *in vivo*. Ces tests ont été effectués en 1997, avec des poissons géniteurs élevés en cages flottantes.

Pour les deux espèces, la fécondité a été simplement notée à chaque ponte ; elle n'a pas donné lieu à des expérimentations particulières (i.e. tests d'alimentation). Ces données ont permis de faire le rapprochement de la fécondité avec les traitements, le rang de ponte, les conditions d'élevage et la certains paramètres physiologiques, pour tenter d'expliquer les variations de fécondité observées.

4.2. TECHNIQUES EMPLOYEES

4.2.1. Manipulation et traitement des poissons géniteurs

4.2.1.1. Manipulation des poissons géniteurs femelles

Les poissons destinés à la reproduction artificielle sont sélectionnés lors des inventaires du stock de géniteurs (§ 2.2.4.2, p 63). Les échantillons d'ovocytes prélevés sont mesurés, à l'état frais et sans délai, sous loupe binoculaire, afin de choisir les femelles qui présentent des ovocytes bien développés. Elles reçoivent ensuite la première injection hormonale du traitement destiné à induire la reproduction, puis elles sont placées dans un bac de stockage, à raison d'une femelle par bac, pour toute la durée du traitement : 1 à 4 jours chez *P. hypophthalmus* et 3 à 12 jours chez *P. bocourti*.

Plusieurs biopsies ovariennes sont pratiquées en cours de traitement afin de suivre l'évolution des ovocytes. Outre le diamètre ovocyttaire, mesuré sur des ovocytes frais, l'état de la vésicule germinative dans les ovocytes est également observé sur des ovocytes fixés dans le liquide Serra (40 % éthanol, 40 % formol, 20 % acide acétique). La fixation dans le liquide de Serra permet d'éclaircir en 2-3 minutes le cytoplasme des ovocytes, rendant ainsi visible la vésicule germinative (Carolsfeld *et al.*, 1988). Les femelles sont capturées à l'épuisette pour chaque manipulation, puis transférées dans un sac à poisson. Les injections et les biopsies sont effectuées directement, sans anesthésie du poisson.

La collecte des ovules requiert en revanche l'anesthésie préalable des femelles, par balnéation dans une solution de phénoxy-2 éthanol (0,25 ml.l⁻¹). Le poisson anesthésié est sorti de l'eau et épongé à l'aide d'un tissu humide au niveau de l'abdomen et de la papille génitale. L'urine est ensuite éliminée en pressant une zone située juste sous la papille génitale. Ces deux précautions visent à prévenir la pollution des ovules par l'eau ou l'urine lors de la collecte des ovules. Celle-ci s'effectue en massant l'abdomen du poisson (striping), les ovules étant recueillis dans un récipient sec. La collecte terminée, la femelle est remise en bac, puis une seconde collecte est réalisée une heure plus tard. Le poisson est ensuite remis en étang ou en cage flottante.

4.2.1.2. Manipulation des poissons géniteurs mâles

Les mâles sélectionnés pour la reproduction sont spermiantes au massage de l'abdomen. Ils sont placés en bac de stockage, à raison d'un à trois poissons par bac, pour une durée qui dépend des protocoles expérimentaux. Le traitement destiné à stimuler la spermiation consiste en une seule injection hormonale, appliquée aussitôt après la capture ou bien différée de plusieurs jours, en fonction des protocoles expérimentaux (i.e. reproduction des femelles). Les poissons employés pour l'étude de la fonction reproductrice mâle ont été placés en bac à raison de un poisson par bac, et le traitement a été appliqué sans délai.

Comme pour la collecte des ovules chez les femelles, la collecte du sperme chez les mâles nécessite préalablement l'anesthésie des poissons, puis le séchage de l'abdomen et l'élimination de l'urine. Le sperme est ensuite collecté en massant l'abdomen du poisson ; il est aspiré dans une seringue contenant une solution d'immobilisation (4.2.3.1, p 127). Pour l'étude de la fonction reproductrice mâle, la collecte de sperme s'est déroulée dans des conditions standardisées de striping, durant une minute à chaque fois. La collecte de sperme terminée, les poissons sont remis en étang ou en cage flottante.

4.2.1.3. Les bacs de stockage des poissons durant les traitements

Pour les poissons géniteurs élevés en étangs, à Can-Tho, les bacs employés sont en ciment, peints avec une peinture polyester, de forme cubique et d'un volume de 3,5 m³ (2 m de côté et 0,8 m de profondeur). Un système d'adduction d'eau, par pompage de la nappe phréatique¹, permet le renouvellement en continu de l'eau des bacs, à raison de quatre fois par jour. Pour les poissons géniteurs élevés en cages flottantes, à Chau-Dôc, les bacs sont en fibre de verre, de forme circulaire et d'un volume de 1,5 m³ (1,8 m de diamètre et 0,6 m de profondeur). Un système d'adduction d'eau, par pompage de l'eau du Mékong, permet également le renouvellement en continu de l'eau des bacs, à raison de dix fois par jour.

La température de l'eau des bacs est mesurée régulièrement durant les traitements, avec un thermomètre à mercure enregistrant les températures minimales et maximales ou bien avec un thermomètre électronique équipé d'une sonde.

4.2.1.4. Injection des hormones

Les solutions d'hormone(s) sont injectées dans le muscle dorsal des poissons, avec des seringues de 1 ml et des aiguilles de 3-4 cm de longueur. Le volume injecté n'excède pas 1 ml par point d'injection ; si nécessaire, l'injection peut être effectuée en plusieurs points sur un même poisson.

4.2.2. Nature des hormones employées

4.2.2.1. Les extraits hypophysaires

Les extraits hypophysaires sont communément employés dans les écloséries vietnamiennes, dont celle de l'Université de Can-Tho, pour induire la ponte de poissons locaux. Les hypophyses de carpe proviennent de Ha-Noï et sont achetées à Can-Tho. Elles sont prélevées sur des carpes *Cyprinus carpio* sexuellement matures, mâles et femelles, d'un poids vif de 0,5-0,8 kg. Les glandes pituitaires sont conservées dans l'acétone et chacune pèse environ 2 mg.

Les extraits hypophysaires sont préparés et employés de la façon suivante :

- 1) broyage à sec des glandes pituitaires dans un petit mortier,
- 2) mise en suspension dans du liquide physiologique (NaCl à 9 g.l⁻¹), à raison de 1,5 ml pour 10 mg d'hypophyse,
- 3) décantation de la solution durant 20 minutes à la température de 5-6 °C,
- 4) le surnageant (environ 85 % de la solution) est aspiré avec une seringue et injecté sans délai.

4.2.2.2. Le GnRH_a associé à un anti-dopaminergique

Le GnRH_a employé est analogue de la LHRH produit par l'entreprise BACHEM (Annexe 30). Il s'agit d'un nanopeptide dont la séquence en acides aminés diffère de l'hormone originale au niveau des cinq acides aminés suivants:

(Des-Gly¹⁰, D-Arg⁶, Trp⁷, Leu⁸, Pro-NH₂⁹)-LHRH

¹ : Avec aération, décantation et filtration de l'eau, pour éliminer le fer contenu dans l'eau de forrage.

La séquence complète en acides aminés du GnRHa est la suivante :

Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Arg-Trp-Leu-Pro-NH₂

Un acide aminé a été enlevé à une extrémité (Des-Gly¹⁰) et remplacé par un groupement éthylamide (NH₂⁹). En position 6, la glycine a été remplacé par un autre acide aminé dextrogyre (D-Arg⁶), alors que les acides aminés naturels sont lévogyres. Ces deux changements, confèrent à la molécule une plus grande stabilité à la dégradation enzymatique dans le poisson traité. Avec les deux autres substitutions (Trp⁷ et Leu⁸), la formule de l'analogue utilisé correspond davantage à celle du GnRHa de saumon ou sGnRHa qu'à celle de la LHRHa.

Le GnRHa a été employé en association avec un produit anti-dopaminergique : le pimozide ou le dompéridone. Le pimozide est un produit toxique et peu soluble dans l'eau, acheté auprès de fournisseurs de produits de laboratoire. En revanche, le dompéridone est un produit prescrit en pharmacie pour les maux d'estomac et qui se dissout facilement dans l'eau. Le GnRHa est conditionné sous forme lyophilisée par flacon de 5 mg. Cette quantité est mise en solution dans 50 ml de liquide physiologique (NaCl à 9 g.l⁻¹), dans lequel 500 mg de produit anti-dopaminergique ont été préalablement mis en suspension. Cette solution est ensuite divisée en flacons de 5 ml, puis congelée pour une durée de conservation de huit jours au maximum.

4.2.2.3. L'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG)

L'hCG employée a été produite en France par l'entreprise ORGANON (Annexe 31) ou bien au Viêt-Nam par une entreprise localisée à Ha-Noï ; elles sont normalement destinées à un usage respectivement médical ou piscicole. L'induction de la reproduction des femelles élevées en étangs, de même que l'étude de la fonction reproductrice mâle en cages flottantes, ont été réalisées uniquement avec l'hCG ORGANON. Les deux types d'hormone ont en revanche été employés pour induire la reproduction des femelles élevées en cages flottantes.

L'hormone est conditionnée sous forme lyophilisée ; elle peut être stockée à température ambiante jusqu'à 26 °C, mais, par précaution, elle a été conservée réfrigérateur à une température de 5-6 °C. Au moment de l'emploi, l'hormone est dissoute dans du liquide physiologique (9 g.l⁻¹ NaCl) puis injectée au poisson sans délai. L'hCG ORGANON est conditionnée en flacons de 1500 ou 5000 UI (Unité internationale); elle est diluée dans la solution saline à raison de un à quatre flacons par ml. L'hCG vietnamienne est conditionnée en flacons de 10.000 UI ; chaque flacon est mis en solution dans 3 à 6 ml de solution saline.

4.2.3. Gestion du sperme collecté

4.2.3.1. Conservation du sperme

Le sperme est dilué dans une solution d'immobilisation lors de sa collecte. Il s'agit d'une solution saline (NaCl) tamponnée avec du TRIS basique. La dilution du sperme dans cette solution empêche l'activation précoce des spermatozoïdes, d'une part, et elle permet la conservation du sperme à l'état frais, d'autre part. Les solutions de sperme sont placées dans des Erlenmeyer en verre de 80 ml (large base) et conservées au réfrigérateur à la température de 4-5 °C. Les flacons de solution sont laissés ouverts pour permettre la

C	-	-	C
-	C	C	-
-	C	C	-
C	-	-	C

$$N \text{ spermatozoïdes par ml} = N \text{ spermatozoïdes comptés} \\ \times \text{ dilution du sperme (4000 à 8000)} \\ \times 31\,250 \text{ (facteur de conversion)}$$



Cellule de Thomas observée au microscope ($\times 100$)

C = comptage

- = pas de comptage

Figure 47 : Méthode de calcul de la concentration en spermatozoïdes du sperme

Tableau 21 : Echelle arbitraire de Sanchez - Rodriguez et Billard (1975) pour exprimer la motilité des spermatozoïdes

Valeurs	Observations
5	Tous les spermatozoïdes se déplacent vigoureusement : impossible de fixer la vue sur aucun d'entre eux.
4	La majorité des spermatozoïdes se déplacent encore rapidement : seuls quelques-uns sont visibles du fait de leur déplacement lent.
3	Les spermatozoïdes présentent trois comportements (en nombre égal) : déplacement vigoureux / déplacement lent / immobiles.
2	Peu de spermatozoïdes se déplacent rapidement, quelques-uns se déplacent lentement, la majorité des spermatozoïdes sont immobiles.
1	Seuls quelques spermatozoïdes ont une légère agitation.
0	Tous les spermatozoïdes sont immobiles

respiration des spermatozoïdes. Ils sont légèrement agités avant chaque utilisation du sperme, afin d'homogénéiser la solution.

La salinité de la solution d'immobilisation, le taux de dilution du sperme dans cette solution et la durée de conservation de la solution de sperme ont été étudiées. La salinité des différentes solutions est exprimée ici sous forme de molarité, en millimoles de NaCl par litre, ce qui permet d'extrapoler par calcul l'osmolarité des solutions¹. Le pH de toutes les solutions d'immobilisation a été maintenu à 7, en tamponnant les solutions avec le TRIS basique² à la concentration de 20 mM (2,4 g.l⁻¹). Après dilution du TRIS, le pH est ajusté à 7 en ajoutant de l'acide chlorhydrique (environ 5 ml.l⁻¹).

4.2.3.2. Mesure de la concentration en spermatozoïdes

La concentration en spermatozoïdes est calculée après comptage des têtes spermatiques dans une cellule de Thomas, ou hématimètre, avec un microscope au grossissement de 100 fois (Figure 47). Le sperme est préalablement dilué 4000 à 8000 fois afin que le nombre de têtes spermatiques dénombrées soit compris entre 100 et 500. La dilution s'effectue avec une solution d'immobilisation (NaCl 155 mM, TRIS 20 mM, pH 7). La mesure est répétée quatre fois par échantillon de sperme. Cette technique a été mise en œuvre selon une méthode décrite par Saad et Billard (1987) chez la carpe *Cyprinus carpio*, et par Campbell *et al.* (1992) chez la truite *Onchorynchus mykiss*.

4.2.3.3. Observation de la motilité des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes dans le sperme collecté par striping sont immobiles et maintenus comme tels par dilution dans la solution d'immobilisation. C'est la mise en contact du sperme avec une solution d'activation qui déclenche la motilité des spermatozoïdes durant un certains laps de temps. La solution d'activation peut être constituée d'eau de source de salinité nulle et de pH 7 (Annexe 32) ou bien d'une solution à faible salinité tamponnée (NaCl 34 mM, TRIS 30 mM, pH 7).

La motilité des spermatozoïdes est observée au microscope ($\times 100$), en mettant en contact une goutte de sperme avec une goutte de solution d'activation, au front de migration des spermatozoïdes à l'intérieur de la goutte de solution. La dilution du sperme au front de migration est importante, ce qui permet une activation relativement synchrone de tous les spermatozoïdes à ce niveau. La durée de motilité est mesurée à l'aide d'un chronomètre, déclenché lorsque le sperme et la solution d'activation sont mis en contact. Cette mesure est répétée quatre fois par échantillon de sperme. L'estimation globale de la motilité des spermatozoïdes a été faite selon une échelle arbitraire (Tableau 21), selon une méthode décrite par Sanchez-Rodriguez et Billard (1977)³. Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles a aussi été estimé, cette méthode étant également rapportée par Billard *et al.* (1995).

¹ : L'osmolarité de la solution correspond à la somme des charges ioniques exprimées en valeur absolue. Par exemple, une solution de NaCl (58 g.M⁻¹) à 155 mM (9 g.l⁻¹) présente une osmolarité calculée de 310 mOsmol.kg⁻¹ (milliosmoles par kg).

² : TRIS basique : C₄H₁₁NO₃, 121 g.M⁻¹

³ : Cités par Billard *et al.* (1995).

Tableau 22 : Caractéristiques des tests de fécondation réalisés

Caractéristiques des tests de fécondation	Thèmes d'étude	
	Qualité des ovules de <i>P. hypophthalmus</i> (§ 4.4.3 et 4.7.1.5)	- Conservation du sperme (§ 4.6.3) - technique de fécondation (§ 4.7.1.1 à 4.7.1.4)
Nombre d'ovules	200-300	200-300
Sperme utilisé	Pool de 3 spermes différents, dilué 2 fois dans une solution d'immobilisation ^(a) , conservé 10 h au plus à 5-6 °C, bonne motilité avant usage ^(b)	Variable ^(c)
Récipient	Boîte de 0,8 litre avec une fenêtre grillagée	Barquette de 0,5 litre
Solution d'activation	6 ml d'eau de source de salinité nulle et de pH 7 ^(d)	10 ml d'une solution de salinité variable ^(c) et tamponnée à pH 7
Dilution du sperme ^(e)	100 fois	Variable ^(c)
Condition d'incubation	Eau du Mékong filtrée, aérée et renouvelée en continu, température maintenue à 29-30 °C	Eau de source ^(d) renouvelée 2 fois en cours d'incubation, température ambiante 26-32 °C
Nombre de réplicats	1	4

^(a) : NaCl 155 mM, TRIS 20 mM, pH 7,

^(b) : 4 ou 5 sur l'échelle de motilité de Sanchez - Rodriguez et Billard (1975) (Tableau 21),

^(c) : en fonction des expériences réalisées,

^(d) : eau « La Vie » dont la composition est donnée en Annexe 32,

^(e) : dans la solution d'activation.

4.2.4. Evaluation de la fécondation et de la qualité des œufs et des larves

4.2.4.1. Description des tests de fécondation

Les tests de fécondation s'effectuent avec un petit nombre d'ovules (200-300) placés dans un récipient en plastique de forme cubique. Le sperme est déposé sur les ovules et la fécondation est déclenchée en ajoutant la solution d'activation. Le mélange ovule-sperme-solution d'activation est agité doucement durant une minute, puis un grand volume d'eau est ajouté et les œufs sont rincés. De l'eau est ajoutée ensuite et l'incubation des œufs se déroule dans les mêmes récipients. Ces conditions de fécondation sont standardisées à plusieurs niveaux mais elles varient en fonction des expériences réalisées (Tableau 22). Chaque test de fécondation est répété quatre fois par échantillon de sperme. Les protocoles employés ont été mis en œuvre d'après la technique décrite par Legendre (1986) chez *Heterobranchus longifilis* et par Saad et Billard (1987) chez la carpe *Cyprinus carpio*.

4.2.4.2. Calcul des taux de fécondation, d'éclosion et de larves normales

Le comptage des œufs non fécondés s'effectue environ 8 h après la fécondation, lorsque le développement des œufs fécondés est parvenu au stade mi-gastrula. A ce stade, les œufs normaux présentent l'aspect d'un gland translucide, visible à l'œil nu, alors que les œufs non fécondés n'ont pas cette forme et deviennent opaques. Chaque boîte d'incubation est alors posée sur une plaque lumineuse et les œufs non fécondés sont comptés et aspirés hors de la boîte à l'aide d'une seringue. Ce premier comptage permet de calculer le taux de fécondation, égal à la proportion d'œufs fécondés sur le nombre total d'œufs observés.

D'autres œufs opaques sont comptés et retirés ensuite jusqu'à l'éclosion complète des larves ; ils ont été fécondés mais ils n'ont pas éclos. Ce second comptage permet de calculer le taux d'éclosion relatif au nombre d'ovules fécondés ou taux d'éclosion relatif. Le taux d'éclosion dit absolu correspond au taux d'éclosion relatif au nombre total d'ovules observés.

Quarante huit heures après la fécondation, les larves écloses nagent activement et leur sac vitellin est pratiquement résorbé. Mais certaines larves présentent des anomalies dont généralement une partie postérieure mal développée qui empêche la nage normale. Ces larves anormales sont posées sur le fond. Elles sont comptées et enlevées de la boîte. Ce troisième comptage permet de calculer le taux de larves anormales sur le nombre de larves écloses. Il permet également de calculer le taux de larves absolu, égal à la proportion de larves normales sur le nombre total d'œufs observés.

Tableau 23 : Traitements hormonaux directs testés pour induire l'ovulation chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs et en cages flottantes

Milieu d'élevage	Doses d'hormone ^(a)	N Femelles	Résultats ^(b)
Etang	i1 : 3,4 mg EH + 300 UI hCG i2 : 8,4 mg EH + 700 UI hCG	4	Quelques ovules collectés
Etang	i1 : 10 µg sGnRHa + 1 mg pimozide i2 : 40 µg sGnRHa + 4 mg pimozide	1 + 2 ^(c)	Aucune évolution des ovocytes
Etang	i1 : 800 UI hCG i2 : 1600 UI hCG	1 ^(c) 1	- 75 g d'ovules collectés ^(d) - 17 % GVBD.
Cage flottante	i1 : 800 UI hCG i2 : 1800 UI hCG	2	- 17 % GVBD, - aucune évolution des ovocytes
Cage flottante	i1 : 800 UI hCG i2 : 3300 UI hCG	2	Aucune évolution des ovocytes
Cage flottante	i1 : 1300 UI hCG i2 : 2700 UI hCG	2	33 % GVBD

^(a) : Dose par kg de poids vif ; i1 et i2 injectées à 8 h d'intervalle,

^(b) : 24 h après la dernière injection,

^(c) : femelles ayant reçu un traitement hormonal 11 jours auparavant (premier traitement décrit dans ce tableau),

^(d) : 27 h après i1 à la température de 29-30 °C, femelle de 5,85 kg,

EH : extraits hypophysaires,

GVBD : germinal vesicle breakdown (éclatement de la vésicule germinative).

4.3. INDUCTION DE LA MATURATION OVOCYTAIRE ET DE L'OVULATION CHEZ LES FEMELLES DE *P. BOCOURTI*

4.3.1. La première reproduction de *P. bocourti*

Parmi les 15 femelles traitées lors de la première campagne expérimentale en 1995, une seule a évolué jusqu'à l'ovulation complète, suivie de la collecte des ovules et de leur fécondation (Tableau 23). Il s'agissait d'une femelle qui avait déjà reçu, 11 jours auparavant, un traitement hormonal associant hCG et extraits hypophysaires de carpe en deux injections.

Certaines des autres femelles traitées présentaient des signes de maturation ovocytaire partielles, à savoir la migration en périphérie de la vésicule germinative (VG), initialement en position centrale dans les ovocytes, puis son éclatement (GVBD). C'est le cas de quatre des sept femelles induites avec l'hCG, dont les ovocytes au stade GVBD ne représentent pas plus du tiers des ovocytes observés. Aucun ovule n'a pu être collecté par stripping des ces femelles.

L'observation de l'état des VG, associée à la mesure des ovocytes, a montré que le processus de maturation ovocytaire ne concerne que chez les ovocytes de grande taille, dont le diamètre est supérieur ou égal à 1,6 mm. Or, avant l'application du traitement qui a réussi, la femelle traitée présentait 85 % d'ovocytes d'un diamètre supérieur ou égal à 1,6 mm (Figure 48), contre 48 ± 12 % en moyenne chez les 12 femelles traitées une première fois sans succès (30 à 66 %). Une proportion importante d'ovocytes de grande taille semble donc conditionner le succès d'un traitement destiné à induire l'ovulation.

Cette proportion importante d'ovocytes de grande taille a vraisemblablement été atteinte grâce à la première induction réalisée 11 jours plus tôt, comme le montre la croissance des ovocytes chez trois femelles traitées à deux reprises (Figure 49, Annexe 33). Pour ces trois femelles, la proportion d'ovocytes développés est passée en moyenne de 45 à 78 % ($P < 0,05$) durant l'intervalle. Dans le même temps, chez les autres femelles non traitées, la proportion d'ovocytes développés est restée faible, passant de 5 à 6 % en moyenne et ne dépassant pas 32 %.

Il semble donc que la maturation gonadique des femelles élevées en étangs ne parvienne pas à un stade suffisamment avancé pour permettre, par un traitement classique (i.e. deux injections rapprochées d'hCG), l'induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation. Woynarovitch et Horvath (1980) ont rapporté l'existence un facteur limitant similaire chez le colossoma *Colossoma oculus*. Ces auteurs préconisaient un traitement hormonal particulier, à savoir une succession de cinq injections quotidiennes d'extraits hypophysaires, correspondant chacune à seulement 5-10 % de la dose injectée ensuite, en deux injections espacées de 6 h (40 + 60 %). La première phase du traitement, dite préparatoire, permettait d'avancer la maturation gonadique jusqu'à un stade « pré-ovulatoire » ; la seconde phase, dite décisive, induisait la fin de la maturation ovocytaire suivie de l'ovulation. Ce résultat intéressant a inspiré la mise au point d'un traitement similaire chez *P. bocourti*, appelé « traitement progressif », par opposition au « traitement direct » comprenant une à trois injections rapprochées (i.e. intervalles de 6 à 12 h).

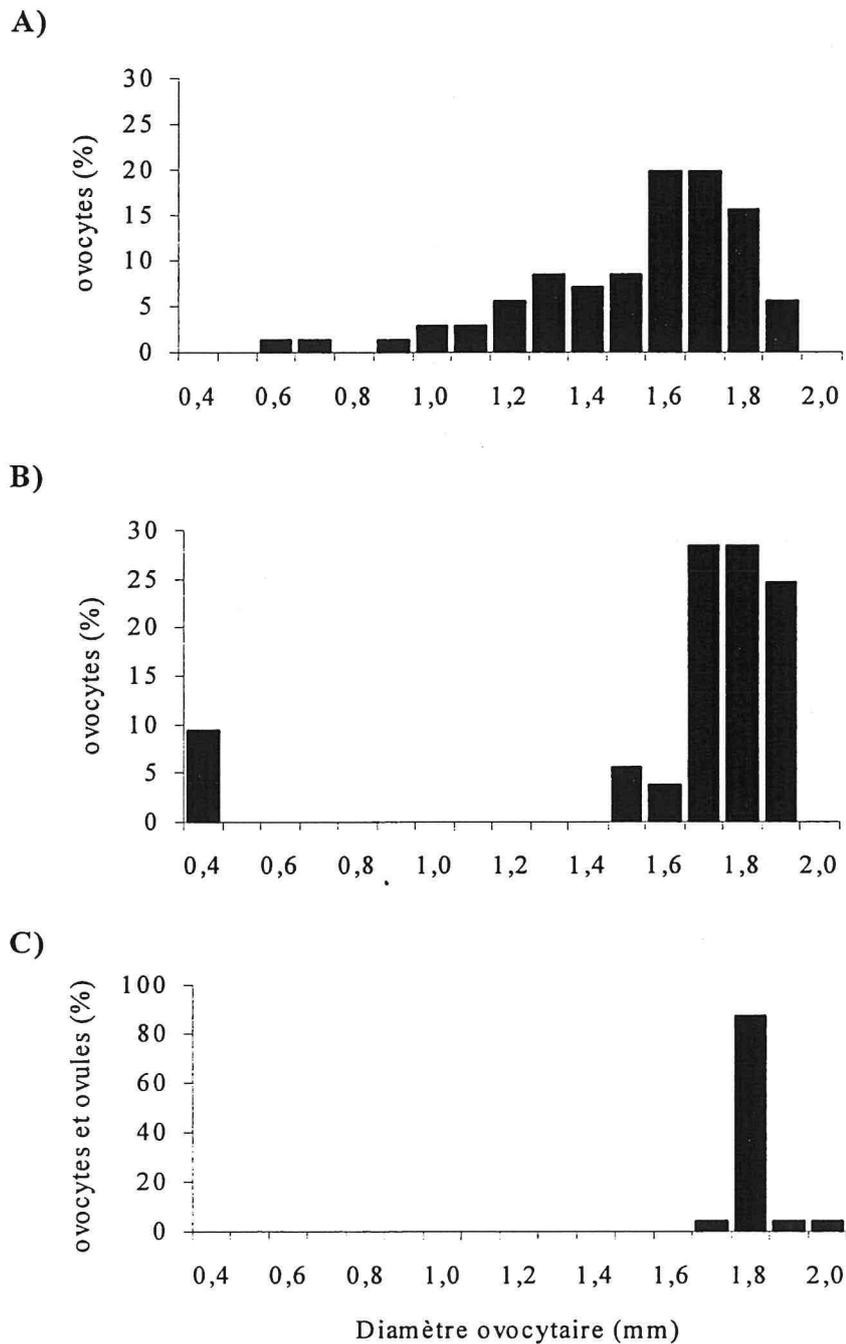


Figure 48 : Effet des traitements directs successifs sur la taille des ovocytes d'une femelle de *P. bocourti* élevée en étang lors de la première reproduction artificielle obtenue

A) Avant le premier traitement de l'année (n = 73) ; B) 11 après le premier traitement et avant le second traitement (n = 53) ; C) Au terme du second traitement, juste avant la collecte des ovules. Voir Tableau 23 pour le détail des traitements (n = 23).

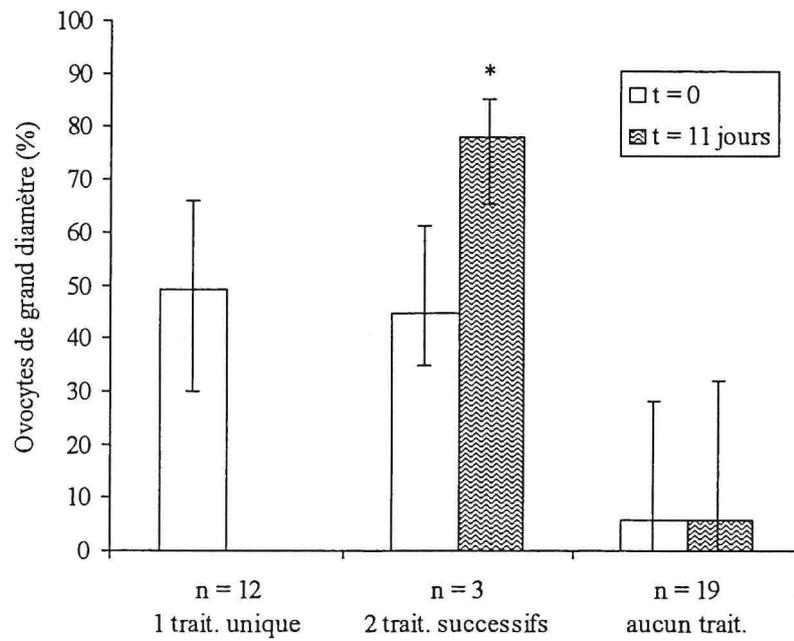


Figure 49 : Proportions d'ovocytes de grande taille observées à 11 jours d'intervalle, avant chaque traitement ovulatoire, chez des femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

- Voir Tableau 23 pour le détail des traitements hormonaux,
- valeurs moyennes \pm valeurs extrêmes,
- différence significative entre les deux traitement successifs : * ($P < 0,05$).

Tableau 24 : Traitement progressif à l'hCG avec deux injections ovulatoires appliqué aux femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	6,7 ± 1,7 [5 ; 10] injections à 24 h d'intervalle 500 à 700 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	i1 : 1500 [1000 ; 1700] UI après 24 h i2 : 2100 [1500 ; 2600] UI après 9,5 h [9 ; 10]

(*) : doses par kg de poids vif.

- Taux d'ovulation : 10 femelles sur 14 traitées (71 %),
- émission des ovules 21 ± 2,5 h [16 ; 24,5] après i1,
- température de l'eau : 28,2 ± 0,4 °C [26,5 ; 30].

Des trois femelles de *P. bocourti* traitées avec la LHRHa associée au pimozide, aucune n'a présenté de signe de maturation ovocytaire, même partielle, à l'inverse de l'hCG (Tableau 23). Pour cette raison, l'hCG a été retenue pour la mise au point d'un traitement progressif. Néanmoins, vu le faible effectif de femelles observé durant les essais préliminaires (n = 3), il n'est pas exclu que la LHRHa, administrée seule ou bien associée à un anti-dopaminergique, puisse induire l'ovulation. Les extraits hypophysaires n'ont pas non plus été employés par la suite, car, comparé à l'hCG, il ne s'agit pas d'un produit à l'activité biologique standardisé et leur utilisation n'est pas aussi pratique.

Compte tenu de l'influence possible d'un traitement hormonal sur la maturation gonadique ultérieure au cours d'une même saison de reproduction, les résultats présentés dans ce qui suit ne concernent, pour chaque femelle, que le premier traitement appliqué chaque année. Seule l'étude des pontes successives fera intervenir deux ou trois traitements appliqués aux mêmes femelles au cours d'une même année.

4.3.2. Mise au point d'un traitement progressif à l'hCG sur les femelles élevées en étangs

4.3.2.1. Description du traitement

Un nouveau type de traitement à l'hCG a été mis au point et il se décompose en deux phases (Tableau 24). La première phase est une succession de trois à dix injections espacées chacune de 24 h et dont la dose est relativement modeste (500 à 700 UI.kg⁻¹). La seconde phase du traitement consiste en deux injections successives dont les doses sont plus importantes (1500 et 2100 UI.kg⁻¹ en moyenne), appliquées chacune à 9,5 h d'intervalle. Le traitement a induit l'ovulation chez 71 % des femelles traitées (n = 14) ; les ovules ont été collectés 11,5 h en moyenne après la dernière injection, à la température de 26,5-30 °C. Durant la seconde phase du traitement, l'application d'une injection unique a également été testée avec succès, mais sur une seule femelle (Annexe 34). Au total, 11 pontes ont été obtenues sur 20 femelles traitées, soit un taux d'ovulation¹ de 55 % (Planche 5, p 148).

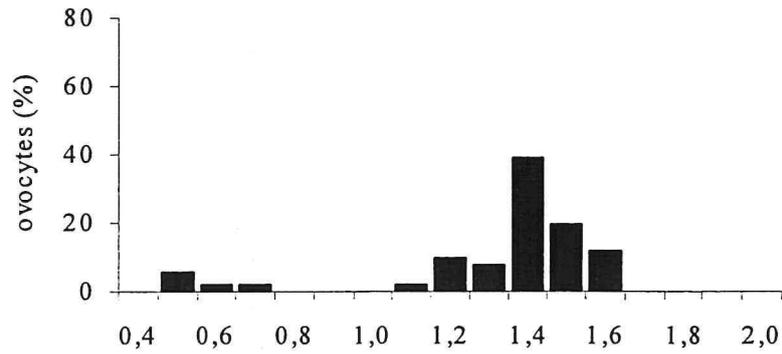
4.3.2.2. Effet du traitement sur la taille des ovocytes

Afin d'analyser l'effet du traitement hormonal, la taille des ovocytes est suivie et, en particulier, la proportion d'ovocytes de grande taille, dont le diamètre est supérieur ou égal à 1,6 mm. A titre d'exemple, chez une femelle traitée avec succès, la Figure 50 montre la distribution des ovocytes au cours du traitement, indiquant une augmentation du diamètre ovocytaire, principalement après la première phase du traitement.

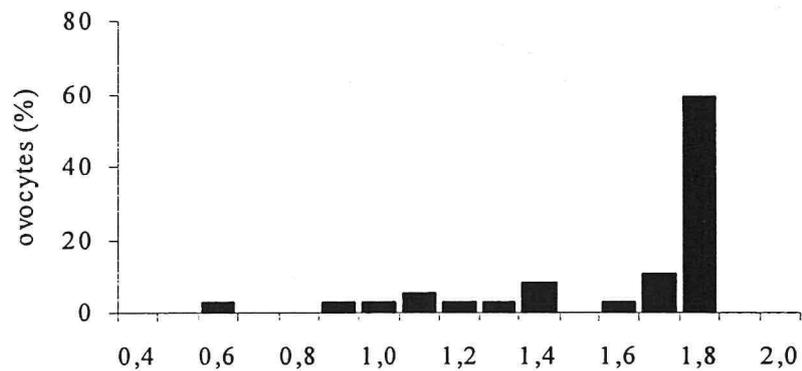
Pour l'ensemble des femelles traitées avec succès, la proportion moyenne d'ovocytes de grande taille augmente de façon significative de 13,7 à 53,4 % après la première phase du traitement (P < 0,01), puis à 76 % après la seconde phase (P < 0,05) (Figure 51, Annexe 35). Avant l'application du traitement progressif sur les 11 femelles qui ont pondu, le diamètre moyen des ovocytes prélevés par biopsie ovarienne est de 1,3 ± 0,1 mm [1,2 ; 1,5]. Au terme du traitement, le diamètre moyen des ovules collectés par stripping et avant hydratation est de 1,9 mm [1,8 ; 2,0].

¹ : Le taux d'ovulation correspond à la proportion de femelles qui ovulent correctement à la suite du traitement hormonal, c'est à dire dont des ovules ont pu être collectés par stripping.

A)



B)



C)

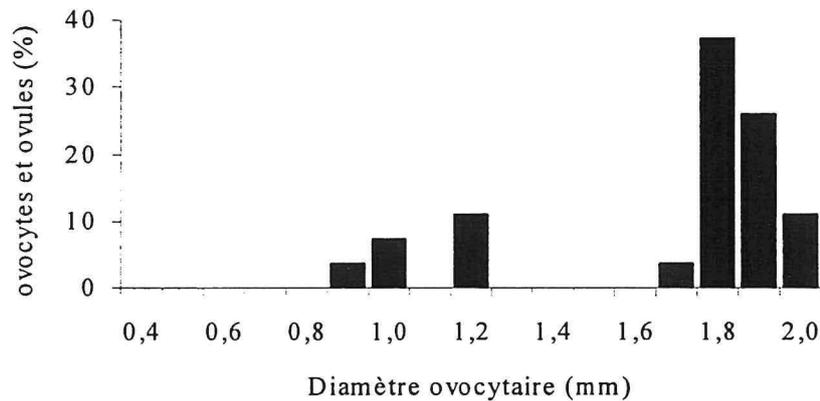


Figure 50 : Effet du traitement progressif sur la taille des ovocytes d'une femelle *P. bocourti* élevée en étang

A) Avant le traitement de finition (n = 51) ; B) après le traitement de finition et avant le traitement ovulatoire (n = 37) ; C) au terme du traitement ovulatoire, juste avant la collecte des ovules (n = 27). Voir Tableau 24 pour le détail des traitements.

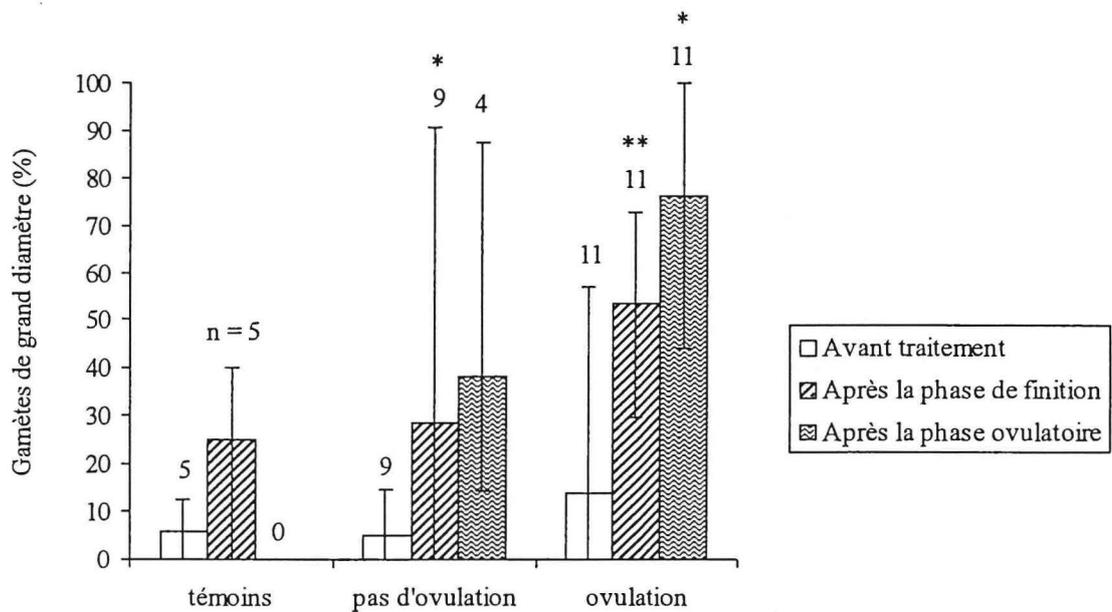


Figure 51 : Evolution de la proportion de gamètes de grande taille en réponse à un traitement progressif chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

- Voir Planche 5 pour le détail des traitements,
- valeurs moyennes \pm valeurs extrêmes,
- n : nombre de femelles,
- différences significatives entre les étapes successives de chaque traitement : * ($P < 0,05$) ; ** ($P < 0,01$).

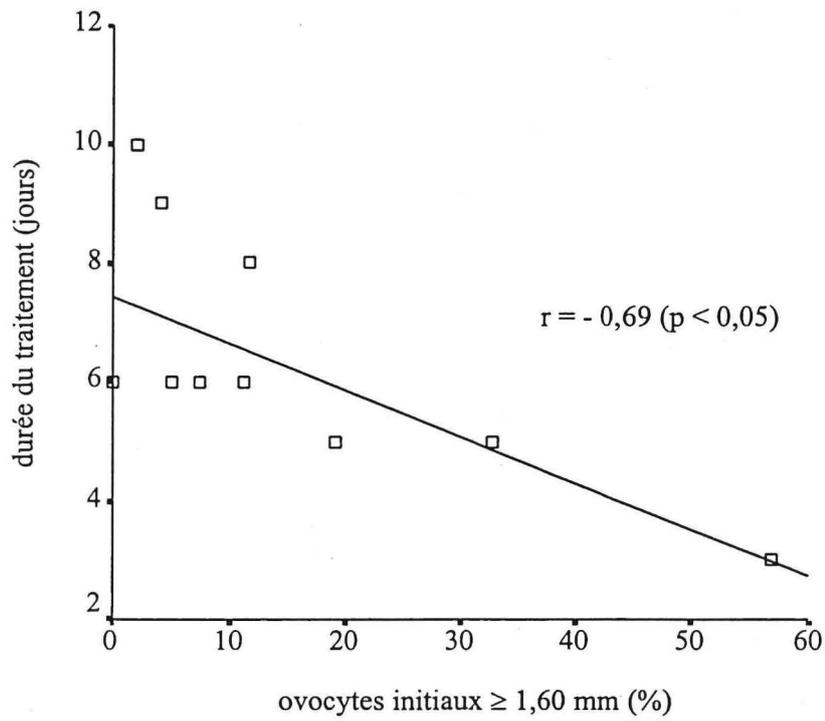


Figure 52 : Relation entre la proportion initiale d'ovocytes de grande taille et la durée du traitement de finition chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

La première phase du traitement permet d'achever le développement des ovocytes qui se traduit par une forte augmentation de leur diamètre. La seconde phase du traitement déclenche le processus de maturation ovocytaire suivi de l'ovulation. Il s'agit donc d'un traitement dit « de finition » suivi d'un traitement dit « ovulatoire ».

La durée de la phase de finition varie de trois à dix jours et elle tend à diminuer avec la proportion initiale d'ovocytes de grande taille ($r = -0,69$, $P < 0,05$) (Figure 52). Lorsque cette proportion ne dépasse pas 10 % des ovocytes, la phase de finition dure en moyenne sept jours et elle varie de six à dix jours. Lorsque cette proportion est plus élevée, la durée moyenne est de quatre jours et elle varie de trois à cinq jours.

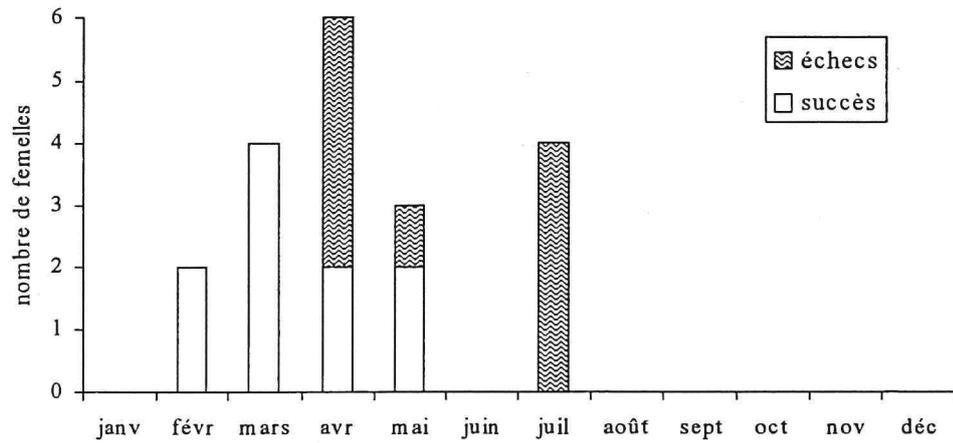
4.3.2.3. Facteurs déterminant le résultat du traitement hormonal

Le traitement progressif a échoué pour neuf des 20 femelles traitées (45 %) puisqu'aucun ovule n'a pu être collecté (Planche 5, p 148). Initialement, les femelles dont le traitement a échoué présentent des ovocytes sensiblement plus petits que ceux des femelles dont le traitement a réussi, d'un diamètre moyen respectif de 1,2 et 1,3 mm ($P < 0,01$) et d'une proportion moyenne d'ovocytes de grande taille respective de 4,9 et 13,7 % (non significatif). Cette proportion augmente dans les deux cas après la phase de finition, mais elle est alors deux fois moins importante chez les femelles dont le traitement a échoué que chez les femelles dont le traitement a réussi ($P < 0,01$), respectivement de 28,6 et 53,4 %.

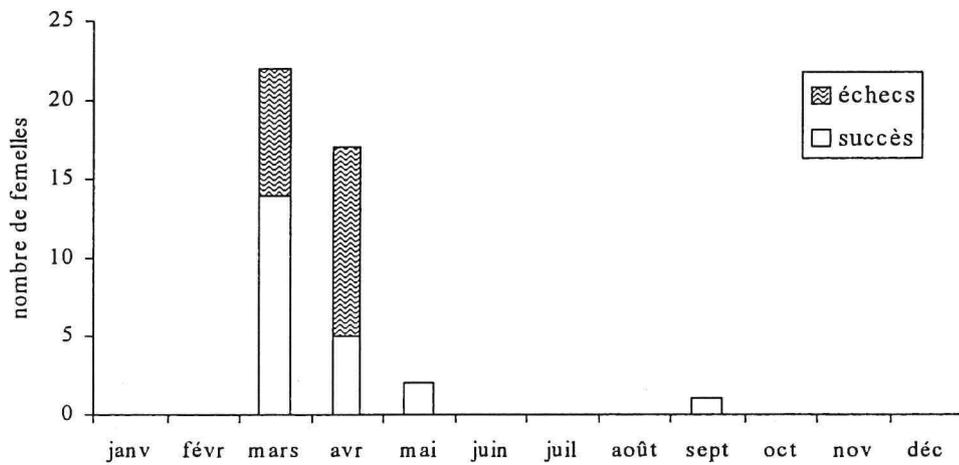
Outre des ovocytes sensiblement plus petits, huit des neuf femelles dont le traitement a échoué se distinguent aussi par la présence d'ovocytes anormaux : le cytoplasme est translucide et ils sont dépourvus des fins capillaires normalement présents à leur surface. Dans ce cas, les ovocytes sont souvent prélevés avec du fluide ovarien blanchâtre. Ces observations indiquent que les ovocytes sont en voie d'atrésie et, donc, que la gonade est probablement en phase de régression. Parmi les neuf femelles dont le traitement a échoué, six présentaient environ 20 % d'ovocytes en atrésie avant l'application du traitement hormonal. Les ovocytes en atrésie sont apparus en cours de traitement de finition chez les deux autres femelles. Dans les deux cas, la proportion d'ovocytes en atrésie augmente durant le traitement de finition ou bien durant le traitement ovulatoire, pour atteindre, dans certains cas, 100 % des ovocytes observés. Pour ces femelles, la réaction au traitement ovulatoire, en terme de maturation ovocytaire, est nulle ($n = 4$).

En 1996, le taux de réussite du traitement est supérieur durant la saison sèche puisqu'il est de 100 % ($n = 6$) en février et mars, contre 44 % ($n = 9$) en début de saison des pluies, en avril et mai, et 0 % ($n = 4$) durant la saison des pluies, en juillet (Figure 53.A). La saison semble également avoir une incidence sur la durée des deux phases du traitement en 1996. En effet la phase de finition est de cinq ou six jours pour les femelles traitées en mars, avril et mai ($n = 7$), alors qu'elle est de neuf et dix jours pour les deux femelles traitées respectivement en février et en juin. La phase ovulatoire à deux injections dure en moyenne 19,5 h pour les femelles traitées en mars et en avril ($n = 6$), alors qu'elle dure 23,5 h en moyenne pour les femelles traitées en février, mai et juin ($n = 3$). Cette différence significative indique que la réponse au traitement ovulatoire est plus lente en début et en fin de saison de reproduction qu'en milieu de saison ($P < 0,05$). Par ailleurs, la durée de la phase ovulatoire n'apparaît pas corrélée avec la température de l'eau dans les bacs d'expérimentation. L'ensemble de ces résultats montrent qu'en 1996 la période optimale, pour les reproductions de *P. bocourti* élevés en étangs, se situe au mois de mars, soit en fin de saison sèche.

A) En étangs en 1996



B) En cages flottantes en 1996



C) En cages flottantes en 1997

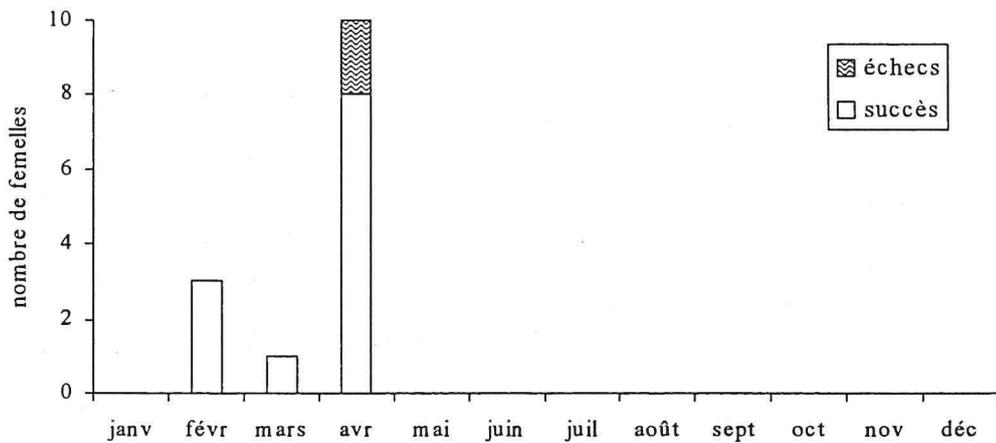


Figure 53 : Résultats de la reproduction induite au cours de l'année chez des femelles *P. bocourti* élevées en étangs et en cages flottantes

4.3.2.4. Les poissons témoins

Cinq femelles ont été placées dans les mêmes conditions que les poissons traités mais sans recevoir d'induction hormonale, afin d'évaluer, par comparaison avec les femelles traitées, l'effet du traitement de finition. Parmi les femelles non traitées, deux ont été injectées avec un placebo, du sérum physiologique employé comme diluant de l'hCG, et les trois autres n'ont reçu aucune injection. Ces femelles ont été observées en 1996, en février, avril et mai (respectivement 1, 2 et 2 femelles).

Des échantillons d'ovocytes ont été régulièrement prélevés par biopsie ovarienne durant 3 à 13 jours et 7,2 jours en moyenne. La proportion d'ovocytes de grande taille (diamètre $\geq 1,6$ mm) tend à augmenter de 5,9 à 24,9 % (non significatif) durant le stockage en bac (Figure 51, Annexe 35). Néanmoins, pour les cinq femelles témoins étudiées, les observations mettent en évidence que la quasi totalité des ovocytes observés sont en atresie au terme du suivi. Les deux types de témoins, placebo et non injectés, ne présentent pas de différence au niveau de ces résultats. Par ailleurs, les femelles témoins présentent initialement des ovocytes dont la taille n'est pas significativement différente de ceux des femelles dont le traitement hormonal est appliqué avec succès.

4.3.2.5. Le processus de maturation ovocytaire

Afin de préciser la cinétique du processus de maturation ovocytaire, les femelles qui ont produit des ovules à l'issue du traitement progressif ont été suivies durant la phase ovulatoire du traitement à deux injections. De 4 à 7 biopsies ovariennes (4,7 en moyenne) ont été effectuées de la première injection ovulatoire jusqu'à la collecte des ovules, à des intervalles de temps qui varient pour chaque femelle en fonction de l'avancement du processus.

Durant toute la durée du traitement de finition, la vésicule germinative (VG) reste au centre des ovocytes, voire à une position légèrement décalée, mais aucune VG n'a été observée à la périphérie des ovocytes avant l'application du traitement ovulatoire (Figure 54). La migration des VG en périphérie des ovocytes intervient entre 12,5 et 16 h en moyenne après la première injection. Ensuite, le contour des VG s'estompe et celles-ci diffusent dans le cytoplasme des ovocytes, les VG sont dites « éclatées », c'est la première division de la méiose qui dure de 16 à 19,5 h en moyenne après la première injection. L'éclatement de la VG s'accompagne d'une augmentation sensible du volume des ovocytes et ceux-ci deviennent translucides. Ces ovocytes perdent ensuite les fins capillaires sanguins présents jusqu'alors sur leur surface, ce qui indique le détachement des ovocytes de leur follicule ovarien. A ce stade, les ovocytes sont des ovules qui ont achevé le processus de maturation ovocytaire. Au contact de l'eau, la membrane pellucide des ovules se décolle, puis elle épaissit légèrement tout en adhérant fortement au support. La membrane pellucide ne présente pas de disque adhésif et adhère sur toute sa surface. Cette expulsion des ovules du follicule dure de 20 à 20,5 h en moyenne après la première injection. Lorsque tous les ovocytes d'une femelle sont parvenus à ce stade, ils peuvent être collectés par striping. L'émission des ovules est constatée 21 h en moyenne après la première injection, à une température de l'eau comprise entre 26,5 et 30 °C.

Au moment de la seconde injection ovulatoire, 9,5 h après la première injection, sept femelles présentent des VG dont l'évolution est déjà sensible, en périphérie des ovocytes (54 %) ou éclatées (18 %). Les trois autres femelles présentent des ovocytes dont la VG est en position centrale. Cette observation suggère que le processus de maturation ovocytaire peut

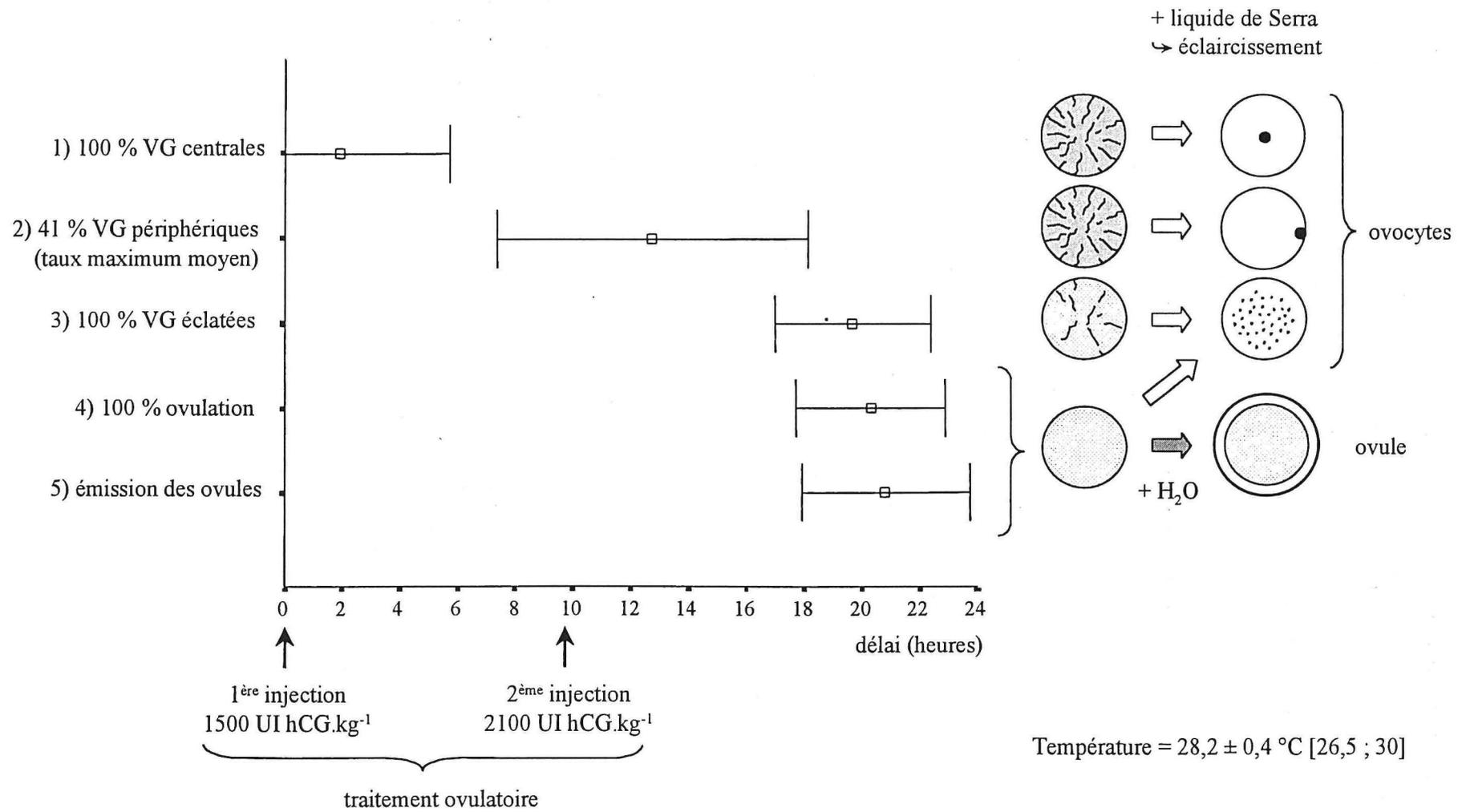


Figure 54 : Etapes du processus de maturation ovocytaire chez des femelles de *P. bocourti* élevées en étangs (n = 10)

être déclenché par la première injection (1500 UI.kg⁻¹).

Par ailleurs, quel que soit le prélèvement, la migration de la VG n'est jamais observée sur la totalité des ovocytes ; la proportion maximale n'est que de 41 % en moyenne (de 0 à 92 %). Les autres VG observées sont, soit en position centrale, soit éclatées. Cette observation suggère que la migration des VG en périphérie est un processus relativement rapide entre la position centrale et le stade éclaté.

4.3.3. Application du traitement aux femelles élevées en cages flottantes

Comme pour les poissons élevés en étangs, l'application d'un traitement à l'hCG destiné à induire directement l'ovulation ne provoque pas, ou très partiellement, l'ovulation des femelles élevées en cages flottantes (Tableau 23). En revanche, des traitements de type progressif ont été également appliqués avec succès sur ces femelles, avec un taux de réussite global de 61 % (n = 56) (Planche 5, p 148). Pour le traitement qui comporte deux injections successives en phase ovulatoire (Tableau 25), le taux d'ovulation est de 71 % (n = 45) ; les ovules sont collectés en moyenne 19,5 et 10 h respectivement après la première et la dernière injection ovulatoire, à la température de 26-32 °C. Après la phase de finition, deux autres types de traitements à l'hCG ont été testés en phase ovulatoire, comportant une ou trois injections successives (Planche 5, p 148 ; Annexe 36 et Annexe 37) ; le taux d'ovulation de chaque traitements est respectivement de 67 % (n = 3) et 0 % (n = 3).

Comme avec les poissons élevés en étangs, le taux d'ovulation est principalement conditionné par la qualité initiale des ovocytes. La réussite du traitement paraît également conditionnée par la saison (Figure 53). Ainsi, en 1996, le taux de réussite est optimal en fin de saison sèche, de 64 % (n = 22) en mars, puis il diminue en début de saison des pluies, à 29 % (n = 17) en avril. En 1997, les cas d'échecs sont également rencontrés en avril, puisque le taux de succès ce n'y est que de 20 % (n = 10).

Le taux de réussite avec des femelles élevées en cages flottantes est plus élevé que celui obtenu avec des femelles élevées en étangs, respectivement de 61 et 55 %. Cette différence est probablement liée au plus grand choix de poissons disponibles en cages flottantes, où l'effectif de géniteurs est près de deux fois plus important qu'en étangs : davantage de femelles présentent des ovocytes plus développés et exempts d'ovocytes en atresie. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les femelles élevées en cages flottantes requièrent une phase de finition deux fois plus courte que les femelles élevées en étangs, respectivement de 3,2 et 6,4 jours en moyenne. En outre, la provenance de l'hCG ne semble pas intervenir puisque des pontes sont également obtenues en cages flottantes avec l'hormone produite en France ou au Viêt-Nam.

Tableau 25 : Traitement progressif à l'hCG avec deux injections ovulatoires appliqué aux femelles de *P. bocourti* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	3,2 ± 1,0 [1 ; 5] injections à 24 h d'intervalle 500 à 700 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	i1 : 1500 [1400 ; 2000] UI après 24 h i2 : 2500 [1400 ; 3000] UI après 9,5 h [8 ; 11,5]

(*) : Par kg de poids vif.

- Taux d'ovulation : 32 femelles sur 45 traitées (71 %),
- émission des ovules 19,5 ± 3 h [14 ; 25] après i1,
- température de l'eau : 29,7 ± 0,8 °C [26 ; 32].

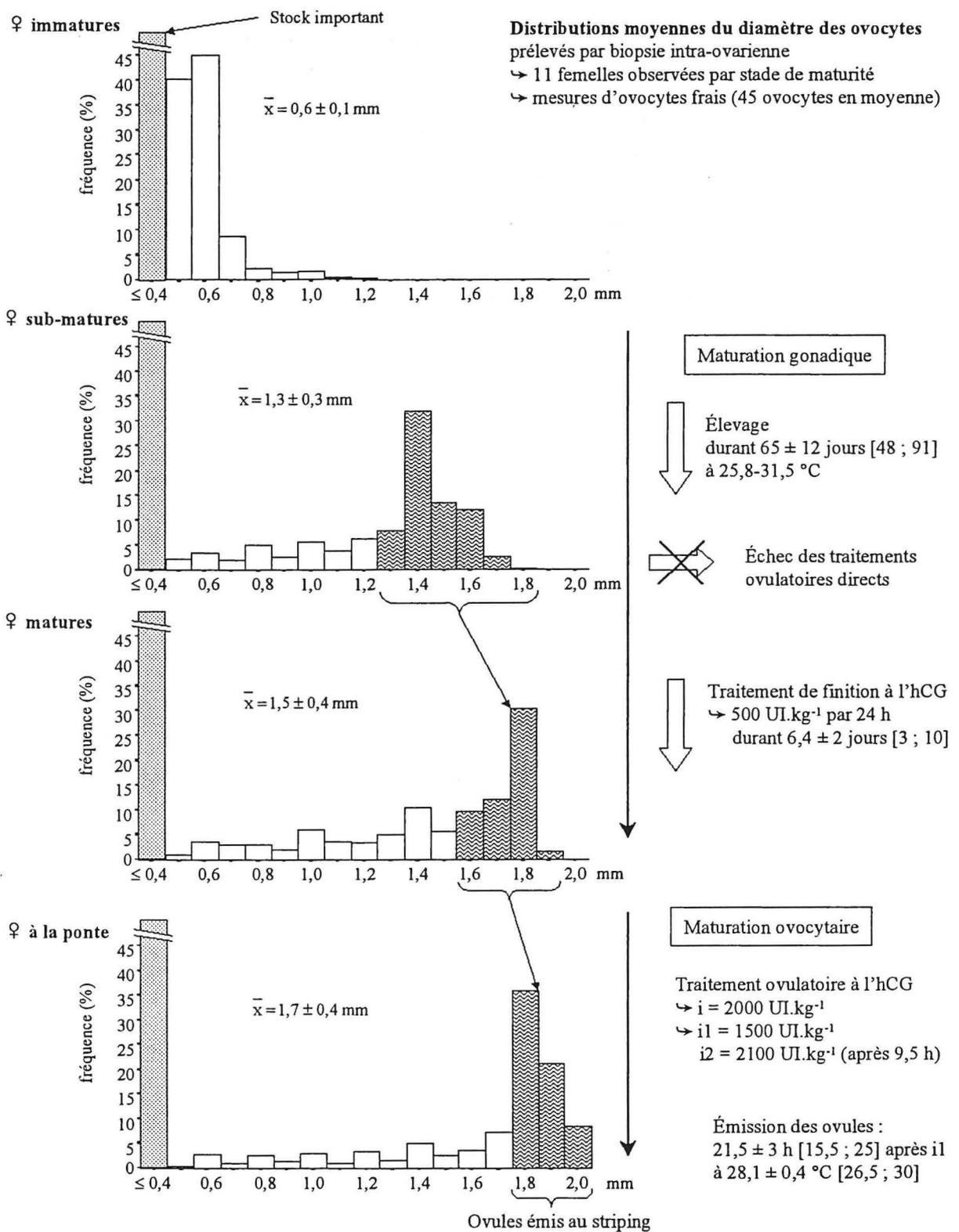


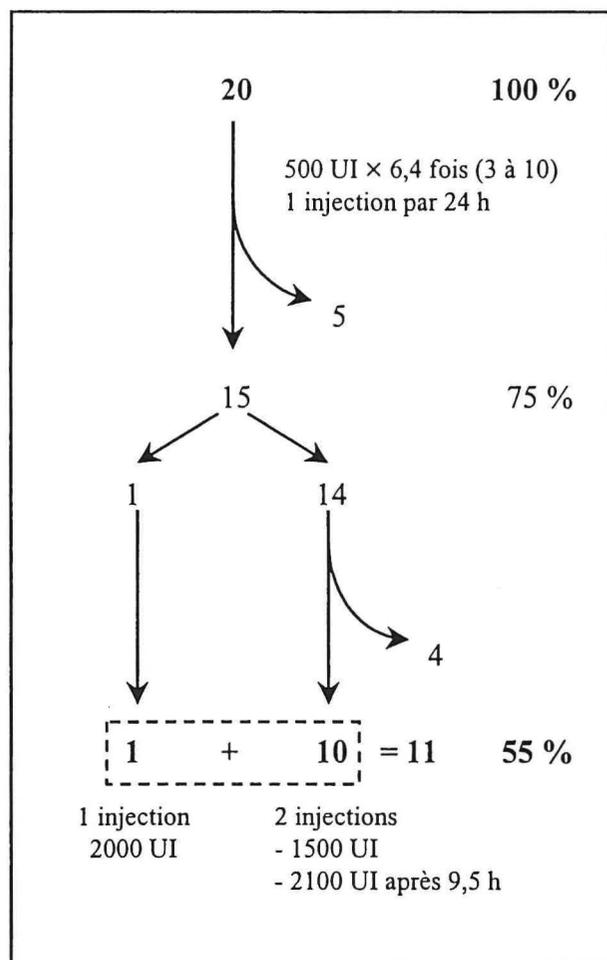
Planche 4 : Dynamique des processus de maturation gonadique et de maturation ovocytaire chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

femelles sélectionnées

phase de finition

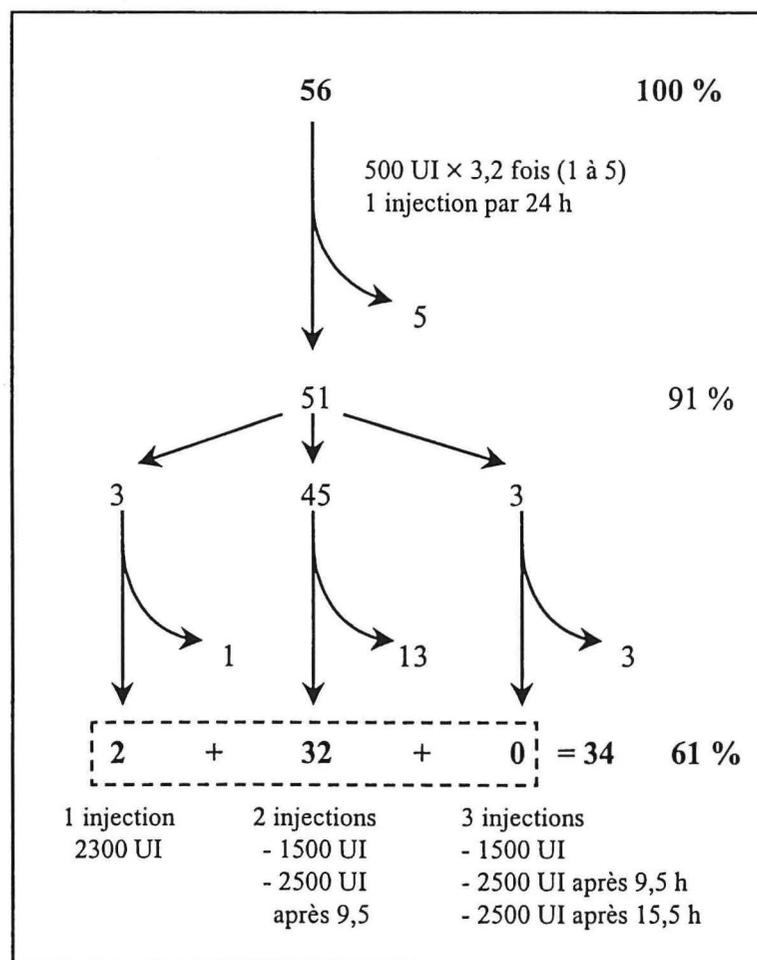
phase ovulatoire
1 - 2 - 3 injections

pontes obtenues



Poissons élevés en étangs

(Doses par kg de poids vif)



Poissons élevés en cages flottantes

Planche 5 : Bilan des traitements progressifs à l'hCG appliqués aux femelles de *P. bocourti* élevées en étangs et en cages flottantes

Tableau 26 : Traitement à l'hCG, direct ou progressif, avec deux injections ovulatoires appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	- 0 injections : 10 femelles - 1 injection : 3 femelles - 2 injections à 24 h d'intervalle : 1 femelle 500 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	i1 : 500 UI après 24 h i2 : 2500 à 2700 UI après 9 h

(*) : Par kg de poids vif.

- Taux d'ovulation : 11 femelles sur 14 traitées (79 %),
- émission des ovules $22 \pm 2,5$ h [19 ; 26,5] après i1,
- température de l'eau : $28,0 \pm 0,4$ °C [26 ; 30].

4.4. INDUCTION DE LA MATURATION OVOCYTAIRE ET DE L'OVULATION CHEZ LES FEMELLES DE *P. HYPOPHthalmus*

4.4.1. Mise au point de traitements à l'hCG sur les poissons élevés en étangs

4.4.1.1. Description des traitements

Un traitement à l'hCG destiné à provoquer l'ovulation a été appliqué sur 14 femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs. Il consiste en deux injections successives (500 et 2500 UI.kg⁻¹) appliquées à 9 h d'intervalle (Tableau 26 et Planche 7, p 165). Dix femelles reçoivent ce traitement directement (traitement direct). Pour quatre autres femelles, le traitement ovulatoire est précédé d'une brève phase de finition comportant une ou deux injections d'hCG à faible dose (500 UI.kg⁻¹), appliquées chacune à 24 h d'intervalle (traitement progressif). Le traitement ovulatoire a induit l'ovulation de 11 femelles au total (79 %), dont sept des dix femelles en traitement direct et quatre sur quatre femelles en traitement progressif. L'émission des ovules intervient en moyenne 22 et 13 h respectivement après la première et la deuxième injection ovulatoire, à la température de 26-30 °C.

Deux autres types de traitement ovulatoire à l'hCG ont été testés. Ils comportent respectivement une injection (2500 UI.kg⁻¹), en traitement direct ou progressif, et trois injections (500 – 1000 – 1500 UI.kg⁻¹) en traitement progressif (Annexe 38 et Annexe 39). Le taux d'ovulation est de 50 % (n = 4) et de 67 % (n = 6) pour respectivement une et trois injections ovulatoires.

4.4.1.2. Effet des traitements sur la taille des ovocytes

A titre d'exemples, les Figure 55 et Figure 56 présentent respectivement l'effet d'un traitement direct et d'un traitement progressif sur la taille des ovocytes, chez deux femelles qui ont correctement ovulé. L'observation de l'état de la vésicule germinative (VG), associée à la mesure des ovocytes, indique que le processus de maturation ovocytaire concerne uniquement les ovocytes de grande taille, dont le diamètre est supérieur ou égal à 1,0 mm. Dans le cas d'un traitement direct appliqué avec succès, la proportion moyenne d'ovocytes de grande taille passe de 71,1 à 92,1 % (P < 0,01) (Figure 57, Annexe 40). Dans le cas d'un traitement progressif, la proportion moyenne d'ovocytes de grande taille passe de 55 à 83,3 % après la phase de finition (P < 0,05) et elle est de 84,4 % après la phase ovulatoire (Annexe 41). Lors du traitement progressif, la phase de finition permet donc d'augmenter la proportion d'ovocytes de grande taille, susceptibles d'entrer en maturation ovocytaire, améliorant ainsi la réceptivité des femelles à l'induction ovulatoire.

Avant traitement, pour les 17 femelles qui ont pondu, le diamètre moyen des ovocytes prélevés par biopsie ovarienne est de 1,0 ± 0,1 mm [0,9 ; 1,2]. Après traitement suivi de l'ovulation, le diamètre moyen des ovules collectés par stripping, et avant hydratation, est de 1,1-1,2 mm.

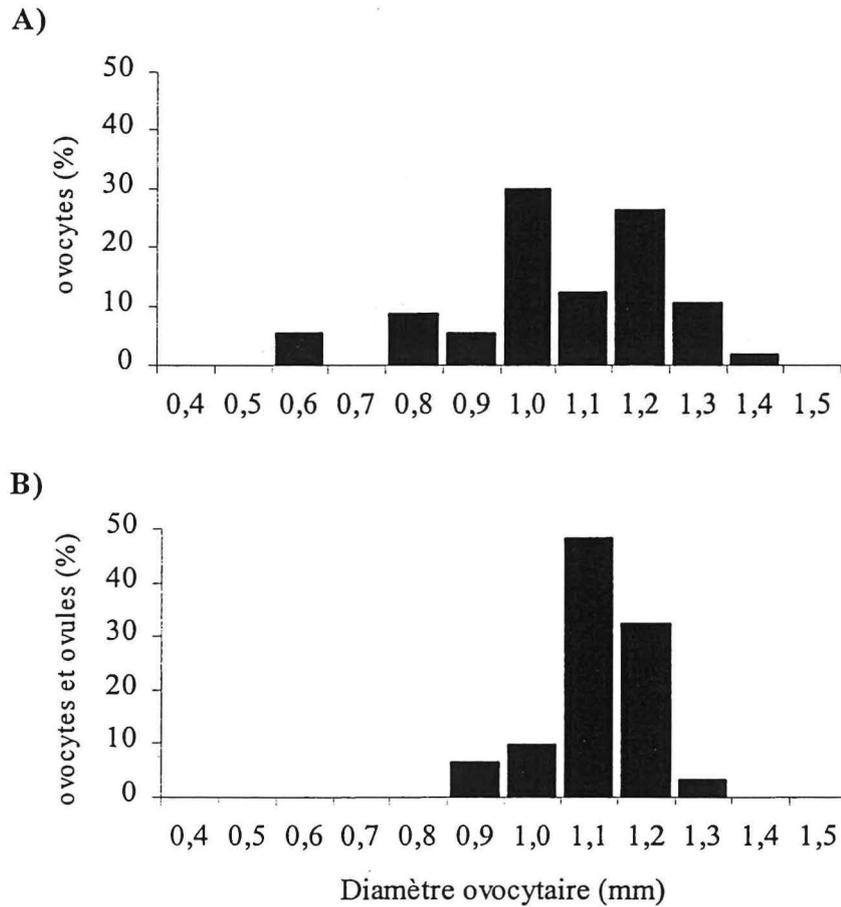


Figure 55 : Effet du traitement ovulatoire direct avec l'hCG sur la taille des ovocytes d'une femelle de *P. hypophthalmus* élevée en étang

A) Avant le traitement ovulatoire (n = 57) ; B) juste avant la collecte des ovules (n = 31). Voir Tableau 26 pour le détail du traitement.

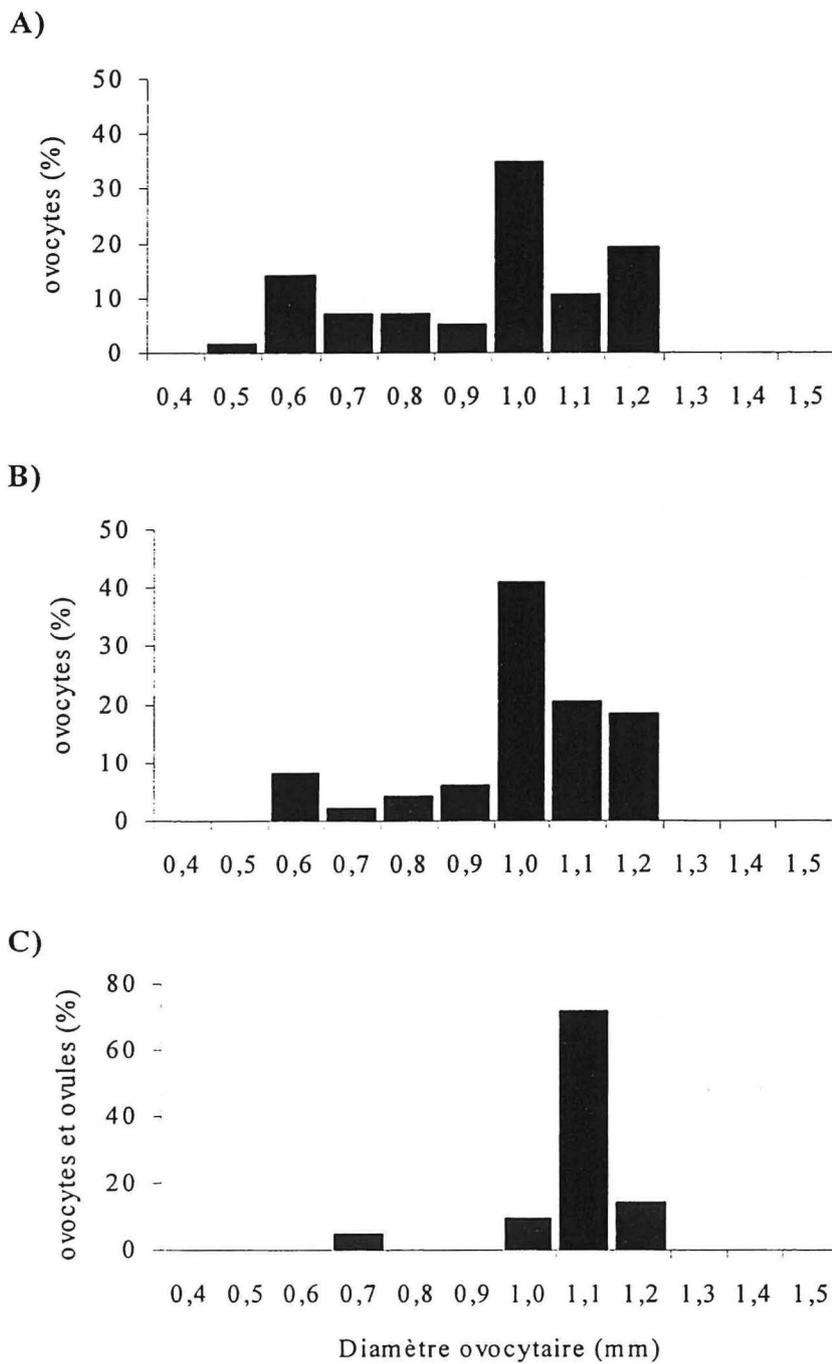
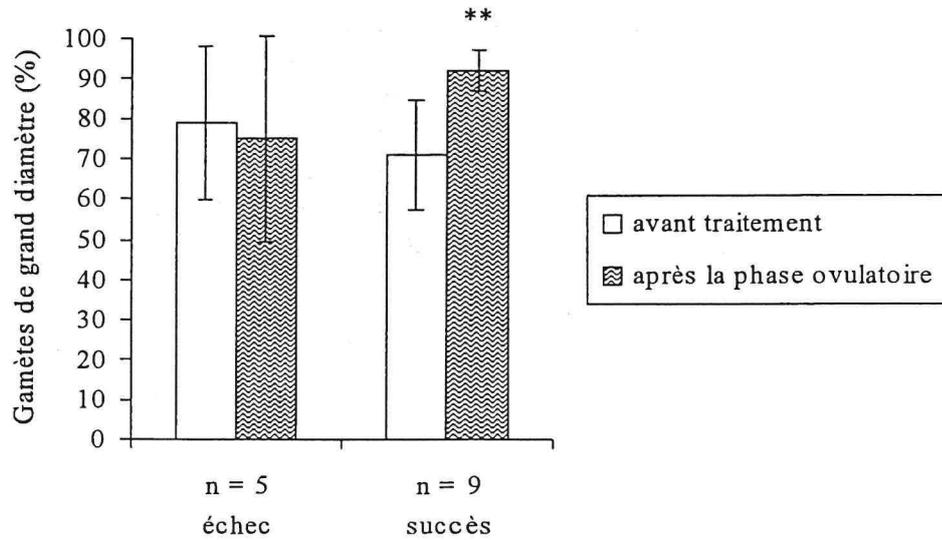


Figure 56 : Effet du traitement progressif à l'hCG sur la tailles des ovocytes d'une femelle *P. hypophthalmus* élevée en étang

A) Avant le traitement de finition (n = 57) ; B) après le traitement de finition (n = 49) ; C) Après le traitement ovulatoire, juste avant la collecte des ovules (n = 21). Voir Tableau 26 pour le détail du traitement.

A)



B)

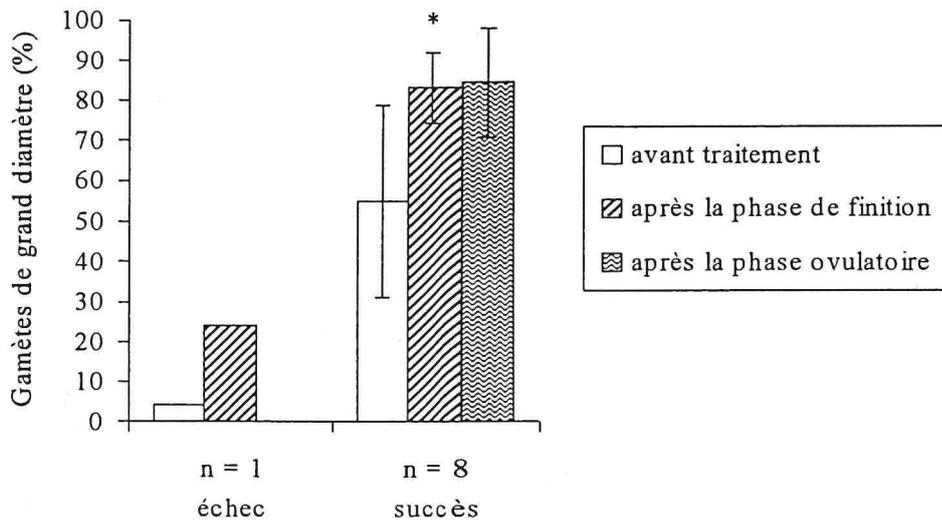


Figure 57 : Evolution de la proportion de gamètes de grande taille ($\geq 1,0$ mm) en réponse aux traitements direct (A) ou progressif (B) à l'hCG chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étang

- Voir Planche 7 (p 165) pour le détail des traitements,
- différences significatives entre les phases successives des traitements pour chaque groupe de femelles : * ($P < 0,05$) ; ** ($P < 0,01$).

4.4.1.3. Facteurs déterminant le résultat des traitements

Le traitement a échoué pour 6 des 23 femelles traitées (26 %). La taille initiale de leurs ovocytes n'est pas différente de celle des femelles qui ont correctement ovulé, tant au niveau du diamètre moyen (1,0 et 1,1 mm) que de la proportion moyenne d'ovocytes de grande taille (66,4 et 63,5 %). En revanche, trois des six femelles qui n'ont pas pondu présentent, avant traitement, environ 20 % d'ovocytes anormaux. Comme chez *P. bocourti*, ces ovocytes sont en voie d'atrésie et ils indiquent probablement que les ovaires sont en phase de régression.

Pour l'ensemble des traitements ovulatoires appliqués, des pontes sont obtenues chez des femelles ayant reçu, ou non, un traitement de finition préalable (Planche 7, p 165). Le taux d'ovulation avec un traitement progressif est toutefois sensiblement plus élevé qu'avec un traitement direct, respectivement de 89 % (n = 9) et 64 % (n = 14). Les cinq femelles qui ont reçu le traitement direct sans succès ont répondu partiellement puisqu'elles présentaient 40 à 75 % d'ovules parmi les gamètes observés, mais, malgré tout, aucun ovule n'a pu être collecté par stripping.

Les traitements ayant tous été réalisés au mois de juillet en 1996, il est pas possible de déterminer l'influence de la saison sur le taux de réussite des traitements.

4.4.1.4. Le processus de maturation ovocytaire

Le processus de maturation ovocytaire a été suivi sur les 11 femelles qui ont correctement ovulé au terme du traitement ovulatoire à deux injections. De la première injection ovulatoire à l'émission de ovules, 3 à 8 biopsies ovariennes (5,1 en moyenne) ont été effectuées.

Les étapes du processus de maturation ovocytaire chez *P. hypophthalmus* sont les mêmes que chez *P. bocourti*, seule change la chronologie du processus. La vésicule germinative (VG) reste en position centrale, voire légèrement décalée, jusqu'à la deuxième injection ovulatoire (Figure 58). La migration de la VG à la périphérie des ovocytes intervient de 18 à 19,5 h en moyenne après la première injection ; la VG éclate ensuite de 19,5 à 20,5 h. Comme chez *P. bocourti*, au contact de l'eau, toute la surface de la membrane pellucide des ovules possède une adhérence forte au substrat. Ce phénomène intervient de 20 à 22,5 h après la première injection, puis il est rapidement suivi de l'émission des ovules, après 22 h en moyenne. La température d'incubation est de 26-30 °C.

Pour le même traitement ovulatoire, à deux injections, le processus de maturation ovocytaire est plus rapide avec un traitement progressif qu'avec un traitement direct ($P < 0,05$) : l'émission des ovules intervient respectivement 20 h (n = 4) et 23,5 h (n = 7) après la première injection ovulatoire. Ce résultat suggère que la phase de finition améliore la réponse au traitement ovulatoire.

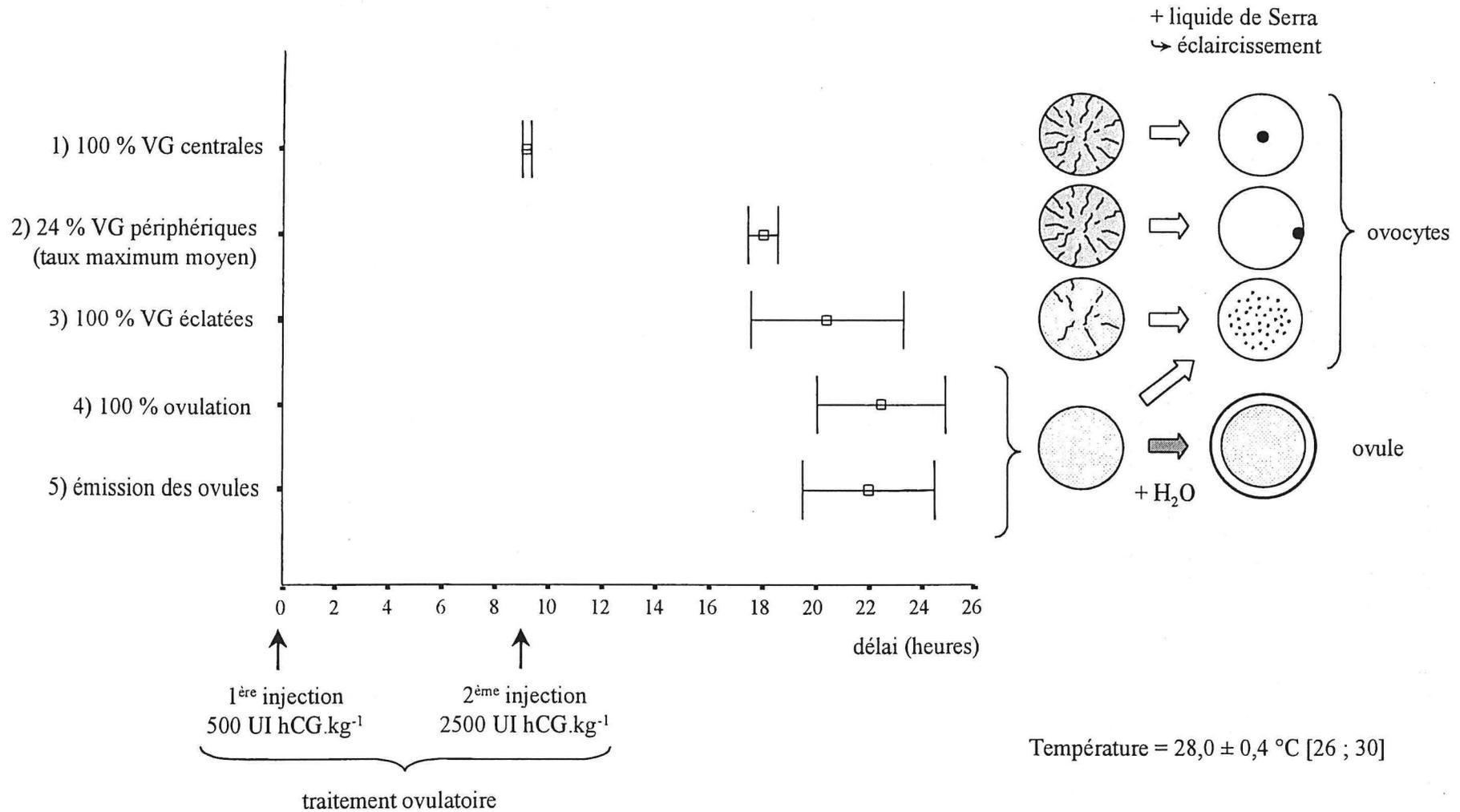


Figure 58 : Etapes du processus de maturation ovocytaire chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs (n = 11)

4.4.2. Application des traitements aux poissons élevés en cages flottantes

4.4.2.1. Description des traitements et résultats obtenus

Les traitements mis au point avec des poissons élevés en étangs ont été appliqués aux poissons élevés en cages flottantes (Planche 7, p 165). Des pontes sont obtenues en employant un traitement à l'hCG direct ou progressif, avec des taux de réussite respectivement de 100 % (n = 5) et de 95 % (n = 39), et un taux global de 95 % (n = 44). Pour le traitement qui comporte deux injections en phase ovulatoire (500 et 2100 UI.kg⁻¹), le taux de réussite est de 100 % (n = 17). Les ovules sont collectés en moyenne 20 et 10 h respectivement après la dernière injection, à la température de 28-30 °C (Tableau 27). Trois autres traitements à l'hCG ont été testés en phase ovulatoire, comportant une, deux ou trois injections, avec un taux de réussite respectivement de 92 % (n = 13), 91 % (n = 11) et 100 % (n = 3) (Annexe 42, Annexe 43, Annexe 45,).

Comme avec les poissons élevés en étangs, la réussite du traitement est principalement conditionnée par la qualité initiale des ovocytes. En 1997, des reproductions ont été obtenues de mars à juillet et le taux d'ovulation ne semble pas influencé par la saison (Figure 59).

Le taux de réussite avec des femelles élevées en cages flottantes est plus élevé que celui obtenu avec des femelles élevées en étangs, respectivement de 95 et de 74 %. Comme pour *P. bocourti*, cette différence est peut-être due au plus grand choix de poissons disponibles en cages flottantes où l'effectif est près de deux fois plus important qu'en étangs. Ainsi, les femelles choisies présentent des ovocytes plus développés et exempts d'ovocytes en atresie. Le meilleur taux de réussite en cages flottantes peut être aussi lié à l'application plus systématique d'un traitement progressif qui représente 89 % des traitements employés, contre seulement 39 % en étangs. Comme chez *P. bocourti*, la provenance de l'hCG ne semble pas intervenir puisque des reproductions sont obtenues en cages flottantes avec l'hormone produite en France ou au Viêt-Nam.

4.4.2.2. Le processus de maturation ovocytaire

Le processus de maturation ovocytaire a pu être suivi avec précision sur 12 femelles en prélevant toutes les heures un échantillon de gamètes par biopsie ovarienne, de 5,5 à 13,5 h après la dernière injection ovulatoire. Les femelles étudiées ont reçu un traitement progressif à l'hCG incluant deux injections en phase de finition (500 UI.kg⁻¹) espacées de 24 h, puis un traitement ovulatoire en deux injections (500 et 2000 UI.kg⁻¹) à 10 h d'intervalle. La température de l'eau durant le traitement était de 28-30 °C.

L'émission d'ovules intervient en moyenne 19 h après la première injection ovulatoire et elle est comprises entre 17,5 et 20,5 h (Figure 60). La proportion de vésicules germinatives (VG) observées en périphérie des ovocytes atteint seulement 7,7 % en moyenne (0 à 35 %), ce stade n'étant pas observé sur 3 des 12 femelles étudiées. Comme chez *P. bocourti*, la migration des VG en périphérie est un processus rapide chez *P. hypophthalmus*, entre le moment où la VG est en position centrale et le moment où elle est éclatée.

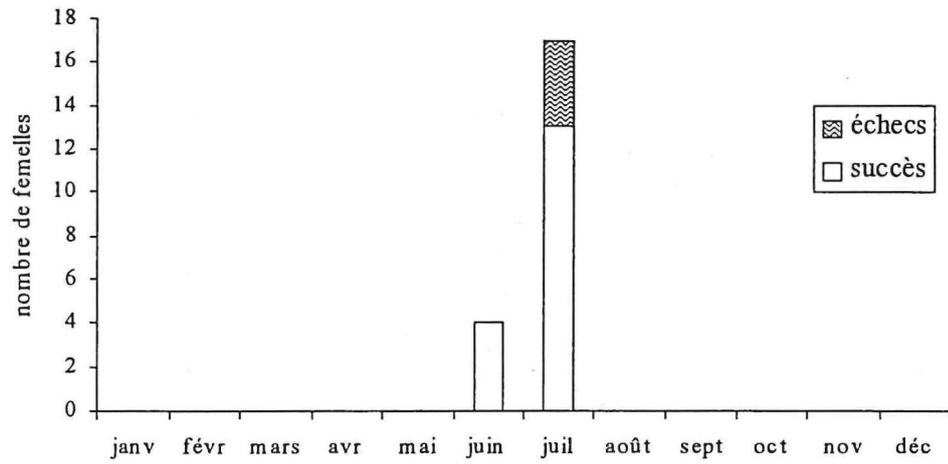
Tableau 27 : Traitement à l'hCG, direct ou progressif, avec deux injections ovulatoires (A) appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	- 0 injections : 3 femelles - 1 injection : 1 femelle - 2 injections à 24 h d'intervalle : 13 femelles 500 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	i1 : 500 UI après 24 h i2 : 2100 [2000 ; 2500] UI après 9-10 h

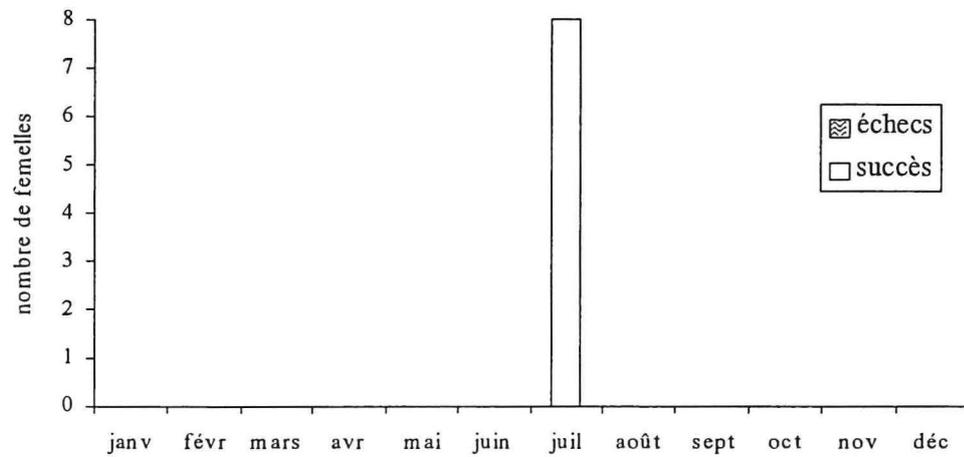
(*) : Exprimées en unités internationales d'hCG par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 17 femelles sur 17 traitées (100 %),
- émission des ovules $20 \pm 2,5$ h [17,5 ; 26,5],
- température de l'eau : 28-30 °C.

A) En étangs en 1996



B) En cages flottantes en 1996



C) En cages flottantes en 1997

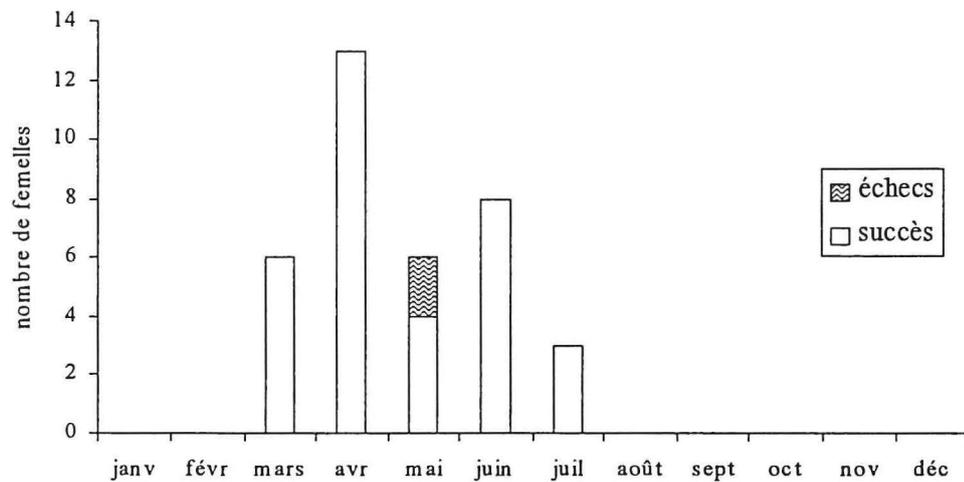


Figure 59 : Résultats de la reproduction induite au cours de l'année chez des femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs et en cages flottantes

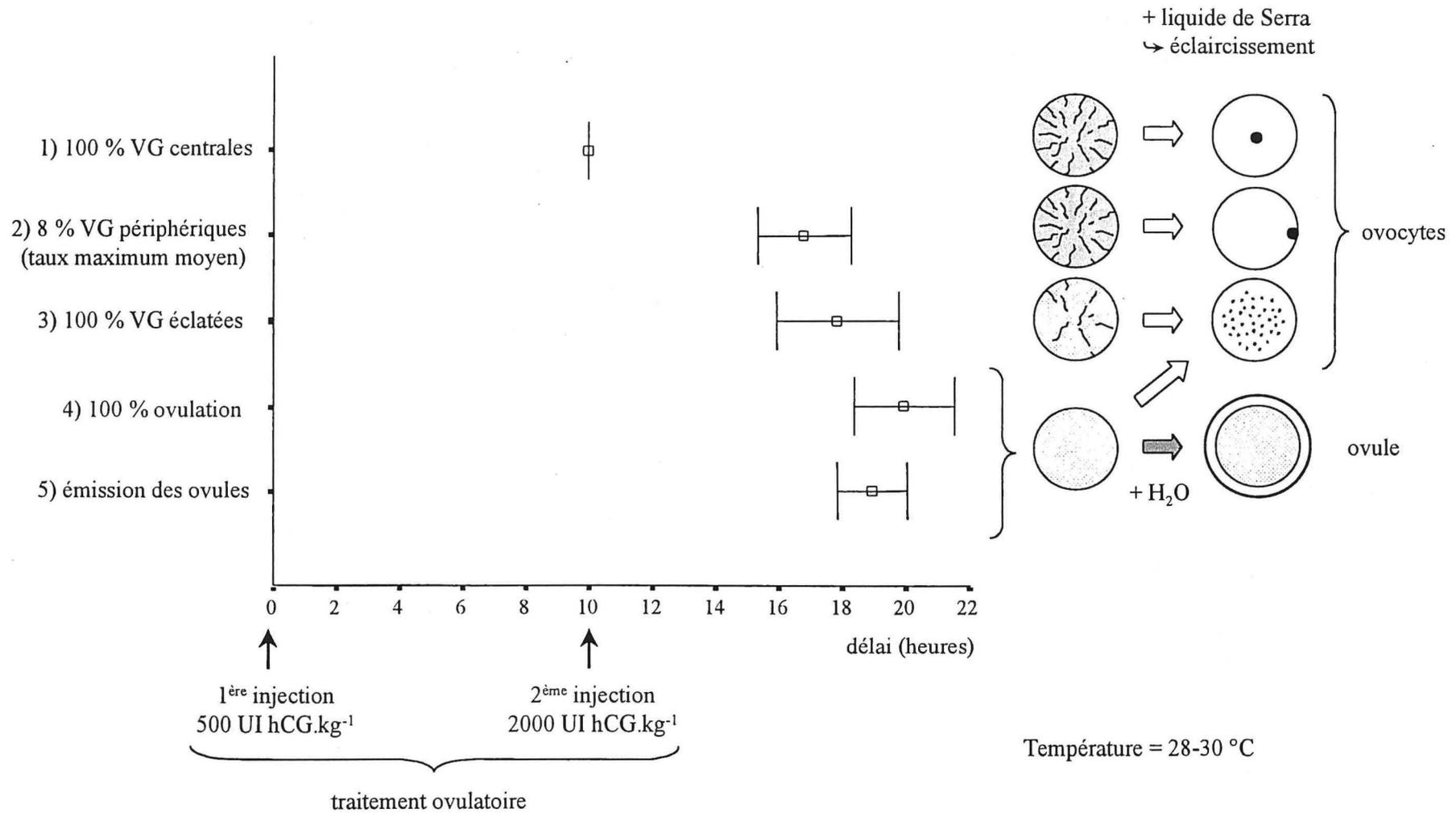


Figure 60 : Etapes du processus de maturation ovocytaire chez des femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes (n = 12)

4.4.3. Détermination de la durée de survie des ovules *in vivo*

4.4.3.1. Matériel et méthodes spécifiques

Les quatre femelles de *P. hypophthalmus* sélectionnées présentent des ovocytes bien développés, dont la valeur modale du diamètre ovocytaire est de 0,9 ou 1,0 mm. Le processus de maturation ovocytaire est induit par un traitement progressif à l'hCG : deux injections de 500 UI.kg⁻¹ à 24 h d'intervalle (traitement de finition), suivi de 500 et 2000 UI.kg⁻¹ à 10 h d'intervalle (traitement ovulatoire). La température de l'eau dans les bacs de traitement est de 28-30 °C. Des échantillons de gamètes sont prélevés toutes les heures durant 8 h, de 5,5 à 13,5 h après la dernière injection ovulatoire. Les prélèvements sont faits par biopsie ovarienne à chaque fois et par striping dès que les ovules sont émis. Les femelles ne sont pas anesthésiées ; pour chaque prélèvement, elles sont capturées et maintenues dans un sac à poisson. Un test de fécondation est réalisé par prélèvement, selon le protocole décrit dans le Tableau 22 (p 130). Le sperme employé pour la fécondation est collecté sur des mâles de *P. hypophthalmus* initialement spermiantes et dont la spermiation est activée par une injection de 2000 UI.kg⁻¹ hCG ; la collecte de sperme est réalisée par striping 14 h après l'injection.

4.4.3.2. Résultats

L'émission des ovules a été observée chez les quatre femelles entre 8,5 et 10,5 h après la deuxième injection et après 8,5 ± 1 h en moyenne. L'émission des ovules intervient juste après l'achèvement du processus de maturation ovocytaire décrit par la Figure 60.

La Figure 61 indique que le taux moyen de larves normales est élevé dès la première émission d'ovules (70,8 %). Il augmente légèrement après 1 h (76,2 %), puis il baisse graduellement jusqu'à 3 h (54,8 %), mais ces évolutions ne sont pas significatives. Il chute en revanche après 4 h (18,6 %, P < 0,01) et il est pratiquement nul après 5 h (0,8 %). Cette évolution reflète essentiellement celle du taux de fécondation (Figure 62) : élevé dès l'émission d'ovules et 1 h après (85,7-87 %), il baisse légèrement après 2 h (76,8 %) et fortement après 4 h (35,9 %, P < 0,05). Après 5 h, le taux de fécondation n'est que de 1,9 %.

Le taux d'éclosion est élevé lors de l'émission des ovules (93,8 %) et il tend à diminuer avec le temps jusqu'à 5 h après l'émission (73,3 %), mais cette évolution n'est pas significative (Figure 63). Le taux de larves anormales est faible lors de l'émission des ovules (12,6 %) et il l'est encore davantage 1 h après (4,2 %) (Figure 64). Il augmente ensuite progressivement jusqu'à 5 h (45,5 %). Ces évolutions ne sont cependant pas significatives.

La qualité des ovules est relativement bonne et homogène de la première émission d'ovules à 1 h après, avec un taux de larves normales compris entre 50 et 94,6 %. La réponse devient ensuite très variable, avec, 2 h après la première émission d'ovules, un taux de larves normales variant de 16,4 à 93 %, reflétant la variabilité du taux de fécondation (42,1-97 %), du taux d'éclosion (58,2-100 %) et du taux de larves anormales (1,1-33,3 %).

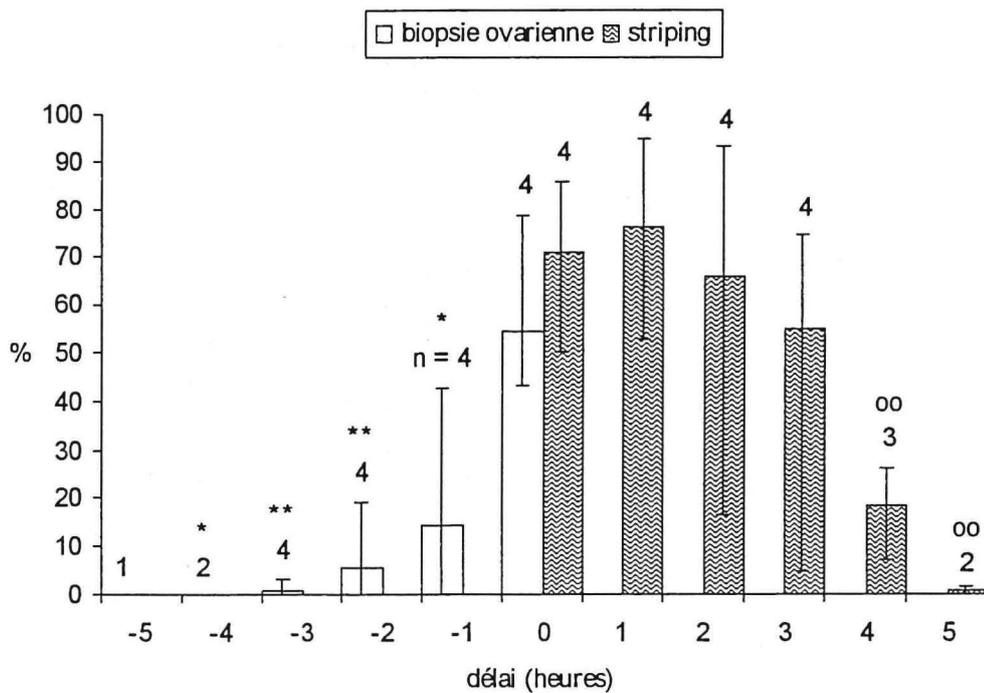


Figure 61 : Influence du temps de latence sur le taux de larves normales relatif au nombre d'ovules collectés chez *P. hypophthalmus*

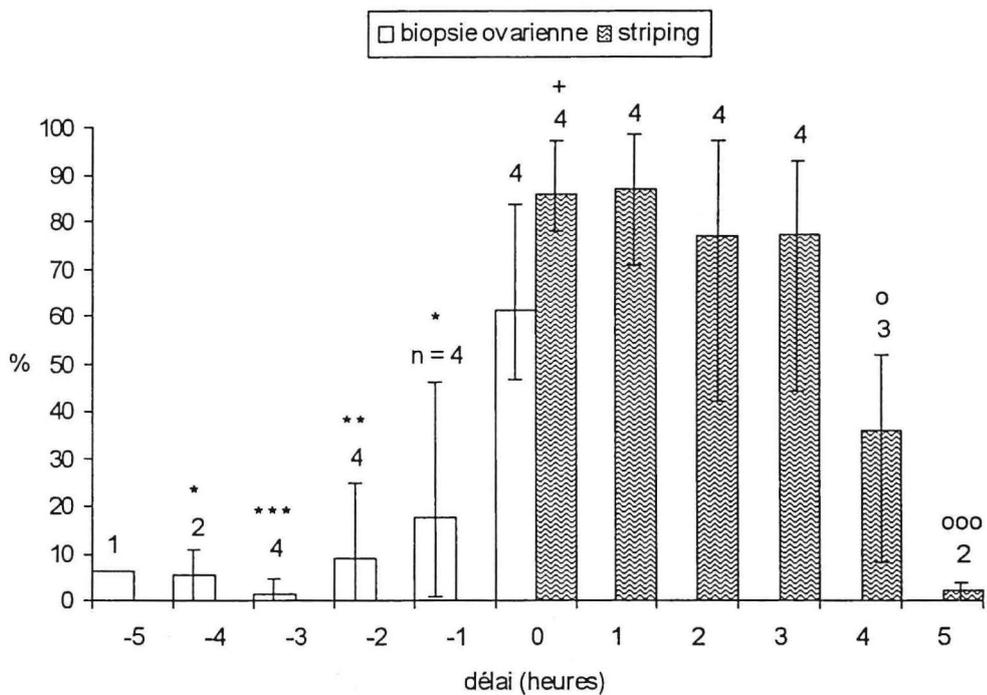


Figure 62 : Influence du temps de latence sur le taux de fécondation relatif au nombre d'ovules collectés chez *P. hypophthalmus*

- Valeurs moyennes \pm valeurs extrêmes (figures 61 et 62),
- Différences significatives avec le délat T0 pour les échantillons d'ovules prélevés par biopsie ovarienne (*) ou par striping (o) ; différence significative entre le prélèvement par biopsie et par striping à T0 (+) ; * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,01$; *** : $P < 0,001$.

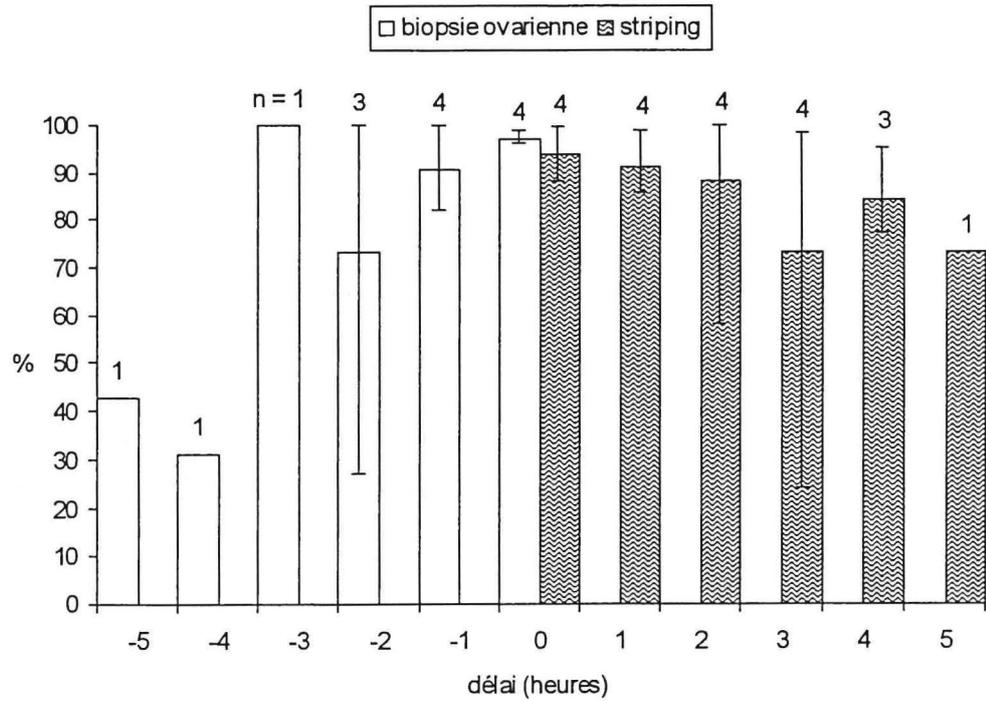


Figure 63 : Influence du temps de latence sur le taux d'éclosion relatif au nombre d'œufs fécondés chez *P. hypophthalmus*

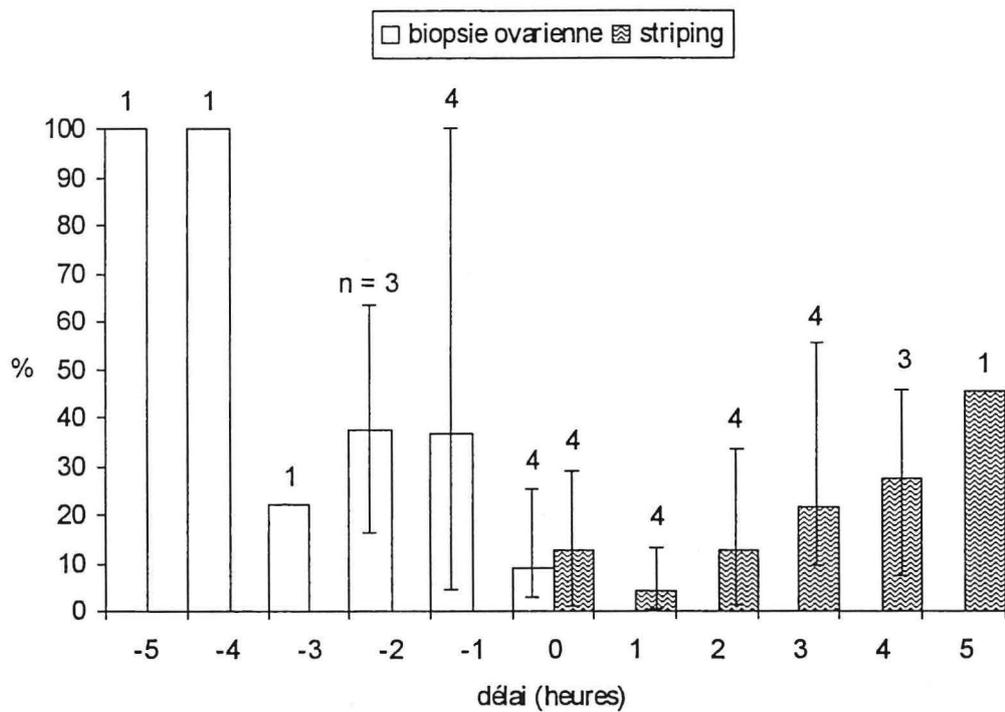


Figure 64 : Influence du temps de latence sur le taux de larves anormales relatif au nombre de larves écloses chez *P. hypophthalmus*

Valeurs moyennes \pm valeurs extrêmes (figures 63 et 64).

Le prélèvement de gamètes par biopsie ovarienne indique que des ovules sont fécondables avant l'achèvement du processus de maturation ovocytaire, bien que ceux-ci ne puissent être émis au striping. Le taux de fécondation s'accroît rapidement au cours des trois heures qui précèdent l'émission d'ovules, de 1,1 à 61,2 % (Figure 62). Outre un faible taux de fécondation 4 et 5 h avant l'émission d'ovules, le taux d'éclosion est également faible (42,9-31,3 %) et toutes les larves écloses sont anormales (Figure 63 et Figure 64). Les données qui suivent l'émission des ovules ne sont pas montrées pour les prélèvements par biopsie ovarienne, mais l'évolution est similaire à celle des ovules prélevés par striping. Le taux de fécondation est toutefois globalement plus faible avec les ovules collectés par biopsie ovarienne que par striping, comme au moment de la première émission d'ovules, avec respectivement 61,2 et 85,7 % ($P < 0,05$).

Enfin, des données sont manquantes au cours des deux premières et deux dernières heures du suivi (relatif au moment de la première émission d'ovules), pour les femelles dont l'émission des ovules est intervenue respectivement plutôt en début ou en fin de suivi.

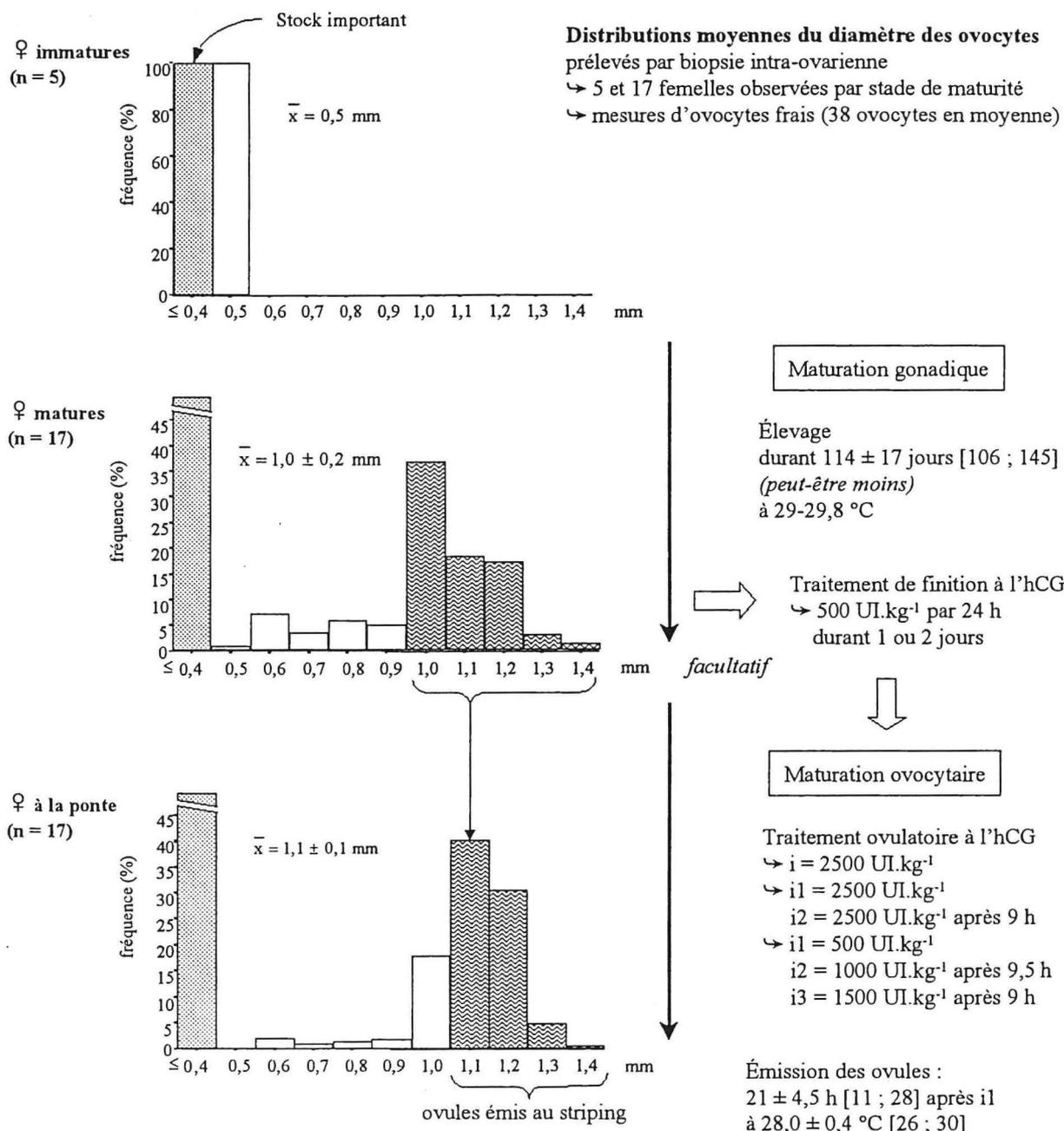
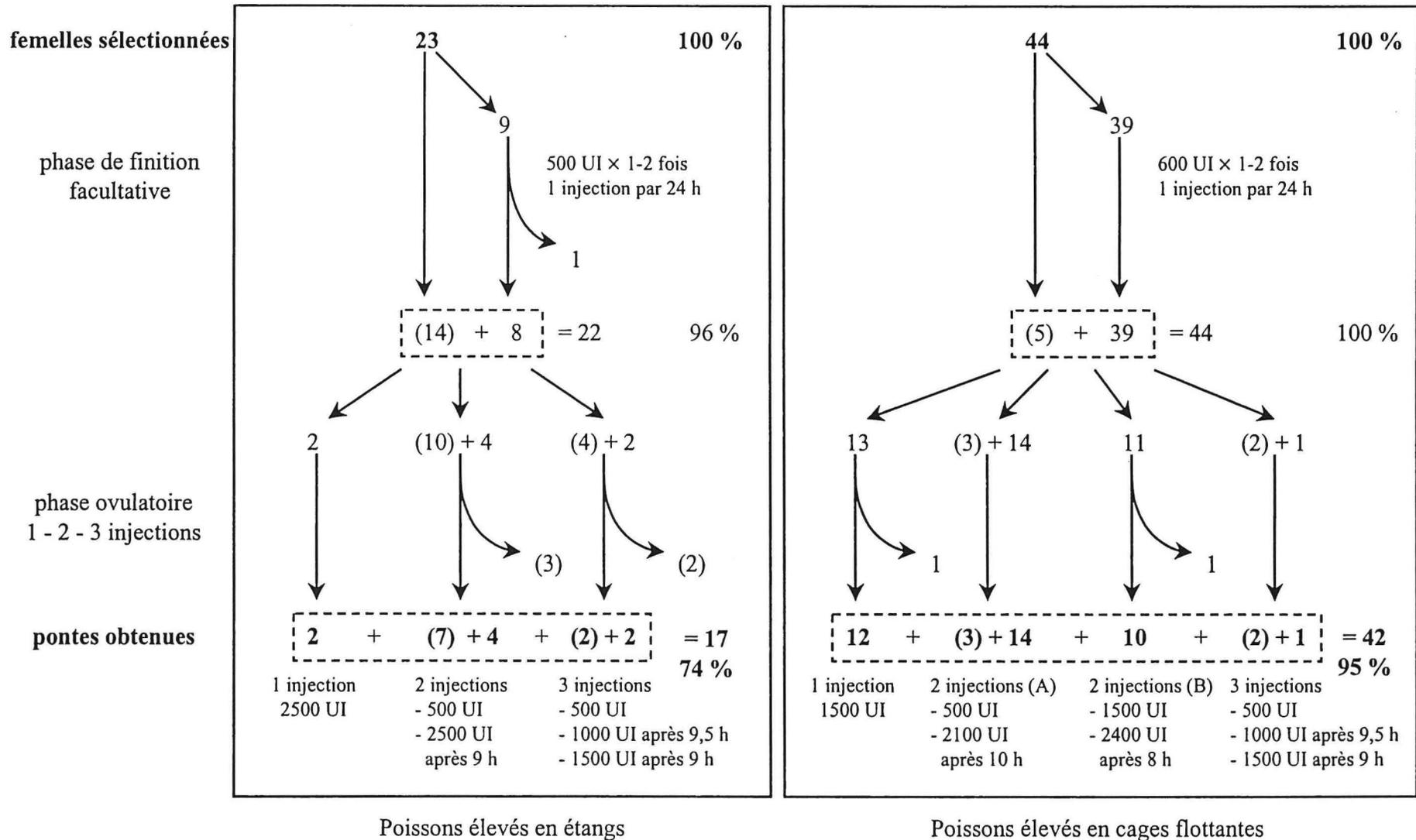


Planche 6 : Dynamique des processus de maturation gonadique et de maturation ovocytaire chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs



(n) : femelles recevant un traitement direct, sans phase de finition, doses par kg de poids vif.

Planche 7 : Bilan des traitements à l'hCG appliqués aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs et en cages flottantes

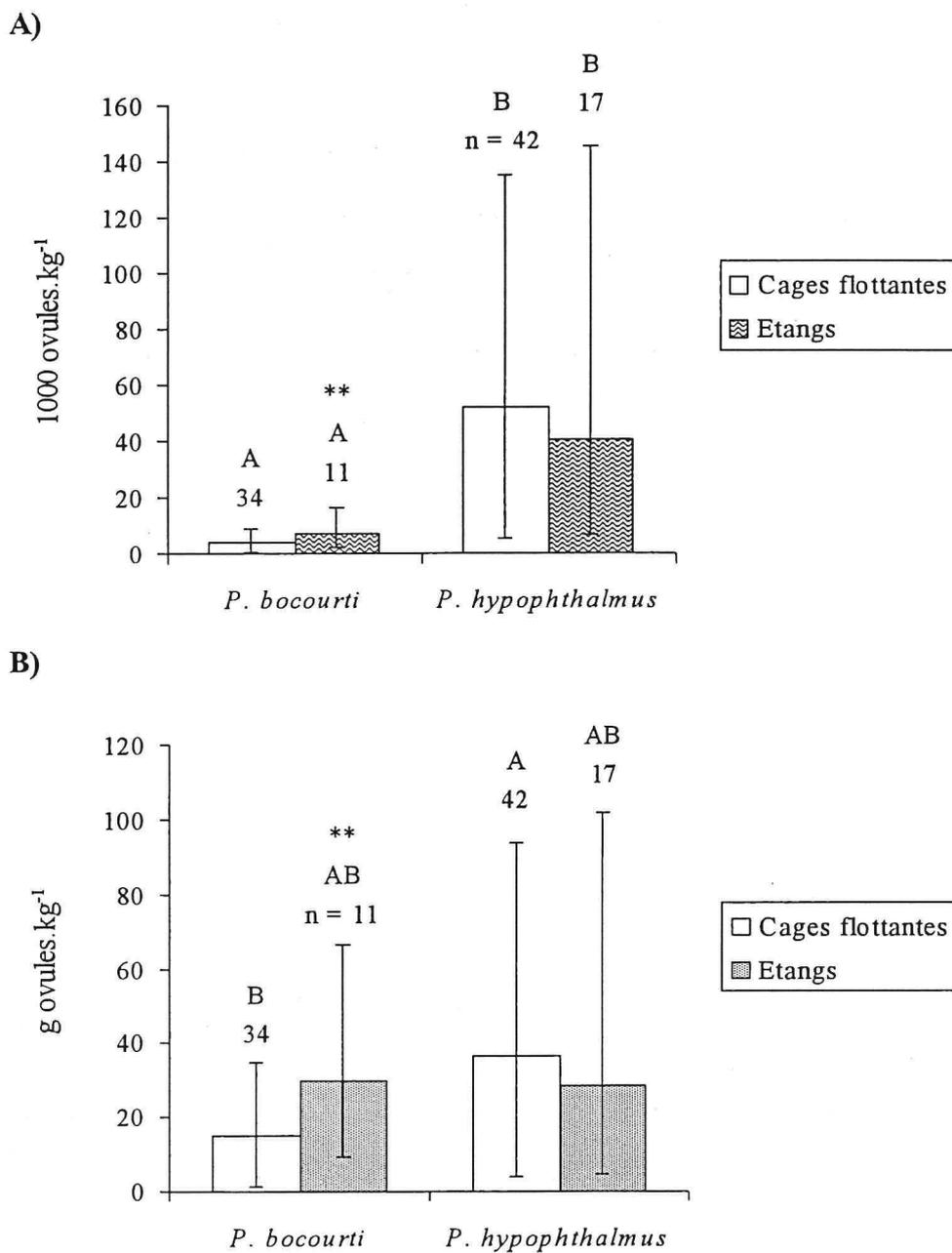


Figure 65 : Fécondité relative (A) et poids de ponte par kg de poids vif (B) en fonction de l'espèce et du milieu d'élevage

- n : nombre de femelles,
- valeurs moyennes \pm valeurs extrêmes,
- différences significatives entre femelles d'une même espèce : ** (P < 0,01),
- différences significatives entre les quatre groupes de femelles : A, B, AB (P < 0,01 en figure A ; P < 0,0001 en figure B).

4.5. LA FECONDITE DE *P. BOCOURTI* ET DE *P. HYPOPTHALMUS*

4.5.1. Fécondité relative dans les deux milieux d'élevage

La fécondité des poissons correspond au nombre d'ovules qui vont être émis à partir d'un stock d'ovocytes bien développés (post-vitellogéniques), en une ou plusieurs pontes au cours d'une saison de reproduction (Kartas et Quignard, 1984). Elle est déterminée à partir des ovaires entiers, en effectuant un comptage total ou partiel des ovocytes appartenant au stade le plus avancé. Cette méthode nécessite le sacrifice des poissons étudiés, ce qui n'a pas été possible ici. La fécondité a donc été déterminée, pour chaque ponte, à partir de la quantité d'ovules collectés par stripping lors des reproductions artificielles, en multipliant le poids de ponte par le nombre moyen d'ovules par gramme d'ovules : 251 et 1437 respectivement chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* (Annexe 45). La fécondité est dite absolue ou relative suivant qu'elle est exprimée par femelle ou bien par kilogramme de poids vif de la femelle ayant pondu. Cette méthode qui n'implique pas le sacrifice des poissons géniteurs a également été employée par Legendre (1986) pour déterminer la fécondité de *Heterobranchus longifilis*. Il faut toutefois noter que le nombre d'ovules ainsi collectés est généralement inférieur au nombre d'ovocytes bien développés, cette seconde méthode fournit donc une fécondité apparente inférieure à la fécondité réelle.

La fécondité relative est globalement très variable : de $0,4 \cdot 10^3$ à $16,7 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹ chez *P. bocourti* et de $5,5 \cdot 10^3$ à $145,7 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹ chez *P. hypophthalmus* (Figure 65.A, Annexe 46). En cages flottantes et en étangs, le coefficient de variation de la fécondité relative est de 63,2 et 58,1 % chez *P. bocourti* et de 62 et 88,7 % chez *P. hypophthalmus*.

La fécondité relative chez *P. bocourti* est en moyenne de 96,7 % plus élevée en étangs qu'en cages flottantes ($P < 0,01$), respectivement de $7,4 \cdot 10^3$ et $3,8 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹. C'est l'inverse chez *P. hypophthalmus*, avec une fécondité relative moyenne 28 % fois supérieure en cages flottantes qu'en étangs, respectivement de $52,1 \cdot 10^3$ et $40,7 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹, mais cette différence n'est pas significative.

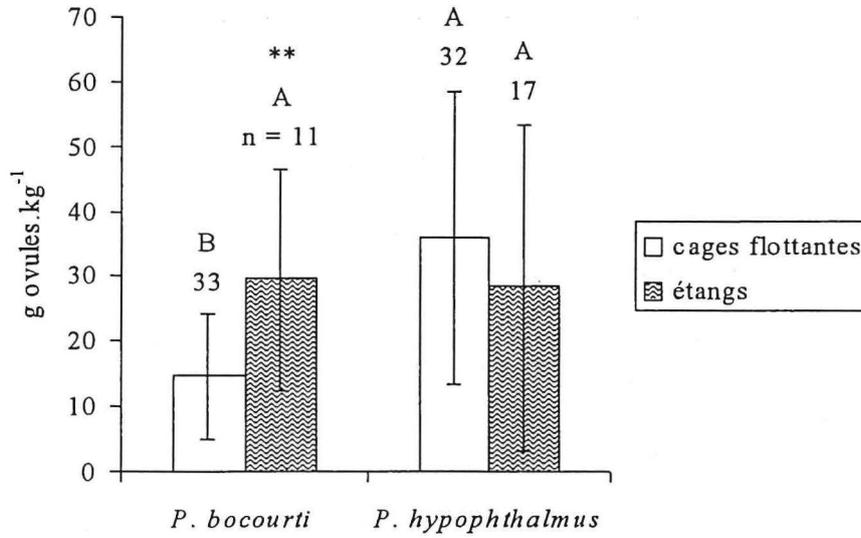
Le poids de ponte de *P. hypophthalmus* est 2,4 fois plus élevé que celui de *P. bocourti* en cages flottantes ($P < 0,05$), respectivement de 36,3 et 15,0 g.kg⁻¹ (Figure 65.B). En revanche, en étangs, le poids de ponte de *P. bocourti* est faiblement supérieur à celui de *P. hypophthalmus* (+ 4,2 %), respectivement de 29,5 et 28,3 g.kg⁻¹, mais cette différence n'est pas significative. La fécondité relative de *P. hypophthalmus* est en moyenne nettement supérieure à celle de *P. bocourti* dans les deux milieux d'élevage : de 13,7 fois en cages flottantes et de 5,5 fois en étangs ($P < 0,05$). Ces différences importantes sont, en partie, liées à la différence de poids unitaire des ovules. Le poids moyen d'un ovule de *P. hypophthalmus* est en effet 5,7 fois inférieur à celui de *P. bocourti*, respectivement de 0,70 et 3,98 mg. Enfin, la fécondité absolue atteint $1,00 \cdot 10^6$ ovules chez *P. hypophthalmus* (femelle de 7,9 kg) et $0,10 \cdot 10^6$ ovules chez *P. bocourti* (femelle de 8,5 kg).

4.5.2. Facteurs déterminants la fécondité

4.5.2.1. L'influence des traitements hormonaux

En considérant séparément les résultats obtenus en cages flottantes et en étangs, la fécondité relative de *P. bocourti* n'est pas corrélée avec la durée de la phase de finition.

A)



B)

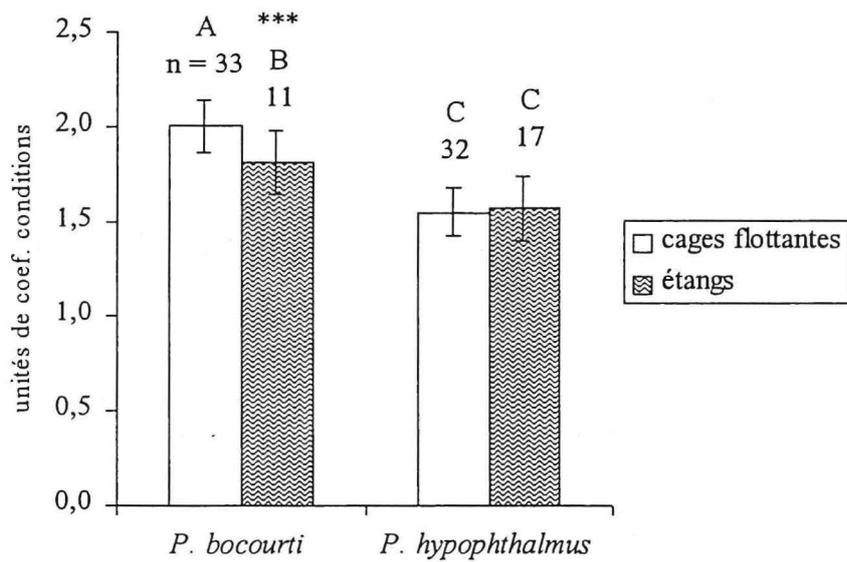


Figure 66 : Poids de ponte par kg de poids vif (A) et coefficient de condition (B) des femelles qui ont pondu en fonction de l'espèce et du milieu d'élevage

- n : nombre de femelles,
- différences significatives entre femelles d'une même espèce : ** (P < 0,01) ; *** (P < 0,001),
- différences significatives entre les quatre groupes de femelles : A, B, C (P < 0,001).

En revanche, la fécondité plus élevée de *P. bocourti* en étangs est associée avec une phase de finition deux fois plus longue qu'en cages flottantes, de 6,4 et 3,2 jours en moyenne ($P < 0,05$). Chez *P. hypophthalmus*, la fécondité relative n'est pas significativement différente avec ou sans phase de finition préalable, dans les deux milieux d'élevage.

Pour les deux espèces, la fécondité relative ne diffère pas non plus avec le nombre d'injections appliquées durant la phase ovulatoire (une, deux ou trois injections). Enfin, la fécondité n'est pas différente, pour chaque année, selon les mois de ponte.

4.5.2.2. L'influence de la morphologie des poissons

Pour les deux espèces et dans chaque milieu d'élevage, la fécondité absolue est indépendante du poids vif et de la longueur totale des poissons. En revanche, en cages flottantes uniquement, la fécondité relative est corrélée négativement avec le coefficient de condition chez les femelles de *P. bocourti* ($r = - 0,36$; $p < 0,05$), et positivement chez les femelles de *P. hypophthalmus* ($r = 0,47$; $p < 0,01$). Compte tenu de ces faibles coefficients de corrélations, il ne s'agit que de tendances.

Le poids de ponte par kg chez *P. bocourti* est deux fois plus élevé en étangs qu'en cages flottantes ($P < 0,01$; Figure 66.A). Cette différence est associée à un coefficient de condition de 9,4 % plus faible en étangs qu'en cages flottantes, respectivement de 1,82 et 2,01 ($P < 0,001$; Figure 66.B). Le coefficient de condition moyen de *P. hypophthalmus* est en revanche très proche dans les deux milieux d'élevage, respectivement de 1,55 et 1,57 en cages flottantes et en étangs.

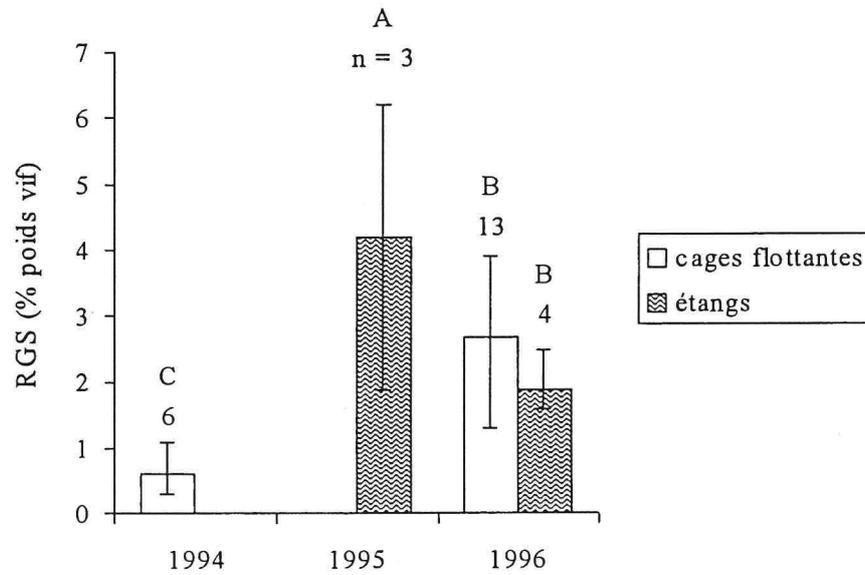
4.5.2.3. Influence de la composition corporelle chez *P. bocourti*

De 1994 à 1996, des ovaires ont pu être prélevés et pesés sur des femelles de *P. bocourti* mortes accidentellement, suite à des manipulations lors d'inventaires ou d'inductions de la reproduction. Les résultats présentés concernent des femelles en cours de maturation (i.e. ovocytes développés). Sur ces mêmes poissons, la présence de tissus adipeux péri-viscéral a été constatée et ces dépôts adipeux ont également été pesés. Ces deux mesures permettent de calculer respectivement le rapport gonado-somatique (RGS) et le rapport adipo-somatique (RAS), exprimés en pourcentage du poids vif (Annexe 47).

Le RGS moyen est initialement faible puis qu'il n'est que de 0,6 % en 1994 (Figure 67.A). Il augmente par la suite pour atteindre notamment 2,7 % en moyenne chez les femelles élevées en cages flottantes en 1996, soit une augmentation de 4,5 fois en deux ans. Dans le même temps, le RAS a diminué de près de moitié, en passant de 12,4 à 6,8 % (Figure 67.B). Chez les femelles élevées en étangs, le RGS et le RAS ont évolué de la même façon qu'en cages flottantes, sans qu'il y ait de différences significatives entre les deux milieux d'élevage en 1996.

Chez les femelles de *P. bocourti*, le RGS tend à augmenter alors que le RAS diminue, et ce de façon significative en cages flottantes ($r = - 0,49$; $P < 0,05$) (Figure 68). Le RGS de ces poissons tend à augmenter avec le poids vif ($r = 0,51$; $p < 0,05$), mais poids vif et RAS sont indépendants. Par ailleurs, le RGS le plus élevé (6,2 %) a été observé chez une femelle élevée en étang et il était associé avec le RAS le plus faible observé (2,6 %).

A)



B)

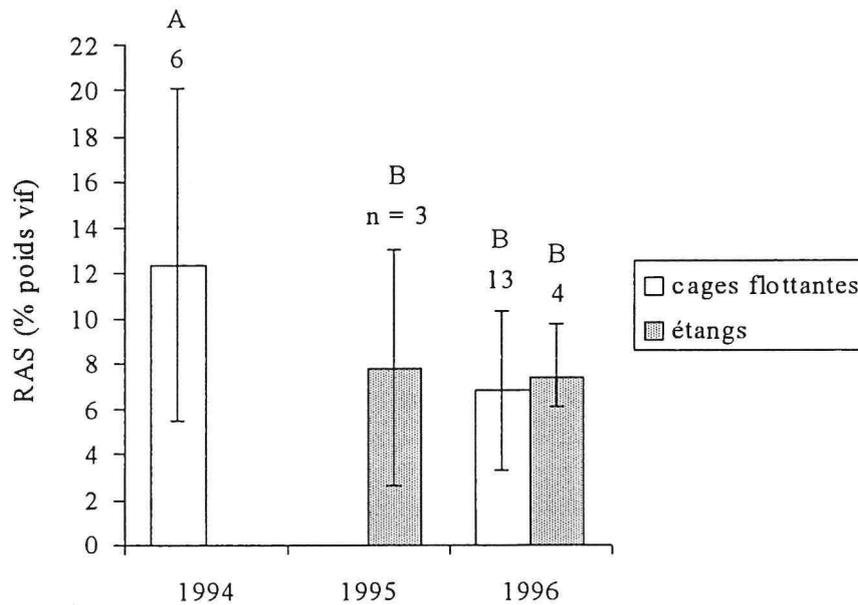


Figure 67 : Développement des ovaires (A) et engraissement (B) chez les femelles *P. bocourti* sexuellement matures

- RGS : rapport gonado-somatique,
- RAS : rapport adipo-somatique (graisse périviscérale),
- valeurs moyennes \pm valeurs extrêmes,
- n : nombre de femelles,
- différences significatives entre les quatre groupes de femelles : A, B, C ($P < 0,05$).

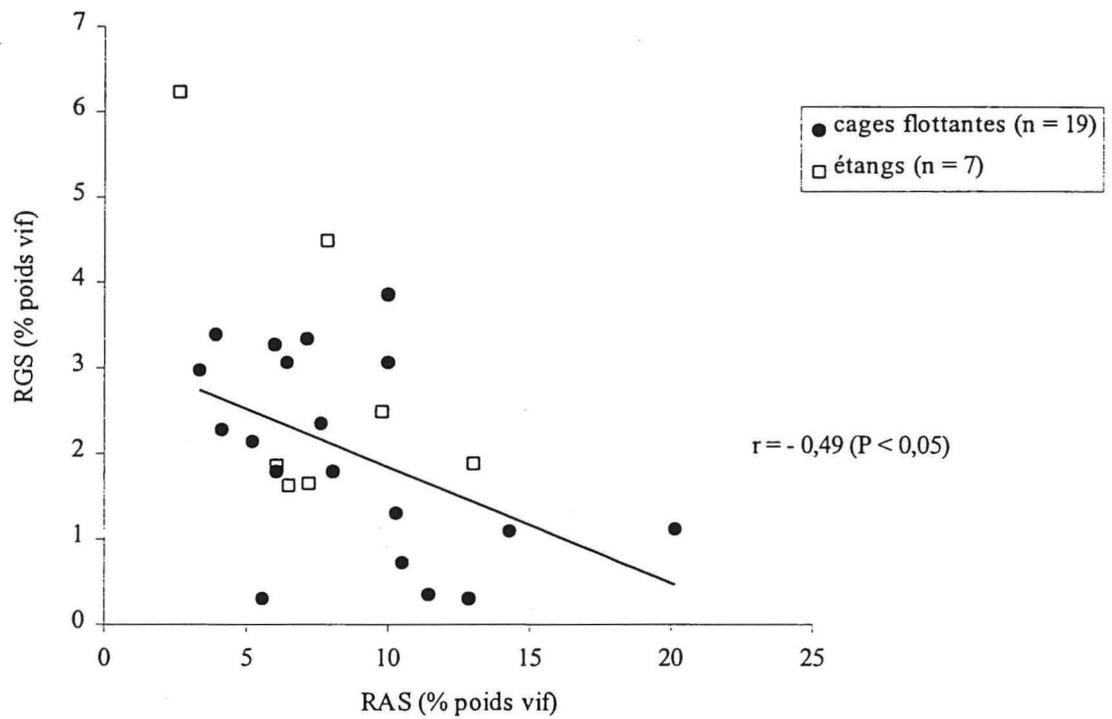


Figure 68 : Relation entre le développement des ovaires et l'engraissement des femelles de *P. bocourti* dans les deux milieux d'élevage

- RGS : rapport gonado-somatique,
- RAS : rapport adipo-somatique (graisse périviscérale),
- Corrélation déterminée avec les poissons élevés en cages flottantes.

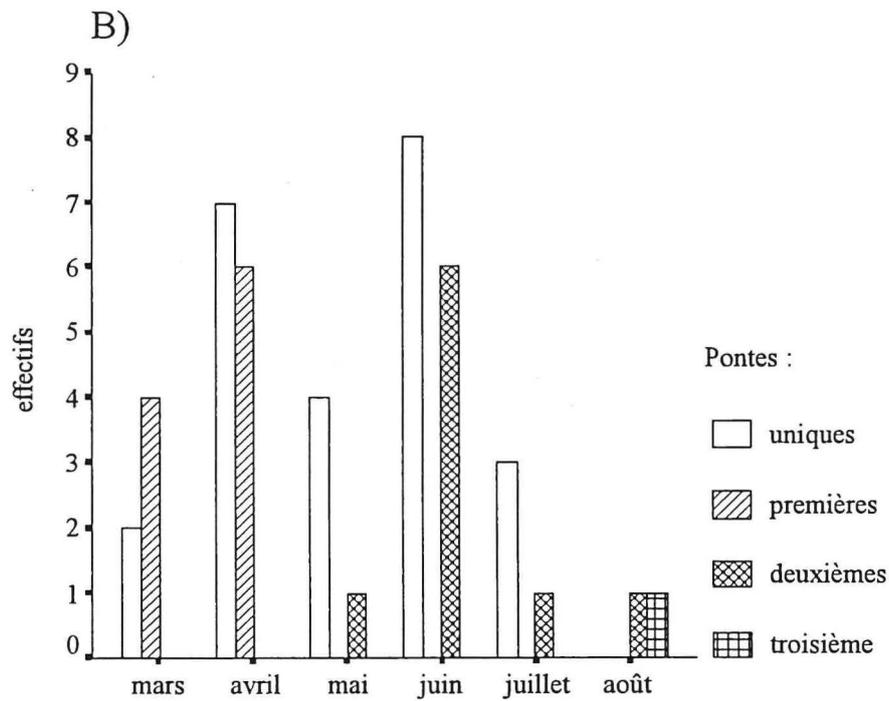
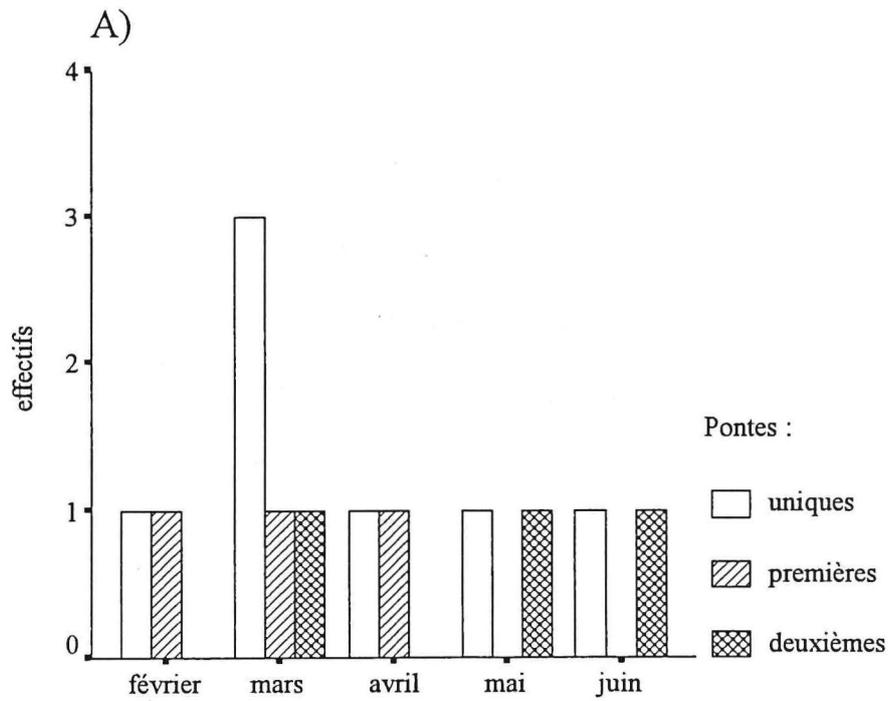


Figure 69 : Fréquence des pontes obtenues chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs en 1996 (A) et chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes en 1997 (B)

4.5.3. Le cas des pontes multiples

4.5.3.1. Fréquence des secondes pontes

Pour la majorité des femelles étudiées, la ponte n'est obtenue qu'une seule fois par an chez les deux espèces. Une seconde ponte a toutefois été obtenue chez 30 % des *P. bocourti* élevés en étangs en 1996 (n = 10) et chez 27 % des *P. hypophthalmus* élevés en cages flottantes en 1997 (n = 34). Le plus souvent, la première et la seconde ponte interviennent respectivement durant la première et la seconde moitié de la saison de reproduction (Figure 69). La saison de reproduction étudiée dure six mois chez *P. hypophthalmus*, et, parmi les femelles qui pondent durant les deux premiers mois (mars-avril), 52 % vont pondre une seconde fois (n = 19), entre le mois de mai et le mois d'août. Le délai moyen entre la première et la seconde ponte est de huit et dix semaines, respectivement chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*.

La première ponte est induite par un traitement progressif chez les deux espèces, comprenant une phase de finition de cinq à neuf jours chez *P. bocourti* et de un ou deux jours chez *P. hypophthalmus*. La phase ovulatoire comprend deux injections chez *P. bocourti* et une ou deux injections chez *P. hypophthalmus*. La seconde ponte est induite de façon similaire pour les deux espèces, à l'exception d'une femelle de *P. bocourti* qui reçoit un traitement ovulatoire direct à trois injections (500 – 2400 – 2400 UI.kg⁻¹).

4.5.3.2. Fécondité des secondes pontes

Chez *P. bocourti*, le poids moyen des ovules collectés lors de la seconde ponte ne représente que 16,4 % de celui de la première ponte, respectivement 8,7 et 52,9 g.kg⁻¹ (P < 0,05) (Figure 70, Annexe 48, Annexe 49) En revanche, chez *P. hypophthalmus*, le poids des ovules collectés lors de la seconde ponte est de 75,3 % supérieur à celui de la première ponte, respectivement de 82,9 et 47,3 g.kg⁻¹ (P < 0,01).

Le poids des ovules collectés lors de la première ponte est proche de celui des pontes uniques chez *P. hypophthalmus*. En revanche, chez *P. bocourti*, le poids moyen des ovules collectés lors de la première ponte est 2,7 fois plus élevé que celui des pontes uniques, respectivement de 52,9 et 19,5 g.kg⁻¹ (P < 0,001).

La fécondité relative cumulée des deux pontes successives dépasse celle des pontes uniques, obtenues la même année et dans les mêmes conditions d'élevage, de 3,2 fois pour *P. bocourti* (P < 0,05) et de 2,5 fois pour *P. hypophthalmus* (P < 0,001). La fécondité absolue cumulée atteint 2,29.10⁶ ovules chez *P. hypophthalmus* (femelle de 7,8 kg) et 0,11.10⁶ ovules chez *P. bocourti* (femelle de 8,0 kg).

4.5.3.3. Autres observations

Chez les deux espèces, les femelles qui pondent pour la première fois de l'année ne se distinguent pas des femelles qui pondent une seule fois, au niveau du poids vif, de la longueur totale et du coefficient de condition. Entre deux pontes successives, le poids vif des trois femelles de *P. bocourti* concernées ne varie pas de façon significative, en passant de 6,6 à 6,3 kg en moyenne. En revanche, le poids vif des femelles de *P. hypophthalmus* s'accroît de 1 kg en moyenne entre la première et la seconde ponte, en passant de 7,1 à 8,1 kg (+ 14 %, P < 0,05), à dix semaines d'intervalle en moyenne. Dans le même temps, la taille de ces *P. hypophthalmus* varie peu, de 1 cm en moyenne, et le coefficient de condition augmente de 1,51 à 1,65 (+ 9 %, P < 0,05).

Une troisième ponte a été obtenue chez une seule femelle de *P. hypophthalmus*, suite à un traitement progressif comportant une phase de finition de deux jours et une phase ovulatoire à deux injections. Ces trois pontes ont été obtenues en 1997, successivement en avril, juin et août, à respectivement sept et neuf semaines d'intervalle. Les poids de ponte sont successivement de 25,3 – 25,9 – 38,5 g.kg⁻¹ (89,7 g.kg⁻¹ au total).

Outre les variations de fécondité précédemment décrites, aucune différence qualitative majeure n'est apparue entre les pontes successives des deux espèces (i.e. taux de fécondation, survie larvaire). Cet aspect reste néanmoins à étudier, en pratiquant notamment les fécondations dans des conditions standards.

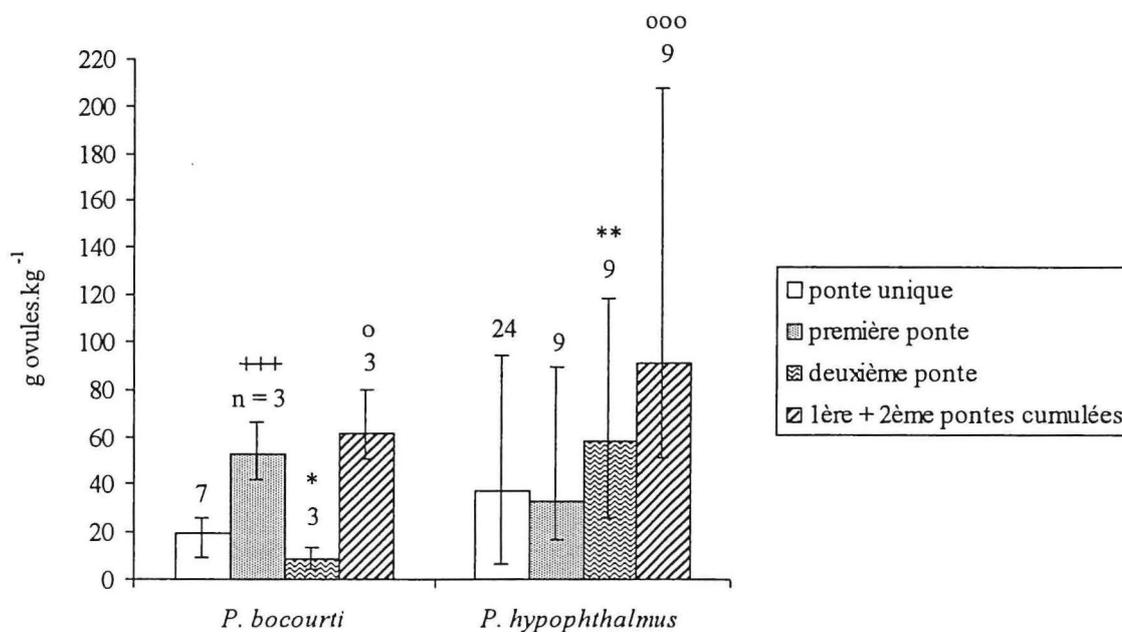
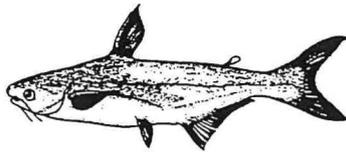


Figure 70 : Poids de ponte par kg de poids vif pour les pontes uniques et doubles chez *P. bocourti* (en 1996 et en étangs) et *P. hypophthalmus* (en 1997 et en cages flottantes)

- n : nombre de femelles,
- valeurs moyennes ± valeurs extrêmes,
- Pour chaque espèce, différences significatives entre pontes uniques et premières pontes (+), premières et deuxièmes pontes (*), pontes uniques et pontes doubles cumulées (o), au seuil de 5 % (*), 1 % (**) et 0,1 % (***)



P. bocourti

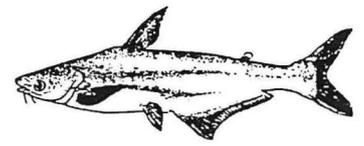
Poids vif des femelles (kg) :

7,0 ± 1,1 [4,8 ; 9,7]



N ovules par gramme d'ovules :

251 [222 ; 280]



P. hypophthalmus

7,3 ± 1,6 [5,0 ; 13,3]



1437 ± 90 [1316 ; 1524]

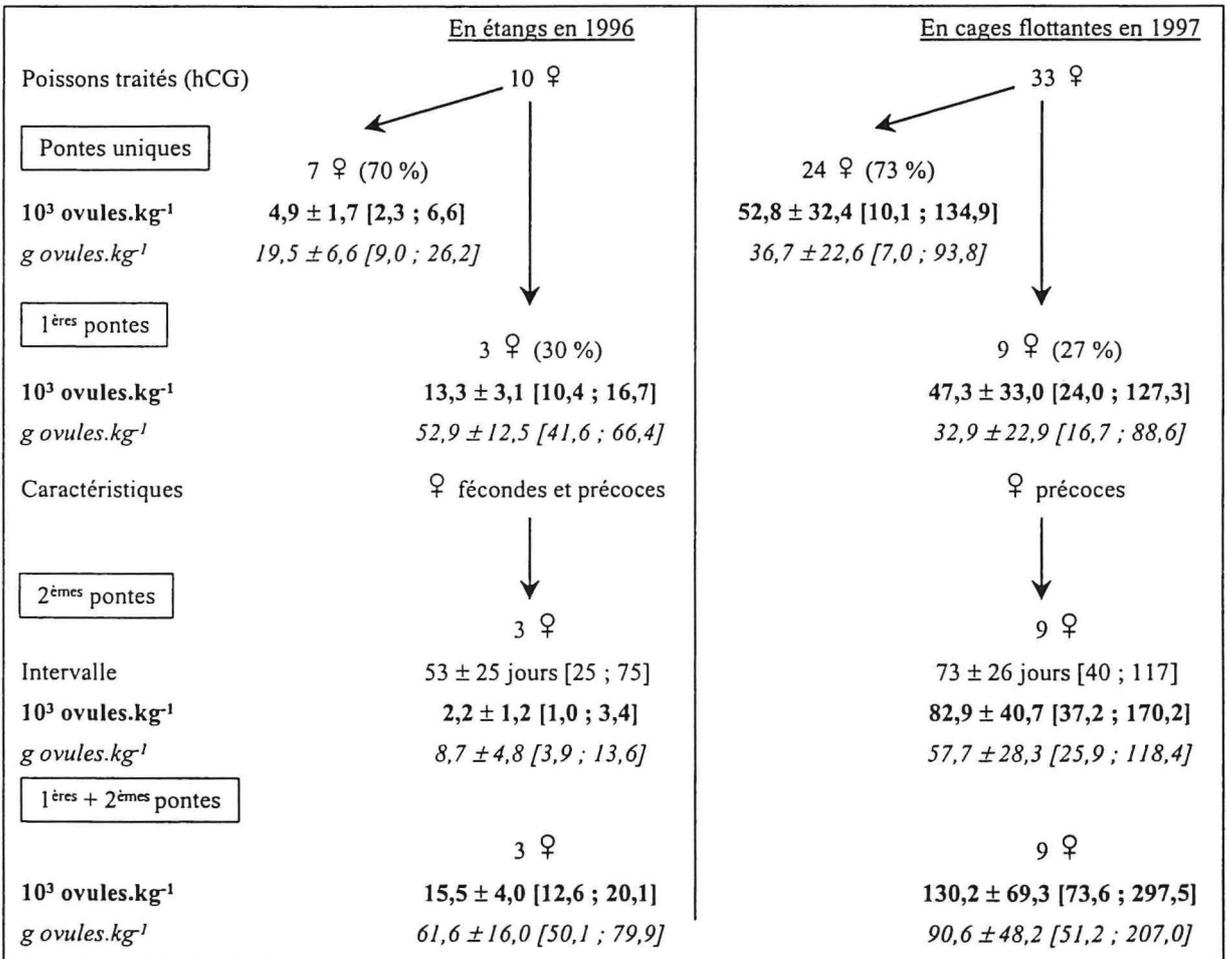
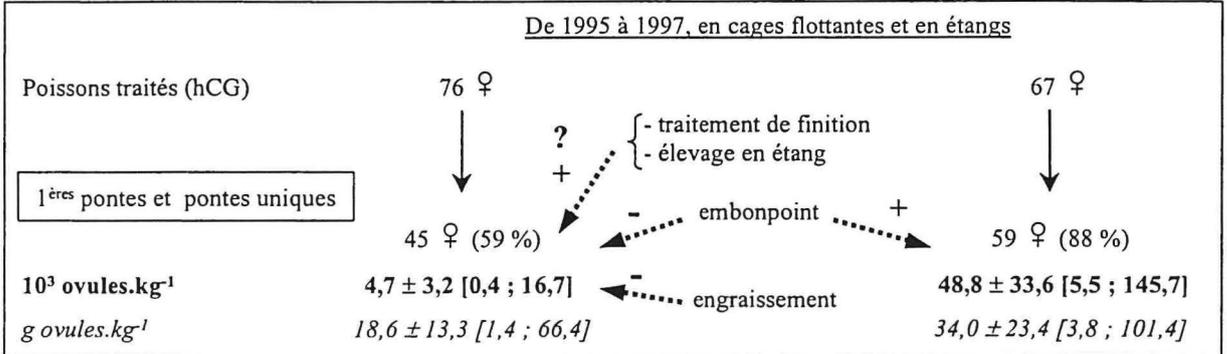


Planche 8 : Bilan de la fécondité obtenue chez les deux espèces

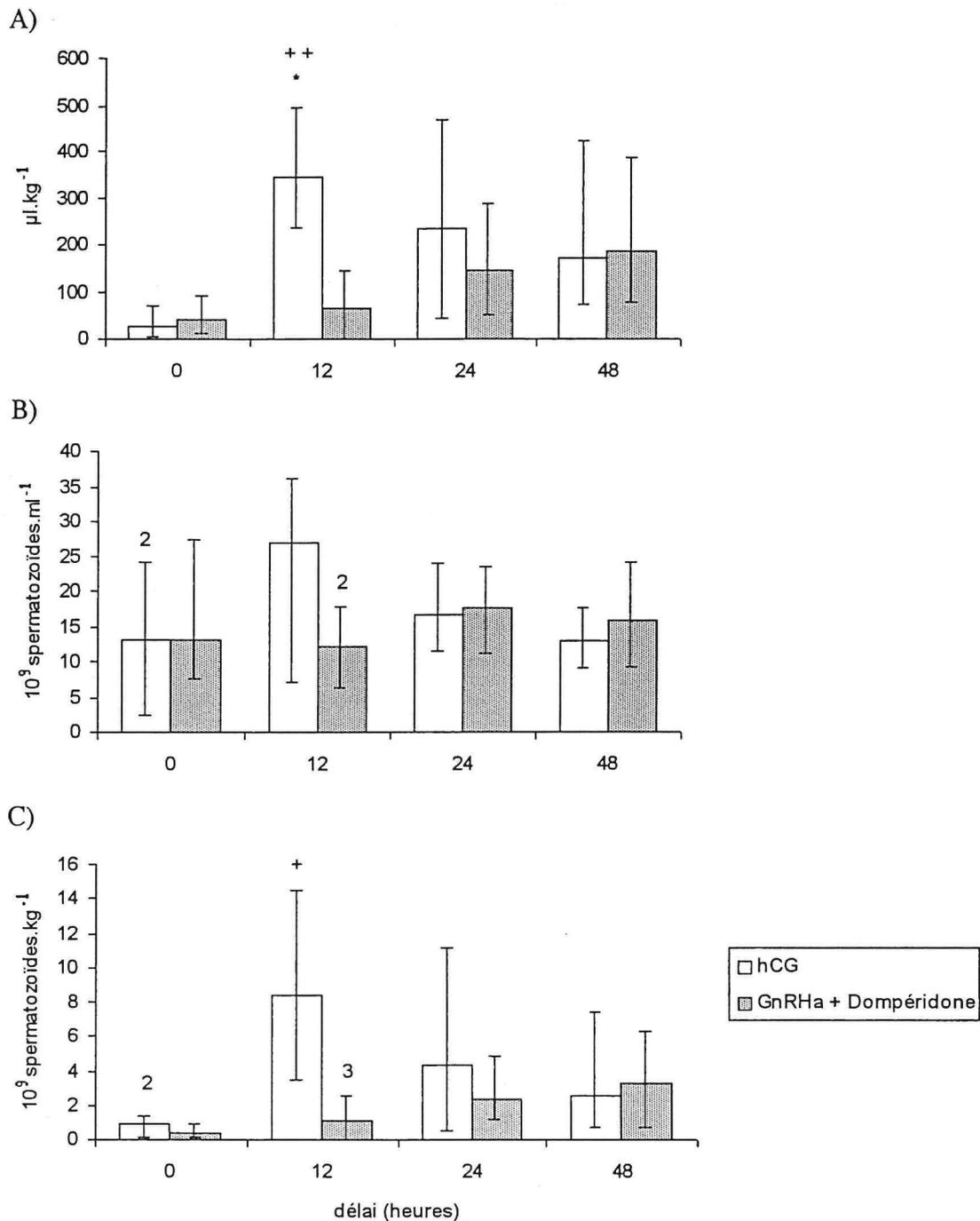


Figure 71 : Evolution de la production de sperme chez les mâles de *P. bocourti* après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹) ou de GnRHa (30 µg.kg⁻¹) associé au dompéridone (3 mg.kg⁻¹)

- A) Volume de sperme collecté par kg de poids vif ; B) concentration en spermatozoïdes par ml de sperme ; C) production de spermatique par kg de poids vif ; valeurs moyennes ± valeurs extrêmes ; 4 poissons sont observés à chaque délai pour chaque traitement, sauf dans certains cas où l'effectif observé est indiqué (2 ou 3).
- Différence significative entre la spermiation à T0 et T12 : * (P < 0,05) ; différences significatives, pour un délai donné, entre les deux traitement : + (P < 0,05) ; ++ (P < 0,01).

4.6. ETUDE DE LA FONCTION REPRODUCTRICE MALE

4.6.1. Induction de la spermiation chez les poissons mâles élevés en cages flottantes

4.6.1.1. Matériel et méthodes spécifiques

Deux traitements hormonaux ont été testés afin de stimuler la production de sperme chez les poissons géniteurs : une injection d'hCG (2000 UI.kg^{-1}) chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, et, chez *P. bocourti* uniquement, une injection de GnRHa ($30 \mu\text{g.kg}^{-1}$) associé au dompéridone (3 mg.kg^{-1}). Ce second traitement n'a pas été testé chez *P. hypophthalmus* en raison de l'absence de poissons géniteurs, en fin de saison de reproduction. Ces tests ont été réalisés de avril à août 1996, avec des poissons géniteurs élevés en cages flottantes à Chau Dôc.

Tous les poissons utilisés pour ces expériences étaient initialement spermiantes. Seize poissons ont été utilisés par test, répartis en quatre lots de quatre poissons : poissons non traités et poissons traités dont la collecte de sperme a eu lieu 12 h, 24 h et 48 h après l'injection d'hormone. L'injection d'un placebo n'a pas été testée en raison d'un effectif de poissons limité. Le sperme n'a été collecté qu'une seule fois par poisson, car, les poissons étant fragiles (absence d'écaille), des stripings répétés auraient causé des lésions cutanées. La préparation et l'injection des hormones ont été effectuées selon les techniques décrites précédemment, de même que la collecte de sperme et la mesure de la concentration en spermatozoïdes (§ 4.2, p 125). Le poids vif des poissons géniteurs utilisés et la température de l'eau durant les traitements sont récapitulés en Annexe 50.

La production spermatique est définie comme la quantité de spermatozoïdes produits par poisson ou par kg de poisson (volume de sperme x concentration en spermatozoïdes). Elle est calculée à partir du sperme collecté par striping des poissons et elle ne correspond donc pas à la production spermatique totale. Celle-ci ne peut être déterminée qu'à partir des testicules entiers, prélevés sur des poissons sacrifiés, ce qui n'a pu être fait ici.

4.6.1.2. Traitement de *P. bocourti* avec l'hCG ou le GnRHa associé au dompéridone

La production de sperme chez *P. bocourti* est caractérisée par une variabilité individuelle importante, tant au niveau de la spermiation naturelle qu'après induction hormonale. La production spermatique par kg de poids vif varie en effet d'un facteur 17 et 4,1, respectivement sans traitement et avec hCG (T12), et d'un facteur 9 sans traitement ou avec GnRHa et dompéridone (T48) (Figure 71.C). Ces variations reflètent celles du volume de sperme émis et de sa concentration en spermatozoïdes (Figure 71.A et B). Elles sont indépendantes des variations de poids vif et de longueur des poissons. Associées aux faibles effectifs de poissons mâles observés (2 à 4 par délai et par traitement), ces variations interfèrent dans la mise en évidence des effets significatifs, en dépit de valeurs moyennes parfois bien différentes.

Douze heures après l'injection d'hCG, le volume de sperme est 13 fois plus élevé chez les poissons traités que chez les poissons témoins, respectivement de $344,5$ et $26,5 \mu\text{l.kg}^{-1}$ en moyenne ($P < 0,05$). Le volume de sperme tend ensuite à décroître et il est de $169,6 \mu\text{l.kg}^{-1}$ en moyenne chez d'autres poissons observés après 48 h, mais cette variation n'est pas significative. La concentration en spermatozoïdes et la production spermatique présentent la même évolution que celle du volume de sperme, mais elles ne sont pas significatives.

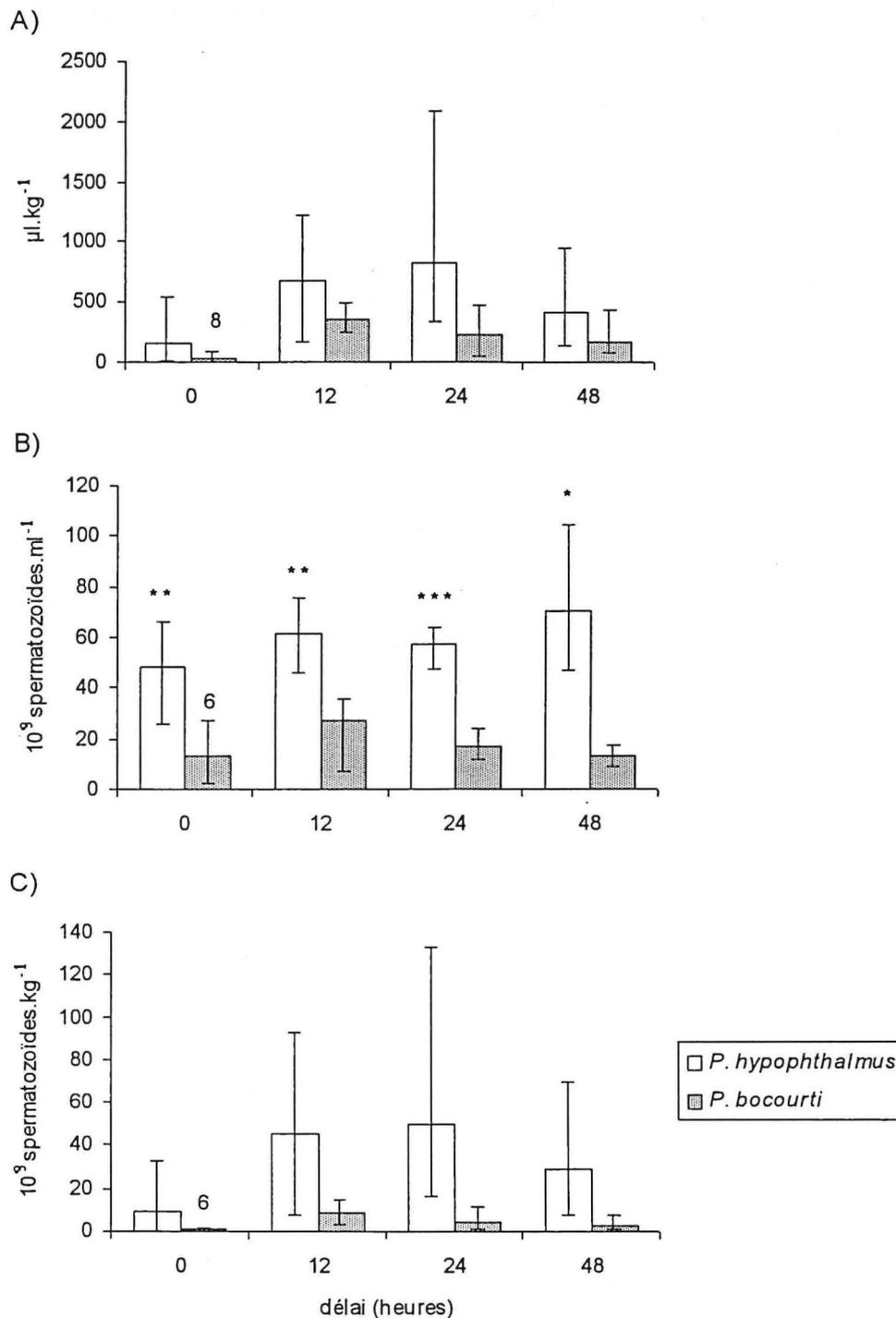


Figure 72 : Evolution de la production de sperme chez les mâles de *P. hypophthalmus* après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹)

- A) Volume de sperme collecté par kg de poids vif ; B) concentration en spermatozoïdes par ml de sperme ; C) production de spermatique par kg de poids vif ; valeurs moyennes ± valeurs extrêmes ; 4 poissons sont observés à chaque délai pour chaque traitement, sauf dans certains cas où l'effectif observé est indiqué (6 ou 8).
- Différences significatives entre les concentrations en spermatozoïdes des deux espèces pour chaque délai : * (P < 0,05) ; ** (P < 0,01) ; *** (P < 0,001).

Le volume de sperme tend également à être plus élevé après l'injection de GnRHa et de dompéridone : de $39,5 \mu\text{l.kg}^{-1}$ chez les poissons témoins, il augmente progressivement chez les poissons traités de 4,7 fois après 48 h, soit $187,1 \mu\text{l.kg}^{-1}$, mais cette différence n'est pas significative. La concentration en spermatozoïdes est par contre relativement stable entre les différents délais. La production spermatique suit la même évolution que celle du volume de sperme, mais elle n'est pas non plus significative.

En considérant ensemble les deux traitements appliqués chez *P. bocourti*, l'effet du délai est significatif sur le volume de sperme produit ($P < 0,05$), alors que le traitement n'a pas d'effet significatif. Il n'y a pas d'interaction entre ces deux facteurs. Le volume de sperme produit 12 h après induction hormonale est toutefois 7,6 fois plus élevé avec l'hCG qu'avec le GnRHa associé au dompéridone, respectivement de $344,5$ et $65 \mu\text{l.kg}^{-1}$ ($P < 0,01$). La concentration en spermatozoïdes est également plus importante avec l'hCG mais la différence n'est pas significative. La production spermatique est significativement plus élevée avec l'hCG qu'avec l'autre traitement 12 h après l'injection, respectivement de $8,4 \cdot 10^9$ et $1,1 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.kg⁻¹ ($P < 0,05$). Enfin, la production spermatique moyenne maximale observée, 12 h après l'injection d'hCG et 48 h après l'injection de GnRHa associé au dompéridone, est respectivement de $8,37 \cdot 10^9$ et $3,29 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.kg⁻¹, mais cette différence n'est pas significative.

4.6.1.3. Traitement de *P. hypophthalmus* avec l'hCG et comparaison avec *P. bocourti*

Comme chez *P. bocourti*, la production de sperme des mâles de *P. hypophthalmus* est très variable d'un poisson à l'autre. Ainsi, la production spermatique varie d'un facteur 108 dans le cas de la spermiation naturelle et d'un facteur 8,3 chez les poissons traités à l'hCG, 24 h après l'injection. Ces variations reflètent celles de du volume de sperme et de la concentration en spermatozoïdes. Elles sont indépendantes du poids vif des poissons.

Le volume de sperme moyen collecté tend à augmenter progressivement de 0 à 24 h après l'injection : il est respectivement de 151,2 et 823,4 $\mu\text{l.kg}^{-1}$ (Figure 72.A). Cette accroissement de 5,4 fois n'est toutefois pas significatif, tout comme l'accroissement similaire de la production spermatique correspondant, de $9,1 \cdot 10^9$ à $49,9 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.kg⁻¹ (Figure 72.C). La concentration en spermatozoïdes augmente progressivement au cours du temps, de $48 \cdot 10^9$ à $70,1 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹ à respectivement T0 et T48, mais cette évolution n'est pas non plus significative (Figure 72.B).

En considérant ensemble les mâles des deux espèces traités avec l'hCG, et tous les mâles de *P. bocourti* non traités, l'effet du délai n'est pas significatif sur la spermiation. En revanche, l'espèce est un facteur déterminant du volume de sperme collecté par kg de poids vif ($P < 0,05$), de la concentration en spermatozoïdes ($P < 0,001$) et de la production spermatique ($P < 0,01$). Il n'y a par ailleurs pas d'interaction entre les facteurs espèce et délai. Les comparaisons deux à deux ne montrent cependant de différences significatives qu'au niveau de la concentration en spermatozoïdes pour chaque délai après l'injection (Figure 72.B). L'absence de différences significatives au niveau du volume de sperme et de la production spermatique est probablement due à la forte variabilité individuelle constatée pour chaque espèce. Cependant, au niveau des valeurs moyennes la spermiation naturelle, le volume de sperme, la concentration en spermatozoïdes et la production spermatique sont respectivement 4,6, 3,6 et 15,7 fois plus élevés chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*. La production spermatique moyenne est maximale 24 h après l'injection chez *P. hypophthalmus*, soit 12 h après le pic observé chez *P. bocourti*. Elle est en moyenne six

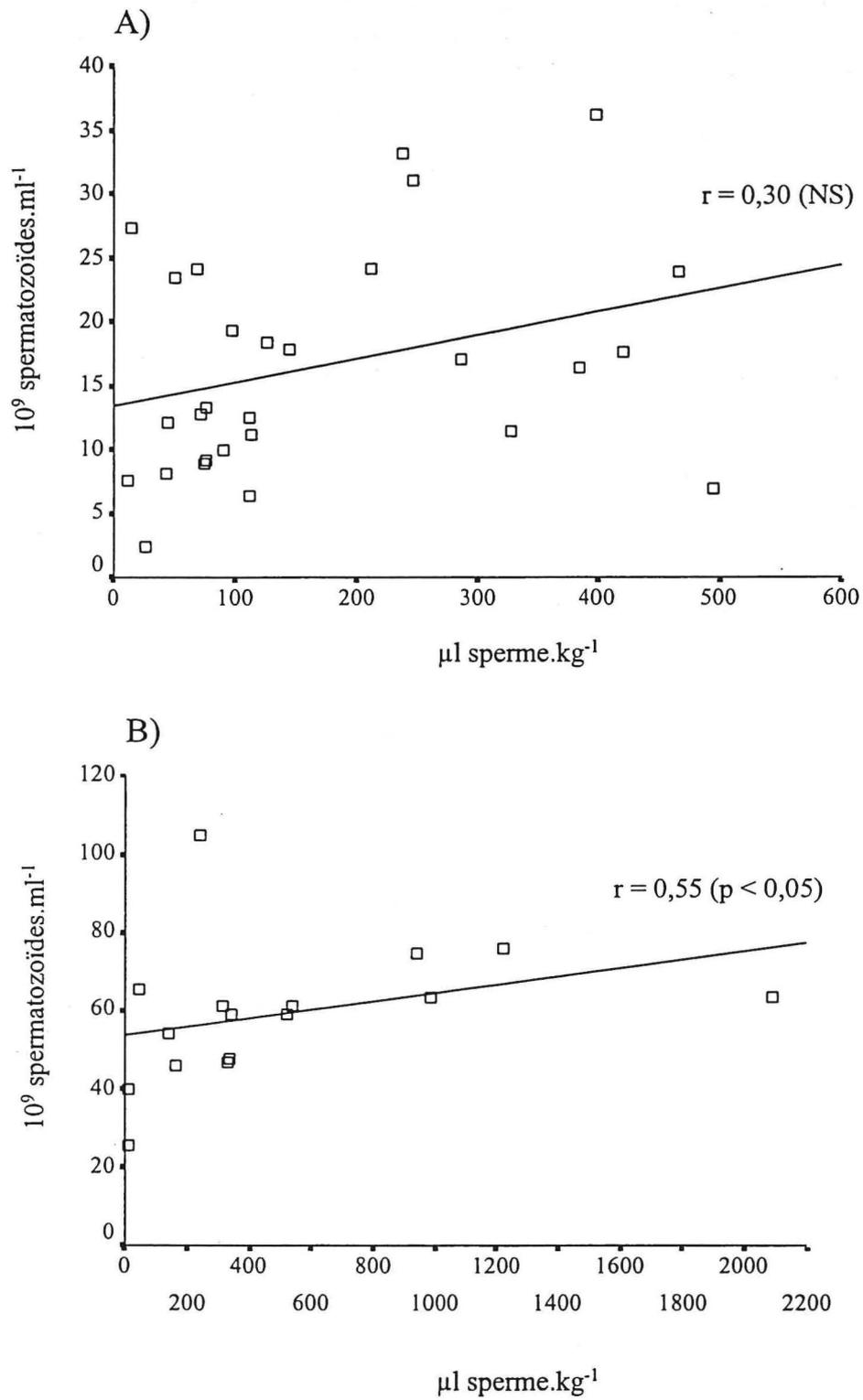


Figure 73 : Relation entre la concentration en spermatozoïdes et le volume de sperme collecté chez *P. bocourti* (A) et *P. hypophthalmus* (B)

fois plus élevée chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*, respectivement $49,93 \cdot 10^9$ et $8,37 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.kg⁻¹, mais cette différence n'est pas significative. Elle reflète la différence de volume (non significative), respectivement 823,4 et 344,5 µl.kg⁻¹, et la différence de concentration en spermatozoïdes, respectivement $57,2 \cdot 10^9$ et $26,9 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.kg⁻¹ ($P < 0,01$).

Les données chiffrées de la production spermatique chez les deux espèces sont récapitulées en Annexe 51.

4.6.1.4. Relation entre le volume de sperme collecté et la concentration en spermatozoïdes

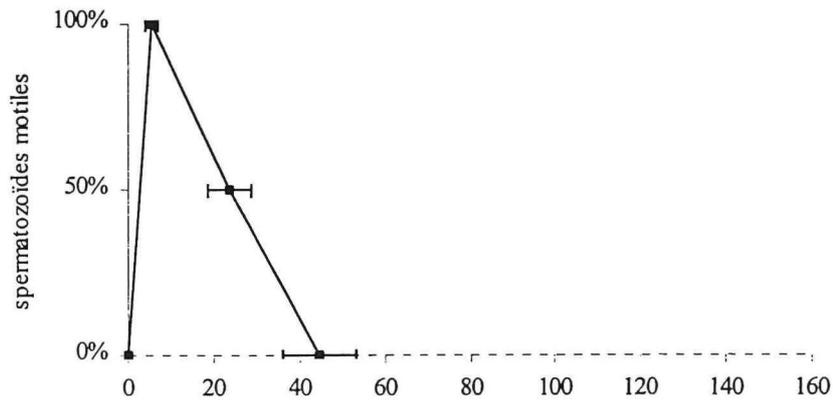
Outre un accroissement du volume de sperme par kg de poids vif, les traitements hormonaux appliqués aux mâles des deux espèces semblent s'accompagner d'une augmentation de la concentration en spermatozoïdes. Cette augmentation n'est cependant pas significative (Figure 71.B et Figure 72.B). La relation entre ces deux paramètres, volume et concentration, est mise en évidence par les Figure 73.A et B. Sur l'ensemble des échantillons collectés au cours des expériences d'induction, la concentration en spermatozoïdes tend à augmenter avec le volume de sperme produit chez les deux espèces, et de façon significative chez *P. hypophthalmus* ($r = 0,55$, $p < 0,05$).

4.6.2. Observation de la motilité des spermatozoïdes

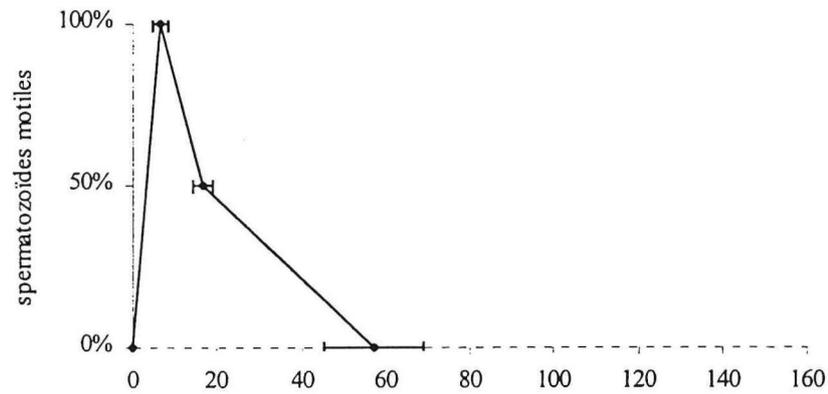
La motilité des spermatozoïdes a été observée sur des échantillons de sperme prélevés par striping et dilués aussitôt dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 155 mM). L'observation de la motilité s'est faite sans délai, selon le protocole décrit précédemment (4.2.3.3, p 129).

L'activation des spermatozoïdes est déclenchée par la mise au contact d'une solution dite d'activation, eau de source (Annexe 32) ou solution saline (NaCl 34 mM). Aucune activité spermatique n'est visible pendant les 5-6 premières secondes, puis tous les spermatozoïdes deviennent brusquement actifs. Au contact de l'eau de source, la totalité des spermatozoïdes restent en mouvement durant 10-11 secondes chez *P. hypophthalmus*, et durant 5-6 secondes chez *P. bocourti* (Figure 74.A et B). Ensuite, l'activité décroît de façon rapide chez *P. bocourti*, jusqu'à 10 à 20 % de spermatozoïdes en mouvement, puis elle se maintient faiblement et s'arrête 60 secondes après la mise en contact avec l'eau. L'activité décroît de façon plus graduelle chez *P. hypophthalmus* et elle s'arrête 45 secondes après la mise en contact avec l'eau. Chez *P. bocourti*, la mise en contact du sperme avec la solution saline ne modifie pas le début de la motilité mais l'activité des spermatozoïdes se maintient en moyenne deux fois plus longtemps que dans l'eau de source (Figure 74.C).

A)



B)



C)

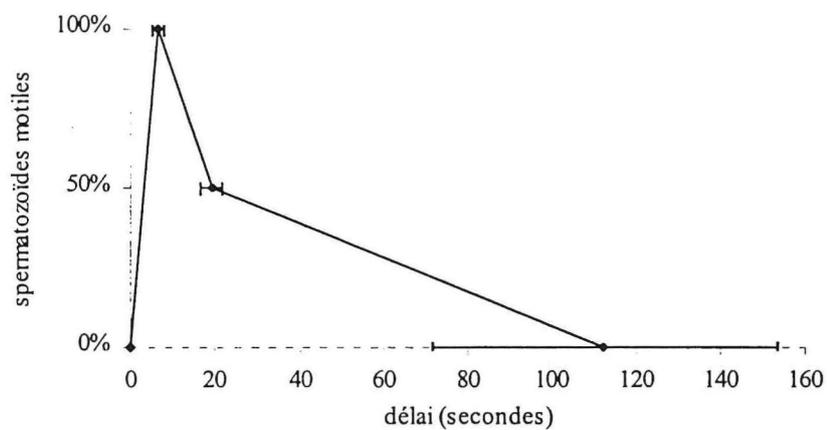
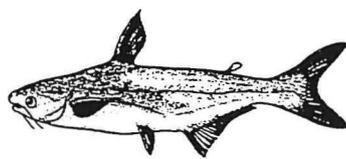


Figure 74 : Durée de la motilité des spermatozoïdes chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* au contact d'une solution d'activation

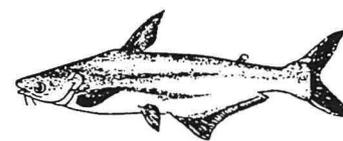
A) Sperme de *P. hypophthalmus* activé dans l'eau de source (n = 10) ; B) sperme de *P. bocourti* activé dans l'eau de source (n = 14) ; C) sperme de *P. bocourti* activé dans une solution saline (NaCl 34 mM) (n = 11).



P. bocourti

Poids vif des géniteurs (kg) :

5,2 ± 1,0 [3,3 ; 6,9]



P. hypophthalmus

5,5 ± 1,1 [3,9 ; 6,7]

↓ Poissons élevés en cages flottantes ↓

Volume et concentration du sperme		
<u>Spermiation naturelle :</u>	8 ♂	4 ♂
Volume (µl.kg⁻¹)	33 ± 32 [5 ; 90]	151 ± 258 [11 ; 537]
<i>Concentration (10⁹ spz.ml⁻¹)</i>	13,3 ± 10 [2,4 ; 27,3]	48,0 ± 18,6 [25,7 ; 65,5]
<u>Spermiation induite :</u>		
↳ 2000 UI hCG.kg ⁻¹	4 ♂	4 ♂
Temps de latence optimal	12 h	24 h
Volume (µl.kg⁻¹)	345 ± 125 [237 ; 495]	823 ± 850 [338 ; 2092]
<i>Concentration (10⁹ spz.ml⁻¹)</i>	26,9 ± 13,4 [7,0 ; 36,2]	57,2 ± 6,8 [47,5 ; 63,4]
↳ 30 µg LHRHa.kg ⁻¹ + 3 mg dompéridone.kg ⁻¹	4 ♂	?
Temps de latence optimal	48 h ?	?
Volume (µl.kg⁻¹)	187 ± 147 [75 ; 385]	?
<i>Concentration (10⁹ spz.ml⁻¹)</i>	15,8 ± 6,3 [9,3 ; 24,0]	?
volume de sperme et concentration spermatique	liés ?	r = + 0,55
Température de l'eau (°C)	[28,1 ; 30,4]	[27,8 ; 29,5]
<u>Motilité des spermatozoïdes (secondes)</u>		
<u>Au contact d'une solution d'activation :</u>		
Eau pure	57 ± 12 [40 ; 98]	45 ± 9 [30 ; 69]
Solution de NaCl à 34 mM (2 g.l ⁻¹)	112 ± 41 [39 ; 210]	?

Planche 9 : Induction de la spermiation et caractéristiques du sperme collecté chez les mâles des deux espèces élevés en cages flottantes

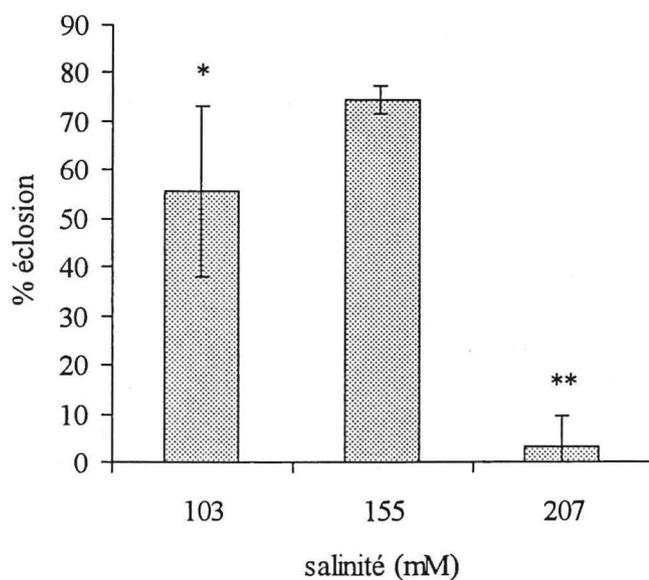


Figure 75 : Taux d'éclosion en fonction de la salinité (NaCl) de la solution d'immobilisation du sperme de *P. hypophthalmus*

Différences significatives avec la solution à 155 mM : * ($P < 0,05$) ; ** ($P < 0,01$).

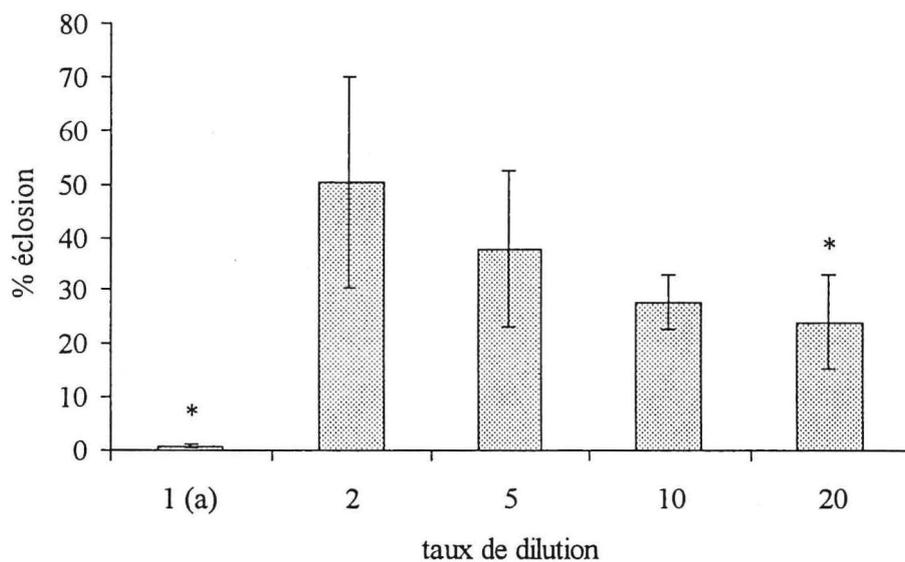


Figure 76 : Taux d'éclosion en fonction de la dilution du sperme de *P. hypophthalmus* dans la solution d'immobilisation

(a) : Sperme pur,
 - salinité de la solution d'immobilisation : NaCl 155 mM,
 - différences significatives avec le taux de dilution de 2 : * ($P < 0,05$).

4.6.3. Conservation du sperme à l'état frais

4.6.3.1. Salinité de la solution d'immobilisation du sperme de *P. hypophthalmus*

Matériel et méthode spécifiques

Le sperme de deux mâles de *P. hypophthalmus* est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Il est dilué dans trois solutions d'immobilisation dont la salinité est différente, le paramètre testé : NaCl à 103, 155 et 207 mM. Le taux de dilution du sperme dans chacune des solutions d'immobilisation est de 5. Pour chaque salinité, les prélèvements de sperme provenant des deux mâles sont rassemblés en un échantillon unique. La concentration moyenne du sperme pur est de $51,00 \pm 3,43.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Il est conservé durant 26 h 30 avant d'être employé pour la fécondation. Celle-ci s'effectue avec les ovules d'une femelle de *P. hypophthalmus* en présence d'une solution saline d'activation (NaCl 34 mM) et avec une dilution du sperme à 10⁻³. La température d'incubation varie de 26,9 à 27,7 °C. Le taux d'éclosion, relatif au nombre total d'ovules, est évalué 24 h après la fécondation par comptage des œufs embryonnés juste avant l'éclosion.

Résultats

Le pouvoir fécondant du sperme dilué dans une solution d'immobilisation est optimal avec une salinité de 155 mM, par rapport à 103 mM (P < 0,05) et 207 mM (P < 0,01) (Figure 75). Pour ces trois salinités, les taux moyens d'éclosion sont respectivement de 75, 56 et 3 %.

4.6.3.2. Taux de dilution du sperme de *P. hypophthalmus* dans la solution d'immobilisation

Matériel et méthode spécifiques

Le sperme de deux mâles de *P. hypophthalmus* est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Il est dilué ou non dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 155 mM) et les prélèvements de sperme provenant des deux mâles sont rassemblés en un échantillon unique. La concentration moyenne du sperme pur est de $51,00 \pm 3,43.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Le sperme est conservé pur ou dans la solution d'immobilisation à différents taux de dilution, le paramètre testé : 2, 5, 10 et 20. Il est conservé durant 26 h 30 avant d'être employé pour la fécondation. Celle-ci s'effectue avec les ovules d'une femelle de *P. hypophthalmus*, en présence d'une solution d'activation constituée d'eau de source et avec une dilution du sperme de 10⁻³. La température d'incubation varie de 26,9 à 27,7 °C. Le taux de fécondation est évaluée 24 h après la fécondation, par comptage des œufs embryonnés juste avant l'éclosion.

Résultats

Après 26 h 30 de conservation, le pouvoir fécondant du sperme pur est nul ; il est optimal pour le sperme dilué deux fois dans la solution d'immobilisation (P < 0,05) (Figure 76), avec un taux d'éclosion correspondant de 50 % en moyenne. Une dilution plus importante entraîne une diminution du taux d'éclosion qui chute à 24 % avec un taux de dilution de 20 (P < 0,05).

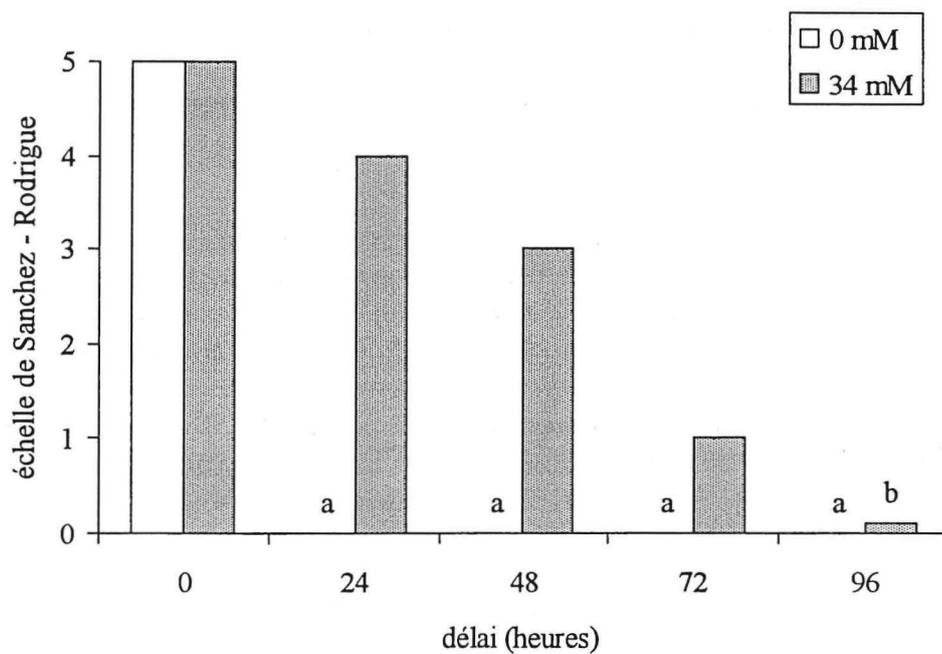


Figure 77 : Motilité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation du sperme de *P. hypophthalmus* et de la salinité de la solution d'activation (NaCl)

a : Formation d'un gel au contact de l'eau pure,

b : quelques spermatozoïdes mobiles,

- salinité de la solution d'immobilisation employée : NaCl 155 mM,

- solution d'activation de salinité nulle constituée d'eau de source.

4.6.3.3. Durée de conservation du sperme de *P. hypophthalmus*

Matériel et méthode spécifiques

Le sperme de deux mâles est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Il est dilué dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 155 mM) et les spermatozoïdes provenant des deux mâles sont rassemblés en un échantillon unique, conservé à un taux de dilution de 10 dans la solution d'immobilisation. Le mélange de sperme est conservé pendant une durée variable, le paramètre testé : 24, 48, 72 et 96 h. La qualité du sperme est évaluée juste après la collecte puis à chaque durée de conservation, par l'observation de la motilité des spermatozoïdes au contact de l'eau ou d'une solution saline d'activation (NaCl 34 mM). L'intensité de la motilité est classée selon l'échelle arbitraire définie par Sanchez - Rodriguez et Billard (1975) allant de 0 à 5 (Tableau 21, p 128).

Résultats

La motilité du sperme est maximale immédiatement après la collecte, dans l'eau pure comme dans la solution saline (Figure 77). Après 24 h de conservation, la motilité est nulle dans l'eau pure alors qu'elle est encore bonne au contact de la solution saline d'activation (4 sur l'échelle de motilité). La motilité dans la solution saline d'activation décroît ensuite avec le temps de conservation pour être presque nulle après 96 h. A partir de 24 h de conservation, le sperme dilué dans la solution d'immobilisation forme un gel au contact de l'eau pure alors qu'il reste fluide au contact de la solution saline d'activation.

4.6.3.4. Durée de conservation du sperme de *P. bocourti*

Matériel et méthodes spécifiques

Le sperme de six mâles est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Les mâles sont traités par groupe de deux à des horaires décalés, de façon à effectuer la fécondation au même moment avec des spermatozoïdes conservés pendant des délais variables, le paramètre testé : 30 minutes, 11 heures et 35 h 30. Le sperme est collecté dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 207 mM) et conservé à un taux de dilution de cinq. Pour chaque délai de conservation, les spermatozoïdes provenant des deux mâles sont rassemblés en un échantillon unique. La concentration moyenne du sperme pur est de $15,03 \pm 1,35.10^9$, $16,45 \pm 2,08.10^9$ et $14,31 \pm 1,35.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹ pour les échantillons de sperme conservés respectivement 30 minutes, 11 heures et 35 h 30. La fécondation s'effectue avec deux lots distincts d'ovules provenant chacun de deux femelles, en présence d'une solution d'activation constituée d'eau de source et avec une dilution du sperme de 10⁻³. La température d'incubation est de 29-29,9 °C. Le taux de fécondation est évalué 8 h après la fécondation, par comptage des œufs au stade gastrula.

Résultats

La durée de conservation du sperme et la provenance des ovules ont toutes les deux un effet significatif sur le taux de fécondation ($P < 0,01$) et il n'y a pas d'interaction entre ces deux facteurs (Figure 78). Pour chaque femelle, le taux de fécondation n'est pas significativement différent après 30 minutes et 35 h 30 de conservation ; il est en revanche plus important après 11 h de conservation ($P < 0,05$). Les deux femelles sont

significativement différentes à chaque durée de conservation ($P < 0,05$), probablement à cause de la qualité des ovules respectifs.

La salinité de la solution d'immobilisation à 207 mM a été choisie a priori, sans que l'effet de la salinité n'ait été testé au préalable. Ce test reste encore à effectuer chez *P. bocourti*.

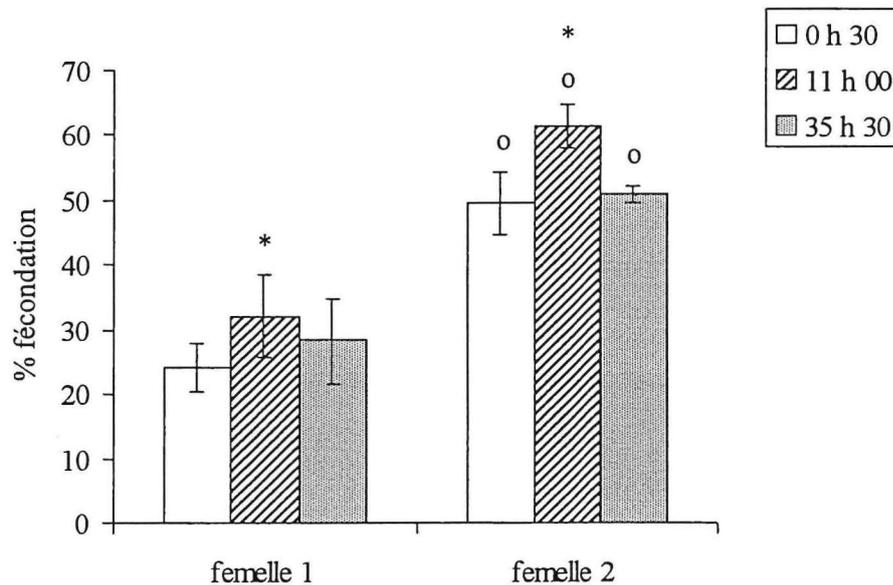


Figure 78 : Taux de fécondation en fonction de la durée de conservation du sperme de *P. bocourti* en solution d'immobilisation et en fonction de la provenance des ovules fécondés

- Salinité de la solution d'immobilisation : NaCl 207 mM,
- différences significatives entre les durées pour chaque femelle : * ($P < 0,05$),
- différences significative entre les femelles pour chaque durée : o ($P < 0,05$).

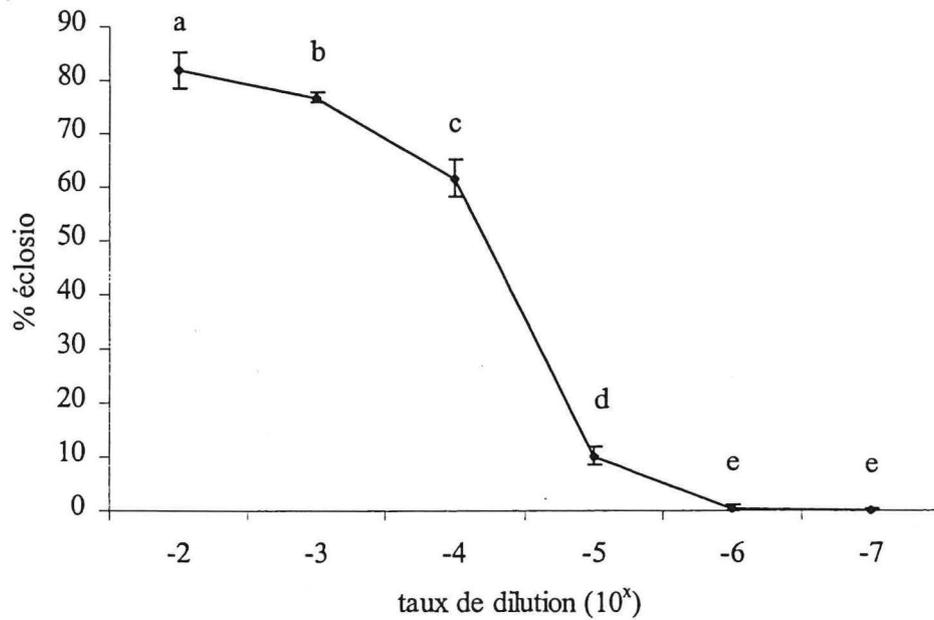


Figure 79 : Taux d'éclosion en fonction de la dilution du sperme de *P. hypophthalmus* dans la solution d'activation

- Salinité de la solution d'activation : NaCl 34 mM,
- différences significatives entre taux de dilution indiquées par des lettres différentes : a, b, c, d, e, ($P < 0,05$).

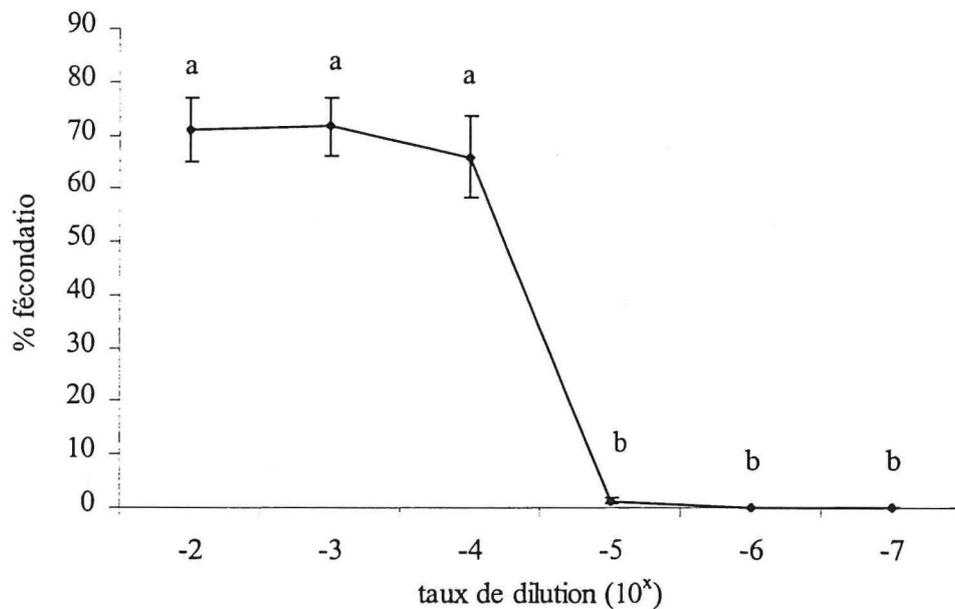


Figure 80 : Taux de fécondation en fonction de la dilution du sperme de *P. bocourti* dans la solution d'activation

- Solution d'activation composée d'eau de source,
- différences significatives entre taux de dilution indiquées par des lettres différentes : a, b ($P < 0,001$).

4.7. OPTIMISATION DES CONDITIONS DE FECONDATION ET D'INCUBATION

4.7.1. Conditions de fécondation

4.7.1.1. Dilution du sperme de *P. hypophthalmus* dans la solution d'activation

Matériel et méthode spécifiques

Le sperme de deux mâles est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Il est dilué dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 155 mM) et les spermatozoïdes provenant des deux mâles sont rassemblés en un échantillon unique. La concentration moyenne du sperme pur est de $64,92 \pm 3,09.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Il est conservé dans la solution d'immobilisation, à un taux de dilution de dix, durant 4 h 30 avant d'être employé pour la fécondation. Celle-ci s'effectue avec les ovules d'une femelle en présence d'une solution saline d'activation (NaCl 34 mM), à différentes dilutions du sperme dans la solution d'activation, le paramètre testé, de 10^{-2} à 10^{-7} . La température d'incubation est de 27,6-28,5 °C. Le taux d'éclosion est évalué 17 h après la fécondation par comptage des œufs embryonnés peu avant l'éclosion.

Résultats

La Figure 79 indique que le taux d'éclosion diminue de façon significative lorsque la dilution du sperme augmente dans la solution d'activation de 10^{-2} à 10^{-6} ($P < 0,05$). La diminution est graduelle de 10^{-2} à 10^{-4} puisque le taux d'éclosion moyen passe de 82 à 62 %. Lorsque la dilution augmente à 10^{-5} , le taux d'éclosion moyen chute à 10 % ($P < 0,001$), puis il est pratiquement nul à 10^{-6} .

4.7.1.2. Dilution du sperme de *P. bocourti* dans la solution d'activation

Matériel et méthode spécifiques

Le sperme de sept mâles est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Chaque échantillon est dilué dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 207 mM) puis toutes les solutions de sperme sont rassemblées en un échantillon unique. La concentration moyenne du sperme pur est de $12,56 \pm 1,18.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Il est conservé dans la solution d'immobilisation, à un taux de dilution de cinq, durant 13 h avant d'être employé pour la fécondation. Celle-ci s'effectue avec les ovules rassemblés de deux femelles, en présence d'une solution d'activation constituée d'eau de source. La dilution testée du sperme dans la solution d'activation varie de 10^{-2} à 10^{-7} . La température d'incubation est de 29,1-30,2 °C. Le taux de fécondation est évalué 8 à 10 h après la fécondation par comptage des œufs au stade gastrula.

Résultats

Le taux de fécondation n'est pas significativement différent avec une dilution du sperme dans la solution d'activation variant de 10^{-2} à 10^{-4} ; il est en moyenne de 69 % (Figure 80). Mais lorsque la dilution augmente à 10^{-5} , le taux de fécondation moyen chute à 1,3 % ($P < 0,001$).

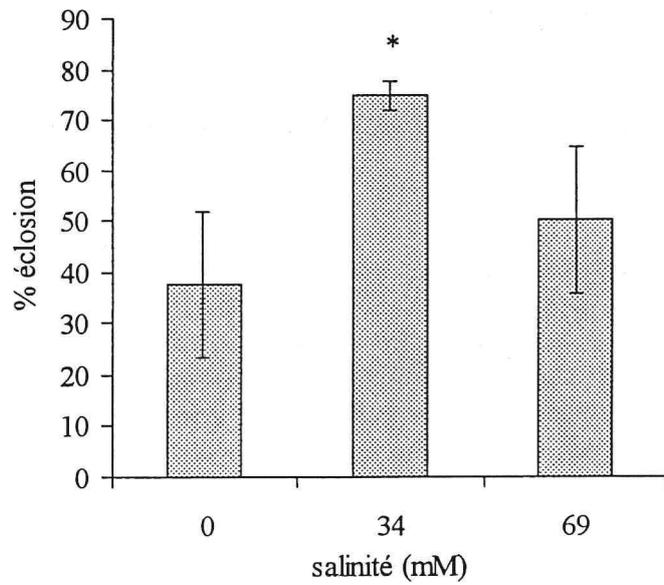


Figure 81 : Taux d'éclosion en fonction de la salinité (NaCl) de la solution d'activation employée pour la fécondation chez *P. hypophthalmus*

Différence significative par rapport aux deux autres salinités : * ($P < 0,05$).

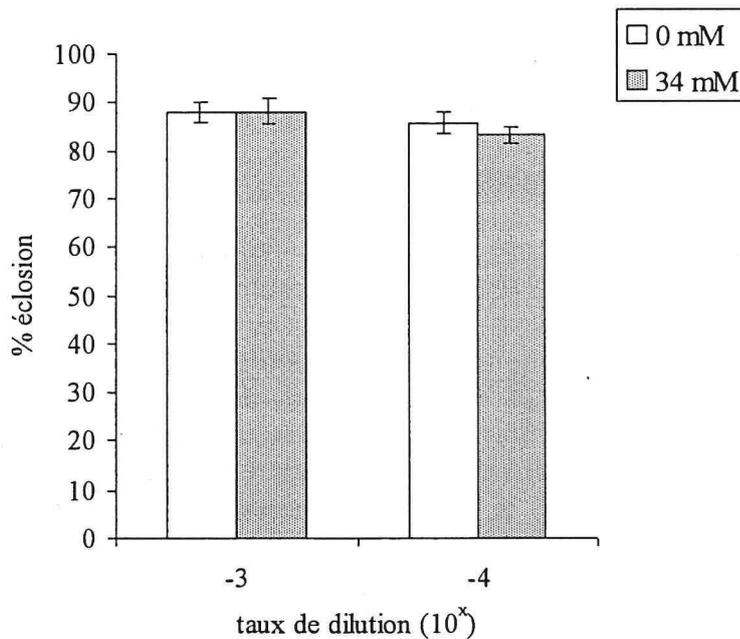


Figure 82 : Taux d'éclosion en fonction de la salinité (NaCl) de la solution d'activation employée pour la fécondation chez *P. bocourti* et en fonction de la dilution du sperme dans la solution d'activation

4.7.1.3. Salinité de la solution d'activation du sperme de *P. hypophthalmus*

Matériel et méthode spécifiques

Le sperme de deux mâles est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Il est dilué dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 155 mM) et les spermatozoïdes provenant des deux mâles sont rassemblés en un échantillon unique. La concentration moyenne du sperme pur est de $51,00 \pm 3,43.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Il est conservé dans la solution d'immobilisation, à un taux de dilution de cinq, durant 26 h 30 avant d'être employé pour la fécondation. Celle-ci s'effectue avec les ovules d'une femelle de *P. hypophthalmus* en présence d'une solution d'activation de salinité variable, le paramètre testé : NaCl à 0, 34 et 69 mM. Le taux de dilution du sperme dans la solution d'activation est de 10⁻³. La température d'incubation est de 28,9-29,8 °C. Le taux d'éclosion est évalué 17 h après la fécondation par comptage des œufs embryonnés juste avant l'éclosion.

Résultats

Le taux d'éclosion avec une solution d'activation à 34 mM est supérieur à celui obtenu avec une solution à 0 et 69 mM (P < 0,05) (Figure 81). Les taux d'éclosion moyens sont respectivement de 75, 50 et 38 %.

4.7.1.4. Salinité de la solution d'activation du sperme de *P. bocourti*

Matériel et méthodes spécifiques

Le sperme d'un mâle est collecté 24 h après une injection d'hCG (2000 UI.kg⁻¹). Il est collecté dans une solution saline d'immobilisation (NaCl 155 mM). La concentration moyenne du sperme pur est de $31,39.10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Il est conservé dans la solution d'immobilisation, à un taux de dilution de cinq, durant 11 h avant d'être employé pour la fécondation. Celle-ci s'effectue avec les ovules d'une femelle en présence d'une solution de salinité variable, le paramètre testé : eau de source (salinité nulle) ou solution saline d'activation (NaCl 34 mM). Le taux de dilution du sperme dans la solution d'activation est de 10⁻³ ou de 10⁻⁴. La température d'incubation est de 28,9-29,8 °C. Le taux d'éclosion est évalué par comptage des alevins éclos.

Résultats

La salinité de la solution d'activation n'a pas d'effet sur le taux d'éclosion (Figure 82) ; avec une salinité nulle ou de 34 mM, le taux d'éclosion moyen est respectivement de 88,0 et 88,2 % à la dilution de 10⁻³, et de 85,8 et 83,2 % à la dilution de 10⁻⁴.

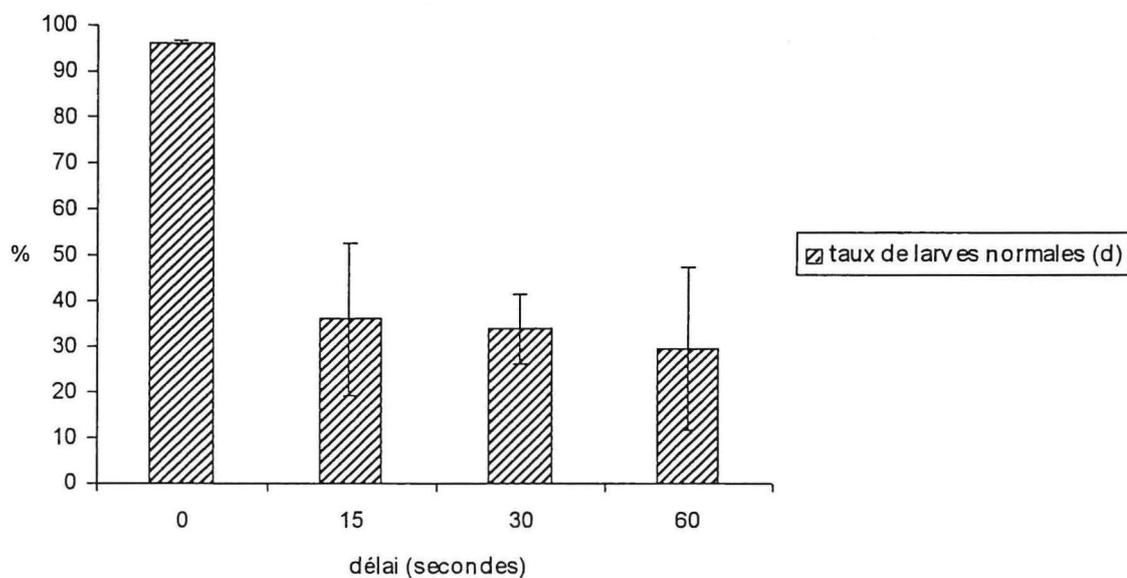
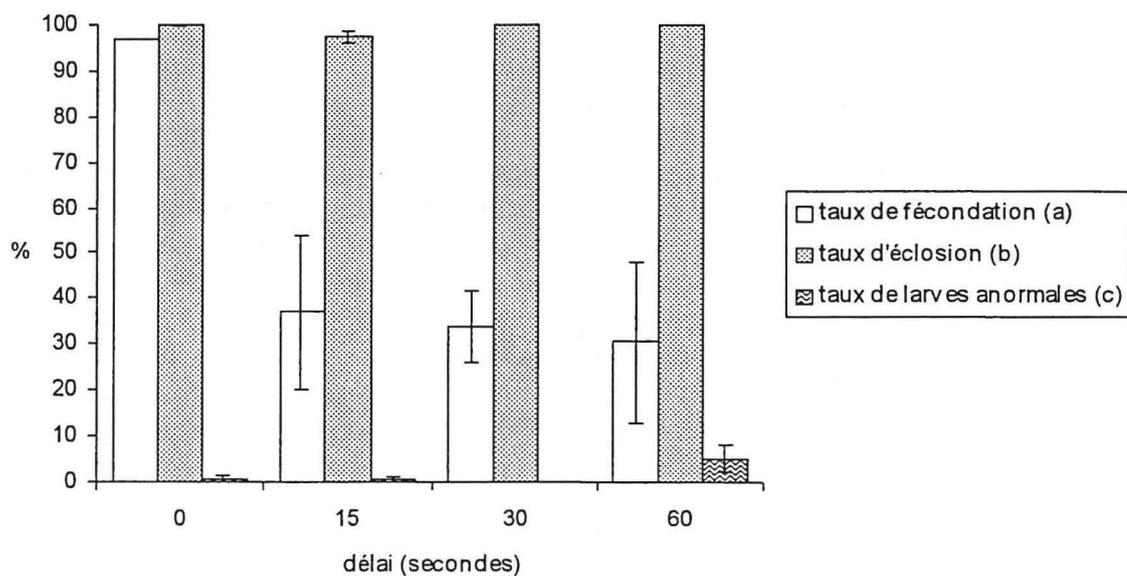


Figure 83 : Influence de la pollution aqueuse des ovules avant la fécondation sur la qualité des œufs et des larves chez une femelle de *P. hypophthalmus* élevée en cage flottante

Valeurs moyennes et couples de valeurs mesurées,

- (a) : % du nombre total d'œufs,
- (b) : % d'œufs fécondés,
- (c) : % de larves écloses,
- (d) : % du nombre total d'œufs.

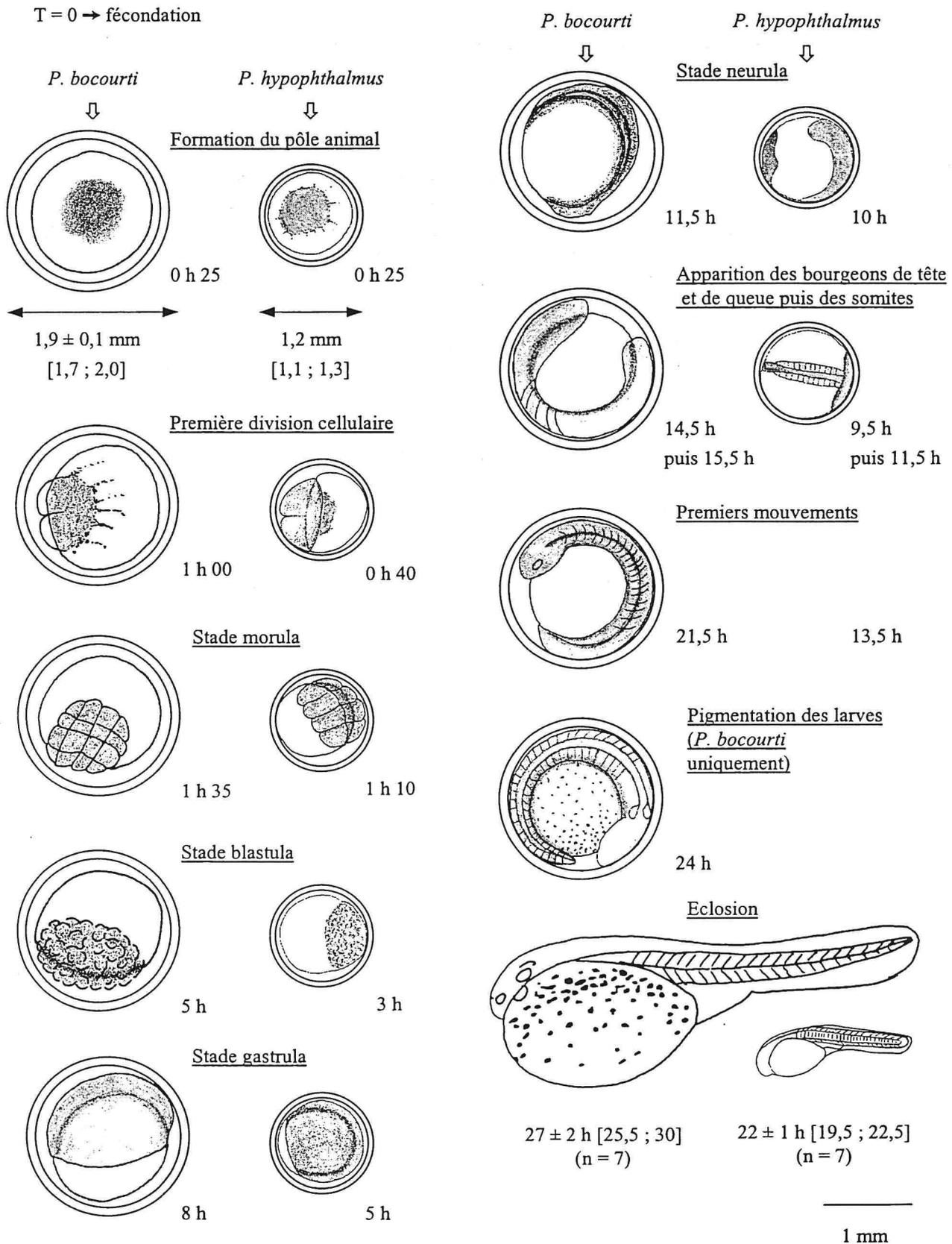
4.7.1.5. Effet de la pollution aqueuse sur la fécondabilité des ovules de *P. hypophthalmus*

Matériel et méthode spécifiques

La maturation ovocytaire et l'ovulation sont induites chez une femelle de *P. hypophthalmus* selon le traitement décrit précédemment (§ 4.4.3.1, p 160). Les ovules sont collectés par striping dès que l'émission est constatée. Pour chaque test, 200-300 ovules sont placés dans une boîte de fécondation puis immergés dans 180 ml d'eau de source (Annexe 32) durant un délai de 0, 15, 30 ou 60 secondes. L'eau est ensuite enlevée et un test de fécondation est effectué sans délai, selon le protocole décrit dans le Tableau 22 (p 130). Chaque traitement est répliqué deux fois.

Résultats

La pollution aqueuse des ovules se traduit par une chute rapide du taux de fécondation, de 2,6 fois après 15 secondes, en passant de 97 à 37 % en moyenne (Figure 83). Le taux de fécondation semble se stabiliser ensuite puisqu'il est encore de 31 % après une minute. Le taux d'éclosion des œufs fécondés n'est en revanche pas affecté par la pollution aqueuse puisqu'il est de 100 % après une minute. La pollution aqueuse ne semble pas non plus altérer la qualité des larves écloses, puisque la proportion de larves anormales est inférieure à 1 % jusqu'à 30 secondes. Toutefois, 5 % de larves anormales apparaissent après une minute.



Température d'incubation : *P. bocourti* [26,3 ; 30,7] °C ; *P. hypophthalmus* [27,7 ; 31] °C

Figure 84 : Développement embryonnaire comparé de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus*

4.7.2. Développement des embryons et des larves

4.7.2.1. Développement embryonnaire

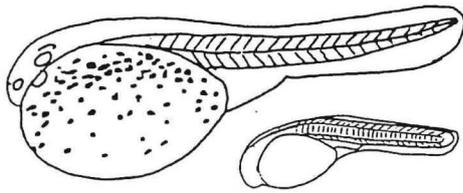
Pour les deux espèces, la membrane pellucide des œufs se décolle et s'épaissit rapidement au contact de l'eau, tout en adhérant fortement au substrat (sans disque adhésif). Les œufs ainsi hydratés de *P. bocourti* sont 1,6 fois plus grands que ceux de *P. hypophthalmus*, dont les diamètres moyens sont respectivement de 1,9 et 1,2 mm (Figure 84). Après la formation du pôle animal, la première division cellulaire intervient pour *P. hypophthalmus* et *P. bocourti* respectivement 40 et 60 mn en moyenne après la fécondation. L'embryogenèse de *P. hypophthalmus* reste ensuite plus rapide que celle de *P. bocourti* et l'éclosion commence respectivement 22 et 27 h en moyenne après la fécondation. Les larves écloses de *P. bocourti* sont 2,1 fois plus longues que celles de *P. hypophthalmus*, respectivement de 5,0 et 2,4 mm. Pour les deux espèces, la vésicule vitelline est importante et elle représente 50 et 42 % de la longueur totale des larves respectivement pour *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Enfin, les deux espèces se distinguent au niveau de la pigmentation puisque les mélanophores couvrent environ le tiers de la vésicule vitelline des larves chez *P. bocourti* alors que, chez *P. hypophthalmus*, elles en sont dépourvues.

Le processus d'éclosion dure généralement 3 h après l'éclosion de la première larve. Il peut toutefois se prolonger durant 48 h si les ovules sont de mauvaise qualité, comme c'est le cas avec des ovules collectés plusieurs heures après l'ovulation chez *P. hypophthalmus* et qualifiés de « sur-matures ». Le processus d'éclosion tend également à se prolonger lorsque la température diminue. Ainsi, il est préférable d'employer des dispositifs d'incubation dans lesquels la température de l'eau peut être maintenue à 29 °C lorsque la température ambiante est plus basse. Cette observation nous fait préférer les boîtes d'incubation grillagées, immergées dans un grand volume d'eau réchauffé, aux barquettes pour les tests de fécondation.

4.7.2.2. Développement larvaire

Le développement larvaire est relativement rapide pour les deux espèces, puisque la première prise alimentaire intervient durant le troisième jour après l'éclosion (Figure 85). A l'éclosion, les larves de *P. bocourti* sont 2,1 fois plus grandes que celles de *P. hypophthalmus*, mais, 4 jours après l'éclosion, l'écart n'est plus que de 1,3 fois, ce qui suggère une croissance relativement plus rapide à ce stade pour *P. hypophthalmus*.

T = 0 → éclosion



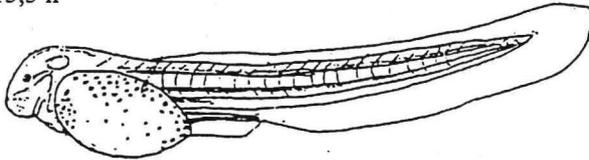
boc :

- Lt = $5,0 \pm 0,3$ mm [4,6 ; 5,5],
- vésicule vitelline : L = 2,4 mm ; H = 1,8 mm.

hyp :

- Lt = 2,4 mm,
- vésicule vitelline : L = 1,0 mm ; H = 0,4 mm.

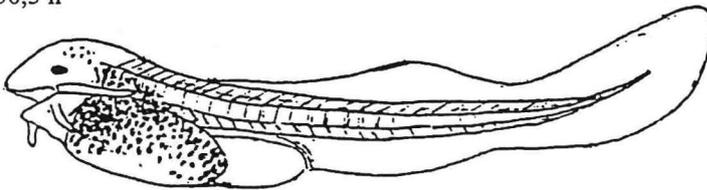
15,5 h



boc :

- Apparition des barbillons,
- comportement grégaire.

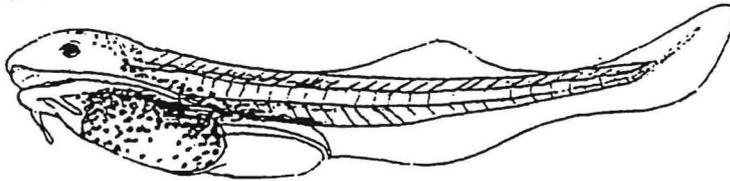
30,5 h



boc :

- Ouverture de la bouche,
- apparition des fentes branchiales.

41,5 h



boc :

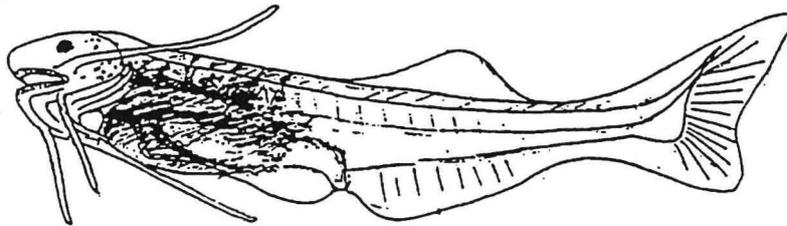
Extension de la pigmentation



Première prise alimentaire
durant le troisième jour

(*P. bocourti* et *P. hypophthalmus*)

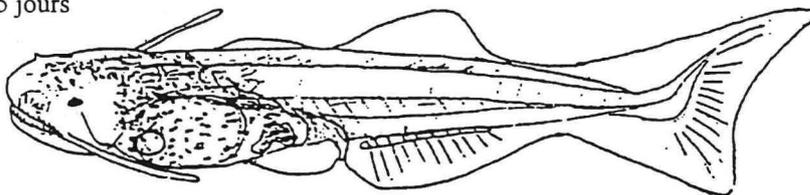
3 jours



boc :

- 4 paires d'arcs branchiaux formés,
- fin du comportement grégaire.

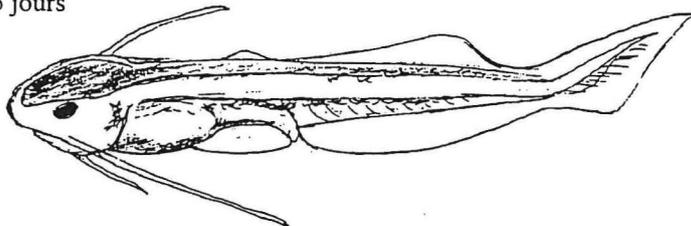
4,5 jours



boc :

- Sac vitellin résorbé,
- apparition des nageoires pectorales,
- Lt = 9,3 mm,
- bouche = 1,6 mm,
- barbillons = 2,0 mm.

4,5 jours



hyp :

- Lt = $7,0 \pm 0,5$ mm [6,6 ; 7,7],
- bouche = 1,1 mm,
- barbillons = 2,9 mm.

1 mm

Température de l'eau :

29-30 °C pour les 2 espèces

Figure 85 : Développement larvaire de *P. bocourti* (hoc) et de *P. hypophthalmus* (hyp)

4.7.3. Gestion des gamètes en conditions de production

4.7.3.1. Modalités de fécondation

Les œufs des deux espèces étudiées sont naturellement collants. De ce fait, la fécondation en présence d'eau pure entraîne une agrégation des œufs susceptible d'altérer l'incubation. Il est donc préférable de réaliser la fécondation en présence d'une solution d'urée (4 g.l⁻¹) et de sel (NaCl à 3 g.l⁻¹) afin d'éviter ce phénomène. Les œufs retrouvent ensuite leur adhésivité en présence d'eau pure (incubation sur filet), ou bien ils peuvent être traités au tanin afin d'éliminer définitivement l'adhésivité (incubation en bouteille de Zoug). Les taux de fécondation obtenus avec la solution d'urée et de sel sont comparables à ceux obtenus avec de l'eau pure. Ces résultats restent toutefois à préciser en tenant compte notamment des données présentées sur la salinité de la solution d'activation.

4.7.3.2. Incubation des œufs sur claies en filet

Ce type d'incubation consiste à étaler les œufs sur un filet en Nylon à maille fine (≤ 1 mm), ne dépassant pas 1 mm, tendu sur un cadre et sur lequel les œufs vont naturellement adhérer jusqu'à l'éclosion. Afin d'augmenter la surface des œufs au contact de l'eau, ceux-ci sont répartis en une couche unique sur le filet avec une plume (l'opération s'effectue dans l'eau). Environ 300 g d'œufs peuvent ainsi être mis en incubation par mètre carré de filet. Les claies sont placées dans des bacs où l'eau est renouvelée en continu durant l'incubation, l'évacuation d'eau étant aménagée pour éviter que les alevins ne s'échappent. Nous avons employé des bacs de 72 litres (L : 60 cm ; l : 40 cm ; H : 30 cm) dont 60 litres en eau (H : 25 cm) qui peuvent contenir trois claies superposées (L : 50 cm ; l : 35 cm), chacune portant 50 g d'œufs. Le renouvellement de l'eau dans ces bacs est de deux litres par minute, soit un renouvellement complet par demi-heure. Enfin, l'eau est aérée par un diffuseur d'air placé dans chaque bac.

Durant l'incubation sur claies en filet, les œufs sont sensibles au développement de champignons comme les *Saprolegna*, surtout lorsque la température est basse (< 28 °C) et lorsque la qualité des œufs est moyenne (présence d'œufs non fécondés). Il est donc préférable d'effectuer un traitement fongicide par baignade des œufs dans une solution de vert de malachite. Pour cela, les claies d'incubation sont transférées dans un bac contenant une solution de vert de malachite à 5 mg.l⁻¹ aérée par un diffuseur d'air. Les claies sont trempées dans cette solution durant 5 minutes, puis elles sont placées dans un bac de rinçage durant 15 minutes avant de retourner dans les bacs d'incubation.

4.7.3.3. Incubation des œufs en bouteilles de Zoug

Ce type d'incubation consiste à placer les œufs en suspension dans l'eau jusqu'à l'éclosion. Afin d'éviter l'agrégation des œufs entre eux, il est, au préalable, nécessaire d'éliminer préalablement leur adhésivité naturelle. Pour cela, les œufs sont trempés dans une solution de tanin¹ (0,8 g.l⁻¹) durant 10 à 20 secondes, au maximum, puis ils sont rincés dans l'eau pure trois fois avant d'être placés en incubation. Celle-ci s'effectue dans un récipient conique dans lequel les œufs sont mis en suspension par un courant d'eau ascendant. L'eau est évacuée par le haut de l'incubateur, à travers un orifice aménagé pour éviter que les alevins ne

¹ : L'acide tannique est un ester de pentadigalloyl (C₇₆H₅₂O₄₆, 1701,18 g.M⁻¹) extrait de la noix de galle ou galle du chêne. La poudre de tanin utilisée ici contient environ 10 % d'humidité.

s'échappent. Nous avons employé des récipients coniques en aluminium de 30 litres (hauteur : 60 cm ; diamètre supérieur : 35 cm ; diamètre inférieur : 7 cm) qui peuvent contenir chacun au moins 200 g d'œufs. Le débit d'eau, dans un récipient conique, est de deux litres par minute, soit un renouvellement complet par quart d'heure. Enfin, l'eau est aérée par un diffuseur d'air placé dans chaque récipient.

Ce type d'incubation ne nécessite pas de traitement fongicide puisqu'aucune saprolégnose n'a été remarquée et ce quelles que soient la température d'incubation et la qualité des œufs.

A la concentration de $0,8 \text{ g.l}^{-1}$, le traitement au tanin ne semble pas avoir d'incidence sur la qualité des œufs pour une durée de trempage n'excédant pas 40 secondes. En revanche, après une minute de trempage, le taux d'éclosion est susceptible d'être fortement altéré. Il s'agit d'observations qui restent à approfondir, afin de définir les limites de l'utilisation du rinçage au tanin, en termes de concentration et de durée.

Les techniques de fécondation et d'incubation mises en œuvres ici ont été inspirées des techniques décrites par Woynarovitch et Horvath (1980) chez les carpes et par Vallod (1987) chez *Silurus glanis*.

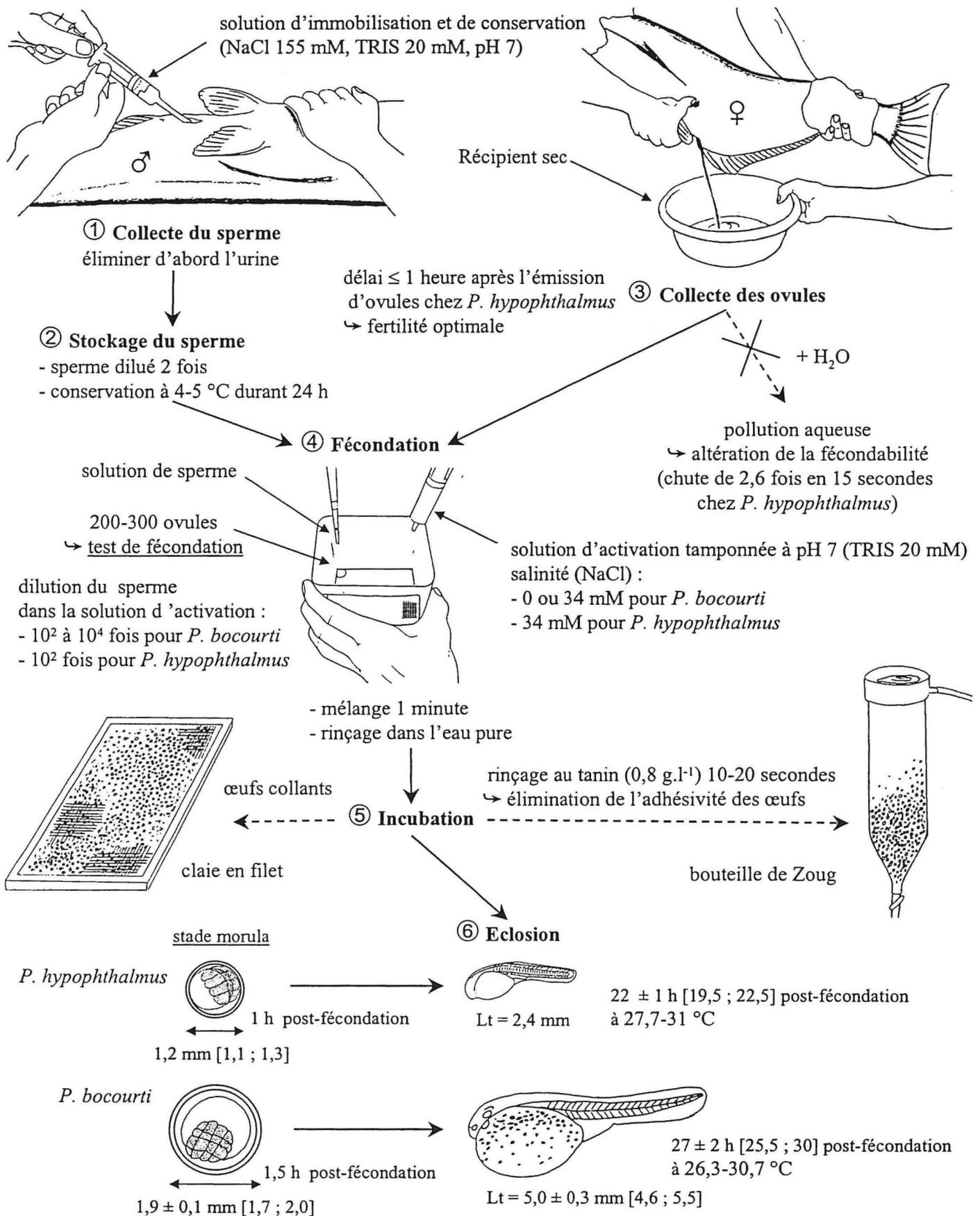


Planche 10 : Gestion des gamètes chez les deux espèces, de la collecte du sperme et des ovules à l'éclosion des larves

CHAPITRE 5

DISCUSSION DES RESULTATS

5.1. CARACTERISTIQUES DES POISSONS GENITEURS

5.1.1. Dimorphisme sexuel

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, les femelles présentent, en moyenne, un poids vif et une longueur supérieurs aux mâles. En outre, certaines femelles, chez *P. hypophthalmus* surtout, présentent un abdomen rebondi en période de reproduction. Hormis ces différences morphologiques, ces deux espèces ne présentent pas de dimorphisme sexuel apparent. Par conséquent, seuls le prélèvement d'ovocytes chez les femelles et l'émission de sperme chez les mâles matures, associés au marquage des poissons, permettent de connaître le sexe des géniteurs. Roberts et Vidhayanon (1991) rapportent que les autres Pangasiidae ne présentent pas non plus de dimorphisme sexuel, à l'exception de *Pangasius macronema* : la nageoire anale est plus large, avec des rayons plus longs, chez les mâles que chez les femelles. En revanche, Legendre *et al.* (1996) rapportent que chez *Silurus glanis* et les Clariidae, la papille génitale a une forme plus allongée chez les mâles. De plus, chez *Silurus glanis*, l'épine de la nageoire pectorale est crénelée chez les mâles uniquement. Chez *Ictalurus punctatus* et *Chrysichthys nigrodigitatus*, les mâles matures présentent une tête bien plus large que le corps, avec des lèvres épaissies, alors que la tête reste fine chez les femelles.

Une différence de croissance en faveur des femelles se retrouve chez *P. pangasius* dans le milieu naturel (Ramakrishniah, 1986). A partir de la cinquième année, la croissance des femelles est supérieure à celle des mâles : à l'âge de six ans, les femelles sont plus développées que les mâles, de 30 % pour le poids vif et de 4 % pour la longueur totale.

5.1.2. Age à la première maturation sexuelle

D'après l'âge présumé des poissons, les premières reproductions ont été obtenues dans la cinquième année de *P. hypophthalmus* et dans la septième année de *P. bocourti* (en 1995). L'absence de reproduction antérieure était vraisemblablement due à la non maîtrise de la reproduction contrôlée chez ces espèces, il est donc probable que l'âge à la première maturation soit inférieur. Chez *P. bocourti*, des spécimens issus des premières reproductions artificielles et élevés en cages flottantes n'ont pas pu être reproduits au cours de leur troisième année¹. L'âge à la première maturation n'est donc pas encore connu chez cette espèce, mais il se situe probablement entre la quatrième et la septième année. Quant à *P. hypophthalmus*, les géniteurs employés par ailleurs ont au moins trois ans (Boonbrahm *et al.*, 1970 ; Huy *et al.*, 1990). Toutefois, d'après des recherches en cours en Indonésie², chez des poissons issus de reproduction artificielle et élevés en étangs, la première maturation sexuelle est observée après seulement 10 mois d'élevage chez les mâles et 19 mois chez les femelles.

A titre de comparaison, chez d'autres poissons-chats tropicaux, la première reproduction contrôlée est obtenue à l'âge de trois ans chez des géniteurs de *Chrysichthys nigrodigitatus* nés en captivité (Nunez Rodriguez *et al.*, 1995) et deux ans chez *Ictalurus punctatus* (Busch, 1985)³. Elle est plus précoce chez les Clariidae : 12-14 mois chez *Heterobranchus longifilis* et 5-7 mois chez *Clarias gariepinus* (Legendre *et al.*, 1992), un an chez *Clarias batrachus* (Thakur et Das, 1986a)⁴, et huit mois chez *Clarias macrocephalus* (Dung *et al.*, 1994).

¹ : Communication personnelle de MM. NGUYEN VAN THUY et TRAN QUOC DAN (ingénieurs en charge de la reproduction de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus* pour l'entreprise AGIFISH).

² : Communication personnelle de Marc LEGENDRE et Jacques SLEMBROUCK (IRD / GAMET, Indonésie).

³ : Cité par Legendre *et al.* (1996).

⁴ : Cités par Tripathi (1996).

Chez *Clarias gariepinus*, l'âge à la première maturation est plus précoce en condition d'élevage (7-8 mois) que dans le milieu naturel (deux ans) (Micha, 1975 ; Richter, 1976)¹. L'influence de l'environnement est également sensible chez *P. pangasius* ; la première maturation intervient au cours de la troisième année en zone d'estuaire (David, 1963) et au cours de la sixième année en eau douce dans un lac de barrage (Ramakrishniah, 1986) ; les géniteurs mesurent respectivement 60 et 64 cm de longueur. L'âge des poissons a été déterminé par comptage des stries concentriques sur les sections d'épines pectorales, selon une méthode mise au point chez *P. pangasius* (Pantulu, 1962).

Chez les poissons tropicaux en général, Woynarovitch et Horvath (1980) rapportent que les espèces qui se reproduisent plusieurs fois par an sont plus précoces que celles qui ne se reproduisent qu'une fois par an et / ou qui ont une saison de reproduction marquée. Cette observation justifierait l'âge probablement avancé de la reproduction chez *P. bocourti*.

¹ : Cités par Legendre et Jalabert (1988).

5.2. VARIATIONS SAISONNIERES DE L'ACTIVITE SEXUELLE

5.2.1. Développement des ovocytes

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, un seul groupe de petits ovocytes est présent dans chaque ovaire en période de repos sexuel ; chez les femelles en maturation, un second groupe d'ovocytes va se développer à partir du stock de petits ovocytes. Ce type de développement ovocytaire est qualifié de « groupe synchrone » par de Vlaming (1983). Il en est de même chez la perche *Perca fluviatilis* et de nombreux Salmonidae, qui présentent deux groupes d'ovocytes en période de maturation. Ce type de développement est le plus répandu chez les poissons. Il se distingue des développements ovocytaires de type « synchrone », chez l'anguille *Anguilla anguilla* et le saumon *Onchorynchus nerka*, et de type « asynchrone », chez la blennie *Blennius pholis*.

Comme *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, les femelles sauvages de *P. pangasius* présentent un développement ovocytaire de type « groupe synchrone » (David, 1963). Au mois de novembre, en dehors de la période de reproduction, un seul groupe d'ovocytes de petite taille est présent dans les ovaires (0,048-0,192 mm). Un second groupe d'ovocytes apparaît ensuite au mois de février et croît jusqu'au mois d'avril ; la couleur des ovocytes passe de rose à jaune. Les ovocytes qui atteignent une taille suffisante (0,912-1,344 mm) seront pondus au cours de la saison de reproduction.

En complément des mesures de diamètre ovocytaire, les stades de l'ovogénèse restent à préciser chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* par l'observation de coupes histologiques. L'étude de l'ovogénèse en relation avec le diamètre ovocytaire a été rapportée en particulier chez la carpe *Cyprinus carpio* (Horvath, 1986), les anguilles *Anguilla anguilla* (Pankhurst, 1982) et *A. japonica* (Sato *et al.*, 1996). Par ailleurs, la mesure du rapport gonado-somatique (RGS) a été réalisée en complément des mesures de diamètre ovocytaire chez *P. pangasius* (David, 1963).

La maturation sexuelle de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus* est un phénomène saisonnier, comme c'est généralement le cas chez les poissons qui présentent un développement des ovocytes de type groupe synchrone (de Vlaming, 1983). Ici, la maturité des femelles est considérée comme atteinte lorsqu'elles sont réceptives à l'induction hormonale de la reproduction, c'est à dire lorsque la valeur modale du diamètre ovocytaire atteint 1,0 mm chez *P. hypophthalmus* et 1,3 mm chez *P. bocourti*. En fait, chez *P. bocourti*, la maturité réelle correspond à un développement supérieur des ovocytes (1,6 mm), mais qui ne peut être atteint qu'après un traitement préliminaire (injections répétées d'une faible dose d'hCG). D'après ce critère, parmi les poissons élevés en étangs en 1995 et 1996, la proportion de femelles atteignant la maturité au cours de l'année est sensiblement plus élevée chez *P. hypophthalmus* (75 %) que chez *P. bocourti* (62 et 70 %). Chez *P. hypophthalmus*, cette proportion est supérieure à celle rapportée par Huy *et al.* (1990) selon un critère similaire (57 % en moyenne).

Legendre *et al.* (1996) rapportent que la plupart des poissons-chats présentent une reproduction saisonnière dans leur milieu naturel. Il en est généralement de même en conditions d'élevage, mais cela dépend des espèces, de la provenance des géniteurs et des caractéristiques de l'environnement. En revanche, le nombre de pontes au cours de la saison de reproduction et les fécondités successives sont variables. Chez la majorité des femelles de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, une seule ponte annuelle est obtenue en conditions d'élevage, tout comme chez *Ictalurus punctatus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* et *Silurus glanis*.

En revanche, d'autres poissons-chats peuvent se reproduire plusieurs fois par an, comme *Clarias gariepinus*, *Rhamdia sapo* et *Hoplosternum littorale*.

Dans le cas d'une reproduction annuelle unique, la ponte correspond à l'émission totale du groupe d'ovocytes développés. Cependant, environ un tiers des femelles de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* peuvent pondre une seconde fois au cours de la même saison de reproduction. Les secondes pontes obtenues chez *P. hypophthalmus* au cours d'une même saison de reproduction présentent une fécondité relative deux fois plus élevée en moyenne que celle des premières pontes. Par ailleurs, les ovaires sont vidés à chaque fois du groupe d'ovocytes le plus développé. Les pontes successives de *P. hypophthalmus* sont donc vraisemblablement des pontes multiples, issues de différents stocks d'ovocytes dont le développement est asynchrone (de Vlaming, 1983). C'est le cas notamment chez le milkfish *Chanos chanos*, qui peut pondre six fois de suite au cours d'une même saison de reproduction (Tamaru *et al.*, 1988). En revanche, la faible fécondité de la seconde ponte obtenue chez *P. bocourti* suggère qu'elle correspond au reliquat d'un stock unique d'ovocytes post-vitellogéniques. Cette espèce présenterait donc une ponte fractionnée en conditions d'élevage.

5.2.2. Spermiation des mâles

La spermiation saisonnière observée chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* reflète un développement saisonnier des testicules. Cette correspondance a été mise en évidence par l'observation de plusieurs spécimens de *P. bocourti* dont le RGS varie de 0,08 à 1,00 %. Il en est de même chez *P. hypophthalmus* (données non présentées)¹. Dans le milieu naturel, le développement des testicules chez *P. pangasius* fluctue encore davantage au cours de l'année, de 0,5 à 6 % en moyenne (David, 1963). La production spermatique est également saisonnière chez la truite *Onchorynchus mykiss* puisque la présence de cellules germinales (spermatogonies B) et de spermatozoïdes est cyclique au cours de l'année (Billard *et al.*, 1982). De même, le sperme produit chez cette espèce n'est fertile que durant la période de reproduction. A l'opposé, la production spermatique est constante chez la carpe *Cyprinus carpio*, avec la présence simultanée de cellules germinales (spermatogonies A et B) et de spermatozoïdes dans les testicules. La production de sperme s'effectue à peu près toute l'année chez cette espèce, avec une fertilité constante.

5.2.3. Influence des fluctuations de l'environnement sur la maturation gonadique

L'augmentation de la température de l'eau et celle de la photopériode durant la saison sèche sont probablement les stimuli qui induisent la gamétogenèse chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Des observations réalisées en Indonésie sur des géniteurs de *P. hypophthalmus* élevés en étangs renforcent cette hypothèse (Legendre *et al.*, 1999). Contrairement à ce qui a été observé au Viêt-Nam, le diamètre ovocytaire moyen reste élevé toute l'année et la reproduction d'une même femelle peut être induite trois à quatre fois par an. Par ailleurs, malgré une fluctuation saisonnière du RGS, des mâles spermiant sont présents toute l'année en proportion importante. Les poissons géniteurs en Indonésie ne présentent donc pas de cycle sexuel marqué. Par rapport au Sud Viêt-Nam (10° latitude nord), la région concernée² en Indonésie (6° latitude sud) est sensiblement plus proche de l'équateur. L'environnement naturel y est donc relativement plus stable, et, notamment, la température de

¹ : Observations et pesées de testicules de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* matures, effectuées en mai 1998 par Marc CAMPET (doctorant CIRAD / GAMET – ENSAR).

² : Station de Sukamandi, près de Jakarta.

l'eau est toujours supérieure à 28 °C, la variation de photopériode est d'une demi-heure seulement et la saison des pluies semble moins marquée qu'au Viêt-Nam.

En conditions d'élevage au Viêt-Nam, la maturité sexuelle de *P. bocourti* et celle de *P. hypophthalmus* culminent lorsque la température de l'eau est maximale (au moins 30 °C en moyenne). Le seuil de sensibilité thermique paraît toutefois différent entre les deux espèces ; les premières femelles matures sont observées en étangs lorsque la température dépasse 26 °C chez *P. bocourti* et 28 °C chez *P. hypophthalmus*. La somme de degrés jours requise pour atteindre la maturité est en moyenne de 1700 ° jours chez *P. bocourti* (65 jours à 26 °C) et de 3200 ° jours chez *P. hypophthalmus* (114 jours à 28,2 °C). Chez *P. hypophthalmus*, l'intervalle entre les observations ayant été trop long en période de maturation (3 mois), la somme de degrés jours requise est probablement inférieure.

Legendre *et al.* (1996) indiquent que l'augmentation de la température intervient également dans la maturation sexuelle de la plupart des autres poissons-chats ; la reproduction commence lorsque la température atteint 20 °C chez *Silurus glanis* et 21 °C chez *Ictalurus punctatus*. Le rôle de la température a pu être mis en évidence avec des poissons élevés en bacs à différentes températures. Chez *Heteropneustes fossilis*, la proportion d'ovocytes matures atteint 60 % après 45 jours à 30 °C ou 60 jours à 20 °C (Saxena et Sandhu, 1984). Chez *Heterobranchus longifilis* et *Clarias gariepinus*, les femelles maintenues à la température de 25 °C présentent des cycles de maturation qui se succèdent toutes les 6-8 semaines (Hogendoorn et Vismans, 1980). Des *Silurus glanis* maintenus à la température de 20-26 °C peuvent également se reproduire toute l'année. Il en est de même chez la carpe *Cyprinus carpio* qui présente normalement une reproduction saisonnière sous les latitudes tempérées en Europe Centrale (Horvath, 1986). Les femelles maintenues à 20-24 °C, peuvent être reproduites jusqu'à cinq fois par an, avec 1,5 à 3 mois d'intervalle entre les pontes. Cet auteur indique également que la somme de degrés jours requise pour atteindre la maturité est de 2000-2500 en condition naturelle, et de 1200-2000 à température constante (20-24 °C), soit des valeurs du même ordre que chez *P. bocourti* (1400-2500).

En revanche, il a été aussi montré qu'une température trop élevée entraîne la régression des gonades, à partir de 30 °C chez *Heterobranchus longifilis*, *Clarias gariepinus* et *Ictalurus punctatus*, et à partir de 32 °C chez *Chrysichthys nigrodigitatus* (Legendre *et al.*, 1996). Chez la carpe *Cyprinus carpio*, dont la température naturelle lors de la reproduction est d'environ 20 °C, le taux d'ovulation est optimal à 22-23 °C, mais aucune ovulation n'a été obtenue à une température de 26-28 °C (Horvath, 1986). De tels effets négatifs liés à une température trop élevée n'ont pas été observés chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, et, par ailleurs, leurs pics de maturation gonadique coïncident avec les températures les plus élevées de l'année.

Si le rôle de la température semble évident, celui de la photopériode est difficile à déterminer car ces deux paramètres augmentent simultanément durant la phase de maturation gonadique. Par ailleurs, autant l'influence de la photopériode est bien connue chez les Salmonidae des régions tempérées (Bromage *et al.*, 1992), autant son influence sur la reproduction des poissons tropicaux semble peu précisée. La gamétogenèse chez les femelles de tilapia *Oreochromis niloticus* a toutefois été étudiée en relation avec les fluctuations de l'environnement, dont la photopériode, dans des lacs de Côte d'Ivoire (Duponchelle, 1997). Chez cette espèce, le développement des ovocytes coïncide particulièrement bien avec l'évolution de la photopériode. D'après l'auteur, la photopériode conditionne le cycle annuel de maturation, alors que les fluctuations des autres paramètres tels que la température, la pluviométrie et la richesse du milieu déterminent le niveau annuel des performances de reproduction. Cependant, comme dans le delta du Mékong, l'augmentation de la température

dans le milieu naturel étudié en Côte d'Ivoire s'accompagne aussi d'une augmentation de la température. Il est donc difficile de conclure quant au rôle de chacun de ces deux facteurs. L'étude de chacun de ces facteurs requiert un suivi de la maturation avec des géniteurs élevés en conditions contrôlées, comme cela a été rapporté chez la carpe *Cyprinus carpio* et le poisson-rouge *Carassius auratus* (Aida, 1988). Chez ces deux espèces, c'est la température qui conditionne l'ovogénèse et la ponte, quelle que soit la photopériode. Néanmoins, dans les trois jours qui suivent l'augmentation de la température induisant la reproduction, c'est la photopériode qui détermine le moment précis de la ponte. Enfin, chez *Heteropneustes fossilis* et le snakehead fish *Channa punctatus*, la réponse à la photopériode dépend de la température (Sundararaj et Vasal, 1976 ; Garg et Jain, 1985)¹. D'après ces auteurs, la vitellogenèse a lieu à partir d'une certaine température au voisinage de laquelle le rôle de la photopériode est important ; à une température bien supérieure, la photopériode a peu d'influence.

En conditions d'élevage, la saison de reproduction de *P. bocourti* intervient principalement en saison sèche, alors que celle de *P. hypophthalmus* commence en fin de saison sèche et se prolonge durant la saison des pluies. Dans le Mékong, les alevins de Pangasiidae dévalent le fleuve et sont capturés dans le delta en saison des pluies, de juin à septembre (Lenormand, 1996). L'âge des juvéniles peut alors être extrapolé à partir de leur poids vif : les *P. bocourti* ont un à deux mois (1-10 g), alors que les *P. hypophthalmus* n'ont généralement qu'une dizaine de jours (35 mg en moyenne pour un échantillon). Ces juvéniles sont donc issus d'une reproduction intervenant en fin de saison sèche chez *P. bocourti*, et en début de saison des pluies chez *P. hypophthalmus*. Ces observations suggèrent qu'en élevage, comme dans le milieu naturel, la pluviométrie ne semble pas intervenir dans la maturation gonadique, au moins chez *P. bocourti* et une partie des *P. hypophthalmus* observés. Dans le milieu naturel, il est cependant possible que la pluviométrie joue un rôle dans la phase finale de maturation gonadique et le comportement de ponte, chez *P. hypophthalmus* en particulier.

Dans le delta du Mékong au Viêt-Nam, plusieurs autres Pangasiidae présentent des signes de maturité sexuelle en saison des pluies : *Pangasius conchophilus*, « ca tra ban », *P. macronema* et *P. polyuranodon* (Lenormand, 1996), ainsi que *P. krempfi* en amont du delta au Laos (Cacot et Campet, 1998). En Asie du Sud, *P. pangasius* se reproduit aussi durant la mousson (David, 1963), ainsi que la plupart des autres poissons-chats, dont *Mystus* sp., *Rita* sp., *Ompok* sp., *Silonia silondia*, *Wallago attu*, *Heteropneustes fossilis* et *Clarias batrachus* (Tripathi, 1996). La saison des pluies est également la période de reproduction privilégiée des poissons-chats en Afrique, dont *Heterobranchus longifilis* et *Chrysichthys nigrodigitatus* (Nunez Rodriguez *et al.*, 1995). D'une manière générale, la période de reproduction des Clariidae intervient lors des plus fortes pluies : d'avril à octobre dans l'hémisphère nord, et de novembre à mars dans l'hémisphère sud (Bruton, 1979)².

Chez le Characidae *Brycinus leuciscus*, dont la maturation coïncide avec le début des pluies et de la crue dans le bassin du Niger, Bénech et Outtara (1990) suggèrent que les fluctuations de la composition ionique de l'eau et / ou de l'abondance de nourriture constitueraient les stimuli directs de la maturation. Conséquence des précipitations abondantes, la crue permet aux poissons d'accéder aux frayères dans la végétation immergée. Pour la plupart des poissons, la reproduction avant la crue, ou en début de crue, assure une meilleure chance de survie aux juvéniles : la plaine d'inondation constitue une étendue d'eau où la nourriture est abondante et où la prédation est moindre (Welcomme, 1979). Ainsi, pour de nombreuses espèces du delta du Mékong, la zone inondable et boisée qui borde le lac Tonlé-Sap au Cambodge constitue une zone privilégiée de reproduction (Chevey et Le Poulain, 1940).

¹ : Cités par Saxena et Sandhu (1984).

² : Cité par Legendre et Jalabert (1988).

P. bocourti et *P. hypophthalmus* présentent des cycles sexuels aussi marqués en cages flottantes qu'en étangs. De plus, pour chaque espèce, les périodes de maturation sont les mêmes dans les deux milieux d'élevage, bien que les fluctuations de débit et de transparence de l'eau y soient différentes. Ces deux facteurs semblent donc avoir peu d'incidence sur la détermination des cycles annuels de maturation gonadique, tout comme la pluviométrie, par rapport aux fluctuations de la température et de la photopériode.

Tableau 28 : Diamètre des ovocytes sensibles à l'induction hormonale de la maturation ovocytaire chez plusieurs espèces de poissons

Espèce	Diamètre ovocytaire (mm)	Référence
<i>Heterobranchus longifilis</i>	1,0 – 1,1	Legendre (1986)
Pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i>	≥ 1,06 (*)	Carolsfeld <i>et al.</i> (1988)
<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	≥ 0,8	Kossowski (1996)
Lates, <i>Lates calcarifer</i>	0,38 – 0,53	Almendras <i>et al.</i> (1988)
Mérou, <i>Epinephelus fario</i>	0,47 – 0,73	Kuo <i>et al.</i> (1988)
Milkfish, <i>Chanos chanos</i>	≥ 0,600	Tamaru <i>et al.</i> (1988)
<i>P. hypophthalmus</i>	≥ 1,0	Huy <i>et al.</i> (1990)
<i>P. hypophthalmus</i>	≥ 1,0	Auteur
<i>P. bocourti</i>	≥ 1,6	Auteur

(*) : Diamètre ovocytaire moyen.

5.3. INDUCTION DE LA MATURATION OVOCYTAIRE ET DE L'OVULATION

5.3.1. Choix des femelles matures

Le choix des géniteurs matures et la durée du traitement hormonal sont conditionnés par la taille des ovocytes. Les ovocytes sont considérés comme suffisamment développés lorsque leur diamètre atteint 1,0 et 1,6 mm respectivement chez *P. hypophthalmus* et *P. bocourti*. Ce critère d'évaluation de la maturité a été rapporté chez six autres espèces (Tableau 28). Il conditionne le succès de la reproduction induite, et, chez le milkfish *Chanos chanos* en particulier, Tamaru *et al.* (1988) ont montré que le taux de ponte obtenu augmente avec le diamètre ovocytaire. La notion de diamètre seuil était déjà employée par Huy *et al.* (1990) pour sélectionner les femelles de *P. hypophthalmus* réceptives au traitement hormonal. La proportion d'ovocytes bien développés (i.e. diamètre d'au moins 1,0 mm) devait atteindre 80 %, sinon les femelles étaient jugées immatures et laissées en étangs une ou deux semaines supplémentaires afin qu'elles achèvent naturellement leur maturation. Par ailleurs, Thalathiah *et al.* (1988) rapportent que les femelles de *P. hypophthalmus* matures présentent des ovocytes de taille homogène et facilement dissociables, mais ceux-ci n'ont pas été mesurés.

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, les ovocytes de petite taille sont de couleur jaune-rosé alors que les ovocytes bien développés sont jaunes clair. Néanmoins, c'est la mesure du diamètre ovocytaire qui permet de déterminer avec précision le degré de maturité. La coloration des ovocytes est cependant évoquée comme l'un des critères d'évaluation de la maturité chez *P. hypophthalmus* (Thalathiah *et al.*, 1988) et *P. pangasius* (Meenakarn, 1986). Elle est également caractéristique chez les Clariidae matures : verte chez *Clarias gariepinus* et jaune-brun chez *C. macrocephalus* (Dung *et al.*, 1994).

La vésicule germinative est en position centrale dans tous les ovocytes chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, quel que soit le diamètre ovocytaire, avant l'application d'un traitement hormonal. La position de la vésicule germinative ne constitue donc pas un critère d'évaluation de la maturité sexuelle chez ces deux espèces, tout comme chez la plupart des poissons-chats. Elle est néanmoins prise en compte chez *Pseudoplatystoma fasciatum* et *Callophysus macropterus* (Kossowski et Madrid, 1985)¹. Chez *Clarias macrocephalus* et *C. gariepinus*, les femelles sélectionnés pour la reproduction artificielle présentent une migration de la vésicule germinative dans 80 % des ovocytes observés (Dung *et al.*, 1994).

Les femelles de *P. hypophthalmus* matures présentent souvent un abdomen dilaté et mou, révélant des ovaires bien développés dans la cavité abdominale. Chez *P. bocourti*, un abdomen dilaté n'est pas toujours associé à des ovaires développés, car le tissu adipeux peut être important dans la cavité abdominale. Quant à la papille génitale, son état n'est pas forcément en rapport avec le stade de maturité chez les deux espèces, sauf juste au moment de l'ovulation, quand elle est alors rose et dilatée. Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, l'aspect de l'abdomen et de la papille génitale ne sont donc pas pris en compte dans le choix des femelles matures. En revanche, ces deux critères sont considérés par d'autres auteurs pour sélectionner des femelles matures chez *P. hypophthalmus* (Huy *et al.*, 1990 ; Meenakarn, 1986 ; Thalathiah *et al.*, 1988) et *P. pangasius* (Meenakarn, 1986). C'est également le cas de *Piaractus mesopotamicus* (Carolsfeld *et al.*, 1988), *Clarias macrocephalus* et *Clarias gariepinus* (Dung *et al.*, 1994).

¹ : Cités par Kossowski (1996).

5.3.2. Traitement hormonal progressif adapté au stade de maturité

Le traitement mis au point chez *P. bocourti* se distingue par une phase préliminaire qui consiste en une succession d'injections quotidiennes d'hCG à faible dose (500 UI.kg^{-1}). La dose totale d'hormone ainsi injectée est de 2100 UI.kg^{-1} en moyenne pour quatre injections ; elle varie de 500 à 5300 UI.kg^{-1} pour respectivement une et dix injections. Ce traitement préliminaire dit de finition induit la fin de la vitellogenèse, en permettant d'obtenir des ovocytes matures et donc réceptifs au traitement ovulatoire qui va suivre. La durée du traitement de finition dépend, pour chaque femelle, du diamètre ovocytaire initial et de son accroissement : il est interrompu lorsque la proportion d'ovocytes de grande taille (au moins 1,6 mm) représente le trois quart des ovocytes (mesurés à partir de 0,4 mm).

Chez *P. hypophthalmus*, le traitement de finition est facultatif et plus court que chez *P. bocourti*. Il permet quand même d'augmenter la taille des ovocytes et d'améliorer de 20 % le taux d'ovulation obtenu après le traitement ovulatoire : sur l'ensemble des traitements, il est de 93 % ($n = 48$) et de 73 % ($n = 19$) respectivement avec et sans traitement de finition. Un protocole semblable a été employé par Huy *et al.* (1990) chez *P. hypophthalmus*. Une à trois injections d'une faible dose d'extraits hypophysaires chacune (0,2-1,5 dose par poisson) étaient destinées à augmenter la taille des ovocytes, puis, 12 h après la dernière injection, le traitement ovulatoire était appliqué en une seule injection (2 à 4 doses d'extraits hypophysaires associées avec 1000 à $10.000 \text{ UI hCG.kg}^{-1}$). Les auteurs ne précisent toutefois pas le délai entre les injections du traitement préliminaire, ni l'évolution consécutive du diamètre ovocytaire.

Pour la plupart des poissons tropicaux, la maturation ovocytaire et l'ovulation sont induites par un traitement relativement court et appliqué directement, comprenant une, deux, ou rarement trois injections, administrées à 6-12 h d'intervalle (Woynarovitch et Horvath, 1980). L'application d'un traitement préliminaire a cependant été rapportée par ces auteurs chez le colossoma *Colossoma oculus*, pour induire le développement des gonades jusqu'au stade « pré-ovulatoire ». Il comprenait cinq injections d'extraits hypophysaires, correspondant chacune à 5-10 % de la dose ovulatoire et appliquées à 24 h d'intervalle. C'est d'ailleurs cet exemple de traitement qui a inspiré la mise au point du traitement progressif chez *P. bocourti*.

Chez les mérus *Epinephelus fario* et *E. salmonoides*, la ponte est induite par un traitement à l'hCG qui est adapté au stade de maturité, lui-même apprécié par le diamètre ovocytaire (Kuo *et al.*, 1988). Chez *E. fario*, une dose de 1000 UI.kg^{-1} est injectée deux ou trois fois, à 24 h d'intervalle, suivant que le diamètre ovocytaire moyen initial est inférieur ou supérieur à 0,55 mm. Chez *E. salmonoides*, une dose totale de $1608\text{-}2306 \text{ UI.kg}^{-1}$ est injectée en deux fois si le diamètre ovocytaire initial dépasse 0,55 mm ; si le diamètre ovocytaire est inférieur à 0,55 mm, la dose totale est augmentée à $2552\text{-}2870 \text{ UI.kg}^{-1}$ et elle est injectée en trois fois à 24 h d'intervalle.

L'application régulière d'une faible dose d'hormone gonadotrope peut également induire le développement ovocytaire chez des anguilles initialement immatures. Chez *Anguilla anguilla*, il s'agit d'une injection simultanée d'hCG (500 UI.kg^{-1}) et d'extrait hypophysaires de saumon (5 mg.kg^{-1}) appliquée deux fois par semaine durant 33 semaines (Pankhurst, 1982). Chez *A. japonica*, une injection hebdomadaire de sGtH durant 9-10 semaines induit le développement des ovaires (Sato *et al.*, 1996).

Selon le même principe, l'hCG peut être employée chez des mâles d'anguille immatures. Ainsi, chez *A. japonica*, Ohta *et al.* (1996) ont montré qu'une injection hebdomadaire d'hCG (1000 UI.kg^{-1}), appliquée pendant 5-6 semaines, induit la spermatogenèse et la spermiation.

Tableau 29 : bilan des traitements l'hCG destinés à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*

Espèce	Traitement ^(a)	Température (° C)	Temps de Latence post i1 ^(b)	Temps de Latence post if ^(c)	Ovulation (%)
<i>P. bocourti</i>	TF + 2200 UI	27-29,8	17,5 h [13 ; 24]	-	75 (n = 4)
<i>P. bocourti</i>	TF + 1500 UI + 2400 UI après 9,5 h	26,5-31,3	19,5 h [14 ; 25]	10 h [4,5 ; 15]	71 (n = 59)
<i>P. bocourti</i>	TF + 1500 UI + 2500 UI après 9,5 h + 2500 UI après 15,5 h	28-30	-	-	0 (n = 3)
<i>P. hypophthalmus</i>	TF + 1600 UI	27-30	* 11,5 h [8 ; 15]	-	93 (n = 15)
<i>P. hypophthalmus</i>	TF + 500 UI + 2270 UI après 9,5 h	27-30	21 h [17,5 ; 26,5]	11 h [10 ; 17]	90 (n = 31)
<i>P. hypophthalmus</i>	TF + 1500 UI + 2400 UI après 8 h	28-30	** 16 h [14 ; 18]	8 h [5,5 ; 10]	90 (n = 11)
<i>P. hypophthalmus</i>	TF + 500 UI + 1000 UI après 9,5 h + 1500 UI après 9 h	27-30	26,5 h [21,5 ; 34]	8 h [3 ; 15,5]	77 (n = 9)

^(a) : Doses par kg de poids vif,

^(b) : après la première injection ovulatoire,

^(c) : après la dernière injection ovulatoire,

- TF : traitement de finition :

- chez *P. bocourti* : 500 UI par injection quotidienne, 4 injections en moyenne (1 à 10),

- chez *P. hypophthalmus* : facultatif, appliqué chez 76 % des poissons, 600 UI par injection quotidienne, 1 à 2 injections,

- différences significatives entre *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* pour les traitements équivalents : * (P < 0,05) ; ** (P < 0,01).

Le principe de ces injections répétées repose sur la stimulation prolongée du développement ovocytaire avec de faibles doses d'hormones gonadotropes : elles vont mimer une augmentation modérée de la GtH endogène. Chez l'anguille *A. japonica*, Sato *et al.* (1996) ont mis en évidence que la sGtH injectée sous forme de solution saline disparaissait rapidement du plasma, de $7 \mu\text{g.ml}^{-1}$ à 1 ng.ml^{-1} en 48 h, d'où la nécessité de répéter les injections. Cette technique impose donc de manipuler fréquemment les poissons géniteurs, ce qui constitue un facteur de stress susceptible d'affecter les performances de reproduction.

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, une alternative possible aux injections répétées consisterait à injecter l'hormone, non plus diluée en solution saline, mais sous la forme d'un implant solide dont la nature permettrait la diffusion progressive de l'hormone. Sherwood *et al.* (1988) rapportent que ce type de traitement a été testé avec succès chez le saumon *Salmo salar*, la truite *Onchorynchus mykiss*, le poisson rouge *Carassius auratus*, le hareng, le lates *Lates calcarifer* et le milkfish *Chanos chanos*. Il s'agit d'implants de cellulose et / ou de cholestérol qui contiennent du GnRH α (de l'ordre de $100 \mu\text{g}$ pour 30 mg de matrice), implantés dans la cavité abdominale du poisson. Dans ce cas, le GnRH α va stimuler indirectement le développement des gonades, via la libération de GtH endogène par les cellules gonadotropes de l'adénohypophyse. Les auteurs montrent que la diffusion de l'hormone dépend de la composition de l'implant : de 90 % en 24 h (100 % cellulose) à seulement 36-38 % en 28 jours (100 % cholestérol). Le traitement peut donc être modulé en fonction du degré initial de maturité du poisson. Chez le poisson rouge *Carassius auratus*, les auteurs rappellent que le GnRH α injecté en solution saline disparaît à 90 % dans les 45 mn qui suivent l'injection.

5.3.3. Traitement ovulatoire et taux d'ovulation obtenu

Pour induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez les poissons-chats, l'hCG est généralement administrée en une seule injection à une dose variant de 1000 à 4000 UI.kg $^{-1}$, à l'exception de *Clarias fuscus* qui reçoit deux injections (

Annexe 52). Les doses appliquées ici lors du traitement ovulatoire sont du même ordre, en moyenne de 2200-3900 UI.kg $^{-1}$ pour respectivement une ou deux injections chez *P. bocourti* et 1600-2800-3900 UI.kg $^{-1}$ pour respectivement une, deux ou trois injections chez *P. hypophthalmus* (Tableau 29).

Chez *P. bocourti*, le délai moyen entre une injection unique (2200 UI.kg $^{-1}$) et l'émission des ovules est de 17,5 h. Dans le cas d'un traitement à deux injections, le délai moyen entre la première injection (1500 UI.kg $^{-1}$) et l'émission des ovules est de 19,5 h. Les intervalles de température sont semblables et respectivement de 27,3-28,9 °C et de 28,2-29,7 °C. Ces deux temps de latence sont proches et ils suggèrent donc qu'une injection de 1500 UI.kg $^{-1}$ est suffisante pour initier le processus de maturation ovocytaire. Cette hypothèse est renforcée par le fait que la vésicule germinative passe du centre à la périphérie des ovocytes entre les deux injections. Chez *P. hypophthalmus*, une injection unique de 1600 UI.kg $^{-1}$ suffit à induire la maturation ovocytaire jusqu'à l'ovulation. En revanche, aucune initiation du processus de maturation ovocytaire n'a été observée chez les deux espèces avec une dose de l'ordre de 500 UI.kg $^{-1}$.

En considérant l'ensemble des femelles induites, le taux d'ovulation obtenu est de 59 % (n = 76) chez *P. bocourti* et de 88 % (n = 67) chez *P. hypophthalmus*. A titre de comparaison, les résultats obtenus par d'autres auteurs chez *P. hypophthalmus* sont présentés en Annexe 5. Le taux d'ovulation obtenu ici est comparable à celui rapporté par Legendre *et al.* (1999) avec du GnRH α associé à du dompéridone (86 %), par Thalathiah *et al.* (1988) avec

de l'hCG associé à des extraits hypophysaires (93 %) et par Xuan (1994) avec ces mêmes hormones (80-90 %). Le taux d'ovulation obtenu ici est en revanche meilleur que celui obtenu par Huy *et al.* (1990) avec des extraits hypophysaires et de l'hCG (67 %) et avec du GnRH α et des extraits hypophysaires (70 %). Les résultats obtenus ici chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont du même ordre que ceux rapportés chez d'autres espèces de poissons-chats traités à l'hCG, mais néanmoins inférieurs à ceux de *Clarias fuscus* et de *Heterobranchus longifilis* chez lesquels 100 % d'ovulation sont rapportés (Annexe 52).

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, la réussite de l'induction hormonale est conditionnée par la taille des ovocytes, d'une part, et par l'état des ovocytes, d'autre part. La présence d'ovocytes en atresie est généralement associée à une mauvaise réponse à l'induction hormonale, lors du traitement préliminaire ou ovulatoire.

Par ailleurs, le fractionnement de la dose ovulatoire en une, deux ou trois injections successives n'a pas d'incidence sur le taux d'ovulation chez *P. hypophthalmus*. L'ovulation de *P. bocourti* a pu être induite avec une seule injection, mais ce résultat est à confirmer compte tenu du faible nombre de poissons traités ($n = 4$). Plusieurs injections ovulatoires ne semblent donc pas nécessaires, au moins chez *P. hypophthalmus*, même si Woynarovitch et Horvath (1980) préconisent deux injections ovulatoires chez les poissons tropicaux en raison de leur métabolisme rapide à température ambiante élevée.

5.3.4. Le temps de latence

5.3.4.1. Cinétique des processus de maturation ovocytaire et d'ovulation

Lorsque deux injections ovulatoires sont appliquées chez *P. hypophthalmus*, le processus de maturation ovocytaire, apprécié par l'éclatement des vésicules germinatives, est rapide et relativement synchrone. Il dure en moyenne 2,5 h, de 15,5 à 18 h après la première injection d'hCG, à la température de 29 °C. Chez *P. bocourti*, la cinétique du processus de maturation ovocytaire a été étudiée moins précisément que chez *P. hypophthalmus*. Les observations montrent toutefois que l'éclatement des vésicules germinatives est achevé après 3,5 h, de 16 à 19,5 h après la première injection d'hCG, à la température de 28,2 °C. Par rapport à *P. bocourti*, la maturation ovocytaire chez *P. hypophthalmus* semble donc plus rapide de 1 h en moyenne. Le temps de latence, ou délai entre la première injection ovulatoire et l'émission des ovules, est également plus court chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*. La différence est de 35 % ($P < 0,01$) et 19 % ($P < 0,001$) avec respectivement un traitement à une et deux injections ovulatoires (Tableau 29). La durée globale des processus de maturation ovocytaire, d'ovulation et d'émission des ovules est donc plus rapide chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*.

Après une seule injection ovulatoire, les temps de latence chez *P. bocourti* (13 à 24 h) et *P. hypophthalmus* (8 à 15 h) sont du même ordre que chez d'autres poissons-chats tropicaux tels que *Heterobranchus longifilis*, *Clarias macrocephalus* et *C. gariepinus* (Annexe 52). Le temps de latence rapporté chez *Ictalurus punctatus* est par contre nettement plus long, malgré une température de l'eau qui n'est que légèrement plus basse (jusqu'à 72 h à 26-27 °C).

L'émission des ovules n'est obtenue que lorsque le processus d'ovulation est achevé chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. A l'inverse, l'émission d'ovules peut être obtenue chez d'autres poissons-chats avant que le processus d'ovulation ne soit achevé. C'est le cas chez *Heterobranchus longifilis*, dont le processus d'ovulation dure 3-4 h à 30 °C (Legendre et Otémé, 1995), et chez *Clarias batrachus*, avec une augmentation de la quantité d'ovules collectés de 14 à 17 h après l'injection à 25 °C (Zonneveld *et al.*, 1988). Il en est de même

Tableau 30 : Durée de survie des ovules *in vivo* après induction de la maturation ovocytaire et de l'ovulation chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Traitement hormonal ^(a)	Température (°C)	Durée de survie (h) ^(b)	Référence
<i>Silurus glanis</i>	5 mg EH de carpe	24	< 4	Linhart et Billard (1995)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	1500 UI hCG	29	< 4	Legendre et Otémé (1995)
<i>Clarias macrocephalus</i>	2000 UI hCG	26-31	< 12	Mollah et Tan (1983b) ^(d)
<i>Clarias gariepinus</i>	4 mg EH de carpe	20 30	< 9 ^(c) < 2 ^(c)	Hogendoorn et Vismans (1980)
<i>Rhamdia sapo</i>	3 mg EH de <i>Prochilodus</i>	20 24	< 9 < 5	Espinach Ros <i>et al.</i> (1984) ^(d)
<i>P. hypophthalmus</i>	hCG ou LHRHa + dompéridone	27-29	< 2	Legendre <i>et al.</i> (1999)
<i>P. hypophthalmus</i>	500 UI hCG + 2000 UI après 10 h	28-30	≤ 1	Auteur
<i>P. bocourti</i>	2200 UI hCG	27-29,8	< 5 (?)	Auteur
<i>P. bocourti</i>	1500 UI hCG + 2400 UI après 9,5 h	26,5-31,3	< 5 (?)	Auteur

EH : Extraits hypophysaires,

^(a) : doses par kg de poids vif,

^(b) : temps à partir duquel le taux d'éclosion chute de façon significative,

^(c) : estimation à partir des figures données par les auteurs,

^(d) : d'après Legendre *et al.* (1996).

chez *Ictalurus punctatus*, car trois à cinq stripings espacés de 1-2 h sont nécessaires pour collecter tous les ovules (Dunham, 1993)¹.

Legendre et Otémé (1995) suggèrent que l'asynchronisme du processus de maturation ovocytaire observé chez *Heterobranchus longifilis* et *Clarias gariepinus* est lié à une réceptivité différente des ovocytes au traitement hormonal, ou bien à la diffusion progressive de l'hormone dans les ovaires. Par ailleurs, dans le milieu naturel, la ponte de *Clarias gariepinus* est fractionnée en 15 à 50 émissions d'ovules espacées chacune de 2 à 20 minutes (Van Der Wall, 1974)². Les résultats de la reproduction artificielle chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* laissent penser que leur ponte naturelle diffère des Clariidae, en ne faisant intervenir qu'une seule émission d'ovules après l'ovulation, ou bien plusieurs émissions mais dans une période très brève.

5.3.4.2. Durée de survie des ovules *in vivo*

Chez *P. hypophthalmus*, la qualité des premiers ovules émis est bonne et elle se maintient en moyenne durant trois heures, mais, après deux heures seulement, le taux de larves normales obtenu devient variable et il peut être inférieur à 20 %. Même si la quantité d'ovules collectée est susceptible d'augmenter en fonction du temps de latence, ce qui reste encore à étudier, la brève survie des ovules *in vivo* chez certaines femelles amène à définir un temps de latence optimal compris entre la première émission d'ovules et une heures après. Legendre *et al.* (1999) observent le même phénomène chez cette espèce, avec une chute rapide en moyenne de la qualité des ovules et une variabilité importante. A cause de cette brève survie des ovules *in vivo* chez *P. hypophthalmus*, Huy *et al.* (1990) recommandaient également de collecter les ovules dès que possible, sans toutefois préciser le temps de survie. Chez *P. bocourti*, les premiers ovules émis sont également de bonne qualité. La durée de survie des ovules *in vivo* semble se maintenir plus longtemps chez *P. bocourti* que chez *P. hypophthalmus*, dans la mesure où aucune chute aussi rapide de la fécondabilité n'a été observée. Le temps de latence optimal reste cependant à préciser chez *P. bocourti*, en observant à intervalles réguliers la qualité des ovules après l'achèvement de l'ovulation.

Chez d'autres poissons-chats, la qualité des ovules après induction de l'ovulation se maintient durant 2 à 12 heures en fonction des espèces (Tableau 30). Comme chez *P. hypophthalmus*, les ovules de *Heterobranchus longifilis* collectés juste après l'ovulation sont de bonne qualité, puis celle-ci décroît (Legendre et Otémé, 1995). Cependant, l'ovulation et l'émission des ovules étant progressives chez *H. longifilis*, la quantité d'ovules collectée augmente avec le temps de latence alors que la qualité des ovules diminue. Le temps de latence optimal correspond, pour cette espèce, au meilleur compromis entre la quantité et la qualité des ovules collectés. La situation est encore différente chez *Clarias gariepinus* puisque les ovules émis juste après l'ovulation ne sont pas de bonne qualité : leur collecte précoce conduit à de faibles taux d'éclosion et de larges proportions de larves déformées (Richter et Hurk, 1982)³. Dans ce sens, Bromage (1995) indique que la qualité des ovules chez les poissons n'est généralement optimale qu'après un certain délai, variable en fonction des espèces, de une heure chez le sabalo *Prochilodus platensis* à 20 jours chez la truite *Onchorynchus kisutch* après l'ovulation. Passé ce délai, la « surmaturation » des ovules aboutit à l'altération, plus ou moins rapide, de leur qualité. La chute la plus rapide est

¹ : Cité par Legendre *et al.* (1996).

² : Cité par Legendre et Otémé (1995).

³ : Cités par Campet (1997).

rapportée chez la carpe *Mylopharyngodon piceus*, avec une diminution de 50 % de la fécondabilité des ovules seulement 30-40 mn après l'ovulation (Horvath, 1978a)¹.

Le processus de surmaturation est complexe et associé à plusieurs événements physiologiques qui restent encore à étudier chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Chez la carpe *Cyprinus carpio*, la baisse de la fécondabilité serait liée à la fermeture du micropyle après le décollement du chorion (Renard *et al.*, 1987)². Chez la truite *Onchorynchus mykiss*, les alvéoles corticales s'agrègent au pôle animal de l'ovule, puis pénètrent dans le blastoderme après la fécondation, altérant ainsi la viabilité des œufs (Nomura *et al.*, 1974). Le même phénomène est observé chez le ayu *Plecoglossus altivelis*, avec une augmentation de la concentration plasmatique en ions sodium et potassium, supposant une évolution de la perméabilité membranaire (Hirose *et al.*, 1977). Chez la truite *Onchorynchus mykiss*, la surmaturation entraîne une modification de la composition des ovules, avec, en particulier, l'altération des protéines contenues dans le vitellus (Craik et Harvey, 1984). Enfin, Lam (1995) indique que la baisse du niveau des stéroïdes produits par les follicules, la progestérone notamment, est en partie responsable de la surmaturation des ovules.

5.3.4.3. Influence de la température

Huy *et al.* (1990) ont noté que les ovules de *P. hypophthalmus* sont dénaturés lorsque la température est supérieure à 28-29 °C. Or, rien de semblable n'a été observé ici, ni chez *P. hypophthalmus* à une température de 30 °C, ni chez *P. bocourti* à une température de 32 °C. La température de l'eau ne semble donc avoir d'influence ni sur la durée du processus de maturation, ni sur la durée de survie des ovules. Par contre, chez *Clarias gariepinus*, le temps de latence optimal en terme de qualité des ovules diminue lorsque la température augmente : il est de dix, trois et une heure à 20, 25 et 30 °C respectivement (Richter et Van der Hurk, 1982)³. Il en est de même chez *Clarias gariepinus* et *Rhamdia sapo* (Tableau 30).

¹ : Cité par Billard *et al.* (1986).

² : Cités par Campet (1997).

³ : Cités par Legendre *et al.* (1996).

5.4. VARIATIONS DE LA FECONDITE

5.4.1. Influence du traitement hormonal

Quel que soit le milieu d'élevage, cage ou étang, l'application d'un traitement préliminaire est sans influence sur la fécondité absolue et relative de *P. hypophthalmus*. De même, la fécondité absolue ou relative de *P. bocourti* n'est pas corrélée avec durée de la phase de finition. Pour les deux espèces, le nombre d'injections que comporte le traitement ovulatoire (une à trois) est sans influence sur la fécondité. Par ailleurs, les doses d'hCG qui ont été employées pour induire la maturation ovocytaire et l'ovulation, 1500-3850 UI.kg⁻¹ chez *P. hypophthalmus* et 1600-3900 UI.kg⁻¹ chez *P. bocourti*, semblent suffisantes pour garantir une fécondité optimale. Ainsi, chez des femelles de *P. hypophthalmus* élevées en Indonésie, Legendre *et al.* (1999) rapportent une fécondité élevée après un traitement à l'hCG de 2000 UI.kg⁻¹ (106.10³ ovules.kg⁻¹ en moyenne). Chez *Heterobranchus longifilis*, la dose d'hCG de 1500 UI.kg⁻¹ correspond à celle qui est recommandée pour assurer un taux d'ovulation et une fécondité optimale (Legendre, 1986).

Les variations de fécondité pourraient être causées par une ovulation plus ou moins complète des femelles de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Or, les observations réalisées au cours du processus de maturation ovocytaire et d'ovulation montrent une évolution synchrone des ovocytes. Juste avant la collecte des ovules, la dernière biopsie ovarienne indique que la vésicule germinative est éclatée dans tous les ovocytes et que tous les ovocytes sont détachés de leur follicule. Le processus d'ovulation semble donc complet chez les deux espèces. Néanmoins, ce processus ne concerne que les ovocytes réceptifs au traitement ovulatoire, à savoir les ovocytes de grande taille. Bien qu'aucune relation n'est été mise en évidence entre la fécondité relative et la proportion d'ovocytes développés, il est possible que ce facteur intervienne. D'autres facteurs de type biotiques ou abiotiques sont aussi susceptibles de conditionner les niveaux de fécondités obtenus chez les deux espèces.

5.4.2. Influence des conditions d'élevage

Chez *P. bocourti*, alors que les femelles étudiées ont sensiblement la même taille, la fécondité relative des femelles élevées en étangs est deux fois plus importante que celle des femelles élevées en cages flottantes. Cette différence étant associée à un traitement de finition deux fois plus long chez les femelles élevées en étangs, il est difficile de distinguer le rôle éventuel du milieu d'élevage et du traitement de finition dans la fécondité. Cependant, comme dans chaque milieu d'élevage la fécondité est indépendante de la durée de finition, le milieu d'élevage a probablement une incidence sur le niveau de fécondité obtenu.

Il faut par ailleurs noter que l'effectif plus important de géniteurs en cages flottantes qu'en étangs a permis de sélectionner des femelles à la maturité plus avancée dans ce milieu (i.e. ovocytes plus développés). C'est probablement pour cette raison que le traitement préliminaire a été deux fois plus court chez les femelles élevées en cages flottantes qu'en étangs.

Le stress des poissons en élevage, lié au confinement et aux manipulations, peut bloquer différentes phases de la gamétogenèse ou agir sur la fécondité ou la qualité des gamètes (Billard, Bry *et al.*, 1980)¹. Dans ce cas, les conditions d'élevage en cages flottantes

¹ : Cités par Legendre et Jalabert (1988).

seraient plus stressantes qu'en étangs pour *P. bocourti*, notamment au niveau du confinement (petit volume) et de la densité.

Comme chez *P. bocourti*, l'élevage en étangs des géniteurs de carpe *Aristichthys nobilis* semble propice à une meilleure fécondité par rapport à leur élevage en cages flottantes : les fécondités relatives moyennes sont respectivement de $120,5 \cdot 10^3$ et $69 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹ (Kumarasiri et Seneviratne, 1988 ; Santiago *et al.*, 1991). Il s'agit néanmoins de résultats issus de deux études différentes entre lesquelles d'autres facteurs que le milieu d'élevage peuvent intervenir. Les géniteurs de carpes en étangs sont notamment plus âgés et d'un poids moyen individuel plus élevé. L'élevage en cages flottantes semble également défavorable chez le corégone *Coregonus peled* : le développement des ovaires atteint rarement le stade 4 et aucune reproduction n'a pu être obtenue, alors que des femelles du même âge (4-5 ans) se reproduisent dans le milieu naturel (Mamcarz et Worniallo, 1985).

Capturés dans le Mékong au cours de leur première année (poids vif d'environ 50 g), les futurs poissons géniteurs ont été élevés durant deux ans en cages flottantes de production marchande. La biomasse était élevée ($106,3 \text{ kg.m}^{-3}$ en moyenne) et l'alimentation très glucidique, sous forme de pâte humide à base de son de riz et distribuée à satiété (Cacot, 1993). Les poissons, et *P. bocourti* en particulier, issus d'un tel élevage sont très gras. En outre, ces mauvaises conditions ont pu altérer la formation précoce des gonades et donc la fécondité ultérieure des géniteurs. Il a été montré en effet, chez le carrelet, que les facteurs biotiques et abiotiques durant le début de la vie du poisson conditionnent sa fécondité ultérieure (Simpson, 1951)¹.

Entre étangs et cages flottantes, la fécondité relative de *P. hypophthalmus* semble peu sensible au milieu d'élevage, et, à l'inverse de *P. bocourti*, elle tend même à être supérieure en cages flottantes (+ 28,2 %, non significatif). Les conditions d'élevage en étangs de *P. hypophthalmus* n'étaient toutefois pas aussi bonnes que celles de *P. bocourti* : la densité était plus élevée dans un étang et la profondeur était plus faible dans l'autre étang. Par ailleurs, une fécondité importante est rapportée par Meenakarn (1986) chez des femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes ($100 \cdot 10^3 - 130 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹), indiquant que cette espèce montre une grande capacité d'adaptation en terme de reproduction.

L'adaptation des poissons géniteurs à différents milieux a été montrée chez un autre Pangasiidae dans le milieu naturel en Inde. La maturation gonadique de *P. pangasius* s'effectue naturellement en estuaire et la ponte en amont des rivières (David, 1963). Or, à la suite d'aménagements hydrauliques, une population de *P. pangasius* s'est retrouvée confinée artificiellement dans un lac de barrage. La totalité du cycle sexuel a quand même pu avoir lieu en eau douce, avec la ponte s'effectuant dans les rivières se jetant dans le lac (Ramakrishniah, 1986).

5.4.3. Influence des fluctuations de l'environnement

Comme le montre la concordance des périodes de maturation gonadique entre cages flottantes et étangs, certaines fluctuations hydrologiques (i.e. débit et de transparence de l'eau) ne constituent pas des stimuli majeurs dans le cycle sexuel des deux espèces étudiées. Cependant, la différence de fécondité relative observée chez *P. bocourti* en faveur des étangs suggère que ces paramètres hydrologiques peuvent moduler les performances de reproduction. *P. bocourti* est naturellement distribué dans le cours principal du Mékong (Lenormand, 1996) et sa reproduction se déroule probablement en amont du delta du Mékong, dans une zone de

¹ : Cité par Kartas et Quignard (1984).

fort courant, de torrent ou de végétation inondée (Roberts, 1993). En étangs comme en cages flottantes, il manquerait donc aux poissons géniteurs les stimuli indispensables à l'achèvement de la maturation gonadique, tels que certaines fluctuations hydrologiques ainsi que la présence d'un substrat rocailleux ou de végétation immergée. Outre la faible fécondité obtenue, cette hypothèse expliquerait aussi le développement partiel des ovocytes chez *P. bocourti* en conditions d'élevage.

Dans des fleuves qui présentent comme le Mékong une vaste plaine d'inondation, le rôle des fluctuations hydrologiques dans la reproduction a été démontré chez plusieurs espèces. Chez *Pimelodus maculatus*, dans la rivière Jaguari au Brésil, une augmentation simultanée de la température l'eau et du débit sont nécessaires pour induire le développement des gonades (Basile Martins, 1975)¹. Chez le Sabalo *Prochilodus platensis*, dans la rivière Parana en Amérique du Sud, les poissons isolés dans la plaine d'inondation ne montrent pas de signe de maturation sexuelle, alors que les poissons présents dans le cours principal de la rivière achèvent normalement leur maturation (Bonetto, 1975)¹.

D'après Woynarovitch et Horvath (1980), la reproduction des poissons en captivité semble d'autant plus difficile que le milieu d'élevage est différent du biotope naturel. Ainsi, l'élevage en étangs ne convient généralement pas aux espèces vivant en rivière. De même, parmi les poissons-chats d'Amérique du Sud, Kossowski (1996) rapporte que les espèces qui affectionnent les torrents ou espèces rhéophiles, maintenues en étangs, ne se reproduisent pas spontanément.

La fécondité obtenue ici chez les deux espèces ne semble pas évoluer au cours de la saison de reproduction, bien que la fin de la saison soit marquée par l'atrésie des ovocytes, plus graduelle chez *P. bocourti* que chez *P. hypophthalmus*. Il s'ensuit une diminution du taux d'ovulation chez *P. bocourti* en fin de saison de reproduction. Chez *P. hypophthalmus*, les femelles en régression n'ont pas été induites car facilement identifiables. L'incidence de la saison sur la qualité des œufs et des larves n'a pas été étudiée, mais des alevins normaux des deux espèces ont été obtenus lors de chaque ponte, à tous moments au cours des différentes saisons de reproduction.

A l'opposé de ces deux Pangasiidae, la reproduction de *Heterobranchus longifilis* peut être induite toute l'année avec des géniteurs élevés en enclos dans une lagune (Legendre, 1986). La qualité des œufs et des alevins produits reste élevée tout au long de l'année, mais la fécondité relative en saison des pluies est de 2,6 fois plus élevée qu'en saison sèche (68.10^3 et 26.10^3 ovules.kg⁻¹). De plus, la fécondité absolue n'est corrélée positivement avec le poids vif ($r = 0,91$) qu'en saison des pluies. D'après cet auteur, l'absence de corrélation en saison sèche refléterait une disparité entre les femelles au niveau des stades physiologiques. Cette hypothèse justifierait l'absence de relation entre la fécondité absolue et la longueur ou le poids vif des poissons géniteurs chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*.

5.4.4. Influence de la physiologie des poissons géniteurs

Chez les poissons téléostéens, la fécondité absolue augmente avec la longueur et le poids des géniteurs, ainsi qu'avec l'âge des géniteurs via ces deux paramètres (Kartas et Quignard, 1984). A l'inverse, la fécondité relative diminue généralement lorsque le poids vif des poissons géniteurs augmente, comme chez la truite *Onchorynchus mykiss*, avec une baisse de 40 % entre 1 et 6 kg de poids vif (Bromage, 1995). Or, dans chaque milieu d'élevage, les fécondités absolue et relative de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus* sont indépendantes de la longueur et du poids vif des géniteurs. Il est toutefois possible que les variations de poids vif

¹ : Cité par Welcomme (1979).

et de longueur entre géniteurs soient trop restreintes pour mettre en évidence leur relation avec la fécondité. En cages flottantes, les intervalles de longueur et de poids vif sont de 63-77 cm et 4,8-9,7 kg chez *P. bocourti*, et de 73-84 cm et 5,6-10,5 kg chez *P. hypophthalmus*. A partir d'une certaine taille, il se peut aussi que l'accroissement de fécondité absolue soit faible ou nul, voire même négatif. C'est le cas chez la carpe *Cyprinus carpio*, avec un accroissement de la fécondité absolue maximal pour une longueur de 45 à 50 cm puis qui se stabilise à une longueur de 60 cm et chute à une longueur supérieure (Nikolsky, 1934)¹.

Aucune relation éventuelle de la fécondité avec l'âge des géniteurs n'a pu être mise en évidence, car cet âge n'est pas connu avec précision.

5.4.5. Rôle de l'alimentation des poissons géniteurs

Chez les femelles de *P. bocourti* en cours de maturation (ovocytes bien développés), le développement des ovaires est associé à une réduction du dépôt de graisse périviscérale. Le métabolisme lipidique chez ces poissons géniteurs semble donc constituer un facteur déterminant de leur fécondité. L'accumulation de graisse périviscérale caractérise les *P. bocourti* élevés en cages flottantes pour la production, où les poissons reçoivent à satiété une alimentation très riche en glucides (Cacot, 1993). D'après Hung *et al.* (1999), l'engraissement important intervient également chez des juvéniles (10 g) nourris à satiété avec un aliment riche en protéines (60 % de la matière sèche).

Pour beaucoup de poissons vivant dans les fleuves à plaine d'inondation, la crue correspond à une période d'alimentation abondante et de nourrissage actif (Welcomme, 1979). C'est en particulier le cas dans le Mékong (Chevey et Le Poulain, 1940). Chez *Clarias gariepinus* vivant dans la rivière Shire au Malawi, la prise alimentaire triple durant la crue (Willoughby et Walker, 1977)². La disponibilité en aliments est en revanche considérablement réduite en période de basses eaux et les poissons doivent jeûner jusqu'à la crue suivante. Dans un tel environnement, certaines espèces constituent et mobilisent alternativement d'importantes réserves corporelles, respectivement en périodes de hautes et de basses eaux. Ainsi, chez le Characidae *Alestes leuciscus* vivant dans le delta du Niger, l'importante fluctuation du coefficient de condition (30 %) montre que la croissance pondérale est réversible au cours de l'année (Daget, 1957b)².

Dans le Gange, en Inde, les femelles de *P. pangasius* présentent au cours de l'année un développement inverse des ovaires (RGS) et des viscères (RVS), représentatives à la fois de la quantité d'aliments ingérée et du développement de la graisse périviscérale (David, 1963). La période de repos sexuel est caractérisée par un RGS faible (0,5 %) et un RVS élevé (18 %) en raison d'une alimentation très active qui a lieu en zone d'estuaire. Ensuite, en début de crue, le RVS diminue et les gonades se développent, jusqu'à respectivement 3 et 16 %, tandis que les géniteurs s'alimentent moins et remontent le Gange et ses affluents jusqu'aux sites de fraie, sur une distance atteignant 1000 à 2000 km.

Il est possible que *P. bocourti* présente une telle stratégie d'adaptation reproductive aux fluctuations des conditions hydrologiques du Mékong. L'accumulation de graisse chez les poissons géniteurs serait alors naturelle et elle permettrait le développement des gonades et la migration vers les sites de fraie. Chez plusieurs Pangasiidae, la migration vers des aires de reproduction, situées 300 à 600 km en amont du delta du Mékong, a été observée au niveau des chutes de Khône à l'extrême sud du Laos (Roberts, 1993). La migration se déroule en début de crue, de fin mai à début juillet, et elle concerne *Pangasius conchophilus*, *P. krempfi*, *P. macronema*, *P. bocourti*, *P. larnaudii*, *P. sanitwongsei* et *P. gigas*. Au même endroit, fin

¹ : Cité par Kartas et Quignard (1984).

² : Cités par Welcomme (1979).

juillet 1998, quatre femelles de *P. krempfi* sur quatre observées présentaient des ovaires développés (ovocytes de grande taille et RGS moyen de 2,4 %), ainsi qu'un tube digestif vide et très peu de graisse périviscérale (RAS moyen de 1,5 %) (Cacot et Campet, 1998).

Or, en conditions d'élevage, les géniteurs de *P. bocourti* ont été nourris toute l'année de façon régulière, sans alternance de phases d'alimentation et de jeûne. Les réserves corporelles auraient alors dépassé les besoins métaboliques de la maturation gonadique, d'où la persistance d'un dépôt important de graisse périviscérale et péritonéale à un stade de maturation avancé. Par ailleurs, l'encombrement de la cavité abdominale par la graisse a pu gêner le développement normal des gonades. L'influence du rationnement alimentaire des poissons géniteurs sur les performances de reproduction a été montrée par Bromage (1995) chez la truite *Onchorynchus mykiss*. Une réduction du rationnement alimentaire, passant de 1,0 à 0,4 % de la biomasse durant les quatre mois qui précède la reproduction, ne modifie pas la fécondité absolue mais améliore la fécondité relative (+ 36,1 %). Cette hausse est en fait liée à une réduction du poids vif des poissons géniteurs (- 26 %). Ces résultats suggèrent que la truite développe ses ovaires avec des réserves corporelles constituées bien avant la période de reproduction.

5.4.6. Déterminisme génétique

5.4.6.1. Variabilité intraspécifique

Dans chaque milieu d'élevage, la fécondité relative des deux espèces est caractérisée par une variabilité individuelle importante (i.e. coefficient de variation supérieur à 50 %). Les poissons sauvages ayant une variabilité génétique maximale (Chevassus, 1989), il est possible que celle-ci se manifeste chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* au niveau des performances de la reproduction et de la fécondité en particulier. C'est le cas chez *Ictalurus punctatus* aux Etats-Unis, dont l'âge à la première maturation et la saison de reproduction varient entre les souches du Nord et du Sud du pays (Broussard et Stickney, 1981)¹. C'est également le cas chez *Chrysichthys nigrodigitatus* en Afrique, dont la fécondité, la taille des œufs et le RGS varient entre les souches de trois régions différentes (Ezenwa *et al.*, 1985)¹.

Les performances de reproduction peuvent aussi être affectées par le degré d'adaptation des poissons géniteurs sauvages aux conditions d'élevage. Ainsi, au Nigeria, des géniteurs de *Heterobranchus longifilis* capturés en rivière puis placés en étangs ne peuvent être reproduits qu'après plus d'un an d'élevage (Freund *et al.*, 1995). Même après ce conditionnement, les performances de reproduction des poissons d'origine sauvage sont inférieures à celles de poissons issus de la reproduction artificielle et maintenus en étangs : la saison de reproduction est plus courte et le nombre de pontes dans l'année est plus faible.

En Indonésie, la fécondité relative par ponte des femelles de *P. hypophthalmus* élevés en étangs est particulièrement importante, de 132.10^3 ovule.kg⁻¹ en moyenne (Legendre *et al.*, 1999), soit 2,7 fois la fécondité relative présentée ici ($48,8.10^3$ ovules.kg⁻¹). Cet écart en faveur des poissons indonésiens peut être lié au conditionnement des géniteurs ou à leur âge, ou bien à une différence entre deux souches distinctes de poissons appartenant à la même espèce.

¹ : Cités par Smitherman *et al.* (1996).

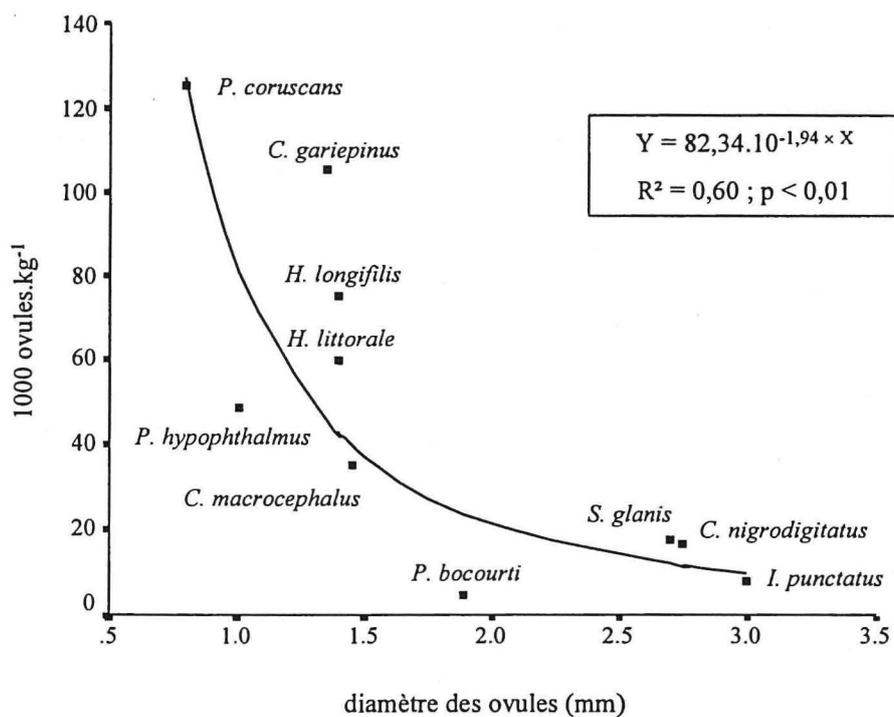


Figure 86 : Relation entre le diamètre des ovules et la fécondité relative chez plusieurs espèces de poissons-chats

D'après les données en Annexe 53.

5.4.6.2. Différences interspécifiques

En considérant l'ensemble des premières pontes et des pontes uniques au cours de chaque saison de reproduction, la fécondité relative moyenne de *P. hypophthalmus* est supérieure à celle de *P. bocourti*, de 82 % en termes de poids d'ovules par kg et de 10,3 fois en terme de nombre d'ovules par kg. Cette seconde différence est principalement liée au fait que les ovules de *P. hypophthalmus* sont 5,7 fois plus légers (4,3 fois plus petits) que ceux de *P. bocourti*. Cet écart quantitatif entre les deux espèces se retrouve au niveau de la production spermatique par kg de poids vif : la quantité de spermatozoïdes collectée chez *P. hypophthalmus* est supérieure à celle de *P. bocourti*, de 15,6 fois pour la spermiation naturelle et de 5,9 fois après stimulation hormonale (2000 UI.kg⁻¹ hCG). En revanche, les gamètes de *P. bocourti* semblent moins sensibles que ceux de *P. hypophthalmus*, au niveau de la durée de survie des ovules, d'une part, et des conditions de fécondations (i.e. dilution du sperme et composition de la solution d'activation), d'autre part.

Une différence interspécifique en faveur de *P. bocourti* se retrouve également au niveau de la survie larvaire en élevage. Les travaux de Hung *et al.* (1999) montrent que, 11 jours après l'éclosion, la survie des larves de *P. bocourti* est excellente (90,3-93,7 %) en les nourrissant avec des proies vivantes ou inertes (cystes décapsulés, nauplii d'*Artemia salina*, vers *Tubifex* hachés, crustacés *Moina* sp.). La survie larvaire est également satisfaisante avec un aliment composé, microgranulés pour truites (67,5 %) ou bien microgranulés à base de levure et de foie de bœuf (86,5 %). Slembrouck (1996) a montré que, sept jours après l'éclosion, la survie des larves de *P. hypophthalmus* était correcte en les nourrissant avec des nauplii d'*Artemia salina* (69,4 %), mais qu'elle était en revanche très faible avec des microgranulés pour poissons (3,2 %). Cet auteur a également constaté que les larves de *P. hypophthalmus* ne consomment l'aliment sec que 15 jours après l'éclosion, lorsque l'estomac est complètement formé et fonctionnel. Le développement de l'estomac chez ces larves intervient entre 10 et 14 jours après l'éclosion, ce qui est relativement tardif, bien que ce délai puisse être variable en fonction des conditions d'élevage larvaire.

5.4.6.3. Stratégies de reproduction

Les différences interspécifiques au niveau de la fécondité relative sont principalement liées à la taille des ovules de chaque espèce, une fécondité élevée étant généralement associée à des œufs de petite taille et inversement. Cette relation a été décrite par Kartas et Quignard (1984), en considérant les poissons en général, et par Albaret (1982), en considérant neuf familles de poissons de Côte d'Ivoire. La même observation peut être faite en considérant dix espèces de poissons-chats dont *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* (Figure 86). *P. bocourti* présente la fécondité relative la plus faible après *Ictalurus punctatus*. Celle de *P. hypophthalmus* est au quatrième rang, entre *Hoplosternum littorale* et *Clarias macrocephalus*. Cependant, par rapport aux autres espèces, la fécondité des deux Pangasiidae est plus faible que ne le laisse présager la taille de leurs ovules.

D'après Kartas et Quignard (1984), une fécondité élevée (supérieure à 100.10³ œufs.kg⁻¹) et des œufs de petit diamètre (inférieur 2 mm) caractérisent généralement la reproduction d'espèces qui ne présentent pas de comportement parental. Par contre, une faible fécondité (inférieure 100.10³ œufs.kg⁻¹) et des œufs pouvant être de grande taille (1 à 6 mm) sont généralement associés à un comportement parental. La fécondité des poissons est donc liée aux chances de survie des alevins : en l'absence de soin parental, l'éclosion des œufs et la survie des larves étant aléatoire, la fécondité est plus élevée pour compenser les pertes éventuelles.

En comparant deux espèces de poissons-chats, Hecht (1996) indique que la survie des larves est également conditionnée par l'ontogenèse de leur tube digestif. Les larves de *Ictalurus punctatus* présentent un estomac déjà formé lors de la première prise alimentaire, alors que, chez *Clarias gariepinus*, l'estomac des larves se développe progressivement et il n'est complètement fonctionnel qu'après cinq jours d'alimentation exogène. En raison de cette différence, la survie des larves de *I. punctatus* est bien supérieure à celle de *C. gariepinus*. Hecht (1996) indique également que l'ontogenèse précoce du tube digestif chez *I. punctatus* est associée notamment à des œufs de grande taille (3,5 mm), une faible fécondité (5.10^3 œufs.kg⁻¹) et un comportement parental (espèce nidificatrice). A l'opposé, la reproduction de *C. gariepinus* est caractérisée par de petits œufs (1,2 mm), une fécondité élevée (60.10^3 œufs.kg⁻¹) et l'absence de comportement parental (dispersion des œufs). Selon une terminologie définie par Bruton (1996), la stratégie démographique qui caractérise *I. punctatus* est dite « précoce » (i.e. précocité de l'ontogenèse), par opposition à l'autre stratégie dite « altricielle » que présente *C. gariepinus*.

Les comportements reproducteurs dans le milieu naturel de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont encore inconnus, mais les différences observées au niveau de la taille et de la qualité des œufs, de la survie larvaire et de l'ontogenèse suggèrent des stratégies démographiques distinctes chez ces deux espèces. Par rapport à *P. hypophthalmus*, la stratégie démographique de *P. bocourti* serait plus proche du pôle « précoce » sur le continuum « altricial – précoce », justifiant ainsi la fécondité relative plus faible chez cette espèce.

5.4.7. Qualité des gamètes et conditions d'élevage

Outre le déterminisme génétique lié à la stratégie de reproduction, la survie larvaire peut être également conditionnée par la qualité des gamètes d'où sont issues les larves. Comme la fécondité, la qualité des gamètes est souvent liée à différents facteurs qui affectent la maturation gonadique dont notamment l'alimentation des poissons géniteurs (Bromage, 1995). Alors que la fécondité semble surtout conditionnée par le niveau quantitatif des apports nutritionnels, la qualité des gamètes est en revanche déterminée par la composition de l'aliment. Il s'agit en particulier des acides gras essentiels polyinsaturés et des molécules antioxydantes telles que la vitamine C.

Le stress ressenti par les poissons géniteurs constitue un autre facteur susceptible d'altérer la reproduction, au niveau de la fécondité et de la qualité des ovules. Chez la truite *Onchorynchus mykiss*, le stress des géniteurs par des émersion répétées provoque une diminution de la taille des ovules (- 33 %), de la concentration en spermatozoïdes (- 23 %), du taux d'éclosion (- 18 %) et du taux de survie des alevins 28 jours après l'éclosion (- 25 %) (Campbell *et al.*, 1992). Les auteurs remarquent cependant que la fécondité relative n'est pas affectée par le stress. D'après cet exemple, et dans l'hypothèse où les conditions d'élevage mises en œuvre ici ne seraient pas adéquates, celles-ci pourraient affecter différemment les performances de reproduction chez les deux espèces étudiées. Cette hypothèse justifierait en particulier la faible fécondité chez *P. bocourti* ainsi que la brève survie des ovules *in vivo* et la faible survie larvaire chez *P. hypophthalmus*.

5.5. PRODUCTION SPERMATIQUE

5.5.1. Choix des mâles pour la reproduction

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, les mâles matures sont spontanément spermiant. Il en est de même chez d'autres Pangasiidae, tels que *P. pangasius* (David, 1963 ; Ramakrishniah, 1986), *P. gigas* (Mongkonpunya *et al.*, 1995), *P. conchophilus* et « ca tra ban » (Lenormand, 1996), et chez d'autres poissons-chats tels que *Silurus glanis* et *Ictalurus punctatus* (Legendre *et al.*, 1996), *Sorubin lima*, *Eremophylus mutissi* et *Pseudoplatystoma fasciatum* (Kossowski, 1996). Lorsqu'elle est pratiquée, la reproduction artificielle de ces espèces ne fait intervenir que les mâles spermiant, le sperme étant collecté par simple striping du poisson. Thalathiah *et al.* (1988), Huy *et al.* (1990) et Meenakarn (1986) procédaient déjà de cette façon chez *P. hypophthalmus*.

A l'opposé, la spermiation spontanée n'a jamais été rapportée chez plusieurs espèces de Clariidae, même après induction hormonale. C'est le cas chez *Heterobranchus longifilis* (Legendre, 1986), *Heteropneustes fossilis* et *Clarias batrachus* (Tripathi, 1996), *C. macrocephalus* et *C. gariepinus* (Dung *et al.*, 1994). Le sperme doit alors être collecté directement des testicules, après prélèvement et broyage de ceux-ci, ce qui implique le plus souvent de sacrifier les mâles. Cette technique a été pratiquée en de rares occasions chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, lorsqu'aucun mâle spermiant n'était disponible, en début ou en fin de saison de reproduction notamment.

5.5.2. Hétérogénéité de la spermiation

Que la spermiation soit naturelle ou stimulée chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, la production spermatique, exprimée en nombre de spermatozoïdes par kg de poids vif, est très variable d'un individu à l'autre. Cette variabilité est surtout liée à celle du volume de sperme émis par kg de poids vif, la concentration en spermatozoïdes étant relativement plus constante. La pollution des échantillons de sperme par l'urine lors de leur collecte pourrait être la cause de ces variations. C'est cependant peu probable car l'urine a été préalablement éliminée avant chaque collecte de sperme. Chez la truite *Onchorynchus mykiss*, la spermiation évolue rapidement au cours de la saison de reproduction (Billard *et al.*, 1982) : en deux semaines, le volume de sperme collecté augmente de 1,75 à 3,0 ml par poisson. Si le même phénomène se produit chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, la variation de la spermiation reflète alors l'hétérogénéité des stades de maturité sexuelle entre mâles. En outre, comme pour la fécondité relative des femelles, la variation intraspécifique de la spermiation pourrait être liée à un déterminisme génétique.

Huy *et al.* (1990) avaient aussi remarqué que la spermiation spontanée chez *P. hypophthalmus* varie au niveau du volume de sperme émis et de la coloration du sperme (i.e. concentration en spermatozoïdes), sans toutefois quantifier ces variations. Ces auteurs en tenaient compte pour moduler le traitement hormonal : les poissons faiblement spermiant recevaient une dose d'extraits hypophysaires deux fois plus élevée que les autres. La spermiation spontanée est également variable au niveau du volume de sperme émis chez le milkfish *Chanos chanos* (Tamaru *et al.*, 1988) et de la concentration en spermatozoïdes chez *Pseudoplatystoma fasciatum* (Kossowski et Madrid, 1985)¹. Cette variabilité est également prise en compte chez ces espèces : les mâles sélectionnés doivent être spermiant, et, de plus,

¹ : Cités par Kossowski (1996).

Tableau 31 : Rapport gonado-somatique (RGS) des mâles matures chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	RGS (% poids vif)	Référence
<i>Silurus glanis</i> - en conditions d'élevage - dans le milieu naturel	1,4 ± 0,2 [1,14 ; 1,67] ≈ 1	Saad et Billard (1995) Zholdasova et Guseva (1987) (*)
<i>Ictalurus punctatus</i>	0,25	Guest <i>et al.</i> (1976a) (*)
<i>Clarias gariepinus</i>	≤ 1	Van der Oordt <i>et al.</i> (1987) (*)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	≤ 1	Legendre <i>et al.</i> (1992)
<i>Hoplosternum littorale</i>	0,2 - 0,6	Hostache <i>et al.</i> (1993) (*)
<i>P. bocourti</i>	0,29 [0,08 ; 1,00] (n = 6)	Auteur
<i>P. hypophthalmus</i>	0,19 [0,14 ; 0,26] (n = 3)	Auteur

(*) : D'après Legendre *et al.* (1996).

Tableau 32 : Concentration en spermatozoïdes du sperme chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Concentration (10 ⁹ spermatozoïdes.ml ⁻¹)	Référence
<i>Ictalurus punctatus</i>	7,1 ± 0,8 ^(a)	Guest <i>et al.</i> (1976a) ^(b)
<i>Clarias gariepinus</i>	6,2	Steyn et Van Vuren (1987a) ^(b)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	3,0	Legendre <i>et al.</i> (1992)
<i>Silurus glanis</i>	7,18 ± 1,29.10 ⁹ ^(a) 0,6 - 1,6 0,2 - 3,5	Saad et Billard (1995) Linhart <i>et al.</i> (1986) ^(b) Redondo - Muller (1990) ^(b)
<i>Pangasius gigas</i>	20 - 40	Mongkonpunya <i>et al.</i> (1995)
<i>P. bocourti</i>	17,3 [2,4 ; 36,2]	Auteur
<i>P. hypophthalmus</i>	52,6 [25,7 ; 65,5]	Auteur

^(a) : Par gramme de testicule,

^(b) : d'après Legendre *et al.* (1996).

présenter un volume de sperme émis abondant chez le milkfish *Chanos chanos*, ou une concentration en spermatozoïdes suffisamment élevée chez *Pseudoplatystoma fasciatum*.

Lors des expériences d'induction de la spermiation réalisées ici, certains effets des traitements (nature de l'hormone, temps de latence) ont probablement été masqués par la trop grande variabilité individuelle chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Les différences ont été considérées comme significatives au seuil d'erreur de 5 %. Dans le même type d'expériences, réalisées chez *Silurus glanis* avec du GnRH α ou des extraits hypophysaires, la variabilité individuelle de la spermiation a amené Linhart et Billard (1994) à analyser certains résultats à un seuil d'erreur supérieur (10 %). Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, l'hétérogénéité des réponses peut être causée par la présence initiale de sperme intratesticulaire, celui-ci n'ayant pas été collecté avant l'application des traitements. La collecte de sperme a été réalisée avant l'application de traitements au GnRH α et pimozide chez la carpe *Cyprinus carpio*, mais, malgré tout, Billard *et al.* (1987) rapportent que les réponses présentent également une variabilité individuelle importante (coefficient de variation d'au moins 27 %).

5.5.3. Comparaisons interspécifiques

Les testicules des poissons-chats présentent des formes variées (Legendre *et al.*, 1996) ; celles de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* s'apparentent à celles de *Chrysichthys nigrodigitatus* et de *Auchenipterus nuchalis*, par la présence de crêtes sur toute la longueur des testicules. Comme chez les autres poissons-chats, les testicules observées chez *P. bocourti* sont peu développées et caractéristiques d'une espèce oligospermique, avec un RGS ne dépassant pas 1 % (Tableau 31). Il en serait de même chez *P. hypophthalmus*, mais le faible nombre d'individus observés ($n = 3$) ne permet pas de conclure. En revanche, la concentration du sperme en spermatozoïdes des deux Pangasiidae est nettement supérieure à celle d'autres poissons-chats (Tableau 32). Une concentration élevée est également rapportée chez *P. gigas*. En raison de cette concentration en spermatozoïdes élevée chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, la production spermatique de ces deux espèces dépasse celle de *Silurus glanis*, bien que les RGS soient proches chez ces trois espèces (Tableau 33). D'après ces données, la production spermatique de *Silurus glanis* la plus élevée représente seulement 32 % de la production spermatique chez *P. bocourti* et 5 % chez *P. hypophthalmus*.

Bien que les différences ne soient pas significatives, la production spermatique moyenne de *P. hypophthalmus* est supérieure à celle de *P. bocourti*, de 15,7 fois lorsque la spermiation est naturelle et de 6 fois après induction hormonale à l'hCG. Ces différences sont liées à l'émission de sperme qui tend à être plus abondant, et, surtout, plus concentré, chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*. Saad et Billard (1995) suggèrent que des comportements reproducteurs complexes sont associés à la faible production spermatique des poissons-chats. Ainsi, chez *Ictalurus punctatus*, l'émission des gamètes et la fécondation s'opèrent dans un nid, un milieu confiné où la dilution du sperme est limitée. Ou bien, comme chez *Silurus glanis*, le mâle dépose le sperme au niveau de la papille génitale de la femelle. La faible production spermatique de *P. bocourti* pourrait être associée à ce type de comportement reproducteur.

Les productions spermatiques présentées étant extrapolées à partir des mesures faites sur le sperme collecté par striping, elles ne représentent vraisemblablement qu'une fraction de la production spermatique réelle. Chez *Silurus glanis*, la quantité de spermatozoïdes collectés après induction avec des extraits hypophysaires de carpe (4 mg.kg⁻¹) ne correspond qu'à 2,1 % de la production spermatique annuelle totale, calculée à partir des testicules entières (Saad et Billard, 1995). Cette proportion est de 12,5 % chez la carpe *Cyprinus carpio* après une injection d'extraits hypophysaires (2 mg.kg⁻¹) (Saad et Billard, 1987). La production

Tableau 33 : Production spermatique chez *Silurus glanis*, *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*

Espèce	Traitement hormonal ^(a)	Mâles N	Production spermatique (10 ⁹ spz.kg ⁻¹)	Référence
<i>Silurus glanis</i>	-	13	0,29	Redondo -Müller (1990) ^(e)
	2000 UI hCG	4	1,22 ± 0,32	
	50 µg GnRH ^a ^(b) + 5 mg dompéridone	5	0,96 ± 0,66	
	(30 µg GnRH + 15 mg dompéridone) ^(c)	5	2,76 ± 1,64	
<i>P. bocourti</i>	-	6	0,58 ± 0,61 [0,06 ; 1,66]	Auteur
	2000 UI hCG (collecte 12 h après)	4	8,37 ± 4,55 [3,46 ; 14,48]	
	30 µg GnRH ^a ^(d) + 3 mg dompéridone (collecte 48 h après)	4	3,29 ± 2,86 [0,70 ; 6,33]	
<i>P. hypophthalmus</i>	-	4	9,10 ± 15,82 [0,32 ; 32,77]	Auteur
	2000 UI hCG (collecte 24 h après)	4	49,94 ± 55,55 [16,04 ; 132,74]	

^(a) : Doses d'hormones par kg de poids vif,

^(b) : D-Ala⁶-GnRH_a,

^(c) : 1,5 ml Ovaprim.kg⁻¹ ; (D-Arg⁶, Trp⁷, Leu⁸, Pro⁹, NH₂Et)-GnRH_a,

^(d) : (Des-Gly¹⁰, D-Arg⁶, Trp⁷, Leu⁸, Pro-NH₂Et⁹)-GnRH_a,

^(e) : d'après Legendre *et al.* (1996).

spermatique totale reste donc à déterminer chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, mais cette étude nécessite le sacrifice des poissons géniteurs.

5.5.4. Réponse aux traitements hormonaux

5.5.4.1. Effets comparés de l'hCG et du GnRH α associé au dompéridone

Pour améliorer la spermiation, une seule dose d'hCG a été employée chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* (2000 UI.kg⁻¹), de même qu'une seule dose de GnRH α (30 µg.kg⁻¹) associé au dompéridone (3 mg.kg⁻¹) chez *P. bocourti*. L'effet du temps de latence constituait l'objet prioritaire de l'étude, et, pour cette raison, l'effet de la dose d'hormone n'a pas été testé.

Chez des mâles de poisson-rouge *Carassius auratus* hypophysectomisés et traités à l'hCG, le volume de sperme collecté par poisson augmente de 33,8 fois avec la dose d'hormone, de 100 à 1000 UI.kg⁻¹ (Billard *et al.*, 1982). Chez *Silurus glanis*, aucun effet de la dose n'est sensible entre 2000, 4000 et 10000 UI.kg⁻¹ (Redondo-Müller, 1990)¹. La dose d'hCG de 2000 UI.kg⁻¹ employée ici paraît donc optimale.

Chez *Silurus glanis*, l'effet du GnRH α est multiplié par 5,2 lorsque la dose augmente de 10 à 20 µg.kg⁻¹, et seulement de 53 % lorsque la dose augmente encore, de 20 à 30 µg.kg⁻¹ (Redondo-Müller, 1990)¹. Chez *Clarias macrocephalus*, l'effet du GnRH α est augmenté de 30 % lorsque la dose augmente de 10 à 20 µg.kg⁻¹ et de 20 à 40 µg.kg⁻¹ (Tambasen-Cheong *et al.*, 1995). Enfin, chez la carpe *Cyprinus carpio*, une dose de 10 µg.kg⁻¹ de GnRH α induit une réponse 3,6 fois supérieure à celle induite par une dose de 1 µg.kg⁻¹ (Billard *et al.*, 1987). Par rapport à ces espèces, la dose de GnRH α de 30 µg.kg⁻¹ employée ici semble donc suffisante pour induire une réponse satisfaisante en terme de volume de sperme collecté.

Bien que ces références indiquent que les doses choisies sont optimales chez d'autres espèces, les réponses obtenues chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* auraient pu être différentes en augmentant les doses. Par ailleurs, l'effet du GnRH α seul, sans antidopaminergique associé, reste à déterminer.

Aux doses employées chez *P. bocourti*, l'effet maximal de l'hCG sur la production spermatique tend à être supérieur de 2,5 fois à celui du GnRH α associé au dompéridone, mais cette différence n'est pas significative. Le volume de sperme collecté chez la carpe *Cyprinus carpio* après une injection d'hormone gonadotrope (extraits hypophysaires) semble également supérieur à celui collecté après une injection de GnRH α , respectivement 12,0 et 4,12 ml.kg⁻¹, bien que les deux hormones aient été testées dans deux études différentes (Billard *et al.*, 1987 ; Saad et Billard, 1987). A l'opposé, la production de spermatozoïdes chez *Silurus glanis* en réponse à l'hCG correspond à seulement 45 % de celle obtenue avec du GnRH α associé au dompéridone (Tableau 33). En outre, Harvey et Carolsfeld (1993) rapportent que l'effet du GnRH α dépend essentiellement de la dose employée, variable en fonction des espèces et comprise entre 1 et 100 µg.kg⁻¹. Bien que d'autres références précédemment citées indiquent que la dose choisie de GnRH α soit optimale (30 µg.kg⁻¹), il est possible qu'une dose plus élevée aurait induit une meilleure réponse. Enfin, il existe plusieurs analogues du GnRH α qui sont plus ou moins actifs en fonction des espèces traités (Zohar *et al.*, 1995). Ainsi le sGnRH α est plus actif que le mGnRH α ou LHRH α chez les carpes et certaines espèces de saumon, alors que c'est l'inverse chez le sea-bream *Sparus aurata* et que ces deux types d'analogues sont équipotents chez la truite et le carrelet. Cette spécificité est liée à la fois la résistance à la

¹ : Données non publiées, cité par Legendre *et al.* (1996).

dégradation de l'hormone, à l'affinité au récepteur hormonal et à la durée de demi-vie de l'hormone.

Les deux traitements testés chez *P. bocourti* divergent au niveau du profil de la réponse. L'hCG induit une augmentation rapide et transitoire du volume de sperme collecté qui culmine 12 h après l'injection. En revanche, le GnRHa associé au dompéridone induit une réponse plus progressive, avec une augmentation régulière de 0 à 48 h après l'injection. Chez *P. hypophthalmus*, l'hCG semble également induire une augmentation transitoire du volume de sperme produit, mais décalée par rapport à *P. bocourti* puisqu'elle culmine 24 h après l'injection.

L'augmentation transitoire de la spermiation en réponse à une injection d'hormone gonadotrope a également été mise en évidence chez *Silurus glanis* (Linhart et Billard, 1994). Une journée après une injection d'extraits hypophysaires de carpe (5 mg.kg^{-1}), le volume de sperme collecté par kg de poids vif est de 18,4 fois supérieur à la spermiation naturelle. Du sperme est ensuite collecté chaque jour durant sept jours, mais la spermiation est la plus abondante le premier jour après l'induction (52 % du volume total de sperme collecté). Chez la carpe *Cyprinus carpio*, l'augmentation de la spermiation est également transitoire en réponse à une injection d'extraits hypophysaires, avec une réponse maximale entre 12 et 24 h après l'injection (Saad et Billard, 1987).

Chez *Clarias macrocephalus*, le GnRHa associé au dompéridone induit une augmentation transitoire du volume de sperme collecté 24 h après l'injection (Tambasen-Cheong *et al.*, 1995). Cette réponse est plus marquée et plus rapide que chez *P. bocourti*, probablement en raison d'une meilleure réceptivité à l'hormone chez *C. macrocephalus*.

5.5.4.2. Relation entre volume de sperme et concentration en spermatozoïdes

Sur l'ensemble des échantillons de sperme collectés chez les deux espèces, la concentration en spermatozoïdes tend à augmenter avec le volume de sperme émis. L'activation de la spermiation se manifesterait donc par une augmentation simultanée de la production de liquide séminal et de spermatozoïdes. Cependant, chez la plupart des poissons, l'augmentation de la spermiation peu avant la reproduction se manifeste essentiellement par une production importante de liquide séminal, d'où l'accroissement simultané du volume de sperme produit et de sa dilution (Harvey et Carolsfeld, 1993). C'est notamment le cas chez *C. macrocephalus* : 24 h après l'injection de GnRHa associé au dompéridone, le volume de sperme collecté augmente de 1,9 fois alors que la concentration en spermatozoïdes diminue de 2,4 fois (Tambasen-Cheong *et al.*, 1995). Chez la carpe *Cyprinus carpio*, une injection d'extraits hypophysaires (4 mg.kg^{-1}) induit simultanément une augmentation de 3,1 fois du volume de sperme et une diminution de la concentration en spermatozoïdes (- 23 %) (Saad et Billard, 1987).

Tableau 34 : Durée de la motilité des spermatozoïdes au contact d'une solution d'activation chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Durée de la motilité (secondes)	Solution d'activation	Référence
<i>Ictalurus punctatus</i>	60-80	Eau d'étang	Guest <i>et al.</i> (1976b) (*)
<i>Clarias gariepinus</i>	118	Eau distillée	Steyn et Van Vuren (1987) (*)
<i>Rhamdia sapo</i>	45	-	Maggese <i>et al.</i> (1984) (*)
<i>Silurus glanis</i>	80	Eau pure	Saad et Billard (1995)
<i>Silurus glanis</i>	120	NaCl 30 mM, TRIS-HCl 30 mM, pH 7	Saad et Billard (1995)
<i>P. bocourti</i>	57 ± 12 [40 ; 98]	Eau pure, pH 7	Auteur
<i>P. bocourti</i>	112 ± 41 [32 ; 210]	NaCl 34 mM, TRIS 20 mM, pH 7	Auteur
<i>P. hypophthalmus</i>	45 ± 9 [30 ; 69]	Eau pure, pH 7	Auteur

(*) : D'après Legendre *et al.* (1996).

5.6. GESTION DU SPERME

5.6.1. Motilité des spermatozoïdes

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, comme chez les autres poissons, les spermatozoïdes sont immobiles dans le plasma séminal du sperme pur. Au contact de l'eau douce, leur activation est probablement déclenchée par la faible pression osmotique du milieu, comme chez les Cyprinidae et les poissons-chats (Legendre *et al.*, 1996). Deux autres facteurs peuvent intervenir : les variations de la composition ionique, dont le potassium en particulier chez les Salmonidae, ou la variation de pH comme chez le mulot, le turbot et le flétan (Billard *et al.*, 1995). Le rôle de chacun de ces trois facteurs reste à préciser chez les deux Pangasiidae. De même, d'autres paramètres susceptibles d'affecter la motilité des spermatozoïdes n'ont pas été étudiés, tels que la température, le traitement hormonal, la fréquence de collecte du sperme et la saison de reproduction (Billard *et al.*, 1995 ; Legendre *et al.*, 1996 ; Linhart et Billard, 1994).

La durée de motilité des spermatozoïdes au contact d'une solution d'activation, eau pure ou solution à faible salinité, est brève chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Il en est de même chez d'autres espèces de poissons-chats, avec une durée moyenne de motilité généralement comprise entre 45 secondes et 2 minutes (Tableau 34), et, chez les poissons en général, avec une durée de motilité variant de 30 secondes à 5 mn (Stoss, 1983)¹. Par rapport à l'eau pure à pH 7, la durée moyenne de motilité des spermatozoïdes placés au contact d'une solution saline (NaCl 34 mM, TRIS 30 mM, pH 7) est deux fois plus longue chez *P. bocourti*. Il en est de même chez *Silurus glanis* : la survie des spermatozoïdes dans une solution saline (NaCl 30 mM, TRIS 30 mM, pH 7) est meilleure que dans l'eau pure, avec respectivement 60 et 5 % de spermatozoïdes mobiles après une minute d'activation (Saad et Billard, 1995). Chez la carpe *Cyprinus carpio*, la motilité est encore plus brève dans l'eau pure (30 à 40 secondes à 20 °C) et les spermatozoïdes se désorganisent rapidement, par un enroulement du flagelle après 30 secondes d'activation (Perchec *et al.*, 1995)². De telles désorganisations flagellaires ne se produisent pas en solution saline, et, en outre, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles dépend de la pression osmotique et de la nature des ions. Une solution d'activation (NaCl 45 mM, KCl 5 mM, TRIS-HCl 30 mM, pH 8) permet ainsi de maintenir une motilité maximale pendant 30 à 40 secondes, puis la motilité diminue rapidement entre 60 et 90 secondes et se maintient faiblement jusqu'à 200 secondes.

5.6.2. Conservation du sperme

In vitro, le sperme frais de *P. hypophthalmus* ne peut pas être conservé pendant 24 h en étant simplement stocké à la température de 4-5 °C. En revanche, Mongkonpunya *et al.* (1995) ont montré que le sperme non dilué de *P. gigas* peut être conservé durant 24 à 48 h à la température de 5-6 °C, sans grande altération de sa motilité (- 10 %). La possibilité de conserver le sperme pur n'a pas été testée chez *P. bocourti*. Chez *P. hypophthalmus*, comme chez tous les poissons, la survie du sperme est moins bonne *in vitro* que *in vivo*. *In vivo*, la composition ionique du milieu, la présence de nutriments, d'oxygène, de vitamine C

¹ : Cité par Rana (1995).

² : Cités par Eeckhoutte (1996).

Tableau 35 : Modalités de la conservation du sperme réfrigéré chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Solution immobilisation	Taux de dilution Du sperme	Durée de Conservation	Référence
<i>Clarias gariepinus</i>	Sperme pur	-	24 h +	Hogendoorn et Vismans (1980)
	NaCl 155 mM	10, 100, 1000	24 h +	Hogendoorn et Vismans (1980)
<i>Clarias macrocephalus</i>	NaCl 155 mM	1,9-6,0	8 h +	Tambasen-Cheong <i>et al.</i> (1995)
<i>Heterobranchus Longifilis</i>	NaCl 155 mM	10	quelques heures +	Legendre (1986)
	NaCl 155 mM, TRIS-HCl 20 mM, pH 7	Sans influence	72 h	Bernard, non publié (1996) ^(c)
<i>Ictalurus punctatus</i>	Solution saline	-	9 semaines	Guest <i>et al.</i> (1976b) ^(d)
<i>Silurus glanis</i>	NaCl 200 mM , TRIS-HCl 30 mM, pH 7	≤ 2	10 h +	Saad et Billard (1995)
	NaCl 200 mM, TRIS-HCl 30 mM, pH 7 + antibiotiques (0-40 µg.ml ⁻¹)	2	7-16 jours	Redondo-Müller (1990) ^(d)
<i>Pangasius gigas</i>	Sperme pur	-	24-48 h	Mongkonpunya <i>et al.</i> (1995)
	Solution tampon de bicarbonate ^(a)	2	24-48 h	
	Solution de Hank ^(a)	2	4-5 jours	
	Solution de Hank sans calcium ^(a)	2	5-6 jours	
<i>P. hypophthalmus</i>	Aucune	Sperme pur	80 mn	Withler (1982)
	NaCl 155 mM, TRIS 20 mM, pH 7	2	24-48 h	Auteur
<i>P. bocourti</i>	NaCl 207 mM, TRIS 20 mM, pH 7	5 ^(b)	35 h	Auteur

^(a) : Composition en

Annexe 54 ,

^(b) : d'autres taux de dilution n'ont pas été testés,

^(c) : d'après Eeckhoutte (1996),

^(d) : d'après Legendre *et al.* (1996).

(antioxydant) et de stéroïdes sont favorables à la survie du sperme (Billard *et al.*, 1995). La durée et la qualité de la conservation du sperme frais à court terme sont variables en fonction des espèces et des individus. Le sperme pur de *Clarias gariepinus* peut être conservé durant 24 h (Hogendoorn et Vismans, 1980). Le sperme pur de Salmonidae, carpes et mérous peut être conservé durant un à plusieurs jours à 1-4 °C, voire plusieurs semaines à un mois en présence d'antibiotiques et d'une atmosphère enrichie en oxygène (Billard *et al.*, 1995).

Au moment de la collecte du sperme par striping, la pollution du sperme par l'urine peut abaisser l'osmolarité du plasma séminal, jusqu'à 40 % chez le saumon *Salmo salar*, et affecter ainsi la conservation du sperme *in vitro* (Rana, 1995). Afin de prévenir cette baisse d'osmolarité, Billard *et al.* (1995) préconisent de collecter le sperme dans une solution saline, à l'aide d'une seringue pour les espèces oligospermiques. Les modalités de conservation du sperme de poissons-chats sont récapitulées dans le Tableau 35. Le sperme de *P. hypophthalmus*, prélevé et dilué deux fois dans une solution saline (NaCl 155 mM, TRIS 20 mM, pH 7), peut être conservé durant 24 h ; une salinité différente et une dilution supérieure sont défavorables. A la même dilution et dans une solution de salinité similaire (NaCl 153 mM), le sperme de *P. gigas* peut se conserver bien plus longtemps, jusqu'à 5-6 jours. L'ajout d'une faible quantité de calcium (0,385 mM) à cette solution semble être défavorable. L'osmolarité correspondante des solutions d'immobilisation chez *P. hypophthalmus* et *P. gigas*, respectivement 310 et 320 mOsmol.kg⁻¹ est également efficace chez *Silurus glanis* (310 mOsmol.kg⁻¹ avec du NaCl ou du KCl) pour bloquer la motilité des spermatozoïdes. Chez *Silurus glanis*, Saad et Billard (1995) ont montré que ce blocage est dû à l'osmolarité de la solution d'immobilisation, supérieure à celle du plasma séminal (105-244 mOsmol.kg⁻¹). La même observation peut être faite chez *Clarias gariepinus* : l'osmolarité de la solution d'immobilisation (310 mOsmol.kg⁻¹) est supérieure à celle du plasma séminal (222 mOsmol.kg⁻¹) (Steyn et Van Vuren, 1986)¹. Enfin, la même osmolarité est employée pour conserver le sperme de *Clarias macrocephalus* et *Heterobranchus longifilis* (310 mOsmol.kg⁻¹ avec du NaCl à 155 mM).

Outre le maintien de l'osmolarité, la dilution du sperme dans une solution d'immobilisation peut limiter la dégradation des spermatozoïdes par les protéases contenues dans le plasma séminal, d'une part, et réduire l'exigence en oxygène du sperme, d'autre part (Rana, 1995). Cependant, le sperme de *P. hypophthalmus* s'altère lorsque le taux de dilution est de cinq ou plus. Ce phénomène reflète peut-être une faible teneur en éléments nutritifs contenus dans le liquide séminal. Ce n'est pas le cas chez *Heterobranchus longifilis* et *Clarias macrocephalus*, dont la conservation du sperme est indépendante du taux de dilution dans la solution d'immobilisation.

La durée de conservation du sperme de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* dilué en solution d'immobilisation est du même ordre que celle d'autres poissons-chats, variant de quelques heures à 2-3 jours. Elle peut être considérablement allongée chez *Silurus glanis* (7-16 jours), en ajoutant des antibiotiques à la solution d'immobilisation, suggérant que des contaminations bactériennes peuvent nuire à la conservation du sperme.

Le sperme de *P. bocourti*, dilué cinq fois dans une solution de NaCl à 207 mM (TRIS 20 mM, pH 7), peut être conservé près de 36 h sans altération de la fertilité par rapport au sperme dilué dans la même solution et employé 30 minute après la collecte. Le taux d'éclosion maximal obtenu lors du test n'atteint cependant que 60 % en moyenne, suggérant que, si la qualité des ovules utilisés était bonne, les conditions de conservation du sperme de

¹ : Cités par Legendre *et al.* (1996).

P. bocourti peuvent être améliorées, notamment au niveau de l'osmolarité de la solution d'immobilisation et / ou de la dilution du sperme. En outre, la nature des ions qui composent la solution peuvent jouer un rôle ; dans ce sens, une solution de KCl est à tester.

Tableau 36 : Composition de la solution d'activation et dilution du sperme lors de la fécondation chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Solution d'activation	Dilution du sperme	Référence
<i>Silurus glanis</i>	NaCl 17 mM, TRIS 5 mM, pH 8	≈ 66	Linhart <i>et al.</i> (1987) (*)
<i>Silurus glanis</i>	NaCl 50-75 mM, TRIS-HCl 20 mM, pH 7	10 ⁻³	Saad et Billard (1995)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	Eau pure	10 ⁻²	Legendre (1986)
<i>Clarias macrocephalus</i>	Eau pure	350-700	Tambasen-Cheong <i>et al.</i> (1995)
<i>P. bocourti</i>	NaCl 0-34 mM, TRIS 20 mM , pH 7	10 ⁻³	Auteur
<i>P. hypophthalmus</i>	NaCl 34 mM, TRIS 20 mM, pH 7	10 ⁻²	Auteur

(*) : D'après Legendre *et al.* (1996).

5.7. CONDITIONS DE FECONDATION

Pour être optimale, la fécondation chez *P. hypophthalmus* nécessite une solution d'activation à faible salinité (NaCl 34 mM, TRIS 20 mM, pH 7) et un sperme relativement peu dilué dans cette solution (10^{-2}). La fécondation chez *P. bocourti* n'est en revanche pas sensible à la salinité de la solution d'activation (0 ou 34 mM de NaCl, TRIS 20 mM, pH 7) et le sperme peut être très dilué (jusqu'à 10^{-4}). Les conditions de fécondation optimales sont donc relativement plus strictes chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti* : le taux de dilution conseillé pour le sperme est respectivement de 10^{-2} et de 10^{-3} . Le Tableau 36 récapitule les conditions de fécondation optimales chez plusieurs espèces de poissons-chats.

Comme chez *P. hypophthalmus*, le taux de fécondation chez *Silurus glanis* est meilleur dans une solution de faible salinité que dans l'eau pure (Saad et Billard, 1995) : il augmente avec l'osmolarité de la solution d'activation jusqu'à un maximum correspondant à 100-150 mOsmol.kg⁻¹, puis il diminue à une osmolarité supérieure. D'après Billard *et al.* (1995), une solution saline est également préférable chez les Salmonidae et *Esox lucius* (NaCl 125 mM), et chez les Cyprinidae (NaCl 45 mM + KCl 5 mM). Un choc osmotique modéré permet donc une meilleure activation des spermatozoïdes chez ces espèces. Par ailleurs, les solutions salines employées sont également compatibles avec la fécondabilité des ovules.

Chez *P. hypophthalmus*, le sperme en solution d'immobilisation devient visqueux au contact de l'eau pure. Or, ce phénomène ne se produisant pas au contact d'une solution saline (NaCl 34 mM, TRIS 20 mM, pH 7), la formation du gel pourrait être causée par la lyse des spermatozoïdes, suite à un choc osmotique trop fort, dans l'eau pure.

Lorsque la dilution du sperme augmente de 10^{-2} à 10^{-4} , le taux de fécondation reste élevé chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, même s'il diminue sensiblement chez *P. hypophthalmus*, puis le taux de fécondation chute à la dilution de 10^{-5} chez les deux espèces. Le taux de fécondation chute également à partir d'une dilution de 10^{-5} chez la carpe *Cyprinus carpio* (Billard *et al.*, 1986) ; comme pour *P. bocourti*, une dilution pratique du sperme carpe de 10^{-3} est recommandée. Ce taux de dilution est également employé pour les tests de fécondation chez *Silurus glanis* (Saad et Billard, 1995) et la truite *Onchorynchus mykiss* (Campbell *et al.*, 1992). Legendre (1986) emploie un taux de dilution inférieur pour le sperme de *Heterobranchus longifilis* qui correspond à celui conseillé ici pour *P. hypophthalmus* (10^{-2}).

La dilution optimale du sperme dans la solution d'activation ayant été définie pour les deux Pangasiidae, il reste à étudier l'influence du rapport entre le nombre de spermatozoïdes et le nombre d'ovules à féconder. Cela revient à tester le volume de solution d'activation à ajouter pour féconder une quantité d'ovule fixe, avec une dilution du sperme déterminée.

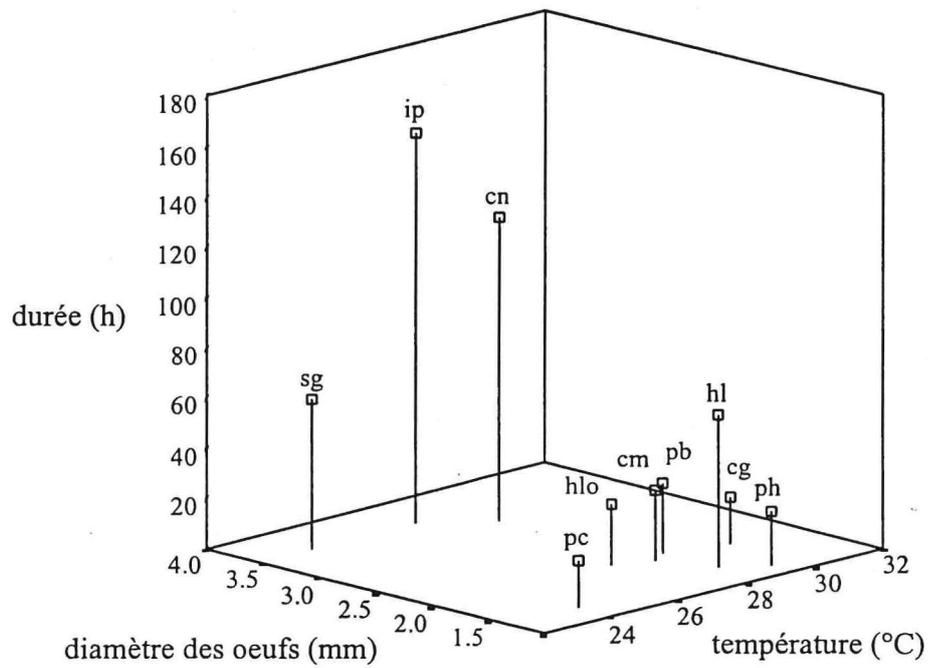
Le pH de la solution d'activation conditionne également la fertilité. Cette solution est tamponnée avec du TRIS (20-30 mM) pour un pH optimal de 7-8 chez la carpe *Cyprinus carpio*, et supérieur ou égal à 8 chez le brochet *Esox lucius* (Billard *et al.*, 1995). Toutes les solutions employées dans l'étude présentée ont été tamponnées à la neutralité (TRIS 20 mM) et l'incidence du pH sur la fertilité reste à déterminer chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*.

Chez *P. hypophthalmus*, la fécondabilité des ovules chute après seulement 15 secondes au contact de l'eau pure, puis elle reste faible pendant une minute et peut-être plus. La fécondabilité des ovules de poissons au contact de l'eau est généralement brève : elle est nulle

après une minute chez *Silurus glanis* (Linhart et Billard, 1995) et après 30-40 secondes chez la carpe *Hypophthalmichthys molitrix* (Mikodina et Makeyeva, 1980)¹. La survie des ovules est cependant améliorée au contact d'une solution faiblement saline : elle est de 3-4 minutes chez *S. glanis* (NaCl 17-41 mM, TRIS 5 mM, pH 7) et de plus de 50 secondes chez la carpe *H. molitrix*. Il pourrait en être de même chez *P. hypophthalmus*, mais cela reste à déterminer. La survie des ovules de *P. bocourti* au contact des solutions d'activation reste également à déterminer.

Chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*, la durée moyenne de motilité des spermatozoïdes dans l'eau pure n'excède pas une minute. Ce délai est donc nécessaire et suffisant pour assurer la fécondation des ovules placés en contact de sperme et d'eau pure. Le délai de fécondation est également d'une minute chez *Heterobranchus longifilis* (Legendre, 1986). Il pourrait probablement être plus long si une solution saline remplaçait l'eau pure. C'est le cas chez *Silurus glanis*, avec une solution saline d'activation (NaCl 30 mM, TRIS 30 mM, pH 7) et un délai conseillé pour la fécondation de deux minutes (Saad et Billard, 1995). Ce délai correspondant à la durée de motilité des spermatozoïdes au contact de la solution d'activation, supérieure à celle des spermatozoïdes au contact de l'eau pure (80 secondes).

¹ : Cités par Billard *et al.* (1986).



cg : *Clarias gariepinus*
 cm : *Clarias macrocephalus*
 cn : *Chrysichthys nigrodigitatus*
 hlo : *Heterobranchus longifilis*
 hl : *Hoplosternum littorale*
 ip : *Ictalurus punctatus*
 pb : *Pangasius bocourti*
 pc : *Pseudoplatystoma coruscan*
 ph : *Pangasius hypophthalmus*
 sg : *Silurus glanis*

Figure 87 : Durée de l'incubation en fonction de la taille des œufs et de la température d'incubation chez plusieurs espèces de poissons-chats

D'après les données en Annexe 55.

5.8. CARACTERISTIQUES DES ŒUFS

Les œufs de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus* sont proches de ceux de *Clarias gariepinus*, *C. macrocephalus* et *Heterobranchus longifilis* (Figure 87 ; Annexe 55) ; leurs œufs sont de petite taille (≤ 2 mm), la température d'incubation est élevée (≥ 27 °C) et la durée d'incubation est relativement brève (≤ 28 h). Par ailleurs, le diamètre des œufs hydratés chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* n'est que faiblement supérieur à celui des ovules. L'hydratation de ces œufs est donc relativement faible, comme chez la plupart des poissons-chats. L'hydratation des œufs peut être plus importante chez les Cyprinidae : chez les carpes chinoises, les œufs de 0,7-1,5 mm peuvent atteindre 6 mm après hydratation (Horvath et Luckowicz, 1982)¹.

Les œufs de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont adhérents et ils collent donc au substrat durant l'incubation, comme les œufs de la plupart des poissons-chats (Legendre *et al.*, 1996). L'adhésivité des œufs chez les deux Pangasiidae est uniforme sur toute la surface du chorion, comme chez *Silurus glanis* et *Chrysichthys nigrodigitatus*, alors que, chez les Clariidae, l'adhésivité des œufs est assurée par un disque qui ne représente qu'une fraction de la surface du chorion. Les œufs de Pimelodidae, *Pseudoplatystoma coruscans* et *P. fasciatum*, ne sont en revanche pas collants et ils restent en suspension dans l'eau durant l'incubation.

En condition de production, les œufs naturellement collants de *P. bocourti* et de *P. hypophthalmus* peuvent être incubés sur des claies en filet (1 mm de maille). Ce type d'incubation est également employé avec les œufs de *Clarias gariepinus* (Legendre *et al.*, 1996). L'incubation des œufs en bouteille de Zoug peut être pratiquée chez les deux Pangasiidae, en rinçant préalablement les œufs fécondés au tanin pour éliminer l'adhésivité naturelle. Cette procédure est également employée chez *Silurus glanis* (Geldhauser, 1996)² et chez d'autres espèces de poissons qui présentent des œufs adhésifs (Woynarovitch et Horvath, 1980). Il faut toutefois prendre garde à ne pas laisser les œufs trop longtemps au contact du tanin, et cette solution ne doit pas non plus être trop concentrée ; des expériences sont en cours pour définir avec précision les conditions d'utilisation du tanin chez les deux Pangasiidae. Par ailleurs, d'autres traitements moins dangereux pour les œufs pourraient être testés, telle que la digestion de la pellicule adhérente par les protéases, employée chez *Ictalurus punctatus* (papaine) et *Silurus glanis* (alcalase, trypsine), ou bien l'enrobage des œufs, employé chez *Clarias gariepinus* (poudre de lait) et *Silurus glanis* (argile) (Legendre *et al.*, 1996).

¹ : Cités par Billard *et al.* (1986).

² : Communication personnelle, cité par Legendre *et al.* (1996).

CONCLUSION

Dans les conditions employées au Viêt-Nam au cours de cette étude, *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* présentent un cycle sexuel saisonnier marqué, caractérisé par une phase de maturation durant la saison sèche chez *P. bocourti* et sensiblement décalé durant la mousson chez *P. hypophthalmus*. L'augmentation de la température constitue le stimulus majeur le plus probable, bien que l'augmentation de la photopériode puisse également intervenir. La pluviométrie n'a pas d'influence sur la maturation de *P. bocourti*, mais elle peut jouer un rôle mis en évidence chez une partie des *P. hypophthalmus* observés. Les profils de maturation sont similaires en étangs et en cages flottantes, bien que les conditions hydrologiques soient différentes, au niveau du débit et de la transparence de l'eau notamment.

Aucune ovulation spontanée n'a été observée en captivité, mais la reproduction peut être obtenue par induction hormonale chez les deux espèces, élevées en cages flottantes ou en étangs. Les femelles de *P. hypophthalmus* parviennent à un stade de maturité plus avancé que les femelles de *P. bocourti*, et cette différence permet l'application d'un traitement hormonal à l'hCG plus court chez *P. hypophthalmus*. La fécondité relative est très variable chez les deux espèces, peut-être reflète-t-elle une variabilité génétique importante, ou bien une maturation hétérogène. En moyenne, la fécondité relative de *P. hypophthalmus* est nettement supérieure à celle de *P. bocourti*. La même différence quantitative en faveur de *P. hypophthalmus* se retrouve au niveau de la production spermatique. En revanche, la survie des ovules est brève chez *P. hypophthalmus* et les conditions de fécondations optimales chez cette espèce sont plus strictes que chez *P. bocourti*. D'autres études ont montré par ailleurs que la survie larvaire est plus élevée chez *P. bocourti* que chez *P. hypophthalmus* en conditions d'élevage.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour justifier ces différences interspécifiques. La première est de nature génétique et elle suppose que les deux espèces présentent des stratégies démographiques distinctes. Ainsi, dans le milieu naturel, la faible fécondité de *P. bocourti* serait associée à une bonne éclosion des œufs et à une grande chance de survie des alevins produits. En revanche, la fécondité élevée chez *P. hypophthalmus* compenserait les pertes éventuelles dues à une éclosion des œufs et à une survie des larves aléatoires. Les deux autres hypothèses sont relatives aux conditions d'élevage. Il pourrait s'agir d'une différence d'adaptation, globalement meilleure chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*, et meilleure en étang qu'en cage flottante chez *P. bocourti*. Le stress ainsi que l'absence de certains stimuli en élevage pourraient ainsi altérer les performances de reproduction chez *P. bocourti*. Enfin, l'alimentation des poissons géniteurs peut être inappropriée, en particulier au niveau du rationnement chez *P. bocourti* et de la composition de l'aliment chez *P. hypophthalmus*. Ces deux facteurs peuvent se cumuler et causer une baisse de la fécondité chez *P. bocourti* et de la qualité des gamètes chez *P. hypophthalmus*.

L'étude de la biologie de la reproduction dans le milieu naturel contribuerait à la détermination du potentiel de performance reproductrice de ces deux espèces. En outre, en conditions d'élevage, des tests d'alimentation permettraient de définir les besoins nutritionnels, tant au niveau de la nature des nutriments nécessaires que du rationnement optimal. Chez *P. bocourti* en particulier, dans le milieu naturel, il est probable que les poissons géniteurs alternent au cours de l'année une phase de constitution de réserves corporelles et une phase de mobilisation de celles-ci.

L'induction de la reproduction des femelles de *P. bocourti* implique un traitement préliminaire comprenant plusieurs injections quotidiennes. La mise au point d'un traitement

par implant hormonal limiterait la manipulation des poissons géniteurs, et, ainsi, le stress des poissons susceptible d'altérer les performances de reproduction.

La qualité des ovules chez *P. hypophthalmus* se détériore rapidement après l'ovulation. En conditions de reproduction artificielle, avec fécondation *in vitro*, ce phénomène implique de suivre très régulièrement chaque femelle induite afin d'obtenir une bonne fécondation. Or, si la ponte pouvait se dérouler naturellement après l'induction hormonale, il est probable que la qualité des œufs obtenus serait optimale. Un protocole de reproduction naturelle aménagée est donc à étudier, notamment au niveau du substrat de ponte pour la collecte des œufs.

La fécondité relative de chaque espèce est caractérisée par une variabilité individuelle importante, probablement liée à l'origine « sauvage » des poissons géniteurs. Cette variabilité constitue une base intéressante pour un programme d'amélioration génétique des performances de la reproduction. La même approche permettrait également d'étendre la période de reproduction au cours de l'année, par l'identification de souches précoces et tardives.

Dans le delta du Mékong au Viêt-Nam, il semble que *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* doivent être élevés durant plusieurs années avant de pouvoir être reproduits. Ce délai constituant une contrainte importante, il est nécessaire de déterminer, avec précision, l'âge à la première maturation des deux Pangasiidae, tout en étudiant l'influence probable de la domestication (géniteurs issus d'individus nés en captivité) et des conditions d'élevage sur ce paramètre.

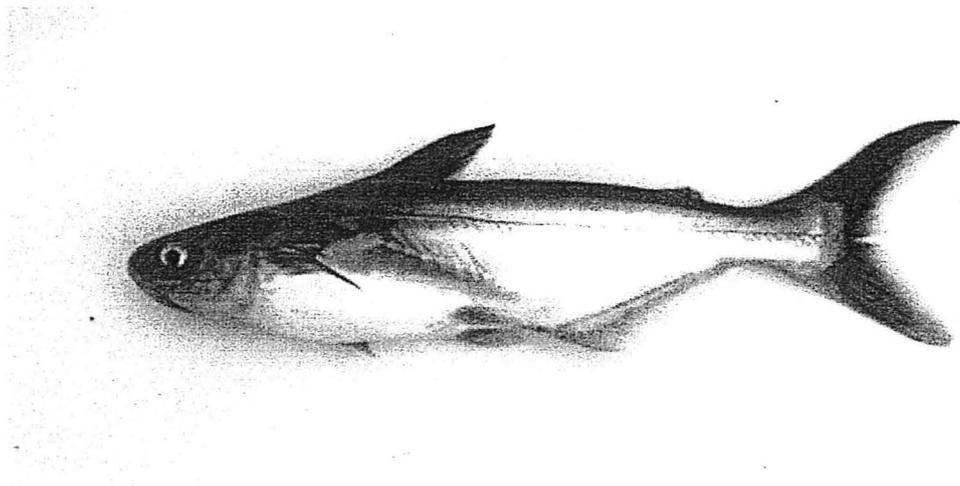
Bien qu'aucun hybride naturel n'ait été trouvé, *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sont deux espèces interfécondes dans les deux types de croisement réalisés artificiellement. L'hybride obtenu en fécondant des ovules de *P. hypophthalmus* avec du sperme de *P. bocourti* est particulièrement intéressant : la descendance est nombreuse (fécondité élevée de *P. hypophthalmus* associée à la bonne survie larvaire de *P. bocourti*) et l'hybride possède une chair blanche aussi prisée que celle de *P. bocourti*.

L'ovulation de femelles hybrides a été obtenue très récemment¹ et les ovules collectés sont fertiles : ils peuvent, entre autre, être fécondés avec du sperme de *P. bocourti*. Le taux d'éclosion de ces œufs est élevé, de même que la survie larvaire semble bonne. La production d'hybrides constitue donc un risque d'ordre écologique et génétique pour les populations naturelles de *Pangasius* du Mékong. Il convient donc de suspendre la production d'hybrides, d'une part, et d'envisager la production d'hybrides stériles, d'autre part, selon des techniques déjà appliquées à grande échelle chez les Salmonidae (Chevassus, 1998). Il convient également d'alerter les producteurs potentiels et les autorités concernées, au Viêt-Nam et dans les autres pays riverains du bas Mékong (Cambodge, Laos, Thaïlande).

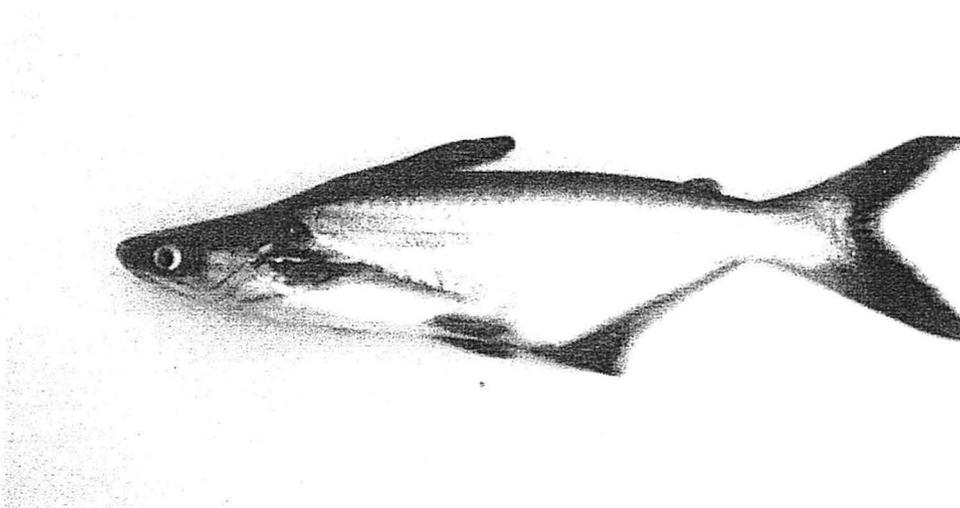
Les recherches ont abouti à la première reproduction en captivité de *P. bocourti* et à la fiabilisation de la reproduction de *P. hypophthalmus*. Depuis 1995, la valorisation de ces résultats par l'Université de Can-Tho et l'entreprise AGIFISH a permis une production significative de juvéniles. En 1998, un million de juvéniles de *P. bocourti* et d'hybrides *P. bocourti* x *P. hypophthalmus* ont été produits, ainsi que plusieurs millions de juvéniles de *P. hypophthalmus*. Mais l'amélioration des techniques mises au point, et leur vulgarisation, doivent être poursuivies afin de satisfaire la demande, estimée à plus de 20 millions de fingerlings par espèce et par an.

¹ : Tests effectués à Chau-Dôc par Marc CAMPET (doctorant CIRAD / GAMET – ENSAR) et ses collègues vietnamiens de l'entreprise AGIFISH.

ILLUSTRATIONS



Juvénile de *P. bocourti* (environ 20 cm de longueur)



Juvénile de *P. hypophthalmus* (environ 20 cm de longueur)



Étang d'élevage de *P. hypenthalmus* dans le delta du Mékong. Les latrines font partie de ce système piscicole qui permet le lagunage et le recyclage des effluents domestiques et des sous-produits agricoles.



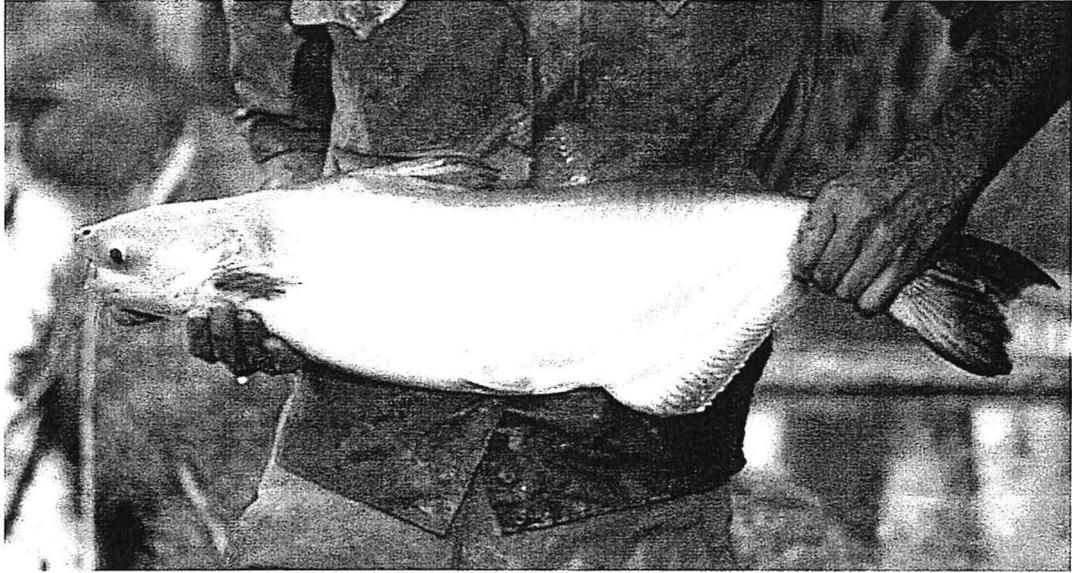
Maisons flottantes sur le Mékong à Chau-Dôc. Les cages à poissons sont placées sous les maisons. L'ensemble, construit en bois et en grillage, est ancré sur le fond du fleuve. *P. bocourti* est la principale espèce élevée dans ce type de structure.



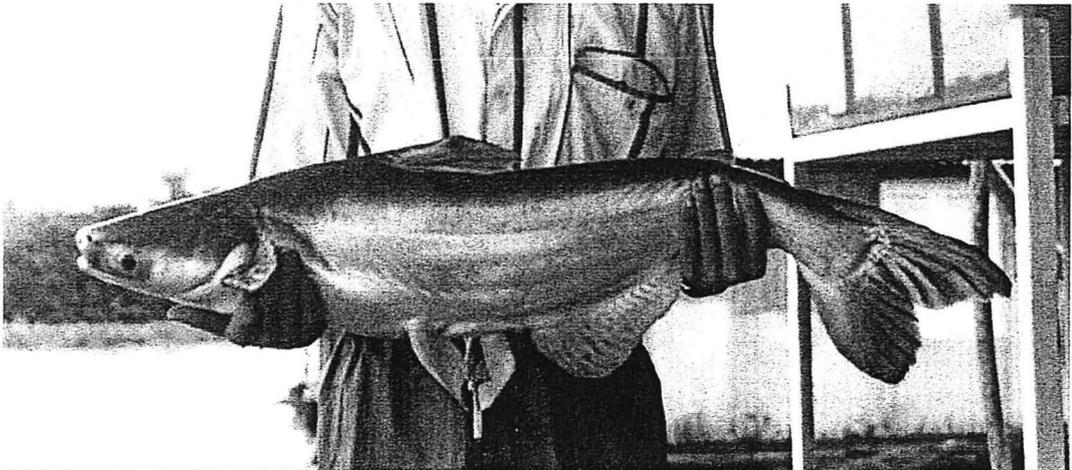
Distribution d'aliment aux poissons élevés dans une cage flottante. Il s'agit d'une pâte humide cuite, à base de son de riz principalement, et distribuée à satiété.



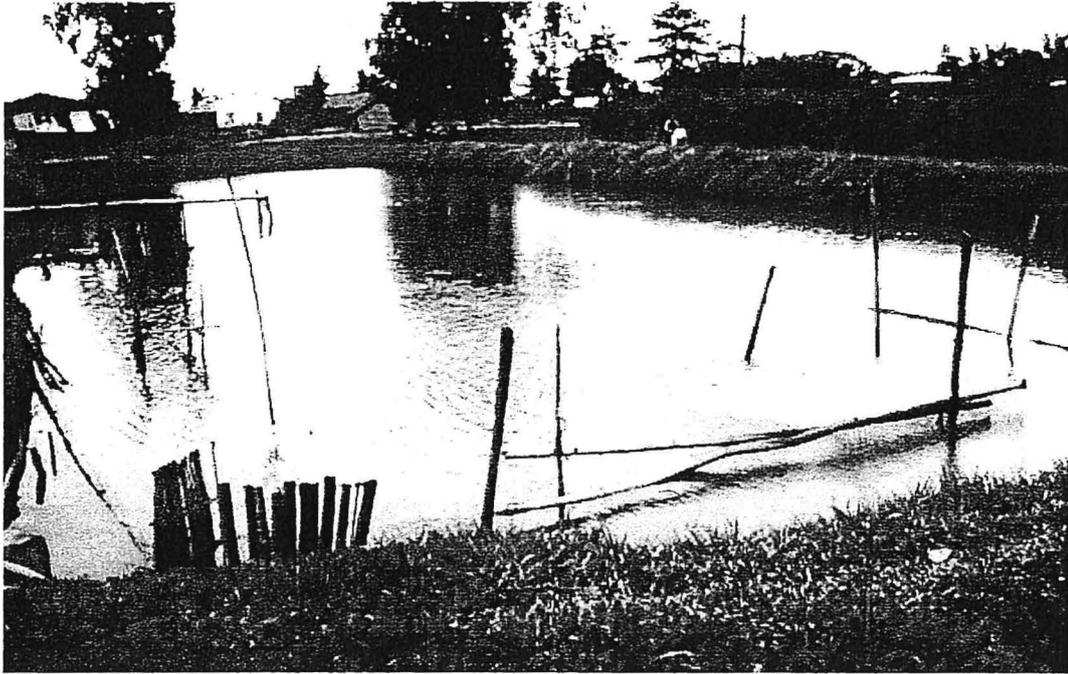
Transformation des *Pangasius* sp. À l'usine AGIFISH (Long Xuyen). Les filets de poissons sont congelés puis exportés. Cette filière exploite essentiellement les *P. bocourti* issus de l'élevage en cages flottantes. Les *P. hypophthalmus* sont surtout vendus frais sur le marché local.



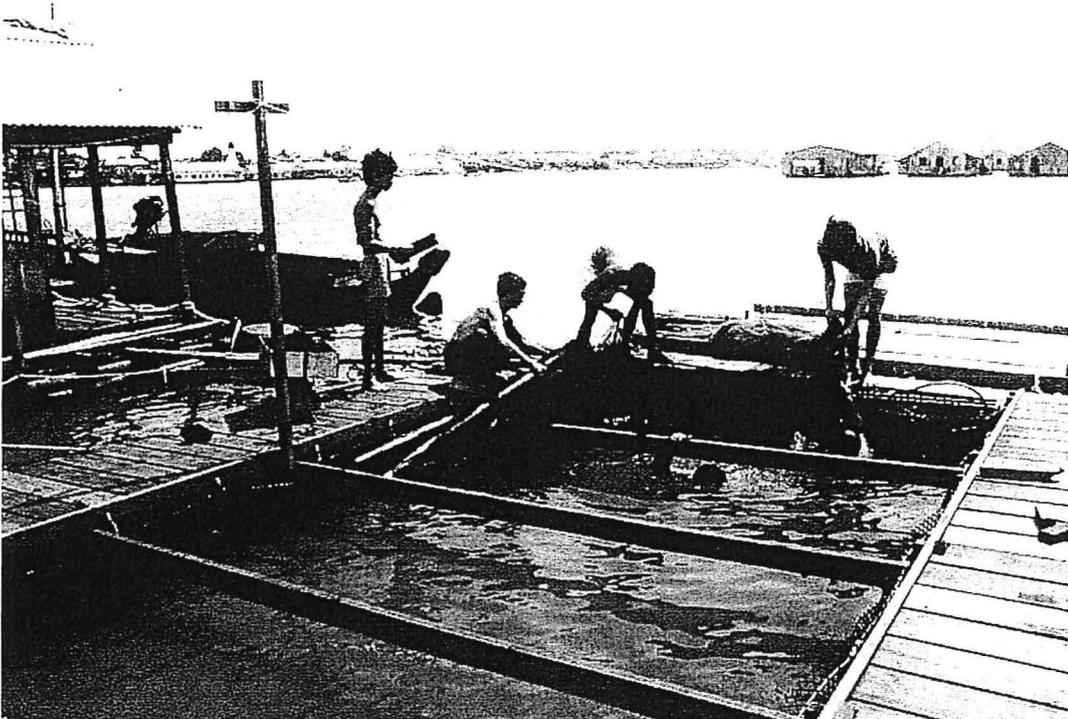
Géniteur de *P. bocourti* élevé en étang à Can-Tho



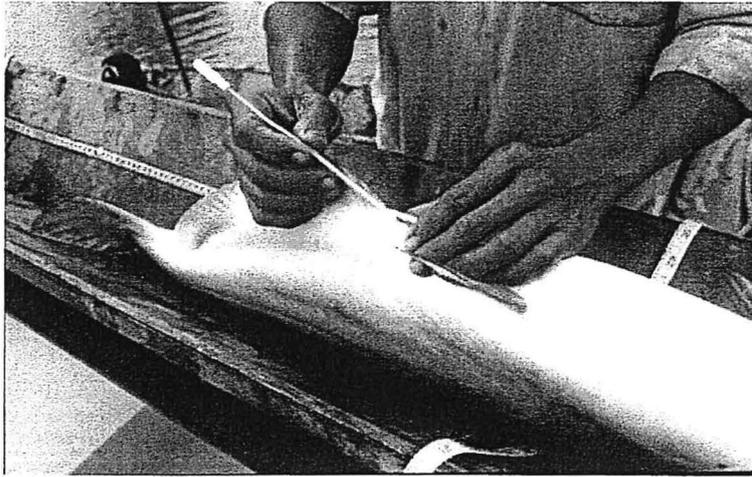
Géniteur de *P. hypthalmus* élevé en cage flottante à Chau-Dôc



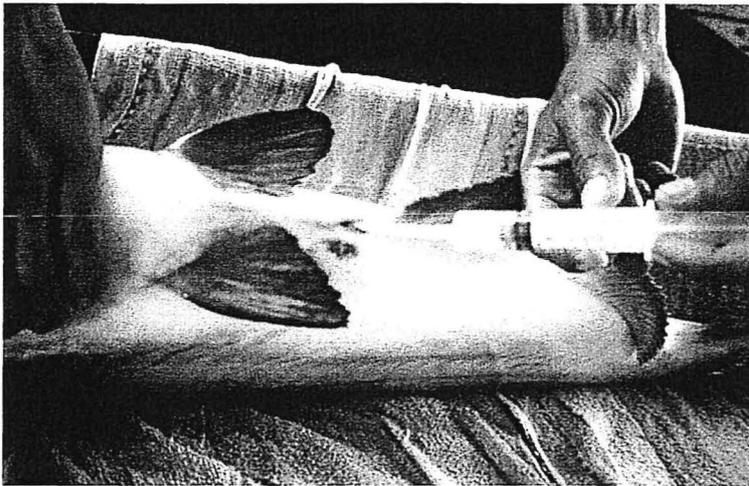
Étang d'élevage des géniteurs de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* sur le campus de l'Université de Can-Tho. Une pompe à eau est utilisée pour aérer l'eau durant la nuit en période de maturation gonadique.



Sur le Mékong à Chau-Dôc, cage flottante d'élevage des géniteurs de *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*. Capture des poissons par les collègues de l'entreprise AGIFISH.



Lors d'un inventaire des poissons géniteurs, un échantillon d'ovocytes est prélevé par biopsie ovarienne avec une pipette de Cormier

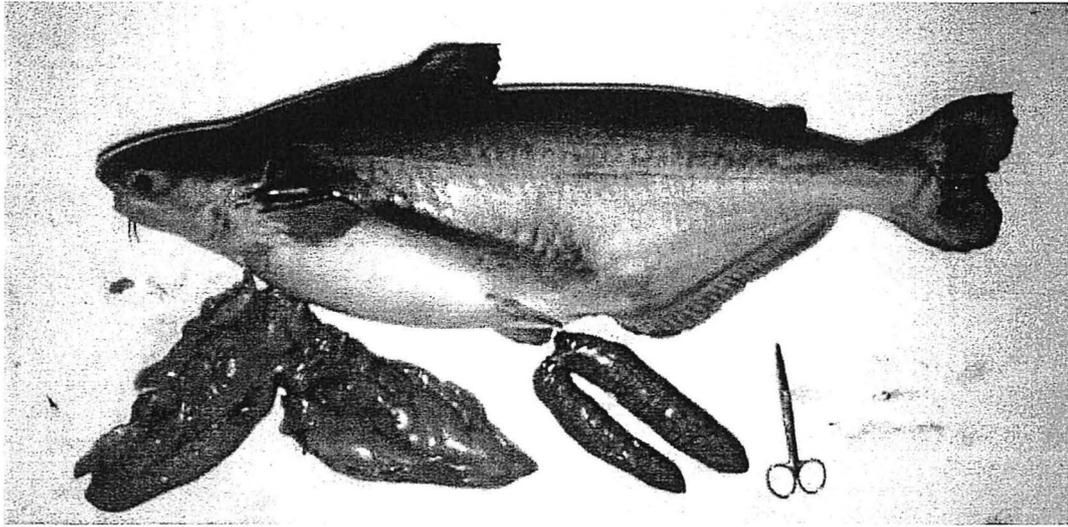


Collecte de sperme à l'aide d'une seringue contenant une solution d'immobilisation. Le sperme ainsi collecté sera utilisé pour la reproduction artificielle.

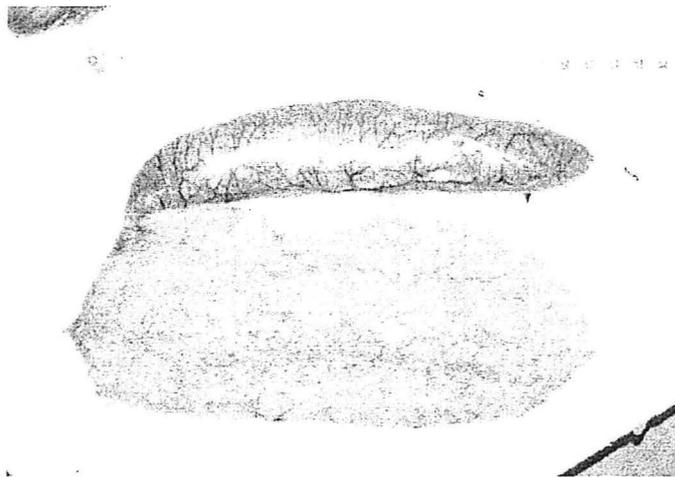


Collecte des ovules par striping.

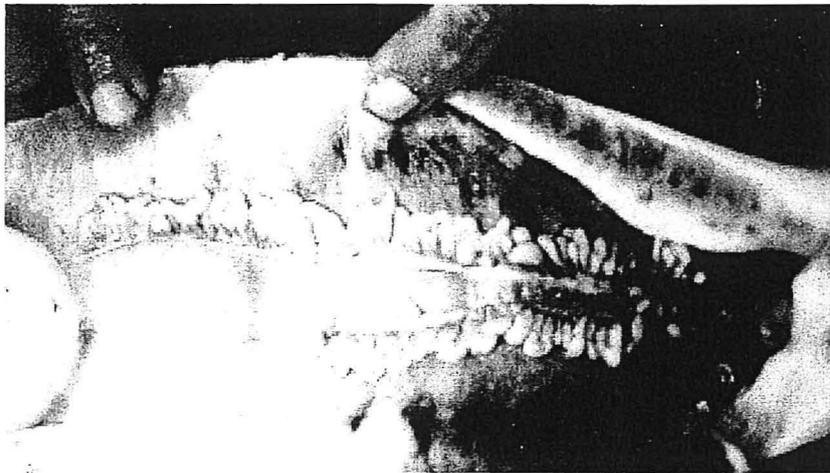
A)



B)



Géniteur femelle de *P. bocourti* éviscéré, avec les ovaires et la graisse périsvécérale (A). Malgré des ovaires à un stade de maturation avancé (B), le dépôt de graisse reste important.



Testicules matures de *P. bocourti*

REFERENCES

- Agnès J.F., G.G. Teugels, P. Galbusera, R. Guyomard, F. Volckaert 1997. Morphometric and genetic characterization of sympatric populations of *Clarias gariepinus* and *C. anguillaris* from Senegal. *Journal of Fish Biology* **50**, 1143-1157.
- Aida K. 1988. A review of plasma hormone changes during ovulation in Cyprinid fishes. *Aquaculture* **74**, 11-21.
- Albaret J.-J. 1982. Reproduction et fécondité des poissons d'eau douce de Côte d'Ivoire. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale* **15**(4), 347-371.
- Almendras J.M., C. Duenas, J. Nacario, N.M. Sherwood, L.W. Crim 1988. Sustained hormone release. 3. Use of gonadotropin releasing hormone analogues to induce multiple spawnings in sea bass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* **74**, 97-111.
- Anh T.T.M., P.T.X. Dai, L.K. Huy, V.P. Hoa 1981. Nuoi uo thanh thuc va su dung kich duc to trong sinh san nhan tao ca tra - Broodstock management and artificial propagation in Ca tra (Vietnamese). Can-Tho University, Faculty of Fishery and Aquaculture. Can-Tho, Viet-Nam. 84 p.
- Bazir A. 1994. Caractéristiques de la pisciculture en cages flottantes sur deux lacs de barrage du Sud Viêt-Nam. ORSTOM / GAMET. Montpellier, France. N° 11, 107 p. + annexes.
- Bénech V., S. Outtara 1990. Rôle des variations de conductivité de l'eau et d'autres facteurs externes dans la croissance ovarienne d'un poisson tropical, *Brycinus leucisus*. *Aquatic Living Resources* **3**, 153-162.
- Billard R., K. Bieniarz, W. Popek, P. Epler, B. Breton, K. Alagarswami 1987. Stimulation of gonadotropin secretion and spermiation in carp by pimozide-LHRH-A treatment : effects of dose and time of day. *Aquaculture* **62**, 161-170.
- Billard R., J. Cosson, L.W. Crim, M. Suquet 1995. Sperm physiology and quality. In : Broodstock management and egg and larval quality. N. R. Bromage and R. J. Roberts eds. Blackwell Science, London. 25-52.
- Billard R., A. Fostier, C. Weil, B. Breton 1982. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **39**(1), 65-79.
- Billard R., J.L. Gatty, M.G. Hollebecq, J. Marcel 1986. Biology of gametes, eggs and embryos. In : Aquaculture of Cyprinids - L'aquaculture des Cyprinidés. R. Billard et J. Marcel eds. Symposium 2-5 September 1985, Evry, France. INRA, Paris. 151-164.
- Boonbrahm M. 1959. Report on the experiment on artificial fertilization of Catfish *Pangasius pangasius* (Hamilton) at Nakorn Sawan fisheries station. *Thai Fish Gaz.* **12**(1), 15-18.
- Boonbrahm M., W. Tarnchalanukit, W. Chuapoehuk 1970. Induced spawning by pituitary hormones injection of pond reared fishes. *Indo-Pacific Fisheries Council Proceedings* **13**(2), 162-170.
- Bromage N., J. Jones, C. Randall, M. Thrush, B. Davies, J. Springate, J. Duston, G. Barker 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **100**, 141-166.
- Bromage N.R. 1995. Broodstock management and seed quality - General considerations. In : Broodstock management and egg and larval quality. N. R. Bromage and R. J. Roberts eds. Blackwell Science, London. 1-24.
- Browman M.W., D.I. Kramer 1985. *Pangasius sutchi* Pangasiidae an air-breathing catfish that uses the swimbladder as an accessory respiratory organ. *Copeia* **4**, 994-998.

- Bruton M.N. 1996. Alternative life-history strategies of catfishes. *In* : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 Mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9** (Hors série), 35-41.
- Cacot P. 1993. Présentation de la pisciculture en cages flottantes dans le Sud Viêt-Nam. Caractéristiques de l'élevage sur le Mékong de *Pangasius pangasius*. CIRAD-EMVT, GAMET. Montpellier, France. 107 p.
- Cacot P., M. Campet 1998. Projet de recherche et de développement en pisciculture au Viêt-Nam dans le delta du Mékong. Compte-rendu de mission au Laos. CIRAD - EMVT / GAMET. Montpellier, France. 25 p.
- Campbell P.M., T.G. Pottinger, J.P. Sumpter 1992. Stress reduces quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of reproduction* **47**, 1140-1150.
- Campet M. 1997. Qualité des ovules d'un poisson-chat élevé en cages flottantes dans le delta du Mékong (*Pangasius hypophthalmus*) durant le processus de maturation ovocytaire. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes (ENSAR), Département Environnement et Exploitation des Ressources Naturelles, Laboratoire Halieutique. Rennes, France. 63 p.
- Carolsfeld J., S.M. Ramos, R. Ormanezi, J.H. Gomes, J.M. Barbosa, B. Harvey 1988. Analysis of Protocols for application of an LHRH analog for induced final maturation and ovulation of female Pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg 1887). *Aquaculture* **74**, 49-55.
- Carrillo M., S. Zanuy, F. Prat, J. Cerda, J. Ramos, E. Mananos, N. Bromage 1995. Sea-Bass (*Dicentrarchus labrax*). *In* : Broodstock management and egg and larval quality. N. R. Bromage and R. J. Roberts eds. Blackwell Science, London. 138-168.
- Chanthasoo M., S. Wiwatcharakoset, S. Lisanga 1990. Breeding of Chao Phaya Giant catfish (*Pangasius Sanitwongsei*) - Kan pho phan pla thepha pi 2532. *Thai Fisheries Gazette (Warasan Kan Pramong)* **43**(2), 95-97.
- Chevassus B. 1989. Constitution of aquaculture stocks : genetic aspects. *In* : Advances in Tropical Aquaculture eds. Symposium February 20 - March 4, 1989, Tahiti. AQUACOP - IFREMER. **9** (Actes de colloque), 569-592.
- Chevassus B. 1998. Innovations zootechniques pour demain, des poissons génétiquement résistants aux maladies. *Ingénieurs de la Vie, les Cahiers des Ingénieurs Agronomes INA P-G* **446**, 18-21.
- Chevey P., F. Le Poulain 1940. La pêche dans les eaux douces du Cambodge. Institut Océanographique de l'Indochine (Nha Trang, Viêt-Nam). Consultable à l'Institut Océanographique de Monaco. 193 p.
- Coche A.G. 1978. A review of fish cage culture as practiced in inland waters. *Aquaculture* **13**(2), 157-190.
- Craik J.C.A., S.M. Harvey 1984. Biochemical changes associated with over ripening of the eggs of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Aquaculture* **37**, 347-357.
- Csavas I. 1992. Potentials for aquaculture development in Vietnam. *In* : Vietnam Fisheries Development Workshops. Symposium 5-7 may 1992, Hanoi, Vietnam. ICD/UNDP/MINFISH, Bangkok. 23 p.

- Danguy A., G. Lenglet 1988. Anatomical-microscopic study of the gas bladder in *Pangasius sutchi* Fowler (Teleostei, Siluriformes). *Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique (Annalen van de Koninklijke Belgische Vereniging voor Dierkunde)* **118**(2), 199-209.
- Das A.B., B.K. Ratha 1996. Physiological adaptative mechanisms of catfish (Siluroidei) to environmental changes. *In* : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9 (hors série)**, 135-143.
- David A. 1963. Fisheries biology of the Schilbeid catfish *Pangasius pangasius* (Ham.) and its utility and propagation in culture ponds. *Indian J. Fish.* **10**, 521-600.
- de Kinkelin P., C. Michel, P. Ghittino 1985. Précis de pathologie des poissons. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Office International des Epizooties (OIE). TECDOC Lavoisier. Paris, France . 348 p.
- de Vlaming V. 1983. Oocyte development patterns and hormonal involvement among teleost. *In* : Control Processes in Fish Physiology. J. C. Rankin, T. J. Pitcher et R. T. Duggan eds. Croom Helm, London and Camberra. 176-199.
- Donaldson E.M., G.A. Hunter 1983. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. *In* : Fish Physiology. W.S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson eds. Academic Press, New York. **IXB**. 351-403.
- Dung T.T., T.T.T. Hien, D.T. Dung, N.T. Phuong 1994. Ky thuat nuoi thuy san nuoc ngot - Techniques of fish culture in freshwater (Vietnamese). Can-Tho University, Department of Freshwater Aquaculture. Can-Tho, Viet-Nam.
- Duponchelle F. 1997. Reproduction du tilapia (Pisces, Cichlidae) *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) dans les retenues artificielles de côte d'Ivoire : analyse comparative des modalités de reproduction et approche expérimentale de leur déterminisme. Université de Bretagne Occidentale, Océanologie biologique. Rennes. 135 p.
- Eeckhoutte P. 1996. Maîtrise de la reproduction de deux poissons-chats (*Pangasius bocourti* et *Pangasius hypophthalmus*) élevés en cages flottantes dans le delta du Mékong (Viêt-Nam). Institut National Agronomique Paris - Grignon (INAP-G), Département des Sciences des Productions Animales. Paris, France. 66 p.
- FAO 1998 a. FAOSTAT Database Results (Internet). Food and Agriculture Organization (FAO). Roma, Italia.
- FAO 1998 b. Aquaculture production statistics 1987-1996. Food and Agriculture Organization (FAO). Roma, Italia.
- Fauconneau B., M. Laroche 1996. Characteristics of the flesh and quality of products of catfishes. *In* : The biology and culture of catfishes. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9 (hors série)**, 165-179.
- Fermin M.A. 1988. Growth of late maturing *Oreochromis niloticus* in cages. Central Luzon State University, Munoz, Nueva Ecija, Philippines. (Abstract).
- Forberg K.G. 1983. Maturity classification and growth of capelin, *Mallotus villosus villosus* (M.), oocytes. *J. Fish Biol.* **22**, 485-496.

- Freund F., G. Horstgen-Schwark, W. Holtz 1995. Seasonality of the reproductive cycle of female *Heterobranchus longifilis* in tropical pond culture. *Aquat. Living Resour.* **8**(4), 297-302.
- Ghosh A., B.N. Saigal 1981. Observations on the digestive enzymes in the catfish *Pangasius pangasius* (Ham.) in relation to its food habits. *J. Inland Fish. Soc. India.* **13**(1), 91-92.
- Hardjamulia A., R. Djajadiredja, S. Atmawinata, D. Idris 1981. The propagation of Jambal Siam (*Pangasius sutchi*) by the injection of the common carp (*Cyprinus carpio*) pituitary extracts - Pembenhian ikan Jambal Siam (*Pangasius sutchi*) dengan suntikan ekstrak kelenjar hipofise ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Bulletin Penelitian Perikanan* **1**(2), 183-190.
- Hardjamulia A., T.H. Prihadi, Subagyo 1986. The effect of salinities on the growth and survival rate of "jambal siam" (*Pangasius sutchi*) fry - Pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan dan daya kelangsungan hidup benih ikan jambal siam (*Pangasius sutchi*). *Bulletin Penelitian Perikanan Darat* **5**(1), 111-117.
- Harvey B., J. Carolsfeld 1993. Induced breeding in tropical fish culture. International Development Research Center. Ottawa, Ontario, Canada . 144 p.
- Hecht T. 1996. An alternative life history approach to the nutrition and feeding of Siluroidei larvae and early juveniles. *In* : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9** (hors série), 121-133.
- Hem S., J. Nunez-Rodriguez, J. Slembrouck, J. Otémé 1999. Individual marking of catfish with alcian blue dye by a jet inoculator technique. *Aquaculture (à paraître)*
- Hirose K., R. Ishida, K. Sakai 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. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **43**(4), 409-416.
- Hogendoorn H., M.M. Vismans 1980. Controlled propagation of the African catfish, *Clarias lazera* (C. & V.). *Aquaculture* **21**, 39-53.
- Horvath L. 1986. Carp oogenesis and the environment. *In* : Aquaculture of Cyprinids - L'aquaculture des Cyprinidés. R. Billard et J. Marcel eds. Symposium 2-5 September 1985, Evry, France. INRA, Paris. 109-117.
- Huang S. 1985. New Records Of Chinese Pangasiid Catfishes. *Zoological Research* **6** (1), 78.
- Hung L.T., J. Lazard, H.T. Tu, Y. Moreau 1999. Protein and energy utilization in two Mekong catfishes, *Pangasius bocourti* and *Pangasius hypophthalmus*. *In* : The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in South-East Asia. Proceeding of the mid-term workshop of the Catfish Asia project. M. Legendre et A. Pariselle eds. Symposium 11-15 May 1998, Can-Tho, Viet-Nam. (à paraître).
- Hung L.T., N.A. Tuan, N.V. Hien, P. Cacot 1999. Larval rearing of the Mekong catfish, *Pangasius bocourti* (Siluroidei, Pangasiidae) : *Artemia* alternative feeding and weaning time. *In* : The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in South-East Asia. Proceeding of the mid-term workshop of the Catfish Asia project. M. Legendre et A. Pariselle eds. Symposium 11-15 May 1998, Can-Tho, Viet-Nam. (à paraître).

- Huy L.K., H.M. Duc, V.P. Hoa, N.V. Hao, N. Tuan, N.K.D. Thu 1990. Artificial breeding of the catfish (*Pangasius micronemus*, Bleeker). Institut for Research in Aquaculture n° 2. Ho-Chi-Minh City, Viet-Nam.
- Jalabert B. 1978. Production of fertilizable oocytes from follicles of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) following in vitro maturation and ovulation. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* **18**(2 B), 461-470.
- Kartas F., J.-P. Quignard 1984. La fécondité des poissons téléostéens. Masson, Collection de biologie des Milieux Marins. Paris . 121 p.
- Kiem N.V. 1992. Preliminary experiments for artificial propagation of catfish (*Pangasius micronemus* Block). Faculty of Fisheries (Can-Tho University) and International Foundation for Science (Sweden). Can-Tho, Viet-Nam. 4 p.
- Kossowski C. 1996. Perspectives de l'élevage des poissons-chats (Siluroidei) en Amérique du Sud. *In* : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9 (hors série)**, 189-195.
- Kumarasiri W.S.A.A.L., P. Seneviratne 1988. Induced multiple spawnings of chinese carps in Sri Lanka. *Aquaculture* **74**, 57-62.
- Kuo C.-M., Y.-Y. Ting, S.-L. Yeh 1988. Induced sex reversal and spawning of blue-spotted grouper, *Epinephelus fario*. *Aquaculture* **74**, 113-126.
- Lam T.J. 1995. Egg/larval viability in fish : do hormone play a role ? *In* : Larvi'95 - Fish and Shellfish Larviculture Symposium. P. Lavens, E. Jaspers and I. Roelants eds. Symposium september 3-7, 1995, Gent, Belgium. European Aquaculture Society. **24**, 3 (abstract).
- Lazard J., P. Cacot 1997. Systèmes de production aquacoles au Vietnam : situation, perspectives et enjeux de recherche. *Agriculture et développement* **15**, 127-136.
- Lazard J., M. Legendre 1993. Compte rendu de mission en Asie du Sud-est (aquaculture continentale). CIRAD - ORSTOM / GAMET. Montpellier, France. 44 p.
- Legendre M. 1986. Seasonal changes in sexual maturity and fecundity, and hCG-induced breeding of the catfish, *Heterobranchus longifilis* VAL. (Clariidae), reared in Ebrie Lagoon (Ivory Coast). *Aquaculture* **55**, 201-213.
- Legendre M., J.J. Albaret 1991. Maximum observed length as an indicator of growth rate in tropical fishes. *Aquaculture* **94**, 327-341.
- Legendre M., B. Jalabert 1988. Physiologie de la reproduction. *In* : Biologie et écologie des poissons d'eau douce africains. C. Levêque, M. N. Bruton et G. W. Ssentongo eds. ORSTOM, Paris, France. **216**. 153-187.
- Legendre M., O. Linhart, R. Billard 1996. Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. *In* : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9 (hors série)**, 59-80.
- Legendre M., Z. Otémé 1995. Effect of varying latency period on the quantity and quality of ova after hCG-induced ovulation in the African catfish, *Heterobranchus longifilis* (Teleostei, Clariidae). *Aquat. living Resour.* **8**(4), 309-316.

- Legendre M., J. Slembrouck, J. Subadgja, A.H. Kristanto 1999. Effects of varying latency period on the *in vivo* survival of ova after Ovaprim- and hCG-induced ovulation in the Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Siluroidei, Pangasiidae). *In* : The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in South-East Asia. Proceedings of the mid-term workshop of the Catfish Asia project. M. Legendre et A. Pariselle eds. Symposium 11-15 May 1998, Can-Tho, Viet-Nam. (à paraître).
- Legendre M., J. Subadgja, J. Slembrouck 1999. Absence of marked seasonal variations in sexual maturity of *Pangasius hypophthalmus* brooders held in ponds at the Sukamandi station (Java, Indonesia). *In* : The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in South-East Asia. Proceedings of the mid-term workshop of the Catfish Asia project. M. Legendre et A. Pariselle eds. Symposium 11-15 May 1998, Can-Tho, Viet-Nam. (à paraître).
- Legendre M., G. Teugels, C. Cauty, B. Jalabert 1992. A comparative study on morphology, growth rate and reproduction of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), *Heterobranchus longifilis* Valenciennes, 1840, and their reciprocal hybrids (Pisces, Clariidae). *Journal of fish biology* **40**, 59-79.
- Lenormand S. 1996. Les Pangasiidae du Delta du Mékong (Viêt-Nam) : Description préliminaire des pêcheries, éléments de biologie et perspectives pour une diversification des élevages. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes (ENSAR), Département Environnement et Exploitation des Ressources Naturelles, Laboratoire Halieutique. Rennes, France. 83 p.
- Linhart O., R. Billard 1994. Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis* L.) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *J. Appl. Ichthyol.* **10**, 182-188.
- Linhart O., R. Billard 1995. Survival of ovulated oocytes of the European catfish (*Silurus glanis*) after *in vivo* and *in vitro* storage or exposure to saline solutions and urine. *Aquat. Living Resour.* **8**(4), 317-322.
- Little D.C., K. Kaewpaitoon, T. Haitook 1994. The commercial use of ground chicken bones to raise hybrid catfish (*Clarias gariepinus* x *Clarias macrocephalus*) in Thailand. *In* : Atelier international sur les bases biologiques de l'aquaculture des Siluriformes (BASIL). C. Albiges eds. Symposium 24-27 May 1994, Montpellier, France. CEMAGREF. **Résumé**, 194.
- Mamcarz A., E. Worniallo 1985. Rearing of coregonid fishes (Coregonidae) in illuminated lake cages. Gonad development in peled (*Coregonus peled* Gmel.) under conditions of cage culture. *Aquaculture* **49**(1), 41-54.
- Meenakarn S. 1986. Induced spawning on *Pangasius pangasius* (Hamilton) carried out in South Sumatra, Indonesia. Directorate General of Fisheries, Indonesia - United States Agency for International Development. 13 p.
- Mohsin Ali M., P.C. Dey, A. Islam, M.A. Hanif 1985. Food and feeding habits of *Pangasius pangasius* (Hamilton) of the River Bishkhali, Patuakhali. *Bangladesh J. Zool.* **13**(1), 1-6.
- Mongkonpunya K., N. Chairak, T. Pupipat, T.R. Tiersch 1995. Cryopreservation of Mekong giant catfish sperm. *Asian Fish. Sci.* **8**(3-4), 211-221.
- Nandeesh M.C. 1994. Fishes of the Mekong river - conservation and need for aquaculture. **NAGA. October 1994: 17-18 p.**

- Nomura M., K. Sakai, F. Takashima 1974. The over-ripening phenomenon of rainbow trout - 1. Temporal morphological changes of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **40**(10), 977-984.
- Nunez Rodriguez J., Z. Josué Otémé, S. Hem 1995. Comparative study of vitellogenesis of two African catfish species *Chrysichthys nigrodigitatus* (Claroteidae) and *Heterobranchus longifilis* (Clariidae). *Aquat. living Resour.* **8**(4), 291-296.
- Ohta H., H. Kagawa, H. Tanaka, K. Okuzawa, K. Hirose 1996. Milt production in the Japanese eel *Anguilla japonica* induced by repeated injections of human chorionic gonadotropin. *Fisheries Science* **62**(1), 44-49.
- Pan J.H., W.B. Zheng 1983. Observation on the embryonic and larval development of *Pangasius sutchi* (Fowler). *Trans. Chin. Ichthyol. Soc.* **3**, 1-12.
- Pankhurst N.W. 1982. Changes in body musculature with sexual maturation in the European eel, *Anguilla anguilla* (L.). *J. Fish Biol.* **21**, 417-428.
- Pantulu V.R. 1962. On the use of pectoral spine on the determination of age and growth of *Pangasius pangasius* (Ham.). *J. Cons. Inst. Explor. Mer.* **27**, 192-216.
- Peignen A. 1993. Pisciculture en étangs au Sud Viêt-Nam. GAMET, Groupe Aquaculture Méditerranéenne Continentale et Tropicale. Montpellier, France. 33 p.
- Piccioni M. 1965. Dictionnaire des aliments pour les animaux. Troisième édition traduite par Jacques Hardouin. Edizioni Agricole. Bologne (Italie). 638 p.
- Pouyaud L., R. Gustanio, M. Legendre 1999. Phylogenetic relationships among Pangasiid catfish species (Siluroidei, Pangasiidae). In : The biological diversity and aquaculture of Clariid and Pangasiid catfishes in South-East Asia. Proceedings of the mid-term workshop of the Catfish Asia project. M. Legendre et A. Pariselle eds. Symposium 11-15 May 1998, Can-Tho, Viet-Nam. (à paraître).
- Pupipat T. 1986. Preservation of *Pangasius sanitwongsei* (Smith) and *Pangasianodon gigas* (Chew) milt - Kan kep raksa nam chua pla thepa lae plabuk. Department of Fisheries. National Inland Fisheries Institut. Bangkok (Thailand).
- Ramakrishniah N. 1986. Studies on the fishery and biology of *Pangasius pangasius* (Hamilton) of the Nagarjunasagar reservoir in Andhra Pradesh India. *Indian Journal of Fisheries* **33**(3), 320-335.
- Rana K. 1995. Preservation of gametes. In : Broodstock management and egg and larval quality. N. R. Bromage et R. J. Roberts eds. Blackwell Science, London. 53-75.
- Roberts T.R. 1993. Artisanal fisheries and fish ecology below the great waterfalls of the Mekong river in Southern Laos. *Hist. Bull. Siam Soc.* **41**, 31 - 62.
- Roberts T.R., C. Vidthayanon 1991. Systematic revision of the Asian catfish family Pangasiidae with biological observations and descriptions of three new species. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **143**, 97-144.
- Saad A., R. Billard 1987. Spermatozoa production and volume of semen collected after hormonal stimulation in the Carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* **65**, 67-77.
- Saad A., R. Billard 1995. Production et gestion des spermatozoïdes chez le poisson-chat européen *Silurus glanis*. *Aquat. Living Resour.* **8**(4), 323-328.

- Saladin V. 1993. Le marquage des poissons en France, en milieu continental : aspects techniques et organisationnels. INAP-G, Institut National Agronomique Paris-Grignon, Département des Sciences Animales. Paris. 37 p. + fiches et annexes.
- Santiago C.B., A.S. Camacho, M.A. Laron 1991. Growth and reproductive performance of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) reared with or without feeding in floating cages. *Aquaculture* 96(2), 109-117.
- Sato N., I. Kawazoe, Y. Suzuki, K. Aida 1996. Use of an emulsion prepared with lipophilized gelatin for the induction of ovarian maturation in the Japanese Eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Science* 62(5), 806-814.
- Saxena P.K., R. Sandhu 1984. Influence of temperature on ovarian recrudescence in the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. *J. Fish Biol.* 44, 168-171.
- Sherwood N.M., L.W. Crim, J. Carolsfed, S.M. Walters 1988. Sustained hormone release. 1. Characteristics of in vitro release of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-A) from pellets. *Aquaculture* 74, 75-86.
- Sinha V.R.P. 1986. Integrated carp farming in Asian country. In : Aquaculture of Cyprinids - L'aquaculture des Cyprinidés. R. Billard et J. Marcel eds. Symposium 2-5 September 1985, Evry, France. INRA, Paris. 377-390.
- Slembrouck J. 1996. Eleavage intensif de larves de *Pangasius bocourti* et de *Pangasius hypophthalmus* dans une écloserie du delta du Mékong (Viêt-Nam). Problèmes rencontrés et propositions d'action. Université de Montpellier 2, CREUFOP. Montpellier, France. 46 p.
- Smitherman R.O., R.A. Dunham, P.K. Whitehead 1996. Selection, hybridation and genome manipulation in Siluroidei. In : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* 9 (hors série), 93-102.
- Subagyo, A. Hardjamulia 1992. Production of carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae in floating net cages - Pembenuhan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) di keramba jaring apung. In : Temu Karya Ilmiah Pengkajian Alih Teknologi Budidaya Ikan Dalam Keramba Minieds. Symposium 4-6 March 1991, Bogor (Indonesia). Puslitbangkan. 21, 76-83.
- Suzuki R. 1983. Multiple spawning of the cyprinid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture* 31, 233-243.
- Tamaru C.S., C.-S. Lee, C.D. Kelley, J.E. Banno, P.Y. Ha, K. Aida, I. Hanyu 1988. Characterizing the stage of maturity most receptive to an acute LHRH-analogue therapy for inducing milkfish (*Chanos chanos*) to spawn. *Aquaculture* 74, 147-163.
- Tambasen-Cheong M.V.P., J.D. Tan-Fermin, L.M.B. Garcia, R.B. Baldevarona 1995. Milt-egg ratio in artificial fertilization of the Asian freshwater catfish, *Clarias macrocephalus*, injected salmon gonadotropin-releasing hormone analogue and domperidone. *Aquat. Living Resour.* 8(4), 303-307.
- Tangtrongpiros M., K. Lawonyawut, S. Nukwan 1988. Induced spawning by using hCG produced from urine of pregnant women. NACA. Bangkok, Thaïlande. 6 p.
- Thalathiah S., A.O. Ahmad, M.S. Zaini 1988. Induced spawning techniques practised at Batu Berendam, Melaka, Malaysia. *Aquaculture* 74(1), 23-33.

- Thalathiah S., H. Hairan, A.A. Othman 1983. A study on the breeding aspects of *Pangasius sutchi* (Fowler) in Melaka. *In* : International conference on development and management of tropical living aquatic resourceseds. Symposium 2-5 August 1983, Universiti Pertanian Malaysia Serdang, Selangor, Malaysia.
- Tripathi S.D. 1996. Present statut of breeding and culture of catfishes in South Asia. *In* : The biology and culture of catfishes - La biologie et l'élevage des poissons-chats. M. Legendre et J.-P. Proteau eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. *Aquat. Living Resour.* **9 (hors série)**, 219-228.
- Vallod D. 1987. Le silure (*Silurus glanis*, L.). Association pour le Développement de l'Aquaculture. Saint-André-de-Cubzac, France. 70 p + annexes.
- Welcomme R.L. 1979. Fisheries Ecology of Floodplain Rivers. Longman. London . 317 p.
- Withler F.C. 1982. Cryo preservation of spermatozoa of some fresh water fishes cultured in South Asia and Southeast Asia. *Aquaculture* **26(3-4)**, 395-398.
- Woynarovitch E., L. Horvath 1980. The artificial propagation of warm-water finfishes - A manual for extension. FAO, Fisheries Technical Paper. Rome . 183 p.
- Xuan T.T. 1994. Some biological characteristics and the artificial reproduction of river catfish (*Pangasius micronemus* Bleeker) in the South Vietnam. *In* : Atelier international sur les bases biologiques de l'aquaculture des Siluriformes (BASIL). C. Albigès eds. Symposium 24-27 mai 1994, Montpellier, France. CEMAGREF. **Résumé**, 194.
- Zohar Y., M. Harel, S. Hassin, A. Tandler 1995. Gilt-Head Sea Bream (*Sparus aurata*). *In* : Broodstock management and egg and larval quality. N. R. Bromage et R. J. Roberts eds. Blackwell Science, London. 94-117.
- Zonneveld N., Rustidja, W.J.A.R. Viveen, W. Mudana 1988. Induced spawning and egg incubation of the Asian catfish , *Clarias batrachus*. *Aquaculture* **74**, 41-47.

ANNEXES

Annexe 1 : Bilan des performances de la reproduction artificielle de *P. hypophthalmus* pratiquée dans le Sud Viêt-Nam entre 1986 et 1990

Paramètres	%	
Mâles matures	85,4	[57 ; 100]
Femelles matures	57	[35 ; 90]
Taux d'ovulation	67,2	-
Taux de fécondation	48,5	[15 ; 80]
Taux d'éclosion	57,5	[25 ; 70]
Taux de survie des larves à J6	10,8	[5,4 ; 17]
Taux de survie des juvéniles de J6 à J30	18,9	[5 ; 27,5]

D'après Huy *et al.* (1990).

Annexe 2 : Clef d'identification des *Pangasius* de la péninsule Indochinoise et de la Thaïlande

- 1a. Abdomen entièrement profilé, nageoire anale à 39-46 rayons.....*P. pleurotaenia*
 1b. Abdomen arrondi de la partie antérieure aux nageoires pelviennes ;
 nageoire anale à 26-37 rayons 2
- 2a. Nageoire pelvienne à 8 rayons (occasionnellement 9) ; bouche terminale ;
 vessie natatoire avec une seule chambre 3
 2b. Nageoire pelvienne à 6 rayons ; bouche subterminale ; vessie natatoire avec 2 ou 3 chambres 4
- 3a. Branchiospines très petits ou absents ; vessie natatoire limitée à la cavité abdominale ;
 longueur de la tête dépassant 29 % Ls ; largeur de la bouche dépassant 12 % Ls *P. gigas*
 3b. Branchiospines normalement développés ; vessie natatoire se prolongeant dans la partie
 postérieure du poisson, jusqu'à la base de la nageoire anale.....*P. hypophthalmus*
- 4a. Vessie natatoire avec 2 chambres 5
 4b. Vessie natatoire avec 3 chambres 8
- 5a. Tâche noire à la base de la nageoire pectorale *P. larnaudi*
 5b. Absence de tâche noire à la base de la nageoire pectorale..... 6
- 6a. Museau légèrement à très pointu ; pédoncule caudal relativement mince, de hauteur
 inférieure à 6,5 % Ls ; absence de la strie abdominale.....*P. conchophilus*
 6b. Museau arrondi ; hauteur du pédoncule caudal supérieur à 7 % Ls ;
 présence de la strie abdominale 7
- 7a. Bouche très large, largeur dépassant 17 % Ls ; les dents palatines et vomérines forment une
 large, presque continue et unique bande de dent sur le palais ; extensions filamenteuses aux
 nageoires dorsale, pectorales, pelviennes et anale ;
 16-21 branchiospines sur le premier arc brachial *P. sanitwongsei*
 7b. Bouche plus étroite, largeur inférieure à 10 % Ls ; dents du palais constitués de 2
 plaques vomérines et de 2 plaques palatines ; 40-46 branchiospines.....*P. bocourti*
- 8a. Angle d'ouverture des mâchoires inférieur à 90° ; stries latérale et abdominale présentes ;
 barbillons atteignant la base des nageoires pectorales ;
 moins de 37 branchiospines *P. macronema*
 8b. Angle d'ouverture des mâchoires supérieur à 100° ; strie latérale et strie abdominale
 absentes ; moins de 25 branchiospines 9
- 9a. Museau relativement allongé ; dents sur le palais constituées de 2 plaques ;
 largeur de la nageoire adipeuse dépassant 1,9 % Ls..... *P. krempfi*
 9b. Museau relativement court ; dents sur le palais en 2 ou 3 plaques ;
 largeur de la nageoire adipeuse inférieure à 1,3 %..... 10
- 10a. Barbillons maxillaires s'étendant jusqu'à l'arrière des ouïes ; 32-36 rayons à la
 nageoire anale ; plaque vomérine unique et large, 2 petites plaques palatines.....*P. polyuranodon*
 10b. Barbillons maxillaire s'étendant jusqu'au bord postérieur de l'œil ou un peu après ;
 28-32 rayons à la nageoire anale ; 2 plaques palatines et vomérines *P. micronema*

D'après Roberts et Vidthayanon (1991).

Annexe 3 : Bilan des deux phases d'élevages de *P. bocourti* en cages flottantes sur le Mékong

Paramètres d'élevage	Elevage de pré-grossissement	Elevage de Grossissement
Durée de l'élevage (mois)	7 [1,5 ; 13]	10,8 [7,5 ; 15]
Poids vif initial de <i>P. bocourti</i> (g)	55 [3 ; 125]	190 [55 ; 700]
Poids vif final de <i>P. bocourti</i> (g)	235 [55 ; 1500]	850 [300 ; 3500]
Densité initiale (N poissons.m ⁻³)	585 [361 ; 889]	127 [55 ; 302]
Taux de survie (%)	76 [40 ; 99]	92 [70 ; 100]
Densité initiale (kg.m ⁻³)	13,5 [1,7 ; 41,9]	22,8 [7,1 ; 54,7]
Densité finale (kg.m ⁻³)	66,0 [18,7 ; 100]	106,3 [58,9 ; 202]
Production nette (kg.m ⁻³)	49,1 [9,9 ; 87,5]	82,4 [44,4 ; 177]
Volume de la cage (m ³)	42 – 891	60 – 1485
Production brute (tonnes)	1,4 – 67,2	5,5 – 112,5
Production nette (tonnes)	0,7 – 45,8	4,6 – 100,7
Nombre de cages considérées	7	28
<u>Polyculture :</u>		
- Proportion des élevages concernés (%)	85,7	63
- Espèces associées (% effectif initial)	26,6 [5,2 ; 46]	13,5 [1,6 ; 34,5]
- Proportion de la récolte (% tonnage)	12,3 [3 ; 27,3]	6,3 [0,8 ; 18,8]
- Nombre de cages considérées	7	28
<u>Composition de l'aliment (*) :</u>		
- céréales	55,5 [51,6 ; 59,5]	70,6 [67 ; 74,1]
- autres produits végétaux	25,7 [22 ; 29,5]	18,5 [17 ; 20]
- produits animaux	18,5 [18 ; 19]	11,2 [9 ; 13,4]
Taux de conversion alimentaire(*)	4,6 [4,5 ; 4,8]	3,1 [2,8 ; 3,5]
Nombre de cages considérées	2	2

(*) : Avec les matières premières fraîches (sans l'eau ajoutée pour la préparation de l'aliment).
 Source : données d'enquêtes auprès de pisciculteurs (Cacot, 1993).

Annexe 4 : Rendement des élevages en cages flottantes pratiqués en eau douce avec plusieurs espèces

Espèce	Références N	Biomasse initiale (kg.m ⁻³)	Biomasse finale (kg.m ⁻³)	Rendement (kg.m ⁻³)	Durée de l'élevage (mois)	Rendement (kg.m ⁻³ .mois ⁻¹)
Carpe, <i>Cyprinus carpio</i> ^(a)	5	23,2 ± 15 [4,6 ; 44,3]	115,4 ± 66 [38 ; 189]	92,2 ± 54,4 [33,4 ; 164]	4,0 ± 1,6 [2,6 ; 6,3]	23,8 ± 11,3 [6,7 ; 35,9]
<i>Ictalurus punctatus</i> ^(a)	5	10,0 ± 7,8 [3 ; 23,1]	117,9 ± 57,3 [56,7 ; 196,4]	107,8 ± 50 [53,7 ; 173,3]	6,0 ± 1,7 [3,8 ; 7,7]	17,7 ± 5,5 [10 ; 23,4]
Black-bass, <i>Micropterus salmoides</i> ^(a)	2	14,3 ± 0,8 [13,7 ; 14,9]	34,5 ± 11,7 [26,2 ; 42,7]	20,2 ± 12,5 [11,3 ; 29]	3,6 ± 1,7 [2,4 ; 4,8]	7,3 ± 6,9 [2,4 ; 12,1]
Truite, <i>Onchorynchus mykiss</i> ^(a)	6	22,1 ± 16,0 [6,4 ; 50,2]	64,9 ± 39,6 [15,7 ; 118]	42,8 ± 28,5 [9,3 ; 89,3]	4,7 ± 1,4 [3,8 ; 7,5]	10,5 ± 7,7 [1,2 ; 23,3]
Tilapia, <i>Oreochromis aureus</i> ^(a)	2	8,6 ± 5,4 [4,8 ; 12,4]	76 ± 13,4 [66,5 ; 85,5]	67,4 ± 8,1 [61,7 ; 73,1]	2,9	23,3 ± 2,8 [21,3 ; 25,2]
Tilapia, <i>Oreochromis niloticus</i> ^(a)	1	10,5	67,6	57,1	4	14,2
<i>P. bocourti</i> ^(bc)	7	14,5 ± 14,1 [1,7 ; 41,9]	63,6 ± 25,7 [18,7 ; 100]	49,1 ± 25,9 [9,9 ; 87,5]	7,0 ± 3,7 [1,5 ; 13]	8,8 ± 6,5 [2,2 ; 20,2]
<i>P. bocourti</i> ^(ac)	28	22,9 ± 11,7 [7,1 ; 54,7]	105,3 ± 29,0 [59,9 ; 201,3]	82,4 ± 28,5 [44,4 ; 176,4]	10,8 ± 2,0 [7,6 ; 15]	7,9 ± 3,2 [4,2 ; 17,6]

(a) : D'après Coche (1978),

(b) : d'après Cacot (1993),

(c) : élevage de pré-grossissement,

(d) : élevage de grossissement.

Annexe 5 : Bilan des traitements destinés à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez plusieurs espèces de Pangasiidae

Espèce ^(a)	Traitement hormonal (dose par kg de poids vif des femelles)	Température (° C)	Temps de latence ^(b) (h)	Ovulation (%)	Référence, pays
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. pangasius</i> , Pla-sawai)	0,2-0,4-0,9 dose EH (<i>Clarias batrachus</i>) à 6 h d'intervalle chacune	-	4	100 (n = 2)	Boonbrahm (1959), Thaïlande
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i> , Jambal siam)	i1 : 1 doses EH (<i>Cyprinus carpio</i>) i2 : 2 doses EH (<i>C. carpio</i>) après 4 h	-	-	Succès	Hardjamulia <i>et al.</i> (1981), Indonésie
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. micronemus</i> , ca tra)	7,5-8,5 mg EH en 2 injections	-	-	Succès	Kiem (1992), Viêt-Nam
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. micronemus</i> , ca tra)	1-3-8,8 mg EH + 3500-1500-4000 UI hCG injectés en 2-4-3 fois successives	-	-	0	Kiem (1992), Viêt-Nam
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	EH de <i>Clarias</i> + 500-1000 UI hCG	28-32	8-12	-	Potaros et Sitasit (1976) ^(d) , Thaïlande
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. micronemus</i> , ca tra)	i1 : 1-2 mg EH i2 : 5-6 mg EH + 1500-2000 UI hCG après 8-12 h	-	-	80-90	Xuan (1994), Viêt-Nam
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. micronemus</i> , ca tra)	I) 1 à 3 injections (0,2-1,5 doses EH) II) 2-4 doses EH + 1000-10000 UI hCG après 12 h	28-30	8-18	67,2	Huy <i>et al.</i> (1990), Viêt-Nam
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	i1 : 300 UI hCG + 1,5 dose EH ^(c) i2 : 500 UI hCG + 1,5-2 doses EH ^(c) après 8 h	-	10-12	93 (n = 40)	Thalathiah <i>et al.</i> (1988), Malaisie
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	i1 : 100 UI hCG i2 : 300 UI hCG + 1-1,5 dose EH ^(c) après 24 h i3 : 500 UI hCG + 1,5-2-3 doses EH ^(c) après 8 h	-	10-12	93 (n = 40)	Thalathiah <i>et al.</i> (1988), Malaisie

^(a) : Nom scientifique d'après Roberts et Vidthayanon (1991), et, entre parenthèses, l'ancien nom scientifique et le nom vernaculaire,

^(b) : temps de latence après la dernière injection,

^(c) : extraits hypophysaires homologues,

^(d) : cités par Legendre *et al.* (1996) ; EH : extraits hypophysaires.

Annexe 5 (suite) : Bilan des traitements destinés à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez plusieurs espèces de Pangasiidae

Espèce ^a (ancien nom, nom vernaculaire)	Traitement hormonal (dose par kg de poids vif des femelles)	Température (° C)	Temps de latence ^b (h)	Ovulation (%)	Référence, pays
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	i1 : 250-300 UI hCG + 3-4 mg EH (<i>Cyprinus carpio</i>) i2 : 500-700 UI hCG + 6-8-12 mg EH (<i>C. carpio</i>) après 8 h	-	10-12	100 (n = 11)	Thalathiah <i>et al.</i> (1988), Malaisie
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	i1 : 100 UI hCG i2 : 300 UI hCG + 1-1,5 dose EH (<i>Tachysurus</i> sp.) après 24 h i3 : 500 UI hCG + 1,5-2 doses EH (<i>Tachysurus</i> sp.) après 8 h	-	10-12	100 (n = 9)	Thalathiah <i>et al.</i> (1988), Malaisie
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	i1 : 20 µg GnRHa i2 : 30-40-50 µg GnRHa après 8 h	-	10-12	69 (n = 13)	Thalathiah <i>et al.</i> (1988), Malaisie
<i>P. hypophthalmus</i> (<i>P. sutchi</i>)	i1 : 10-15-20 µg GnRHa + 1-1,5 doses EH ^(c) i2 : 20-30 µg GnRHa + 1-1,5-2 doses EH ^(c) après 8 h	-	10-12	70 (n 30)	Thalathiah <i>et al.</i> (1988), Malaisie
<i>P. hypophthalmus</i>	2000 UI hCG	27-29	5-10	100 (n = 4)	Legendre <i>et al.</i> (1999)
<i>P. hypophthalmus</i>	LHRHa + dompéridone (OVAPRIM)	27-29	5-10	86 (n = 50)	Legendre <i>et al.</i> (1999)
<i>P. pangasius</i>	5 mg EH + 10 mg EH après 6 h	29-30	8	-	Tripathi (1996), Inde
<i>P. pangasius</i> (Ikan Patin)	i1 : 1 dose EH de carpe + 200 UI hCG i2 : 3 doses + 500 UI hCG après 11 h	27-29	7-9	100 (n = 3)	Meenakarn (1986), Indonésie
<i>P. sanitwongsei</i> (Chao Phraya giant catfish)	EH (<i>P. hypophthalmus</i>) + hCG	-	-	0 (n = 1)	Chanthasoo <i>et al.</i> (1990), Thaïlande
<i>P. sanitwongsei</i> (Chao Phraya giant catfish)	GnRHa + dompéridone (OVAPRIM) 2 injections	-	-	100 (n = 2)	Chanthasoo <i>et al.</i> (1990), Thaïlande

^(a) : Nom scientifique d'après Roberts et Vidthayanon (1991), et, entre parenthèses, l'ancien nom scientifique et le nom vernaculaire,

^(b) : temps de latence après la dernière injection,

^(c) : extraits hypophysaires homologues ; EH : extraits hypophysaires.

Annexe 7 : Composition moyenne des matières premières employées pour l'alimentation des poissons géniteurs

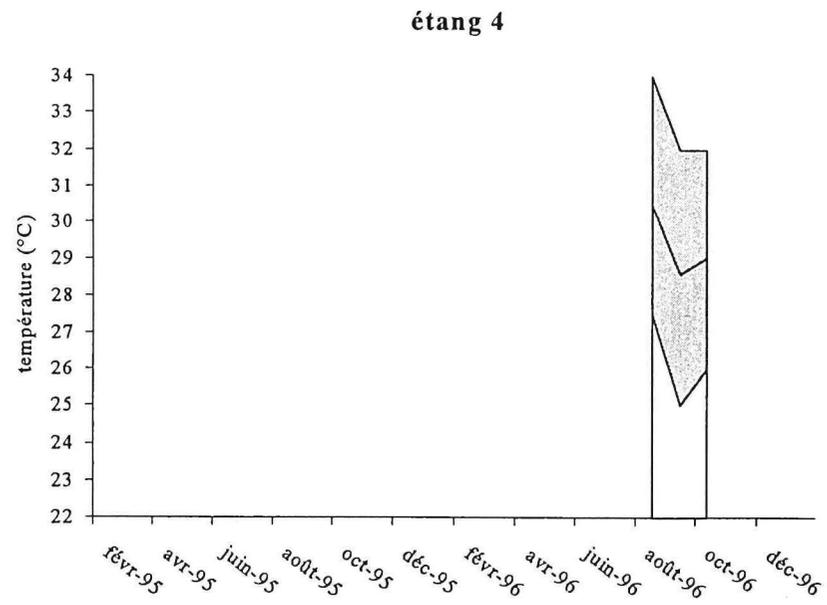
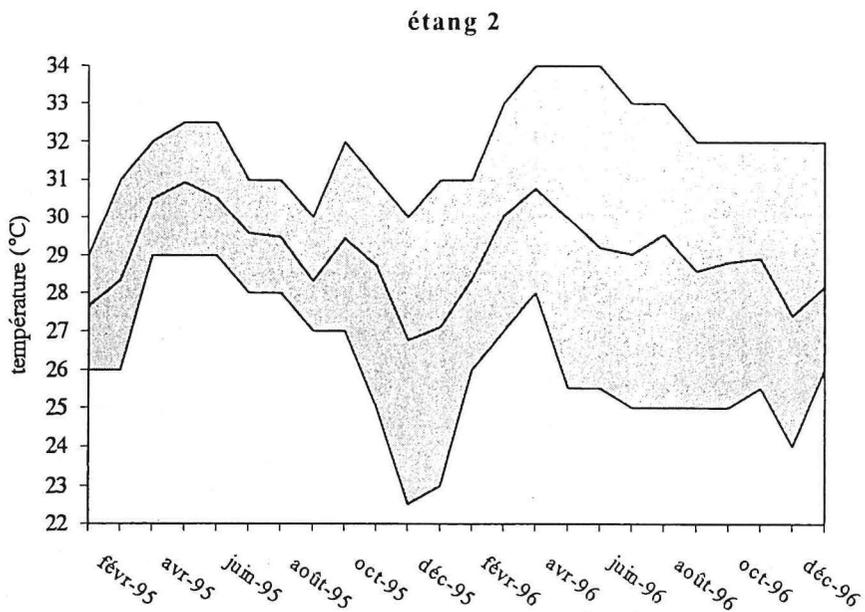
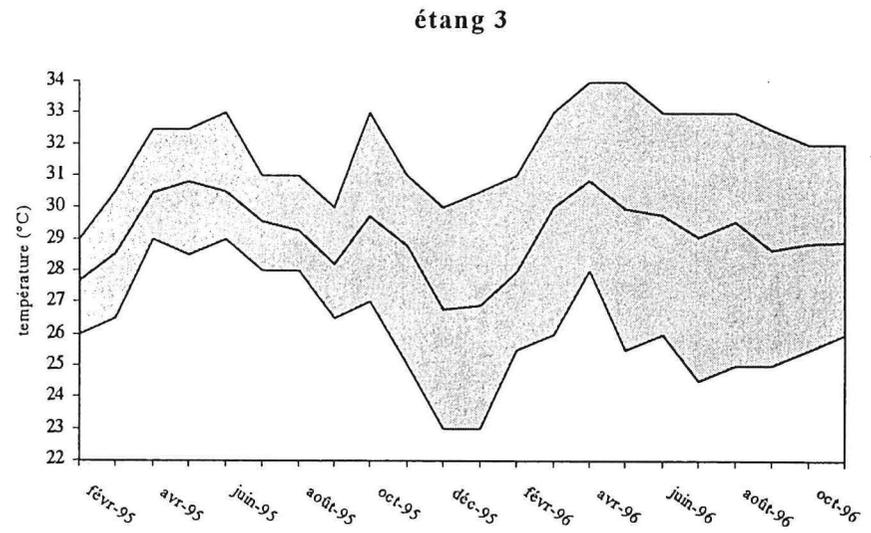
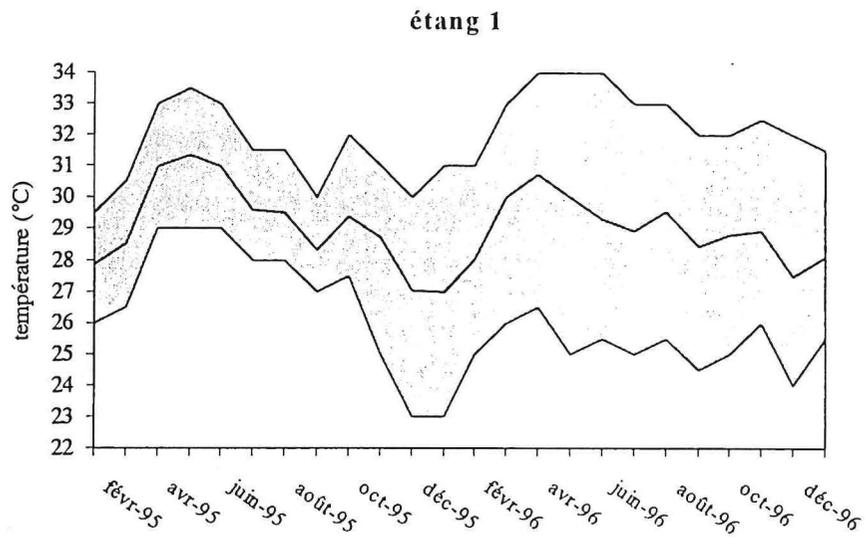
Matières premières	Humidité ^(a)	Protéines ^(b)	Lipides ^(b)	Glucides ^(b)	Fibres ^(b)	Autres ^(bc)	Cendres ^(b)	n ^(d)
Farine de sang	13,3	96,0	0,0	-	-	3,4	0,6	1
Foie de bœuf	70,0	59,8	7,2	-	-	26,2	6,8	1
Tourteau de soja	12,8	52,1	2,9	28,5	8,4	-	8,2	3
Farine de poisson	12,9	44,6	8,1	-	-	9,9	37,4	7
Concentré	11,9	39,7	5,1	35,6	6,7	-	12,9	2
Soja germé	84,9	29,5	0,3	-	-	65,1	5,1	1
Son de riz	13,0	14,3	15,9	44,5	13,3	-	12,1	2
Vitamines	11,1	12,3	3,0	-	-	51,5	33,2	1
Poudre de kapokier	11,4	11,6	4,9	44,4	19,6	-	19,5	1
Brisure de riz	13,1	10,6	1,0	85,8	0,3	-	2,3	2
Brisure de maïs	13,3	9,7	2,0	84,9	1,2	-	2,2	2
Riz germé	45,5	7,5	1,6	-	-	85,4	5,6	1
Huile (soja, poisson)	0	0	100	0	0	0	0	-

(a) : % de matière totale,

(b) : % de matière sèche,

(c) : incluent les glucides et les fibres quand ceux-ci n'ont pas été analysés,

(d) : nombre d'échantillons analysés.



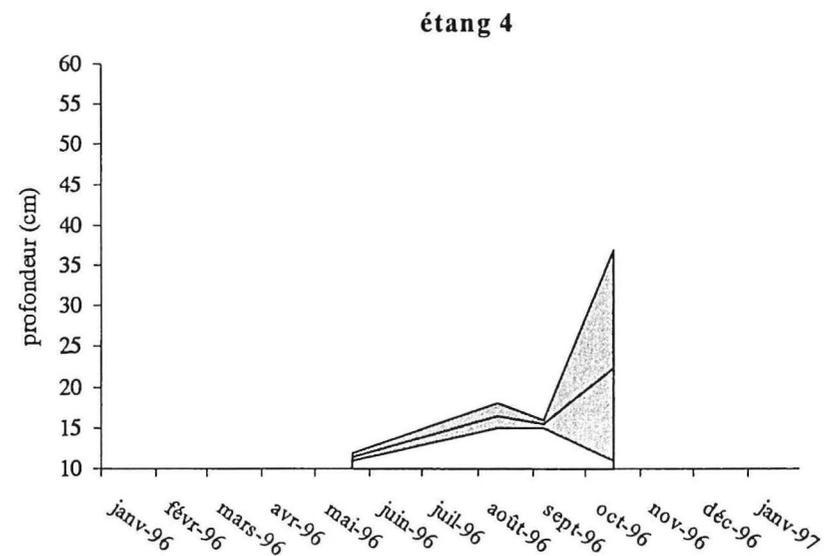
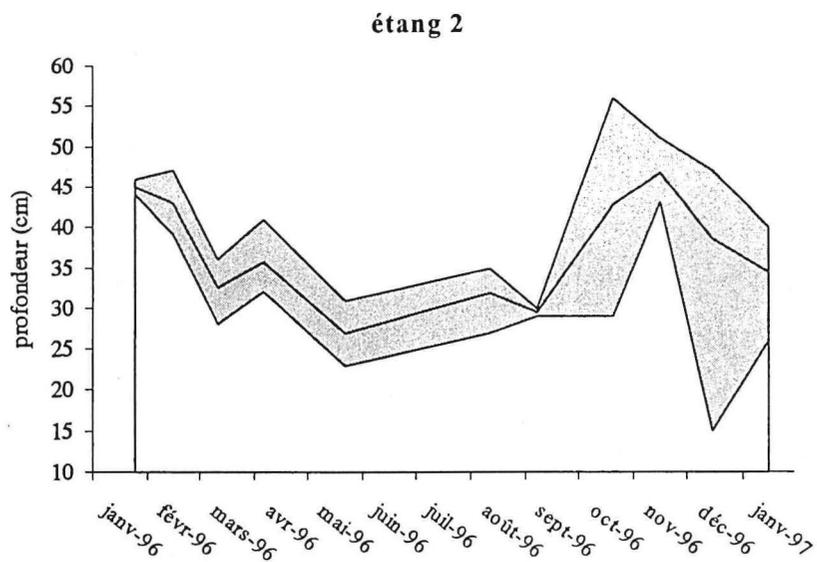
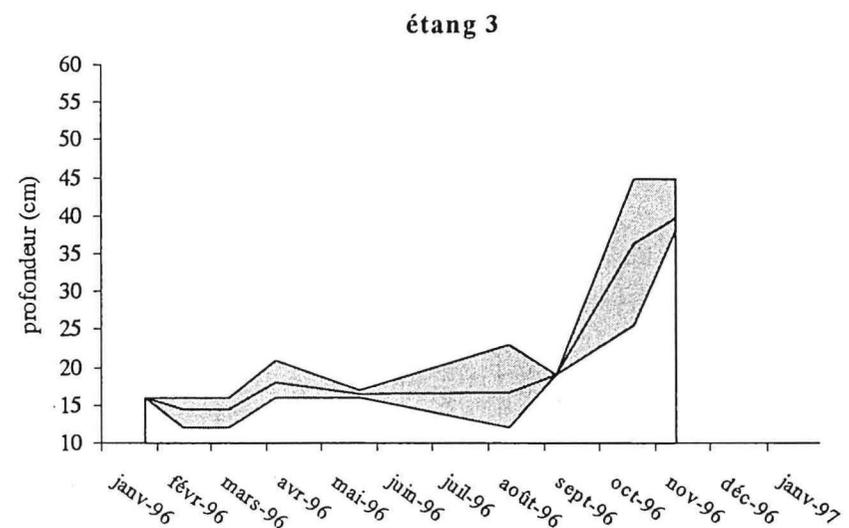
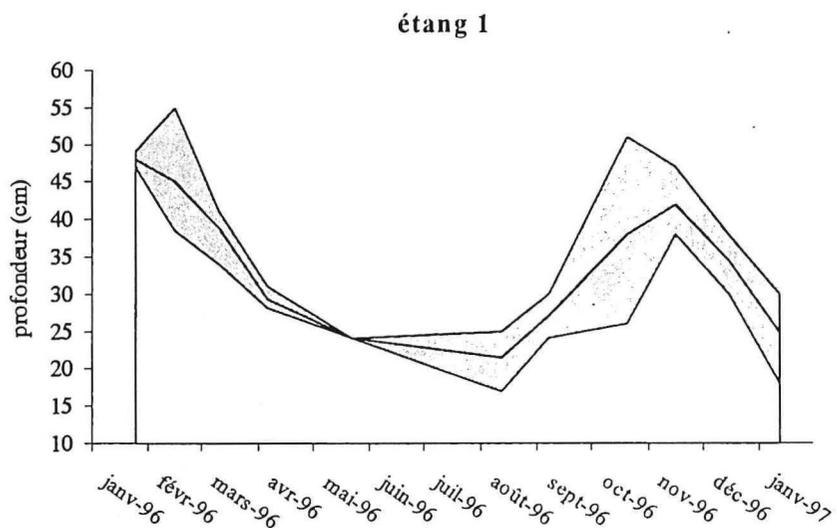
Annexe 8 : Evolution de la température de l'eau moyenne, minimale et maximale dans l'eau de chaque étang en 1995 et 1996

Annexe 9 : bilan de la température de l'eau mesurée dans chaque étang

Etangs	Années	Température (°C)	Période de mesure			
			Début	Fin	Durée	n / mois
1	A1	29,1 ± 1,5 [23 ; 33,5]	Févr-95	Janv-96	363	28
	A2	29,0 ± 0,9 [24 ; 34]	Févr-96	Janv-97	362	15
	Total	29,1 ± 1,2 [23 ; 34]	Févr-95	Janv-97	728	21
2	A1	28,9 ± 1,3 [22,5 ; 32,5]	Févr-95	Févr-96	364	25
	A2	29,1 ± 0,8 [24 ; 34]	Févr-96	Févr-97	363	14
	Total	29,0 ± 1,1 [22,5 ; 34]	Févr-95	Févr-97	729	20
3	A1	28,8 ± 1,4 [23 ; 33]	Févr-95	Févr-96	363	25
4	A2	29,4 ± 1,0 [25 ; 34]	Août-96	Oct-96	78	13
Bilan	-	29,0 ± 1,2 [22,5 ; 34]	-	-	-	-

Annexe 10 : Gradient thermique dans l'eau entre la surface et le fond des étangs

Etangs	Année	Température moyenne en surface (0,5 m)	Température moyenne au fond (1,5 m)	Ecart de température (Surface – Fond)	Période de mesure			
					Début	Fin	Durée	n / mois
1	A2	29,8 ± 1,4 [26 ; 32,5]	28,3 ± 1,1 [25,3 ; 31]	1,5 ± 0,7 [0,3 ; 3,3]	Déc-95	Nov-96	339	14
2	A2	29,7 ± 1,3 [26,3 ; 32,5]	28,3 ± 1,1 [25,3 ; 31]	1,4 ± 0,6 [0,3 ; 3,8]	Déc-95	Nov-96	339	14
3	A2	29,8 ± 1,4 [26 ; 32,5]	28,3 ± 1,2 [25 ; 31]	1,5 ± 0,6 [0,5 ; 4,3]	Déc-95	Nov-96	331	14
Bilan	A2	29,8 ± 1,3 [26 ; 32,5] extrêmes : [23,5 ; 34]	28,3 ± 1,1 [25 ; 31] extrêmes : [22,5 ; 33]	1,5 ± 0,6 [0,3 ; 4,3]	Déc-95	Nov-96	-	-



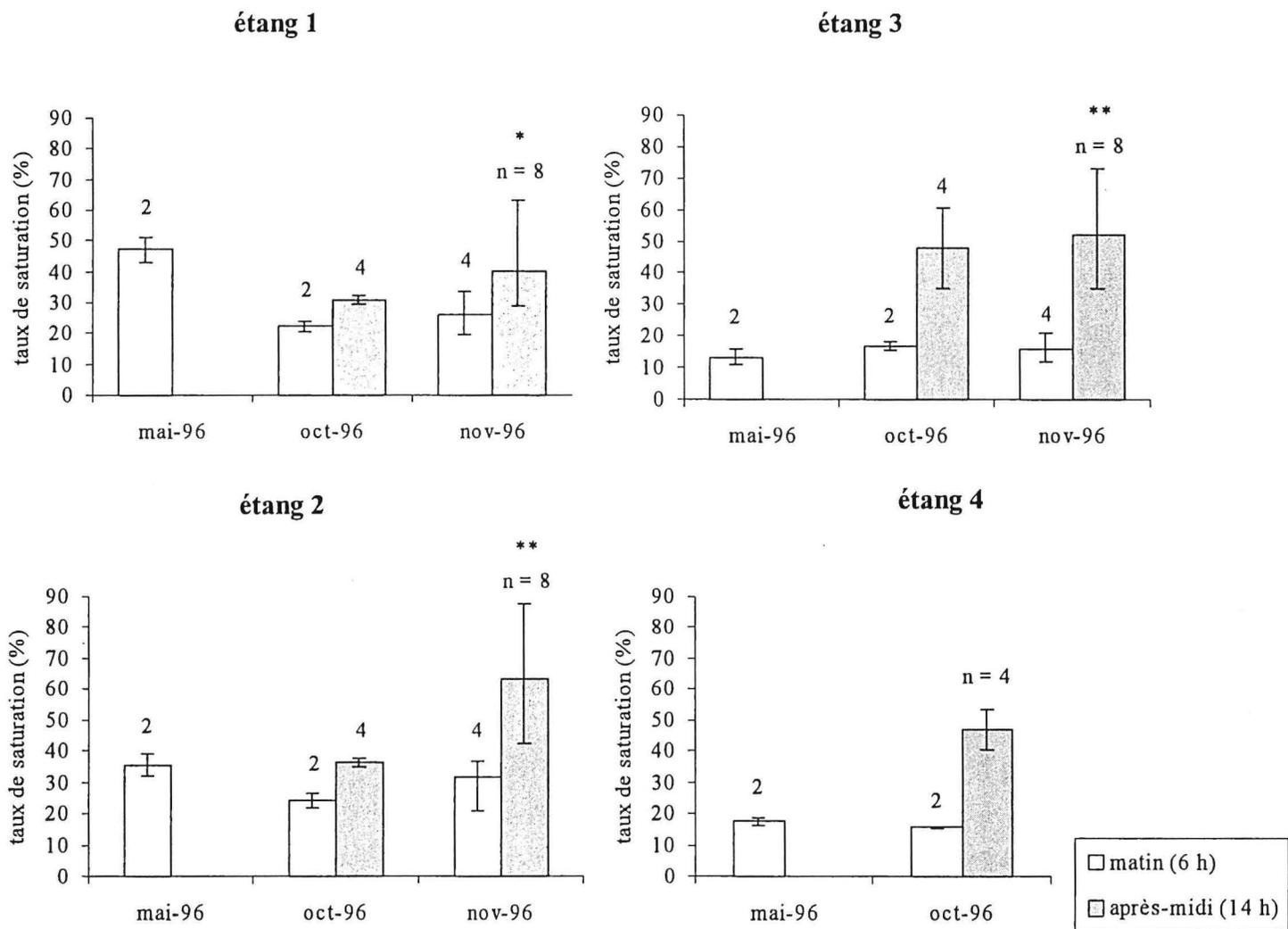
Annexe 11 : Evolution de la transparence de l'eau moyenne, minimale et maximale dans l'eau de chaque étang en 1996

Données manquantes en juin et juillet 1996.

Annexe 12 : Transparence de l'eau dans chaque étang

Etangs	Année	Transparence de l'eau (cm)	Période de mesure			
			Début	Fin	Durée	n / mois
1	A2	33,9 ± 9,1 [17 ; 55]	janv-96	Janv-97	364	5
2	A2	37,0 ± 6,6 [15 ; 56]	janv-96	janv-97	364	5
3	A2	21,3 ± 9,7 [12 ; 45]	janv-96	nov-96	301	4
4	A2	16,5 ± 4,5 [11 ; 37]	mai-96	oct-96	162	4
Bilan	A2	29,6 ± 11,1 [11 ; 56]	-	-	-	-

Mesures interrompues au mois de juin et au mois de juillet 1996.



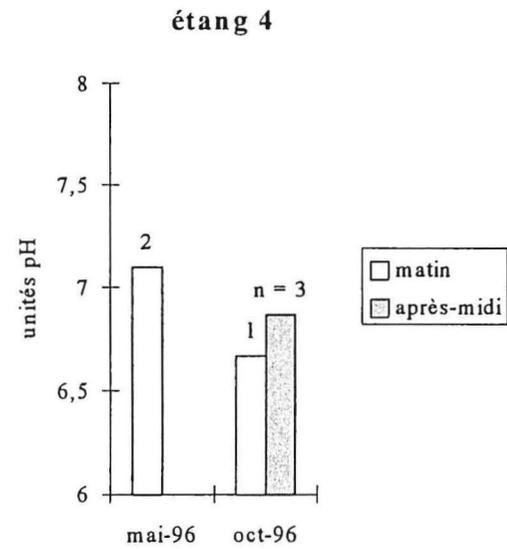
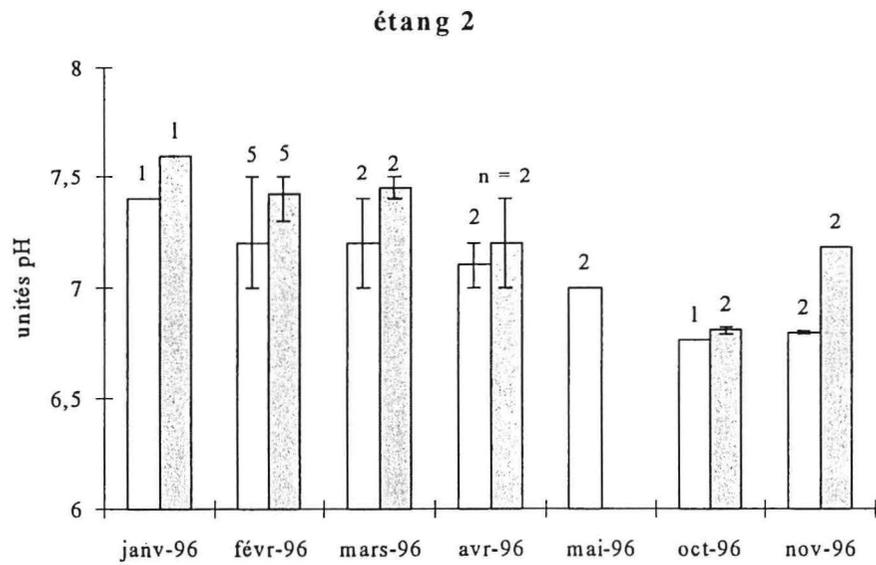
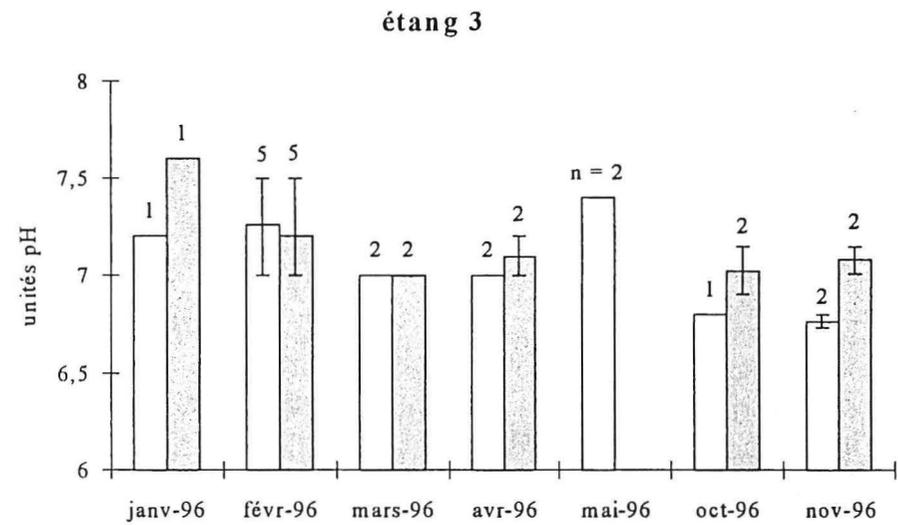
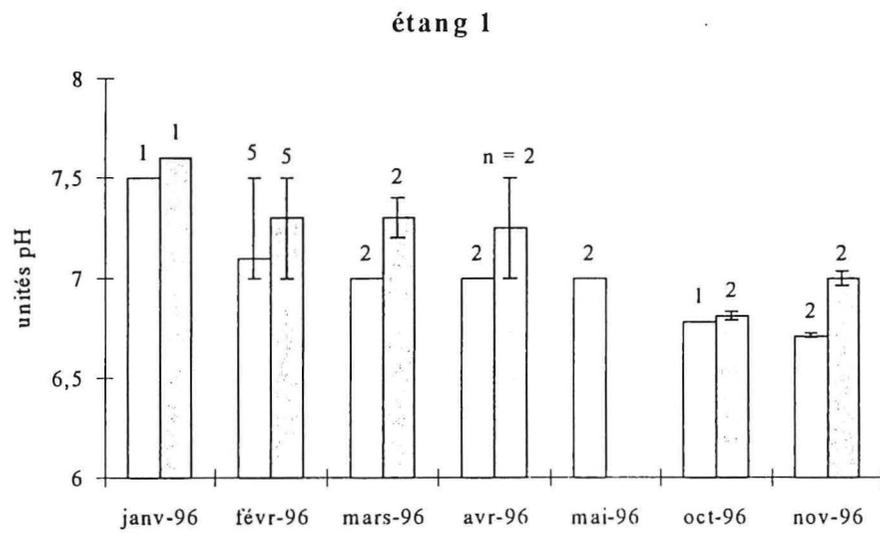
Annexe 13 : Mesures de la concentration en oxygène dissous moyenne, minimale et maximale dans chaque étang

Différences significatives entre le matin et l'après-midi au mois de novembre : * ($P < 0,05$) ; ** ($P < 0,01$).

Annexe 14 : Mesures de la concentration en oxygène dissous dans l'eau de chaque étang

Étangs	Température (°C)	Concentration en oxygène (mg par litre)	% de la concentration en oxygène à saturation	n
1	29,0 - 32,0	2,5 ± 0,8 [1,5 ; 4,7]	33,0 ± 11,3 [19,7 ; 63,3]	18
2	29,0 - 31,5	3,5 ± 1,6 [1,6 ; 6,5]	46,0 ± 22,1 [20,8 ; 87,7]	18
3	29,0 - 32,0	3,0 ± 1,5 [0,9 ; 5,4]	39,3 ± 20,5 [11,7 ; 72,9]	18
4	29,0 - 32,0	2,7 ± 1,3 [1,2 ; 4,0]	36,7 ± 17,3 [15,6 ; 53,8]	6
Total	29,0 - 32,0	2,9 ± 1,4 [0,9 ; 6,5]	39,2 ± 18,7 [11,7 ; 87,7]	60

- Mesures effectuées en octobre et novembre 1996,
- concentrations en oxygène dissous à saturation :
 - 7,69 mg.l⁻¹ à 29 °C,
 - 7,56 mg.l⁻¹ à 30 °C,
 - 7,43 mg.l⁻¹ à 31 °C,
 - 7,41 mg.l⁻¹ à 32 °C.



Annexe 15 : Mesures de pH moyennes, minimales et maximales dans l'eau de chaque étang

Annexe 16 : Mesures du pH dans l'eau de chaque étang

Etangs	Température (°C)	pH	n
1 ^(a)	28,2 – 33,0	7,10 ± 0,26 [6,7 ; 7,6]	29
2 ^(a)	28,2 – 34,0	7,18 ± 0,27 [6,76 ; 7,6]	29
3 ^(a)	29,0 – 32,8	7,13 ± 0,23 [6,73 ; 7,6]	29
4 ^(b)	28,8 – 32,0	6,90 ± 0,22 [6,67 ; 7,2]	5
Total	28,2 – 34,0	7,12 ± 0,26 [6,67 ; 7,6]	92

^(a) : de janvier à mai, puis en octobre et novembre 1996,

^(b) : en mai et octobre 1996.

Annexe 17 : Mesures du potentiel d'oxydo-réduction dans l'eau de chaque étang en octobre et novembre 1996

Etangs	Potentiel rédox (mvolt)	n
1	7,20 ± 2,99 [2,6 ; 10,9]	7
2	9,96 ± 3,70 [5,4 ; 15,3]	7
3	9,86 ± 3,05 [5,9 ; 13,6]	7
4	13,03 ± 2,80 [10,9 ; 16,2]	3
Total	9,51 ± 3,51 [2,6 ; 16,2]	24

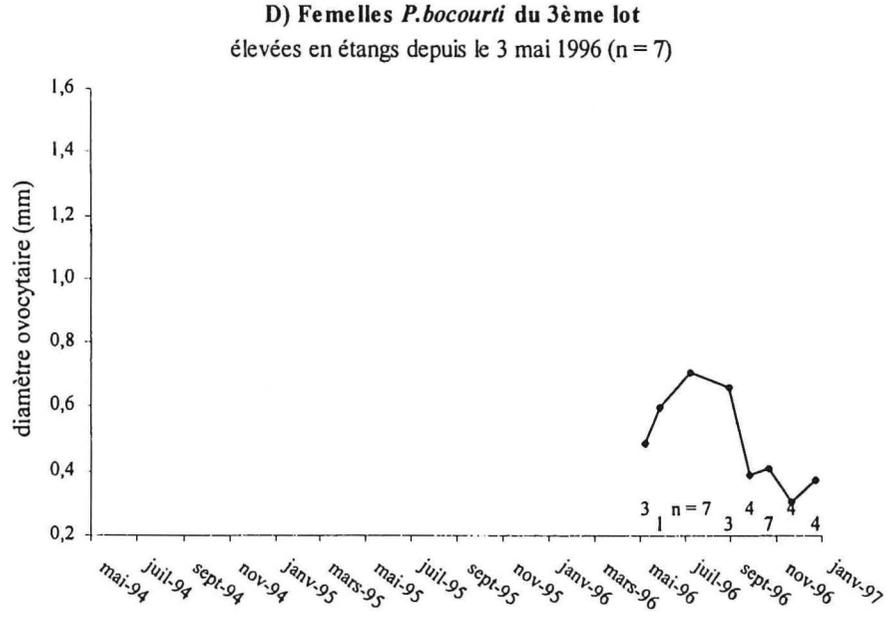
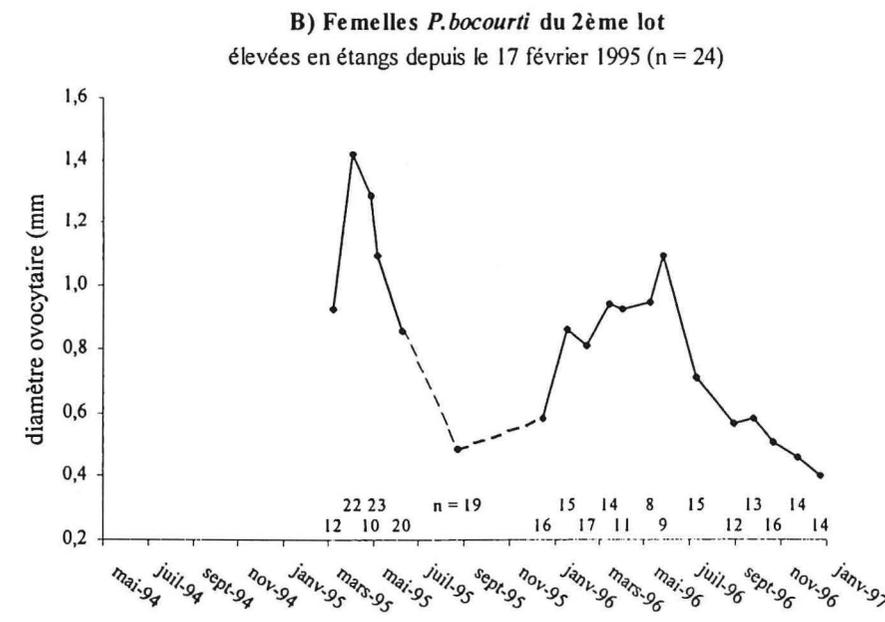
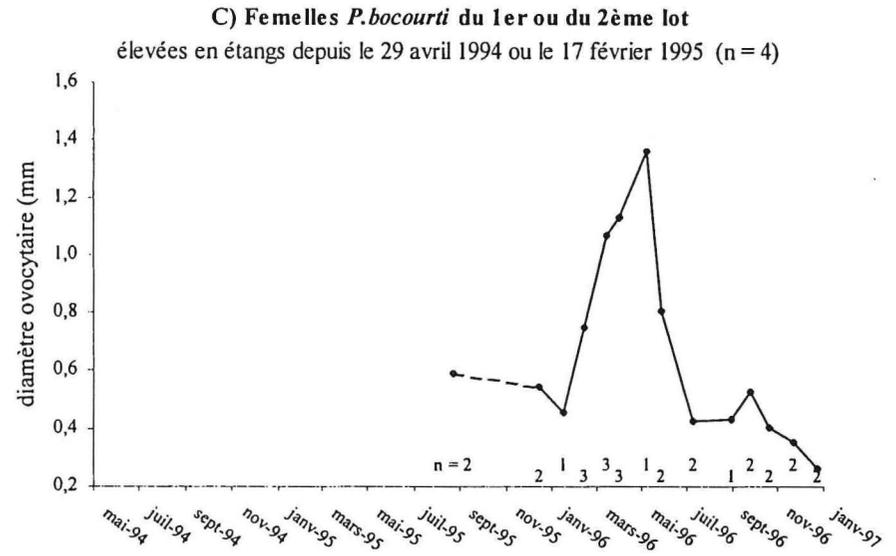
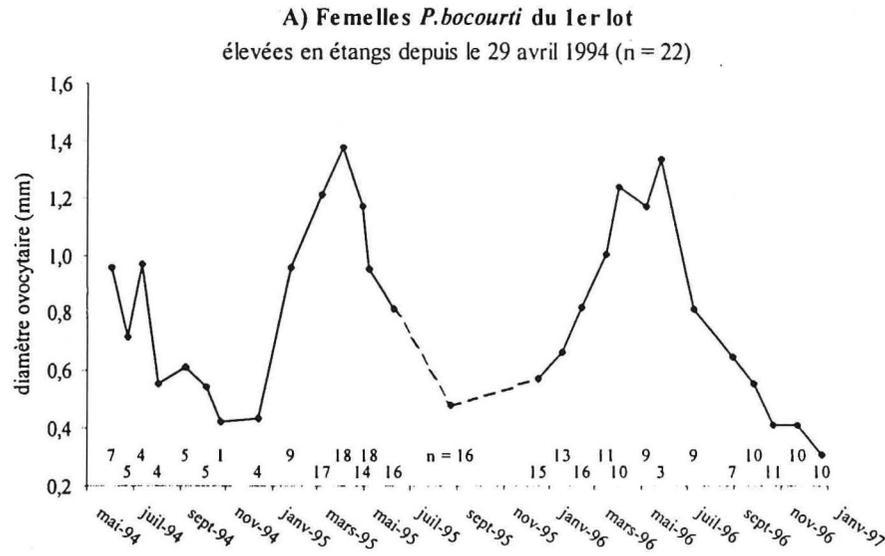
Annexe 18 : Mesures de la concentration en oxygène dissous en cages flottantes et en étangs

Milieu d'élevage et périodes	Concentration en oxygène (mg.l ⁻¹)	% de la concentration à saturation
En cages flottantes (n = 33) : Avril – mai – oct. – nov. – déc. 96	5,1 ± 0,7 [3,4 ; 5,8]	66,1 ± 8,0 [45,9 ; 77,8]
En cages flottantes en oct. 96 (n = 15)	5,0 ± 0,6 [4,2 ; 6,0]	65,0 ± 6,9 [56,5 ; 75,2]
En étangs en oct. 96 (n = 24)	2,5 ± 1,0 [1,2 ; 4,5]	33,7 ± 13,1 [15,6 ; 60,6]

Mesures effectuées le matin (6 h) et l'après-midi (14 h).

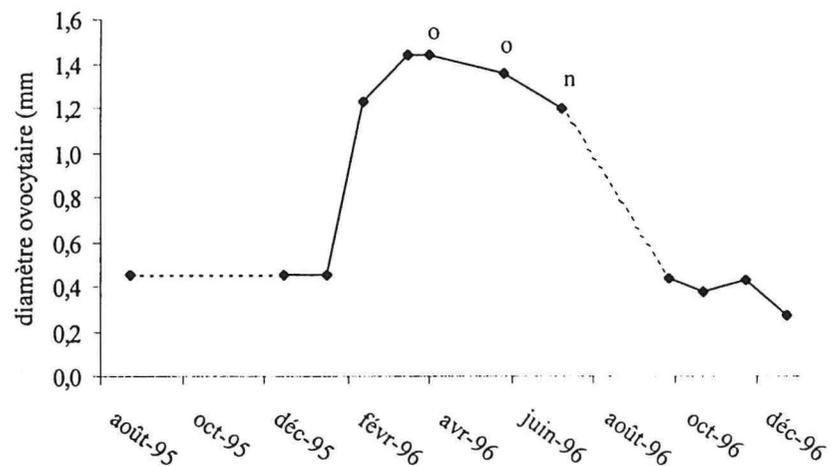
Annexe 19 : Nombre de poissons observés par inventaire pour l'évaluation de la maturation gonadique

Paramètres	<i>P. bocourti</i>	<i>P. hypophthalmus</i>
Nombre d'échantillons d'ovocytes prélevés par inventaire :		
- en étangs	22 ± 13 [1 ; 41]	9 ± 8 [1 ; 26]
- en cages flottantes	59 ± 22 [42 ; 107]	39 ± 20 [6 ; 60]
Nombre d'ovocytes observés par échantillon (en cages et en étangs)	45 ± 27 [7 ; 142]	38 ± 17 [15 ; 90]
Nombre de mâles observés par inventaire :		
- en étangs	19 ± 4 [10 ; 27]	15 ± 5 [4 ; 26]
- en cages flottantes	41 ± 14 [12 ; 58]	24 ± 9 [16 ; 40]

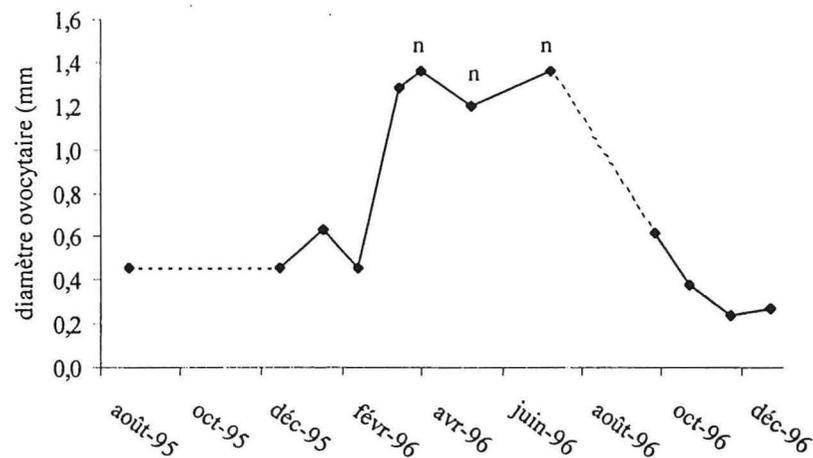


Annexe 20 : Evolution du diamètre ovocytaire moyen de chaque lot de femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

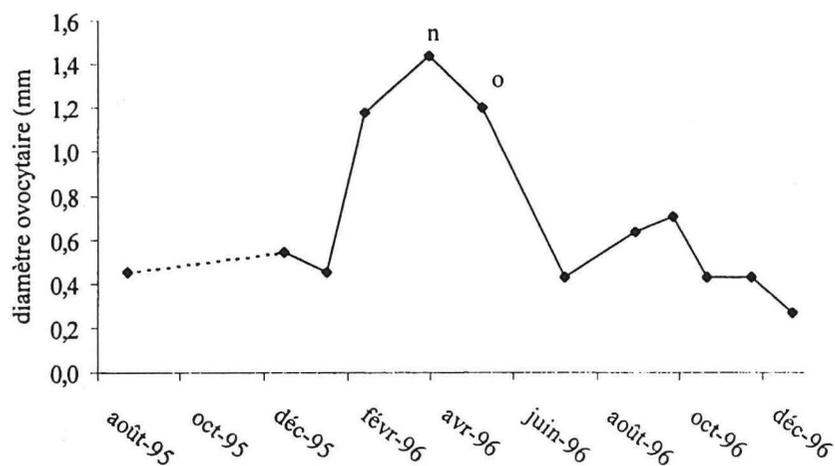
Femelle *P. bocourti* n° 097A
maturation normale



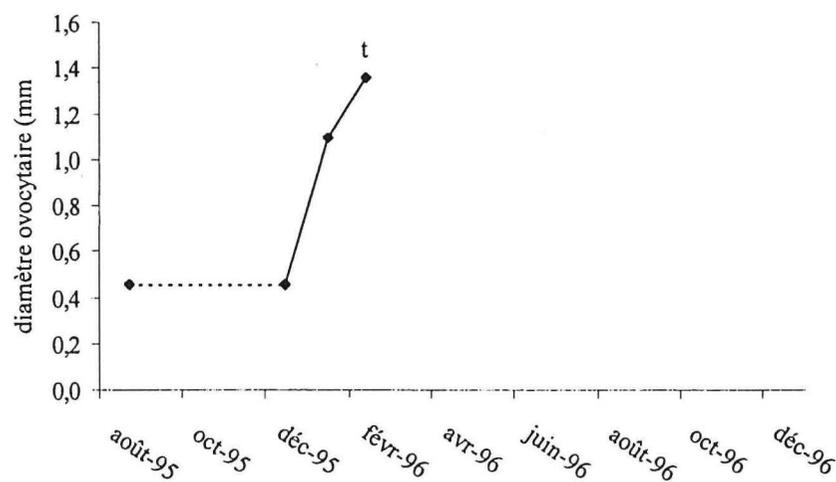
Femelle *P. bocourti* n° 111B
maturation normale



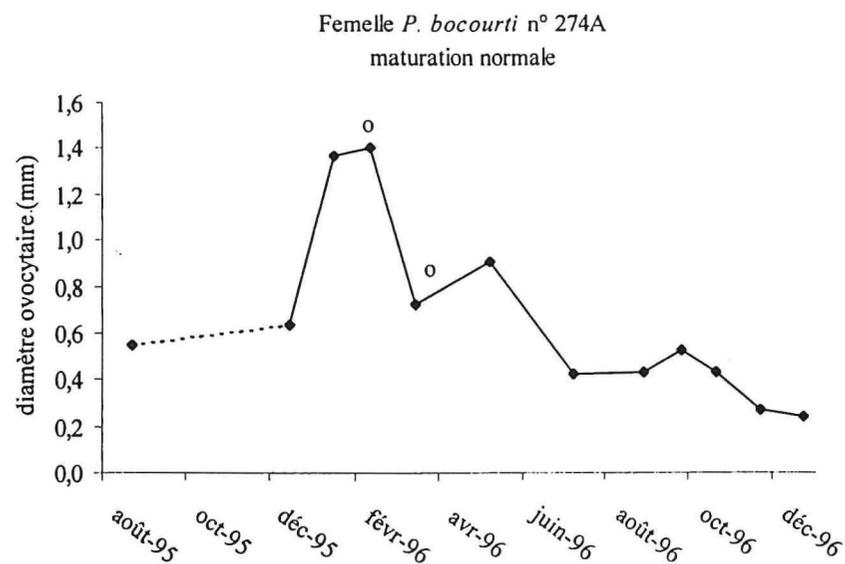
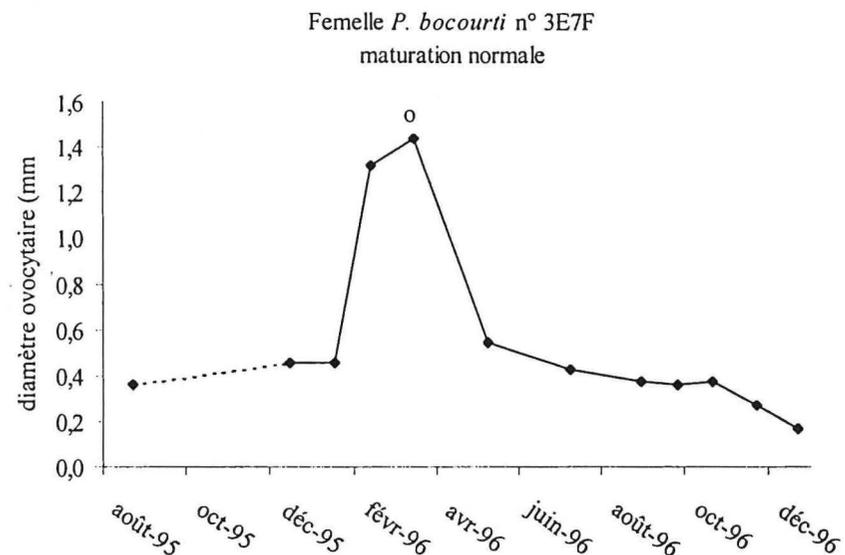
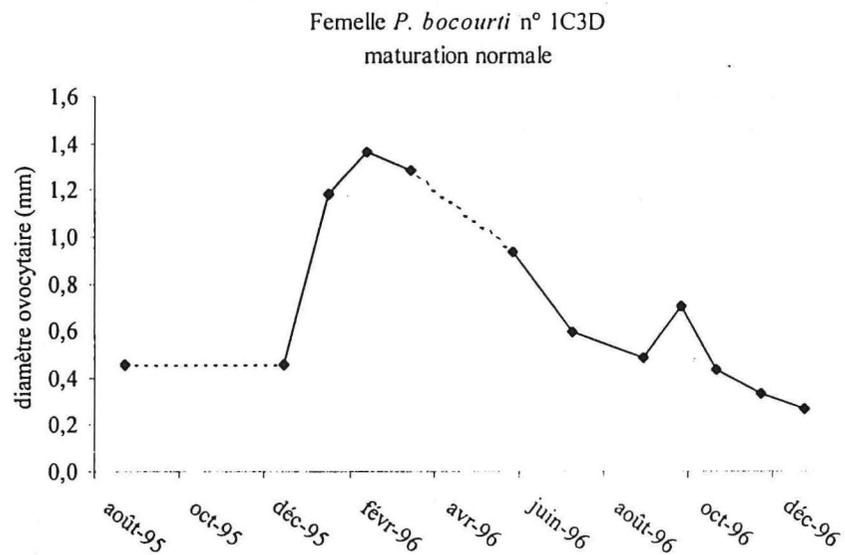
Femelle *P. bocourti* n° 2903
maturation normale



Femelle *P. bocourti* n° 2710
maturation normale

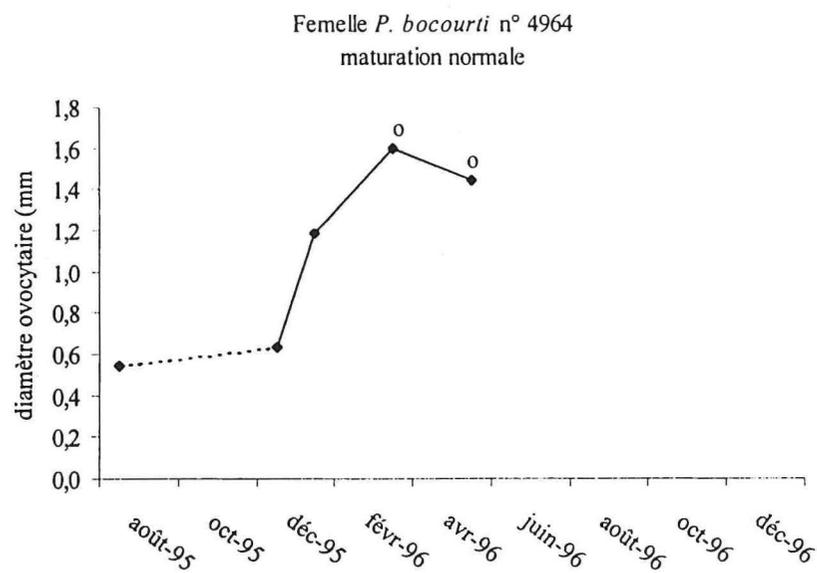
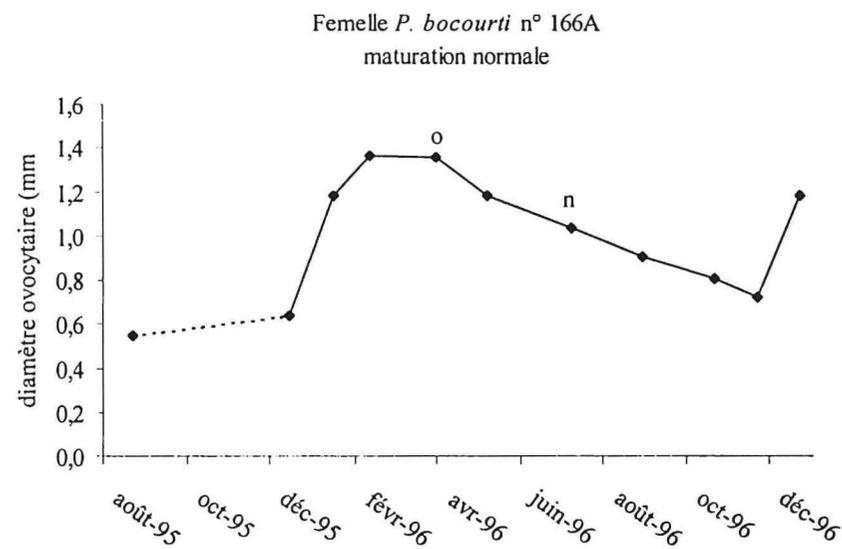
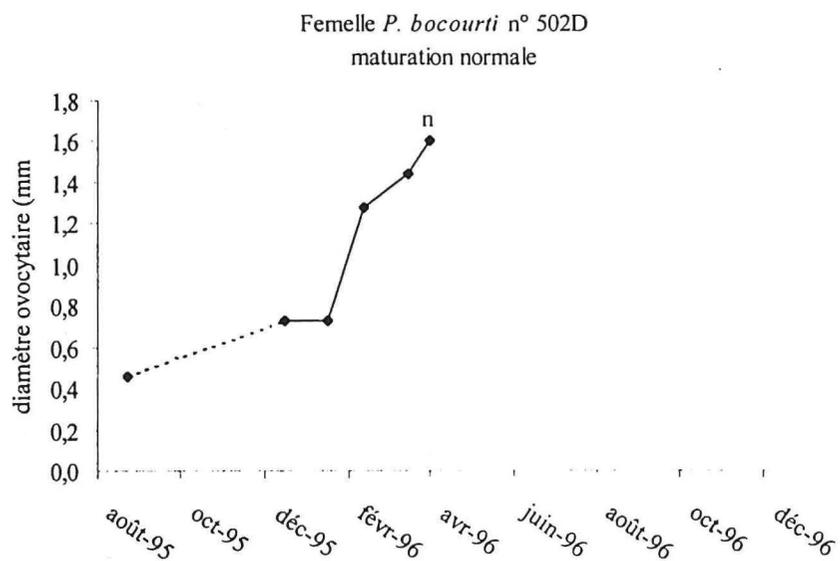


o : induction hormonale réussie ; n : induction hormonale sans succès ; t : traitement témoins (pas d'induction ou bien placebo)



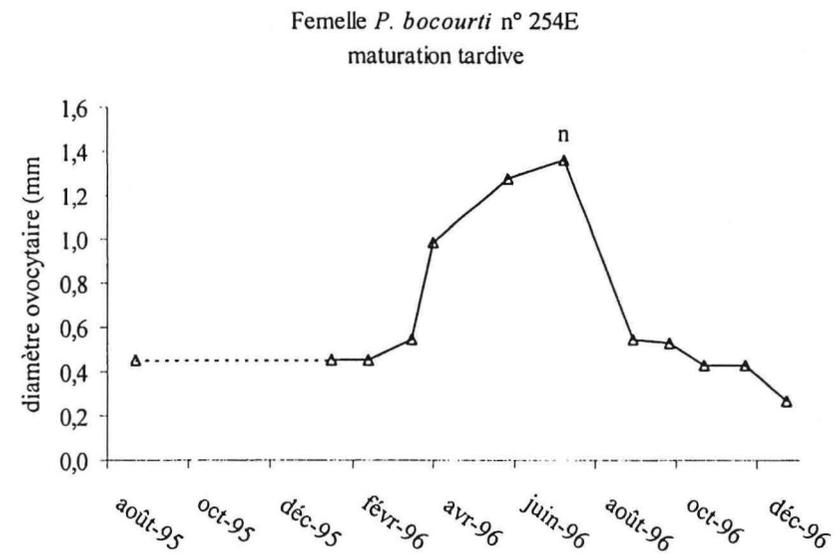
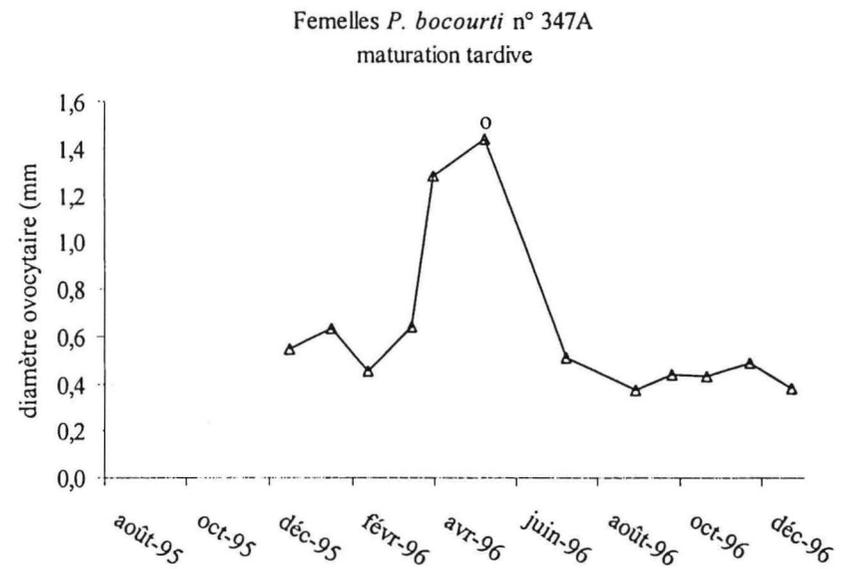
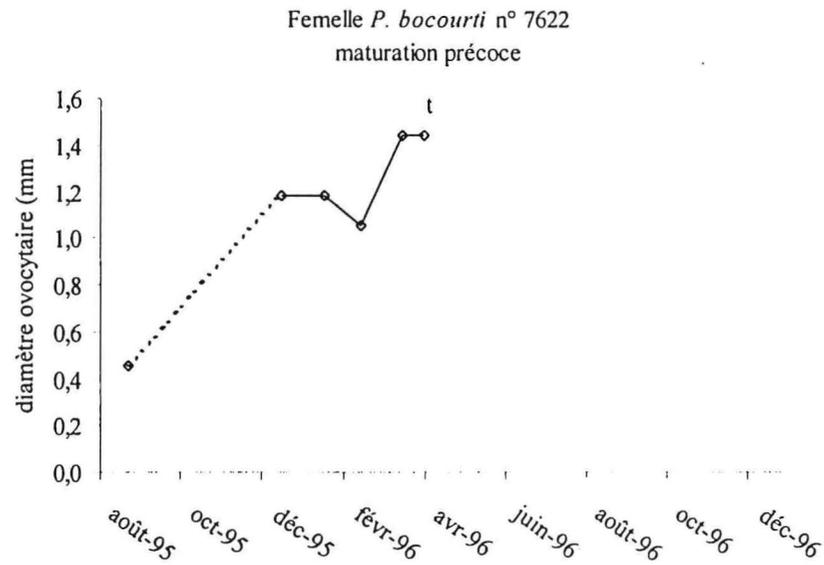
o : induction hormonale réussie ; n : induction hormonale sans succès

Annexe 21 (suite) : Evolution de la valeur modale du diamètre ovocytaire de chaque femelle de *P. bocourti* normale élevée en étangs



o : induction hormonale réussie ; n : induction hormonale sans succès

Annexe 21 (suite) : Evolution de la valeur modale du diamètre ovocytaire de chaque femelle de *P. bocourti* normale élevée en étangs



o : induction hormonale réussie ; n : induction hormonale sans succès ; t : traitement témoins (pas d'induction ou bien placebo)

Annexe 22 : Evolution de la valeur modale du diamètre ovocytaire de chaque femelle de *P. bocourti* précoce ou tardive élevée en étangs

**Annexe 23 : Bilan de la phase de maturation gonadique rapide des femelles de
P. bocourti élevées en étangs**

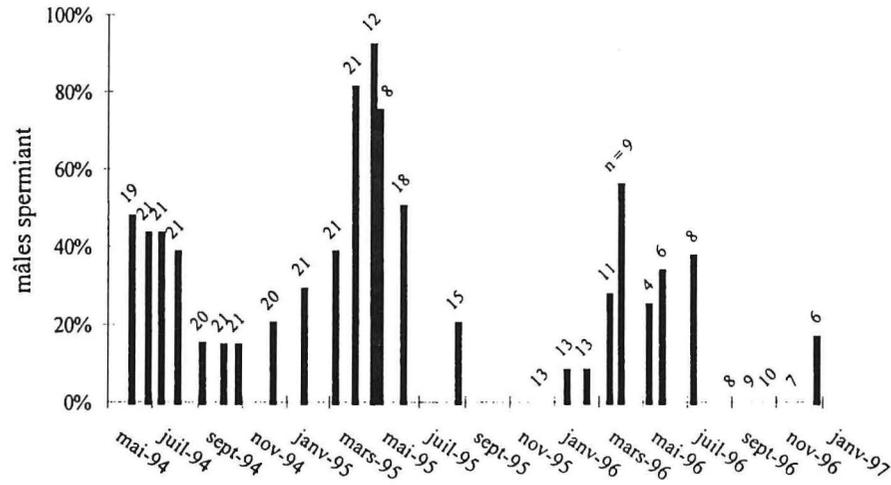
A) Femelles normales (n = 11)

<u>Diamètre ovocytaire (mm) :</u>	
- Initial	0,54 ± 0,10 [0,45 ; 0,73]
- final	1,44 ± 0,09 [1,36 ; 1,60]
- (final – initial)	0,90 ± 0,08 [0,72 ; 0,99]
- (final / initial)	2,7 ± 0,4 [2,1 ; 3,1]
<u>Période de maturation :</u>	
- date de début	3/01/96 ± 21 jours [15/12/95 ; 12/03/96]
- date de fin	9/03/96 ± 22 jours [12/02/96 ; 31/03/96]
- durée (jours)	65 ± 12 [48 ; 91]

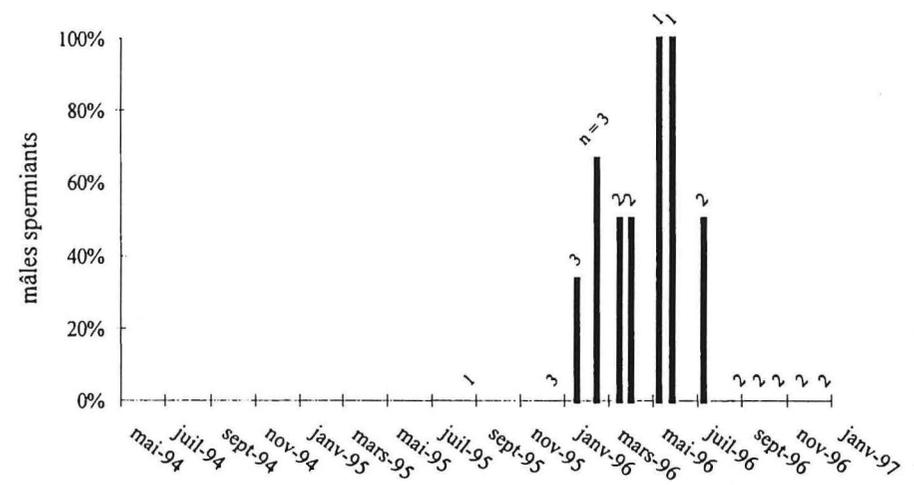
B) Femelles précoces et tardives

	Femelles précoces		Femelles tardives	
	n° 1027	n° 7622	n° 254E	n° 347A
<u>Diamètre ovocytaire (mm) :</u>				
- initial	1,28	1,05	0,55	0,64
- final	1,64	1,44	1,36	1,44
- (final – initial)	0,36	0,39	0,81	0,80
- (final / initial)	1,3	1,4	2,5	2,3
<u>Période de maturation :</u>				
- date de début	15/12/95	12/02/96	15/03/96	15/03/96
- date de fin	12/02/96	15/03/96	8/07/96	8/05/96
- durée (jours)	32	59	115	54

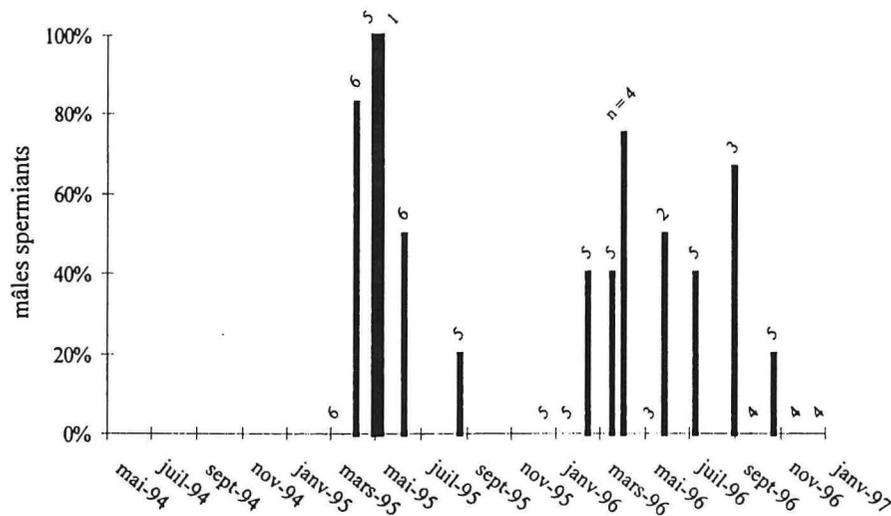
A) Mâles *P. bocourti* du 1er lot
élevés en étangs depuis le 29 avril 1994 (n = 22)



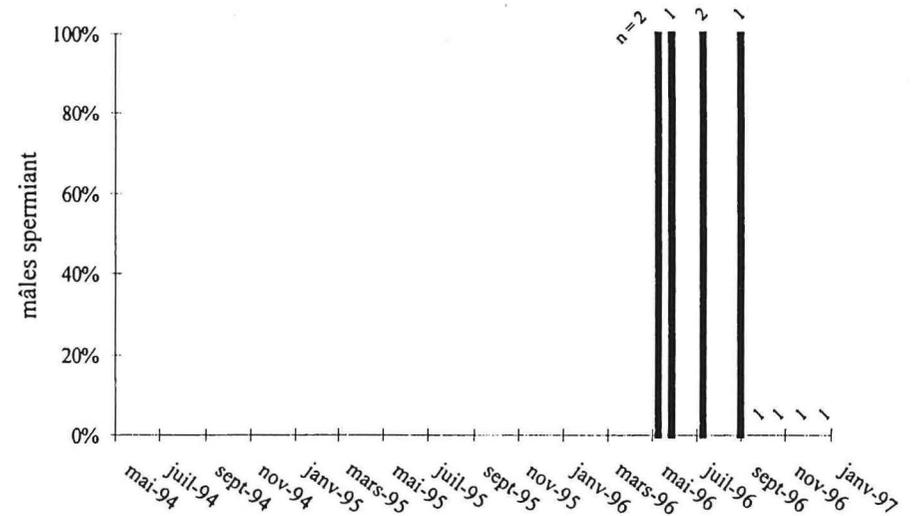
C) Mâles *P. bocourti* du 1er ou du 2ème lot
élevés en étangs depuis le 29 avril 1994 ou le 17 février 1995 (n = 3)



B) Mâles *P. bocourti* du 2ème lot
élevés en étangs depuis le 17 février 1995 (n = 6)



D) Mâles *P. bocourti* du 3ème lot
élevés en étangs depuis le 3 mai 1996 (n = 5)



Annexe 24 : Evolution de la proportion de mâles spermiant dans chaque lot de *P. bocourti* élevés en étangs

Annexe 25 : Bilan des évolutions thermiques de l'eau durant la maturation gonadique des femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

A) Femelles normales (n = 11)

<u>Température (°C) :</u>	
- initiale : min.	24,7 ± 0,5 [24,2 ; 25,8]
max.	28,7 ± 1,5 [26,9 ; 30,1]
moyenne	26,7 ± 0,7 [25,8 ; 27,6]
- finale (moyenne)	29,5 ± 1,4 [27,6 ; 31,2]
- [finale – initiale]	2,8 ± 1,0 [1,3 ; 4,1]
Somme de degrés jours	1691 ± 354 [1357 ; 2473]

B) Femelles précoces et tardives

	Femelles précoces		Femelles tardives	
	n° 1027	n° 7622	n° 254E	n° 347A
<u>Température (°C) :</u>				
- initiale : min.	25,2	26,3	27,5	27,6
max.	27,5	29,8	31,9	31,8
moyenne	26,3	28,1	29,7	29,7
- finale (moyenne)	27,6	29,7	30,6	29,2
- [finale – initiale]	1,3	1,6	0,9	- 0,5
Somme de degrés jours	643	1386	1457	1791

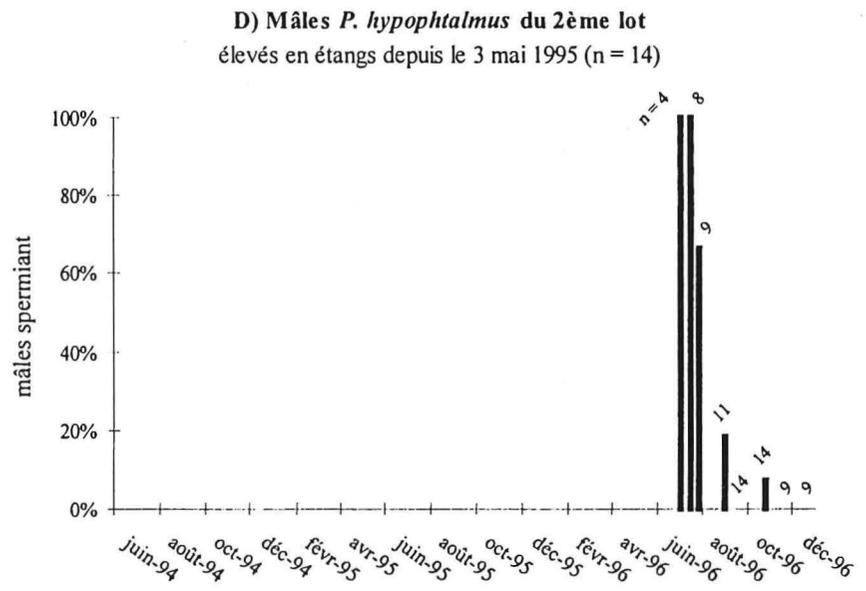
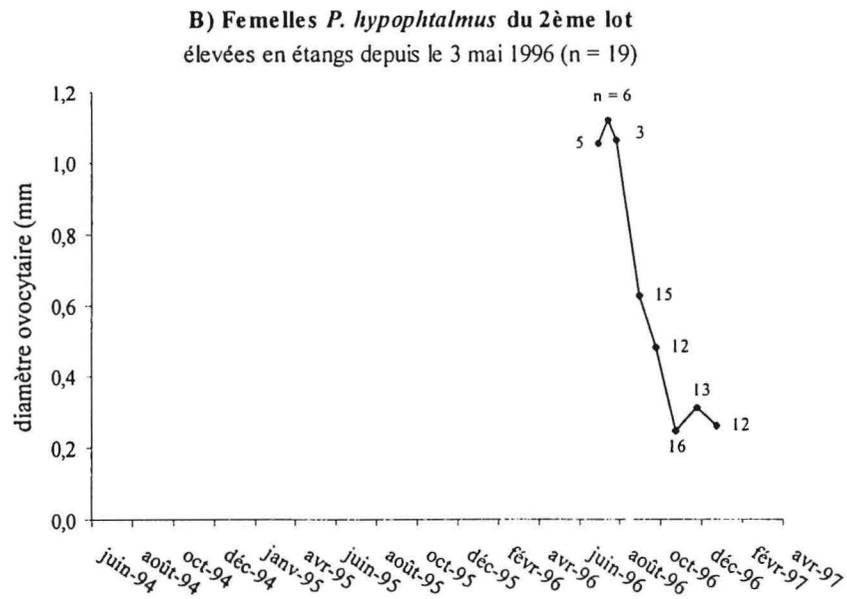
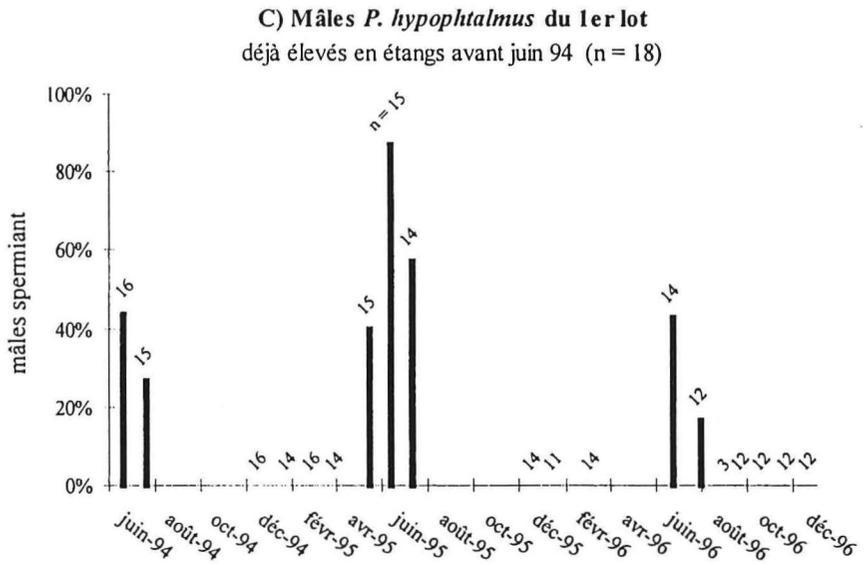
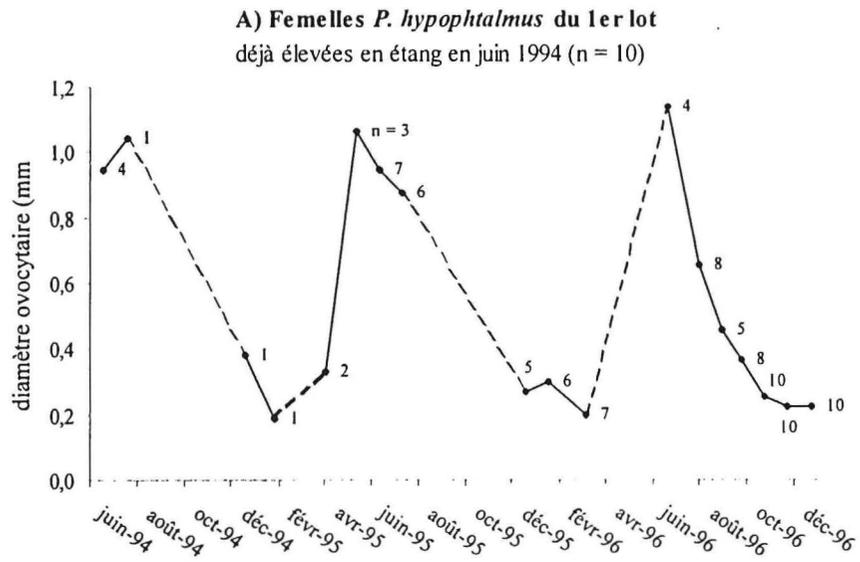
Annexe 26 : Bilan des évolutions de la photopériode durant la maturation gonadique des femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

A) Femelles normales (n = 11)

<u>Durée du jour :</u>	
- initiale	11:33 ± 0:04 [11:30 ; 11:45]
- finale	12:00 ± 0:12 [11:45 ; 12:13]
- [finale – initiale]	0:27 ± 0:09 [0:16 ; 0:39]

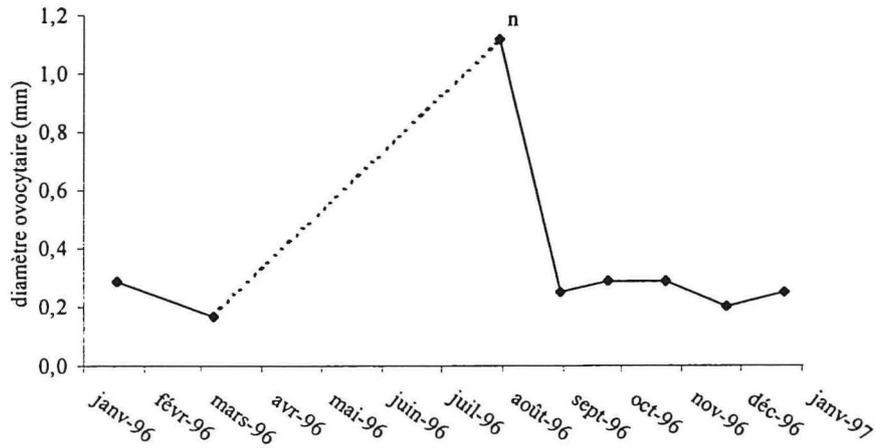
B) Femelles précoces et tardives

	Femelles précoces		Femelles tardives	
	n° 1027	n° 7622	n° 254E	n° 347A
<u>Durée du jour :</u>				
- initiale	11:30	11:45	12:03	12:03
- finale	11:45	12:03	12:34	12:43
- [finale – initiale]	0:15	0:18	0:31	0:42

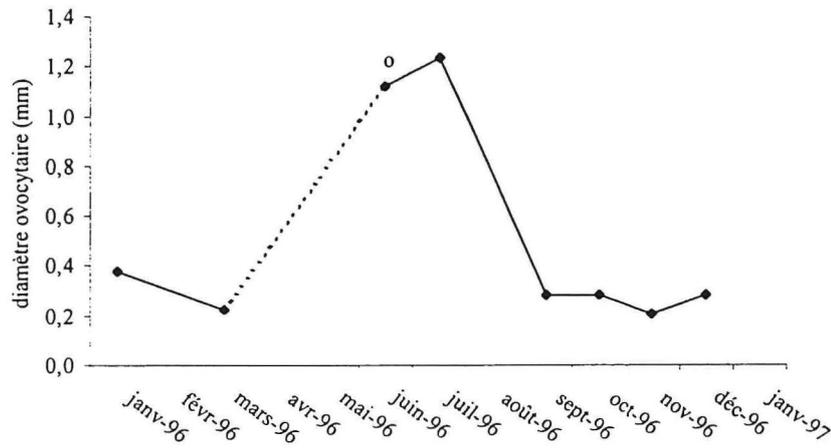


Annexe 27 : Evolution de la maturation gonadique des différents lots de femelles et de mâles de *P. hypophthalmus* élevés en étangs

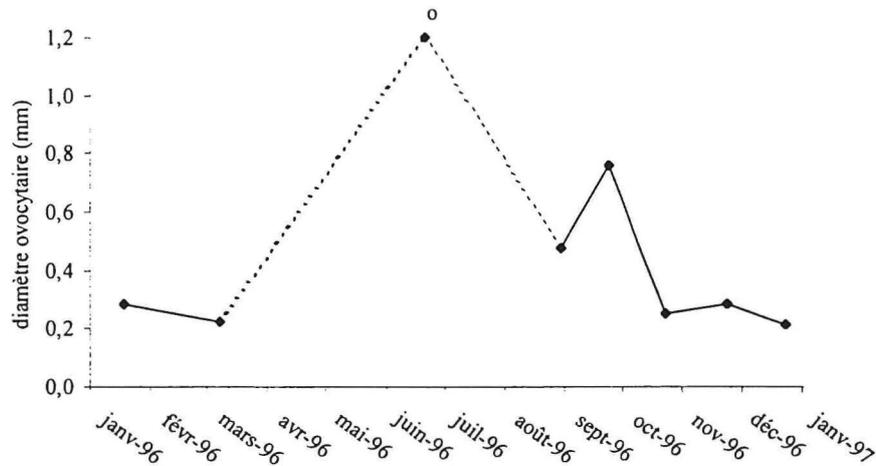
Femelle *P. hypophthalmus* n° 1E5C



Femelle *P. hypophthalmus* n° 303E

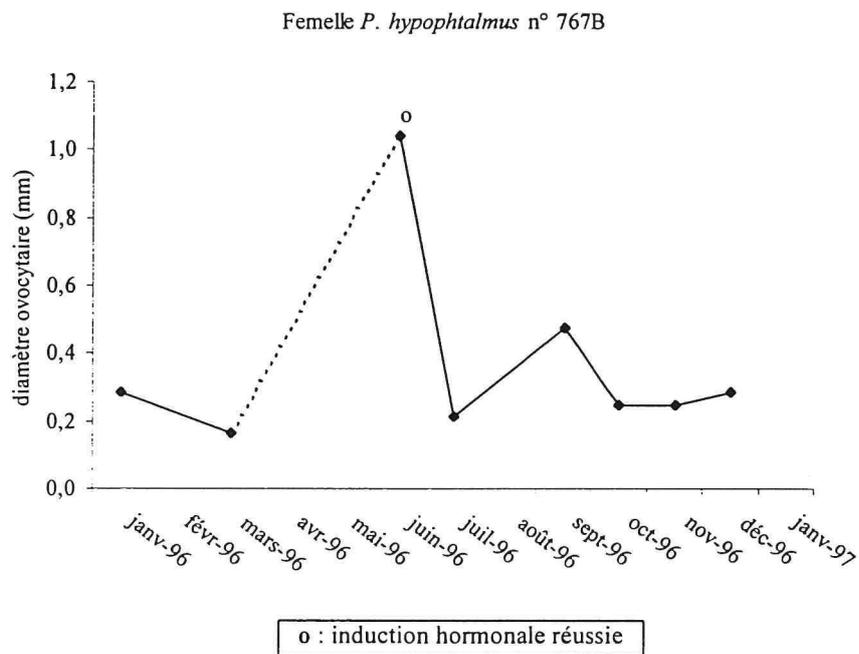
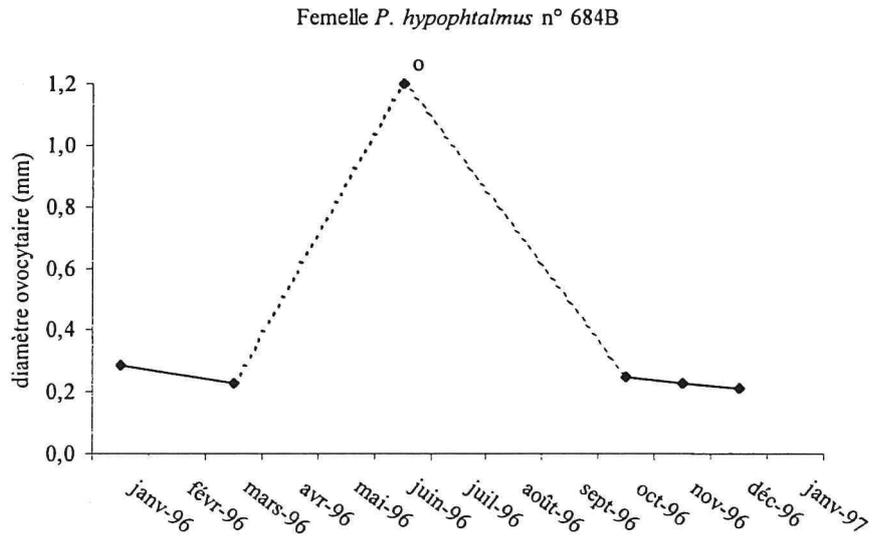


Femelle *P. hypophthalmus* n° 4918



o : induction hormonale réussie ; n : induction hormonale sans succès

Annexe 28 : Evolution de la valeur modale du diamètre ovocytaire de chaque femelle *P. hypophthalmus* élevée en étang



Annexe 28 (suite) : Evolution de la valeur modale du diamètre ovocytaire de chaque femelle de *P. hypophthalmus* élevée en étangs

Annexe 29 : Bilan des évolutions thermiques de l'eau durant la maturation gonadique des femelles de *P. Hypophthalmus* élevées en étangs

	N = 4 ^(a)	N = 1 ^(b)
<u>Température (°C) :</u>		
- initiale : min.	26,8	26,8
max.	31,2	31,2
moyenne	29,0	29,0
- finale (moyenne)	29,8	28,4
- [finale – initiale]	0,8	-0,6
Somme de degrés jours	3036	3981

^(a) : Femelles n° 303E, 4918, 684B et 767B (phase de maturation du 7/03/96 au 21/06/96),

^(b) : femelle n° 1E5C (phase de maturation du 7/03/96 au 30/07/96).

Analytical Data Sheet

Lot No. 501610

Product No. H-9205
Product (Des-Gly¹⁰,D-Arg⁶,Trp⁷,Leu⁸,Pro-NHEt⁹)-LHRH
Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Arg-Trp-Leu-Pro-NHEt
Formula (net) C₆₄H₈₃N₁₇O₁₂ *M.W. (net)* 1282.5 g/mol

Tests Results

Appearance white powder
Solubility soluble in H₂O
Amino Acid Analysis Ser 0.89 (1) Pro 1.09 (1) Leu 1.00 (1) Tyr 1.05 (1)
His 0.92 (1) Arg 1.02 (1) Glx 1.09 (1) Trp 1.39 (2)
FAB-MS [M+H]⁺: m/z = 1283
Purity (HPLC) > 99 % (see enclosed)
Assay 78 %

Date: April 28, 1992

BACHEM Feinchemikalien AG
Hauptstrasse 144
CH-4416 Bubendorf/Switzerland

BACHEM Bioscience Inc.
Subsidiary of BACHEM Switzerland
3700 Horizon Drive
King of Prussia, PA 19406/USA

BACHEM Biochemica GmbH
Subsidiary of BACHEM Switzerland
Lessingstrasse 26
D-69115 Heidelberg/Germany

BALE Biochimie SARL
Subsidiary of BACHEM Switzerland
136 Avenue Joseph Kessel
F-78960 Voisins-le-Bretonneux/France

Phone: 061/931 23 33
Fax: 061/931 25 49

Phone: 610/239 03 00
Fax: 610/239 08 00

Phone: 06221/16 30 91
Fax: 06221/ 2 14 42

Phone: 1/30 12 15 95
Fax: 1/30 57 38 82

Gonadotrophine chorionique "Endo" Pregnyl

Hormone gonadotrope d'origine placentaire.
Préparation injectable par voie intramusculaire.

composition

Hormone gonadotrope extraite de l'urine de femme enceinte.

Pour une ampoule de poudre lyophilisée :

500 U.I. : boîte de 6 ampoules + solvant.

1 500 U.I. : boîte de 6 ampoules + solvant.

5 000 U.I. : boîte de 1 ampoule + solvant.

indications et posologie

Selon prescription médicale.

mode d'emploi

Ouvrir l'ampoule contenant le solvant, aspirer ce dernier avec une seringue stérile et l'injecter dans l'ampoule contenant la Gonadotrophine Chorionique Endo, agiter un instant et aspirer ensuite la solution obtenue.

En cas de bris de l'ampoule de solvant, utiliser 1 ml de soluté injectable isotonique de chlorure de sodium.

mise en garde

« Sportifs, attention, cette spécialité contient un principe actif pouvant induire une réaction positive de tests pratiqués lors de contrôles antidopages. »

A.M.M. 304.587.1

304.585.9

304.580.7

Agréé aux Collectivités Publiques.

RTN 163153 F



Eragny-sur-Epte - B.P. 6
60590 SERIFONTAINE
Direction et Département médical.

B.P. 144 - 93204 SAINT-DENIS CEDEX 01 - Tél. (1) 48.13.83.00

Annexe 31 : Fiche technique de l'hCG employée

Annexe 32 : Composition de l'eau de source « La Vie » employée

Eléments dissous	Concentration (mg.l ⁻¹)
- calcium	202
- sodium	3,8
- fluor	0,28
- magnésium	36
- sulfate	306
- hydrates de carbone	402

Annexe 33 : Taille des gamètes avant et après l'application d'un traitement ovulatoire direct chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

Stades d'observation	Femelles (N)	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes $\geq 1,60$ mm (%)
avant un premier traitement	12	1,46 \pm 0,08 [1,34 ; 1,61]	1,61 \pm 0,08 [1,45 ; 1,70]	48 \pm 12 [30 ; 66]
- avant un premier traitement	3 ^(a)	1,45 \pm 0,07 [1,39 ; 1,53]	1,59 \pm 0,05 [1,53 ; 1,62]	45 \pm 14 [35 ; 61]
- 11 jours après le premier traitement	3 ^(a)	1,60 \pm 0,06 [1,53 ; 1,63]	1,67 \pm 0,05 [1,62 ; 1,70]	78 \pm 11 [65 ; 85]
- en étangs (t = 0)	19 ^(b)	1,09 \pm 0,22 [0,62 ; 1,41]	1,11 \pm 0,32 [0,43 ; 1,53]	5 [0 ; 28]
- en étangs (t = 11 jours)	19 ^(b)	0,94 \pm 0,30 [0,36 ; 1,44]	1,00 \pm 0,39 [0,46 ; 1,64]	4 [0 ; 32]

Mesures répétées sur deux lots de poissons : ^(a) et ^(b).

Annexe 34 : Traitement progressif à l'hCG avec une injection ovulatoire appliqué à une femelle de *P. bocourti* élevée en étang

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	2 injections à 24 h d'intervalle 600 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	2000 UI après 24 h

(*) : Par kilogramme de poids vif.

- Emission des ovules 24 h après l'injection ovulatoire,
- température de l'eau : 27-27,5 °C.

Annexe 35 : Taille des gamètes en réponse à différents traitements chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs

A) Femelles non traitées ou poissons témoins (n = 5)

Stades d'observation	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,60 mm (%)
Avant traitement de finition	1,24 \pm 0,11 [1,08 ; 1,33]	1,34 \pm 0,10 [1,20 ; 1,44]	5,9 \pm 6,1 [0,0 ; 12,4]
Après traitement de finition	1,42 \pm 0,09 [1,34 ; 1,53]	1,47 \pm 0,04 [1,44 ; 1,52]	24,9 \pm 15,8 [0,0 ; 40,0]

B) Femelles dont le traitement progressif a échoué (n = 9)

Stades d'observation	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,60 mm (%)
Avant traitement de finition	1,17 \pm 0,10 [0,99 ; 1,28]	1,35 \pm 0,12 [1,04 ; 1,44]	4,9 \pm 5,7 [0,0 ; 14,5]
Après traitement de finition	1,33 \pm 0,16 [1,03 ; 1,63]	1,44 \pm 0,20 [1,04 ; 1,68]	28,6 \pm 26,8 [0,0 ; 90,7]
Après traitement ovulatoire (n = 4)	1,35 \pm 0,16 [1,17 ; 1,55]	1,36 \pm 0,43 [0,72 ; 1,68]	38,0 \pm 33,6 [14,3 ; 87,5]

C) Femelles dont le traitement progressif a réussi (n = 11)

Stades d'observation	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,60 mm (%)
Avant traitement de finition	1,32 \pm 0,07 [1,20 ; 1,47]	1,46 \pm 0,10 [1,36 ; 1,68]	13,7 \pm 17,2 [0,0 ; 56,8]
Après traitement de finition	1,45 \pm 0,10 [1,30 ; 1,59]	1,71 \pm 0,08 [1,60 ; 1,84]	53,4 \pm 14,2 [29,8 ; 73,0]
Après traitement ovulatoire	1,66 \pm 0,20 [1,39 ; 1,94]	1,83 \pm 0,09 [1,68 ; 1,92]	76,0 \pm 20,0 [44,1 ; 100,0]

Annexe 36 : Traitement progressif à l'hCG avec une injection ovulatoire appliquée aux femelles de *P. bocourti* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	4 injections à 24 h d'intervalle 500 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	2300 UI [2000 ; 2500] après 24 h

(*) : Par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 2 femelles sur 3 traitées,
- émission des ovules 13 et 16 h après l'injection ovulatoire,
- température de l'eau : $28,9 \pm 1,2$ °C [26 ; 31].

Annexe 37 : Traitement progressif à l'hCG avec trois injections ovulatoires appliquées aux femelles de *P. bocourti* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	1 injection de 500 UI
2) Traitement ovulatoire	i1 : 1500 UI après 24 h i2 : 2500 UI après 9,5 h i3 : 2500 UI après 15,5 h

(*) : Par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 0 femelle sur 3 traitées,
- température de l'eau : 28-30 °C.

Annexe 38 : Traitement progressif à l'hCG avec une injection ovulatoire appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	2 injections à 24 h d'intervalle (1 femelle) 3 injections à 24 h d'intervalle (1 femelle) 500 ou 600 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	2500 UI après 24 h

(*) : Exprimées en unités internationales d'hCG par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 2 femelles sur 2 traitées,
- émission des ovules 11 et 11,5 h après l'injection ovulatoire,
- température de l'eau : 27-28,5 °C.

Annexe 39 : Traitement progressif à l'hCG avec trois injections ovulatoires appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	- Aucun : 2 femelles - 1 injection (1 femelle) - 2 injections à 24 h d'intervalle (1 femelle) 500 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	i1 : 500 UI après 24 h i2 : 1000 UI après 9,5 h [9 ; 11,5] i3 : 1500 UI après 9 h

(*) : Par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 4 femelles sur 6 traitées (67 %),
- émission des ovules 24 ± 3 h [21,5 ; 28] après i1,
- température de l'eau : 27-30 °C.

Annexe 40 : Taille des gamètes en réponse au traitement direct à l'hCG chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs

A) Femelles dont le traitement direct a échoué (n = 5)

Stades d'observation	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,00 mm (%)
Avant traitement ovulatoire	1,08 \pm 0,10 [0,93 ; 1,20]	1,15 \pm 0,07 [1,04 ; 1,20]	78,8 \pm 19,1 [47,5 ; 91,7]
Après traitement ovulatoire	1,06 \pm 0,12 [0,86 ; 1,18]	1,14 \pm 0,07 [1,04 ; 1,20]	75,1 \pm 25,5 [36,6 ; 100]

A) Femelles dont le traitement direct a réussi (n = 9)

Stades d'observation	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,00 mm (%)
Avant traitement ovulatoire	1,03 \pm 0,08 [0,91 ; 1,12]	1,17 \pm 0,06 [1,04 ; 1,22]	71,1 \pm 13,7 [52,2 ; 87,5]
Après traitement ovulatoire	1,13 \pm 0,03 [1,10 ; 1,21]	1,15 \pm 0,06 [1,04 ; 1,20]	92,1 \pm 5,2 [82,2 ; 97,4]

Annexe 41 : Taille des gamètes en réponse au traitement progressif à l'hCG chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en étangs

A) Femelle dont le traitement progressif a échoué (n = 1)

Traitements	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,00 mm (%)
Avant traitement De finition	0,86	0,96	4,3
Après traitement De finition	0,94	0,96	24,1

B) Femelles dont le traitement progressif a réussi (n = 8)

Traitements	Diamètre moyen (mm)	Diamètre du mode (mm)	Ovocytes \geq 1,00 mm (%)
Avant traitement de finition	0,99 \pm 0,08 [0,90 ; 1,14]	1,02 \pm 0,06 [0,96 ; 1,12]	55,0 \pm 23,9 [27,6 ; 100]
Après traitement de finition	1,08 \pm 0,04 [1,02 ; 1,15]	1,12 \pm 0,04 [1,04 ; 1,20]	83,3 \pm 8,7 [69,4 ; 94,7]
Après traitement ovulatoire	1,08 \pm 0,05 [1,00 ; 1,16]	1,15 \pm 0,04 [1,12 ; 1,20]	84,4 \pm 13,6 [56,9 ; 100]

Annexe 42 : Traitement progressif à l'hCG avec une injection ovulatoire appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	1 injection à 700 UI
2) Traitement ovulatoire	1500 UI après 24 h

(*) : Exprimées en unités internationales d'hCG par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 12 femelles sur 13 traitées (92 %),
- émission des ovules $11,5 \pm 2$ h [8 ; 15] après l'injection ovulatoire,
- température de l'eau : 28-30 °C.

Annexe 43 : Traitement hormonal à deux injections (B) ovulatoires appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	- 1 injection (9 femelles) - 2 injections à 24 h d'intervalle (1 femelle) 500 à 700 UI par injection
2) Traitement ovulatoire	i1 : 1000 à 1500 UI après 24 h i2 : 2400 [1500 ; 3000] UI après 8 h

(*) : Exprimées en unités internationales d'hCG par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 10 femelles sur 11 traitées (91 %),
- émission des ovules $16 \pm 1,5$ h [14 ; 18] après i1,
- température de l'eau : 28-30 °C.

Annexe 44 : Traitement hormonal à trois injections ovulatoires appliqué aux femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes

Phases du traitement	Doses (*) et fréquence des injections
1) Traitement de finition	- Aucun (2 femelles) - 1 injection à 500 UI (1 femelle)
2) Traitement ovulatoire	i1 : 500 UI après 24 h i2 : 1000 UI après 9,5 h [8,5 ; 10] i3 : 1500 UI après 9 h

(*) : Exprimées en unités internationales d'hCG par kilogramme de poids vif.

- Taux d'ovulation : 3 femelles sur 3 traitées (100 %),
- émission des ovules $30 \pm 3,5$ h [27 ; 34] après i1,
- température de l'eau : 28-30 °C.

Annexe 45 : Nombre d'ovules par gramme d'ovules et poids unitaire d'un ovule chez les deux espèces

Espèce	N ovules par gramme d'ovules	Poids unitaire d'un ovule
<i>P. bocourti</i> (n = 2)	251 [222 ; 280] ovules	3,98 [3,57 ; 4,50] mg
<i>P. hypophthalmus</i> (n = 4)	1437 ± 90 [1316 ; 1524] ovules	0,70 ± 0,04 [0,76 ; 0,66] mg

n : nombre d'échantillons comptés.

Annexe 46 : Bilan de la fécondité obtenue chez les deux espèces lors des pontes uniques et des premières pontes de l'année

A) Chez *P. bocourti*

Milieu d'élevage	Femelles N	Biométrie des poissons			Fécondité absolue ^(a)		Fécondité relative ^(b)	
		Poids vif (kg)	Longueur à la fourche (cm)	Coefficient de condition	Grammes d'ovules	Milliers d'ovules	Grammes d'ovules.kg ⁻¹	Milliers d'ovules.kg ⁻¹
Cages flottantes	34	6,9 ± 1,0 [4,8 ; 9,7]	69,8 ± 3,6 [63,0 ; 78,5] (n = 33)	2,01 ± 0,14 [1,61 ; 2,24] (n = 33)	102,8 ± 67,8 [10 ; 260]	25,8 ± 17,0 [2,5 ; 65,3]	15,0 ± 9,7 [1,4 ; 34,7]	3,8 ± 2,4 [0,4 ; 8,7]
Etangs	11	7,3 ± 1,4 [5,5 ; 8,9]	73,3 ± 3,3 [68,5 ; 77,0]	1,82 ± 0,17 [1,59 ; 2,18]	204,5 ± 109,4 [80 ; 432]	51,3 ± 27,5 [20,1 ; 108,4]	29,5 ± 17,1 [9,0 ; 66,4]	7,4 ± 4,3 [2,3 ; 16,7]

B) Chez *P. hypophthalmus*

Milieu d'élevage	Femelles N	Biométrie des poissons			Fécondité absolue ^(a)		Fécondité relative ^(b)	
		Poids vif (kg)	Longueur à la fourche (cm)	Coefficient de condition	Grammes d'ovules	Milliers d'ovules	Grammes d'ovules.kg ⁻¹	Milliers d'ovules.kg ⁻¹
Cages flottantes	42	7,4 ± 1,2 [5,6 ; 10,5]	78,0 ± 3,1 [73,0 ; 84,0] (n = 32)	1,55 ± 0,13 [1,29 ; 1,80] (n = 32)	271,4 ± 175,5 [73 ; 700]	389,9 ± 252,2 [33,1 ; 1005,9]	36,3 ± 22,5 [3,8 ; 93,8]	52,1 ± 32,3 [5,5 ; 134,9]
Etangs	17	7,1 ± 2,5 [5,0 ; 13,3]	76,1 ± 6,7 [68,0 ; 92,0]	1,57 ± 0,17 [1,18 ; 1,81]	192,4 ± 152,2 [23 ; 517]	276,4 ± 218,8 [33,1 ; 742,9]	28,3 ± 25,1 [4,5 ; 101,4]	40,7 ± 36,1 [6,5 ; 145,7]

^(a) : Par poisson,

^(b) : par kg de poids vif corporel.

Annexe 47 : Biométrie, développement des ovaires et état d'engraissement des femelles de *P. bocourti* en maturation dans les deux milieux d'élevage

Année	Milieu d'élevage	Femelles N (*)	Poids vif (kg)	Longueur à la fourche (cm)	Coefficient de condition	Rapport gonadosomatique (% PV)	Rapport adiposomatique (% PV)
1994	Cages flottantes	6	5,8 ± 1,5 [4,2 ; 8,6]	72,3 ± 15,9 [61 ; 104]	1,64 ± 0,44 [0,76 ; 2,00]	0,6 ± 0,4 [0,3 ; 1,1]	12,4 ± 1,8 [5,5 ; 20,1]
1995	étangs	3	7,1 ± 1,0 [6,1 ; 8]	72,0 ± 4,0 [68 ; 76]	1,89 ± 0,06 [1,82 ; 1,93]	4,2 ± 2,2 [1,9 ; 6,2]	7,8 ± 5,2 [2,6 ; 13,0]
1996	Cages flottantes	13	7,1 ± 1,2 [5,4 ; 9,4]	69,7 ± 3,3 [65 ; 75] (n = 9)	2,18 ± 0,20 [2,00 ; 2,66] (n = 9)	2,7 ± 0,8 [1,3 ; 3,9]	6,8 ± 2,3 [3,3 ; 10,3]
1996	étangs	4	7,6 ± 0,6 [7,0 ; 8,2]	73,5 ± 1,7 [72 ; 76]	1,90 ± 0,11 [1,80 ; 2,06]	1,9 ± 0,4 [1,6 ; 2,5]	7,4 ± 1,7 [6,1 ; 9,8]

(*) : Femelles mortes accidentellement, en cours d'élevage ou suite à des manipulations.

Annexe 48 : Fécondité des pontes uniques et des pontes doubles chez les femelles de *P. bocourti* élevées en étangs en 1996

Type de ponte	Femelles N	Biométrie des poissons			Fécondité absolue ^(a)		Fécondité relative ^(b)	
		Poids vif (kg)	Longueur à la fourche (cm)	Coefficient de condition	Grammes d'ovules	Milliers d'ovules	Grammes d'ovules.kg ⁻¹	Milliers d'ovules.kg ⁻¹
Uniques	7	7,4 ± 1,4 [5,5 ; 8,9]	73,8 ± 3,4 [68,5 ; 77,0]	1,83 ± 0,19 [1,59 ; 2,18]	138,6 ± 38,8 [80 ; 206]	34,8 ± 9,7 [20,1 ; 51,7]	19,5 ± 6,6 [9 ; 26,2]	4,9 ± 1,7 [2,3 ; 6,6]
Premières	3	6,6 ± 1,7 [5,5 ; 8,5]	71,7 ± 3,8 [69 ; 76]	1,77 ± 0,17 [1,60 ; 1,94]	346,0 ± 96,9 [241 ; 432]	86,8 ± 24,3 [60,5 ; 108,4]	52,9 ± 12,5 [41,6 ; 66,4]	13,3 ± 3,1 [10,4 ; 16,7]
Secondes ^(c)	3	6,3 ± 1,0 [5,6 ; 7,4]	71,5 ± 3,0 [69,5 ; 75]	1,72 ± 0,08 [1,63 ; 1,77]	52,0 ± 23,5 [29 ; 76]	13,1 ± 5,9 [7,3 ; 19,1]	8,7 ± 4,8 [3,9 ; 13,6]	2,2 ± 1,2 [1,0 ; 3,4]
Cumulées (1 ^{ère} + 2 ^{ème})	3	-	-	-	398,0 ± 92,3 [292 ; 461]	99,9 ± 23,2 [73,3 ; 115,7]	61,6 ± 16,0 [50,1 ; 79,9]	15,5 ± 4,0 [12,6 ; 20,1]

^(a) : Par poisson,

^(b) : par kg de poids vif corporel,

^(c) : secondes pontes obtenues 53 ± 25 jours [25 ; 75] après la première ponte.

Annexe 49 : Fécondité des pontes uniques et des pontes doubles chez les femelles de *P. hypophthalmus* élevées en cages flottantes en 1997

Type de ponte	Femelles N	Biométrie des poissons			Fécondité absolue ^(a)		Fécondité relative ^(b)	
		Poids vif (kg)	Longueur à la fourche (cm)	Coefficient de condition	Grammes d'ovules	Milliers d'ovules	Grammes d'ovules.kg ⁻¹	Milliers d'ovules.kg ⁻¹
Uniques	24	7,4 ± 1,0 [5,6 ; 9,5]	77,8 ± 3,1 [73 ; 84] (n = 22)	1,57 ± 0,14 [1,29 ; 1,80] (n = 22)	269,1 ± 164 [50 ; 610]	386,7 ± 235,7 [71,9 ; 876,6]	36,7 ± 22,6 [7,0 ; 93,8]	52,8 ± 32,4 [10,1 ; 134,9]
Premières	9	7,1 ± 0,9 [6,0 ; 8,5]	77,8 ± 2,8 [75 ; 83]	1,51 ± 0,11 [1,37 ; 1,70]	245,0 ± 190,9 [100 ; 700]	352,1 ± 274,3 [143,7 ; 1005,9]	32,9 ± 22,9 [16,7 ; 88,6]	47,3 ± 33,0 [24,0 ; 127,3]
Secondes ^(c)	9	8,1 ± 0,9 [6,6 ; 9,7]	78,8 ± 2,8 [76 ; 83,5] (n = 8)	1,65 ± 0,07 [1,50 ; 1,73] (n = 8)	461,1 ± 218,2 [240 ; 900]	662,6 ± 313,6 [344,9 ; 1293,3]	57,7 ± 28,3 [25,9 ; 118,4]	82,9 ± 40,7 [37,2 ; 170,2]
Cumulées (1 ^{ère} + 2 ^{ème})	9	-	-	-	706,1 ± 385,3 [360 ; 1600]	1014,7 ± 553,7 [517,3 ; 2299,2]	90,6 ± 48,2 [51,2 ; 207,0]	130,2 ± 69,3 [73,6 ; 297,5]

^(a) : Par poisson,

^(b) : par kg de poids vif corporel,

^(c) : secondes pontes 73 ± 26 jours [40 ; 117] après la première ponte.

Annexe 50 : Poids vif des poissons géniteurs utilisés et température de l'eau dans les bacs lors des tests d'induction de la spermiation chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus*

Espèce et traitement appliqué	Poids vif des poissons géniteurs (kg)	Intervalle de température dans l'eau des bacs (°C)
<i>P. bocourti</i> (hCG)	5,4 ± 0,7 [3,9 ; 6,7]	28,6-30,2
<i>P. bocourti</i> (GnRH α et dompéridone)	5,1 ± 1,0 [3,3 ; 6,9]	28,1-30,4
<i>P. hypophthalmus</i> (hCG)	5,7 ± 1,2 [3,3 ; 7,7]	27,8-29,5

Annexe 51 : Caractéristiques de la production de sperme chez *P. bocourti* et *P. hypophthalmus* avec ou sans induction hormonale

Espèce	Induction hormonale (doses en kg de poids vif)	Mâles N	Volume de sperme par poisson (μl)	Volume de sperme par kg de poids vif ($\mu\text{l.kg}^{-1}$)	Concentration en spermatozoïdes (10^9 spz.ml^{-1})	Production spermatique (10^9 spz.kg^{-1})
<i>P. bocourti</i>	Aucune ^(a)	8	156 ± 137 [25 ; 400]	33,0 ± 31,5 [4,5 ; 89,6]	13,3 ± 10,0 [2,4 ; 27,3] (n = 6)	0,58 ± 0,61 [0,06 ; 1,66] (n = 6)
	Aucune ^(b)	4	150 ± 177 [25 ; 400]	26,5 ± 30,0 [4,5 ; 69,0]	13,3 ± 15,4 [2,4 ; 24,1] (n = 2)	0,86 ± 1,13 [0,06 ; 1,66] (n = 2)
	2000 UI hCG.kg ⁻¹ 12 h après l'injection	4	1950 ± 640 [1400 ; 2600]	344,5 ± 125,3 [237,3 ; 495,2]	26,9 ± 13,4 [7,0 ; 36,2]	8,37 ± 4,55 [3,46 ; 14,48]
	Aucune ^(c)	4	163 ± 111 [50 ; 300]	39,5 ± 36,2 [11,4 ; 89,6]	13,3 ± 9,4 [7,6 ; 27,3]	0,43 ± 0,34 [0,09 ; 0,90]
	30 $\mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ + 3 mg dompéridone.kg ⁻¹ 48 h après l'injection	4	1088 ± 1030 [150 ; 2500]	187,1 ± 146,6 [75,5 ; 384,6]	15,8 ± 6,3 [9,3 ; 24,1]	3,29 ± 2,86 [0,70 ; 6,33]
<i>P. hypophthalmus</i>	Aucune	4	983 ± 1746 [50 ; 3600]	151,2 ± 257,9 [10,6 ; 537,3]	48,0 ± 18,6 [25,7 ; 65,5]	9,10 ± 15,82 [0,32 ; 32,77]
	2000 UI hCG.kg ⁻¹ 24 h après l'injection	4	4925 ± 5809 [1300 ; 13600]	823,4 ± 850,1 [337,7 ; 2092,3]	57,2 ± 6,8 [47,5 ; 63,4]	49,93 ± 55,55 [16,04 ; 132,74]

^(a) : Regroupe l'ensemble des mâles qui n'ont pas reçu de traitement en ^(b) et ^(c),

^(b) : mâles qui ont été observés avec ceux traités à l'hCG,

^(c) : mâles qui ont été observés avec ceux traités au GnRHa associé au dompéridone.

Annexe 52 : Traitements avec l'hCG destinés à induire la maturation ovocytaire et l'ovulation chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Traitement ^(a)	Température (° C)	Temps de Latence post i1 ^(b)	Temps de Latence post if ^(c)	Ovulation (%)	Référence
<i>Ictalurus punctatus</i>	1000-1760 UI	26-27	24-72 h	-	50-100	Sneed et Clemens (1959) ^(d) Dupree <i>et al.</i> (1966) ^(d)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	1500 UI	29	12 h	-	100	Legendre (1986) ^(d) Legendre et Otémé (1995) ^(d)
<i>Clarias Macrocephalus</i>	2000 UI	26-31	13-18 h	-	95	Mollah et Tan (1984a) ^(d)
<i>Clarias gariepinus</i>	4000 UI	25	14-16 h	-	70-80	Eding <i>et al.</i> (1982) ^(d)
<i>Clarias fuscus</i>	200 UI + 1800 UI après 6 h	25	22-25 h	16-19 h	100	Young <i>et al.</i> (1989) ^(d)

^(a) : Doses par kg de poids vif,

^(b) : après la première injection ovulatoire,

^(c) : après la dernière injection ovulatoire,

^(d) : d'après Legendre *et al.* (1996).

Annexe 53 : Fécondité relative et diamètre des ovules chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Fécondité (10 ³ ovules.kg ⁻¹)	Diamètre des Ovules (mm)	Référence
<i>Ictalurus punctatus</i>	8	3	Grizzle (1985) (*) Tucker et Robinson (1990) (*)
<i>Chrysichthys nigrodigitatus</i>	15 – 18	2,5 – 3	Hem (1986) (*) Otémé (1993) (*)
<i>Silurus glanis</i>	10 – 25	2,5 - 2,9	Fijan (1975) (*) Horvath et Tamas (1976) (*) Wisniewolski (1988) (*) Kouril <i>et al.</i> (1993) (*)
<i>Hoplosternum littorale</i>	45 – 75	1,4	Hostache <i>et al.</i> (1993) (*) Pascal <i>et al.</i> (1994) (*)
<i>Clarias gariepinus</i>	60 – 150	1,2 - 1,5	Hogendoorn (1979) (*) Richter <i>et al.</i> (1987) (*) Legendre <i>et al.</i> (1992) (*)
<i>Clarias macrocephalus</i>	20 – 50	1,3 - 1,6	Ali (1993) (*) Tan-Fermin et Emata (1993) (*)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	30 – 120	1,2 - 1,6	Legendre (1986) (*) Legendre et Otémé (1995) (*)
<i>Pseudoplatystoma coruscans</i>	120 – 130	0,8	Cardoso (comm. pers.) (*)
<i>P. bocourti</i>	4,7 [0,4 ; 16,7]	1,8 - 2,0	Auteur
<i>P. hypophthalmus</i>	48,8 [5,5 ; 145,7]	1,1 - 1,3	Auteur

(*) : D'après Legendre *et al.* (1996).

**Annexe 54 : Composition des solutions d'immobilisation testées sur le sperme de
*Pangasius gigas***

Ingrédient	Solution de Hank	Solution de Hank sans calcium	Solution tampon de bicarbonate
CaCl ₂ – H ₂ O	0,16	-	-
NaCl	8,00	8,89	-
KCl	0,40	0,44	-
MgSO ₄ – 7 H ₂ O	0,20	0,22	-
Na ₂ HPO ₄ – 7 H ₂ O	0,12	0,13	-
KH ₂ PO ₄	0,06	0,07	-
NaHCO ₃	0,35	0,39	-
Glucose	1,00	1,11	-
KHCO ₃	-	-	12,50
Sucrose	-	-	85,50
Glutathione, réduit	-	-	3,00
Pression osmotique (mOsm.kg ⁻¹)	286	320	560

- Compositions en g.l⁻¹,
- d'après Mongkonpunya *et al.* (1995).

Annexe 55 : Diamètre des œufs, température et durée de l'incubation chez plusieurs espèces de poissons-chats

Espèce	Diamètre des œufs (mm)	Température (°C)	Durée de l'incubation	Référence
<i>Ictalurus punctatus</i>	3,5	25-28	5-8 jours	Tucker et Robinson (1990) (*)
<i>Chrysichthys nigrodigitatus</i>	3,2	27-29	5 jours	Hem <i>et al.</i> (1994) (*)
<i>Silurus glanis</i>	3,5	22-25	2-3 jours	Kouril et Hamackova (1977) (*)
<i>Hoplosternum littorale</i>	1,4	26-31	2-3 jours	Luquet <i>et al.</i> (1989) (*)
<i>Clarias gariepinus</i>	1,6-1,9	20	48 h	Hogendoorn (1979) (*)
		30	18-20 h	Haylor et Mollah (1995) (*)
<i>Clarias macrocephalus</i>	1,7-1,9	26-30	22-34 h	Mollah et Tan (1982) (*)
<i>Heterobranchus longifilis</i>	1,7-2,1	25-29	20-29 h	Legendre et Teugels (1991) (*)
<i>Pseudoplatystoma coruscans</i>	1,3	23-25	19 h	Cardoso <i>et al.</i> (1995) (*)
<i>P. bocourti</i>	1,9 [1,7 ; 2,0]	26,3-30,7	27 ± 2 h [25,5 ; 30]	Auteur
<i>P. hypophthalmus</i>	1,2 [1,1 ; 1,3]	27,7-31	22 ± 1h [19,5 ; 22,5]	Auteur

(*) : D'après Legendre *et al.* (1996).

Abstract

In Southern Viet-Nam in the Mekong delta, two Pangasiid catfishes are widely exploited for aquaculture. *Pangasius bocourti* is the main fish cultured in floating cages (15,000 tons per year) and *Pangasius hypophthalmus* is an important fish in pond culture (20,000 tons per year). The present study deals with the comparison of the artificial breeding of these two catfishes, reared in floating cages and in ponds.

In culture conditions, the oocytes development show a yearly cycle in both species. It peaks at the end of the dry season (April) in *P. bocourti* and at the beginning of the rainy season (June) in *P. hypophthalmus*. In both species, the sexual maturity is the highest before the Mekong flood, or at the early water rising. Fishes reared in floating cages and in ponds show similar patterns of oocytes development. Rising of both water temperature and photoperiod are probably the stimuli involved in the oogenesis. Milt is oozing in mature male when the abdomen is gently squeezed. Maturity of males occurs at the same period as females.

Oocytes maturation and ovulation were induced by injection of human chorionic gonadotropin (hCG). For *P. bocourti*, females received a preliminary treatment including several low doses injections (500 U.I.kg⁻¹). Afterwards, oocytes maturation and ovulation are induced with 59 % ovulation rate. For *P. hypophthalmus*, oocytes maturation and ovulation can be induced directly with 88 % ovulation rate. Ova of *P. bocourti* have larger diameter than *P. hypophthalmus* (1,9 and 1,0 mm). However, the relative fecundity of *P. hypophthalmus* is ten times higher than *P. bocourti* (48,8.10³ and 4,7.10³ ova.kg⁻¹). Influence of the rearing conditions and the fish physiology is discussed. Spawning is mostly induced once per year although two spawnings were obtained within a year in both species. The survival duration of ova *in vivo* is short in *P. hypophthalmus*.

Rising of the milt production is induced by a single injection of hCG in the males of both species. Enhancement of milt production in *P. bocourti* is lower with one injection of sGnRH α (gonadotropin releasing hormone) together with domperidone than one injection of hCG. Overall, the milt production of *P. hypophthalmus* is more important than *P. bocourti*, both in terms of volume of milt collected (up to 2092 and 495 μ l.kg⁻¹) and concentration of spermatozoa (up to 63,4.10⁹ and 36,5.10⁹ spermatozoa.ml⁻¹). For both species, twice diluted milt in immobilizing solution (NaCl 155 mM, TRIS 20 mM, pH 7) and chilled (5-6 °C) can be stored. In such conditions, fertility of milt remains high after 24 h. The global motility of spermatozoa lasts less than one minute in freshwater. However, this duration is longer in low salinity solution. Compared to *P. bocourti*, milt fertility of *P. hypophthalmus* is more sensitive to the activation conditions related to the salinity and to the milt dilution.

Hydrated eggs of the two species are sticky, thus incubation can take place on a net screen. Incubation in Zoug jar previously requires removal of the sticky layer by rinsing eggs in tannin solution. On average, incubation lasts 27 h in *P. bocourti* and 22 h in *P. hypophthalmus* at temperature of respectively 26-31 °C and 28-31 °C.

Résumé

Au sud du Viêt-Nam, dans le delta du Mékong, deux espèces de poissons-chats appartenant à la famille des Pangasiidae contribuent largement à la production aquacole. *Pangasius bocourti* est la principale espèce élevée en cages flottantes (15.000 tonnes par an) et *Pangasius hypophthalmus* est une espèce importante en pisciculture d'étangs (environ 20.000 tonnes par an). Cette étude présente une approche comparée de la reproduction artificielle de ces deux espèces, élevées en cages flottantes et en étangs.

En conditions d'élevage, le développement des ovocytes présente un cycle annuel qui culmine en fin de saison sèche (avril) chez *P. bocourti* et en début de saison des pluies (juin) chez *P. hypophthalmus*. Pour les deux espèces, la maturité sexuelle culmine avant la crue du Mékong ou à son tout début. Le développement des ovocytes est similaire en cages flottantes et en étangs. L'augmentation de la température de l'eau et l'augmentation de la durée du jour constituent les stimuli les plus probables qui induisent l'ovogénèse. Les mâles matures émettent du sperme au striping et leur période de maturité sexuelle coïncide avec celle des femelles.

Chez les femelles, la maturation ovocytaire et l'ovulation ont été induites par traitement à l'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG). Les femelles *P. bocourti* reçoivent un traitement préliminaire constitué d'injections répétées de faibles doses (500 UI.kg⁻¹); le traitement ovulatoire est appliqué ensuite, avec un taux d'ovulation global de 59 %. Les femelles *P. hypophthalmus* peuvent en revanche recevoir directement un traitement ovulatoire, avec un taux d'ovulation de 88 %. *P. bocourti* présente des ovules plus grands que ceux de *P. hypophthalmus*, respectivement de 1,9 et 1,1 mm, mais une fécondité relative dix fois plus faible, respectivement de $4,7 \cdot 10^3$ et $48,8 \cdot 10^3$ ovules.kg⁻¹. L'influence du milieu d'élevage et de la morphologie des poissons sur la fécondité est discutée. Bien qu'il soit possible d'obtenir deux pontes par an chez les deux espèces, la reproduction des femelles n'est généralement induite qu'une seule fois par an. La survie des ovules *in vivo* est brève chez *P. hypophthalmus*.

Chez les mâles, une injection d'hCG induit une augmentation du volume de sperme collecté chez les deux espèces. Chez *P. bocourti*, l'effet du sGnRHa (gonadotropine releasing hormone) associé à un antidopaminergique (dompéridone) est plus faible que celui de l'hCG. La production spermatique est globalement plus importante chez *P. hypophthalmus* que chez *P. bocourti*, en terme de volume de sperme collecté, atteignant respectivement 2092 et 495 µl.kg⁻¹, et de concentration en spermatozoïdes, atteignant respectivement $63,4 \cdot 10^9$ et $36,5 \cdot 10^9$ spermatozoïdes.ml⁻¹. Pour les deux espèces, le sperme dilué deux fois dans une solution d'immobilisation (NaCl 155 mM, TRIS 20 mM, pH 7) peut être conservé au frais (5-6 °C) durant 24 h sans altération de son pouvoir fécondant. La durée globale de la motilité des spermatozoïdes au contact de l'eau est inférieure à une minute et elle peut être prolongée au contact d'une solution faiblement saline. Par rapport à *P. bocourti*, le taux de fécondation chez *P. hypophthalmus* est plus sensible à la composition de la solution d'activation et à la dilution du sperme dans cette solution.

Les œufs hydratés des deux espèces sont adhésifs et ils peuvent être incubés sur claies. L'incubation en bouteille de Zoug nécessite un rinçage préalable au tanin. La durée d'incubation moyenne est de 27 h chez *P. bocourti* et de 22 h chez *P. hypophthalmus*, à une température de 26-31 °C et de 28-31 °C respectivement.