



Rapport technique

LA REPRODUCTION ARTIFICIELLE DES SALMONIDÉS INDIGÈNES

Par
Paul Grondin

Pour le
ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs

Avril 2016

*Forêts, Faune
et Parcs*

Québec 

Référence à citer

GRONDIN, Paul (2016). *La reproduction artificielle des salmonidés indigènes*, Québec, Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Direction générale de l'expertise sur la faune et ses habitats, Direction de la faune aquatique, 56 p. [Rapport technique].

© Gouvernement du Québec

Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs

Dépôt légal - Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2016

ISBN (version imprimée) : 978-2-550-75157-1

ISBN (PDF) : 978-2-550-75161-8

Avant-propos

Ce document vise à fournir l'information requise lors de la reproduction artificielle des salmonidés indigènes sur le terrain. Bien qu'il s'applique à tous les salmonidés, il concerne principalement le touladi (*Salvelinus namaycush*) et s'adresse plus particulièrement aux employés du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP). Ses objectifs sont :

- de servir d'outil de référence pour l'atteinte des objectifs des plans de reproduction et de gestion des différentes lignées de salmonidés indigènes, notamment dans le cadre du nouveau plan de gestion du touladi;
- de prendre en compte les contraintes du terrain; de présenter le matériel, les étapes et de proposer des solutions de remplacement advenant que des problèmes surviennent; de décrire des techniques pour hausser le taux de fécondation et le taux de survie des œufs récoltés;
- d'expliquer comment utiliser le traitement de l'eau et l'assainissement du matériel pour éviter le transfert d'agents pathogènes vers la station piscicole gouvernementale et pour maintenir la qualité des œufs;
- d'expliquer l'impact de la rétention et de sa durée sur la maturation sexuelle; de préciser comment utiliser l'anesthésie comme un protocole pour obtenir des prélèvements de gamètes de qualité et pour protéger la survie à long terme des reproducteurs qui seront remis à l'eau;
- de montrer comment faire des croisements entre les mâles et les femelles qui se rapprochent le plus possible des recommandations des généticiens pour maintenir le patrimoine génétique résiduel de la lignée visée; d'assurer l'optimisation de la diversité génétique selon le nombre de reproducteurs utilisé;
- de décrire les soins à apporter aux œufs sur le terrain et lors du transport;
- de faire connaître l'utilité de la microscopie pour déterminer la qualité des prélèvements de laitance lors d'une insémination différée et pour obtenir un aperçu du taux de fécondation des œufs issus des sessions de fraie artificielle;
- d'offrir de l'information à la fois spécifique de ce type d'activité du Ministère et complémentaire au regard des lignes directrices du Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) en science.

La consultation de l'ouvrage Grondin (2016) est conseillée pour approfondir la matière sur certains aspects de l'insémination différée et des dilueurs pour salmonidés.

Table des matières

Avant-propos.....	3
Table des matières	5
Liste des tableaux	7
Liste des figures	9
1. La génétique	13
1.1 Des croisements factoriels partiels pour les salmonidés.....	14
1.2 Le nombre requis de reproducteurs.....	16
1.3 Modification par rapport au précédent protocole.....	17
2. Des précautions qu'il est préférable de connaître	18
3. La désinfection de l'eau utilisée avec les gamètes et les œufs	22
4. L'assainissement du matériel utilisé avec les gamètes	24
4.1 L'assainissement du matériel avec une solution de Virkon Aquatic®	24
4.2 L'assainissement du matériel avec des iodophores.....	24
4.3 Entreposage du matériel de fraie.....	26
5. L'anesthésie de reproducteurs	27
5.1 Une solution de MS-222 tamponnée avec du bicarbonate de sodium.....	27
5.2 Le sel et le Vidalife® pour optimiser la survie des reproducteurs	28
5.3 La composition des solutions d'anesthésie et de réveil	29
5.4 Les stades de l'anesthésie et du réveil	29
6. La répartition des tâches	32
7. La reproduction artificielle présentée en 69 étapes.....	33
8. Le transport des œufs de salmonidés avec la méthode sèche	43
8.1 Les étapes d'emballage à sec des œufs.....	43
9. La microscopie en soutien à la reproduction artificielle	47
9.1 La contamination, le taux et la durée de la motilité au microscope.....	47
9.2 L'observation de la laitance.....	48
9.3 L'observation des œufs à la loupe binoculaire.....	49
9.4 La détermination du taux de fécondation	49
10. La durée de la rétention et l'induction hormonale des salmonidés.....	51
Références citées.....	53
Annexe	55

Liste des tableaux

Tableau 1.	Les différentes solutions d'assainissement et la durée respective d'immersion ou de vaporisation à respecter.....	25
Tableau 2.	Les résultats des analyses de pH de trois types d'eau de dureté croissante, pour deux concentrations de MS-222, suivant l'ajout de bicarbonate de sodium (NaHCO ₃) (Allen et Harman, 1970).....	28
Tableau 3.	Les stades de l'anesthésie des poissons (adapté de McFarland, 1959; Schoettger et Julin, 1967; Jolly, Mawdesley-Thomas et Bucke, 1972; Hikasa et coll., 1986; Keene et coll., 1998; Iversen et coll., 2003; et Kennedy, Gale et Ostrand, 2007).....	30
Tableau 4.	Une description des stades observés lors de la période de récupération des poissons dans le bac de réveil (adapté de Kennedy, Gale et Ostrand, 2007).....	31

Liste des figures

Figure 1.	Des croisements factoriels complets sont effectués pour les ovules d'une femelle de chevalier cuivré. Ceux-ci sont subdivisés en 10 lots égaux dans des plats distincts d'insémination. Chacun de ces lots est inséminé avec la laitance diluée d'un seul mâle. La laitance diluée de chacun des 10 mâles est conservée et réfrigérée dans des flacons individuels.....	13
Figure 2.	La représentation de trois types de sessions de croisements factoriels : pour des touladis de taille moyenne (A), pour une session incluant une femelle touladi de taille supérieure (B) et pour les croisements d'ombles de fontaine indigènes (C).....	15
Figure 3	Les croisements sont adaptés aux femelles touladi de taille supérieure.....	16
Figure 4.	Ces deux enclos de rétention qui sont rapprochés pour faciliter la reproduction artificielle devraient être éloignés l'un de l'autre pour réduire la spermiation nocturne lors de la période de rétention.....	18
Figure 5.	Le matériau synthétique de cet enclos a subi l'assaut de rats musqués, ce qui a entraîné la fuite de tous les reproducteurs en rétention.....	19
Figure 6.	Une roulotte de chantier sert de laboratoire lors de la reproduction artificielle du touladi dans le Bas-St-Laurent.....	20
Figure 7.	Dans la roulotte, une section désinfectée est aménagée pour manipuler les gamètes.....	20
Figure 8.	Un croquis illustrant un site de reproduction artificielle de salmonidés indigènes.....	21
Figure 9.	Ce prototype de système de désinfection de l'eau a été fabriqué par M. Sylvain Desloges selon les recommandations du présent document. Le panneau d'instruments peut être retiré du boîtier de transport et servir à traiter l'eau de la rivière Richelieu lors de la reproduction artificielle du chevalier cuivré.....	23
Figure 10.	Un bac d'eau de rinçage et un bac d'iodophores sont préparés ici avec de l'eau traitée par irradiation ultraviolette.....	26

Figure 11.	Vue du bac d’anesthésie, du système de diffusion d’oxygène et du bac de réveil lorsqu’ils sont en fonction.....	35
Figure 12.	Une innovation pour faciliter les manipulations et le transport des œufs. Dans le but de simplifier, de faciliter et de sécuriser les manipulations des œufs, la Direction régionale de l’Abitibi-Témiscamingue a conçu un tamis qui soutient les œufs au-dessus du fond de la cruche isotherme. Ce tamis s’insère dans un support rigide que l’on peut relever doucement pour vérifier la qualité lors du durcissement ou pour rapidement transférer les œufs d’une cruche isotherme à une autre lors du transport, ce qui permet d’éviter les changements d’eau. Pour toute information supplémentaire, communiquer avec M. Gaston Trépanier de la Direction régionale de l’Abitibi-Témiscamingue au gaston.trepanier@mffp.gouv.qc.ca et au 819 763-3388, poste 282.....	41
Figure 13.	Cette première claie contenant des œufs sécurisés à l’aide de coton à fromage repose sur une autre claie remplie de glace humidifiée qui se trouve au fond du contenant isotherme de transport.....	44
Figure 14.	Des œufs de touladi sont disposés dans des claies artisanales en vue du transport par méthode sèche	46
Figure 15.	Un exemple du matériel utilisé : des lames, des pics angulaires et un contenant isotherme pour le prélèvement dans le tube de centrifugeuse de 50 ml. La seringue jetable de 3 ml à embout non fileté sert à la subdivision de la laitance. Quant à la seringue filetée de 10 ml avec porte-filtre de 0,22 µm, elle sera utile pour distribuer et retirer les particules et les organismes présents dans le dilueur....	48

Liste des annexes

Annexe 1.	La désinfection de l'eau pour les œufs de chevalier cuivré	55
-----------	--	----

1. La génétique

L'objectif premier des ensemencements de repeuplement doit être de tenter de préserver et de maintenir la plus grande variabilité génétique possible de la population résiduelle lors de la reproduction artificielle (Bernatchez, 2004).

Les recommandations de ce document quant aux types de croisements à effectuer entre mâles et femelles proviennent de Bernatchez (2004, 2009), Busack et Knudsen (2007) et Campton (2004). Depuis 2004, ces recommandations sont appliquées lors des travaux sur le chevalier cuivré (*Moxostoma hubbsi*). Annuellement, le protocole de reproduction artificielle de cette espèce est sujet à des travaux de développement qui visent à améliorer les résultats de la reproduction.

Des croisements factoriels complets de $10♀ \times 10♂$ sont visés par le plan de reproduction du chevalier cuivré. Cela signifie que les ovules d'une femelle sont subdivisés en 10 lots et que chacun des 10 mâles féconde un seul de ces lots. Toutefois, la faible abondance de cette espèce se reflète sur les captures et sa vulnérabilité demande une certaine souplesse lors des croisements visés. L'objectif de $10♀ \times 10♂$ est ajusté au rythme des captures pour qu'il y ait croisement entre chacun des mâles dont la laitance diluée est disponible et viable et chacune des femelles au moment où celles-ci entrent en ovulation. L'expertise développée sur les rives du Richelieu a été exportée et adaptée aux lignées indigènes de salmonidés.

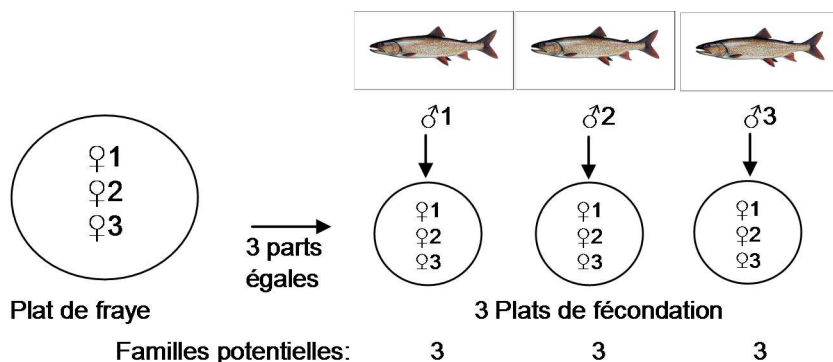


Sophie Poirier

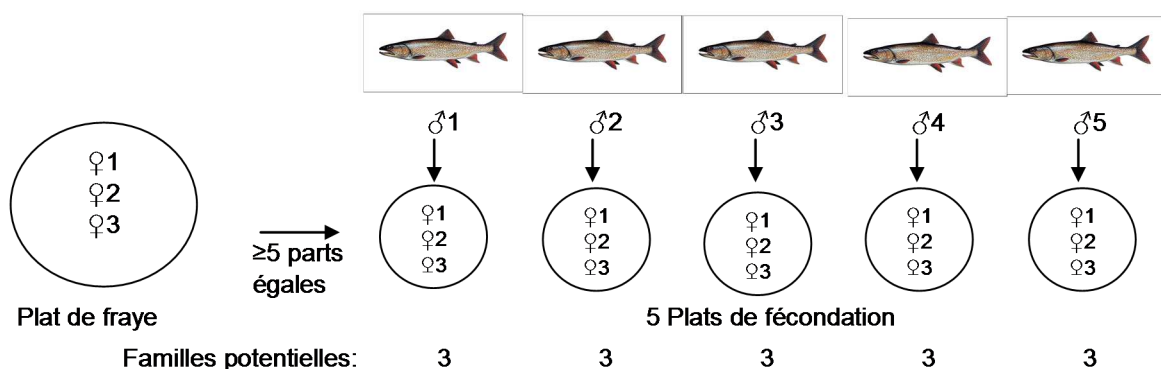
Figure 1. Des croisements factoriels complets sont effectués pour les ovules d'une femelle de chevalier cuivré. Ceux-ci sont subdivisés en 10 lots égaux dans des plats distincts d'insémination. Chacun de ces lots est inséminé avec la laitance diluée d'un seul mâle. La laitance diluée de chacun des 10 mâles est conservée et réfrigérée dans des flacons individuels.

1.1 Des croisements factoriels partiels pour les salmonidés

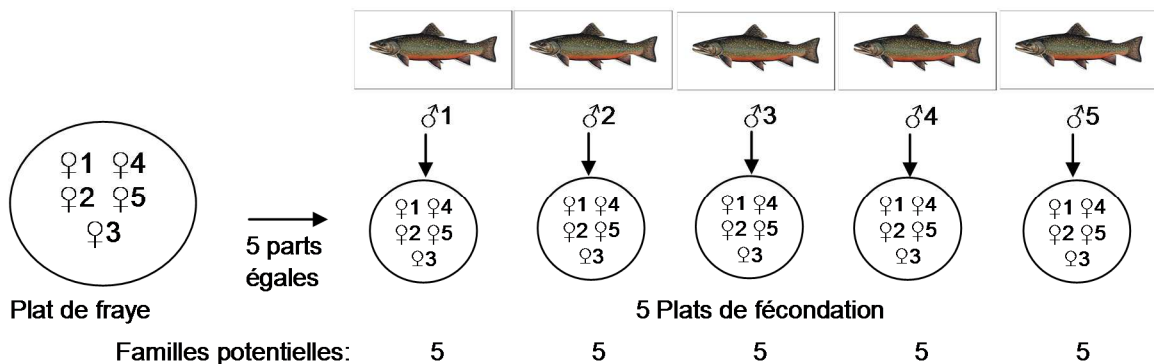
La principale recommandation pour les salmonidés sera d'augmenter le nombre de familles en effectuant des croisements factoriels partiels. Les croisements sont dits « factoriels », car des familles potentielles et distinctes sont produites en inséminant avec un seul des mâles des lots qui proviennent de la subdivision des ovules de plusieurs femelles. Les croisements sont dits « partiels », car ils sont produits en sessions d'environ trois reproducteurs de chacun des sexes. Les croisements visent à maximiser la diversité génétique des rejetons en haussant le nombre de familles produites lors de la reproduction artificielle. Cela consiste à subdiviser en deux à cinq lots de volumes égaux un plat d'ovules préalablement mélangés qui proviennent de deux à cinq femelles. Chacun de ces lots d'ovules est fécondé par un mâle unique. Advenant la malencontreuse présence d'un mâle coulant mais stérile ou dont la laitance est de mauvaise qualité, les croisements partiels par sessions permettront de protéger le bagage génétique d'une majorité d'ovules de ces femelles. Des croisements de 3♀ x 3♂ sont recommandés pour des saumons atlantiques indigènes captifs à la station piscicole (Bernatchez, 2009). La figure 2 donne en exemple trois types de sessions de croisements factoriels partiels pour les gamètes.



A- Croisements factoriels partiels pour le touladi femelle de taille moyenne.



B- Croisements factoriels partiels pour le touladi, incluant 1 femelle de taille supérieure.



C- Croisements factoriels partiels pour les ombles de fontaine indigènes.

Source des illustrations: Sentier CHASSE-PÊCHE.

Figure 2. La représentation de trois types de sessions de croisements factoriels : pour des touladis de taille moyenne (A), pour une session incluant une femelle touladi de taille supérieure (B) et pour les croisements d'ombles de fontaine indigènes (C).

1.1.1 Touladi

Les croisements de touladis de taille moyenne consistent à prélever un maximum d'un litre d'ovules dans un plat de fraie contenant les ovules d'environ trois femelles. On obtient un mélange homogène en remuant soigneusement les ovules. Ce mélange est subdivisé en trois lots ou plus de volumes égaux, dans des plats distincts d'insémination. Chaque lot sera fécondé par un mâle unique et différent. Chaque plat de fécondation contiendra alors les œufs de trois nouvelles familles potentielles ou plus, pour un total de neuf familles potentielles ou plus qui seront produites à chacune des sessions de croisements factoriels partiels de trois femelles ou plus et de trois mâles ou plus.

Les croisements factoriels partiels peuvent être adaptés aux femelles de taille supérieure. Des croisements tels $1♀ \times 3♂$ permettent de gérer le nombre élevé d'ovules d'une femelle. Ces ovules sont subdivisés et fécondés par trois mâles distincts. Le nombre de mâles disponibles doit permettre d'effectuer ce nombre de croisements. Il serait donc prudent de terminer la fraie avec les femelles de taille supérieure ou de croiser un volume élevé d'ovules de trois femelles, y compris une femelle de taille supérieure, avec un plus grand nombre de mâles, par exemple des croisements $3♀ \times 6♂$ pour six lots d'ovules inséminés par six mâles distincts.



Walter Bertacchi

Figure 3. Les croisements sont adaptés aux femelles touladi de taille supérieure

1.1.2. Omble de fontaine indigène

Pour l'omble de fontaine indigène, le nombre de femelles utilisées lors de chacune des sessions partielles doit être ajusté pour tenir compte de la taille et du nombre réduit d'ovules que produisent ces lignées. Des croisements tels que $5♀ \times 5♂$ à $7♀ \times 7♂$ sont alors privilégiés. Les ovules de cinq à sept femelles sont soigneusement mélangés, puis subdivisés en autant de lots de volumes égaux. Chacun de ces lots est ensuite inséminé par un seul mâle distinct. Une seule session de croisements factoriels partiels permet de produire de 25 à 49 familles potentielles.

1.2 Le nombre requis de reproducteurs

Pour obtenir une bonne représentativité des gènes de la population résiduelle, il est recommandé d'utiliser 30 reproducteurs, dans un ratio de 15 mâles et de 15 femelles. Ce nombre est habituellement jugé acceptable lors des croisements factoriels partiels, selon Bernatchez (2004, 2009). Cette recommandation est cependant parfois difficile à

appliquer pour certaines lignées, notamment lorsqu'il y a plusieurs écotypes au sein d'une même population, ou que l'on observe une segmentation de la période de fraie (combinaison de frayeurs hâtifs et tardifs).

Lorsque le nombre d'œufs requis par le plan de production piscicole est peu élevé, la capture d'une plus grande proportion de mâles permet d'optimiser le nombre de familles produites tout en réduisant le nombre d'œufs excédentaires. Il suffit alors d'effectuer un plus grand nombre de subdivisions des ovules dans les plats d'insémination. La production excédentaire d'œufs avec 30 reproducteurs est réduite par l'utilisation d'un rapport inégal des sexes, comme 21 mâles pour 9 femelles, soit 3 sessions de 3♀ x 7♂.

1.3 Modification par rapport au précédent protocole

Dans le précédent protocole de fraie du touladi (Grondin et Turgeon, 2004), chaque femelle était inséminée à l'aide d'un mélange réfrigéré de la laitance mélangée de deux mâles. Ce choix de croisement était justifié par des considérations d'ordre sanitaire : on réduisait ainsi la transmission d'agents pathogènes puisque le regroupement d'ovules provenant de plusieurs femelles dans un plat semblait accroître les risques de transmission verticale de certains pathogènes chez les saumons du Pacifique (Campton, 2004).

Ces considérations d'ordre sanitaire cèdent désormais la place, dans le présent rapport, à des préoccupations d'ordre génétique qui visent à maximiser la sauvegarde des gènes de la population résiduelle.

2. Des précautions qu'il est préférable de connaître

On doit prendre certaines précautions avant de procéder à la sélection du matériel et à la configuration de l'espace de travail sur le terrain.

- Lors de la rétention en lac, il est essentiel de séparer et d'éloigner les mâles des femelles. Les mâles devraient toujours être disposés en amont du courant ou des vents dominants. Cela permettrait d'obtenir une réduction de la spermiation nocturne, qui se produit lorsque les femelles sont à proximité.



Walter Bertacchi

Figure 4. Ces deux enclos de rétention qui sont rapprochés pour faciliter la reproduction artificielle devraient être éloignés l'un de l'autre pour réduire la spermiation nocturne lors de la période de rétention.

- Une période prolongée de rétention peut entraîner une réduction du volume des prélèvements de laitance. La hausse de la température de l'eau et l'avancement de la maturité sexuelle dégradent également la qualité des gamètes. Pour obtenir des gamètes de qualité, on devrait viser une courte période de rétention.
- Une contention inadéquate ou prolongée, ou les deux, peut engendrer un blocage complet du système reproducteur (*reproductive system shutdown*) pour certains individus, lignées ou espèces. Ce blocage est causé par un problème de sécrétion hormonale hypophysaire qui entraîne le ralentissement, voire l'arrêt de la maturation finale des gamètes et le dysfonctionnement sexuel parfois complet.
- Il est fortement suggéré de prendre des mesures supplémentaires pour protéger les enclos dont les parois sont fabriquées de matériau synthétique. L'ajout de

grillage métallisé sur les faces extérieures procurera une protection accrue contre les assauts, non inusités, des rats musqués.



René Isabel

Figure 5. Le matériau synthétique de cet enclos a subi l'assaut de rats musqués, ce qui a entraîné la fuite de tous les reproducteurs en rétention.

- Les gamètes ne doivent jamais être exposés aux rayons solaires, à la lumière directe du ciel et aux précipitations. On peut former un abri avec des bâches pour effectuer le prélèvement des gamètes en toute sécurité.
- Des bâches peuvent également être disposées pour créer et isoler une zone dite « désinfectée », où les gamètes sont manipulés, les croisements effectués et les soins que requièrent les œufs dispensés.
- Le matériel domestique neuf qui entre en contact avec les œufs peut être contaminé par des produits chimiques utilisés lors de sa fabrication. Ce matériel doit être trempé, lavé, rincé et asséché avant d'être utilisé avec les gamètes.
- Un bac en plastique alimentaire muni d'un couvercle peut être utilisé pour conserver une réserve d'eau désinfectée. Ce bac doit comporter une entrée pour l'eau qui provient du système de traitement de l'eau et un trop-plein si le système de désinfection est laissé en marche lors des opérations.
- Trois autres bacs peuvent s'ajouter pour l'assainissement du matériel. Un premier est utilisé pour le trempage du matériel souillé, un deuxième contient la solution désinfectante, alors qu'un dernier bac permet de rincer le matériel désinfecté.



Walter Bertacchi

Figure 6. Une roulotte de chantier sert de laboratoire lors de la reproduction artificielle du touladi dans le Bas-Saint-Laurent.



Walter Bertacchi

Figure 7. Dans la roulotte, une section désinfectée est aménagée pour manipuler les gamètes.

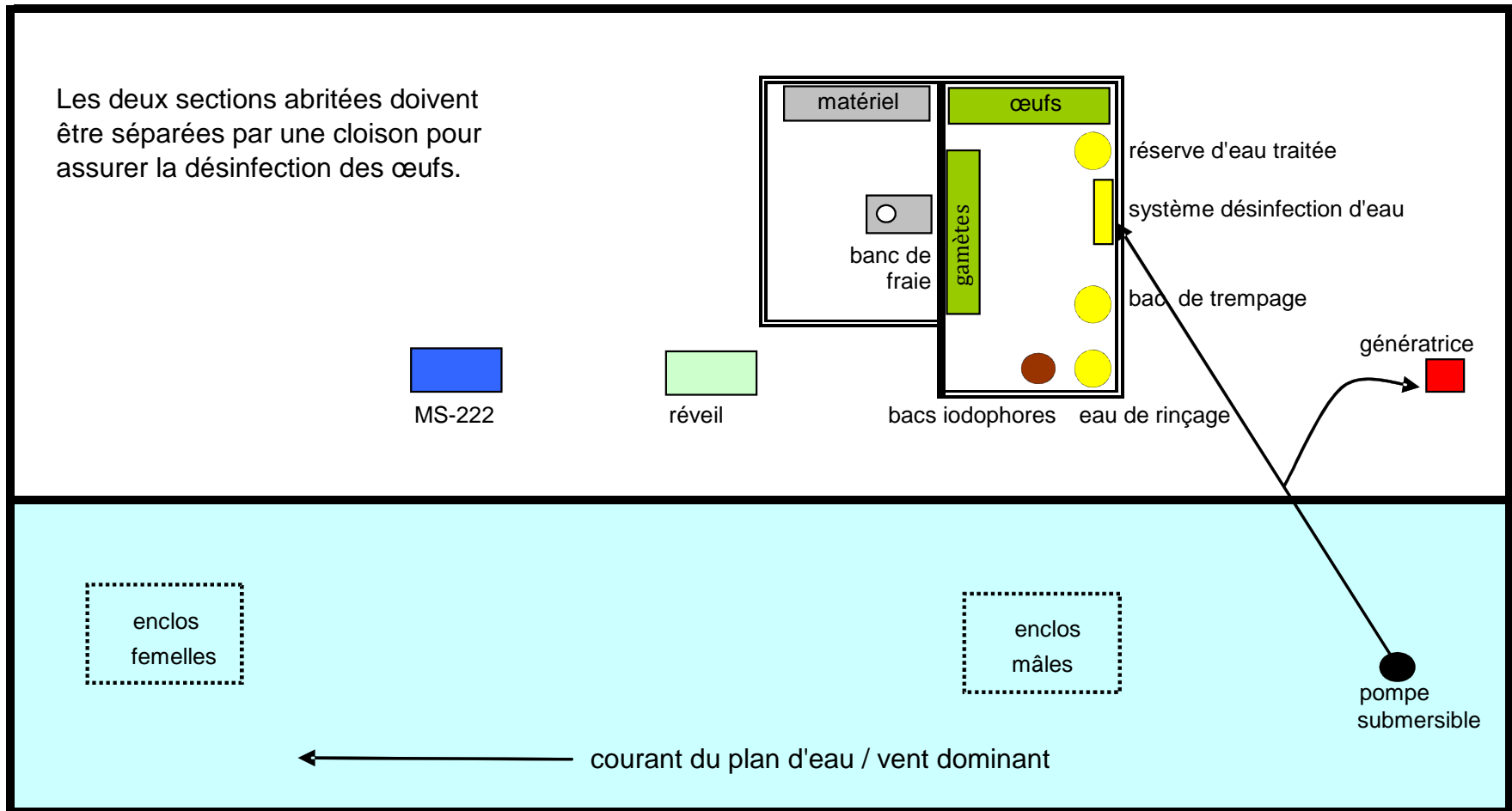


Figure 8. Un croquis illustrant un site de reproduction artificielle de salmonidés indigènes.

3. La désinfection de l'eau utilisée avec les gamètes et les œufs

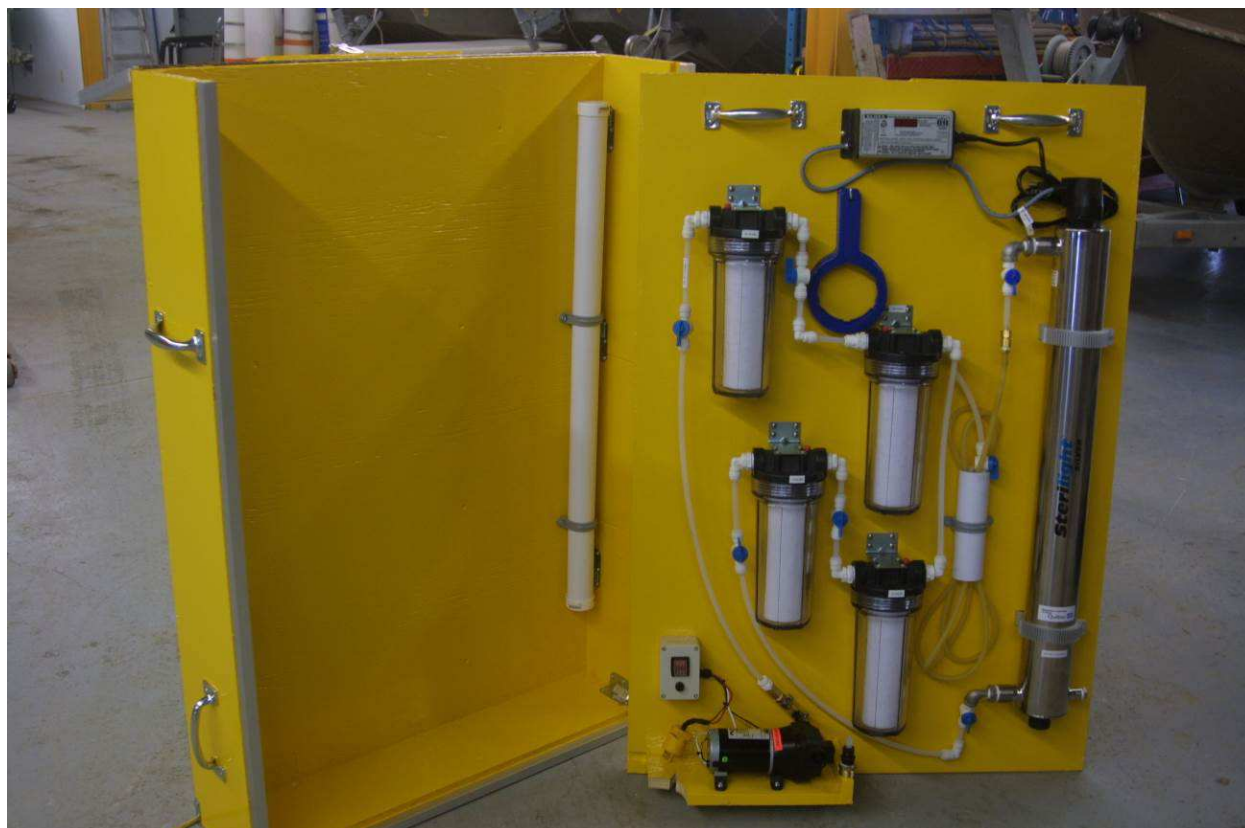
Un système de filtration et d'irradiation de l'eau est requis pour diminuer le risque de transfert d'agents pathogènes depuis le site de reproduction artificielle vers la station piscicole. Pour retirer les larves de la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) et de la moule quagga (*D. rostriformis bugensis*), une filtration à 25 µm ou moins est requise. Puis, une unité d'irradiation ultraviolette de l'eau (UV) fournissant une intensité effective de 40 000 µW-sec/cm² permet d'inactiver le virus de la septicémie hémorragique virale (SHV). Les œufs qui proviennent des poissons du bassin versant du Saint-Laurent ou d'un plan d'eau contaminé par la SHV doivent être durcis dans une solution d'Ovadine® après l'insémination, au début de leur période de gonflement (MRN Ontario, 2011). Par contre, un niveau plus élevé d'irradiation, soit 330 000 µW-sec/cm², est requis pour inactiver le virus de la nécrose pancréatique infectieuse (Maisse et Dorson, 1982).

L'annexe 1 décrit le matériel utilisé pour monter le système de traitement illustré à la figure 9. L'unité UV fournit un niveau d'irradiation de plus de 400 000 µW-sec/cm² lorsque le débit est restreint à quatre litres par minute. La puissance de la lampe ultraviolette de 40 watts bonifie cette intensité. Ce surdosage permet de compenser un niveau accru de matières dissoutes ou de coloration de l'eau sur le site de fraie. L'ajustement du débit de l'unité UV est effectué avec une règle de trois à l'aide des spécifications du fabricant (Turgeon, 2000). Ainsi, un appareil qui irradie à 36 000 µW-sec/cm² à un débit de 7,6 litres par minute pourra voir son débit réduit à 0,68 litre par minute pour produire une irradiation de 400 000 µW-sec/cm² selon :

$$Q \times 400\,000 = 7,6 \times 36\,000$$
$$Q = 0,68 \text{ litre par minute}$$

Pour assurer l'irradiation complète de l'eau qui transite dans l'unité UV, on doit préalablement retirer par filtration les particules et les organismes de plus de 10 µm. À cet effet, on emploie quatre cartouches contenant des filtres de tailles décroissantes, utilisées généralement pour la filtration domestique de l'eau. En fonction des matières dissoutes à retirer, ces cartouches peuvent être montées en parallèle ou en série. À titre d'exemple, des filtres de 50, 30, 20 et 5 µm montés en série peuvent rendre translucide l'eau très turbide de la rivière Richelieu.

Selon la configuration du site, une pompe submersible peut alimenter le système de désinfection de l'eau. Des poteaux métalliques retiennent dans ce cas le boyau, la pompe submersible et sa crépine, ainsi que la rallonge électrique branchée à la génératrice. Lorsque le système est mis en fonction, l'eau est d'abord rejetée durant une dizaine de minutes (annexe 1). Cette eau peut être récupérée pour remplir les bacs d'anesthésie et de réveil. Après cette purge, on peut rincer et remplir les bacs et les cruches isothermes utilisés lors des sessions de fraie. Un bac est également employé comme réserve d'eau irradiée. Le système peut demeurer en fonction lors des sessions de fraie, ce qui assure un approvisionnement constant en eau adéquatement désinfectée.



Sylvain Desloges

Figure 9. Ce prototype de système de désinfection de l'eau a été fabriqué par M. Sylvain Desloges selon les recommandations du présent document. Le panneau d'instruments peut être retiré du boîtier de transport et servir à traiter l'eau de la rivière Richelieu lors de la reproduction artificielle du chevalier cuivré.

Parfois, un système de traitement d'eau n'est pas requis, puisque la direction régionale s'approvisionne directement en eau à la station piscicole. Cette méthode représente toutefois un danger de contamination croisée entre le matériel d'ensemencement utilisé pour transporter l'eau et les œufs. Elle requiert par conséquent plus de connaissances en microbiologie et d'expertise en assainissement. Ce mode d'approvisionnement en eau demeure sous la supervision et l'entière responsabilité du gestionnaire de la station piscicole qui l'autorise.

4. L'assainissement du matériel utilisé avec les gamètes

Comme pour la désinfection de l'eau, l'assainissement du matériel permet de réduire la transmission d'agents pathogènes du site de reproduction artificielle vers les œufs et la station piscicole. Cette section décrit la préparation du matériel qui sera utilisé avec les gamètes, ainsi que les méthodes pour désinfecter les engins de capture et l'équipement souillé par les reproducteurs. Le Virkon Aquatic[®], la Wescodyne[®] et la solution de povidone Provioline[®] sont tous des produits qui possèdent les qualités requises pour désinfecter le matériel utilisé avec la faune aquatique. Avant de procéder à l'assainissement de ce dernier, il faut bien nettoyer les résidus de matières organiques qui s'y trouvent. L'équipement qui comporte des souillures organiques séchées requiert une période supplémentaire de trempage avant d'être lavé à l'aide d'un détergent approprié, rincé, puis assaini. Sur le terrain, l'eau traitée par le système est utilisée à toutes ces étapes.

4.1 L'assainissement du matériel avec une solution de Virkon Aquatic[®]

Le Virkon Aquatic[®] possède un large spectre d'interaction et est utilisé à titre de virucide, de bactéricide et de fongicide. La méthode habituelle d'assainissement requiert une immersion de 10 min dans une solution qui contient 1 % p/v de Virkon Aquatic[®], qu'on obtient par l'addition de 10 g du produit par litre d'eau traitée (tableau 1).

Bien que coûteux, le Virkon Aquatic[®] présente l'intérêt de se dégrader rapidement. On peut donc s'en départir en le versant directement sur le sol, à raison de 2 L de solution 1 % usée par m² de sol, tel que le recommande Brandan, une firme de biosécurité du Royaume-Uni.

4.2 L'assainissement du matériel avec des iodophores

Les iodophores sont des solutions désinfectantes dont la substance active est l'iode. Ces solutions sont utilisables à la température du plan d'eau. La Wescodyne[®] contient 1,6 % d'iode actif, alors que la Provioline[®] n'en compte que 1 %. Il faut prendre garde de ne pas induire des effets toxiques en utilisant une version de ces produits qui renfermerait un détergent. Leurs fiches signalétiques indiquent qu'ils ne contiennent aucun ingrédient dangereux, ce qui constitue un incitatif à l'emploi des iodophores. En effet, pour assurer la santé et la sécurité au travail, on doit sélectionner, parmi des produits d'efficacité semblable, celui qui est le moins toxique pour les travailleurs.

Si l'iode est un excellent antiseptique, il peut toutefois être très toxique pour les poissons. C'est pourquoi la solution usée d'iode doit être neutralisée avant d'être rejetée. Pour ce faire, on y ajoute du thiosulfate de sodium anhydre, dans un ratio de 1 pour 1 (100 mg/L de neutralisant pour une solution usée de 100 mg/L d'iode). La décoloration complète de

la solution témoin de la neutralisation de l'iode. La simplicité de cette neutralisation est un autre incitatif en faveur des iodophores.

Une solution d'immersion doit contenir 100 mg ou plus d'iode actif par litre d'eau traitée. Une durée d'immersion égale ou supérieure à 10 min permet d'atteindre le niveau adéquat d'assainissement. La solution contenue dans un bac est disponible lors des opérations de reproduction artificielle. Le boyau du système de traitement d'eau ou un second bac d'eau irradiée facilite le rinçage du matériel après la période d'assainissement.

L'assainissement par vaporisation d'iodophores permet de désinfecter les mains, les vêtements et le matériel plus volumineux. La solution de vaporisation doit contenir 250 mg ou plus d'iode actif par litre d'eau traitée. Pour ce mode d'assainissement, le mouillage complet du matériel doit être maintenu par la vaporisation des surfaces durant 30 s ou plus (tableau 1).

Tableau 1. Les différentes solutions d'assainissement et la durée respective d'immersion ou de vaporisation à respecter

Solution d'immersion de 1,0 % p/v de Virkon Aquatic®	10 g de Virkon Aquatic® par litre d'eau traitée	Immersion d'au moins 10 min
Solution d'immersion de 100 mg/l d'iode actif	6,25 ml de Wescodyne® ou 10 ml de Proviodyne® 1 % par litre d'eau traitée	Immersion d'au moins 10 min
Solution à vaporiser de 250 mg/l d'iode actif	15,63 ml de Wescodyne® ou 25 ml de Proviodyne® 1 % par litre d'eau traitée	Avec un vaporisateur Mouillage complet pendant au moins 30 s



Walter Bertacchi

Figure 10. Un bac d'eau de rinçage et un bac d'iodophores sont préparés ici avec de l'eau traitée par irradiation ultraviolette.

4.3 Entreposage du matériel de fraie

Pour éviter d'avoir à désinfecter le matériel au début des travaux, il est recommandé, après la fraie, de laver l'équipement, de le sécher, de l'emballer et de le ranger au sec, à l'écart du matériel de terrain contaminé. Lors de la fraie de l'année suivante, ce matériel pourra alors être utilisé tel quel, à la sortie de son emballage.

5. L'anesthésie de reproducteurs

Le méthanesulfonate de tricaïne (MS-222 ou TMS ou mésylate de tricaïne) est le seul anesthésique utilisé par balnéation qui est actuellement homologué pour un usage vétérinaire au Canada. L'utilisation du MS-222 requiert une période de retrait de 21 jours des poissons qui ont été anesthésiés durant laquelle ceux-ci ne peuvent être consommés. Cette période peut toutefois inclure une remise à l'eau immédiate si la pêche de l'espèce anesthésiée est interdite au cours des 21 jours suivant la relâche.

Le dosage du MS-222 est ajusté pour que l'anesthésie ou le réveil des spécimens se produise trois à quatre minutes après leur immersion dans la solution anesthésiante ou de réveil. Lors d'une nouvelle utilisation, pour un nouveau plan d'eau ou une nouvelle lignée, il faut procéder à des tests biologiques sur deux mâles, puis sur deux femelles. Il faut toujours valider l'innocuité et déterminer l'efficacité de la dose sélectionnée, qui se situe entre 60 et 80 mg/l pour des reproducteurs matures. La dose appropriée peut varier quelque peu selon l'espèce, sa taille et certains paramètres physicochimiques de l'eau, dont la température. Le touladi serait reconnu pour nécessiter une concentration élevée de MS-222, tout en ne tolérant qu'une courte exposition. Pourtant, dans la région de l'Outaouais, on n'utilise qu'une concentration de 60 mg/l à une température moyenne de l'eau de 12 °C (Houde, Beaudoin et Corbeil, 2011).

Bien que des auteurs s'accordent à dire que l'eugénol, c'est-à-dire la molécule qui compose entre 85 et 95 % de l'huile de girofle, soit une solution de rechange sûre au MS-222, le choix de tout autre anesthésique non homologué, dont l'huile de girofle et l'eugénol, demeure sous l'unique responsabilité de l'utilisateur.

Le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) établit de nombreuses lignes directrices qui s'appliquent aux anesthésiques pour les poissons et que l'on peut consulter à l'adresse suivante :

http://www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Poissons_Anesthesie.pdf.

5.1 Une solution de MS-222 tamponnée avec du bicarbonate de sodium

Le MS-222 tend à acidifier la solution, dont la valeur sera liée au pH initial et à la capacité tampon de l'eau utilisée. La lecture du pH permet de connaître la quantité de bicarbonate de sodium (NaHCO_3) requise pour compenser cette acidification. En l'absence d'un pH-mètre, le fabricant Syndel[®] recommande, dans la majorité des situations, d'incorporer une quantité de NaHCO_3 équivalant au double du poids du MS-222 dissous. Le tableau 2 présente les résultats des analyses de pH effectuées après l'ajout de NaHCO_3 selon cette recommandation à trois types d'eau de dureté différente (Allen et Harman, 1970).

Tableau 2. Les résultats des analyses de pH de trois types d'eau de dureté croissante, pour deux concentrations de MS-222, suivant l'ajout de bicarbonate de sodium (NaHCO_3) (Allen et Harman, 1970)

Eau		Solution anesthésiante			
Dureté (mg/l)	pH	non tamponnée		tamponnée	
		MS-222 (mg/l)	pH	NaHCO_3 (mg/l)	pH
12	8	50	6,5	100	7,4
		100	5,7	200	7,3
52	8,2	50	6,6	100	7,3
		100	6,1	200	7,2
160	8,4	50	7,4	100	7,6
		100	7,0	200	7,5

5.2 Le sel et le Vidalife® pour optimiser la survie des reproducteurs

L'état de santé des reproducteurs dont le statut est précaire doit être maintenu jusqu'à leur remise à l'eau. Lors de l'anesthésie, il est souhaitable de traiter le stress accumulé depuis la capture, la période de rétention, les manipulations, et qui culmine avec l'extraction des gamètes. Le mécanisme du stress entraîne d'importantes pertes osmotiques, notamment par les branchies. Pour réduire ces pertes, on ajoute du sel (NaCl) non iodé aux bacs d'anesthésie et de réveil. Le gros sel à marinade est non iodé, sans additifs et vendu en petites boîtes ou encore en poches par certaines coopératives agricoles. Les salmonidés se rencontrent généralement en eau très douce, ce qui fait qu'une concentration aussi faible que trois à cinq grammes de NaCl par litre d'eau est très efficace.

Un second produit, le Vidalife®, de Syndel, est ajouté à l'eau pour protéger la couche de mucus et les branchies des reproducteurs. Ce produit s'utilise à une concentration de 1 ml pour 15 litres d'eau lors de l'anesthésie et du réveil. Il permet aussi de créer une mince couche protectrice sur les puces qui auront été immergées dans une solution plus concentrée de 10 ml de Vidalife® pour 10 litres d'eau. Quant au Vidalife® concentré, il peut être vaporisé directement sur les surfaces de travail ou les planches à mesurer.

5.3 La composition des solutions d'anesthésie et de réveil

Une solution d'anesthésie typique se compose de :

- MS-222 (méthanesulfonate de tricaine), 70 mg/l (60-80 mg/l);
- NaHCO₃ (bicarbonate de sodium), comme tampon, 150 mg/l ou le double de la quantité de MS-222 dissous;
- NaCl ou gros sel (non iodé et sans additifs), 3 à 5 g/l, pour réduire les pertes osmotiques dues au stress;
- Vidalife®, 1 ml pour 15 litres d'eau, pour la protection du mucus et des branchies;
- l'eau du plan d'eau.

Une solution de réveil typique se compose de :

- NaCl ou gros sel (non iodé et sans additifs), 3 à 5 g/l, pour réduire les pertes osmotiques dues au stress;
- Vidalife®, 1 ml pour 15 litres d'eau, pour la protection du mucus et des branchies;
- l'eau du plan d'eau.

5.4 Les stades de l'anesthésie et du réveil

Le tableau 3 présente une synthèse des étapes de l'anesthésie (stade 5) des poissons utilisés pour la reproduction artificielle.

Tableau 3. Les stades de l'anesthésie des poissons (adapté de McFarland, 1959; Schoettger et Julin, 1967; Jolly, Mawdesley-Thomas et Bucke, 1972; Hikasa et coll., 1986; Keene et coll., 1998; Iversen et coll., 2003; et Kennedy, Gale et Ostrand, 2007)

STADES DE L'ANESTHÉSIE DES POISSONS		
0	Normal	Réaction à un stimulus externe, rythme operculaire et tonicité normaux.
1	Sédation légère	Faible perte de la réaction aux stimuli visuels ou tactiles externes. Respiration à peine ralentie. Équilibre normal.
2	Sédation profonde	Aucune réaction aux stimuli externes, sauf à une forte pression. Légère perte de l'équilibre et ralentissement du rythme respiratoire.
3	Perte partielle de l'équilibre	Le poisson est habituellement sur le dos, mais peut toujours nager de façon erratique. Tonicité amoindrie.
4 ¹	Perte totale de l'équilibre	Perte totale de l'équilibre et de la tonicité. Le poisson ne peut plus nager, mais répond à une pression du pédoncule caudal. Respiration lente, mais régulière.
5 ²	Perte totale des réflexes (anesthésie)	Perte totale des activités réflexes. Aucune réponse ou réponse très atténuée aux stimuli externes forts. Respiration lente et irrégulière.
Mort	Collapsus médullaire	Asphyxie et arrêt des mouvements respiratoires. L'arrêt cardiaque suit.

¹ Bien que le stade 4 soit acceptable pour le prélèvement des gamètes lors de la reproduction artificielle, le stade 5 doit être atteint pour un prélèvement de laitance qui sera conservé pour des inséminations différées.

² Si le stade 5 est dépassé ou si une femelle qui a pondu présente un problème au réveil, il faut tenter de réanimer manuellement le spécimen dans le bac de réveil. Lorsque les mouvements respiratoires semblent absents, retenir le pédoncule caudal, puis agiter doucement le spécimen dans un mouvement de va-et-vient pour recréer une légère circulation à la surface des branchies. L'autre main peut être disposée sous l'abdomen. Si le dépassement de la durée de balnéation n'est pas en cause, réduire la dose d'anesthésiant pour le prochain spécimen.

Le tableau suivant présente les étapes observées lors du réveil des poissons anesthésiés.

Tableau 4. Une description des stades observés lors de la période de récupération des poissons dans le bac de réveil (adapté de Kennedy, Gale et Ostrand, 2007)

STADES DE RÉVEIL DES POISSONS	
1	Réapparition d'un rythme operculaire
2	Recouvrement partiel de l'équilibre accompagné de mouvements de nage
3	Recouvrement complet de l'équilibre
4	Réapparition des mouvements de nage de fuite et réaction aux stimuli externes. Le comportement du poisson demeure toutefois impassible.
5	Recouvrement total du comportement et de la capacité de nage, ce qui permet la remise à l'eau du spécimen

6. La répartition des tâches

Lors de la reproduction artificielle des salmonidés, il faut compter sur un minimum de quatre travailleurs, mais préférablement cinq, pour effectuer l'ensemble des tâches. De ce nombre, un ou deux employés demeureront assainis et seront alors qualifiés de « désinfectés ».

Voici un exemple de la répartition des tâches lors de la reproduction artificielle :

- Deux employés « contaminés » procèdent au transfert, à l'anesthésie et au rinçage des reproducteurs. Selon les besoins régionaux, ils consignent les données biologiques des reproducteurs sur les fiches de terrain avant de procéder aux remises à l'eau.
- Un troisième employé « contaminé » effectue le prélèvement des gamètes et collabore aux tâches des deux employés précédents.
- Le quatrième employé, dit « désinfecté », est celui qui possède le plus d'expertise sur la reproduction des poissons. Il contrôle l'assainissement du matériel. Il supervise le prélèvement des gamètes, qu'il manipule, mélange et subdivise. Il contrôle également les étapes d'insémination des ovules. Il vérifie la qualité des œufs et s'assure qu'ils n'adhèrent pas les uns aux autres. Il voit aux rinçages et au suivi du durcissement des œufs des différentes sessions.
- Un cinquième employé, lui aussi « désinfecté », secondera le précédent, ce qui n'est pas superflu vu le nombre et la complexité des tâches liées à la multitude de croisements à effectuer pour certains plans de reproduction. Cet employé remplira les fiches de terrain.
- Un des employés « désinfectés » assure le nettoyage des œufs, procède à leur préparation pour le transport et participe au rangement du matériel ayant servi aux gamètes.
- Ses collègues vont nettoyer, démonter et ranger le matériel contaminé de capture, de rétention, d'anesthésie et de fraie, en vue du retour au bureau.

7. La reproduction artificielle présentée en 69 étapes

La préparation

1. Fabriquer de la glace avec de l'eau non chlorée de qualité, pour la reproduction artificielle et le transport. Congeler également la glacière utilisée pour transporter cette glace. La congélation des contenants de transport à sec des œufs est aussi possible.
2. Procéder au trempage et au lavage du matériel neuf qui entre en contact avec les œufs. Effectuer le lavage et l'assainissement du matériel souillé. Emballer le matériel séché pour le protéger et pour ne pas le souiller sur le terrain.
3. Lors de la période de rétention, garder les mâles et les femelles dans des enclos distincts. Autant que possible, les mâles doivent être disposés en amont du courant et les deux sexes, éloignés l'un de l'autre.
4. Réduire le plus possible la période de rétention, car la qualité des gamètes se dégrade parfois selon la durée de garde en captivité.
5. Utiliser un véhicule réservé exclusivement au transport du matériel désinfecté de la reproduction artificielle, de l'eau désinfectée pour les gamètes et des contenants d'œufs vers la station piscicole. Ce véhicule peut être muni d'un bac isotherme dans lequel une réserve d'eau désinfectée est conservée pour les besoins de la fraie ou pour le transport vers la station piscicole. Ce bac isolé doit être équipé d'une valve de sortie et d'un boyau qui facilitent la distribution de l'eau traitée.
6. Traiter l'eau des contenants isothermes des œufs de préférence le matin pour que sa température soit légèrement inférieure à celle de l'eau qui serait puisée à la fin d'une journée ensoleillée. Pour éviter les chocs thermiques, il est recommandé de ne pas tolérer d'écarts de température qui dépassent 2 °C lors des différents changements d'eau. Autrement, la durée du changement d'eau devra être prolongée pour respecter des paliers de 2 °C.
7. Sur le site de fraie, protéger la zone dite « désinfectée » avec un abri et des bâches. Cette zone doit être à l'écart du matériel et des employés souillés par les reproducteurs et l'équipement associé. Les gamètes y sont alors manipulés en sécurité et à l'abri des éclaboussures et de la lumière vive extérieure.
8. Employer un système de désinfection de l'eau comprenant le pompage, la filtration, l'irradiation avec UV et une réserve dans un bac recouvert servant à l'approvisionnement lors des opérations de reproduction artificielle. Mettre ce système en marche et rejeter l'eau pendant une dizaine de minutes. L'eau traitée est utilisée avec tout ce qui entre en contact avec les gamètes, soit pour remplir le réservoir, les bacs, les cruches isothermes de 23 litres ainsi que pour rincer, durcir et transporter

les œufs. Un robinet installé sur le boyau d'eau traitée permet le rinçage du matériel souillé et du matériel désinfecté.

9. Préparer le dilueur d'insémination avec l'eau traitée et maintenir la solution à la température du plan d'eau (température des gamètes).

Les dilueurs pour salmonidés sont utilisés pour optimiser la conservation de la laitance réfrigérée, pour en prolonger la viabilité, pour récupérer la laitance d'un prélèvement contaminé ou encore pour favoriser la hausse du taux de fécondation (voir Grondin 2016)

10. Protéger les gamètes de la contamination, des intempéries et de la lumière extérieure avec un toit.

L'assainissement du matériel

11. Lors des opérations, respecter une certaine discipline pour éviter la contamination et maintenir le matériel et les mains souillés à l'écart de la réserve d'eau traitée et de l'équipement propre aux gamètes.
12. Éviter de laisser sécher le matériel souillé par de la matière organique, car il ne pourra être simplement rincé.
13. Accorder une attention immédiate au matériel souillé. Celui-ci doit être immergé dans un bac prévu à cet effet ou subir un rinçage sous le robinet d'eau traitée avant d'être assaini.
14. Respecter la méthode habituelle d'assainissement, qui demande une immersion de 10 min ou plus dans une solution qui contient 100 mg/l ou plus d'iode actif. Pour le matériel plus volumineux, les vêtements et les mains, la vaporisation d'une solution de 250 mg/l ou plus d'iode actif est indiquée. En outre, il faut maintenir les surfaces entièrement mouillées durant au moins 30 s.

L'anesthésie

15. Au laboratoire, pré-peser le MS-222, le bicarbonate de sodium et le sel dans des flacons étanches. La concentration suggérée est de 70 mg de MS-222 par litre, mais pourrait varier entre 60 et 80 mg/l.
16. À l'aide d'un crayon-feutre indélébile, tracer les lignes indiquant le niveau des solutions sur les parois des bacs et y inscrire le ou les volumes correspondants. Deux bacs pouvant contenir chacun 200 litres de solution pour le touladi ou environ

100 litres pour l'omble de fontaine sont requis pour l'anesthésie et le réveil des reproducteurs.

17. Aménager un espace pour effectuer l'anesthésie et le réveil des reproducteurs. Afin de réduire le réchauffement, protéger les bacs de solution des rayons du soleil. Par contre, l'interaction qui existe entre l'eau de mer, le soleil et le MS-222 est moins préoccupante en eau douce.
18. Verser 150 mg/l de bicarbonate de sodium, soit le double de la quantité totale de MS-222 diluée, pour tamponner la solution du bac d'anesthésie rendue acide par l'ajout de l'anesthésiant. Pour réduire les effets du stress, ajouter de trois à cinq grammes de sel par litre d'eau et 1 ml de Vidalife® par 15 litres d'eau.
19. Installer un système qui diffuse l'oxygène d'une bonbonne ou un compresseur qui fournit de l'air comprimé pour maintenir le taux de saturation de l'oxygène de l'eau des deux bacs.



Walter Bertacchi

Figure 11. Vue du bac d'anesthésie, du système de diffusion d'oxygène et du bac de réveil lorsqu'ils sont en fonction.

20. Anesthésier les reproducteurs jusqu'au stade 4, et de préférence au stade 5 pour limiter la perte de gamètes, les blessures, et pour l'insémination différée. De trois à

quatre minutes sont requises pour entraîner la perte de la tonicité, qui correspond à ces stades (tableau 4).

21. Lors d'une nouvelle utilisation du MS-222, pour une nouvelle lignée ou un nouveau plan d'eau, procéder à des tests biologiques. Commencer avec une solution de 70 mg de MS-222 par litre d'eau. Anesthésier consécutivement deux mâles, puis deux femelles. Pour le premier spécimen, le stade 4 puis le 5 devraient être atteints en trois à quatre minutes. Le réveil devrait quant à lui se faire en moins de cinq minutes (trois à quatre minutes). Augmenter le temps de balnéation du second spécimen en le laissant dans le MS-222 de 10 à 15 min supplémentaires après l'atteinte des stades 4 et 5. Procéder ensuite à son réveil.
22. Augmenter la dose initiale lorsque le stade 5 n'est pas atteint après quatre à cinq minutes d'immersion. Hausser la dose par paliers d'environ 10 mg/l de MS-222.
23. Réduire la dose lorsque l'anesthésie (stade 5) est trop rapide. Ajouter de l'eau par paliers qui n'excèdent pas 10 % du volume initial de la solution anesthésiante. Une réduction ou une limitation de la durée de balnéation peut également atténuer les réveils ardues.
24. Puiser les spécimens d'un seul mouvement constant.
25. Rincer les résidus de MS-222 présents à la surface des reproducteurs en les immergeant dans le plan d'eau.

Le prélèvement des œufs

Lors d'une insémination différée prélever et réfrigérer la laitance des mâles (étape 45) avant de commencer l'extraction des ovules (voir Grondin 2016).

26. Déterminer, avant le début de la reproduction artificielle, les croisements de gamètes qui serviront à produire le nombre d'œufs requis pour le plan de production. Ces croisements sont ajustés selon le niveau de maturation sexuelle des captures, leur nombre, leur taille et le rapport des sexes.
27. Toujours manipuler les reproducteurs de manière à réduire la perte de gamètes, soit en maintenant le pédoncule caudal vers le haut lors de toutes les manipulations. Atteindre le stade de l'anesthésie est également primordial pour réduire les pertes associées à un spécimen qui se débat lors du prélèvement.
28. Pour les employés qui manipulent les reproducteurs ou qui extraient les gamètes, éviter d'entrer en contact avec le plat de fraie, les gamètes ou le matériel de la section désinfectée.

29. **Toujours jeter les gants entre deux manipulations de reproducteurs** afin d'éviter la transmission de pathogènes : on évite beaucoup de contaminations quand on assume d'emblée que les produits sexuels sont infectés.
30. Éviter que l'eau et les souillures n'entrent en contact avec les gamètes. Affecter un ou deux employés exclusivement aux manipulations entourant les gamètes et le matériel désinfecté.
31. Éponger les reproducteurs avant le prélèvement à l'aide de feuilles d'essuie-tout. L'employé « désinfecté », muni de gants jetables, maintient le plat de fraie à l'écart des souillures. Puis, il éponge la région abdominale et les nageoires du spécimen, sans oublier les mains de l'employé qui procède au prélèvement. La main gauche du préleveur maintient, avant l'extraction, le pédoncule caudal vers le haut. La tête et l'abdomen du reproducteur sont quant à eux maintenus entre l'avant-bras droit, le ventre et la cuisse droite de l'employé.
32. Abaisser lentement la queue en direction du plat de fraie, qui est toujours légèrement maintenu en retrait pour éviter qu'il recueille un surplus de liquide ovarien, parfois associé à des coquilles et à des ovules qui sont post-ovulés ou rompus. Une fois l'abaissement de la queue amorcé, le flot d'ovules sains débute parfois rapidement et sans pression, et s'écoule librement dans le plat de fraie.
33. Pour extraire la totalité des ovules, exercer une pression abdominale avec le pouce droit. Cette pression débute entre les nageoires pectorales et se poursuit jusqu'entre les nageoires pelviennes. Par la suite, repositionner la queue de la femelle vers le haut, perpendiculairement. Appliquer un mouvement ondulatoire au poisson pour favoriser la descente des ovules résiduels vers le pore urogénital. Abaisser de nouveau la queue pour que les ovules soient expulsés par pression abdominale. Répéter les manipulations, au besoin, afin d'extraire l'ensemble des ovules.
34. Ne pas forcer, en aucune circonstance, l'extraction chez une femelle dont les ovules ne s'écoulent pas ou dont la paroi abdominale ne semble pas complètement ramollie. Seule une pression abdominale raisonnable doit être utilisée pour valider l'ovulation.
35. Noter qu'une paroi abdominale entièrement ramollie représente la principale caractéristique d'une femelle en ovulation. L'absence d'écoulement d'ovules, dans ce cas, peut se résoudre par quelques pincements du pouce et de l'index au niveau du pore urogénital visant à débloquent l'orifice. Des débris de membrane provenant de la résorption d'ovules de l'année précédente forment parfois un amas qui bouche l'ouverture du pore urogénital.
36. Éviter de contaminer le plat de fraie et les ovules avec de l'eau, du limon, des éclaboussures ou la pluie. Le plat de fraie ne doit pas recevoir plus d'un litre d'ovules. Le nombre de femelles nécessaires pour produire un plat d'ovules varie selon la taille et l'espèce. L'employé désinfecté conseille celui qui procède à l'extraction des gamètes.

37. Il n'y a aucune urgence à inséminer les ovules, tant qu'ils ne subissent pas d'écart thermique important, qu'il n'y a pas de risque de gel ou qu'ils n'ont pas été fortement contaminés par l'eau lors du prélèvement.
38. Transférer le plat d'ovules dans la zone décontaminée.

Une contamination importante des ovules par l'eau doit être rapidement neutralisée par un rinçage et un déversement rapide de dilueur d'insémination tempéré au plan d'eau (voir Grondin 2016).

39. Enfiler un gant jetable et descendre la main jusqu'au fond du plat en gardant les doigts entrouverts, comme s'ils tenaient une balle. Toujours maintenir les doigts en contact avec le fond du plat pour mélanger les ovules sans les endommager.
40. Incliner un bécher de pharmacien d'un litre avec graduation tous les 20 ml. Verser les ovules lentement afin de réduire les chocs. Laisser décanter, puis noter le volume total d'ovules.
41. Retirer tout surplus de liquide ovarien. Puis, à l'aide d'un cylindre gradué en verre de taille appropriée, procéder à la subdivision des ovules en autant de lots de volumes égaux que le nombre de mâles qui seront utilisés pour la fécondation lors de cette session. Un cylindre en plastique favorise l'adhésion des œufs à sa surface.
42. Verser chaque lot d'ovules dans un plat individuel en vue de l'insémination. Les plats de fécondation d'un volume de 500 à 1000 ml sont en polyéthylène alimentaire et ont un fond plat de bonne superficie.
43. Noter qu'une superficie accrue du fond du plat d'insémination réduit la hauteur de la colonne d'ovules présente dans le plat, ce qui favorise une hausse du taux de fécondation de plusieurs espèces. Les plats de fécondation doivent être en nombre suffisant, car un plat est requis pour chacun des lots d'ovules et le mâle qui y est associé.
44. Effectuer un pré-rinçage rapide dans les plats de fécondation avant l'heure de durcissement. Si les plats n'ont pas un volume suffisant, un seau supplémentaire d'une dizaine de litres peut recevoir le contenu de chacun des plats de fécondation. Cela permet d'effectuer le pré-rinçage simultané des fluides biologiques de tous les lots d'une session d'insémination.

Prélèvement de la laitance

45. Pour ne pas échapper la laitance, maintenir la tête du mâle vers le bas et la queue vers le haut lors de toutes les manipulations.

46. Procéder à l'anesthésie (voir étape 20).
47. Rincer le mâle dans le plan d'eau, puis l'éponger soigneusement.
48. N'inséminer qu'un seul lot (plat d'insémination) de mélange d'ovules avec la laitance de ce mâle.
49. Abaisser légèrement la queue et effectuer quelques pincements au niveau du pore urogénital pour tenter de soutirer l'urine et la laitance moins opaque qui contient de l'urine. Abaisser encore plus la queue et répéter cette manœuvre vers le plat d'ovules qui est maintenu légèrement à l'écart. La laitance de qualité est blanche et opaque.

Lors d'une insémination différée, la laitance peut être prélevée directement dans des tubes de 50 ml. On peut également y ajouter deux parts de dilueur. Remplacer l'air dans les tubes par de l'oxygène. Mélanger soigneusement ceux-ci en les renversant doucement à plusieurs reprises. Déposer les tubes sur un support métallique au fond d'une glacière qui contient un mélange à parts égales de glace et d'eau (voir Grondin 2016).

50. Dès que le sperme entre en contact avec les ovules, ne pas tarder à réaliser les étapes suivantes (51 à 54).

Pour accélérer le processus, il serait judicieux de travailler avec deux ou trois employés désinfectés qui réaliseront l'insémination simultanée de l'ensemble des plats d'ovules. Si un seul employé est décontaminé, poursuivre la fécondation de ce lot avant d'inséminer le prochain lot. Une attitude proactive est requise pour optimiser les résultats ainsi que pour effectuer promptement le prélèvement de la laitance et la fécondation artificielle.

Fécondation artificielle

51. Remuer immédiatement le plat d'insémination, d'un mouvement circulaire, pour bien mélanger les gamètes. Verser promptement une faible quantité d'eau qui correspond à environ 50 % du volume des œufs présents dans le plat. Remuer le plat d'œufs durant 15 s.

Pour prolonger la durée de la motilité des spermatozoïdes, on peut remplacer l'eau utilisée à l'étape 51 par un dilueur d'insémination (voir Grondin 2016). Le rapport doit être le même, c'est-à-dire un volume de dilueur pour deux volumes d'ovules. Concrètement, cette quantité de dilueur permet à peine de recouvrir les ovules, pas plus. Verser le dilueur d'insémination sur les ovules. Extraire la laitance (étapes 45 à 50). Remuer le plat 15 s.

52. Ajouter un volume d'eau supplémentaire qui équivaut à celui déjà dans le plat. Mélanger, puis remuer à quelques occasions, en agitant le plat, lors des prochaines 90 s.
53. Pour rincer rapidement les œufs, remplir le plat de fécondation avec de l'eau neuve irradiée. Puis, incliner immédiatement le plat pour déverser rapidement par terre l'eau souillée par les fluides sexuels. Ne répéter cette opération que si les œufs sont toujours fortement souillés.
54. Verser les œufs rincés dans la cruche isotherme d'eau traitée et revenir à l'étape 45 pour inséminer le prochain plat d'ovules avec la laitance d'un autre mâle.
55. Après usage, immerger les plats souillés dans un bac de trempage ou les rincer immédiatement avec l'eau irradiée.
56. Si l'on doit réutiliser des plats de fécondation, les immerger un minimum de 10 min dans une solution d'iodophores, puis les rincer avec soin. Toujours éponger et assécher les plats de fécondation avec des feuilles d'essuie-tout avant de les réutiliser.

Le durcissement des œufs

57. Verser tous les lots d'œufs d'une même session dans la même cruche isotherme à large ouverture, où ils durciront. Le robinet de distribution d'eau aura été sécurisé afin d'éviter tout déversement accidentel du contenu par la valve de la cruche.
58. Limiter les manipulations lors des 30 premières minutes de durcissement, où les œufs sont particulièrement fragiles : les remuer doucement toutes les 10 min, pas davantage, pour éviter qu'ils n'adhèrent entre eux.
59. Toutefois, si on constate de l'adhésion, faire tourner immédiatement la cruche, puis défaire les amas d'œufs avec les doigts. De longs gants jetables servant à l'insémination bovine facilitent cette opération. En l'absence d'intervention, une « crêpe » d'œufs peut se former au fond du contenant et engendrer un fort taux de mortalité.
60. Laisser durcir une heure avant d'effectuer un remplacement de l'eau des œufs. Puis, poursuivre le durcissement pour une deuxième heure.
61. Après la seconde heure de durcissement, effectuer plusieurs déversements rapides et successifs avec de l'eau traitée pour nettoyer à fond les œufs par des rinçages. Les coquilles et les œufs morts ont une flottabilité accrue et seront facilement expulsés lors des remplacements rapides d'eau.



Gaston Trépanier

Figure 12. Une innovation pour faciliter les manipulations et le transport des œufs. Dans le but de simplifier, de faciliter et de sécuriser les manipulations des œufs, la Direction régionale de l'Abitibi-Témiscamingue a conçu un tamis qui soutient les œufs au-dessus du fond de la cruche isotherme. Ce tamis s'insère dans un support rigide que l'on peut relever doucement pour vérifier la qualité lors du durcissement ou pour rapidement transférer les œufs d'une cruche isotherme à une autre lors du transport, ce qui permet d'éviter les changements d'eau. Pour toute information supplémentaire, communiquer avec M. Gaston Trépanier de la Direction régionale de l'Abitibi-Témiscamingue au gaston.trepanier@mffp.gouv.qc.ca et au 819 763-3388, poste 282.

Le transport des œufs

62. Toujours laisser durcir les œufs un minimum de deux heures avant de les transporter.
63. Si la durée totale entre le changement d'eau au départ du site de reproduction artificielle et la livraison à la station piscicole n'excède pas six heures, il est possible d'utiliser les cruches isothermes pour le transport. Immédiatement avant le départ du site de fraie, remplacer l'eau usée par de l'eau neuve traitée. Durant le transport, s'assurer de disposer d'un approvisionnement minimal, soit une cruche pleine d'eau neuve traitée pour chacune des cruches d'œufs transportées.

64. En avion, ou pour un trajet routier qui excède six heures, utiliser le transport à sec des œufs sur claies et coton à fromage, une méthode décrite à la section 8 du présent document.
65. Avant le départ, prendre des mesures pour éviter que les œufs soient bousculés lors des mouvements brusques dus à la chaussée ou au freinage. Sécuriser les contenants d'œufs et les placer de préférence au centre du véhicule, où les secousses sont amoindries. Assurer la position verticale des contenants par des tendeurs et des toiles.
66. Pour maintenir la qualité des œufs durant le transport, éviter la contamination croisée avec le matériel de terrain contaminé ou non désinfecté.
67. Après deux heures de transport, effectuer un arrêt pour vérifier la qualité de l'eau et l'état des œufs. Verser une portion de l'eau usée et la remplacer par de l'eau neuve traitée. Au début du remplissage, atténuer l'intensité du tournoiement initial des œufs en inclinant la cruche. Ce tournoiement se résorbe très rapidement aussitôt que le niveau d'eau monte.
68. Si, lors de cet arrêt, la qualité des œufs est mauvaise, la température ambiante est élevée ou la qualité de l'eau dans une des cruches s'est détériorée, effectuer un nouvel arrêt toutes les deux heures de route au maximum pour remplacer autant d'eau des cruches isothermes que la réserve le permet.

La livraison des œufs

69. À l'arrivée à la station piscicole, laisser le personnel prendre en charge la désinfection des œufs. En effet, avant d'accéder aux tiroirs des incubateurs de la station, les œufs devront être immergés durant une dizaine de minutes dans une solution désinfectante d'Ovadine© qui contient habituellement 100 mg d'iode actif par litre d'eau.

8. Le transport des œufs de salmonidés avec la méthode sèche

Le Québec est un immense territoire. Le transport des œufs des salmonidés par la méthode sèche est à privilégier dès que la durée totale d'un déplacement routier excède six heures. L'éloignement et l'isolement de certains sites de reproduction artificielle peuvent même exiger un transport aérien.

Pour le transport à sec, on emploie des boîtes isothermes qui contiennent des claies en mousse de styrène perforé, conçues pour y disposer les œufs. Ces boîtes sont vendues par des commerces spécialisés. Il est recommandé d'utiliser des boîtes de transport neuves pour ne pas transférer des agents pathogènes. Des claies artisanales peuvent aussi être fabriquées sur mesure et être insérées dans des boîtes de carton dont les parois sont doublées de panneaux de mousse de styrène. Une claie de 300 x 300 x 35 mm peut aisément recevoir un litre d'œufs ainsi que le coton à fromage qui les retient. Une claie artisanale se compose d'un léger cadre en bois d'au plus 1 cm d'épaisseur sur 3-4 cm de hauteur. Le fond de la claie soutient les œufs grâce à un grillage pour moustiquaire en fibre synthétique. Ce grillage est serré et agrafé fermement, puis taillé selon la forme du fond de la claie. La taille des claies et leur nombre sont adaptés au format du contenant isotherme ou de la boîte de carton munie de ses panneaux ajustés de mousse de styrène. Un sac en plastique inséré à l'intérieur de la boîte retient l'eau qui s'écoule des claies.

8.1 Les étapes d'emballage à sec des œufs

Voici les principales étapes d'emballage à sec des œufs :

1. Produire une réserve de glace à l'aide d'eau de qualité non chlorée. Conserver au congélateur une glacière contenant les sacs de glace. Il est également préférable de conserver les boîtes et les claies de transport des œufs au congélateur avant d'effectuer la fraie.
2. Tailler des sections de coton à fromage pour bien retenir, contenir et recouvrir les œufs des claies.
3. Rincer les œufs après une heure de durcissement. Après la seconde heure, nettoyer les œufs par des rinçages successifs et rapides.
4. Casser la glace en morceaux en fracassant le sac de glace sur un objet solide. L'utilisation de glace très froide qui provient directement de la congélation, qui est sèche et qui colle aux doigts pose un sérieux risque de gel pour les œufs de la claie adjacente. On peut facilement corriger cette erreur parfois fatale en plongeant rapidement, à l'aide d'une passoire, les morceaux de glace dans de l'eau glacée pour les humidifier.

5. Avant de procéder à l'emballage, si la température de l'eau est trop élevée, déposer graduellement des morceaux de glace dans la cruche isotherme pour abaisser lentement la température des œufs durcis à 7 °C, bien qu'il soit préférable de maintenir les œufs entre 2 et 5 °C durant le transport. Pour que le développement embryonnaire soit optimal, la température des œufs des salmonidés ne doit pas excéder 7 °C.
6. Effectuer la mise en boîte promptement lorsque les œufs sont refroidis, afin de maintenir la chaîne de froid. Déposer un sac en plastique à l'intérieur de la boîte, puis une première claie munie d'un coton à fromage. Mettre ensuite la glace humidifiée et égouttée, puis rabattre le coton.



Walter Bertacchi

Figure 13. Cette première claie contenant des œufs sécurisés à l'aide de coton à fromage repose sur une autre claie remplie de glace humidifiée qui se trouve au fond du contenant isotherme de transport.

7. Sur une surface rigide grillagée ou perforée qui favorise l'égouttement rapide des claies, plonger une section de coton à fromage dans l'eau glacée, puis la centrer sur la claie. Laisser déborder amplement le tissu à l'extérieur, sur chacun des côtés, pour qu'il puisse recouvrir les œufs qui seront versés dans la claie.
8. Utiliser un bécher de pharmacien d'un litre, avec graduation tous les 20 ml, pour connaître le volume d'œufs. Laisser décanter ceux-ci. Ajuster la quantité d'œufs si l'on désire un volume exact.

9. Verser les œufs dans la claie. Puis, rabattre chacun des côtés du coton à fromage pour recouvrir et sécuriser les œufs. Si les œufs ne semblent pas adéquatement recouverts, mouiller et utiliser une seconde section de tissu afin de bien les sécuriser.
10. Ne jamais surcharger une claie : les œufs du dessous risqueraient d'être comprimés ou écrasés. La règle est de ne pas remplir une claie au-delà de la moitié de son volume. Une claie artisanale de 30 x 30 x 4 cm possède un volume d'environ trois litres, ce qui est amplement suffisant pour un litre d'œufs et le tissu utilisé.
11. Déposer la claie d'œufs dans le contenant isotherme. Poursuivre avec les autres claies.
12. Compléter le remplissage du contenant en déposant sur le dessus une claie vide munie d'un coton à fromage humecté et la remplir de glace humidifiée.
13. Refermer promptement le sac de plastique et la boîte à l'aide de ruban adhésif pour augmenter la valeur thermique et pour éviter une ouverture accidentelle en cas de renversement de la boîte.
14. Sécuriser et entourer soigneusement les contenants d'œufs dans le véhicule de transport. De plus, les recouvrir pour réduire les risques de gel et l'exposition aux températures ambiantes élevées durant le transport. Enfin, les acheminer rapidement à la station piscicole gouvernementale.
15. Les contenants d'œufs doivent obligatoirement être livrés à la station piscicole dans un délai de 24 heures. En effet, 48 heures après l'insémination, les œufs ne supportent plus les chocs provoqués par les manipulations que doit exécuter le personnel de la station piscicole avant que commence l'incubation.



Walter Bertacchi

Figure 14. Des œufs de touladi sont disposés dans des claies artisanales en vue du transport par méthode sèche.

9. La microscopie en soutien à la reproduction artificielle

L'utilisation d'un microscope sur le terrain permet de déterminer si un prélèvement de laitance est contaminé. L'absence de mouvement des spermatozoïdes confirme l'utilisation de bonnes techniques de prélèvement qui réduisent la contamination de la laitance. Par la suite, les spermatozoïdes sont activés par l'ajout d'une goutte d'eau provenant du plan d'eau. On évalue au microscope la qualité d'un prélèvement en fonction du taux et de la durée de leur motilité. Le taux de motilité est une estimation subjective du pourcentage de cellules qui sont mobiles et qui décrivent un mouvement franc vers l'avant; les spermatozoïdes qui vibrent sont exclus de ce taux. La durée de la motilité (en secondes) est calculée depuis l'activation avec de l'eau jusqu'à la cessation de mouvement franc vers l'avant dans le champ de vision en observation. La vitesse observée lors de la motilité permet aussi de qualifier la qualité du prélèvement d'un spécimen. La vélocité tout comme la durée prolongée de la motilité sont des critères d'une bonne qualité de la laitance.

Une loupe binoculaire permet d'examiner les œufs livrés à la station piscicole ainsi que d'en évaluer le taux de fécondation et la qualité. L'échantillon d'œufs maintenu autour de 5 °C est généralement observé le lendemain de la reproduction artificielle et provient de la conservation de sous-échantillons de chacune des sessions de fraie de la veille.

9.1 La contamination, le taux et la durée de la motilité au microscope

La microscopie est une tâche de routine lorsque la laitance est prélevée en vue d'inséminations différées. L'examen microscopique de la laitance fraîche permet :

- de rejeter les rares prélèvements stériles;
- de déterminer le degré de contamination;
- d'indiquer si une dilution permet de récupérer les gamètes contaminés;
- d'évaluer la qualité du prélèvement;
- d'estimer la durée de conservation de chaque prélèvement réfrigéré.

Un éclairage diascopique sur fond noir est utilisé lors des analyses. Par contre, le contraste de phases offre une meilleure perspective pour l'observation de la viabilité des spermatozoïdes. L'éclairage et les objectifs utilisés pour cette technique microscopique facilitent l'observation et la détermination de la qualité des cellules. Tout comme la diascopie sur fond noir, le contraste de phases requiert habituellement la puissance maximale fournie par l'ampoule et son contrôleur. Les objectifs demandent en plus un ajustement parfait et centré du trajet du faisceau lumineux.

9.2 L'observation de la laitance

1. Il est important de préparer le microscope en laboratoire, c'est-à-dire d'en ajuster l'optique pour l'utilisateur et de bien centrer le trajet du faisceau lumineux pour optimiser le contraste de phase et la diascopie sur fond noir.
2. Sélectionner un grossissement de 100x en diascopie sur fond noir. Pour obtenir une vue d'ensemble de la motilité et des mouvements vibratoires associés à une contamination, certains préféreront un grossissement de 250x, voire 400x.
3. À l'aide d'un pic angulaire pour dissection propre, déposer un mince frottis de laitance sur 2 à 3 cm de longueur, au centre d'une lame pour microscope.
4. Vérifier la mise au point. Procéder rapidement à l'observation des spermatozoïdes de l'ensemble de la lame, afin de détecter tout mouvement ou vibration qui serait un indice de contamination.
5. Si le prélèvement est contaminé, le récupérer immédiatement par l'ajout de deux parts de dilueur.
6. Pour évaluer le taux et la durée de la motilité, positionner le champ visuel du microscope à l'une des deux extrémités du frottis sur la lame. Effectuer la mise au point sur les spermatozoïdes. Les activer en déposant une goutte d'eau au-dessus de la petite

portion éclairée du champ visuel sur la lame, à l'aide d'une seringue de 1 ml munie d'une aiguille de faible jauge (26G).



Paul Grondin

Figure 15. Un exemple du matériel utilisé : des lames, des pics angulaires et un contenant isotherme pour le prélèvement dans le tube de centrifugeuse de 50 ml. La seringue jetable de 3 ml à embout non fileté sert à la subdivision de la laitance. Quant à la seringue filetée de 10 ml avec porte-filtre de 0,22 μ m, elle sera utile pour distribuer et retirer les particules et les organismes présents dans le dilueur.

7. Chronométrer la durée de la motilité et estimer simultanément la vitesse (vélocité) et le taux de motilité, dès son initiation par l'eau jusqu'à la cessation des mouvements francs vers l'avant.
8. Selon la rapidité d'exécution, faire une deuxième et une troisième analyse sur le même frottis pour améliorer l'estimation.

9.3 L'observation des œufs à la loupe binoculaire

On utilise une loupe binoculaire pour connaître la qualité des œufs expédiés à la station piscicole. Il est aisé de conserver un échantillon composé d'une trentaine d'œufs de chacune des sessions de fraie dans un contenant isotherme où la température de l'eau est inférieure à 8 °C. De la glace et une cruche isotherme d'eau neuve permettent de maintenir la température et de conserver la salubrité lors de cette courte période d'incubation.

On obtient le taux de fécondation des œufs en dénombrant les embryons présents dans un échantillon d'œufs après environ 120 degrés-heure de développement depuis l'insémination (Woolsey et coll., 2006), ce qui représente environ 24 heures à 5 °C. Après 150 degrés-heure, l'opacification des membranes est accentuée et les cellules sont plus nombreuses et plus petites, donc moins visibles. Un thermomètre enregistreur assure la valeur scientifique des observations de la qualité des œufs.

9.4 La détermination du taux de fécondation

Voici comment déterminer le taux de fécondation :

1. Si la membrane des œufs est typiquement opacifiée, utiliser une solution éclaircissante pour faciliter l'observation des embryons. Cette solution est composée, à parts égales, de méthanol, d'acide acétique et d'eau désionisée.
2. Puiser une trentaine d'œufs et les déposer dans une boîte de Pétri de 5 à 10 cm. Verser de l'eau pour recouvrir les œufs. Sélectionner un grossissement approprié, puis effectuer une première évaluation des embryons.
3. Enlever l'eau et recouvrir les œufs avec la solution éclaircissante. Observer régulièrement. Après quelques minutes, les membranes s'éclaircissent.
4. Augmenter le grossissement, puis dénombrer, œuf par œuf, les embryons, qui se caractérisent par la présence d'un petit disque germinal possédant des clivages (cellules). Estimer et noter le stade des embryons. Les stades se distinguent simplement par le nombre de cellules (clivages), soit 2, 4, 8, 16 et 32 cellules (Balard, 1973).

5. Optimiser la visualisation des embryons et de la structure interne des œufs par l'ajout d'une plaque de verre dépoli sous le pétri. Un œuf dont le centre est blanchâtre et sans disque germinal apparent constitue plutôt un ovule non fécondé ou postovulé.
6. Pour différer l'observation de l'échantillon, employer le fixatif de Stockard. Par ailleurs, rien n'empêche de diviser l'échantillon et d'utiliser les deux méthodes (en différé et immédiat).
7. Déposer dans le fixatif de Stockard les œufs qui ont atteint le développement requis, soit autour de 120 degrés-heure. Ce fixatif éclaircit les membranes et leurs embryons durant la période de remisage. Il est composé de 5 % (50 ml) de formol, de 4 % (40 ml) d'acide acétique glacial, de 6 % (60 ml) de glycérine et de 85 % (850 ml) d'eau distillée par litre.

10. La durée de la rétention et l'induction hormonale des salmonidés

On rapporte qu'en Outaouais, au moment de la reproduction artificielle de 2011, un tiers des femelles ont pondu, un tiers étaient vides, alors qu'un dernier tiers n'avaient pas atteint la maturité (Houde, Beaudoin et Corbeil, 2011). Si les femelles qui composaient le dernier tiers n'appartiennent pas à un morph à reproduction tardive, elles pourraient bien avoir été atteintes d'une forme de dysfonctionnement de la maturité sexuelle liée à la rétention, alors que toutes les autres femelles avaient déjà pondu ou donné leurs ovules lors du prélèvement. Le cas des femelles ayant pondu lors de la rétention nous oriente quant à lui vers une mise à jour de la gestion de la durée de rétention ou du nombre de jours de fraie des reproducteurs, notamment chez les espèces à statut précaire.

L'induction hormonale chez les reproducteurs indigènes permet d'amoindrir les effets insidieux de la captivité, qui peut engendrer un blocage du système reproducteur. Cet arrêt ou ce ralentissement de la maturation sexuelle est lié à la durée et au type de rétention et varie généralement en fonction de la lignée, ou parfois selon une réponse individuelle.

Comme certaines autres familles de poissons, les salmonidés semblent bien répondre à une injection d'Ovaprim[®], un produit qui combine 20 µg/ml d'un analogue de l'hormone de la libération de la gonadotropine du saumon (aGnRHs) et 10 µg/ml d'un antidépresseur, le dompéridone. Ces deux substances visent l'hypothalamus des reproducteurs et inhibent les effets de la rétention sur la maturation sexuelle. L'induction avec l'Ovaprim[®] augmente également l'hydratation dans le testicule. Le volume de laitance s'en trouve donc significativement accru, ce qui facilite l'insémination. Ce type d'induction ne peut être envisagé que pour les poissons qui ne seront pas remis à l'eau. En effet, ceux qui ont reçu de l'Ovaprim[®] ne peuvent être consommés et doivent être détruits en l'absence d'une période de retrait.

<p>MISE EN GARDE : L'Ovaprim[®] n'est actuellement pas homologué pour les poissons de consommation au Canada et aux États-Unis. Ainsi, aucun retrait, peu importe sa durée, ne permettrait l'obtention d'une exemption vétérinaire pour la remise à l'eau des poissons ayant reçu ce produit, même en dehors de la saison de pêche.</p>

Références citées

- ALLEN, J. L., et P. D. HARMAN (1970). "Control of pH in MS-222 Anesthetic Solutions", *The Progressive Fish-Culturist*, vol. 32, n° 2, p. 100.
- BALARD, F.J. (1973). "Normal embryonic stages for salmonid fishes, based on *Salmo gairdneri* Richardson and *Salvelinus fontinalis* (Mitchill)". *Journal of Experimental Zoology*, vol. 184, p. 7–26
- BERNATCHEZ, L. (2004). *Considérations génétiques et protocole de reproduction relatifs au plan de rétablissement du chevalier cuivré (Moxostoma hubbsi)*, viii + 38 p. [Étude réalisée pour le compte du ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs, Direction de l'aménagement de la faune de Montréal, de Laval et de la Montérégie, Longueuil et Pêches et Océans Canada, région du Québec, rapport technique, 16-22].
- BERNATCHEZ, L. (2009). *Plan de reproduction du saumon atlantique : stratégie de compromis entre considérations génétiques et démographiques*, 40 p. [Étude réalisée pour le compte du ministère des Ressources naturelles et de la Faune, Direction de l'expertise sur la faune et ses habitats].
- BUSACK, C., et C.M. KNUDSEN (2007). "Using Factorial Mating Designs to Increase the Effective Number of Breeders in Fish Hatcheries", *Aquaculture*, vol. 273, n° 1, p. 24-32.
- CAMPTON, D. E. (2004). "Sperm Competition in Salmon Hatcheries: The Need to Institutionalize Genetically Benign Spawning Protocols", *Transactions of the American Fisheries Society*, vol. 133, n° 5, p. 1277-1289.
- GRONDIN, P. (2016). "L'insémination différée et les dilueurs pour salmonidés", Québec, Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Direction générale de l'expertise sur la faune et ses habitats, Direction de la faune aquatique, 26 p. [Rapport technique]
- GRONDIN, P., et Y. TURGEON (2004). *Protocole de fraie et de fécondation artificielle des œufs de touladi (Salvelinus namaycush) en nature*, Québec, Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs, 19 p. [Document préliminaire].
- HIKASA, Y., et coll. (1986). "Anesthesia and Recovery with Tricaine Methanesulfonate, Eugenol and Thiopental Sodium in the Carp (*Cyprinus carpio*)", *Japan Journal of Veterinary Science*, vol. 48, n° 2, p. 341-351.
- HOUDE, P., B. BEAUDOIN et J. CORBEIL (2011). *Fraie en nature du touladi au lac Blue Sea, octobre 2011*, Gatineau, Ministère des Ressources naturelles et de la Faune, Direction de l'expertise faune-forêts de l'Outaouais, 35 p.
-

- IVERSEN M., et coll. (2003). “The Efficacy of Metomidate, Clove Oil, Aqui-S™ and Benzoak® as Anesthetics in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Smolt, and their Potential Stress-Reducing Capacity”, *Aquaculture*, vol. 221, p. 549-566.
- JOLLY, D. W., L. E. MAWDESLEY-THOMAS et D. BUCKE (1972). “Anesthesia of Fish”, *Veterinary Record*, vol. 91, p. 424-426.
- KEENE, J., et coll. (1998). “The Efficacy of Clove Oil As an Anesthetic for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum)”, *Aquac. Res.*, vol. 29, n° 2, p. 89-101.
- KENNEDY, B. M., W. L. GALE et K. G. OSTRAND (2007). “Evaluation of Clove Oil Concentrations for Use As an Anesthetic During Field Processing and Passive Integrated Transponder Implantation of Juvenile Steelhead”, *Northwest Science*, vol. 81, n° 2, p. 147-154.
- MAISSE, G., et M. DORSON (1982). « La désinfection de l'eau par les rayons ultraviolets », *Bull. fr. pêche piscic.*, vol. 64, p. 29-31.
- McFARLAND, W. N. (1959). “A Study of the Effects of Anesthetics on the Behavior and Physiology of Fishes”, *Publication of the Institute of Marine Science [University of Texas]*, vol. 6, p. 23-55.
- MRN ONTARIO (2011). “Egg Disinfection Procedures for Muskellunge and Walleye”, *Fish Culture Technical Bulletin*, n° 2011-01, Ministère des Richesses naturelles de l'Ontario (MRN Ontario), 6 p.
- SCHOETTGER, R. A., et M. JULIN (1967). “Efficacy of MS-222 As an Anesthetic on Four Salmonids”, *Invest. Fish Contr., U.S. Dept. Int.*, vol. 13, p. 1-15.
- TURGEON, Y. (2000). *Éléments de reproduction et de production du saumon atlantique en station piscicole*, Société de la faune et des parcs du Québec, Direction du développement de la faune, 171 p.
- WOOLSEY, J., et coll. (2006). “Sperm Motility in the Steelhead *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): Influence of the Composition of the Incubation and Activation Media”, *Aquaculture Research*, vol. 37, n° 3, p. 215-233.

Annexes

Annexe 1

La désinfection de l'eau pour les oeufs de chevalier cuivré

La désinfection de l'eau pour les œufs de chevalier cuivré

Matériel illustré :

- Pompe FLOJET, modèle 04406-043, 115 volts, 1,0 A, débit de 12,5 l/min
- Unité UV Sterilight *Silver*, modèle S12Q-PA, 110 volts, lampe 39 watts avec boîtier de contrôle BA-ICE-S
- 4 cartouches pour filtres, 4 filtres pour les matières en suspension de 50, 30, 20 et 5 microns
- Coudes, réducteurs, adaptateur *Quick Connect*, 50 pieds de tube en nylon *Quick Connect* de ¼ po de diamètre intérieur
- Un filtre d'environ 1000 µm devrait protéger l'entrée de cette pompe contre les particules

Pièces de rechange (non illustrées)

- Lampe ultraviolette Sterilight, modèle S36RL
- Tube de quartz (pour la lampe), Sterilight, modèle QS-012, avec joints toriques, OR-212
- Pompe submersible avec tuyaux et pièces de plomberie et de branchement électrique

Pour obtenir une irradiation de 400 000 µwatt•cm²•sec, le débit de ce système doit être d'environ 4 l/min au point A, par l'évacuation d'eau non filtrée par une valve qui serait montée sur un raccord en Y au point B (valve et raccord non illustrés).

Voici les étapes d'utilisation du système de désinfection de l'eau de la rivière Richelieu :

1. Assurer une protection en retirant les particules grossières qui pourraient s'introduire et entraîner une défectuosité de la tête de la pompe
2. Démarrer la pompe et purger soigneusement et complètement l'air des quatre cartouches pour filtres et de l'unité UV
3. Mettre l'unité UV sous tension
4. Fermer la valve A
5. Ouvrir entièrement la valve B, puis la valve A
6. Rejeter le surplus d'eau non filtrée et non requise en refermant graduellement la valve B. Le débit requis pour le niveau d'irradiation souhaité, dans ce cas, est de 4 l/min (15 sec pour obtenir 1 l) à la valve A, qui doit demeurer entièrement ouverte.
7. Laisser couler l'eau pendant une dizaine de minutes pour que l'eau résiduelle contaminée soit entièrement évacuée du système.

