



Institut National de la Recherche Agronomique

**STATION COMMUNE DE RECHERCHES
EN ICTHYOPHYSIOLOGIE, BIODIVERSITE
ET ENVIRONNEMENT (S.C.R.I.B.E.)
Campus de Beaulieu
35042 RENNES CEDEX**

Rapport final d'exécution

**Définition des conditions de reproduction
de la carpe chinoise herbivore en Côte d'Ivoire**

Dans le cadre du projet de mise en place d'un centre d'alevinage
et de formation piscicole (première phase)

Financé par le Fonds Social de Développement du Ministère des Affaires
Etrangères

Table des matières

1	Contexte de l'étude.....	2
1.1	La carpe herbivore : une nouvelle espèce en Côte d'Ivoire	2
1.2	Les problèmes liés à sa reproduction	2
2	Démarche de travail	3
2.1	Organisation du travail.....	3
2.2	Rappels sur la physiologie de la reproduction.....	5
2.3	Les approches retenues	6
2.4	Les méthodes d'étude	7
3	Résultats.....	9
3.1	Description des cycles sexuels	9
3.2	Influence du régime alimentaire.....	11
3.3	Influence des hautes températures.....	14
3.4	Technologies de la reproduction	14
4	Conclusions et perspectives	16
4.1	Description des cycles sexuels	16
4.2	Influence du régime alimentaire.....	16
4.3	Influence des hautes températures.....	16
4.4	Technologies de la reproduction	18
4.5	Perspectives.....	18

1 Contexte de l'étude

1.1 La carpe herbivore : une nouvelle espèce en Côte d'Ivoire

La mise au point de systèmes techniques piscicoles économiquement rentables est la condition essentielle du développement massif d'une pisciculture artisanale en Côte d'Ivoire. Ce développement passe entre autres par la mise en œuvre par les pisciculteurs de techniques peu coûteuses, robustes et durables. L'action de l'APDRA-CI depuis plusieurs années est basée sur cette hypothèse, visant à mettre un certain nombre de techniques à la portée des pisciculteurs afin d'aboutir à une autonomie au niveau local pour la maîtrise de l'ensemble de la filière de production.

Dans ce cadre, les techniques de production vulgarisées sont basées sur un élevage extensif à partir de la productivité naturelle des étangs, éventuellement complétée par des apports en fertilisants organiques. La polyculture (élevage de plusieurs espèces aux régimes alimentaires complémentaires) permet de valoriser diverses ressources alimentaires présentes dans les étangs. Cette approche a permis l'apparition d'une pisciculture extensive en zone rurale dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire, qui est jusqu'à présent unique en Afrique. Jusqu'en 1996, la polyculture n'incluait aucune espèce herbivore, alors qu'elles sont à la base de la production dans les autres systèmes de polyculture pratiqués dans le monde (en particulier en Chine).

Après des tests non concluants sur des espèces locales, le Projet Piscicole Centre-Ouest a décidé d'importer, avec l'accord du Ministère de l'Agriculture et des ressources Animales, des alevins de carpe chinoise herbivore (*Ctenopharyngodon idella*). Cette espèce est largement élevée dans le monde (c'est la seconde espèce d'aquaculture d'eau douce, avec 2,44 millions de tonnes produites en 1996 selon la FAO), et elle est à la base de la fertilisation des étangs pour les autres espèces : les pisciculteurs peuvent apporter des végétaux dans l'étang, qui sont consommés par la carpe herbivore. Comme sa digestion est assez imparfaite, ses déjections renferment d'importantes quantités d'éléments nutritifs partiellement digérés qui seront réutilisés par les micro-organismes de l'étang (phyto- et zooplancton) et par les autres espèces de poissons. Elle permet d'augmenter durablement la production piscicole sans faire appel à des aliments coûteux ou des matières premières importées, et sans danger pour l'environnement. Elle a été introduite dans de nombreux pays à travers le monde, et malgré sa large diffusion et son importance dans les systèmes piscicoles tropicaux, ses exigences ont partout empêché sa reproduction naturelle en climat tropical. Ceci constitue a priori une bonne garantie de non-prolifération dans les eaux libres ivoiriennes.

Les premières données en Côte d'Ivoire font apparaître des croissances conformes à ce qui était attendu, soit des croissances moyennes de plus de 10 g/jour, permettant d'obtenir des poissons de 1,5 à 2 kg en 6 mois de grossissement, à faible densité dans des barrages avec un apport d'herbes. Les rendements associés peuvent atteindre 1 t/ha/an, équivalents aux rendements cumulés des tilapias et Heterotis en étangs extensifs.

Cependant, des problèmes persistent sur la reproduction artificielle de cette espèce, qui font que l'approvisionnement régulier des pisciculteurs en alevins n'est pas envisageable actuellement, en dépit d'une forte demande de la part de ces derniers.

1.2 Les problèmes liés à sa reproduction

Chez les poissons, comme chez tous les animaux poïkilothermes ("à sang froid"), les phénomènes physiologiques sont très dépendants des conditions de l'environnement. Pour la croissance, plus la température de l'eau est élevée, plus la croissance est rapide (dans les limites de tolérance de l'animal). Concernant la reproduction, des influences complexes entre la température et la photopériode (durée du jour au cours de l'année) régissent le rythme sexuel selon les espèces. Les dernières étapes de la reproduction (maturation, ovulation et ponte) sont sous le contrôle de facteurs externes encore plus divers (présence du sexe opposé, végétaux, courant d'eau, etc. selon les espèces). Tant que ces facteurs ne sont pas réunis, aucune ponte ne pourra avoir lieu, même si les poissons ont achevé leur cycle sexuel. Au bout d'un certain temps (quelques jours à quelques mois selon les espèces), les gonades vont régresser (phénomène d'atrésie) et les poissons vont revenir au stade de repos sexuel avant de recommencer éventuellement un nouveau cycle. La dépense en énergie liée au développement sexuel, en particulier chez les femelles, est énorme. Ceci explique que la femelle ne va pondre

que si elle est sûre que toutes les conditions sont réunies, pour éviter le risque de "gâcher" tout son investissement énergétique si la reproduction échoue.

La carpe herbivore est originaire des fleuves de la Chine tempérée et continentale. Dans son milieu naturel, elle subit de grandes variations annuelles de température (des fleuves gelés en hiver à des températures de plus de 25°C) et de photopériode. Sa reproduction se déroule dans quelques sites très ciblés au cours du fleuve, où se réunissent des dizaines de géniteurs au cours de la saison de reproduction. Ces sites se caractérisent par des conditions de débit en eau, turbidité, remous, etc. très spécifiques, et doivent comporter en aval des zones d'inondation pour le développement des larves. Les œufs sont pondus et fécondés au fil de l'eau, et dévalent pendant la durée de l'incubation, à l'issue de laquelle les larves vont se réfugier dans des zones calmes pour continuer leur développement.

Les conditions de la Côte d'Ivoire sont complètement différentes : les variations annuelles de photopériode sont de l'ordre de 20 minutes (contre plusieurs heures aux latitudes tempérées), et la température mesurée dans les étangs de pisciculture ne descend pas en dessous de 24°C (voir Figure 1).

Dans ces conditions, le déroulement des cycles sexuels est fortement perturbé, surtout chez les femelles pour qui la reproduction est particulièrement consommatrice en énergie. Le suivi régulier de géniteurs à la station de Gagnoa a permis de mettre en évidence les phénomènes suivants :

- Cycles sexuels désynchronisés
- Faibles taux d'entrée en vitellogénèse pour les femelles
- Durée des cycles variable
- Blocages en début de vitellogénèse
- Ovocytes atypiques (taille de fin de vitellogénèse, mais translucides)

Les mâles posent moins de problèmes, même s'ils ne sont pas spermiantes en permanence, un taux suffisant de mâles matures peut être disponible, et ces derniers répondent positivement (quasiment à 100%) aux inductions hormonales. Pour cette raison, les travaux se sont orientés essentiellement vers les femelles.

Enfin, la reproduction en étang est impossible, même sous son climat d'origine (jusqu'à l'invention des techniques de reproduction artificielle dans les années 1960, tous les alevins étaient pêchés dans le milieu naturel en Chine, malgré plusieurs siècles d'élevage en étang). Ainsi, la reproduction artificielle est obligatoire pour obtenir des alevins, quelles que soient les conditions d'élevage.

Ainsi, pour assurer un approvisionnement régulier en alevins, il faut maîtriser les conditions d'élevage des géniteurs pour obtenir un maximum de géniteurs de bonne qualité en fin de cycle sexuel, et maîtriser les techniques de reproduction artificielle pour obtenir de bons taux de réponse à l'induction. Cette maîtrise est nécessaire au développement d'écloseries privées contrôlées et économiquement rentables. Pour le moment, la faisabilité de la reproduction artificielle a été démontrée en Côte d'Ivoire, mais elle demeure encore trop aléatoire.

2 Démarche de travail

2.1 Organisation du travail

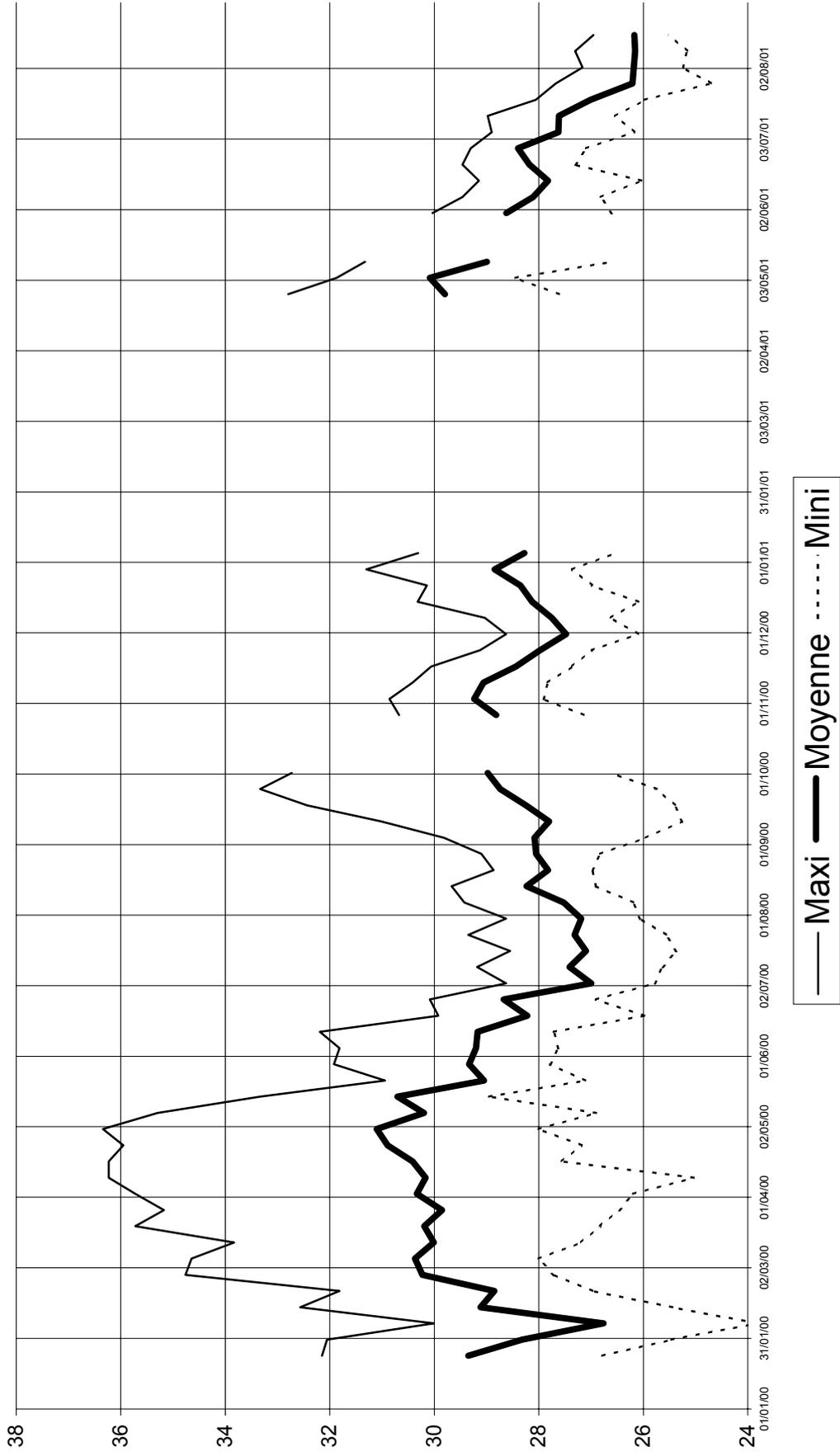
Afin de définir les conditions d'élevage des géniteurs et d'induction de ponte pour les pisciculteurs, il est nécessaire de comprendre les déterminants des cycles sexuels dans les conditions ivoiriennes. Cette compréhension doit s'appuyer sur une connaissance de la physiologie des poissons, qui nécessite entre autres le développement d'outils spécifiques de dosage des différentes hormones.

Ainsi, l'APDRA-CI a décidé de faire appel aux compétences de l'INRA dans ce domaine pour résoudre ce problème.

Les travaux ont été confiés à un doctorant (Frédéric Glasser) qui a travaillé en association avec la cellule recherche-développement de l'APDRA-CI. La partie expérimentale du travail a été effectuée à la station piscicole de Gagnoa (mise à disposition de l'APDRA-CI par le MINAGRA), où le suivi des essais a été réalisé par le responsable (Daouda Bambara) et le manœuvre (Hervé Babo). Une mission de 8 jours a été réalisée par un ingénieur de l'INRA (Elisabeth Sambroni) afin d'assister l'équipe et de la former à certaines techniques de prélèvement. Une expérience complémentaire a été réalisée en Pologne à l'Institut des Pêches Continentales de Zabieniec (Zygmunt Okoniewski) avec la collaboration de l'Académie d'Agriculture de Cracovie (Tomasz

Figure 1 : Température des étangs de la station de Gagnoa, par semaine

(NB : les vides sont dus à des pannes d'enregistreurs)



Mikolajczyk, Jaroslaw Chyb). Cette éclosion possède des installations qui permettent d'élever des géniteurs en conditions de température contrôlée.

L'analyse des prélèvements effectués (plasma sanguin, gonades) a été effectuée à la station SCRIBE (Station Commune de Recherche en Ichtyophysiologie, Biodiversité et Environnement) de l'INRA de Rennes, sous la direction de MM. Bernard Breton (INRA), Jean-François Baroiller (CIRAD) et Bernard Jalabert (INRA).

2.2 Rappels sur la physiologie de la reproduction

Le déroulement des cycles sexuels femelles peut être divisé en 5 phases :

- **la prévitellogénèse** ("repos sexuel") les ovocytes sont de très petite taille (< 0,25 mm)
- **la vitellogénèse** : c'est l'accumulation de réserves dans les ovocytes, ainsi que des réarrangements au niveau du matériel génétique (division cellulaire, accumulation d'ARN m...). En fin de vitellogénèse, les ovocytes mesurent jusqu'à 1,2 mm de diamètre, et le noyau commence à migrer du centre de la cellule vers la périphérie. La vitellogénèse se déroule habituellement en deux à trois semaines, mais certaines femelles restent bloquée en début de vitellogénèse pendant plusieurs semaines et n'achèvent jamais leur cycle. En l'absence d'induction artificielle de la ponte, toutes les femelles restent bloquées en fin de vitellogénèse.
- **la maturation** : c'est un phénomène rapide (quelques heures) : le noyau de l'ovocyte achève sa migration vers la périphérie puis disparaît ; le cytoplasme est remanié et les ovocytes deviennent translucides.
- **l'ovulation** : elle suit normalement la maturation : l'ovocyte est expulsé de ses enveloppes et libéré dans la cavité de l'ovaire. La ponte (expulsion des ovules) est naturelle ou provoquée par un "stripping" (massage du ventre de la femelle pour en extraire les ovules pour une fécondation manuelle).
- **la régression ou atrésie** : les ovules et ovocytes restant après la ponte (ou la totalité des ovocytes si la ponte n'a pas eu lieu) se dégradent et sont réabsorbés par l'ovaire. Ce phénomène peut être rapide ou progressif, et un nouveau cycle peut recommencer alors que la régression est en cours.

En Côte d'Ivoire, il n'y a pas de synchronisation de ces phases entre individus (de saisonnalité), on peut trouver en toute saison des femelles des différents stades, même si l'on observe une augmentation des entrées en vitellogénèse après le début de la saison des pluies.

Les différentes étapes de ces cycles sexuels sont caractérisées par différents phénomènes physiologiques et hormonaux.

L'ensemble du processus est sous commande du système nerveux central (cerveau) qui intègre les différentes informations (facteurs environnementaux, cycle endogène...). Le cerveau commande la synthèse des gonadotropines par l'hypophyse, à travers deux mécanismes :

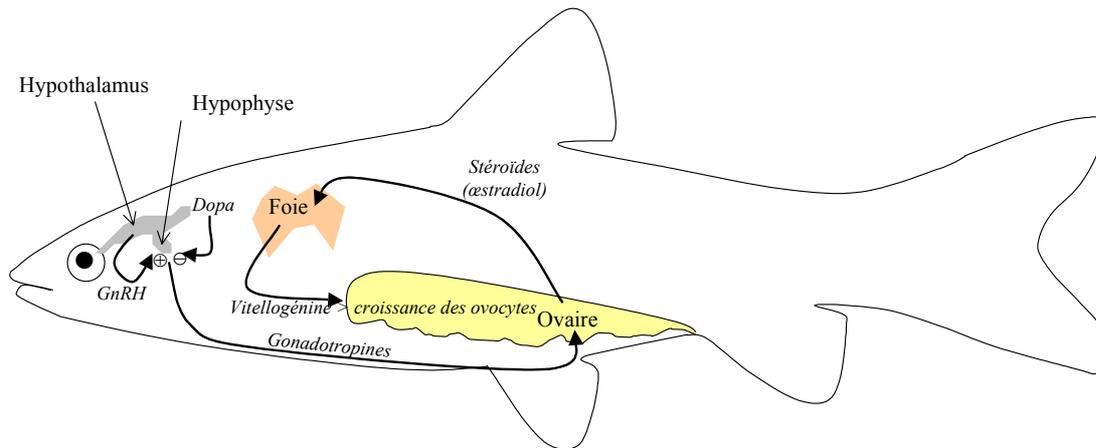
- la production de GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) par l'hypothalamus qui induit la libération de gonadotropines par l'hypophyse dans la circulation générale
- la production de dopamine, qui bloque la libération de gonadotropines.

Les équilibres entre ces deux mécanismes (inducteur et inhibiteur) régulent la libération de gonadotropines par l'hypophyse.

Il existe deux types de gonadotropines chez les poissons, dont les rôles chez les cyprinidés (famille de la carpe) sont encore mal connus. Chez d'autres espèces, il a été démontré que la **FSH** (Follicule Stimulating Hormone) dirige la vitellogénèse, tandis que la **LH** (Luteinizing Hormone) est responsable de la maturation ovocytaire.

Si l'on fait l'hypothèse que les phénomènes sont relativement similaires chez les cyprinidés, la libération de FSH stimulerait la production d'un stéroïde, l'œstradiol, par les ovocytes en cours de vitellogénèse. Cet œstradiol provoque la production d'une molécule de réserve, la vitellogénine, par les cellules du foie. La vitellogénine est incorporée par les ovocytes en cours de vitellogénèse, et servira de réserve pour la future larve. C'est l'accumulation de cette molécule qui est à l'origine de l'augmentation de taille des ovocytes pendant la vitellogénèse. Il existe des phénomènes de rétrocontrôle du cerveau par les stéroïdes pour éviter l'emballement du système (voir Figure 2).

Figure 2 : La cascade hormonale responsable de la vitellogénèse :



A la fin de la vitellogénèse, les ovocytes restent en l'état pendant un certain temps en attendant le déclenchement de la maturation et de l'ovulation. Si les conditions environnementales nécessaires (ou une induction artificielle) interviennent, on assiste à une libération de GnRH par l'hypothalamus et la suppression du blocage par la dopamine, aboutissant à une libération massive de LH. Au niveau des ovaires, la LH provoque la production d'un autre stéroïde, la $17\alpha20\beta$ -dihydroprogestérone. La $17\alpha20\beta$ est responsable de la maturation finale et de l'ovulation, par l'intermédiaire de seconds messagers dans le cytoplasme de l'ovocyte. En particulier, elle provoque une élévation puis un abaissement des taux d'AMPC (adénosine monophosphate cyclique) de l'ovocyte, sans lesquels la maturation ne peut avoir lieu.

Ainsi, les dysfonctionnements observés pourraient trouver leur origine aux différentes étapes de ces phénomènes :

- libération de GnRH
- blocage dopaminergique
- libération des gonadotropines
- réceptivité des ovaires aux gonadotropines (production des stéroïdes)
- réceptivité du foie à l'œstradiol (production de vitellogénine)
- réceptivité des ovocytes à la $17\alpha20\beta$ (chute des taux d'AMPC)

Pour provoquer artificiellement la maturation, l'ovulation et la ponte, deux stratégies principales sont utilisées :

- l'injection de GnRH et d'un anti-dopaminergique (qui supprime le blocage par la dopamine) : cette technique va provoquer la libération de la LH endogène du poisson, stockée dans son hypophyse, qui va déclencher la suite des phénomènes
- l'injection d'extraits hypophysaires contenant de la LH : cela va provoquer une augmentation des taux de LH sanguin pour provoquer l'ovulation et la ponte. Dans ce cas, c'est la LH exogène qui sera déclenchante, et cela exige d'utiliser des extraits hypophysaires de l'espèce élevée ou d'une espèce proche pour être efficace.

2.3 Les approches retenues

Les travaux visent à comprendre l'influence des conditions environnementales en Côte d'Ivoire et éventuellement manipuler les conditions d'élevage pour permettre la maîtrise de la reproduction dans un contexte d'écloseries artisanales contrôlées.

La démarche a été orientée selon 4 axes :

- description des cycles sexuels femelles, comparaison avec les conditions tempérées et explication des dysfonctionnements observés en Côte d'Ivoire.
- influence du régime alimentaire sur les caractéristiques des cycles sexuels (mâles et femelles).
- existence d'un blocage par les hautes températures (femelles).
- technologies de la reproduction (femelles).

2.4 Les méthodes d'étude

2.4.1 Description des cycles sexuels

Des prélèvements d'ovaires et de sang ont été effectués sur des géniteurs femelles élevés à la station de Gagnoa. Les taux plasmatiques en vitellogénine (dosage immunologique développé en 2000), en œstradiol et en testostérone (dosages radio-immunologiques) ont été mesurés et corrélés aux différents stades sexuels identifiés précédemment (travaux de 1999). Les mêmes mesures ont été effectuées sur les plasmas de femelles élevées en Pologne et maintenues à différentes températures (voir ci-dessous). Les stades sexuels sont déterminés selon la répartition en taille de 100 ovocytes mesurés sous loupe binoculaire. La position du noyau des ovocytes (degré de migration vers la périphérie) est déterminée après décoloration du vitellus par le liquide de Stockart. Les ovocytes qui se décolorent en moins de 3 minutes sont considérés comme étant en voie de régression (atrésie).

2.4.2 Influence du régime alimentaire

Des alevins (sexes mélangés) issus d'une reproduction artificielle et prégrossis en étang avec un aliment composé ont été séparés en 6 lots le 20 mars 2001 à l'âge de 7 mois et demi.

Trois régimes ont été comparés, chacun sur deux lots de poids moyens différents (158 et 326 g) mais prégrossis dans les mêmes conditions. Les trois régimes comparés sont les suivants :

- herbe à éléphant (*Pennisetum purpureum*) rationnée (environ 70% de la ration ad libitum)
- herbe à éléphant (*Pennisetum purpureum*) ad libitum
- herbe à éléphant (*Pennisetum purpureum*) ad libitum complémentée par un aliment à 2% de la biomasse

Protocole utilisé :

N° du lot	Régime	Poids moyen des poissons le 20/03/01
1	Herbe rationnée	158 g
2	Herbe ad lib.	158 g
3	Herbe ad lib.+ aliment	158 g
4	Herbe rationnée	326 g
5	Herbe ad lib.	326 g
6	Herbe ad lib.+ aliment	326 g

La densité initiale est de 0,17 poisson/m². Ils sont élevés en polyculture avec des tilapias mâles (même densité) et des hémichromis.

Les quantités d'herbe consommées sont mesurées chaque jour (6 jours sur 7), et des pêches de contrôle réalisées toutes les 3 semaines pour suivre la croissance des poissons.

Deux abattages ont été réalisés :

- le 30/05/01 soit 2,5 mois après le début des régimes, 20% des individus ont été abattus (soient 7 à 11 poissons par étang). Le poids individuel, le sexe, le poids des gonades et du foie ont été déterminés, ainsi qu'un prélèvement de sang effectué pour dosage de l'œstradiol plasmatique.
- le 13/09/01 soit 6 mois après le début des régimes, 25% des individus ont été abattus (soient 7 à 11 poissons par étang). Le poids individuel, le sexe, le poids des gonades, des graisses périviscérales (sur la moitié postérieure du tube digestif) et du foie ont été déterminés. Un échantillon de sang a été prélevé sur chaque animal, ainsi que l'hypophyse et la partie antérieure du cerveau pour dosage du GnRH.

2.4.3 Influence des hautes températures

Des géniteurs femelles de carpe herbivore en fin de vitellogénèse de la pisciculture de Zabieniec en Pologne ont été maintenus pendant 2 semaines à deux températures (24 et 28°C) à jeun dans des bacs de 2 m³.

Pour l'induction, nous avons utilisé un analogue du GnRH (une molécule modifiée qui est plus efficace que le GnRH naturel) et le pimozide (un anti-dopaminergique qui supprime le blocage par la dopamine de la libération

des gonadotropines). Cette approche a été choisie de préférence à l'injection d'extraits hypophysaires pour deux raisons : elle est la seule reproductible (car les extraits hypophysaires sont très variables pour leur contenu en LH, et peuvent entraîner des réponses très variables à l'induction) ; elle permet de mettre en évidence une éventuelle altération thermique au niveau hypophysaire (réponse de l'hypophyse à la décharge de GnRH ou au blocage dopaminergique).

Pour l'induction de la ponte, deux protocoles ont été comparés :

- une injection de 5 mg/kg de poids vif (PV) de pimozide
- une injection de 5 mg/kg PV de pimozide + 2 µg/kg PV de GnRH suivie 12 h plus tard d'une injection de 18 µg/kg PV de GnRH.

Des prélèvements d'ovaires ont été effectués au début de l'expérience, ainsi que des prélèvements de sang lors de la première injection, 6 h, 12 h et 17 à 20 h plus tard. La détermination des taux de LH (par dosage immunologique) et de $17\alpha 20\beta$ (par dosage radio-immunologique) a été effectuée sur ces différents prélèvements.

L'ovulation des poissons a été contrôlée lors de chaque prélèvement de sang ainsi que plusieurs heures après le dernier prélèvement afin de s'assurer qu'aucune femelle n'ovulait plus tard.

Le volume d'ovules recueillis a été estimé.

Protocole utilisé :

Groupe	"Témoins" (2 x 8 poissons)	"Induits" (2 x 7 poissons)
Heure	1 groupe à 24 °C et 1 groupe à 28°C	1 groupe à 24 °C et 1 groupe à 28°C
t₀	Injection de pimozide 5 mg/kg Prélèvement d'ovaires et de sang	Injection de Pim 5 mg/kg+GnRH 2 µg/kg Prélèvement d'ovaires et de sang
t₀+6 heures	Prélèvement de sang	Prélèvement de sang
t₀+12 heures	Injection de liquide physiologique Prélèvement de sang	Injection de GnRH 18 µg/kg Prélèvement de sang
t₀+17 à 20 heures	Contrôle de l'ovulation Prélèvement de sang	Contrôle de l'ovulation Prélèvement de sang

2.4.4 Technologies de la reproduction

Le même protocole a été réalisé en Côte d'Ivoire sur deux groupes de 9 femelles :

Le traitement pimozide + GnRH a été comparé avec des femelles témoins injectées au sérum physiologique.

Des prélèvements de sang et d'ovaires ont été réalisés en début d'expérience ainsi que 6, 12 et 18 heures après. Les prélèvements d'ovaires ont été conservés en vue du dosage de l'AMPc. L'ovulation a été contrôlée à chaque manipulation des poissons. Les taux plasmatiques de LH et $17\alpha 20\beta$ ont été déterminés pour chaque prélèvement, ainsi que les taux d'AMPc ovarien.

La température a été suivie dans l'enclos des femelles pendant toute la durée de l'expérience.

Protocole utilisé :

Heure	Témoins (9 poissons)	Induits (9 poissons)
t₀	Injection de liquide physiologique Prélèvement d'ovaires et de sang	Injection de Pim 5 mg/kg+GnRH 2 µg/kg Prélèvement d'ovaires et de sang
t₀+6 heures	Prélèvement d'ovaire et de sang	Prélèvement d'ovaire et de sang
t₀+12 heures	Injection de liquide physiologique Prélèvement d'ovaire et de sang	Injection de GnRH 18 µg/kg Prélèvement d'ovaire et de sang
t₀+17 à 20 heures	Contrôle de l'ovulation Prélèvement d'ovaire et de sang	Contrôle de l'ovulation Prélèvement d'ovaire et de sang

3 Résultats

3.1 Description des cycles sexuels

Les figures 3 à 5 présentent les taux de vitellogénine, œstradiol et testostérone des femelles aux différents stades :

- les femelles de Côte d'Ivoire en prévitellogénèse
- en début de vitellogénèse, qui resteront bloquées en cours de cycle
- en début de vitellogénèse, qui achèveront leur cycle
- en fin de vitellogénèse
- en régression/redémarrage de cycle
- les femelles en fin de vitellogénèse de Pologne maintenues à 24°C
- maintenues à 28°C

Il apparaît, pour tous les critères mesurés, une grande variabilité dans les valeurs selon les individus. Les taux de vitellogénine, œstradiol et testostérone sont très faibles chez les femelles en prévitellogénèse, augmentent au cours de la vitellogénèse et plafonnent en fin de vitellogénèse. Il n'y a pas de différence significative entre les femelles en fin de vitellogénèse et celles en cours de régression (si ce n'est une baisse non significative des taux de testostérone), ni de corrélation entre les taux hormonaux et le nombre d'ovocytes en atresie. De même, on n'observe pas de corrélation entre les taux de stéroïdes plasmatiques et la vitellogénine.

Pour les femelles en fin de vitellogénèse, les femelles de Pologne ont des taux de vitellogénine et d'œstradiol inférieurs aux femelles élevées en Côte d'Ivoire, mais les origines génétiques des poissons étant différentes, on ne peut conclure à un effet spécifique des conditions d'élevage en Côte d'Ivoire. En revanche les caractéristiques hormonales des femelles de Pologne sont identiques entre les deux températures d'élevage (24 et 28°C).

Un point notable : une différence nette apparaît entre les femelles en début de vitellogénèse, selon qu'elles achèveront ou pas leur cycle sexuel : un certain nombre de femelles présentent un déficit en œstradiol et vitellogénine, et ces femelles n'achèveront pas leur cycle. Un premier point de blocage, sans doute au niveau des capacités de production d'œstradiol par les ovaires est mis en évidence à ce stade. En revanche, aucune différence n'apparaît dans les taux de testostérone.

Pour les femelles avec un grand nombre d'ovocytes atypiques "translucides" en fin de vitellogénèse, aucune des caractéristiques mesurées dans cette étude ne diffère des femelles "normales". Le seul critère discriminant est la fixation de l'anticorps anti-vitellogénine sur les coupes d'ovocytes, révélée par techniques d'histo-immunochimie, et qui met en évidence une moindre fixation sur ces ovocytes "atypiques".

Caractéristiques des différents stades sexuels en Côte d'Ivoire et Pologne

(les barres grisées indiquent les moyennes, les écart-types sont indiqués par les traits ; deux lettres différentes indiquent des moyennes significativement différentes à $p < 0.05$)

Figure 3 : Vitellogénine plasmatique en $\mu\text{g/ml}$

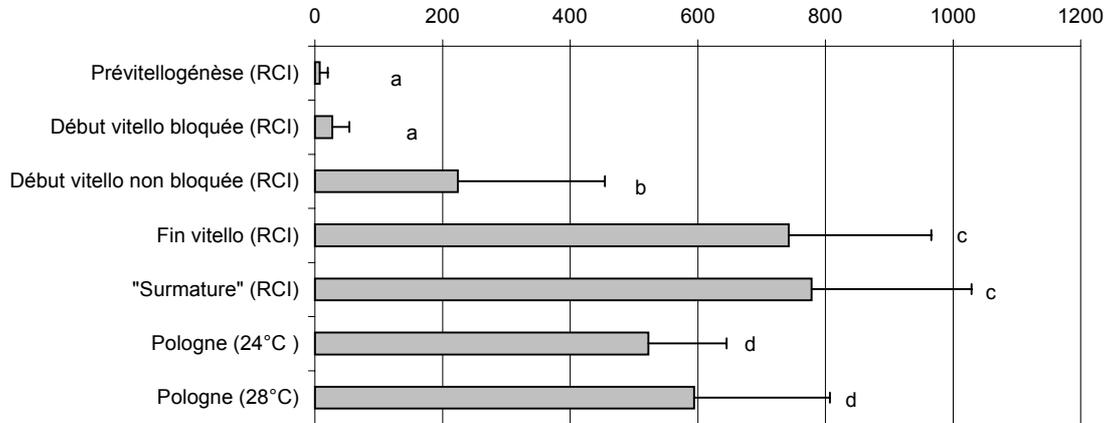


Figure 4 : Œstradiol plasmatique en ng/ml

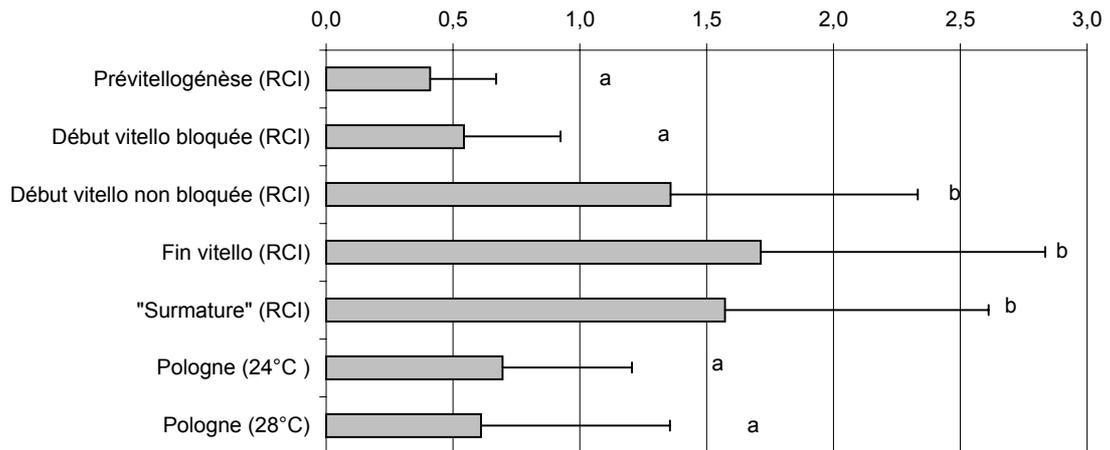
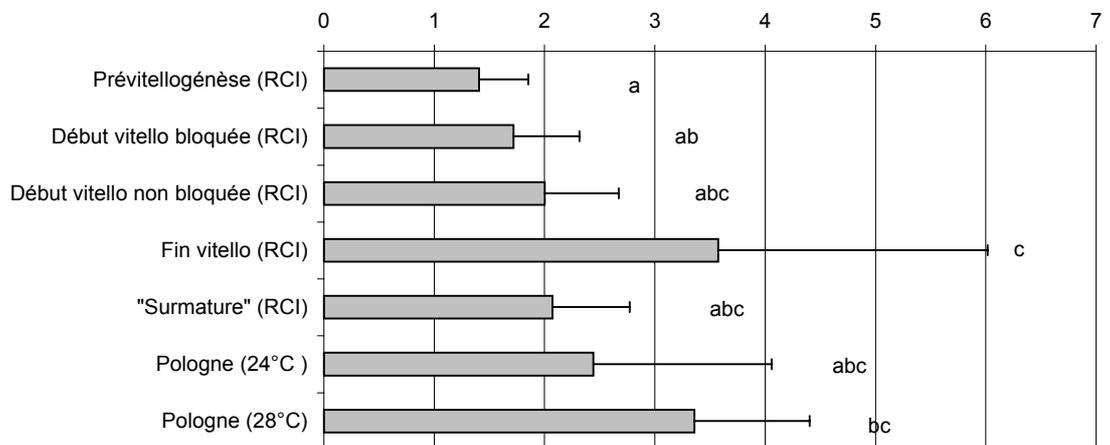


Figure 5 : Testostérone plasmatique en ng/ml



3.2 Influence du régime alimentaire

3.2.1 consommation alimentaire

Les consommations *ad libitum* sont directement proportionnelles au poids du corps, et la consommation d'aliment se substitue un peu à la consommation d'herbes.

Si l'on calcule la quantité d'herbes consommée par poisson et par jour, on obtient l'équation suivante :

- quantité consommée = 12 % du poids du corps ($r^2=0,79$), avec consommation d'aliment
- quantité consommée = 15 % du poids du corps ($r^2=0,77$), avec des herbes comme seule source alimentaire.

Ces relations sont constantes quel que soit le poids du corps entre 100 g et 1 kg de poids moyen.

Les poissons consomment entre 10 et 60% de la biomasse apportée dans l'étang (le reste est composé de parties dures, tiges... non consommables).

3.2.2 croissance

Les courbes de croissance des différents étangs sont reprises sur la Figure 6.

Le 19 novembre, au terme de 8 mois de grossissement, les résultats sont les suivants :

Régime	Herbes + aliment		Herbes <i>ad lib.</i>		Herbes rationnées	
Poids moyen initial (g)	158	326	158	326	158	326
Poids moyen final (g)	1133	1427	797	953	568	622
Gain moyen quotidien (g/j)	4.0	4.5	2.6	2.6	1.7	1.2
Rendement (t/ha/an)	2.5	2.8	1.6	1.6	1.1	0.8

On observe que les performances de croissance ne diffèrent quasiment pas entre les réplicats, malgré des poids moyens initiaux différents. Cependant, la croissance est inférieure aux résultats observés à faible densité en barrage avec une alimentation à l'herbe.

Deux abattages ont été effectués, respectivement les 30 mai (âge des poissons : 10 mois) et 13 septembre (âge 13,5 mois).

3.2.3 état d'engraissement

L'état d'engraissement a été évalué par une pesée du poids du foie et, lors du second prélèvement, des graisses péri-viscérales. Le Rapport hépato-somatique (RHS : poids du foie / poids du corps en g/kg) a été calculé pour chaque individu. Lors du second prélèvement, les graisses périviscérales (adhérentes au tube digestif) ont été prélevées et pesées sur la demi-longueur du tube digestif. Leur poids a également été rapporté au poids corporel.

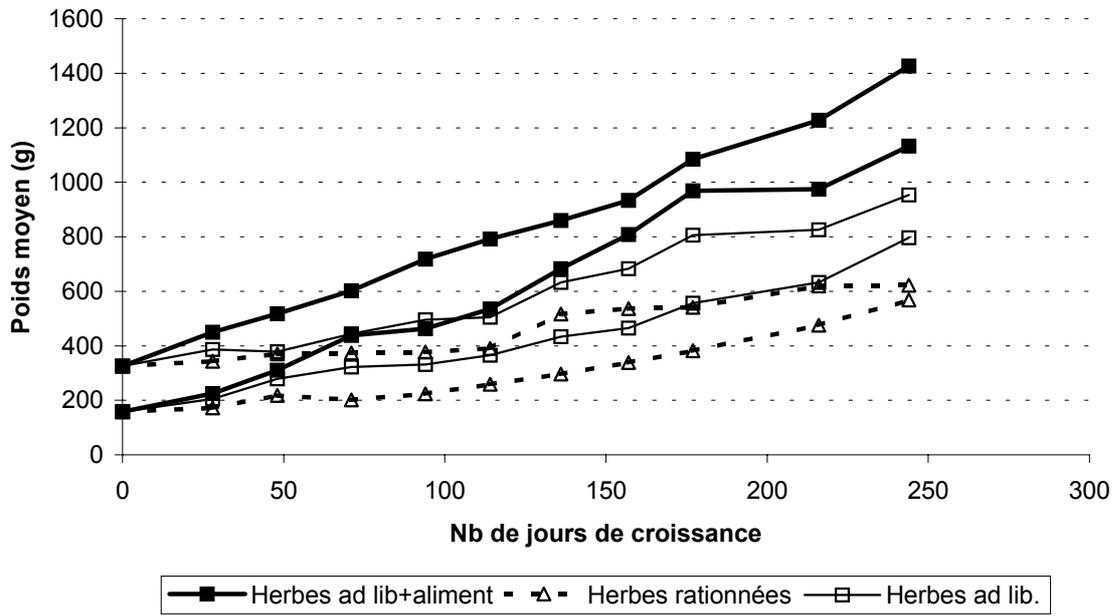
Aucune différence significative n'apparaissant selon le sexe, on a regroupé les individus par régime.

Résultats concernant l'état d'engraissement (les lettres différentes indiquent des différences significatives à $p<0.05$)

Régime	RHS à 10 mois	RHS à 13,5 mois	Graisses à 13,5 mois
Herbes rationnées	10.78 ± 1.77 (a)	12.05 ± 1.47 (a)	2.48 ± 0.82 (a)
Herbes <i>ad lib</i>	11.98 ± 1.97 (a)	13.15 ± 1.26 (b)	3.39 ± 1.45 (b)
Herbes <i>ad lib</i> +aliment	17.07 ± 1.96 (b)	13.96 ± 2.03 (b)	4.84 ± 1.09 (c)

On voit apparaître des différences d'engraissement significatives selon les régimes : à 10 mois (2 mois après l'établissement des régimes), les animaux complémentés à l'aliment ont un RHS supérieur aux deux autres régimes. Trois mois et demi plus tard, ce sont les poissons rationnés qui ont un RHS inférieur aux deux autres régimes, tandis que les trois régimes se différencient pour le poids des graisses périviscérales ramené au poids du corps.

Figure 6 : Croissance des différents lots expérimentaux



3.2.4 développement sexuel

3.2.4.1 Gonades femelles

Le développement sexuel des femelles a été évalué par le Rapport gonado-somatique (RGS : poids des gonades sur poids du poisson éviscéré, en g/kg).

Données de RGS des femelles lors des deux abattages :

(les lettres différentes indiquent des différences significatives à $p < 0.05$)

Régime	RGS à 10 mois	RGS à 13,5 mois
Herbes rationnées	$3.58 \pm 0.96(b)$	$2.78 \pm 1.91 (a)$
Herbes ad lib	$2.70 \pm 0.56(a)$	$2.72 \pm 0.67 (a)$
Herbes ad lib+aliment	$2.44 \pm 0.58(a)$	$2.66 \pm 0.74 (a)$

A 10 mois, les femelles rationnées ont un RGS plus élevé que les autres régimes. En fait, il n'y a aucune différence significative entre les poids absolus des gonades des différents groupes, seul le fait que les femelles rationnées aient un poids plus faible est à l'origine de leur RGS inférieur. A 13,5 mois, aucune différence significative n'apparaît entre les régimes (en revanche, les poids absolus des gonades diffèrent significativement).

3.2.4.2 Gonades mâles

Le développement sexuel des mâles a également été évalué par le Rapport gonado-somatique.

Données de RGS des mâles lors des deux abattages :

(les lettres différentes indiquent des différences significatives à $p < 0.05$)

Régime	RGS à 10 mois	RGS à 13,5 mois
Herbes rationnées	0.29 ± 0.20	0.47 ± 0.10
Herbes ad lib	0.24 ± 0.15	0.57 ± 0.17
Herbes ad lib+aliment	0.26 ± 0.14	0.50 ± 0.15

Aucune différence significative n'apparaît entre les régimes à 10 mois ni à 13,5 mois (là encore, cela suppose des différences importantes en poids absolu, puisqu'il y a un rapport de poids de 1 à 2 entre les régimes extrêmes).

A 13,5 mois, aucun des mâles ne présente de nageoires pectorales "rugueuses", indice de la maturité sexuelle.

3.2.4.3 Œstradiol à 10 mois

Les taux d'œstradiol plasmatique ont été dosés sur les différents individus, les moyennes \pm écart-type sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Régime	Sexe	E2 à 10 mois, en ng/ml
Herbes rationnées	Femelles	0.24 ± 0.98
	Mâles	0.29 ± 0.20
Herbes ad lib	Femelles	0.29 ± 0.56
	Mâles	0.09 ± 0.15
Herbes ad lib+aliment	Femelles	0.32 ± 0.58
	Mâles	0.18 ± 0.14

Aucune différence significative n'apparaît, ni entre sexes, ni entre régimes, sans doute du fait de l'état prépubère des animaux.

3.3 Influence des hautes températures

Cette influence a été testée par la réponse des animaux à l'induction de ponte à différentes températures (expérience menée en Pologne).

Résultat des inductions :

Température	Injections	Nb de femelles	Nb d'ovulations
24°C	Pimozide	8	5 (dont 1 partielle)
	Pimozide+GnRH	8	8 (dont 2 partielles)
28°C	Pimozide	7	2 (2 partielles)
	Pimozide+GnRH	7	2 (dont 1 partielle)

Il apparaît clairement que les femelles maintenues deux semaines à 28°C répondent beaucoup moins bien à l'induction par rapport à celles maintenues à 24°C. A 28°C, 3 pontes sur 4 sont intervenues "en avance", 12 h PI¹ (aucune à 24°C). Par ailleurs, le pimozide seul est capable d'induire la ponte chez certaines femelles.

Analyse des profils hormonaux : (voir figure 7)

Pour la LH, il apparaît que les poissons maintenus à 28°C ont une augmentation plus rapide de leur taux plasmatique, mais qui plafonne à 12 h post-injection et a tendance à diminuer par la suite (malgré la seconde injection de GnRH). A 24°C, les taux de LH augmentent lentement jusqu'à 12 h PI, puis sont augmentés par la seconde injection chez les poissons piqués au GnRH.

Les profils de $17\alpha 20\beta$ sont encore plus différents : un grand pic 6 h PI chez les poissons "induits" à 28°C, et un quasi-blocage chez les témoins, alors qu'à 24°C le pic n'intervient que vers 12 h PI, d'une ampleur similaire chez les "témoins" et les "GnRH". Les femelles à 28°C atteignent des taux de $17\alpha 20\beta$ plasmatique à 6 h PI largement supérieurs aux femelles à 24°C. Aux autres moments, les différences ne sont pas significatives.

La figure 8 reprend les profils hormonaux des groupes induits (GnRH + pimozide) aux deux températures. A 24°C, tous les poissons qui atteignent ou dépassent 12 ng/ml de LH et/ou 0,5 ng/ml de $17\alpha 20\beta$ ovulent. A 28°C en revanche, il n'est pas possible de faire de telles distinctions : les taux de LH et de $17\alpha 20\beta$ n'expliquent pas la présence ou l'absence de ponte.

3.4 Technologies de la reproduction

L'expérience d'induction en Côte d'Ivoire a suivi le protocole réalisé en Pologne pour voir s'il était possible de faire un parallèle entre les résultats obtenus à haute température en Pologne et la situation ivoirienne. Toutefois, la température ambiante en Côte d'Ivoire lors de l'expérience a légèrement varié au cours de l'expérience, la moyenne étant de 27,7°C.

La totalité des femelles induites (9) a vraisemblablement subi la maturation (ovocytes translucides), et certaines (4) dès 6 h PI. Cependant, aucune n'a ovulé (ou alors très partiellement : quelques ovocytes extraits par stripping), sans doute comme conséquence du stress des manipulations répétitives pour les prélèvements. Chez les femelles témoins, aucune maturation ni ovulation n'ont été constatées.

La figure 9 présente les résultats de l'expérience ivoirienne et la comparaison avec les femelles polonaises induites à 28°C. Pour les taux de LH plasmatique, il n'y a pas de différence significative entre les femelles de Pologne et les femelles de Côte d'Ivoire. Toutefois, les femelles de Côte d'Ivoire ont des taux un peu plus élevés et qui progressent encore 12 h PI, à la différence des femelles de Pologne élevées à 28°C dont les taux de LH diminuent après 12 h PI.

¹ PI : post-injection: temps intervenu entre la première injection et le moment du prélèvement

Figure 7 : Evolution des taux de LH et $17\alpha 20\beta$ des femelles induites (Pim+GnRH) et "témoins" (Pim seul)

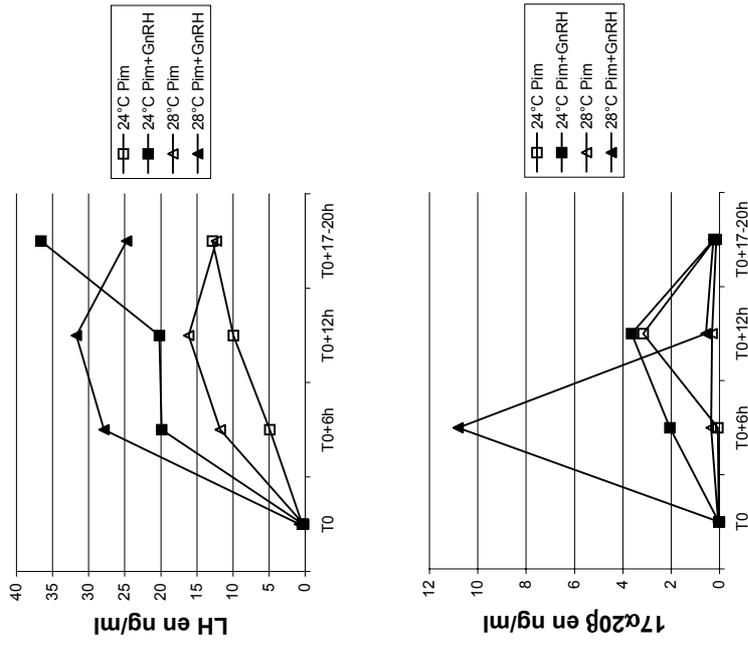
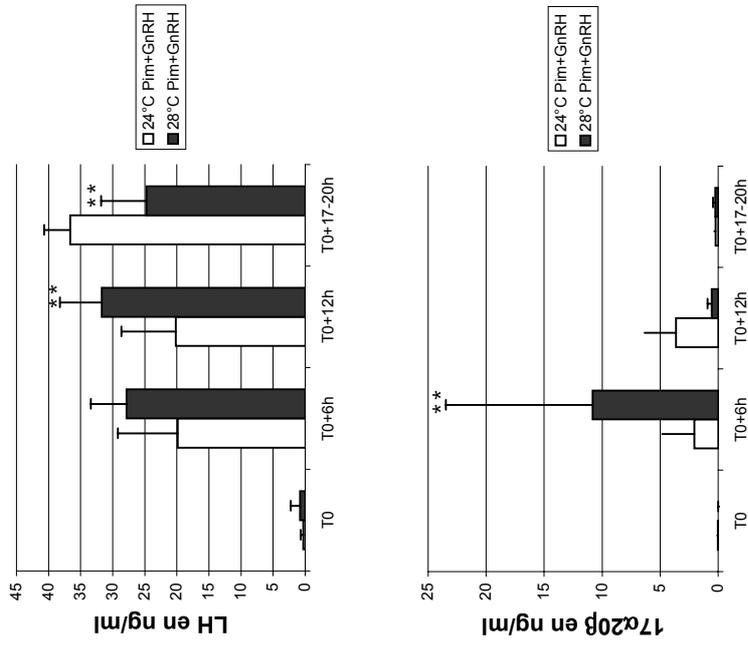


Figure 8 : Effet de la température sur les femelles induites

les moyennes (barres) sont indiquées avec les écart-types (traits verticaux)
 les ** indiquent une différence significative entre les deux températures ($p < 0.01$)



Pour la $17\alpha 20\beta$, l'allure des profils plasmatiques est tout à fait similaire entre la Côte d'Ivoire et les femelles maintenues à 28°C en Pologne : on observe le même pic 6 h PI, suivi d'un effondrement des taux. La légère hausse (non significative) des taux des témoins à 6 h PI est probablement due à une contamination des seringues de prélèvement par les plasmas des femelles induites.

Les taux d'AMPC ovariens diminuent lentement au cours de l'expérience, la différence ne devenant significative que 18 h PI.

Aucun des paramètres mesurés, y compris les taux d'œstradiol et de testostérone en début d'expérience (données non reprises ici) ne permet de discriminer les femelles à maturation précoce (6 h PI) ou "normale" (18 h PI).

4 Conclusions et perspectives

4.1 Description des cycles sexuels

Au niveau des cycles sexuels, outre la description de l'évolution des paramètres hormonaux qui n'était pas connue, le principal résultat est le déficit en œstradiol et vitellogénine de certaines femelles en début de vitellogénèse, qui est manifestement révélateur d'un blocage dans nos conditions. Ce blocage pourrait être d'origine alimentaire ou thermique, mais rend certaines femelles inaptes à la reproduction une année donnée. Cette caractéristique pourrait permettre de sélectionner les femelles en début de vitellogénèse afin d'éliminer celle qui n'achèveront pas le cycle. Les femelles qui achèvent leur cycle semblent tout à fait similaires, pour les profils hormonaux, aux femelles élevées en conditions tempérées.

4.2 Influence du régime alimentaire

Il faut tout d'abord souligner les contraintes expérimentales, qui ont limité les essais à la station piscicole de Gagnoa. Cette faible surface d'étangs a contraint à utiliser des densités d'élevage élevées, peu représentatives des conditions d'élevage en barrage qui sont majoritaires. Sur l'influence des conditions d'alimentation, la durée de l'élevage est manifestement trop courte pour le moment, puisque aucun des groupes n'a atteint la puberté. L'expérience doit se poursuivre au moins jusqu'à l'obtention des premiers poissons matures. Toutefois, les régimes ont une influence sur la croissance et l'état d'engraissement des poissons. Cette expérience démontre également la possibilité d'obtenir des rendements intéressants en carpe chinoise avec un régime uniquement herbacé (1,6 t/ha/an pour les animaux alimentés ad libitum). Toutefois, les résultats de croissance obtenus dans cette expérience sont nettement inférieurs aux résultats habituellement obtenus en barrages à très faible densité, ce qui signifie que même les poissons alimentés au FACI ne sont pas dans les conditions optimales, sans doute du fait de densités assez élevées (de 0,1 à 0,2/m², soit 10 à 20 fois plus que dans les barrages), mais qui sont nécessaires pour avoir suffisamment d'individus pour l'expérience. Il est clair qu'un pisciculteur n'aurait pas forcément les disponibilités en trésorerie pour alimenter pendant plusieurs mois ses poissons avec un aliment composé industriel. Il serait intéressant, quels que soient les résultats de cette expérience, d'étudier l'impact d'une modification temporaire de l'alimentation sur des géniteurs déjà pubères, pour voir si une complémentation limitée dans le temps pourrait avoir des effets positifs sur les proportions de femelles en fin de vitellogénèse prêtes à être induites. Il serait cependant intéressant de connaître les caractéristiques reproductives de poissons élevés dans de bonnes conditions en barrage, qui pourraient être plus intéressantes qu'une supplémentation alimentaire en étangs.

4.3 Influence des hautes températures

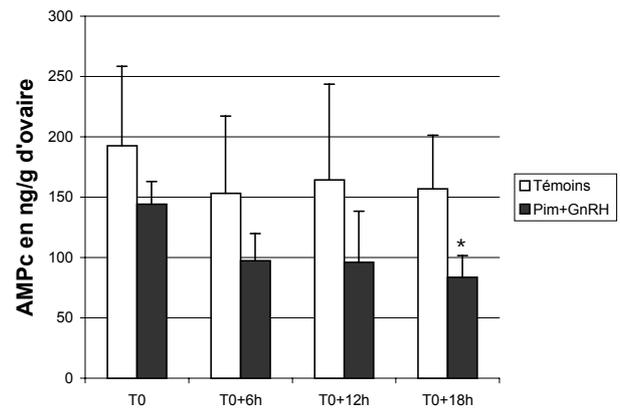
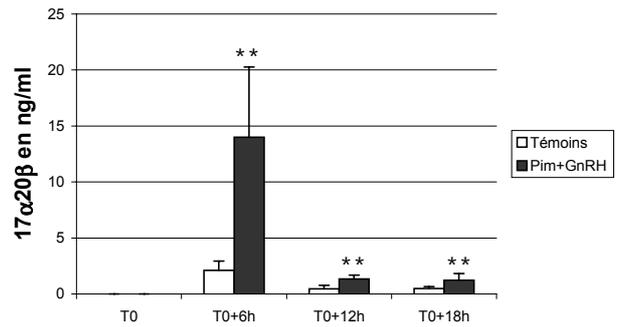
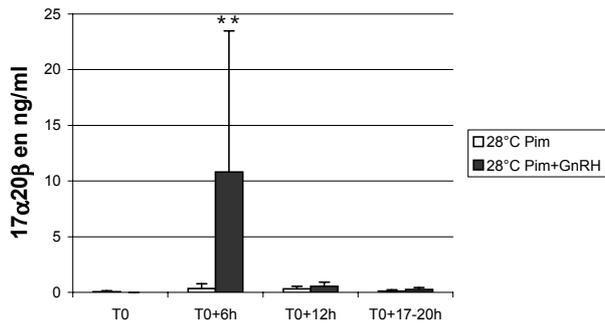
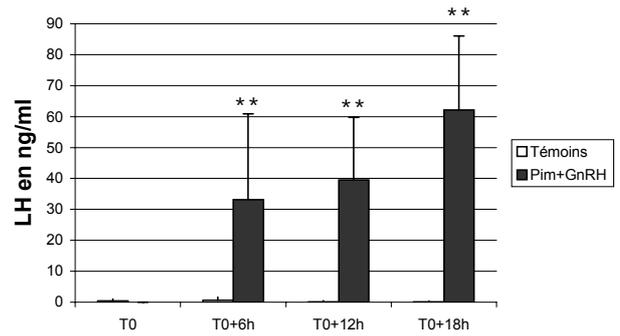
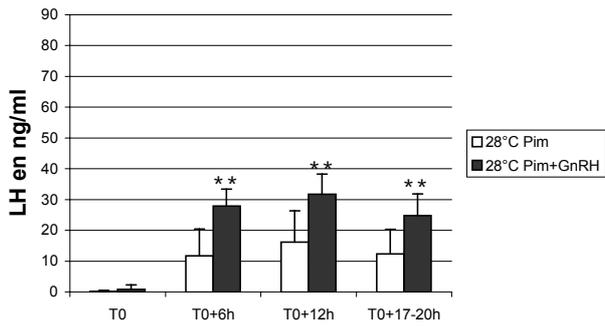
L'influence de la température d'élevage a été mise en évidence par l'expérience d'induction de la ponte en Pologne : une température de 28°C inhibe la ponte par rapport à 24°C. Les taux plasmatiques de LH ne diffèrent pas aux deux températures, ce qui signifie que la réceptivité hypophysaire n'est pas affectée. Même le pimozide seul est capable d'induire la décharge hypophysaire dans une certaine mesure. Toutefois, il semble y avoir des différences au niveau de la cinétique, puisque la seconde injection de GnRH est capable d'induire une augmentation de LH à 24°C, alors qu'elle est suivie d'une baisse de LH à 28°C : à cette température, soit l'hypophyse est "vidangée", soit elle n'est plus réceptive au GnRH, soit le blocage dopaminergique est restauré.

Figure 9 : Evolution des taux de LH, $17\alpha 20\beta$ et AMPc des femelles induites (Pologne à 28°C et Côte d'Ivoire)

les moyennes (barres) sont indiquées avec les écart-types (traits verticaux)
 les étoiles signalent des différences entre témoins et induits significatives à $p < 0.05$ (*) ou $p < 0.01$ (**)

Pologne

Côte d'Ivoire



De même, la cinétique de la $17\alpha 20\beta$ plasmatique est différente aux deux températures : une augmentation rapide (6 h PI) et intense des taux à 28°C, alors qu'elle intervient plutôt à 12 h PI et est plus limitée à 24°C. Là encore, il semble que les capacités ovariennes de synthèse de $17\alpha 20\beta$ ne soient pas inhibées, mais plutôt accrues aux plus hautes températures. Le blocage de l'ovulation à 28°C doit donc se situer en aval de la $17\alpha 20\beta$ sur la cascade de réaction précédant l'ovulation. Les paramètres relevés lors de cette expérience ne permettent pas d'aller plus loin dans l'explication mécaniste de ce phénomène. On n'observe pas la hausse initiale de l'AMPc intra-ovocytaire (le premier prélèvement à 6 heures est probablement trop tardif) et la baisse a l'air d'intervenir ensuite dans une certaine mesure. Deux hypothèses peuvent être produites pour le blocage aux hautes températures : soit (1) un blocage dans le mécanisme de maturation/ovulation provoqué par le $17\alpha 20\beta$, soit (2) un blocage lié à une trop forte libération de $17\alpha 20\beta$ (ce phénomène a déjà été observé chez d'autres espèces quand on leur injecte directement de la $17\alpha 20\beta$). Pour résoudre ce point, il serait nécessaire de réaliser des incubations d'ovocytes *in vitro* à différentes températures en présence de LH, de $17\alpha 20\beta$ ou d'AMPc. Malheureusement, toutes les tentatives d'incubation d'ovaires *in vitro* tentées cette année ont échoué et ne permettent donc pas de conclure sur ce point pour le moment.

4.4 Technologies de la reproduction

Les profils hormonaux des inductions réalisées en Côte d'Ivoire sont tout à fait similaires à ceux obtenus à 28°C en Pologne, et significativement différents de ceux obtenus à 24°C, ce qui permet de conclure que les phénomènes observés en Pologne aux hautes températures sont conformes à la situation ivoirienne.

D'un point de vue appliqué, il semble donc qu'il faille privilégier les saisons où l'eau est plus fraîche (voir courbe d'évolution des températures) pour avoir de meilleurs résultats d'induction (ce qui avait d'ailleurs été remarqué empiriquement auparavant).

D'autre part, il serait utile de travailler sur les protocoles d'injection pour tenir compte de la cinétique de réponse qui est vraisemblablement accélérée en conditions thermiques élevées. Ainsi, l'intervalle de 12 heures entre les deux injections paraît largement surévalué en conditions tropicales, ainsi que la dose de GnRH qui provoque un pic de LH vraisemblablement trop fort, qui pourrait inhiber les étapes ultérieures de l'ovulation.

4.5 Perspectives

Les travaux de cette année ont permis de mettre en évidence un blocage par les hautes températures lors de l'induction de la ponte, auquel il faudra trouver des solutions pour le développement de techniques de reproduction artificielle. La reproduction artificielle, obligatoire pour cette espèce, demande un niveau technique assez élevé. Toutefois, cet aspect ne semble pas limitant pour le développement d'écloseries privées, puisque les pisciculteurs maîtrisent déjà la reproduction artificielle du silure. Si des techniques sûres et robustes sont définies, il ne fait guère de doute qu'elles seront mises en œuvre vu la demande très forte pour les alevins de carpe herbivore.

Concernant le déroulement des cycles sexuels, les blocages apparaissant en début de cycle sont probablement dus à un déficit de production d'œstradiol par les ovaires de certaines femelles, dont l'origine n'est pas connue à ce jour. En revanche, les femelles achevant leur cycle ont des profils hormonaux similaires aux femelles élevées en conditions tempérées. L'impact de l'alimentation sur le déroulement de ces cycles n'a pu être élucidé du fait de la période relativement courte sur laquelle s'est déroulée l'étude. Toutefois, l'expérimentation est encore en cours et devrait aboutir dans quelques mois à des résultats exploitables pour les techniques d'élevage des géniteurs. Il serait également intéressant de développer la même approche chez des géniteurs déjà pubères pour tenter d'améliorer leurs performances.

Finalement, vu les enjeux de cette espèce pour le développement d'une pisciculture extensive durable, il est nécessaire de mettre au point un dispositif de recherche pérenne sur plusieurs années pour permettre d'associer les compétences de structures de recherche nationales et d'instituts étrangers disposant d'outils difficiles à développer sur le terrain. La définition des conditions d'alevinage et des impacts des différents facteurs sur la qualité des pontes, qui restent encore à explorer pourraient être conduits dans un tel cadre. Hors du cadre des techniques de production au sens strict, l'évaluation des besoins en alevins, des structures de production envisageables et les risques éventuels sur l'environnement seront également des thématiques à aborder dans le futur.