

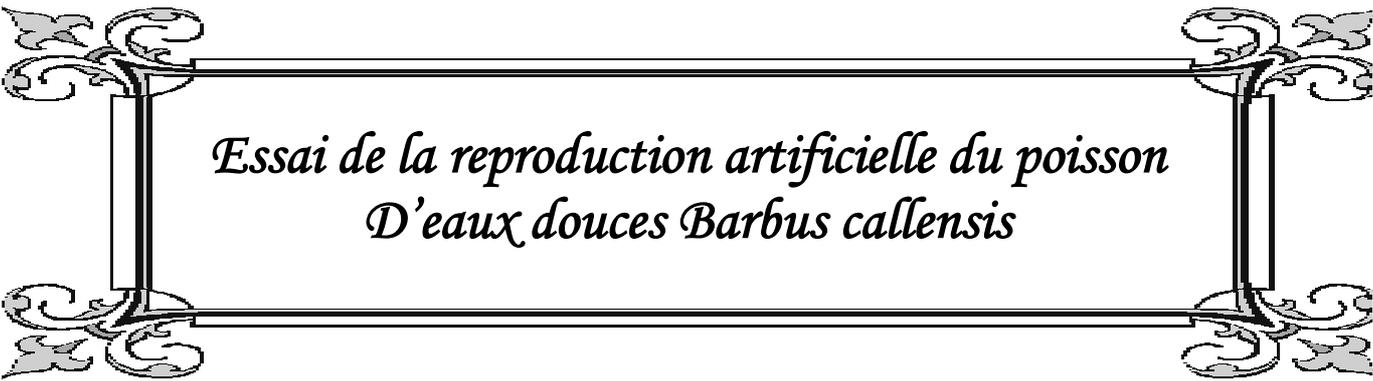
**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique**

**Université Abderrahmane Mira de Bejaia**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Biologiques de L'environnement**

# **Mémoire de Fin de Cycle**

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master II en Reproduction et  
Biotechnologies Animales

## **Thème**



*Essai de la reproduction artificielle du poisson  
D'eaux douces Barbus callensis*

### **Réalisé par :**

-M<sup>elle</sup> NASRI Safia

-M<sup>elle</sup> GUENDOZ Chafiaa

### **Devant le Jury :**

**Président:** M<sup>r</sup> RAMDANE. Z

**Promoteur:** M<sup>r</sup> ABERKANE.B

**Co-promoteur:** M<sup>r</sup> IGUER-OUADA. M

**Examineurs:** M<sup>r</sup> BELBACHIR. F

M<sup>me</sup> KADJI. H

Année Universitaire : 2012-2013

# Remerciements

*Ce travail à été réalisé dans laboratoire de biologie animale de l'université Abderrahmane Mira de Béjaia.*

*Nous remercions d'abord ALLAH qui nous a données la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons tout d'abord nos plus vifs remerciements, à Monsieur M.IGUER-OUADA d'avoir accepté de nous encadrer et orienter, grâce à lui nous avons pu approcher un aspect très important dans la biologie animale.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Mr. ABERKANE BOUBEKEUR, le promoteur, pour son rôle joué tout au long de cette étude.*

*Nos remerciements vont également à Mr Z.RAMDANE pour avoir eu l'amabilité de présider ce jury et Mme. H.KADJI et Mr F. BELBACHIR pour avoir acceptés, d'examinés et de juger notre travail.*

*Un remerciement particulier à M<sup>elle</sup> SADOUNI SOURAYA pour ses conseils et son soutien.*

*Un remerciement particulier à M<sup>elle</sup> TITOUAH HANANE pour son aide et son soutien et sa générosité tout au long de se travail.*

*Un grand remerciement à Mr NABI BRAHIM pour ses conseils et son soutien.*

*Enfin nous tenons à adresser nos remerciements les plus reconnaissants aux personnes de notre entourage qui ont su être présentes, parents et amis, pour leur soutien, leur patience et leur compréhension.*



# *D*édicaces

*Je tiens tout d'abord à remercier le bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné La force nécessaire et la patience qui nous a permet de mener ce modeste travaille que je dédie ;*

*Au deux être les plus chers au monde qu'ont donné sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance et qui m'ont soutenu nuits et jours et durant tout mon parcours a vous mes très chers parents.*

*-A mon très chère frère : Hamza.*

*-A mes très chères sœurs : Sabrina, Lamia, hanane.*

*-A mon grand père ainsi qu'à mes deux grands meres.*

*-A tous mes oncles surtout Karimou.*

*-A tous mes tantes surtout Souad et Sadika ainsi nana Rbiha.*

*-A tous mes cousins et cousines.*

*-A mes meilleures copines :Djaouida et Bania*

*-A mes amies surtout Souhila, Hanane, Sihem, Akila, Samia, Kahina , Rafika , Malika .*

*-A toute la promotion RBA 2012/2013.*

*-A tous ce qui m'ont soutenue de près ou de loin .*

*Safia*

**Liste des tableaux**

**Tableau N°I:** Paramètres démographique du barbeau fluviatile (*Barbus barbus* L. 1758).....6

**Liste des figures**

**Figure N°01** : Principaux maillons de la chaîne physiologique des événements qui vont de la réception de stimuli environnementaux à la libération de gamètes matures..... 13

**Figure N°02** : Mélange des gamètes dans la solution fécondante.....15

**Figure N°03** : Bouteilles de Zoug pour l'incubation des œufs.....16

**Figure N°04** : Carte géographique de la station d'échantillonnage (Source : Google Earth)..21

**Figure N°05** : Photo d'un barbeau (*Barbus barbus callensis*).....22

**Figure N°06** : Injection de l'hormone.....23

**Figure N°07** : la collecte de sperme.....24

**Figure N°08** : Variation de la VSL ( $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps.....27

**Figure N°09** : Variation de la VCL ( $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps.....28

**Figure N°10** : Variation de la VAP ( $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps.....28

**Figure N°11** : Variation de la BCF (Hz) en fonction des milieux et du temps.....29

**Figure N°12** : Variation de la ALH ( $\mu\text{m}$ ) en fonction des milieux et du temps.....30

**Figure N°13** : Pourcentage des spermatozoïdes mobile en fonction des milieux et du temps.....31

**Figure N°14** : Pourcentage des spermatozoïdes statique en fonction des milieux et du temps.....31

**Liste des abréviations**

**Kg** : Kilogramme

**L** : Litre

**G** : Gramme

**m/s** : Mètre Par Seconde

**C** : Celsius

**Cm** : Centimètre

**Mg /l** : Milligramme par litre

**Spzs** : Spermatozoïdes

**M** : Mètre

**GnRH** : Gonadotropin Releasing Hormone

**FSH** : Follicule Stimulating Hormone

**LH** : Luteinizing Hormone

**GtH** : Gonadotropine Hormone

**VSL** : Velocity Straight Line

**VCL** : Velocity Curvilinear

**VAP** : Velocity Averag Path

**BCF** : Beat Cross Frequency

**ALH** : Averag Lateral Head

**T** : Temps

**µm/s** : Micromètre par Seconde

**Hz** : Hertz

**NaCl** : Chlorure de Sodium

**KCl** : Chlorure de Potassium

**H** : Heure

**µl** : Microlitre

**CASA**: Computer-Assisted Sperm Analysis

---

## *SOMMAIRE*

---

## Sommaire

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Liste des abréviations

## Introduction.....1

## Partie 1 : Revue bibliographique

I.Généralité.....	2
I.1. Description de l'espèce <i>Barbus barbus callensis</i> .....	2
I.1.1. Définition.....	2
I.1.2. Morphologie.....	2
I.2. Systématique de <i>barbus callensis</i> (valenciennes, 1842).....	2
I.3.Ecologie.....	3
I.3.1. Habitat.....	3
I.3.2. Répartition géographique.....	3
I.3.3. Régime alimentaire.....	3
I.4. Reproduction.....	4
I.4.1. Type de reproduction.....	4
I.4.2. Les conditions de la reproduction chez le barbeau.....	4
I.4.3. Description macroscopique des gonades.....	5
I.4.4. Les facteurs environnementaux influençant sur la reproduction.....	7
I.4.4.1. Photopériode.....	7
I.4.4.2. Température.....	7
I.4.4.3. Alimentation.....	8
I.4.4.4. Oxygénation. ....	9
I.4.4.5. Salinité.....	9
I.4.4.6. La vitesse du courant.....	9
II. Endocrinologie des poissons téléostéens.....	9
II.1. l'hypophyse.....	10
II.2. L'hypothalamus.....	10
II.3. La glonde pinéal (épiphyse).....	10

---

<b>II.4. Traitement hormonaux chez les poissons</b> .....	11
<b>II.4.1. la glande pituitaire</b> .....	11
<b>II.4.2. l’HCG (Human Chorionic Gonadotropine)</b> .....	11
<b>II.4.3. la GnRH (Gonado-releasing hormone)</b> .....	12
<b>II.5. Mode d’injection des hormones</b> .....	12
<b>III. Les étapes de la reproduction artificielle</b> .....	14
<b>III.1. Sélection des géniteurs</b> .....	14
<b>III.2. Induction de la reproduction chez les géniteurs</b> .....	14
<b>III.3. Insémination artificielle (fécondation artificielle)</b> .....	15
<b>III.4. Incubation</b> .....	16
<b>III.5. Eclosion</b> .....	16
<b>IV. Conservation du sperme des poissons</b> .....	17
<b>IV.1. Cryoconservation du sperme</b> .....	17
<b>IV.2. Les dilueurs de conservation</b> .....	17
<b>IV.2.1. les solutions minérales</b> .....	17
<b>IV.2.2. les tampons</b> .....	18
<b>IV.2.3. Les glucides</b> .....	18
<b>IV.2.4. les composés stabilisants la membrane</b> .....	18
<b>IV.2.5. Les cryoprotecteurs</b> .....	19
 <b>Partie 2 : Matériel et méthodes</b>	
<b>I. Travail de terrain</b> .....	20
<b>I.1. Echantillonnage</b> .....	20
<b>I.2. La température</b> .....	20
<b>I.3. La photopériode</b> .....	20
<b>II. Travail de laboratoire</b> .....	22
<b>II.1. Matériel utilisé</b> .....	22
<b>II.2. La Pesée</b> .....	22
<b>II. 3. Préparation des doses hormonales et injection d’hormone Ovopel</b> .....	23
<b>III. la conservation du sperme de barbeau</b> .....	23
<b>III.1. Collecte du sperme</b> .....	24
<b>III.2. Dilution du sperme</b> .....	24
<b>IV. Analyse du sperme par CASA</b> .....	24

**Partie 3 : Résultats et discussions**

<b>I. Variation des paramètres spermatiques en fonction des milieux et du temps.....</b>	<b>26</b>
<b>I.1.Variation de la VSL en fonction des milieux et du temps.....</b>	<b>26</b>
<b>I.2.Variation de la VCL et la VAP en fonction des milieux et du temps.....</b>	<b>27</b>
<b>I.3.Variation de la BCF et ALH en fonction des milieux et du temps.....</b>	<b>28</b>
<b>I.4.Variation du pourcentage des spermatozoïdes mobile et pourcentage des spermatozoïdes statiques en fonction des milieux et du temps.....</b>	<b>30</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>32</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

---

## *INTRODUCTION*

---

## **Introduction**

Grâce à la reproduction, les espèces animales et végétales se maintiennent sur notre planète, selon l'union internationale pour la conservation de la nature (**UICN, 2006**), plusieurs perturbations ont provoqué des pertes qui parfois sont irréversibles sur la biodiversité, soit par une intervention directe ou indirecte de l'homme. Seulement les poissons, 1173 espèces sont menacées d'extinction. Ces catastrophes s'exercent soit par la destruction et la fragmentation de l'habitat de plusieurs espèces, l'introduction d'espèces exogènes et les différentes formes de pollution.

D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (**FAO 2006**), 75% des stocks de poissons dans le monde sont menacés de surexploitation.

Les poissons constituent une source de protéines importante (actuellement avec 20% de l'apport protéique), riche en oligo-éléments, vitamines et en acides gras longs polyinsaturés (AGLPI) (**Kaushik, 2004**). Les poissons représentent une source régulière pour plus de 200 millions de personnes (**FAO, 2006**).

D'après **Legendre et Billard (1980)**, le caractère saisonnier de la reproduction des poissons est parmi les grandes particularités qui entravent l'approvisionnement du marché international, et la maîtrise de la reproduction artificielle est devenue ainsi un passage obligatoire dans l'optimisation des productions en aquaculture

C'est dans ce contexte d'optimisation que s'inscrivent les objectifs du présent travail en ciblant le barbeau comme modèle d'étude. Notre objectif est plus particulièrement la mise en route d'une reproduction artificielle par la mise en place de l'insémination artificielle. Comme la maîtrise de la conservation du sperme est une étape préalable à toute reproduction artificielle, nous avons aussi visé l'optimisation de la conservation du sperme du barbeau au réfrigérateur (4°C).

---

*REVUE BIBLIOGRAPHIQUE*

---

## **I. Généralité**

### **I.1. Description de l'espèce *Barbus callensis***

#### **I.1.1. Définition**

Le barbeau *Barbus callensis* (Valenciennes, 1842) est une espèce caractéristique de l'Afrique du Nord, le mot « Barbus » il provient du latin : barba : barbe par référence à ses barbillons buccaux. Quant au mot *callensis* vient de la première description de cette espèce dans le lac Calle situé en Algérie (Annaba). (**Djemali, 2005**).

Cette espèce a plusieurs noms communs, on cite parmi eux : barbet, barbu, barbot et barbeau. En anglais c'est « barbel ».

#### **I.1.2. Morphologie**

Le *Barbus callensis* a un corps fusiforme, cylindrique, caractère d'un bon nageur, avec une couleur brun jaunâtre et un ventre argenté. La forme du dos est légèrement bombé, tête longue et la nageoire caudale, anales et pelviennes de teinte orangée. Œil relativement petit, des lèvres mobiles et épaisses, avec présence de deux paires de barbillons sur le bord de la lèvre supérieure. Les écailles est de petites tailles (03-05mm de diamètre) (**Bruslé et Quignard, 2001**). Sa nageoire dorsale porte 4 rayons osseux simples dont le dernier est épineux (caractéristique du barbeau) (**Bouhbouh, 2002**).

### **I.2. Systématique de *Barbus callensis* (valenciennes, 1842)**

D'après **Nelson (1994)**, la position systématique du barbeau est la suivante :

<b>Phylum</b>	CORDES
<b>Classe</b>	OSTEICHTYENS
<b>Sous-classe</b>	ACTINOPTERYGIENS
<b>Super classe</b>	TELEOSTEENS
<b>Ordre</b>	CYPRINIFORMES
<b>Sous-ordre</b>	CYPRINOIDES
<b>Famille:</b>	CYPRINIDES
<b>Genre:</b>	Barbus
<b>Espèce:</b>	<i>Barbus callensis</i> (Valenciennes, 1842)

### **I.3.Ecologie**

#### **I.3.1.Habitat**

Le barbeau est une espèce qui fréquente les cours d'eau permanents ou même temporaires, où il se réfugie, lors de assèchements estivaux, dans les quelques trous ou points d'eau restants. *Barbus callensis* préfère notamment les rivières à fonds caillouteux, aux eaux courantes bien oxygénées, mais tolère aussi la vie dans les cours d'eau à fonds vaseux, plus profonds et dont les eaux sont chargés de taux très élevé d'alluvions, ce qui peut provoquer d'importantes mortalités. (Mort de poisson par asphyxie par concentrations de matériaux charriés atteignant les 100g/l)

Cette espèce s'adapte bien dans les retenues de barrages et les lacs collinaires, où il a connu une grande prolifération vue la disponibilité d'eau tout au long de l'année et l'abondance de la nourriture. *Barbus callensis* peut se rencontrer parfois en eau saumâtre, supportant des concentrations salines de 14g/L.

#### **I.3.2.Répartition géographique**

*Barbus callensis* est un poisson d'eau douce des eaux continentales du Maroc, de l'Algérie et de la Tunisie. Il est plutôt abondant dans l'oued El-Kebir dans l'Est de l'Algérie.

La répartition est liée à la vitesse du courant de l'eau qui est considérée comme un élément très important dans la distribution du barbeau (**Huet, 1954**).

En Algérie, les poissons d'eau douce sont représentés par 45 espèces dont 29 autochtones et 16 introduites, avec une majorité des Cyprinidés (24%) (**Bacha et Amara, 2007**)

#### **I.3.3.Régime alimentaire**

Selon **Mutambue (1996)**, Ce poisson est omnivore, Il varie en fonction de l'âge des poissons. Les jeunes se nourrissent presque exclusivement de cladocères et de quelques larves de chironomides.

Le régime alimentaire des adultes varie en fonction de la saison. En saison des pluies, il est constitué d'invertébrés aquatiques (essentiellement des larves d'éphéméroptères, de diptères,

de trichoptères et de petits coléoptères), d'insectes terrestres entraînés par l'eau de ruissellement et de quelques crevettes (*Cardina africana* et *Desmocarid trispinosa*). En saison sèche, ils se nourrissent presque exclusivement de crevettes, d'écaillés et d'hydracariens.

#### **I.4. Reproduction**

Les poissons sont généralement caractérisés par une activité de reproduction saisonnière qui est différente d'une espèce à l'autre en fonction de la capacité d'adaptation aux conditions environnementales et des facteurs de stimulation. Cette activité est contrôlée par des systèmes neuroendocriniens et endocriniens, le cycle reproducteur comprend principalement deux phases, la gaméto-genèse et la période du frai (**billard et breton , 1981**).

La fertilisation est une étape essentielle dans la reproduction sexuelle pour l'arrivée des nouveaux individus, c'est un processus fondamental nécessitant la fusion entre les deux gamètes, mâles et femelles (**Darszon et al ., 1999**).

##### **I.4.1.Type de reproduction**

La plupart des poissons téléostéens sont ovipares. La femelle pond les ovules (avant fécondation) le mâle répand sa laitance sur les ovules en pleine eau ou près du fond. L'ovule fécondé donne un œuf. Les œufs sont, soit pélagiques (flottant entre deux eaux) soit benthiques (tombant sur le fond) l'œuf éclot avant que le bébé ait fini de se développer pour donner naissance à une larve.

La « gestation » étant interrompue, cette larve ne peut pas se nourrir seule ; elle se nourrit donc de sa poche vitelline, jusqu'à ce qu'elle devienne alevin.

Au moment de la reproduction, beaucoup d'ovules ne sont pas fécondés, c'est pourquoi les poissons ovipares pondent beaucoup.

##### **I.4.2.Les conditions de la reproduction chez le barbeau :**

Dans les conditions naturelles, le barbeau fraie une fois par an , la période de reproduction est printanière (**Lucena et al., 1983**) .Il se reproduit quand la température atteint 14°C à 16°C. La ponte s'effectue sur le fond du biotope et les œufs pondus collent aux pierres. L'éclosion des œufs se produit deux semaines après la fécondation. Pendant la saison de fraie le dos et la tête des males se couvèrent de tubercules blanchâtres. Des expériences ont montré que le barbeau peut frayer plusieurs fois par an. Ce phénomène est le résultat de la réalisation de conditions optimales au niveau thermique (température de l'eau entre 20°C et

25°C), social (males et femelles groupés avec un sexe ratio de 1/1) et nutritionnel (nourriture abondante) (**Benabid,1990**).

### **I.4.3. Description macroscopique des gonades**

En se basant sur l'aspect macroscopique des gonades, nous avons établi une échelle de maturation composée de 6 stades (**Bouhbouh, 2002**).

#### **A. Stade I**

A ce stade, les gonades des deux sexes se présentent sous forme de filaments fins, transparents et disposés en forme de V dont la pointe se situe à l'extrémité postérieure de la cavité génitale.

#### **B. Stade II**

Les gonades dans ce cas, sont transparentes, chacune est longée par un fin vaisseau sanguin nettement visible, mais la distinction entre les deux sexes est toujours impossible.

#### **C. Stade III**

C'est à partir de ce stade que l'on peut aisément distinguer à l'œil nu les gonades males et femelles. Les ovaires ont une couleur rose claire portant parfois des taches jaunes et les testicules sont blancs bien vascularisés.

#### **D. Stade IV**

C'est la puberté, les gonades sont bien développées, leur poids occupe 4% du poids total. Les ovaires sont de couleur rose-orange et les testicules sont de couleur blanchâtre.

#### **E. Stade V**

C'est le stade de maturité sexuelle, où les gonades atteignent un poids maximum de 7 à 10% du poids total. La moindre pression sur l'abdomen fait couler la laitance chez le male et les œufs chez les femelles.

**F. Stade VI**

Les gonades sont flasques, leur poids a nettement diminué. Il est de 4 à 6% et 3% du poids total respectivement chez *Barbus fritschi* et *Barbus callensis*.

En conclusion les stades III et IV correspondent à la période de pré-ponte, le stade V à la période de ponte, quant au stade VI c'est la période post-ponte. Les stades I et II sont dits juvéniles.

**Tableau N°I :** Paramètres démographique du barbeau fluviatile (*Barbus barbus L. 1758*)

<b>Paramètres</b>	<b>Résultat</b>	<b>Références</b>
La longévité	Jusqu'à 25 ans	<b>(Bruslé et Quignard, 2001)</b>
La longueur	30-60 cm (Max : 1m)	<b>(Bruslé et Quignard, 2001)</b>
Le poids	5-7 Kg (Max : 13Kg)	<b>(Bruslé et Quignard, 2001)</b>
La période de reproduction	Mai-juin à début juillet	<b>(Bruslé et Quignard, 2001)</b>
La maturité sexuelle	Chez les males à une taille de 10cm (2 ans minimum) mais souvent à 12-13cm (3 ans) et chez les femelles à l'âge de 8 ans (35 cm).	<b>(Baras, 1992)</b>
La Fécondité	Une moyenne de 12 500 ovules par Kg de poisson avec 10 700 ovules pour une femelle de 35 cm.	<b>(Baras, 1992)</b>

#### **I.4.4. Les facteurs environnementaux influençant sur la reproduction**

##### **I.4.4.1. Photopériode :**

Plusieurs auteurs ont démontré le rôle saisonnier de la photopériode sur la reproduction des poissons, chez les cyprinidés, deux modes d'action de la photopériode ont été signalés, un premier par la valeur absolue de la durée d'éclairement et un deuxième par la variation de la durée d'éclairement (**Baras, 1992**). Chez le barbeau fluviatile, la photopériode croissante et la température sont les deux paramètres qui déclenchent la maturité sexuelle (**Poncin et al., 1987**).

Pour les espèces qui se reproduisent en automne c'est la décroissance de la photopériode qui stimule la maturité sexuelle, et c'est la chute de la température qui stoppe la ponte. Concernant le barbeau, d'après **Poncin et al., (1987)** c'est probablement la première hypothèse qui est à retenir, c'est-à-dire que l'augmentation de la température pendant la période printanière stimule la maturité sexuelle, et la décroissance de la photopériode en période post-estivale arrête la ponte et cela même quand la température reste favorable.

L'augmentation de la photopériode de manière rapide ou lente n'a pas d'effet sur le déclenchement de la saison de reproduction, chez le barbeau fluviatile sous une température constante de l'eau (20°C), la diminution de la longueur du jour sur une période de six mois inhibe la ponte chez le male et la femelle et sous les conditions naturelles ou constante de photopériode, la fin de la période du frai est spontanée (**Poncin, 1989**).

Avec une manipulation de la photopériode, la reproduction du barbeau fluviatile peut être effectuée sur toute l'année (**Poncin, 1992**). Pour cette espèce, la diminution de la durée d'éclairement en captivité par rapport à la durée naturelle au début de mois de mars, peut empêcher totalement la période de reproduction (**Poncin, 1996**). Le déterminisme de la saison de reproduction du barbeau fluviatile est due à une adaptation aux conditions environnementales de l'espèce, ceci empêche la production d'alevins en période post-estivale lesquels ne peuvent résister aux conditions brusques de l'hiver (**Poncin, 1989**).

##### **I.4.4.2. Température**

Les cyprinidés ne se reproduisent pendant la saison printanière qu'après le réchauffement de l'eau à une température optimale (**Huet, 1962**). La température joue un rôle

très important dans la ponte des cyprinidés et ceci aussi bien sur la maturité ovocytaire et l'ovulation que sur la spermiation.

Un nombre de degré-jours de température (addition des degrés de températures quotidiennes sur un certain nombre de jour) est indispensable chez cette famille pour déclencher la reproduction. La température est importante aussi pour le développement de plancton, première source alimentaire pour les alvins (**Billard, 1979**). La température de l'eau joue un grand rôle dans l'induction de la période de frai et l'augmentation à une valeur optimale maintient et accélère cette reproduction (**Mylonas et al., 2009**).

Des alevins de barbeau fluviatile récupérés du milieu naturel (Rivière d'Ourthe) et élevés à une température élevée (20°C) et sous photopériode naturelle, présentent une croissance accélérée et une maturité sexuelle précoce à l'âge de 18 mois au lieu des 7-8ans sous température naturelle (**Poncin, 1992**).

Toujours à cette même température (20°C) une femelle de barbeau fluviatile peut ovuler chaque 15 jours avec un maximum de 15 ovulations par an (**Poncin, 1989**).

Chez le barbeau fluviatile la température de l'eau (13,0-13,5°C) à l'aube et (14-15°C) du jour est considérée comme un seuil thermique.

La température intervient directement en agissant sur l'activité gonadotrope du complexe hypothalamo-hypophysaire produisant la GtH (gonadotrophine hormone) (**Barnabé, 1991**).

#### **I.4.4.3. Alimentation**

Les besoins métaboliques sont couverts par l'alimentation qui est le premier facteur de régulation de la gamétogenèse, une alimentation naturelle plus riche pourrait alors fournir les matières nutritives nécessaires au développement ovarien. La reproduction consomme de l'énergie que l'animal obtient de sa nourriture et la maturation ne s'effectue pas chez les poissons amaigris ne disposants pas de réserves mobilisables suffisantes (**Vincent et Saïdou, 1990**).

Chez le Hareng l'alimentation interrompue pendant la fraie reprend ensuite et sert à l'accumulation de graisses et à la reconstitution des gonades. Lorsque l'alimentation cesse,

bien avant la ponte, l'adiposité diminue mais les gonades continuent à grossir (**Barnabé, 1991**).

#### **I.4.4.4. Oxygénation**

La consommation horaire d'oxygène des géniteurs est de l'ordre de 100mg/kg de poids vif. Le taux minimal d'oxygène dans l'eau est de l'ordre de 6mg/L, il doit être à saturation lors de l'ovulation (après hypophysation). Une diminution de la température ne compense pas un déficit en oxygène au cours de cette phase (**Barnabé, 1989**).

#### **I.4.4.5. Salinité**

La salinité de l'eau pendant la saison de frai a une influence sur le succès de la reproduction (**sBobe et Labbé, 2009**). Dans des conditions de salinité élevée (à partir de 15g.l<sup>-1</sup>) le barbeau *Barbus callensis* (valenciennes, 1842) migre vers les zones où la concentration est optimale, il est cependant signalé une adaptation de cette espèce à des conditions élevée de salinité (**Kraiem et Pattee, 1988**).

#### **I.4.4.6. Vitesse du courant**

Le courant affecte profondément la distribution des poissons dans les cours d'eau, à chaque fois que la vitesse de mouvement des poissons est grande ils résistent mieux au courant. Le barbeau fluviatile est une espèce qui résiste au fort courant et ceci au moins pendant certain période. Sa reproduction nécessite des fonds caillouteux-gravelots et sa vitesse est en moyenne de 2,40 m/s, ce qui reste supérieur par rapport à la carpe (0,40m/s) mais moins que la vitesse du saumon (8,00m/s) (**Huet, 1962**).

## **II. Endocrinologie des poissons téléostéens**

Selon **Van der Kraak et al., (1997)** cité par **Christine (2007)**, la reproduction chez les poissons est sous la dépendance de l'action coordonnée de différentes hormones associées à l'axe cerveau-hypothalamus-hypophyse-gonades

## **II.1.l'hypophyse**

L'hypophyse est la principale glande endocrine contrôlant les processus physiologiques des vertébrés, il est constituée de deux types de tissus endocriniens : l'adénohypophyse et la neurohypophyse (**Grandi et Chicca, 2004**).

Pour toutes les espèces de téléostéens les hormones gonadotropiques (GtH : Gonadotrophine Hormone) de l'hypophyse jouent un rôle central dans la régulation de la reproduction. Comme les autres vertébrés, l'hypophyse des poissons secrète deux types d'hormones gonadotropes. Ces gonadotropines étaient anciennement nommées GtH I et GtH II. L'évolution des connaissances dans la biologie des poissons a permis d'assimiler la GtH I à la folliculostimuline (FSH : Follicule Stimulating Hormone) et la GtH II à l'hormone lutéinisante (LH : Luteinizing Hormone) des autres vertébrés (**Christine , 2007**).

La GtH stimule le développement complet du testicule et la spermiation, et chez la femelle, elle induit la vitellogénèse endogène et elle induit également la maturation ovocytaire (**Lévèque et al., 1988**).

## **II.2.L'hypothalamus**

Chez tous les Vertébrés, l'hypothalamus, situé à la base du cerveau, apparaît comme le centre d'intégration et de régulation de nombreuses fonctions vitales pour l'organisme.

Il intègre aussi les informations issues du milieu extérieur et transmises par le système nerveux et il contrôle notamment le fonctionnement de l'hypophyse.

La substance libérée par les cellules neurosécrétrices qui a une action stimulante sur la sécrétion des gonadotropines s'appelle hormone libérante ou GnRH (gonadotropin releasing hormone) (**Lévèque et al., 1988**).

La GnRH stimule la libération des GtH par les cellules gonadotropes de l'adénohypophyse, et contrôle directement l'activité des GtH (**Christine , 2007**).

## **.II.3.La glande pinéal (épiphyse)**

L'hypothalamus n'est cependant pas le seul régulateur nerveux de la fonction gonadotrope. Un autre organe du système nerveux central, l'organe pinéal ou épiphyse, pourrait participer au contrôle de la sécrétion des gonadotropines chez les téléostéens. L'épiphyse est un organe à la fois sensoriel contenant des cellules photosensibles, et

endocrines, étant le principal site de production de la mélatonine, son influence sur la fonction gonadotrope pourrait s'exercer par l'intermédiaire de l'hypothalamus (**Lévèque et al., 1988**).

#### **II.4. Traitement hormonaux chez les poissons**

De nombreux traitements hormonaux ont été utilisés pour la stimulation de la ponte chez les femelle et la spermiation chez les males ainsi la qualité des gamètes dans la reproduction artificielle.

##### **II.4.1. la glande pituitaire**

Chez les cyprinidés d'eau douce l'un des traitements les plus utilisée et la plus efficace c'est l'hormone extraite de la pituitaire d'un poisson (donneurs) pour l'indministré a un autre poisson (receveur). (**Woynarovich et Horvath, 1981**).

L'hormone la plus active sera celle qui provient de la même famille que le poisson receveur. Par exemple l'hormone gonadotrope de salmonidés est plus active sur les salmonidés que sur les cyprinidés.

Elle contient une quantité variable de la GtH (Hormone Gonadotrope), qui joue un rôle important pendant la phase finale de maturation des gamètes ainsi sur le déclenchement de l'ovulation chez les femelles (**Grandi et al., 2004**).

##### **II.4.2. l'HCG (Human Chorionic Gonadotropine)**

C'est une hormone gonadotrope mammalienne, elle est utilisée pour déclencher la ponte.

Malgré que cette substance (HCG) est phylogénétiquement éloigné du poisson (issue de l'urine de femme enceinte) est plus active que n'importe qu'elle dose d'hypophyse de poisson, cette efficacité paraît liée à la présence dans l'HCG de composes qui, chez les mammiferes, ont pour but de s'opposer au rejet du foetus (perçu comme un element etranger) par l'organisme maternel (**Barnabe, 1985**).

### **II.4.3. GnRH (Gonado-releasing hormone)**

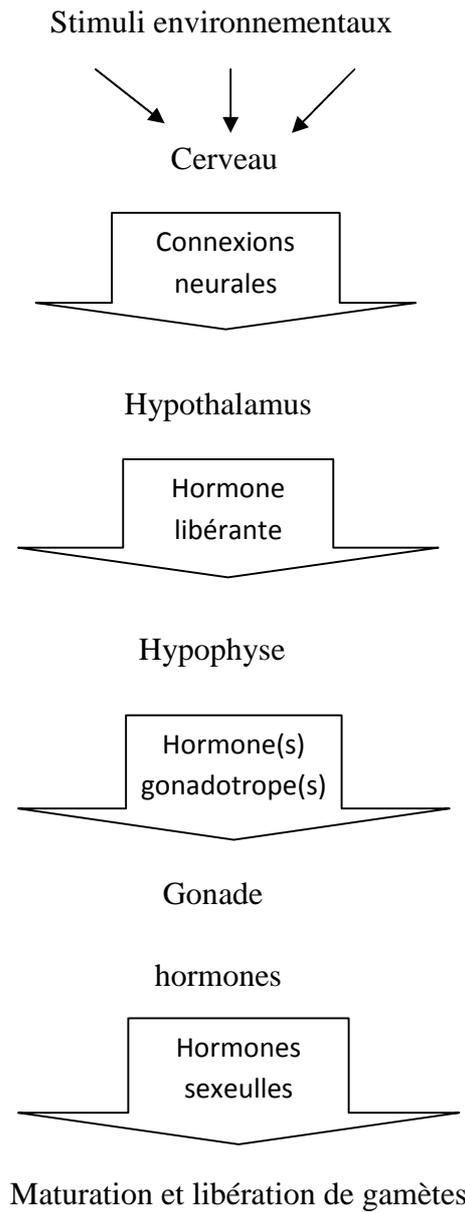
Est une hormone stimulante de la sécrétion de l'hormone endogène gonadotropine (GtH), elle est aussi utilisé pour résoudre le problème d'asynchronisme pendant la frai (**Froud Bosak Kahkesh et al., 2010**).

Les agonistes synthétiques de la gonadolibérine (GnRHa) qui agissent au niveau de l'hypophyse pour induire la libération de la LH endogène magasins, qui, dans agissent à leur tour au niveau de la gonade et induire la stéroïdogénèse et le processus de la maturation ovocytaire et spermiation (**Constantinos et al., 2010**). Un résultat positif n'est obtenu que si l'on injecte simultanément au GnRH une substance antagoniste de la dopamine (anti-dopamine) tel que la domperidone .

### **II.5.Mode d'injection des hormones :**

-les doses des hormones a injecté, chez les femelles, la première injection présente 1/10 du volume total à injecter dite stimulante, favorise l'évolution des ovules vers les derniers stades de maturation ,la seconde injection appelée décisive ou de résolution (9/10 du volume total) est pratiqué 12 à 14heures après l'injection stimulante.

Les males ne subissent qu'une seule injection hormonale dont le rôle est d'augmenter le volume de laitance (**Meddour et al.,2005**)



**Figure N°01.** Principaux maillons de la chaîne physiologique des événements qui vont de la réception de stimuli environnementaux à la libération de gamètes matures.

### **III. Les étapes de la reproduction artificielle**

La reproduction (ou propagation) artificielle des poissons se présente comme une chaîne d'activités qui offrent certains points de similarité entre les espèces, mais qui diffèrent sur d'autres. Ces activités peuvent s'énumérer comme suit:

#### **III.1.Sélection des géniteurs**

La capture des poissons adultes consiste à pêcher les géniteurs pendant leur période de fraie naturelle, ou de leur migration vers leurs frayères. Mais ces poissons matures sont très vulnérables aux blessures au moment de leur capture dans les filets ou pendant le transport. De plus, les géniteurs sauvages ne sont pas faciles à capturer: ils deviennent nerveux, sautent et peuvent refuser de s'alimenter.

Les signes de maturité chez les géniteurs :

##### Femelles:

- ventre bien arrondi.
- papille génitale gonflée, en saillie, rouge ou rose.
- orifice anal également gonflé et en saillie.
- chez certains poissons, l'abdomen prend aussi une couleur rougeâtre.
- certaines espèces revêtent une coloration nuptiale avant l'ovulation.

##### Mâles

- lorsqu'on presse leurs flancs, il y a libération de quelques gouttes de sperme.
- chez certaines espèces (carpes chinoises et grandes carpes indiennes), la surface dorsale des nageoires pectorales devient rugueuse.

#### **III.2.Induction de la reproduction chez les poissons**

Provoquée par plusieurs hormones, cette induction équivaut à un "raccourci" du phénomène naturel. Dans la nature, l'ovulation est réglée et déterminée chez le poisson par ses propres hormones gonadotrophiques, secrétées et accumulées dans sa glande pituitaire (ou hypophyse), que celle-ci décharge dans le circuit sanguin quand toutes les conditions requises sont réunies.

Par exemple, l'hypophysation représente aujourd'hui la technique la plus courante utilisée pour la propagation artificielle des poissons. Elle est employée non seulement dans la reproduction expérimentale, mais pour la production commerciale de millions de jeunes poissons ((Woynarovich et Horváth, 1981).

### **III.3. Insémination artificielle (fécondation artificielle)**

Pour le prélèvement des gamètes les géniteurs sont anesthésiés, ils sont tenue soit dans les mains de l'opérateur, soit posés sur une table recouverte d'un coussin humide et souple. Il faut éviter la contamination des gamètes (sperme ou ovules) avec de l'eau, l'urée ou fèces.

L'insémination artificielle consiste, en général, à mélanger les ovules avec du sperme et à ajouter, selon les espèces, de l'eau douce ou salée dans laquelle les spzs sont mis en mouvement. Dans le cas de poissons d'eau douce, on sait que l'eau provoque un choc osmotique qui entraîne rapidement l'éclatement de la membrane plasmique du spermatozoïde (Saad et al., 1987).

Dans le cas où les œufs deviennent adhésifs après insémination dans l'eau, il y a deux procédés à suivre :

- Utilisation du dilueur le plus favorable à la survie des spzs et des ovules
- Enlèvement de la couche adhésive avant mise en incubation.



**Figure N°2:** Mélange des gamètes dans la solution fécondante.

### **III.4.Incubation**

Le développement de l'œuf est un processus rapide, les principaux stades discernables sont le gonflement de l'œuf, le développement du germe et les phases de la morphogenèse embryonnaire. Pour assurer aux larves une survie dans de bonnes conditions, il est nécessaire de prendre soin des œufs au cours des différents stades de développement en les plaçant dans les incubateurs appropriés (**Woynarovich et Horváth, 1981**).



**Figure N°3:** Bouteilles de Zoug pour l'incubation des œufs.

### **III.5.Eclosion**

Le développement et l'éclosion des œufs peuvent être accélérés ou retardés considérablement selon la température de l'eau de l'incubateur. En eau chaude on observe l'activation du métabolisme et la production des enzymes chargées de dissoudre la membrane de l'enveloppe. Si l'eau de l'incubateur est trop chaude, l'absence de synchronisation entre la morphogenèse et la production d'enzymes peut causer l'éclosion prématurée, par contre l'eau froide retarde la morphogenèse aussi bien que la sécrétion d'enzymes. Dans les eaux trop froides, l'embryon n'y parviendra pas à l'éclosion par ce que la production d'enzymes aura été retardée. Cependant, la larve continue de se développer à l'intérieur de l'enveloppe de l'œuf et ce ne sera qu'après le retour à des conditions convenables de température qu'elle se libèrera sous forme de larve plus développée que la normal (**Woynarovich et Horváth, 1981**).

#### **IV. Conservation du sperme des poissons**

La conservation du sperme a deux objectifs primordiaux : la préservation des génotypes des espèces d'intérêt aquacole, d'une part, et la conservation de la biodiversité de l'ichtyofaune sauvage, d'autre part. (Maisse et al., 1998)

Il existe deux méthodes de conservation ; des conservations à long terme grâce à la congélation du sperme à basse température (-196° C) dans l'azote liquide et Une autre méthode consiste à pratiquer une conservation de durée plus limitée (quelques semaines) à des températures voisines de 0°C (Bratanov et Dikov., 1961).

##### **IV.1.Cryoconservation du sperme**

D'une manière générale, la cryoconservation du sperme de poisson est une technique qui donne des résultats satisfaisants au niveau expérimental, mais qui ne s'est pas encore développée dans la pratique en raison principalement de la trop grande variabilité des résultats (Maisse et al., 1998). La réussite de la congélation du sperme dépend de plusieurs facteurs. Il est indispensable de

- 1) disposer d'un dilueur préservant les fonctions du spermatozoïde
- 2) maîtriser les techniques de congélation, décongélation et fécondation
- 3) utilisé que des éjaculats dont les spermatozoïdes sont capables de subir sans dommage majeur les contraintes de la cristallisation décongélation des milieux extra et intracellulaires.

##### **IV.2.Les dilueurs de conservation**

###### **IV.2.1.les solutions minérales**

La composition des solutions minérales est extrêmement variable, allant de la simple solution de NaCl à des solutions plus élaborées mimant la composition minérale du fluide séminal de l'espèce étudiée. Les auteurs ayant comparé les différents dilueurs s'accordent pour dire qu'il y a peu ou pas de différences de performances suivant les compositions minérales (Stein et Bayrle., 1978). On peut noter à travers la littérature que la tendance est à la suppression des solutions minérales. La composition des dilueurs se rapproche de celle des

dilueurs formulés pour les mammifères : ce sont des mélanges tamponnés de cryoprotecteurs internes et externes et de stabilisants de membranes.

#### **IV.2.2.les tampons**

Le pH des dilueurs est très variable (5,2 à 8,5) et son importance est mal élucidée. Les diverses expérimentations menées chez la Truite arc-en-ciel donnent des résultats variables et ne permettent pas de conclure sur l'existence d'un pH optimum. Chez le Saumon atlantique, (**Mounib, 1978**) montre cependant l'importance du tampon bicarbonate de potassium qu'il préfère aux tampons phosphate et Tris.

#### **IV.2.3.Les glucides**

-Le fructose, que l'on trouve dans la plupart des fluides séminaux, est souvent présent en faible quantité. (5 mM) dans les dilueurs à base minérale importante. Ce glucide est alors utilisé comme composant d'un milieu mimant le fluide séminal plutôt que comme cryoprotecteur (**Maisse et al., 1998**).

#### **IV.2.4.les composée stabilisants la membrane**

Les lipoprotéines sont classiquement utilisées dans les dilueurs de congélation du sperme. Elles se lient à la membrane plasmique et en assurent une meilleure stabilité pendant la congélation-décongélation. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque l'on ajoute au dilueurs environ 15 % de lait écrémé en poudre (**Harvey, 1983**) ou 10 à 20 % de jaune d'œuf (**Legendre et Billard, 1980**).

#### **IV.2.5. Les cryoprotecteurs**

L'agent cryoprotecteur le plus couramment utilisé pour la congélation du sperme de poisson, est le diméthyle sulfoxide (DMSO). Des concentrations n'excédant pas en général 10%. Le glycérol donne de bons résultats avec le sperme de certaines espèces comme les Corégones (**Piironen, 1987**), dont le fluide séminal est naturellement riche en glycérol. Chez les poissons tropicaux d'eau douce, c'est le méthanol qui est retenu pour les Tilapias, *Oreochromis* sp, (**Rana et Mc Andrew., 1989**).

---

*MATERIEL ET METHODES*

---

Dans ce chapitre nous allons présenter notre approche expérimentale et le matériel utilisé, ce travail à été effectué dans un affluent d'oued Agrioun (station Gueridurare, **figure N° 04**) sur un poisson d'eau douce ; le barbeau (*Barbus callensis*). La période d'échantillonnage est d'environ un mois (du 21/04/2013 au 20/05/2013).

## **I. Travail de terrain**

### **I.1. Echantillonnage**

Le travail commence toujours à l'aube, période d'activité des poissons, avec des mesures et observations des paramètres environnementaux, température de l'eau, conditions météorologiques, vitesse du courant, la couleur et le niveau de l'eau. Pour la pêche, nous avons utilisé une canne à pêche de type (Michelin) reliée à un filet transparent d'une maille de 2cm<sup>2</sup>. Comme appât nous avons utilisé une pâte de semoule positionnée à l'extrémité fermée du filet. Nous avons constaté que le premier lancement est toujours fructueux avec un ou plusieurs individus pêchés et cela dès le contact du filet avec l'eau, cependant à partir de ce premier lancement la pêche devient de plus en plus difficile. Les individus pêchés sont mis dans un bidon de 30L d'eau de l'oued avec des renouvellements de cette eau toutes les heures pour maintenir les individus vivants jusqu'à l'arrivée au laboratoire. Nous avons en totalité effectué 07 sorties et 28 individus ont été pêchés, 27 individus de sexe mâle et 01 femelle

Les poissons pêchés sont met dans 3 aquariums mis en photopériode naturelle et une température ambiante.

### **I.2. La température**

La température de l'eau est mesurée à trois moments de la journée, la matinée, au milieu de la journée et le soir par un thermomètre de type (76mm Immersion) gradué de (-10 jusqu'à 110°C).

### **I.3. La photopériode**

La photopériode est obtenue à partir d'un calendrier du ministère des affaires religieuses en considérant les heures de levée (Echourouk) et de couché du soleil (Elghouroube).



**Figure N° 04:** Photo satellitaire de la station d'échantillonnage (St. Ech. : station d'échantillonnage, coordonnées géographiques) (Source : Google Earth, 2009).

## **II. Travail de laboratoire**

Notre travail dans le laboratoire consiste à un essai d'une reproduction artificielle, conservation et analyse microscopique de sperme.



**Figure N° 05 : Photo d'un barbeau (*Barbus callensis*).**

### **II.1. Matériel utilisé**

- Trois aquariums + trois aérateurs.
- une balance de précision de type (AR 2140).
- les seringues de (5ml, 3ml).
- les tubes à essais.
- Les eppendorfs.
- Les micropipettes.
- Computer assisted semen analysis (CASA).
- Mortier
- Spatule
- Baro magnétique
- appareil agitatrice
- Bêcher

### **II.2. La Pesée**

Le poids total de la femelle est 50g (c'est la seule femelle pêché).

### **II. 3.Préparation des doses hormonales et injection d'hormone Ovopel**

Afin d'accélérer la maturation sexuelle de la femelle, nous avons utilisé des injections hormonales, dans notre expérience nous avons utilisé l'ovopel (GnRH et anti-dopamine (dompéridone)). Nous avons utilisé la technique décrite par **Katarzyna et al., (2011)**, 0,25ml de GnRH synthétique et 0,5mg de dompéridone (anti-dopamine) diluée dans 0,5ml d'éthylène glycol. Notant bien que la dose d'Ovopel injecter dépend du poids de la femelle.

Les hormones sont injectées sous la nageoire dorsale lentement puis l'opération se termine avec un léger massage de la partie injectée pour que l'hormone puisse pénétrer complètement dans le muscle du poisson. Il est cependant important de signaler qu'en raison que juste une seule femelle est pêchée pendant toute la période de notre échantillonnage, et qu'elle soit décédée le lendemain du traitement hormonal, les résultats relatifs à l'application de l'insémination artificielle ne seront pas présentés.



**Figure N° 06 : Injection de l'hormone**

### **III. la conservation du sperme de barbeau**

Nous avons préparé 5 dilueurs pour conserver la laitance du barbeau selon la technique décrite par **Horvath et al ., (2006)**.

- A.** Glucose + tris
- B.** Fructose + tris
- C.** KCL + tris
- D.** NaCl (0,9%)

**E. Glucose (5%)**

**A.** Glucose +tris : 3,15g de glucose dans 50ml de tris dans un bécher.

**B.** Fructose +tris : 3,15g de fructose dans 50ml de tris dans un bécher.

**C.** KCL +tris : 0,745g de KCL dans 50ml de tris dans un bécher.

**III.1. Collecte du sperme**

Après nettoyage de la papille génitale du poisson (pour éviter la contamination de la laitance par l'urée et de l'eau), nous procédons directement à des massages abdominaux pour la récupération de la semence dans un tube à essai.



**Figure N°07 : la collecte du sperme**

**III.2. Dilution du sperme**

Après la collecte, nous avons procédé directement à la dilution de la semence avant sa gélification. 500 $\mu$ l de sperme dilué dans 2ml de chaque dilueur, puis la semence diluée est conservée dans un réfrigérateur à une température de 4°C. L'analyse de la semence réfrigérée a été effectuée pendant trois moments de la journée (08h, 12h et à 16h).

**IV. Analyse du sperme par CASA**

Pour l'analyse du sperme nous avons utilisé un analyseur en informatique CASA (Sperm Class Analyser 2000, microptic, S.L., Barcelona, Spain), composé d'une caméra (25 images

sec<sup>-1</sup>) liée à un microscope (10x40). Cet analyseur il nous permet de mesurer les différentes vitesses spermatiques (VSL, VCL, VAP, BCF et ALH).

La VSL: velocity straight line

La VCL: velocity curvilinear

La VAP: velocity averag path

La BCF: beat cross frequency

L' ALH: averag lateral head

Définition de la VSL: c'est la vitesse progressive en  $\mu\text{m/s}$  qui correspond à la distance parcourue par le spzs du point de depart au point d'arrivé(en traçant une ligne rectiligne) pendant un temps donné et qui est le même que celui considéré pour le VCL.

Définition de la VCL : c'est la vitesse curvilinéaire en  $\mu\text{m/s}$  est calculée en considérant la distance totale parcourue par la tête spermatique pendant un temps déterminé.

Définition de la VAP : c'est la vitesse selon la trajectoire moyenne calculée à partir du trajet de la VCL.

Définition de la BCF : c'est la fréquence de rotation de la tête du spzs (fréquence de battement). Moyenne de la fréquence (dans le temps) à laquelle la trajectoire curviligne croise la trajectoire moyenne.

Définition de l'ALH : Amplitude moyenne du mouvement latéral de la tête ( $\mu\text{m}$ ). C'est l'importance du déplacement latéral de la tête par rapport à sa trajectoire moyenne. Il s'exprime comme déplacement moyen.

### **L'étude Statistique**

Les résultats obtenus sont analysés par logiciel « Stat View », afin de générer des données statistiques fiable et précise.

---

*RESULTATS ET DISCUSSIONS*

---

## **I.Variation des paramètres spermatiques en fonction des milieux et du temps**

### **I.1.Variation de la VSL en fonction des milieux et du temps**

La **figure N°08** représente la variation de la VSL (Velocity straight line en  $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps. Nous pouvons observer que La VSL moyenne dans le contrôle (eau) est de l'ordre de  $35 \mu\text{m/s}$ . Dans le NaCl, la VSL varie entre 27, 32, et  $15 \mu\text{m/s}$  en fonction du temps; T1, T2 et T3 respectivement. La différence de la vitesse spermatique entre T2 et T1 pourraient être due à l'adaptation métabolique de la cellule spermatique dans le milieu salé, mais cette adaptation ne dure pas longtemps (au de-là de 16heure).

Par contre la VSL diminue progressivement dans le milieu (KCl+Tris) de 18 à T1, 8 à T2 et  $2,5 \mu\text{m/s}$  à T3. Cette diminution pourrait être due à l'épuisement des réserves énergétiques (ATP). Cependant, nous pouvons observer que la VSL varie de 24, 14 et  $7 \mu\text{m/s}$  dans le Glu, Fruc+tris et Gluc+tris respectivement. Cependant l'absence totale de la VSL à T2 et T3 dans les trois milieux restant pourrait être expliquée par la mort de la cellule spermatique.

Les résultats obtenus au cours du présent travail dans le NaCl sont en total concordance avec ceux rapportés par **Rurangwa et al., (2000)** chez le poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*) où la VSL est de  $37 \mu\text{m/s}$ , mais faible par rapport au résultat obtenu chez le poisson zèbre *Danio rerio* (VSL=  $66 \mu\text{m/s}$ ) (**Jonas et al., 2006**). Cependant notre résultat est très élevé par rapport à ceux retrouvé chez l'anguille *Anguilla anguille* où VSL est de  $12 \mu\text{m/s}$  (**Asturiano et al., 2004**).

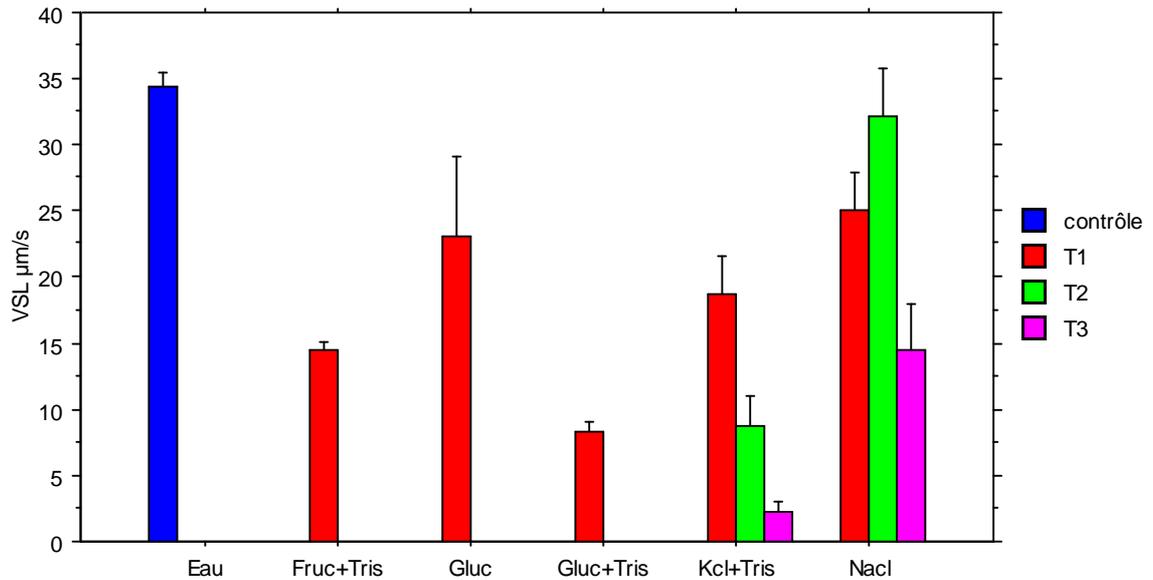


Figure N°08 : Variation de la VSL ( $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps.

## I.2.Variation de la VCL et la VAP en fonction des milieux et du temps

Même conclusion à retenir pour la variation de la VCL et la VAP en fonction des milieux et du temps (**figure N°09** et **figure N°10**). Le NaCl et le(KCl+tris) apparaissent comme meilleurs milieux de conservation. La VCL dans le NaCl varie entre 31, 48 et 25 $\mu\text{m/s}$  à T1, T2 et à T3 respectivement. Par contre, la VAP varie entre 27,36 et 17 $\mu\text{m/s}$  en fonction du temps T1, T2 et T3 respectivement.

Dans notre résultat, la VCL moyenne est de 48  $\mu\text{m/s}$  dans le NaCl, même ordre que celles rapportées par **Asturiano et al., (2004)** sur l'anguille *Anguilla anguilla*. Mais faible par rapport aux résultats obtenus par **Adele Fabbrocini et al., (2012)**, **Linhart et al., (2005)** et **Rurangwa et al., (2002)**, **Christ et al., (1996)** sur la dorade royale (*Sparus aurata*) et la carpe commune où la VCL est de l'ordre de 180 $\mu\text{m/s}$ , 139  $\mu\text{m/s}$ , 62 $\mu\text{m/s}$  et 145  $\mu\text{m/s}$  respectivement. En effet, la VAP moyenne varie entre 30,35 et 20  $\mu\text{m/s}$  à T1, T2 et T3 respectivement. Notre résultat est un peu proche à celui décrit par **Asturiano et al., (2004)** sur l'anguille *Anguilla anguilla* (VAP=16  $\mu\text{m/s}$ ), mais très faible aux résultats obtenus par **Lahnsteiner et al., (1999)** et **Jonas et al., (2006)** sur l'ablette (*Chalcalburnus chalcoides*) et le poisson zèbre *Danio rerio* où la VAP est de 86 et 77  $\mu\text{m/s}$  respectivement.

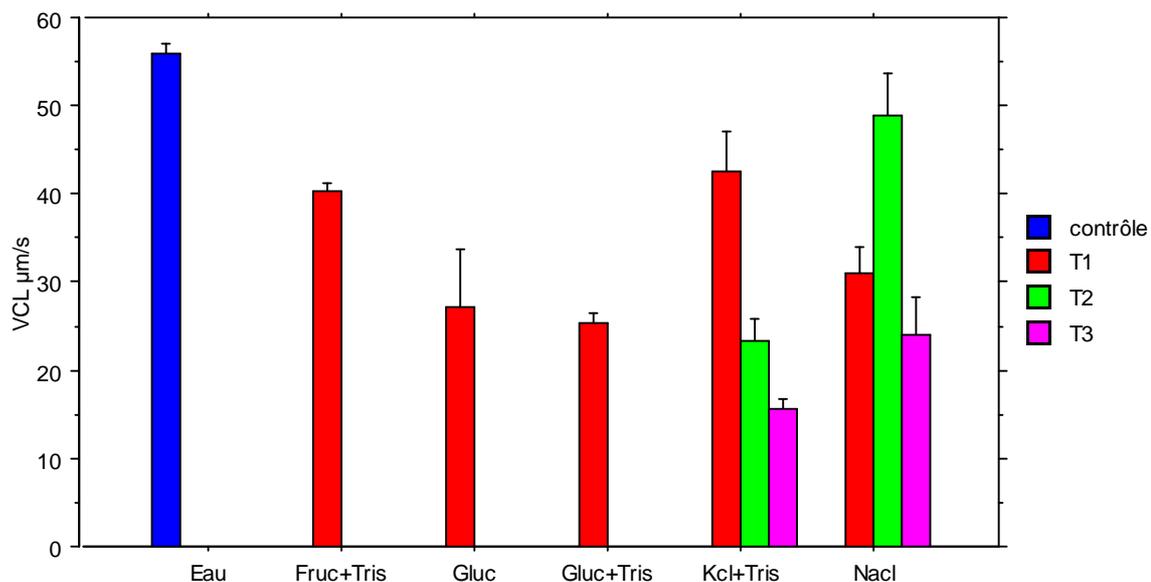


Figure N°09: Variation de la VCL ( $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps.

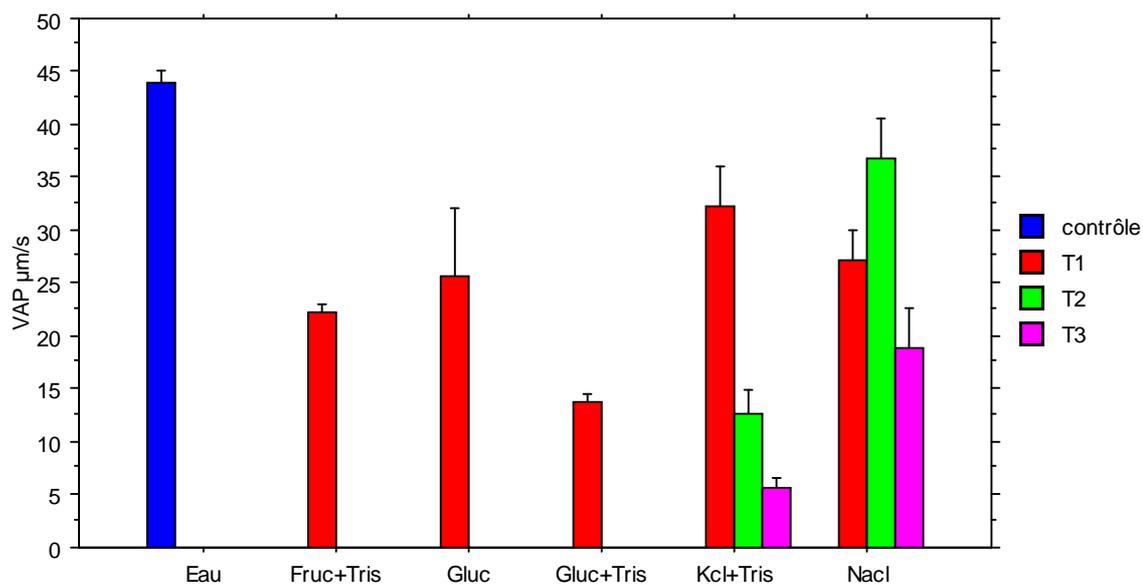


Figure N°10: Variation de la VAP ( $\mu\text{m/s}$ ) en fonction des milieux et du temps.

### I.3. Variation de la BCF et ALH en fonction des milieux et du temps

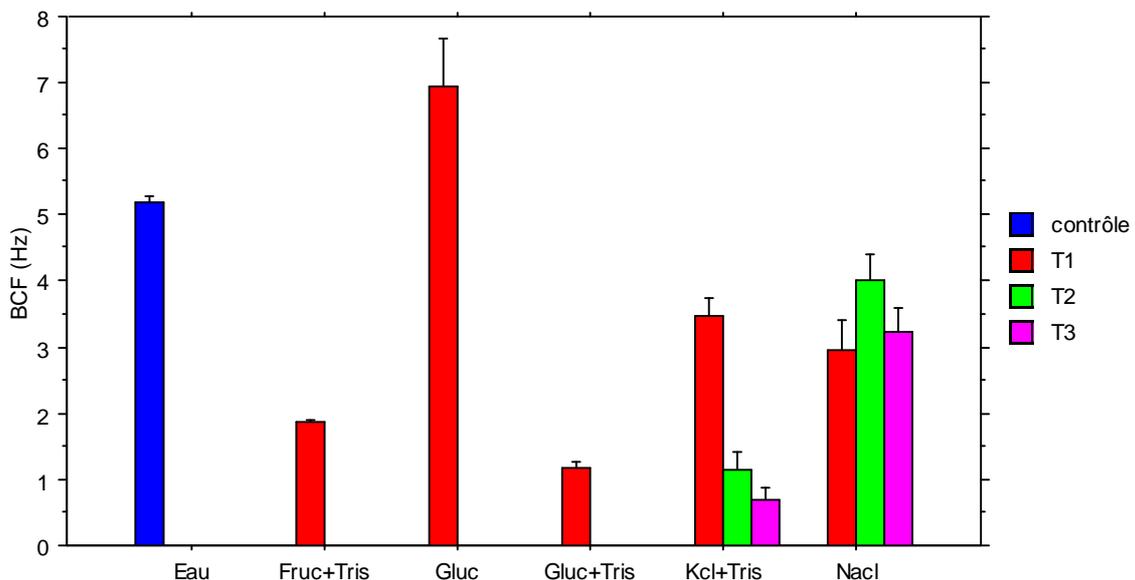
La figure 11 et 12 représente la variation de la BCF (Beat Cross Frequency) et l'ALH (Averag lateral head) en fonction du temps et des milieux. Nous pouvons observer qu'il ya

une évolution parallèle des deux variables, la BCF est très importante dans le milieu glucosé (BCF=6,5Hz), puis diminue progressivement dans le NaCl et le (KCl+tris). L'augmentation

de la BCF dans la solution glucosé pourrait être expliquée par le rôle de glucose dans la cellule spermatique dans la production d'ATP. Nos résultat est proche à ce lui rapporté par **Butts et al., (2011)** et **Nynca et al., (2012)** sur le morue d'atlantique (*Gadus morhua* L.) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) où la BCF=6Hz et 5,7Hz respectivement.

Concernant l'ALH nous pouvons ressortir de la **figure 12** que cette vitesse est élevé dans la solution fructose+tris et NaCl (ALH=2  $\mu$ m), par contre cette vitesse diminue progressivement en fonction des différent milieux et du temps. L'ALH est un paramètre retenue pour la qualité du sperme, il représente la distance balayée par la tête des spermatozoïdes en mouvement, plus la qualité des gamètes est meilleure plus la distance sera élevée.

Ces resultats sont élevés par rapport aux résultat obtenu par **Butts et al., (2011)** sur le morue d'atlantique (*Gadus morhua* L.) où l'ALH est de 1,4  $\mu$ m, et faible concernant le résultat obtenu par **Nynca et al., (2012)** sur la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (ALH=16.9 $\mu$ m).



**Figure N°11** : Variation de la BCF (Hz) en fonction des milieux et du temps.

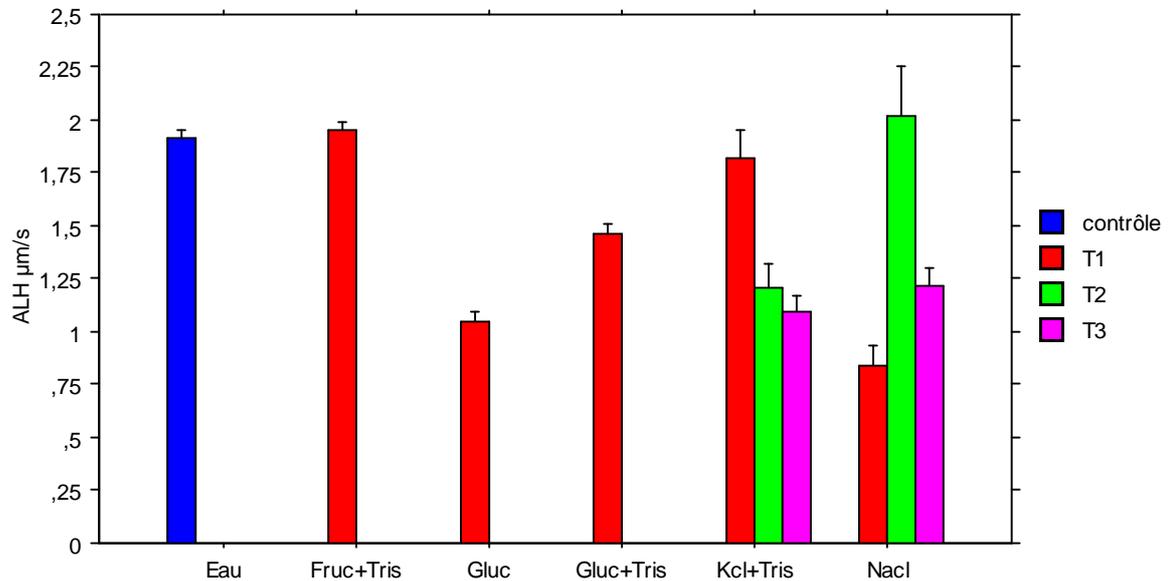


Figure N°12 : Variation de l'ALH ( $\mu\text{m}$ ) en fonction des milieux et du temps

#### I.4.Variation du pourcentage des spermatozoïdes mobile et pourcentage des spermatozoïdes statiques en fonction des milieux et du temps

Sur la **figure N°13 et N°14** nous avons représenté le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et statique en fonction du temps et des milieux, nous pouvons observer que la solution de NaCl peut conserver le sperme mobile à 10% jusqu'à 24heure, en effet la solution de KCl peut garder le sperme mobile à 5% pendant 16 heure. Par contre le pourcentage de la mobilité spermatique est nul dans les autres solutions de conservation. De plus nous pouvons remarquer que le pourcentage de la mobilité spermatique est plus important à T2 (après 16heure) que à T1 (après 12 heure), cela pourrait être dû à la capacitation métabolique d'adaptation de spermatozoïdes du poisson dans la solution de NaCl.

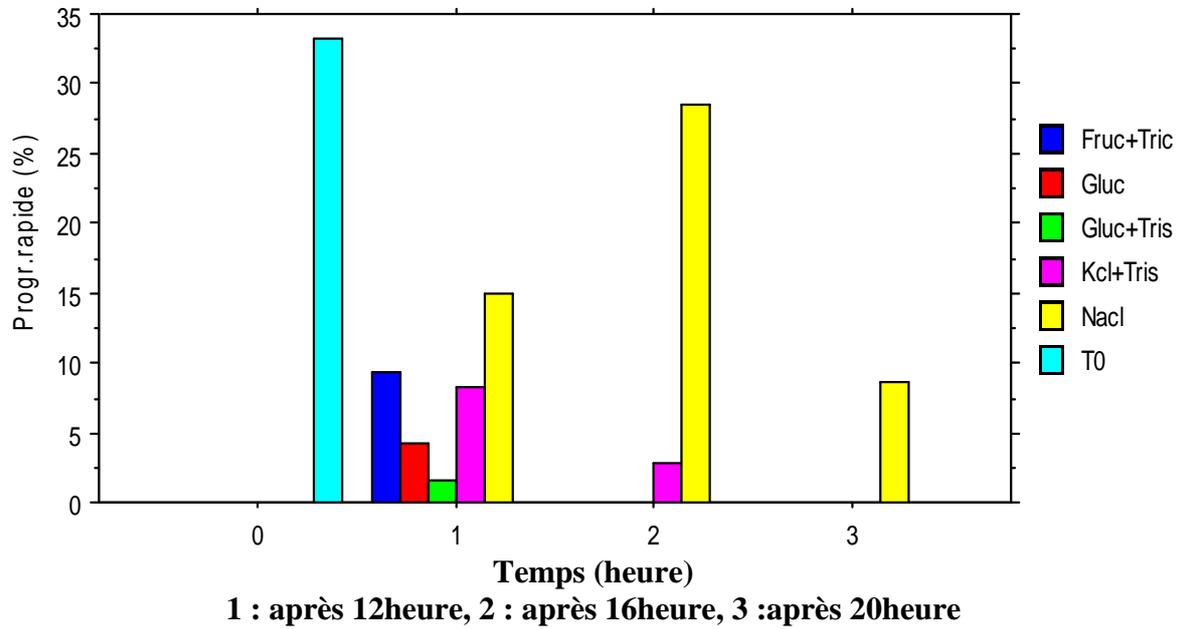


Figure N°13 : Pourcentage des spermatozoïdes mobile en fonction des milieux et du temps

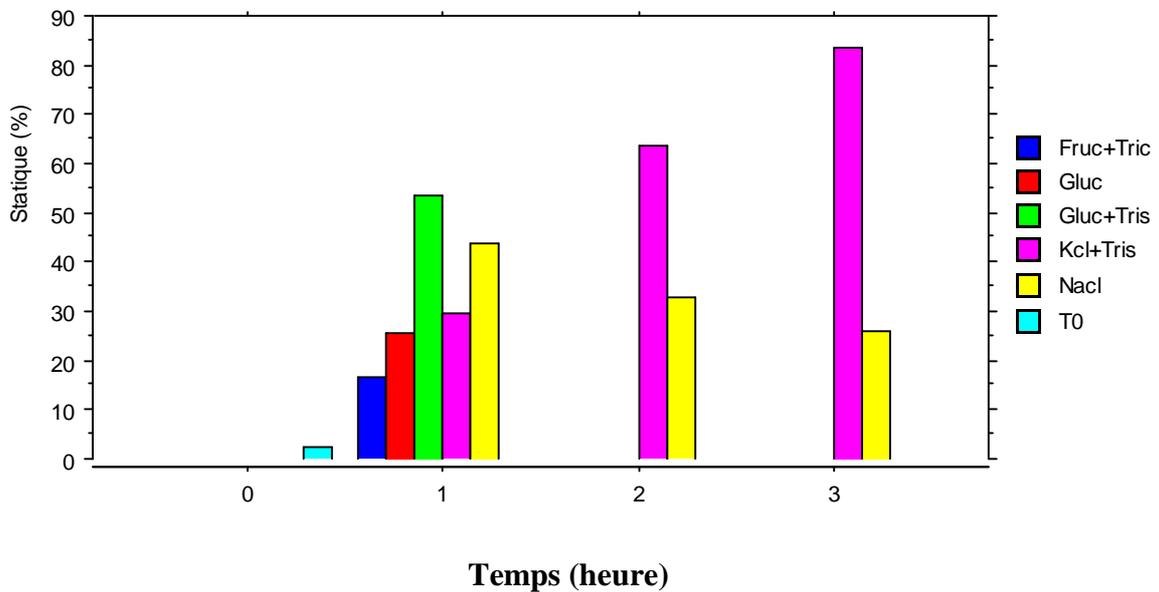


Figure N°14 : Pourcentage des spermatozoïdes statique en fonction des milieux et du temps

---

*CONCLUSION ET PERSPECTIVES*

---

## **Conclusion**

Le présent travail est pour objectif de trouver les meilleures solutions de conservation du sperme du barbeau *Barbus callensis*, et d'essayer de reproduire le barbeau à l'intérieur de laboratoire.

L'absence des femelles pendant la période de notre échantillonnage n'ont pas permis de reproduire cette espèce dans le laboratoire.

Les milieux de conservation que nous avons considérés le NaCl, le KCl+tris, Glucose, Glucose +tris et le fructose+tris.

Sur la base de ses milieux de conservation, nous avons démontré que la meilleure solution de conservation du sperme du barbeau (*Barbus callensis*) est le NaCl et le KCl avec une moindre importance.

Cette étude ouvre plusieurs perspectives concernant la compréhension des mécanismes de conservation du sperme des poissons en général et du barbeau en particulier. Ainsi il est important de s'orienter vers l'analyse moléculaire de la mobilité spermatique chez cette espèce (composition du liquide séminal, composition de la cellule spermatique et mécanismes du déclenchement de la mobilité spermatique), de même il est intéressant d'appliquer les connaissances acquises dans cette expérience sur d'autres poissons à intérêt économique.

En perspective, il serait aussi intéressant de s'orienter vers l'étude de l'écologie et la biologie de cette espèce surtout avec la dominance des mâles sur les femelles.

Enfin, la maîtrise des techniques de procréation médicalement assisté comme la congélation du sperme et l'insémination artificielle pourrait être une des voies à explorer pour aussi bien protéger et restaurer la biodiversité, et apporter un appoint à la production de poissons à intérêt économique.

---

*REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

---

- Adele Fabbrocini., Raffaele D'Adamo., Francesco Del Prete., Antonio Luca Langellotti., Francesca Rinna., Fausto Silvestri., Gerarda Sorrenti., Valentina Vitiello., Giovanni Sansone., 2012. Cryopreserved semen in ecotoxicological bioassays: Sensitivity and reliability of cryopreserved *Sparus aurata* spermatozoa.
- Asturiano, JF., Perez, L., Garzon, DL., Marco-Jimenez, F., Penaranda, DS., Vicente, JS., 2004. Physio-chemical characteristics of seminal plasma and development of media and methods for the cryopreservation of European eel sperm. *Fish Physiol Biochem*, 30:283–93.
- Babiak, I., Ottesen, O., Rudolfson, G., Johnsen, S., 2006. Quantitative characteristics of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., semen throughout the reproductive season. *Theriogenology*, 65:1587–604.
- Bacha, M., Amara, R., 2007. Les poissons des eaux continentales d'Algérie. Étude de l'ichtyofaune de la Soummam. *Cybium*. 31(3), 351-358.
- Baras, E., 1992. Etude des stratégies d'occupation du temps et de l'espace chez le barbeau fluviatile, *Barbus barbus* (L.). Ed. Service d'éthologie et de psychologie animale. Musée de Zoologie de l'université de Liège. 12 (2-3), 125-442. Pp.145-148.
- Barnabé, G., Regine Barnabé-Quet., 1985. Avancement et amélioration de la ponte induite chez le loup *Dicentrarchus Labrax* (L.) à l'aide d'un analogue de LHRH injecté.
- Barnabé, G., 1989. Aquaculture, Ed Lavoisier TEC et DOC volume 2, Paris, Pp.624-625.
- Barnabé, G., 1991. Base biologique et écologique de l'aquaculture. Ed TEC et DOC. Paris. P. 329-357.
- Benabid, M., 1990. Bio-écologie de deux espèces du Barbeau (*Barbus Callensis*) et *Labeobarbus fritshii* d'un cours d'eau du Haut Atlas du Maroc : Thèse de 3<sup>è</sup> cycle, Fac. Sci. Marakech.
- Billard, R., 1979. La gamétogenèse, le cycle sexuel et le contrôle de la reproduction chez les poissons Téléostéens. *Bulletin Français de pisciculture* N°273, 2<sup>è</sup> trimestre.
- Billard, R., Breton, B., 1981. Le cycle reproducteur chez les poissons téléostéens. *Cahier de laboratoire de Montereau* N°12. Pp., 43-56.
- Bobe, J., Labbé, C., 2009. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology* xxx, xxx–xxx.
- Brutanov, C., Dikov, V., 1961. Sur certaines particularités du sperme chez les poissons C.R. IV Congr. Int. Reprod. Anim. La Haye. 895-897
- Bouhbouh, S., 2002. Bio-Ecologie de *Barbus callensis* (Valencienne 1842) et *Barbus fritschi* (Günther 1874) au niveau du réservoir Allal el Fassi (Maroc). Thèse doctorat national

Es-Sciences. Faculté des sciences dhar el mehraz Fes. Université Sidi Mohamed ben abdallah.

-**Brian, J, Harvey.,William, S, Hoar., 1980.** La reproduction provoquée chez les poissons : Théorie et pratique. Ed. microfiche sur demande.

-**Bruslé, J., Quignard, J.P., 2001.** Biologie des poissons d'eau douce européens. Ed. Tec et Doc. Pp. 249-266.

-**Butts, I.A.E., Babiak, I., Ciereszko, A., Litvak, M.K., Slowin´ska, M., Soler, C., Trippels, E.A., 2011.** Semen characteristics and their ability to predict sperm cryopreservation potential of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Theriogenology* 75: 1290–1300.

-**Christ, SA., Toth, GP., McCarthy, HW., Torsella, JA., Smith, MK., 1996.** Monthly variation in sperm motility in common carp assessed using computer-assisted sperm analysis (CASA). *J Fish Biol*,48:1210–22.

-**Constantinos, C. Mylonas., Alexis Fostier., Silvia Zanuy., 2010.** Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction.

-**Darszon, A., Labarca, P., Nishigaki, T., Espinosa, F., 1999.** Ion channels in sperm physiology. *Physiological Reviews* Vol. 79, No. 2.

-**Djemali, I., 2005.** Evaluation de la biomasse piscicole dans les plans d'eau douce tunisiens : Approches analytique et acoustique. Thèse de doctorat en sciences agronomiques Spécialité : Halieutique. 1-32.

-**Dreanno, C., Suquet, M., Quemener, L., Cosson, J., Fierville, F., Normant, Y., 1997.** Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa. *Theriogenology*, 48:589–603.

-**FAO, 2006.** Situation de l'aquaculture mondiale, 48-52.

-**Froud Bosak kahkesh., Mohammad Yoonas Zadeh Feshalami., Farokh Amiri., Mansur Nickpey., 2010.** Effect of Ovaprim, Ovatide, HCG, LHRH-A2, LHRH A2+ CPE and carp pituitary in Benni (*Barbus sharpeyi*) Artificial Breeding.

- Grandi, G., Chicca, M., 2004.** Early development of the pituitary gland in *Acipenser naccarii* (chondrostei, Acipenseriformes): an immunocytochemical study. *Anat. Embryo.*, 208: 311-321.
- Harvey, B., 1983.** Cryopreservation of *Sarotherodon mossambicus* spermatozoa. *Aquaculture*, 32, 313-320.
- Horvath, A., Mihalfy, S., Miskolczi, E., Urbanyi, B., Szabo, T., Vranovics, K., 2006.** Successful fertilization and hatching of four European cyprinid species using cryopreserved sperm.
- Huet, M., 1954.** Biologie, profils en long et en travers des eaux courantes. *Bulletin français de pisciculture* N° 175.
- Huet, M., 1962.** Influence du courant sur la distribution des poissons dans les eaux courantes. *Hydrol.* 412-432.
- Joanna Nynca., Henryk Kuzminski., Grzegorz J. Dietrich., Piotr Hliwa., Stefan Dobosz, Ewa Liszewska., Halina Karol., Andrzej Ciereszko., 2012.** Biochemical and physiological characteristics of semen of sexreversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Theriogenology* 77: 174–183
- Jonas G. Wilson-Leedy., Rolf L. Ingermann., 2007.** Development of a novel CASA system based on opensource software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology* 67 661–672.
- Katarzyna, Targonska., Dariusz , Kucharczyk., Danie, Żarski., Beata, Irena Cejko., Sławomir Krejszeff., Krzysztof Kupren., Radosław Krol., Katarzyna Dryl., Radosław Kajetan, Kowalski., Jan Glogowski., 2011.** Artificial reproduction of wild and cultured Barbel (*Barbus Barbus*, Cyprinidae) under controlled condition.
- Kaushik, S., 2004.** Alimentation humaine, ressources halieutiques et avenir de l'aquaculture. *Aquaculture et environnement.* 26, 20-25.
- Kraiem, M., Pattee, E., 1988.** Salinity tolerance of the barbel, *Barbus callensis* Valenciennes, 1842 (Pisces, Cyprinidae) and its ecological significance. *Hydrobiologia.* 166, 263-267.

- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., 1999.** Sperm metabolism of the teleost fishes *Chalcalburnus chalcoides* and *Oncorhynchus mykiss* and its relation to motility and viability. *J Exp Zool*, 284:454–65.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., Urbanyi, B., Weismann, T., 2000.** Cryopreservation of spermatozoa in cyprinid fishes.
- Legendre, M., Billard, B., 1980.** Cryoconservation du sperme de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.). *Bulletin français de pisciculture* N° 278, 12-33.
- **Lévêque, C., Bruton, M. N., Sentong, G. W. S., 1988.** Biologie et Ecologie des poissons d'eau douce Africaines. Ed. Orstom. Paris. Pp 158 .
- Linhart, O., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Vandeputte, M., 2005.** Spermatozoal competition in common carp (*Cyprinus carpio*): what is the primary determinant of competition success? *Reproduction* ,130:705–11.
- Lucena, J., Fuentes, M.C., Rodriguez Munoz, J.M., 1983.** Etude somatometrique de la composition corporelle du Barbeau (*Barbus-Barbus Sclateri Gunther*). Barrage de la conception. *Vie et milieu*, 33(1) : 17-24.
- Maisse, G., Labb, C., Ogier de Baulny, B., Leveroni,S., Haffray, P.,1998.** Cryoconservation du sperme et des embryons de poissons
- Mariola, A. Dietrich., Grzegorz J. Dietrich., Piotr Hliwa., Andrzej Ciereszko., 2011.** Carp transferrin can protect spermatozoa against toxic effects of cadmium ions.
- **Meddour, A., Rouabah, A., Meddour-Bouderda, K., Loucif, N., Remili, A., Khatal, Y., 2005.** Expérimentations sur la reproduction artificielle de sander *Lucioperca, Hypophthalmichthys Molitrix* et *Aristichthys Nobilis* en Algérie.
- Mounib, M.S., 1978.** Cryogenic preservation of fish and mammalian spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 53,13-18.
- Mutambue, S., 1996.** Biologie et écologie de *Barbus holotaenia*, Boulenger, 1904, du bassin de la rivière luki (Zaïre). *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 340, 25-41.
- Mylonas, C. C., Fostier, A., Zanuy, S., 2009.** Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology.* xxx, xxx–xxx.
- Nelson, J. S., 1994.** *Fishe of world.* Ed. John wileysons. New york. Pp. 600.

- Piotr Sieczyński., Jan Glogowski., Beata I, Cejko., Cezary Grygoruk., 2012.** Characteristics of Siberian sturgeon and sterlet sperm motility parameters compared using CASA.
- Piironen, J., 1987.** Factors affecting fertilization rate with cryopreserved sperm of whitefish (*Coregonus muksun* Pallas). *Aquaculture*, 66, 347-357.
- Poncin, P., 1989.** Effect of different photoperiods on the reproduction of the barbel, *Barbus barbus* (L.), reared at constant temperature. *J. Fish Biol.* 35, 395-400.
- Poncin, P., 1992.** Influence of the daily distribution of light on reproduction in the barbel, *Barbus barbus* (L.). *Journal of Fish Biology* 41, 993-997.
- Poncin, P., 1996.** Reproduction chez nos poissons. Ed. Fédération sportive des pêcheurs francophones de Belgique ASBL.DL/1213/1.Pp.35-39.
- Poncin, P., Melard, Ch., Philippart, J.-C., 1987.** Utilisation de la température et de la photopériode pour contrôler la maturation sexuelle en captivité de trois espèces de poissons cyprinidés Européens. *Barbus barbus* (L.), *Leuciscus cephalus* (L.) et *Tinca tinca* (L.)- résultats préliminaires. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 304, 1-12.
- Prolonge-Chevalier Christine., 2007.** Etude histologique du développement sexuel de l'apron du Rhône (*zingel asper* L.), peridé endémique menacé d'extinction. Thèse doctorat. Ecole Doctorale de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes Systèmes Intégrés, Environnement et Biodiversité.
- Qing Hua Liu., Jun Li., Zhi Zhong Xiao., Fu Hong Ding., Dao De Yu., Xi Zhang Xu., 2007.** Use of computer-assisted sperm analysis (CASA) to evaluate the quality of cryopreserved sperm in red seabream (*Pagrus major*).
- Rana, K.J, McAndrew, B.J., 1989.** The viability of cryopreserved Tilapia spermatozoa. *Aquaculture*, 76,335-345.
- Rurangwa, E., Volckaert, F. A. M., Huyskens, G., Kime, D. E., Ollevier, F., 2000.** Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using Computer-Assisted sperm analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*).

- Rurangwa, E., Biegniewska, A., Slominska, E., Skorkowski, E.F., Ollevier, F., 2002.** Effect of tributyltin on adenylate content and enzyme activities of teleost sperm: a biochemical approach to study the mechanisms of toxicant reduced spermatozoa motility.
- Saad, A., Billard, R., 1987.** Composition et emploi d'un dilueur d'insimination chez la carpe, *Cyprinus carpio*.
- Stein, H., Bayrle, H., 1978.** Cryopreservation of the sperm of some freshwater teleosts. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18, 1073-1076.
- Toth, GP., Ciereszko, A., Christ, SA., Dabrowski, K., 1997.** Objective analysis of sperm motility in the lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*: activation and inhibition conditions. *Aquaculture*, 154:337-48.
- Urbanyi, B., Szabo, T., Miskolczi, E., Mihalfy, S., Vranovics, K., Horvath, A., 2006.** Successful fertilization and hatching of four European cyprinid species using cryopreserved sperm.
- Van Der Kraak, G. J., Chang, J. P., Janz, D. M., 1997.** Reproduction in physiology of fishes. David H. Evans. (Ed), second Edition. C R C press. Boca Raton, 519p.
- Vincent, B., Saidou, O., 1990.** Rôle des variations de conductivité de l'eau et d'autres facteurs externes dans la croissance ovarienne d'un poisson tropical, *Brycinus Zeuciscus* (Characidae). *Aqua. Liang Resour.* 90/03 153 10.
- Woyнарovich, E., Horvath, L., 1981.** La reproduction artificielle des poissons en eau chaude : manuel de vulgarisation. FAO, Doc et Tech. Pêches, (201). P191.

**Résumé :**

Ce travail à été réalisé sur une espèce de poisson d'eau douce appelé barbeau (*Barbus callensis*), dont l'objectif est de mettre en place une reproduction artificielle et la conservation du sperme à 4°C. Durant toute la période de notre travail, nous avons réalisé 7 pêches et nous n'avons collecté qu'une seule femelle. Suite à l'injection du traitement hormonal, cette femelle est décédée lendemain. Pour la conservation du sperme, nous avons utilisé 5 dilueurs de réfrigération (NaCl, KCl+tris, fructose+tris, glucose+ tris et glucose). Les résultats ont permis de faire ressortir, que le NaCl est le milieu qui permet de mieux conserver la semence de barbeau à 4°C.

**Mots clés :** *Barbus callensis*, reproduction artificielle, conservation, sperme.