

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire De Fin D'études En Vue De L'obtention Du Diplôme

D'Ingénieur D'Etat En Sciences De La Mer

Option : Aquaculture

Thème :

**CARACTERISATION DE LA QUALITE DU SPERME CHEZ  
LES POISSONS**

Présenté par :

**Melle KERKOUCHE Meriem**

Soutenu le 24 /09/2024, devant le jury composé de :

Mme MESLEM Nabila	Maitre de conférences B, ENSSMAL	Présidente
Mr. LOURGUIOUI Hichem	Maitre de conférences B, ENSSMAL	Promoteur
Mme : TARZAALI Dalila	Maître de conférences A, UNIV Blida 1	Co-Promotrice
Mr AIT SAIDI Adel	Maitre de conférences B, ENSSMAL	Examineur

**Année universitaire : 2023- 2024**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire De Fin D'études En Vue De L'obtention Du Diplôme

Master En Sciences De La Mer

Option : Aquaculture

Thème :

**EFFET DE DEUX DILUEURS SUR LA CONSERVATION DE  
LA SEMENCE DE TILAPIA**

Présenté par :

**Melle KERKOUCHE Meriem**

Soutenu le 24 /09/2024, devant le jury composé de :

Mme MESLEM Nabila	Maitre de conférences B, ENSSMAL	Présidente
Mr. LOURGUIOUI Hichem	Maitre de conférences B, ENSSMAL	Promoteur
Mme : TARZAALI Dalila	Maître de conférences A, UNIV Blida	Co-Promotrice
Mr AIT SAIDI Adel	Maitre de conférences B, ENSSMAL	Examineur

**Année universitaire : 2023- 2024**

# Remerciements :

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Avant tout, je remercie **Allah** tout-puissant, qui m'a guidé tout au long de ma vie et m'a donné la santé, le courage, la patience et la volonté pour passer tous les moments difficiles afin de mener à terme ce mémoire.

La réalisation de ce mémoire n'aurait jamais été possible sans l'aide patiente, les conseils avisés et les orientations précieuses de mon promoteur **Dr Hichem LOURGUOUI**, maître de conférences B, à l'école national supérieure de science de la mer et l'aménagement du littoral. J'exprime ma profonde gratitude pour sa contribution essentielle du début à la fin de ce projet.

Je remercie très chaleureusement ma Co-promotrice **Dr Dalila TARZAALI**, maître de conférences A, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, pour son inspiration, son assistance et le temps précieux qu'elle m'a consacré tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens à exprimer nos sincères remerciements au **Dr MESLEM Nabila**, maître de conférences B, à l'école national supérieure de science de la mer et l'aménagement du littoral, qu'elle reçoit toute l'expression de ma gratitude pour avoir accepté de faire partie et présider ce jury et pour l'intérêt porté à ce travail. Ainsi qu'au **Dr AIT SAIDI Adel**, maître de conférences B, à l'école national supérieure de science de la mer et l'aménagement du littoral, d'avoir accepté de faire partie du jury de notre mémoire, et vouloir apporter ses correctifs pertinents.

Je remercie **Pr Rachid KAIDI** ainsi que toute l'équipe de laboratoire de biotechnologie liée à la reproduction animal (LBRA) pour leur accueil au laboratoire.

Je remercie, **Mr TAREK BENALI**, le directeur de la ferme Sarl aqua-pro, pour m'avoir fourni les espèces marines et m'avoir aidé à accomplir ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

# Dédicace :

A toutes les personnes qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ce parcours académique.

À tous ceux qui ont joué un rôle dans la réalisation de ce mémoire, je vous suis profondément reconnaissante. Votre soutien, vos conseils et votre encouragement ont été inestimables. Ce mémoire vous est dédié avec gratitude et reconnaissance.

À ma chère maman, **BELLARBI Djamila**, chaque moment de succès que je vis est grâce à ton amour et à ton soutien inconditionnel. Tu as toujours été et tu es encore la source de ma force et de mon espoir. Je te dédie ce mémoire en signe de gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi. Je t'aime et je te remercie du fond du cœur.

A mon cher père **KERKOUCHE Mohamed**, que Dieu ait pitié de lui. J'aurais aimé que tu sois avec nous pendant ma soutenance. Je suis là grâce à Dieu et ensuite grâce à vos prières pour moi.

A mon cher fiancé **MOUILHI Nour el islem** qui a été mon soutien constant et ma source d'inspiration. Je suis heureuse de pouvoir dédier ce travail à toi.

A mes chères sœurs **Amina, Houria et Sarah**.

A mes chers frères, **Younes, Amine et Ibrahim**.

A tous les membres de la famille **KERKOUCHE** et **BELLARBI**, Merci pour Votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible.

A mes chères amies **Hadil, Aziza, Celia et Houda**, merci pour votre soutien et vos encouragements.

Je ne pourrais pas oublier de dédier ce mémoire à tous les chercheurs et auteurs dont les travaux ont été une référence essentielle dans l'élaboration de ce mémoire. Leurs contributions ont eu un impact indéniable sur ma réflexion et mes analyses.

A tous ceux qui me sont trop chère et que j'ai omis de citer.

**Meriem KERKOUCHE**

## **Résumé :**

Le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) est l'une des espèces africaines les plus largement élevées dans le monde. Cette espèce est de plus en plus menacée par les améliorations génétiques et la pression sur les écosystèmes aquatiques. Une considération plus importante doit donc être accordée à la conservation de cette souche.

Dans cette étude nous avons évalué la qualité macroscopique et microscopique à l'aide de logiciel CASA en fonction de la durée de conservation (24h, 48h) à 4°C et des deux dilueurs le premier c'est une solution de dilution extenseur (D1) et le deuxième a base de jaune d'œuf (D2). L'étude a été menée sur 7 individus mâles de tilapia issus de la ferme SARL AQUA PRO Ain Oussara. Leur poids moyen est de  $433,67 \pm 60,49$ g. La semence fraîche analysée nous a permis d'enregistrer en moyenne un volume de  $0,28 \pm 0,26$  ml, un pH de  $6,83 \pm 0,75$ , une concentration de  $5562,15 \pm 10730,41 \times 10^6$  Spz/ml et une viabilité de  $57,67 \pm 28,18$  %. Enfin, la motilité de la laitance est en moyenne de  $45 \pm 18,03$ %. Nos résultats ont montré également, que la première solution n'était pas efficace pour préserver la qualité des spermatozoïdes, contrairement à la deuxième solution avec le jaune d'œuf, qui a permis aux spermatozoïdes de rester viables plus longtemps. En conclusion, le dilueur D2 (enrichie par le jaune d'œuf) conserve mieux la vitalité et la motilité du sperme refroidie à 4°C par rapport au dilueur D1.

**Mots clés :** Tilapia du Nil, Semence, solution extenseur, jaune d'œuf, conservation à 4°C, CASA.

## المخلص:

أسماك البلطي النيلي، (*Oreochromis niloticus*) هي واحدة من الأنواع الأفريقية الأكثر انتشارًا في التربية في جميع أنحاء العالم. هذا النوع مهدد بشكل متزايد بسبب التحسينات الجينية والضغط على النظم البيئية المائية. لذلك يجب إيلاء اهتمام أكبر لحماية هذا النوع.

في هذه الدراسة، قمنا بتقييم الجودة العيانية والمجهريّة باستخدام برنامج CASA بناءً على مدة الحفظ (24 ساعة، 48 ساعة) عند 4 درجات مئوية وعلى أساس محلولين الأول هو محلول شائع (D1) والثاني يعتمد على صفار البيض (D2) أجريت الدراسة على 7 ذكور من أسماك البلطي من مزرعة SARL AQUA PRO Ain Oussara. كان متوسط وزنها  $433,67 \pm 60,49$  جرام. سمح لنا تحليل السائل المنوي الطازج بتسجيل متوسط حجم  $0,26 \pm 0,28$  مل، ودرجة حموضة  $6,83 \pm 0,75$ ، وتركيز حيوان  $10^6 \times 10730,41 \pm 5562,15$  منوي/مل، وقابلية بقاء بنسبة  $\pm 57,67$  و  $28,18\%$ . وأخيرًا، كانت الحركة المتوسطة للسائل المنوي  $18,03 \pm 45\%$ . أظهرت نتائجنا أيضًا أن المحلول الأول لم يكن فعالًا في الحفاظ على جودة الحيوانات المنوية، على عكس المحلول الثاني مع صفار البيض الذي سمح للحيوانات المنوية بالبقاء قابلة للحياة لفترة أطول. في الختام، يعتبر المحلول D2 (المعنى بصفار البيض) أكثر فاعلية في الحفاظ على حيوية وحركة السائل المنوي المبرد عند  $4^\circ\text{C}$  مقارنةً بالمحلول D1.

الكلمات المفتاحية: البلطي النيلي، السائل المنوي، محلول التمديد، صفار البيض، الحفظ عند  $4^\circ\text{C}$ ، CASA.

**Abstract:**

The Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, is one of the most widely farmed African species in the world. This species is increasingly threatened by genetic improvements and pressure on aquatic ecosystems. Therefore, greater consideration must be given to the conservation of this strain.

In this study, we evaluated the macroscopic and microscopic quality using CASA software based on storage duration (24h, 48h) at 4°C and two diluents of the two diluters the first is a diluent extender (D1) and the second is based on egg yolk (D2). The study was conducted on 7 male individuals of tilapia from the SARL AQUA PRO Ain Oussara farm. Their average weight is  $433.67 \pm 60.49$  g. The fresh semen analyzed allowed us to record an average volume of  $0.28 \pm 0.26$  ml, a pH of  $6.83 \pm 0.75$ , a concentration of  $5562.15 \pm 10730.41 \times 10^6$  Spz/ml, and a viability of  $57.67 \pm 45.96\%$ . Finally, the motility of the sperm was on average  $45 \pm 18.03\%$ . Our results also showed that the first solution was not effective in preserving the quality of the sperm, unlike the second solution with egg yolk, which allowed the sperm to remain viable for a longer period. In conclusion, the D2 diluent (enriched with egg yolk) better preserves the vitality and motility of the sperm cooled to 4°C compared to the D1 diluent.

**Keywords:** Nile tilapia, Semen, extender solution, egg yolk, storage at 4°C, CASA.

## Sommaire :

<b>I.</b>	<b>Introduction</b> .....	1
<b>II.</b>	<b>Généralités</b> .....	2
1.	<b>Généralités sur l'espèce tilapia</b> .....	2
1.1.	<b>Classification de tilapia</b> .....	2
1.2	<b>Stratégie de reproduction</b> .....	3
1.3	<b>Elevage du tilapia en Algérie</b> .....	5
2.	<b>Reproduction chez le tilapia</b> .....	5
2.1	<b>Appareil génital mâle</b> .....	5
2.2	<b>Physiologie de la reproduction</b> .....	6
2.2.1	<b>Développements des gonades et puberté</b> .....	6
2.2.2	<b>Spermatogenèse</b> .....	7
2.3	<b>Fertilité du mâle et la production du sperme</b> .....	8
2.3.1	<b>Caractéristiques du sperme</b> .....	8
2.3.2	<b>Morphologie du sperme</b> .....	8
2.3.3	<b>Libération du sperme</b> .....	9
2.4	<b>Contrôle hormonal</b> .....	10
2.5	<b>Maturité sexuelle</b> .....	11
2.6	<b>Facteurs influençant sur la production et la qualité du sperme</b> .....	11
2.6.1	<b>Contamination de la laitance par les urines</b> .....	11
2.6.2	<b>Nutrition</b> .....	11
2.6.3	<b>Effet du pH</b> .....	12
2.6.4	<b>Facteurs environnementaux : température, photopériode et salinité</b> .....	12
2.6.5	<b>Stress</b> .....	12
3	<b>Méthodes de collecte de la semence</b> .....	12
4	<b>Outils d'évaluation de qualité spermatique</b> .....	13
4.1	<b>Evaluation macroscopique</b> .....	13
4.1.1	<b>Couleur</b> .....	13
4.1.2	<b>Volume</b> .....	14
4.1.3	<b>pH</b> .....	14
4.2	<b>Evaluation microscopique</b> .....	14
4.2.1	<b>Viabilité spermatique</b> .....	14
4.2.2	<b>Motilité des spermatozoïdes</b> .....	14
4.2.3	<b>Concentration</b> .....	15

4.2.4	Morphologie .....	16
5.	Conservation de sperme.....	17
5.1	Conservation à court terme (Réfrigération) .....	17
5.2	Conservation à long terme (congélation).....	17
5.3	Utilisation des dilueurs.....	19
5.3.1	Caractéristiques et composition des dilueurs.....	20
III.	Matériel et méthodes .....	23
	Objectif de l'étude : .....	23
1.	Cadre de l'étude.....	23
2.	Matériel .....	23
2.1	Matériel biologique.....	23
2.2	Matériel de collecte de la semence .....	24
2.3	Matériel de mesure.....	24
2.4	Produits et réactifs utilisés .....	25
•	Pour la préparation des dilueurs.....	25
•	Pour la motilité .....	25
•	Pour la vitalité et la morphologie .....	26
2.5	Matériel utilisé dans l'analyse de la laitance .....	26
2.6	Autres matériel .....	27
3.	Méthode .....	28
3.1	Préparation des dilueurs .....	28
3.2	Collecte de sperme.....	29
3.2.1	Anesthésie.....	29
3.2.2	Pesage .....	29
3.2.3	Collecte de sperme.....	30
3.3	Dilution de sperme.....	31
3.4	Conservation à court terme (Réfrigération) .....	31
3.5	Evaluation de la qualité de la laitance .....	31
3.5.1	Spermogramme .....	31
3.5.2	Caractéristiques Macroscopiques .....	32
3.5.2.1	Couleur .....	32
3.5.2.2	Volume.....	32
3.5.2.3	pH.....	32
3.5.3	Caractéristiques microscopiques .....	33
3.5.3.1	Concentration .....	33
❖	Fixation du sperme.....	33

❖	<b>Méthodes d'estimation de concentration</b>	33
❖	<b>Calcule :</b>	35
3.5.3.2	<b>Motilité</b>	35
3.5.3.3	<b>Vitalité</b>	38
3.5.3.4	<b>Morphologie</b>	40
4.	<b>Analyse statistique des résultats</b>	40
IV.	<b>Résultats Et Discussion</b>	42
1.	<b>Taille et poids</b>	42
2.	<b>Qualité de la semence fraîche</b>	42
2.1	<b>Taux de la récolte spermatique utile</b>	43
2.2	<b>Paramètres macroscopique</b>	44
2.3	<b>Paramétrés microscopiques</b>	45
2.3.1	<b>Concentration, Viabilité et Mobilité</b>	45
2.3.2	<b>Morphologie des spermatozoïdes</b>	46
2.3.3	<b>Anomalies morphologiques</b>	47
3.	<b>Effet des dilueurs sur la qualité spermatique durant la conservation à 4C°</b>	48
3.1	<b>Motilité</b>	48
3.1.1	<b>Motilité individuelle</b>	48
3.1.2	<b>Motilité progressive</b>	50
3.2	<b>Vitalité</b>	51
3.2.1	<b>Pour le dilueur D1</b>	51
3.2.2	<b>Pour le dilueur D2</b>	53
3.2.3	<b>Comparaison entre la vitalité de la semence fraiche et les deux dilueurs</b>	54
V.	<b>Conclusion</b>	56
VI.	<b>Références</b>	57
VII.	<b>Les annexes</b>	66



## Liste des figures :

<b>Figure 1 :</b> (a) Incubation buccale des Œufs ; (b) Incubation buccale complète (Présence des alevins).....	4
<b>Figure 2 :</b> Anatomie de l'appareil génital mâle .....	6
<b>Figure 3 :</b> Spermatozoïde (h : tête ; f : flagelle, mi : pièce intermédiaire ; m : Mitochondrie ; cc : canal cytoplasmique).....	8
<b>Figure 4 :</b> Ultrastructure du spermatozoïde de tilapia.....	9
<b>Figure 5 :</b> Cellule de Thoma.....	16
<b>Figure 6 :</b> (A) et (B) : les espèces d'O. Niloticus utilisés dans notre expérience.....	23
<b>Figure 7 :</b> Matériel utilisé pour la collecte de la laitance.....	24
<b>Figure 8 :</b> Matériel de mesures (A : mètre ruban, B : papier pH, C : balance électronique de précision, D : balance électronique (5kg)).....	24
<b>Figure 9 :</b> Réactifs utilisées (A : le tris, B : glucose, C : KCl, D : méthanol).....	25
<b>Figure 10 :</b> Huile de clou de girofle.....	25
<b>Figure 11 :</b> Matériel utilisé dans l'étude de la latence (A : matériel de l'étude de vitalité, B : système CASA, C : matériel de l'étude de concentration, D : cellule de Thoma).....	26
<b>Figure 12 :</b> (A) : Préparation de l'anesthésie (B) : Poissons après l'anesthésie.....	29
<b>Figure 13 :</b> Pesée et mensuration du tilapia ((A) : Poids, (B) : Taille de tilapia).....	30
<b>Figure 14 :</b> Différentes étapes de la collecte du sperme ((A) : Récupération des poissons, (B) : Recouvrement des yeux, (C) : Séchage de l'appareil génital, (D) : collecte de sperme).....	30
<b>Figure 15 :</b> (A et B) Dilution de sperme.....	31
<b>Figure 16 :</b> Echantillons de semence fraîche et diluée.....	32
<b>Figure 17 :</b> Volume et couleur de sperme.....	32
<b>Figure 18 :</b> Détermination du pH .....	33
<b>Figure 19 :</b> (A, B, C, D, E et F) Différentes étapes d'évaluation de la concentration.....	34

<b>Figure 20 :</b> Comptage du spermatozoïde à l'aide du système CASA.....	35
<b>Figure 21 :</b> Observation de la motilité des spermatozoïdes ( <b>a</b> : le grossissement et <b>b</b> : écran de système casa).....	36
<b>Figure 22 :</b> Filtre vert.....	37
<b>Figure 23:</b> Observation sur le système CASA de la motilité .....	38
<b>Figure 24 :</b> Protocole d'évaluation de vitalité spermatique.....	39
<b>Figure 25 :</b> Observation de la vitalité des spermatozoïdes (A : l'écran de système casa, B : les spermatozoïdes vivants et mort).....	40
<b>Figure 26 :</b> Taux des spermatozoïdes normaux et anormaux.....	46
<b>Figure 27 :</b> Taux des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....	47
<b>Figure 28 :</b> Effet des dilueurs D1 et D2 sur la motilité individuelle des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence (D : Dilueur, J : jour).....	49
<b>Figure 29 :</b> Effet des dilueurs D1 et D2 sur la motilité progressive des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence (D : dilueur, J : jour).....	50
<b>Figure 30 :</b> Effet du dilueur D1 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation (D : dilueur, J : jour).....	52
<b>Figure 31 :</b> Effet du dilueur D2 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation (D : dilueur, J : jour).....	53
<b>Figure 32 :</b> Comparaison entre la vitalité de la semence fraîche et les deux dilueurs.....	54

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1 :</b> Classification des tilapia (FAO, 2017) .....	2
<b>Tableau 2 :</b> Milieu de Mounib, 1980 en (mM/l) .....	20
<b>Tableau 3 :</b> Milieu de Billard et <i>al.</i> , (1974) ; Trus-cottet et <i>al.</i> , (1968) ; Billard (1975) .....	21
<b>Tableau 4 :</b> Echelle arbitraire pour apprécier la motilité des spermatozoïdes (Sanchez-Rodriguez et Billard, 1977) .....	37
<b>Tableau 5 :</b> Poids et la taille des espèces de tilapia .....	42
<b>Tableau 6 :</b> Taux des réponses aux sollicitations et des semences analysées de tilapia mâles .....	43
<b>Tableau 7 :</b> Valeurs moyennes des paramètres macroscopique de la semence du tilapia .....	7
<b>Tableau 8 :</b> Valeurs moyennes des paramètres microscopique de la semence (Concentration, Viabilité et Mobilité) .....	45

**Liste des abréviations :**

**CASA:** Computer Aided Sperm Analysis.

**Cm :** Centimètre

**g :** gramme

**KCL :** Chlorure de potassium

**ml :** Millilitre

**mM :** MilliMolaire

**m :** mètre

**pH :** Potentiel hydrogène.

**PI :** Pièce intermédiaire.

**PAL :** Pseudomonas aeruginosa Lectin

**SPZ:** Spermatozoïdes.

**µl :** Microlitre

**v :** volume

**% :** Pourcentage

# | Introduction

### I. Introduction

Au niveau mondial, l'aquaculture est en plein essor (FAO, 2016) mais le développement de la production piscicole ne repose que sur quelques espèces domestiquées (Shelton et Rothard, 2006 ; Lazard, 2013). Parmi celles-ci, *Clarias gariepinus* et *Oreochromis niloticus* sont les principales espèces utilisées en pisciculture dans les eaux continentales africaines. *O. niloticus* occupe également avec l'autre tilapia, la 2<sup>ème</sup> place de la production aquacole mondiale (Lazard, 2009). Originaire d'Afrique, cette espèce est largement élevée dans le monde en raison de sa rusticité, sa croissance rapide, sa reproduction facile, son régime alimentaire plastique et sa qualité organoleptique (Lazard, 2009).

La culture des espèces nécessite un effort scientifique et technologique intense. L'un des stades les plus sensibles du cycle de vie du poisson est la période de reproduction, qui pour de nombreuses espèces est soumise à plusieurs contraintes ce qui exige la maîtrise de la reproduction. L'optimisation des performances de reproduction des géniteurs d'élevage est essentielle pour obtenir des alevins de haute qualité, ce qui permet de produire des poissons de haute qualité (Diogo, 2010).

L'utilisation des gamètes de haute qualité issus de géniteurs de poissons captifs revêt une grande importance pour assurer la production de produits de valeur pour l'aquaculture (Kjorsvik et *al.* 1990). Dans les éclosiers, la laitance est souvent insuffisante en quantité et en qualité et ne permet pas toujours une fécondation réussie dans les procédures d'insémination artificielle couramment utilisées pour les espèces d'aquaculture (Rurangwa et *al.*, 2004). L'utilisation de spermatozoïdes de haute qualité est impérative pour l'aquaculture afin de garantir une progéniture de bonne qualité (Kjorsvik et *al.*, 1990 et Cabrita et *al.*, 2008).

L'analyse fréquente du sperme du stock de reproducteurs mâles permet d'identifier les mâles présentant de meilleurs caractères de reproduction, ce qui combiné à une analyse génétique permet de sélectionner de bons reproducteurs. En outre, elle facilite la conservation du sperme grâce à un stockage à court ou à long terme, améliorant la gestion du sperme dans les fermes aquatiques (Diogo, 2010).

Le but de ce travail expérimental est d'évaluer la qualité du sperme de tilapia à l'état frais et observé l'efficacité de deux dilués dans la conservation de sperme de tilapia à une température de réfrigération de 4 °C.

# Chapitre I : Généralités

## II. Généralités

### 1. Généralités sur l'espèce tilapia

Appartenant à la famille des Cichlidae, le tilapia du Nil, scientifiquement connu sous le nom d'*O. niloticus*, est une espèce largement reconnue. Il occupe la deuxième place parmi les poissons les plus cultivés au monde, juste derrière la carpe (Efolé, 2011). Originaire d'Afrique, le tilapia joue un rôle essentiel dans l'aquaculture africaine, servant de pierre angulaire et de ressource principale. Sa capacité à se reproduire dans diverses conditions, à s'adapter à un large éventail d'environnements et à faire preuve de résilience a conduit à son introduction dans de nombreux pays du monde.

#### 1.1. Classification de tilapia

*Oreochromis niloticus*, semblable aux autres tilapia, appartient à la famille des Cichlidae. La position systématique attribuée à cette espèce particulière est rapportée dans le tableau suivant (FAO, 2017) :

**Tableau 1** : Classification de tilapia (FAO, 2017).

Embranchement	Vertébrés
Sous embranchement	Gnathostomes
Sous embranchement	Poissons
Classe	Ostéichthyens
Sous classe	Téléostéens
Ordre	Perciformes
Sous ordre	Percoïdes
Famille	Cichlidés
Sous famille	Tilapinés
Genre	<i>Oreochromis</i>
Espèce	<i>Niloticus</i>

Au sein du genre tilapia, il existe quatre espèces distinctes qui varient en termes de caractéristiques anatomiques, de comportement reproducteur et de mode de nutrition, comme l'a souligné Trewavas (1983). Ces espèces comprennent :

- ❖ **Oreochromis** : qui présente une incubation orale et des soins maternels uniparentaux tout en étant planctivore ;
- ❖ **Sarotherodon** : qui présente également une incubation orale mais avec des soins biparentaux ou paternels, et est également planctivore ;
- ❖ **Le tilapia** : qui incube ses œufs sur substrat et présente des soins biparentaux par paires, tout en étant macrophytophage ;
- ❖ **Danakilia** : qui possède des caractéristiques éco-morphologiques uniques.

### 1.2 Stratégie de reproduction

L'héritage de l'évolution et de la phylogénie se manifeste sous la forme de caractéristiques biologiques liées à la reproduction et propres à chaque individu. Dans un environnement spécifique, la stratégie de reproduction d'une espèce de poisson comprend divers traits biologiques, notamment l'âge et la taille auxquels commence la reproduction, la fertilité, le développement des gonades et des gamètes et le comportement reproductif tel que les soins parentaux et la saison de reproduction (Lévêque et *al.*, 2006).

Les femelles *O. niloticus* commencent généralement leur cycle de reproduction entre 5 et 10 mois dans des circonstances favorables dans leur habitat naturel (Duponchelle et Panfili, 1998). La plage de température de 28 à 32°C sert de déclencheur à la reproduction chez *O. niloticus* (Lazard, 2009).

Pour lancer le processus de reproduction, les individus mâles se rassemblent dans une zone désignée près de la surface de l'eau, en sélectionnant un substrat approprié tel que du gravier, du sable ou de l'argile. Au sein de cette zone spécifique, chaque mâle établit et protège son propre territoire, construisant un nid pour attirer et retenir une femelle pleinement mature prête à déposer ses œufs (Lacroix, 2004).

Suite à une démonstration de synchronisation sexuelle, la femelle pond rapidement une grappe d'œufs qui sont immédiatement fécondés par le mâle. La femelle procède ensuite à la mise en bouche des œufs fécondés à des fins d'incubation (Figure 1), comme décrit par Lacroix en 2004.



**Figure 1 :** (a) Incubation buccale des Œufs ; (b) Incubation buccale complète (Présence des alevins) (Boukhris, 2018).

Après la période d'incubation, les poissons femelles assisteront à l'éclosion des œufs environ 4 à 5 jours après la fécondation. Il est à noter que l'absorption complète du sac vitellin se produit entre 11 et 18 jours après la fécondation. Il est important de mentionner que la durée de cette étape particulière est principalement influencée par la température de l'eau environnante (Mélard, 2014).

Une fois que le sac vitellin est absorbé et que les alevins sont capables de consommer des aliments externes, la femelle expulse une grappe d'alevins de sa bouche. Ces alevins cherchent instinctivement un abri dans sa bouche dès qu'il y a un soupçon de danger ou lorsque la femelle bouge (Ouedraogo, 2000 ; Lacroix, 2004).

Lorsque les alevins atteignent une taille d'environ 9 à 10 mm, ils font leurs adieux à leur mère et sont relâchés dans les eaux peu profondes le long des bords. Ici, ils forment un groupe cohérent et poursuivent leur croissance (Lacroix, 2004).

La reproduction en captivité est possible même sans recours à une stimulation hormonale. Cependant, si la reproduction n'est pas soigneusement gérée, il existe un risque de cannibalisme parmi les alevins, particulièrement lorsqu'il existe une différence d'âge de 3 à 4 semaines (Lazard et Legendre, 1996). Les reproducteurs affichent systématiquement leur plus haut niveau de productivité au cours de la première année d'activité sexuelle (Peterson et *al.*, 2004). Cette fertilité élevée se traduit cependant par la production d'une progéniture aux performances

médiocres. Pour résoudre ce problème, un traitement hormonal masculinisant est administré pendant la phase de différenciation sexuelle pour produire des individus mâles monosexes (Gennotte et *al.*, 2012).

### **1.3 Elevage du tilapia en Algérie**

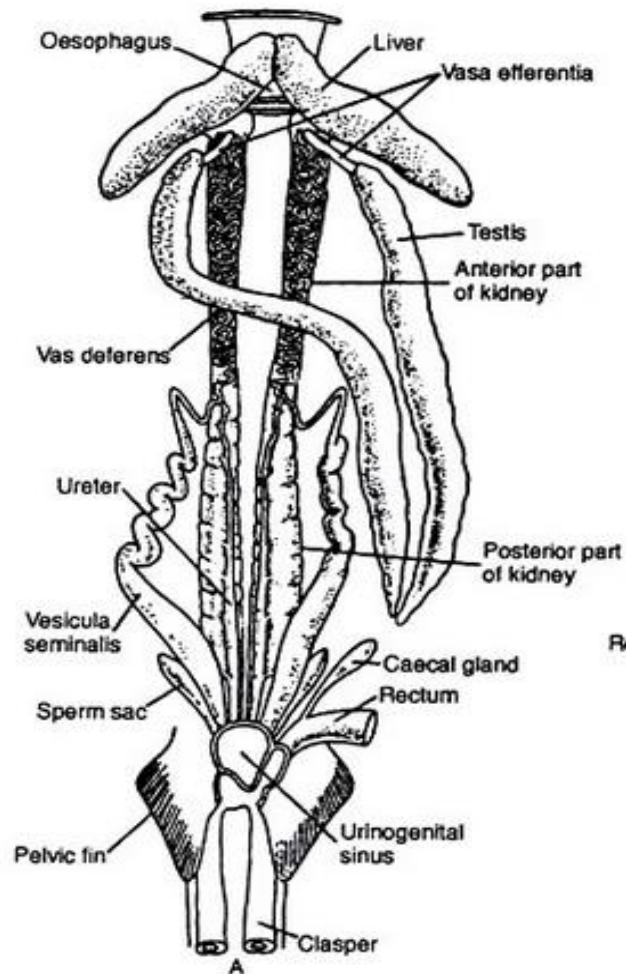
Au début des années 1960, le tilapia a été introduit en Algérie par Arrignon à titre expérimental. L'introduction comprenait des espèces de tilapia mozombica et de zilli de France. Ain Skhouna (W. Saïda), ainsi que les wilayas de Biskra et El Oued, ont été les lieux où ont eu lieu les libérations, comme le rapporte Boutouchent (2002).

Dans le cadre de la coopération sectorielle Algéro-égyptienne, l'Algérie a reçu en mai 2002 une cargaison de souche pure d'*Oreochromis niloticus* en provenance d'Égypte. L'introduction de ces poissons a nécessité le transport aérien de 4 000 alevins et 200 géniteurs du Caire à Alger. Pour assurer la santé et la sécurité des poissons, ceux-ci étaient dans un premier temps gardés à la station de Mazafran (ONDPA) et au CNRDPA de Bou-Ismaïl. Par la suite, les poissons ont été distribués aux agriculteurs pour une pisciculture intégrée à l'agriculture, comme le rapportait Boutouchent en 2002.

## **2. Reproduction chez le tilapia**

### **2.1 Appareil génital mâle**

Les organes génitaux masculins occupent la moitié postérieure du tronc (Figure 2). Les testicules, en forme d'œuf, sont positionnés de manière séquentielle et touchante. Le testicule antérieur mesure 0,55 mm de longueur et 0,30 mm de diamètre, tandis que le testicule postérieur mesure 0,50 mm de longueur et 0,34 mm de diamètre. Il existe six glandes à ciment en forme de poire, disposées par paires et dont la taille diminue d'avant en arrière. L'orgue Säftigen est de taille considérable, mesurant 0,90 mm de longueur. Les canaux cémentaires s'étendent le long de ses côtés latéraux, plus près du bord ventral. Le pénis est conique et de forme courte. La bourse copulatoire est musclée et épaisse. L'orifice génital masculin est situé dans la direction ventro-terminale (Golvan, 1965).



**Figure 2 :** Anatomie de l'appareil génital mâle

(<https://www.notesonzoology.com/fish/reproductive-systems-of-scoliodon-with-diagram-zoology/3686>).

## 2.2 Physiologie de la reproduction

### 2.2.1 Développements des gonades et puberté

Des recherches limitées ont été menées sur la production précoce de stéroïdes au cours de la différenciation sexuelle des gonades chez les poissons gonochoriques, tels que *Salmo Gairdneri* et le tilapia. Des études antérieures ont démontré la présence d'une activité stéroïdogène dans les gonades indifférenciées d'*O. niloticus* par histochimie et analyse du métabolisme in vitro. Des métabolites spécifiques associés à chaque sexe sont identifiés lors de l'initiation et de la progression de la différenciation. Il est intéressant de noter que ces métabolites ne correspondent pas toujours aux hormones traditionnellement utilisées dans les traitements d'inversion sexuelle, ce qui remet en question la compréhension établie des rôles des androgènes et des œstrogènes dans la différenciation testiculaire et ovarienne.

L'amélioration des techniques de contrôle sexuel et l'exploration de nouveaux traitements pourraient être rendues possibles grâce à une compréhension plus approfondie de l'environnement hormonal des gonades à des moments cruciaux du développement.

Dans les gonades féminines et masculines, la testostérone est détectée à un stade précoce. Dans le cas d'*O. niloticus* et de *S. gairdneri*, un stéroïde spécifique appelé 11 BOH.M, dérivé de l'androstènedione, semble être présent lors des phases initiales du développement testiculaire. Remarquablement, ce stéroïde a la capacité de masculiniser une population normale d'alevins de truite arc-en-ciel avec une grande efficacité (Van den Hurk et Slof, 1981 ; Van den Hurk et Van Oordt, 1985). De plus, il a été démontré que ce stéroïde peut donner lieu à une cohorte composée à 100 % d'hommes lorsqu'il est appliqué à des frères et sœurs XX génétiquement féminins d'*O. niloticus* (Baroille et *al.*, 1988).

### 2.2.2 Spermatogenèse

La spermatogenèse, processus qui conduit au développement de spermatozoïdes à partir de cellules indifférenciées (spermatogonies A), est l'aboutissement de différentes phases cytologiques. Ces cellules indifférenciées dérivent des cellules germinales de l'embryon. Selon les espèces, la spermatogenèse peut être soit continue, comme chez le tilapia, soit saisonnière, comme chez le poisson-chat (Billard et *al.*, 1982). En examinant une coupe histologique du testicule du tilapia, on peut observer que le testicule est organisé en plusieurs lobules (Hyder, 1970 ; Msiska, 2002). Les lobules contenant les stades les plus avancés de la spermatogenèse sont situés dans la région centrale de la gonade. Il semble qu'un groupe de cellules germinales primordiales et de spermatogonies primaires convergent dans le tissu conjonctif de la paroi testiculaire pour former les lobules initiaux plus gros à la périphérie du testicule (Hyder, 1970). La division mitotique des spermatogonies primaires, entourées de cellules somatiques, aboutit à la formation de spermatogonies secondaires. Ces spermatogonies secondaires restent enfermées dans une couche de cellules somatiques, qui préserve tous les produits issus de la division des spermatogonies primaires sous forme de kyste. D'autres divisions mitotiques des spermatogonies secondaires donnent naissance aux spermatocytes primaires, qui subissent ensuite deux cycles de division méiotique pour former des spermatides. Ces spermatides, toujours contenues dans la paroi du kyste, subissent une série de changements cytologiques tels que le développement du flagelle, la réduction du cytoplasme et la condensation de la chromatine, pour finalement se différencier en spermatozoïdes. À ce stade, les parois amincissantes des kystes se rompent, libérant les spermatozoïdes dans la lumière des lobules. Ce processus est connu sous le nom de spermiation (Dube et Scott, 2022).

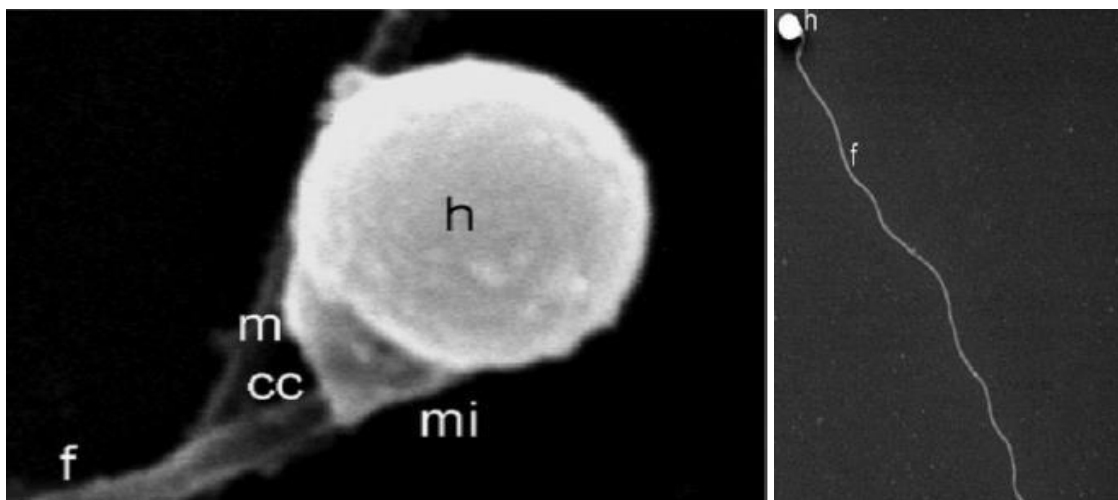
### 2.3 Fertilité du mâle et la production du sperme

#### 2.3.1 Caractéristiques du sperme

Lors de l'évaluation de la qualité de la laitance du poisson, divers paramètres sont couramment utilisés. Ceux-ci incluent la concentration des spermatozoïdes, la composition et les propriétés chimiques du liquide séminal, la motilité des spermatozoïdes, le métabolisme de la laitance, la morphologie, l'ultrastructure, la qualité de la membrane plasmique, la qualité du noyau et la capacité fécondante des spermatozoïdes. Cependant, il est important de noter que tous ces paramètres n'ont pas la même importance ni n'offrent le même niveau d'objectivité lors de l'évaluation de la qualité du sperme. En utilisant sélectivement certains paramètres, une évaluation plus complète et plus précise peut être obtenue (Gennotte et *al.*, 2012).

Selon **Billard (1995)**, le spermatozoïde du poisson (Figure 3) est caractérisé par :

- ❖ La tête qui est sans acrosome et sphérique.
- ❖ Le flagelle est de (40-50  $\mu\text{m}$ ).
- ❖ La pièce intermédiaire est réduite à quelques mitochondries.

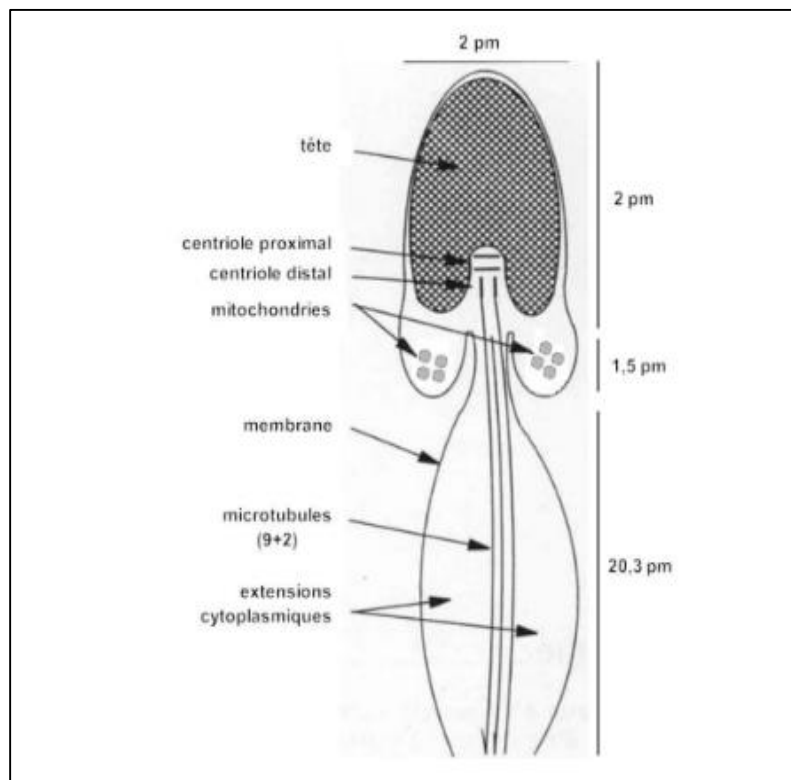


**Figure 3** : Spermatozoïde (h : tête ; f : flagelle, mi : pièce intermédiaire ; m : Mitochondrie ; cc : canal cytoplasmique) (Sonja et *al.*, 2009)

#### 2.3.2 Morphologie du sperme

Les résultats de la recherche démontrent des variations significatives dans les caractéristiques morphologiques et morphométriques des spermatozoïdes chez les téléostéens (Lou et Takahashi, 1989 ; Sadiqul Islam et Akhtar, 2011). Ces études impliquent une corrélation potentielle entre le mode de reproduction du groupe de poissons étudié. Le spermatozoïde du

tilapia appartient à la catégorie des types simples, comme le montre la figure 4. Il présente une tête sphérique d'un diamètre moyen de 2  $\mu\text{m}$ , une pièce médiane compacte mesurant environ 1,5  $\mu\text{m}$  de longueur et un flagelle relativement court s'étendant sur 20,3  $\mu\text{m}$  (Lou et Takahashi, 1989). Dans la section de la tête, les globules de chromatine dominent l'espace tandis que l'acrosome est absent du noyau. La pièce intermédiaire abrite généralement un cytoplasme réduit avec une base de 8 à 10 mitochondries. Quant au flagelle, il est constitué d'un axonème contenant 9 microtubules périphériques et 2 microtubules centraux (appelés type 9 + 2). De plus, la membrane plasmique flagellaire présente deux extensions cytoplasmiques latérales, comme l'ont observé Lou et Takahashi en 1989.



**Figure 4 :** Ultrastructure du spermatozoïde de tilapia (Maise, 1990).

### 2.3.3 Libération du sperme

Le processus de libération des spermatozoïdes implique l'expulsion des spermatozoïdes par la papille génitale, et on pense que les mécanismes nerveux jouent un rôle dans l'éjaculation naturelle des spermatozoïdes. Cette libération se produit lorsqu'il y a une contraction abdominale lors de la reproduction. Il est crucial que la libération des spermatozoïdes soit synchronisée entre les mâles et les femelles en raison de la courte durée de vie des spermatozoïdes dans l'eau. Chez les espèces à fécondation externe, les spermatozoïdes sont présents librement dans le plasma séminal lors de l'éjaculation, alors que chez les espèces à

fécondation interne, ils sont souvent retrouvés dans les spermatophores ou regroupés sous forme de spermatozoïdes (Billard et *al.*, 1982).

### 2.4 Contrôle hormonal

Les soins parentaux jouent un rôle important dans le succès reproducteur du tilapia. Comprendre les facteurs hormonaux qui influencent le comportement parental pourrait ouvrir la voie à des méthodes innovantes de contrôle de la reproduction. Semblable à d'autres vertébrés, le système endocrinien hypothalamus-hypophyso-gonade régit divers processus de reproduction, y compris des comportements spécifiques. Le rôle potentiel de la prolactine (PAL : Pseudomonas aeruginosa Lectin), une hormone sécrétée par l'hypophyse, dans la régulation du comportement parental des cichlidés a été souligné. Il est intéressant de noter que les études axées sur les comportements de soins parentaux du tilapia ont été remarquablement absentes, malgré le fait que ces poissons présentent un large éventail de stratégies de soins, allant du frai sur des substrats à la couvaison de leurs petits dans leur bouche (Smith et Brown, 2022).

Chez de nombreux cichlidés, la fécondation est rapidement suivie d'un processus de ventilation, au cours duquel les nageoires pectorales sont déplacées de manière rythmée pour diriger l'air vers le groupe d'œufs. Étonnamment, l'injection de PAL ovin, sans aucun signal externe naturel tel que la présence d'œufs ou d'un nid, peut à la fois induire et entretenir ce comportement tout en réduisant l'agressivité et l'appétit (Johnson et Lee, 2023).

L'intensité de ce comportement ventilatoire est directement influencée par la dose de PAL administrée. À mesure que la dose dépasse un certain seuil, la durée et l'intensité de la ventilation augmentent considérablement. Cependant, si la posologie continue à augmenter, on constate une inhibition progressive de ce comportement jusqu'à son blocage complet.

Il a été observé que l'injection de PAL de mouton suscite une réponse chez plusieurs Cichlidés, notamment *Symphysodon aequifasciata axelrodi*, *Pterophylum scalare*, *Aequidens pu/cher* et *Chromis chromis*. De plus, une espèce de labre appelée *Crenilabus ocellatus* a également présenté une réponse similaire au PAL. Bien qu'aucun test spécifique n'ait été réalisé sur le tilapia, un PAL spécifique du tilapia a été isolé et purifié, grâce à ses effets sur le comportement parental et à l'augmentation des cellules de mucus, qui servent de nourriture à la progéniture du cichlidé, observée chez les Cichlidés *Discus* (*Symphysodon* sp.). Ce PAL a été identifié et caractérisé par Blüm en 1973.

### 2.5 Maturité sexuelle

Certains élevages ont observé que *tilapia niloticus* présente une capacité remarquable à atteindre la maturité sexuelle à un jeune âge, parfois dès 03-04 mois. Il a été documenté que des individus mesurant seulement 30 g et 8 cm sont capables de se reproduire (Balarin et *al.*, 1982).

L'âge auquel *T. niloticus* atteint la maturité sexuelle varie généralement de 2 à 3 ans, avec une taille de 14 à 20 cm. Cependant, il peut y avoir des variations entre les mâles et les femelles, certains individus atteignant une taille de 28 cm. Le moment de la maturité sexuelle et de la taille peut être influencé par les conditions environnementales et la densité de population.

La taille à laquelle la maturité est atteinte peut varier au sein d'une population en raison de conditions environnementales variables (FAO, 2002). Lowe-McConnel (1982), identifie comme suit les facteurs qui contribuent à une réduction de la taille de la maturité :

- ❖ L'environnement a été réduit (confinement) en termes de taille.
- ❖ Il y a une pénurie de nourriture, tant en qualité qu'en quantité.
- ❖ L'intensité de la pêche est devenue excessive.

### 2.6 Facteurs influençant sur la production et la qualité du sperme

La qualité du sperme peut être influencée par les conditions environnementales auxquelles les mâles sont exposés.

#### 2.6.1 Contamination de la laitance par les urines

Chez les poissons d'eau douce la contamination du sperme par l'urine se déroule pendant le stripping, l'urine initie le mouvement spontané du sperme (Rurangwa, 2004).

#### 2.6.2 Nutrition

L'amélioration de l'alimentation et du régime alimentaire des géniteurs a un impact significatif sur l'excellence des gamètes et la production de graines (Izquierdo et *al.*, 2001). Le rôle de l'acide ascorbique alimentaire, également connu sous le nom de vitamine C, dans la fertilité des poissons mâles est crucial. La vitamine C sert d'antioxydant, protégeant les spermatozoïdes de la peroxydation lipidique et réduisant le risque de dommages. Des niveaux insuffisants d'acide ascorbique entraînent une réduction de la concentration, de la mobilité et, finalement, de la fertilité des spermatozoïdes (Canyurt et *al.*, 2008).

### 2.6.3 Effet du pH

La réactivation des spermatozoïdes chez les espèces de poissons est fortement influencée par le pH, qui joue également un rôle dans la détermination de la capacité de fécondation des spermatozoïdes. *Cyprinus carpio*, par exemple, présente une motilité optimale des spermatozoïdes à des niveaux de pH de 7,0 et 8,0. Des études ont montré que des modifications du pH externe peuvent entraîner des modifications correspondantes du pH interne (Alavi, 2004).

### 2.6.4 Facteurs environnementaux : température, photopériode et salinité

Il existe un manque de recherches approfondies sur l'impact des variations de température et de photopériode sur la qualité du sperme. Cependant, quelques études ont examiné la relation entre la température et les caractéristiques des spermatozoïdes chez des types spécifiques de poissons, ce qui suggère que la température peut affecter la composition lipidique des spermatozoïdes (Labbe et *al.*, 1995). De plus, la teneur en sel de l'environnement dans lequel les poissons sont élevés est susceptible d'affecter la membrane plasmique des spermatozoïdes. Par exemple, les truites arc-en-ciel élevées en eau salée présentaient une perméabilité membranaire plus élevée et/ou une résistance plus faible au stress hypoosmotique par rapport à celles élevées en eau douce (Bobe et Labbe, 2010).

### 2.6.5 Stress

L'impact du stress sur la qualité du sperme varie en fonction de l'espèce, de la durée de l'exposition au stress, ainsi que du type et du niveau spécifiques de stress ressentis. Le stress peut potentiellement provoquer des altérations de l'osmolarité plasmatique, influençant ainsi la qualité du sperme des poissons (Rurangwa, 2004). Il a été constaté que des cas de stress aigu entraînent une diminution de la concentration de laitance et un taux de survie réduit des larves (Bobe et Labbe, 2010). De plus, le stress associé à la capture et au transport de truites mâles sauvages a été identifié comme un facteur contribuant au déclin de la motilité des spermatozoïdes (Allyn et *al.*, 2001).

## 3 Méthodes de collecte de la semence

L'extraction de la laitance chez le poisson peut être réalisée par deux méthodes : la pression abdominale (appelée stripping) ou la rupture des testicules dans une solution tamponnée (Milon, 2013). Dans cette dernière approche, la suspension laiteuse est obtenue après avoir subi une centrifugation. Cependant, la collecte de laitance par prélèvement de testicules nécessite le sacrifice de poissons mâles, principalement chez les espèces comme *Clarias* qui se livrent à une

reproduction saisonnière. A l'inverse, pour les poissons à spermatogenèse continue comme le tilapia, la laitance peut être obtenue par simple pression abdominale. Une fois la pression appliquée, la laitance est ensuite extraite à proximité de la papille génitale à l'aide d'une seringue, d'une pipette Pasteur ou de tout autre matériel adapté. Il est essentiel de faire preuve d'une grande prudence lors de la collecte de sperme par pression abdominale. Ne pas y prêter suffisamment d'attention peut entraîner la contamination du sperme en raison du rejet involontaire de liquide fécal ou d'urine (Rana et Mc Donald, 1989 ; Milon, 2013). De plus, soumettre l'animal à une pression abdominale excessive peut entraîner des blessures, voire la mort (Milon, 2013).

### 4 Outils d'évaluation de qualité spermatique

Pour l'étude des outils d'évaluation de la qualité du sperme, on utilise l'analyseur d'images CASA (Computer Assisted Sperm Analysis).

Le système CASA est une combinaison de matériel et de logiciels qui automatise le processus de visualisation et de numérisation d'une série d'images de spermatozoïdes. En utilisant ce système, nous pouvons obtenir des résultats précis et détaillés qui fournissent des informations précieuses sur divers aspects des spermatozoïdes, tels que la concentration, la motilité, la morphologie et la morphométrie (Talarczyk Desol et *al.*, 2017).

La première étape consiste à examiner les spermatozoïdes et à établir les coordonnées (x, y) sur le champ d'observation. Ce processus est répété lors des captures ultérieures. Ensuite, toutes les données collectées sont analysées à l'aide d'un algorithme permettant de reconstituer les chemins spécifiques empruntés par chaque spermatozoïde.

Pour lancer cette procédure, la tâche initiale implique l'identification et la documentation de toutes les têtes de spermatozoïdes. Divers systèmes d'analyse de sperme assistée par ordinateur (CASA) emploient différentes méthodes pour reconnaître la tête du sperme, soit en analysant une séquence de pixels pour déterminer le centre de la structure « centriole », soit en balayant les pixels périphériques d'un objet. Par conséquent, le point le plus brillant de la tête du spermatozoïde ou de sa région centrale est choisi comme point de référence (Lu et *al.*, 2014).

#### 4.1 Evaluation macroscopique

##### 4.1.1 Couleur

Le sperme est un liquide blanc laiteux (Maise, 1990). La teinte typique du sperme est généralement une nuance de blanc, bien que son niveau de transparence dépende

principalement de la concentration du sperme. La coloration peut être altérée en cas de présence de composants irréguliers, comme l'introduction d'une teinte jaune due à la présence d'urine, d'une teinte grisâtre résultant d'une sédimentation au fond du récipient ou d'une teinte rougeâtre ou rosée indiquant la présence de sang (Bossit, 1989).

### 4.1.2 Volume

Le volume de la laitance recueillie varie en fonction des espèces et pour une même espèce, il varie en fonction de la taille de l'individu et l'avancement de la période de spermiation (Maisse, 1990). Chez les espèces comme les Salmonidés, le volume d'un éjaculat peut dépasser 50 ml (Maisse, 1990). Chez le tilapia par contre, le volume de laitance recueillie par pression abdominale est d'environ 0,3 ml (Chao et *al.*, 1987)

### 4.1.3 pH

Une fois la semence collectée, son pH est immédiatement évalué à l'aide d'un pH-mètre, comme indiqué par Najjar et al., (2013). Le pH de la semence varie de 6,8 à 8,4, ce qui en fait un indicateur fiable de la qualité du sperme (Alvarino, 2000).

## 4.2 Evaluation microscopique

### 4.2.1 Viabilité spermatique

La documentation approfondie sur l'état de la membrane plasmique en relation avec la quantité de spermatozoïdes viables et non viables est bien établie chez les humains et les animaux d'élevage. L'efficacité de cette méthode pour évaluer la viabilité des spermatozoïdes chez les poissons a été largement reconnue et ne nécessite plus de validation supplémentaire. Pour effectuer cette analyse, des fluorochromes spécifiques (par exemple SYBR®14, iodure de propidium) et un cytomètre en flux sont utilisés (Cabrita et *al.*, 2005 ; Erraud et *al.*, 2019).

### 4.2.2 Motilité des spermatozoïdes

La qualité du sperme est déterminée par sa capacité à se déplacer, ce qui est crucial pour une fécondation réussie, surtout lorsque les ovules sont situés à distance. La partie mécanique responsable de la propulsion est le flagelle du spermatozoïde, composé de microtubules reliés au centriole, qui relie la tête et la queue. L'énergie nécessaire au mouvement provient principalement des mitochondries situées dans la partie médiane du sperme. L'activation du flagelle se produit lorsque la concentration en cations potassium diminue en raison d'un changement dans le milieu environnant. Chez les poissons, les spermatozoïdes restent immobiles dans le plasma séminal et ne deviennent mobiles qu'au contact de l'eau. (Harvey et

Hoar, 1980). Le processus d'activation est chargé de permettre la motilité d'un sperme. Une fois activés, les spermatozoïdes peuvent bouger pendant environ 30 secondes. À l'époque moderne, l'utilisation d'analyseurs d'images CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) permet une quantification plus précise de la nature et de la vitesse du mouvement des spermatozoïdes (Rurangwa et al., 2004 ; Gennotte et al., 2012). L'évaluation de la qualité des graines repose sur la motilité car elle englobe diverses caractéristiques cellulaires et séminales, ce qui en fait la mesure la plus objective et la plus fiable (Gennotte et al., 2012, Shaliutina, 2013). Bien que la motilité ne garantisse pas la fertilité, les spermatozoïdes dépourvus de motilité sont incapables de féconder (Billard et al., 1971).

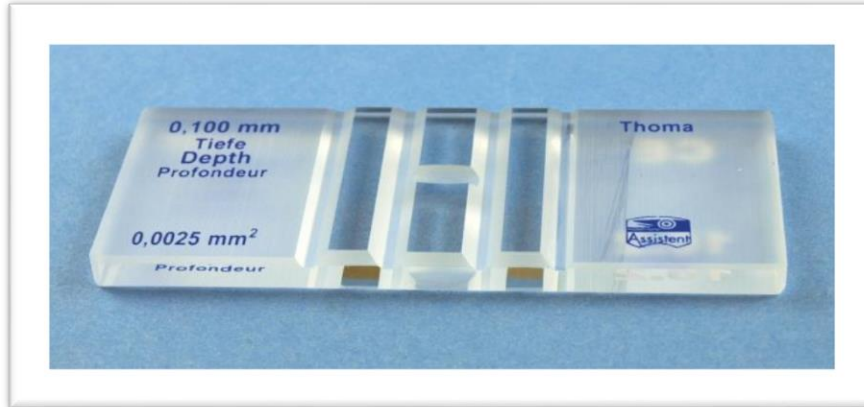
### 4.2.3 Concentration

La concentration, qui indique la quantité de spermatozoïdes dans un millilitre de sperme, peut être déterminée de différentes manières. Une méthode consiste à compter directement les spermatozoïdes à l'aide d'un hémocytomètre. Alternativement, la spectrophotométrie, la cytométrie en flux et la valeur du spermocrite peuvent être utilisées pour mesurer indirectement la concentration (Fauve et al., 2010). La spectrophotométrie et la cytométrie en flux consistent à observer les changements de la densité optique d'une suspension de spermatozoïdes à des longueurs d'onde spécifiques, tandis que la méthode de la valeur du spermocrite détermine la densité des spermatozoïdes après centrifugation (Billard et al., 1971 ; Fauve et al., 2010). Chacune de ces techniques a ses limites (Fauve et al., 2010). Cependant, la méthode la plus basique et la plus fiable pour déterminer la concentration consiste à compter les spermatozoïdes à l'aide d'un hémocytomètre (Fauve et al., 2010). Pour déterminer la concentration de spermatozoïdes, une formule de calcul est appliquée après avoir compté le nombre de spermatozoïdes dans une zone quadrillée de l'hémocytomètre. Cette méthode nécessite de diluer les spermatozoïdes dans une solution qui fixe et répartit les spermatozoïdes sur toute la zone de comptage. Les solutions recommandées à cet effet sont une solution physiologique de formol à 4 % ou une solution d'eau physiologique de NaCl à 8‰ (Billard et al., 1971). Le taux de dilution spécifique peut varier en fonction des cellules hémocytométriques et des préférences des auteurs. Cependant, un taux de dilution couramment utilisé est de 1/2000 (Billard et al., 1971 ; Legendre et Billard, 1980 ; Gennotte et al., 2012).

### Exemple d'hématimètre : la cellule de Thoma

La cellule de Thoma se compose d'une lame de verre robuste présentant un réseau perpendiculaire de lignes gravées dans sa partie supérieure (Figure 5). Ce réseau divise la lame

en 400 carrés mesurant chacun 0,05 mm de côté. Reposant sur deux renflements de la glissière se trouve une bande qui crée un espace de 0,1 mm au dessus du réseau. En conséquence, le volume au-dessus de chaque carré est précisément de  $0,25 \times 10$  ml (Saheb, 2014).



**Figure 5 :** Cellule de Thoma (<https://catalogue.labelians.fr/cellule-de-thoma.html>).

### 4.2.4 Morphologie

Les spermatozoïdes des téléostéens sont caractérisés par l'absence d'acrosome, ce qui contraste avec les spermatozoïdes des mammifères, bien qu'un acrosome actif soit présent chez les poissons Acipenseriformes (Linhart et Kudo, 1997). La forme de la tête et du noyau est très variable selon les espèces (Billard et Cosson, 1992) et la partie centrale contenant quelques mitochondries est soit bien développée (guppy), soit réduite (salmonidés, cyprinidés) (Billard et *al.*, 1995). Certains poissons à fécondation interne comme la loquette ont des spermatozoïdes biflagellés (Mattei, 1988 ; Yao et *al.*, 1995), alors qu'en général les poissons à fécondation externe ont un flagelle simple, bien que des spermatozoïdes biflagellés aient été rapportés chez la barbue de rivière (*Ictalurus punctatus*) (Jaspers et *al.*, 1976). Jusqu'à présent, rien ne prouve que les spermatozoïdes plus longs atteignent des vitesses de nage plus élevées (Gage et *al.*, 2002). Cependant, les déformations des spermatozoïdes sont associées à des déficiences fonctionnelles et entraînent une réduction de la motilité et de la capacité de fécondation. Par exemple, les spermatozoïdes de poissons directement exposés aux ions  $Hg^{2+}$  se caractérisent par des queues cassées (Van Look, 2001) et une réduction de la motilité et de la capacité de fécondation (Rurangwa et *al.*, 1998). L'exposition du poisson zèbre (*Danio rerio*) au tributylétain (TBT) au cours d'une période critique du début de la vie a entraîné la production de spermatozoïdes dépourvus de flagelles à la maturité sexuelle (McAllister and Kime, 2003).

### 5. Conservation de sperme

#### 5.1 Conservation à court terme (Réfrigération)

La conservation de la laitance pendant une courte durée est un processus simple qui consiste à la conserver au frais, soit sur de la glace, soit au réfrigérateur dans une plage de température comprise entre 0 et 10 °C (Harvey et Hoar, 1980). Les spermatozoïdes ont la capacité de supporter de brèves périodes de refroidissement, atteignant même des températures de quelques degrés en dessous de zéro. Les recherches suggèrent que la température optimale pour maintenir la qualité des spermatozoïdes se situe entre 3 et 5°C au-dessus de 0°C (François, 1946), car cela garantit leur motilité et leur viabilité après stockage à 4°C (Billard et *al.*, 1977).

Contrairement à la méthode de congélation, cette approche offre un double avantage de commodité et de prix abordable, car elle est facilement accessible et réalisable sans nécessiter de procédures complexes. Cependant, un inconvénient de cette technique est sa capacité limitée à conserver les graines pendant des périodes courtes à moyennes, contrairement à la congélation, qui permet une conservation indéfinie (Levillan, 2005).

Les étapes de la réfrigération, telles que décrites par Sanchez et Billard (1977) et développées par Paméla et Virginie (2008), peuvent être résumées comme suit :

- ❖ Le sperme collecté est acheminé dans une chambre froide à une température de +2°C afin d'équilibrer la température.
- ❖ Une fois la température stabilisée, le sperme est dilué à l'aide de différents milieux tamponnés. Par exemple, un pH de 9,0 et une concentration de cryoprotecteur de 5 % sont utilisés. Cela signifie que 2,5 ml de sperme sont mélangés à 0,25 ml de cryoprotecteur.
- ❖ Après avoir été laissé à une température de 2°C pendant une heure, le mélange est ensuite transféré dans un réfrigérateur réglé à +4°C.

#### 5.2 Conservation à long terme (congélation)

Selon les études menées par Legendre et Billard (1980) et Bakhach et *al.* (2007), il a été constaté que des températures extrêmement basses, telles que celles obtenues par le stockage dans l'azote liquide à (-196°C) ou dans la neige carbonique à (-79°C), immobilisent efficacement toutes les réactions chimiques, les processus biologiques et interactions physiques intra et extra-cellulaires.

Généralement la congélation de sperme se déroule en trois phases :

### 5.2.1 Phase de refroidissement

Réviers et Sauveur (1988) précisent que le sperme est dilué et conservé dans un environnement sombre à  $-4^{\circ}\text{C}$  sans congélation. Au cours de ce processus, les cryoprotecteurs pénètrent dans les spermatozoïdes, provoquant l'expulsion de l'eau de l'intérieur vers l'extérieur. Cela permet d'éviter la formation de gros cristaux pendant la congélation. Robeck et *al.* (2011) suggèrent trois taux de refroidissement différents.

Les pailles subissent une diminution progressive de température à raison de  $-10,70^{\circ}\text{C}$  par minute. Après avoir été maintenus à une hauteur de 13,5 cm au-dessus du réservoir d'azote liquide pendant 10 minutes, ils sont ensuite immergés.

La vitesse de refroidissement est enregistrée à une moyenne de  $-14,62^{\circ}\text{C}$  par minute. Les paillettes sont suspendues à une distance de 13,5 cm au-dessus du réservoir d'azote liquide pendant une durée de 5 minutes, suivies de 5 minutes supplémentaires à une hauteur de 4,5 cm avant d'être enfin immergées.

Le processus de refroidissement rapide se produit à une vitesse de  $-15,20^{\circ}\text{C}$  par minute. Après avoir été maintenues à une hauteur de 4,5 cm au-dessus du réservoir d'azote liquide pendant une durée de 10 minutes, les paillettes sont ensuite entièrement immergées.

### 5.2.2 Phase de conditionnement

L'emballage remplit la fonction essentielle de diviser la graine, la rendant facilement reconnaissable, stockable et utilisable. Le processus de congélation, utilisant des pailles immergées dans l'azote liquide, peut être réalisé soit manuellement en présence de vapeurs d'azote liquide, soit à l'aide d'une machine qui régule la vitesse de refroidissement.

Pour éviter que les pailles n'éclatent pendant le processus de décongélation, il est nécessaire de créer une bulle d'air à l'intérieur après les avoir remplies de graines. Les pailles doivent ensuite être positionnées sur un support situé 5 à 7 cm au-dessus de la vapeur d'azote liquide. Une fois que la température atteint environ  $-30^{\circ}\text{C}$ , ce qui est similaire à la température du sperme, le plateau contenant les paillettes est immergé dans de l'azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$ .

Pour assurer une bonne élimination de l'eau de la cellule tout en évitant la formation de cristaux intracellulaires, il est crucial de maintenir une diminution progressive de la température (Legendre et Billard, 1980).

### 5.2.3 Phase de congélation

Les paillettes sont placées dans un congélateur conditionné pour les congeler de 5 à -35°C (Tselutin et *al.*, 1999).

### 5.2.4 Stockage du sperme congelé

Après avoir été congelées, les paillettes sont rapidement organisées en lots expérimentaux dans des tubes d'hémolyse refroidis au contact de la neige carbonique. Ces tubes sont ensuite placés dans un bidon et immédiatement immergés dans de l'azote liquide. De plus, les pailles sont placées dans un autre bidon et déplacées vers un cylindre de stockage, garantissant que le niveau d'azote liquide dans le cylindre reste constamment plein, avec des remplissages réguliers tous les 15 jours (Legendre et Billard, 1980).

### 5.2.5 Décongélation de la semence

Pour initier la transformation du sperme en fragments solidifiés, le Bain-marie est utilisé. Néanmoins, les chercheurs ont constaté des variations dans la température optimale et la durée de décongélation. Par conséquent, la décongélation du sperme dans des paillettes à une température de 37°C pendant une période allant de 12 à 30 secondes donne une motilité supérieure par rapport à une décongélation à 5°C pendant 2 minutes, dans le même ordre. De plus, une décongélation à une température de 70°C pendant 7 secondes produit des résultats plus favorables en termes de motilité et d'intégrité de la membrane qu'une décongélation à 37°C pendant 2 minutes ou à 40°C pendant 20 secondes (Tuli et *al.*, 1991).

## 5.3 Utilisation des dilueurs

Lors de la conservation des spermatozoïdes (SPZ) par réfrigération ou congélation, il est essentiel de les diluer à l'aide de diluants de haute qualité (England, 1993). En effet, les dilueurs jouent un rôle important en protégeant le SPZ des effets néfastes de la réduction de la température, tout en facilitant également l'atteinte d'une concentration finale prédéterminée de spermatozoïdes (Peña et *al.*, 2000 ; Stănescu et Alin, 2010).

### 1. Milieux de dilutions et leurs caractères

Exemples des milieux de dilution (Tableau 2, 3) :

**Tableau 2** : Milieu de Mounib, 1980 en (mM/l)

<b>Saccharose</b>	125 mM/l
<b>Glutathion réduit</b>	6.5 mM/l
<b>Bicarbonate de potassium</b>	100 mM/l
<b>pH</b>	7,57 mM/l

**Tableau 3** : Milieu de Billard et *al.*, (1974) ; Trus-cottet et *al.*, (1968) ; Billard (1975)

<b>Dilueurs</b>	<b>Billard et <i>al.</i>, (1974)</b>	<b>Trus-cottet et <i>al.</i>, (1968)</b>	<b>Billard, (1975)</b>
<b>NaCl</b>	5,775 g/l	1,88 g/l	5,55g/l
<b>CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O</b>	0,237 g/l	0,23 g/l	0,06 g/l
<b>KCl</b>	1,886 g/l	7,20 g/l	2,236 g/l
<b>NaH<sub>2</sub> P<sub>04</sub>.H<sub>2</sub>O</b>		0,41 g/l	
<b>NaHC<sub>03</sub></b>		1,00 g/l	
<b>MgS<sub>04</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0,243g/l	0,23 g/l	0,06 g/l
<b>Glucose</b>		1,00 g/l	
<b>Tampon (nature et volume)</b>	glycolle 0,02 M Tris 0,02 M 10 %	Glycolle 0,02 M Tris 0,02 M 10 %	Hepès-NaOH 0,04 M5 %
<b>Pression osmotique finale</b>	255 mOsmole	261 mOsmole	250 mOsmole
<b>pH</b>	9,0	9,0	9,0

### 5.3.1 Caractéristiques et composition des dilueurs

La composition des diluants est variable, mais certains ingrédients de base sont généralement utilisés. Parmi les compositions les plus utilisés il y a :

- ❖ **Sucres** : comme du glucose, du lactose, de la raffinose, du saccharose ou du tréhalose (Barbas et Mascarenhas, 2009). Des éléments nutritifs pour éviter l'épuisement des spz (Decuadro- Hansen, 2004).

- ❖ **Antibiotiques** : Pour empêcher la croissance bactérienne, des antibiotiques comme la pénicilline ou la streptomycine sont couramment introduits, comme cité par Lusignan (2011). Il convient toutefois de noter que ces antibiotiques peuvent avoir un impact néfaste sur les spermatozoïdes, car ils entravent la prolifération des bactéries présentes dans la plupart des éjaculats (Althouse, 2000).
- ❖ **Solution tampon** : Afin d'assurer la survie des spermatozoïdes, il est nécessaire de maintenir un pH extracellulaire optimal et une osmolarité appropriée. Pour y parvenir, des tampons tels que le phosphate, le Tris ou le citrate de sodium sont couramment utilisés (Vishwanath et Shannon, 2000). Tris est un tampon largement utilisé dans les applications biologiques pour la formulation de solutions tampons (Giusti et *al.*, 2002).
- ❖ **Agents protecteurs** : Pour améliorer la fluidité cellulaire et diminuer la formation de cristaux de glace intracellulaires, des agents cryoprotecteurs doivent pénétrer dans la membrane cellulaire et induire une déshydratation partielle. Ce processus abaisse efficacement le point de congélation, ce qui entraîne une réduction de l'engourdissement et une taille plus petite des cristaux de glace (Rosato et Laffaldano, 2013). Ces agents peuvent être classés en deux groupes principaux.
- ❖ **Agents perméables** : Le cryoprotecteur le plus utilisé dans le monde est le glycérol. Il possède la capacité d'agir à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des cellules. Le glycérol pénètre dans les spermatozoïdes et modifie la structure des cristaux de glace qui se développent, ce qui donne une forme plus sphérique. Cette modification diminue le risque de perforation de la membrane, comme l'ont indiqué Stănescu et Alin en 2010.

Découvert par Loverlok et Bishop en 1959, le diméthylsulfoxyde (DMSO) est un cryoprotecteur intracellulaire qui présente une pénétration rapide, réduisant ainsi la période d'équilibre (Billard et Legendre, 1980).

Des études ont démontré que l'éthylène glycol (EG) possède des propriétés cryoprotectrices (Ana et *al.*, 2006). L'amélioration de la qualité du sperme, y compris la viabilité, l'intégrité des acrosomes et des membranes, ainsi qu'une réduction des anomalies de l'expression de la mobilité, ont été observées avec l'utilisation d'éthylène glycol, comme l'ont rapporté Swelum et *al.* en 2011.

- ❖ **Agents non perméables**

Le jaune d'œuf, que l'on retrouve dans les agents de congélation du sperme de lapin, est généralement utilisé à des concentrations allant de 10 à 20 % (Mocé et Vicente, 2009). Le lait écrémé, en particulier la version sans lipides, sert d'agent protecteur à la fois pour le sperme et

pour les diluants contenant du jaune d'œuf (Kakar et Ganguli, 1978). De plus, le lait agit comme un tampon et une protection contre le choc dû au froid (Scobey et *al.*, 1995 ; Almquist et *al.*, 1954). Selon Rosato et Laffaldano (2013), les sucres, en particulier les disaccharides comme le saccharose et le tréhalose, ont le potentiel d'améliorer la qualité des spermatozoïdes cryoconservés.

# Chapitre II

## Matériel et méthodes

### III. Matériel et méthodes

#### Objectif de l'étude

- Evaluation la qualité macroscopique du sperme de tilapia
- Evaluation de l'effet de deux dilueurs et de la durée de conservation de la semence sur les paramètres microscopique de semence chez le tilapia

#### 1. Cadre de l'étude

La présente étude a été réalisée dans deux établissements. La première partie de l'étude, concernant la préparation des dilueurs, a été effectuée dans le laboratoire de chimie de l'école nationale supérieure de science de la mer et l'aménagement du littoral (ENSSMAL). Par la suite, la deuxième partie de l'expérience, comprenant la collecte et l'analyse de la semence, a été réalisée dans le Laboratoire de Biotechnologies liées à la Reproduction Animal (LBRA) de l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1.

#### 2. Matériel

##### 2.1 Matériel biologique

La collecte du sperme a été réalisée à partir de 7 géniteurs mâles de *O. Niloticus* sont issus de la ferme SARL AQUA PRO à Ain Oussara (Figure 6)

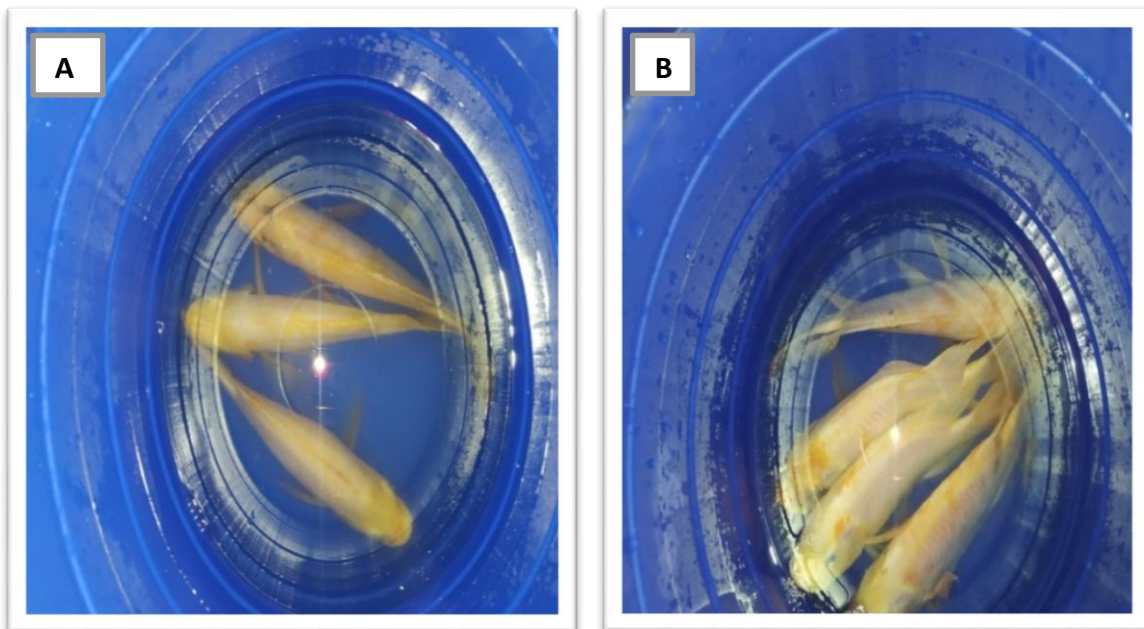


Figure 6 : (A) et (B) : les espèces d'*O. Niloticus* utilisés dans notre expérience.

### 2.2 Matériel de collecte de la semence

Le matériel utilisé pour la collecte de la laitance de poisson est le suivant (Figure 7) :

- Papier générique pour sécher l'appareil génital.
- Serpillière mouillée.
- Seringue.
- Tube à essai.
- Une glacière contenant de la glace a servi pour maintenir la laitance à 4°C avant leur utilisation.

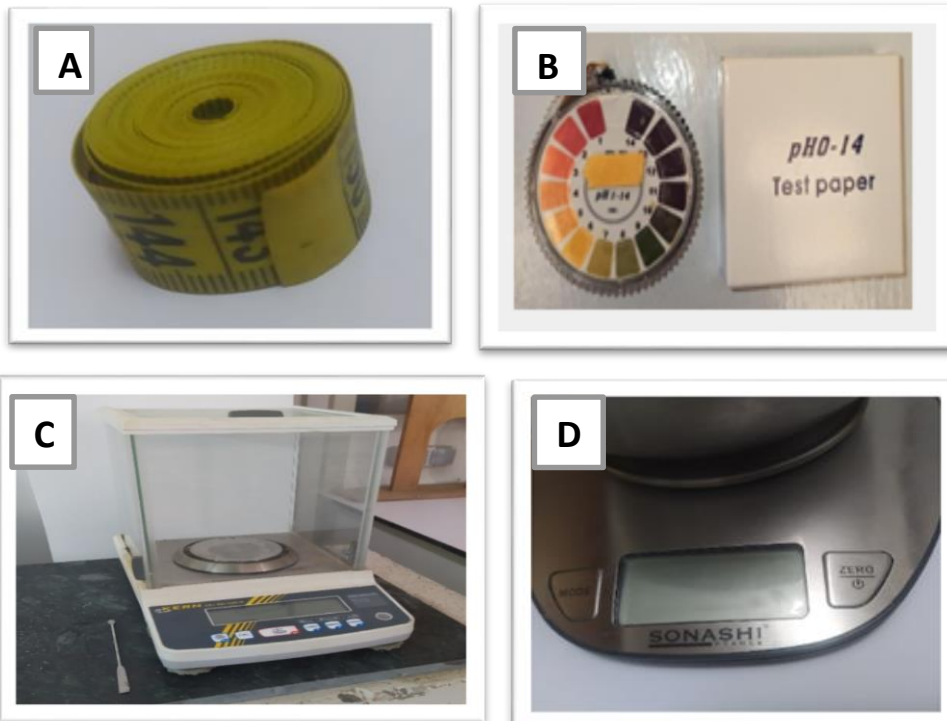


**Figure 7 :** Matériel utilisé pour la collecte de la laitance

### 2.3 Matériel de mesure

Au cours de cette étude nous avons utilisé (Figure 8) :

- Mètre ruban de 1,5m de long a été utilisé pour leurs mensurations (figure A).
- Un papier pH a été utilisé pour mesurer le pH de la laitance (figure B).
- UN balance électronique de précision 1/1000<sup>ème</sup> a servi également pour la pesée des produits chimiques nécessaires à la préparation des dilueurs (figure C).
- Balance électronique Sonashi (5kg) pour peser les poissons (figure D).

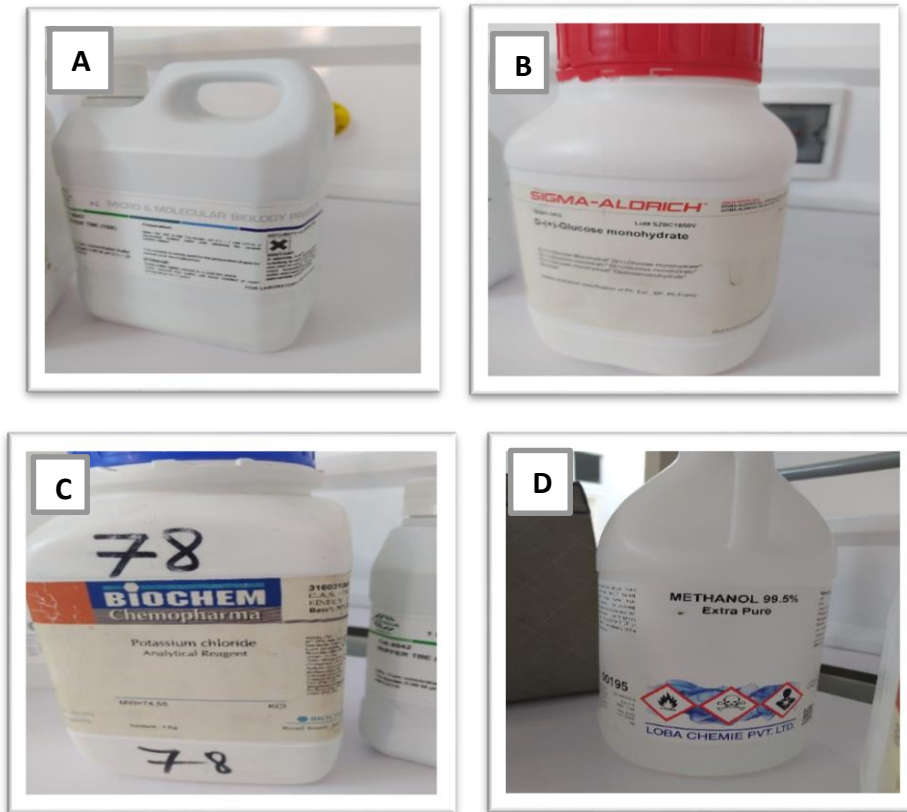


**Figure 8 :** Matériel de mesures (A : mètre ruban, B : papier pH, C : balance électronique de précision, D : balance électronique (5kg))

## 2.4 Produits et réactifs utilisés

- **Pour la préparation des dilueurs**

Pour la préparation des dilueurs les réactifs suivants ont été utilisés (Figure 9) : le Glucose ; KCl ; le Tris ; le méthanol ; l'eau distillée ; le jaune d'œuf.



**Figure 9** : Réactifs utilisées (A : le tris, B : glucose, C : KCl, D : méthanol)

- **Pour l'Anesthésie**

L'huile essentielle de clou de girofle a été utilisée (Figure 10).



**Figure 10** : Huile de clou de girofle

- **Pour la motilité**

L'eau physiologique a été utilisée pour diluée la laitance.

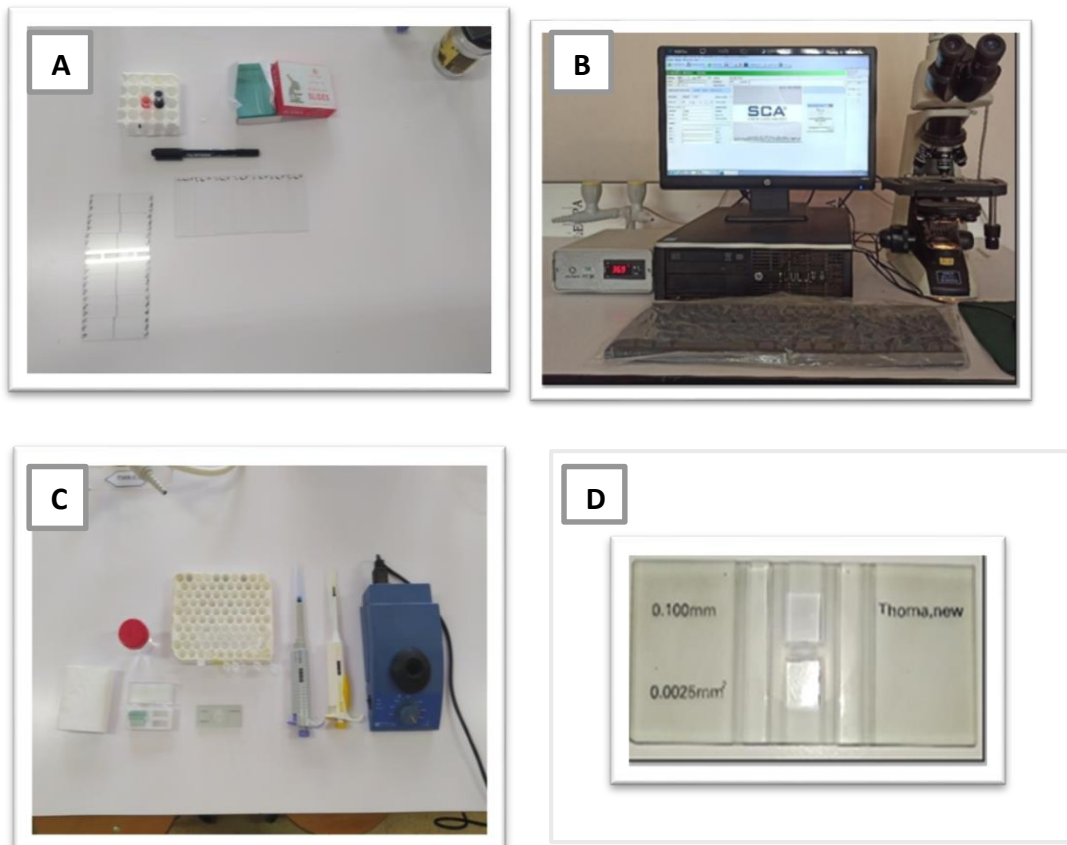
- **Pour la vitalité et la morphologie**

Nous avons utilisé l'éosine et la négrosine pour la coloration

### 2.5 Matériel utilisé dans l'analyse de la laitance

Pour l'analyse des caractéristiques spermatiques (Figure 11) :

- Un système d'analyse du sperme assisté par ordinateur (système CASA : Computer Aided Sperm Analysis) a été utilisé pour observer la motilité, la morphologie et la vitalité des spermatozoïdes et pour déterminer la concentration des spermatozoïdes.
- Un hématimètre (cellule de Thoma) des micropipettes lamelle et vortex ont été utilisés pour déterminer la concentration en spermatozoïdes de la laitance.
- les lames ; des micropipettes et un crayon feutre (pour marquer les lames) sont utilisés dans l'analyse de vitalité et morphologie.
- Lame, lamelle et micropipettes sont utilisés dans l'étude de motilité



**Figure 11 :** Matériel utilisé dans l'étude de la laitance (A : matériel de l'étude de vitalité, B : système CASA, C : matériel de l'étude de concentration, D : cellule de Thoma)

### 2.6 Autres matériel

- Agitateur et barreau magnétique
- Bécher
- Éprouvettes
- Pipette graduée et pipetteur
- Erlenmeyer
- Entonnoir
- Pissette
- Support tube à essai
- Eppendorfs

### 3. Méthode

#### 3.1 Préparation des dilueurs

Au but d'optimisation de la conservation de sperme de tilapia nous avons utilisé un milieu qui a été utilisé pour la conservation de sperme de poissons. Composé de 10 g de glucose, 0,75 g de KCl, 7,5 ml de Tris (pH : 8, 0) et 10% de méthanol pour un volume final de 250 ml (Gambakpo, 2021).

Pour préparer cette solution il faut :

**Etape 1 :** Peser 10 g de glucose et 0,75 g de KCl, pour cela :

- Tarer la balance avec le papier aluminium vide.
- Avec la spatule déposer le glucose jusqu'à ce que la balance affiche 10 g.
- Répéter la même étape pour le KCl.

**Etape 2 :**

- Introduire les 10 g glucose dans la fiole jaugée de 250 ml à l'aide de l'entonnoir.
- Rincer l'entonnoir à l'eau distillée afin de récupérer tous les grains de glucose.
- répéter la même étape pour le KCl.

**Etape 3 :**

A l'aide des pipettes graduées et pipetteur, Ajouter 7,5 ml de tris et 25 ml de méthanol

**Etape 4 :**

- Ajouter de l'eau distillée jusqu'à environ  $\frac{3}{4}$  de la fiole.
- Boucher la fiole et secouer pour homogénéiser la solution.

**Etape 5 :**

Remplir précisément à l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

**Etape 6 :**

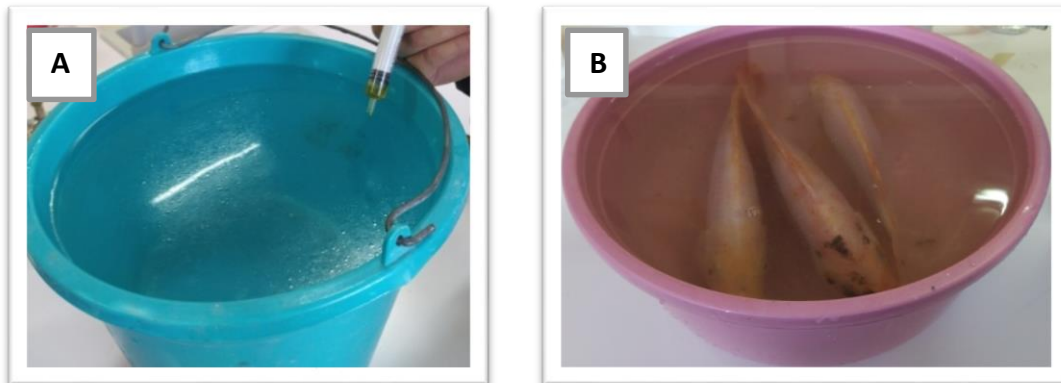
- Mettre le barreau magnétique à l'intérieur de la fiole.
- Boucher la fiole et mettre sur l'agitateur pour homogénéiser la solution.

- récupérer le barreau à l'aide d'un autre barreau.
- Filtrage de solution
- Obtenir 250 ml de solution.
- ❖ Pour étudier l'effet de cette solution sur la conservation du sperme, nous avons divisé la solution en deux parties égales :
  - L'une nous n'avons rien ajouté
  - L'autre avec nous avons ajouté du jaune d'œuf 10 % du volume total de la solution.

### 3.2 Collecte de sperme

#### 3.2.1 Anesthésie

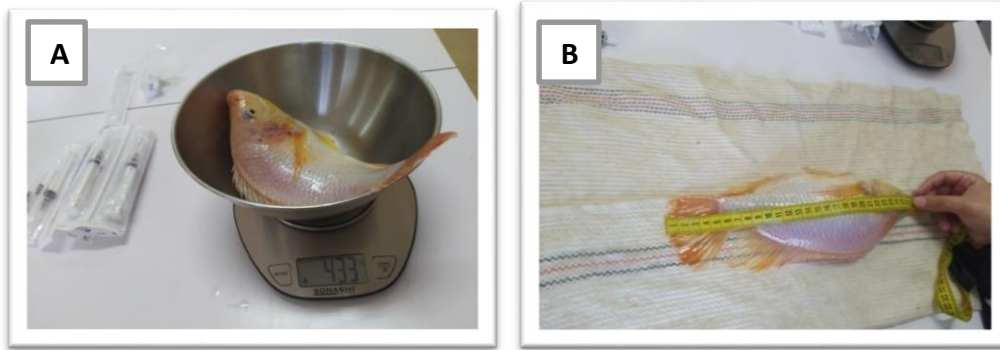
- L'huile essentielle de clou de girofle (*Eugenia caryophyllata* à 90 %) est un anesthésique naturel (Javahery et Nekoubin, 2013).
- Utiliser 0,5 ml par 10 l d'eau (Figure 12(A)) (Horvath *et al.* 2002).
- Transférer le contenu du sceau de 10 litre dans le récipient circulaire afin d'y transférer et retirer les poissons facilement.
- L'immobilisation totale du poisson a nécessité environ 3 minutes (Figure 12 (B)).



**Figure 12 :**(A) : Préparation de l'anesthésie(B) : Poissons après l'anesthésie.

#### 3.2.2 Pesage

La longueur totale des géniteurs est évaluée à l'aide d'un mètre ruban et leurs poids avec une balance électronique (Figure 13).

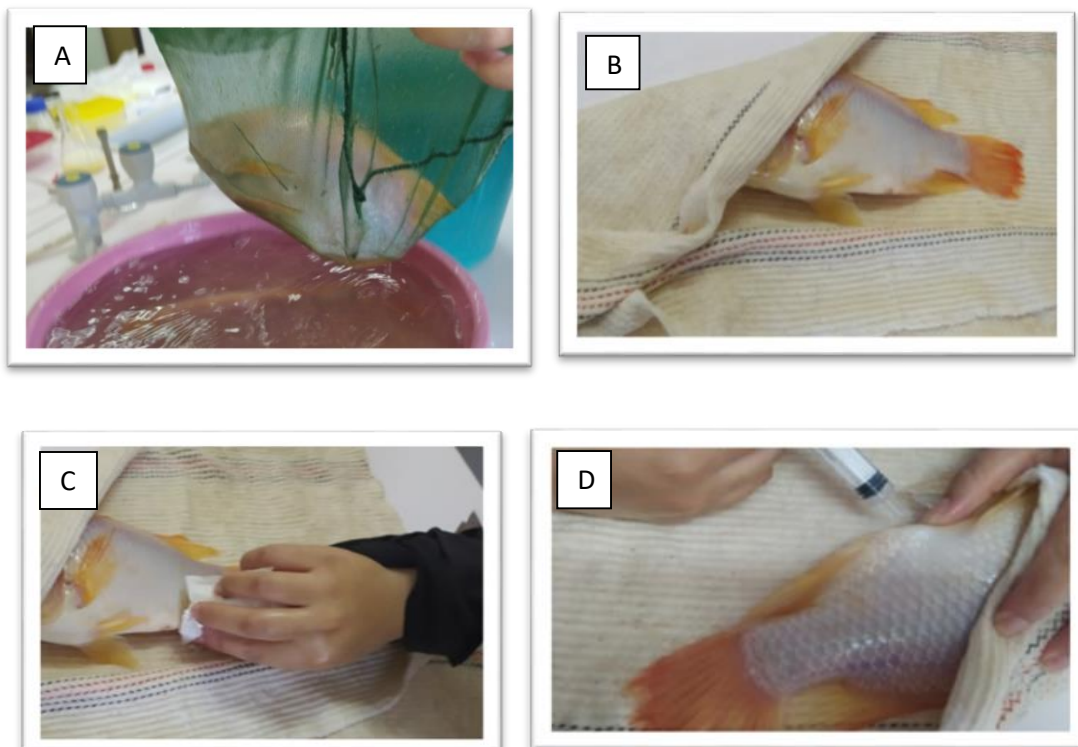


**Figure 13 :** Pesée et mensuration du tilapia ((A) : Poids, (B) : Taille de tilapia)

### 3.2.3 Collecte de sperme

La collecte de la semence est réalisée comme suit (Figure 14) :

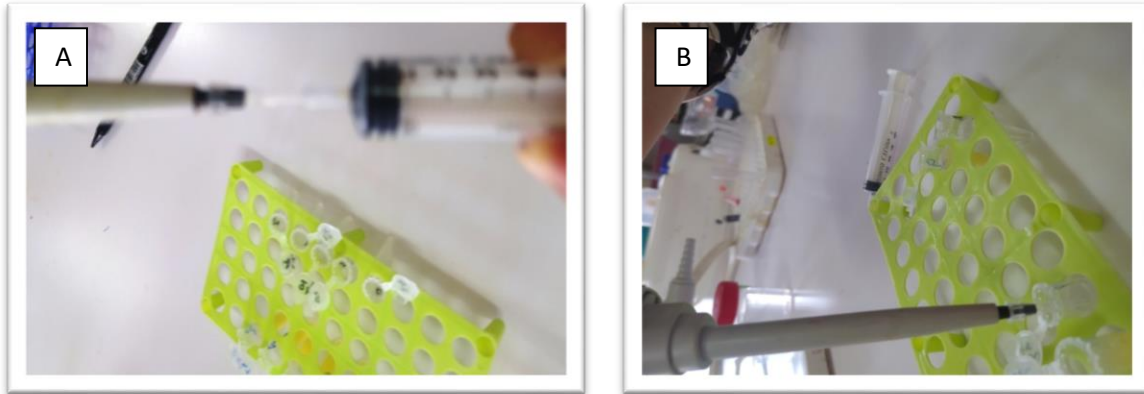
- Après l'anesthésie, les individus sont enveloppés dans une serpillière mouillée en prenant soins de recouvrir les yeux afin de diminuer le stress et les risques de blessures.
- Sécher l'appareil génital à l'aide d'un papier génique pour éviter la contamination du sperme.
- La récolte de la laitance est faite par le stripping (légère pression sur l'abdomen du poisson), la laitance a été retirée directement dans des seringues.



**Figure 14 :** Différentes étapes de la collecte du sperme ((A) : Récupération des poissons, (B) : Recouvrement des yeux, (C) : Séchage de l'appareil génital, (D) : collecte de sperme).

### 3.3 Dilution de sperme

A l'aide d'une micropipette diluer 1 µl du sperme de chaque poisson dans 1 ml de chaque milieu (Figure 15).



**Figure 15 :** (A et B) Dilution de sperme.

### 3.4 Conservation à court terme (Réfrigération)

- Notre objectif était d'améliorer la conservation du sperme de tilapia en le conservant au réfrigérateur à une température de (+4°C).
- Tant le sperme frais que le sperme dilué ont été soigneusement conservés par nos soins.

### 3.5 Evaluation de la qualité de la laitance

#### 3.5.1 Spermogramme

Un spermogramme ou analyse du sperme est un test biologique qui évalue la qualité du sperme. Les paramètres pris en compte au cours de cette étude comprennent la couleur, le volume et le pH des spermatozoïdes ainsi que la morphologie, la mobilité et la concentration des spermatozoïdes (Marieta et al., 2018).

- Le jour de la collecte, nous avons analysé un total de 7 échantillons, constitués de semence fraîche.
- En raison de l'absence de sperme dans l'un des échantillons le jour du prélèvement, ce dernier a été éliminé.
- Après la dilution de la semence avec les deux dilueurs et la conservation de la semence fraîche et diluée à 4°C, nous avons examiné 18 échantillons à deux intervalles de temps différents : 24 heures, 48 heures (Figure 16).



**Figure 16 :** Echantillons de semence fraîche et diluée

### 3.5.2 Caractéristiques Macroscopiques

Pour chaque espèce, l'examen macroscopique est effectué au niveau du laboratoire, immédiatement après la collecte du sperme. Cet examen consiste à étudier la couleur, le volume et le pH pour la semence récoltée de chaque poisson.

#### 3.5.2.1 Couleur

La couleur de la semence est déterminée immédiatement le jour de prélèvement par l'observation de semence prélevée par une seringue.

#### 3.5.2.2 Volume

Le volume est directement mesuré dans la seringue, utilisée pour la récolte le jour de prélèvement (Figure 17).

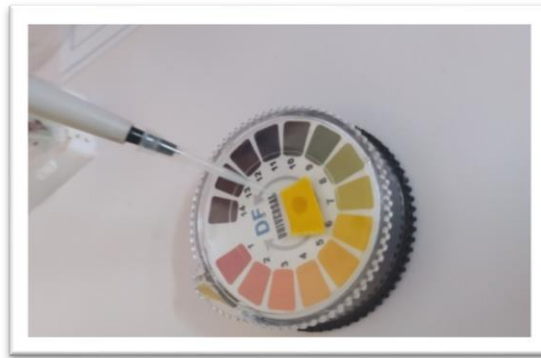


**Figure 17 :** Volume et couleur de sperme

#### 3.5.2.3 pH

Pour la détermination du pH, une goutte de chaque échantillon de laitance est prélevée à l'aide d'une micropipette. La goutte a été déposée sur un papier pH. La couleur prise par le

papier pH a été ensuite comparée à l'échelle de teinte qui donne les différentes valeurs de pH (Figure 18).



**Figure 18 :** Détermination du pH .

### 3.5.3 Caractéristiques microscopiques

#### 3.5.3.1 Concentration

Cette mesure consiste à déterminer le nombre de spermatozoïdes par millilitre de semence pure à l'aide de la cellule de Thoma ayant deux grilles. Chaque grille est divisée en 16 grands carrés, eux-mêmes divisés en 16 petits carrés.

#### ❖ Fixation du sperme

La fixation se fait suite :

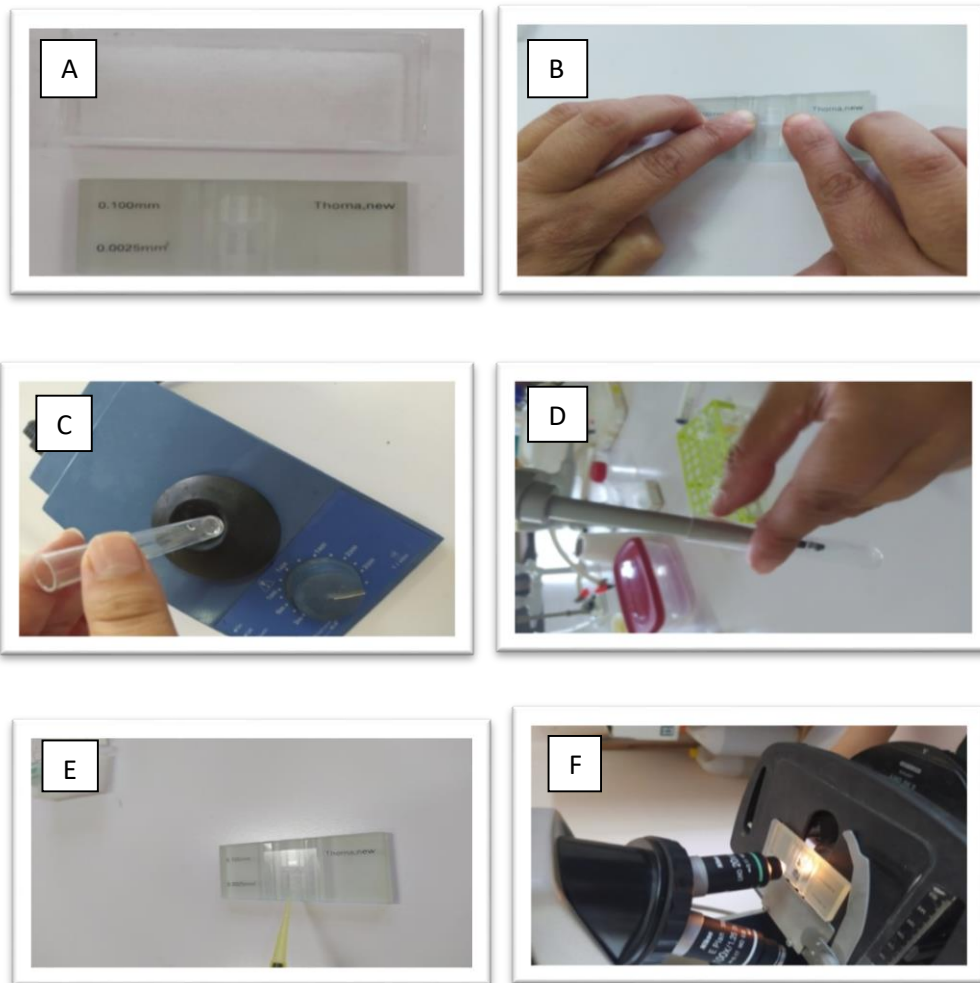
- Nous prenons 1 microlitre de sperme à l'aide d'une micropipette après nous ajoutons 199 microlitres de formol dilué à 10%.
- La semence diluée est homogénéisée à l'aide d'un agitateur (Vortex) avant de manipuler.

#### ❖ Méthode d'estimation de concentration

- Pour préparer la cellule de Thoma (A), il faut d'abord la positionner sur une surface plane, puis appliquer soigneusement de l'adhésif sur les bords de la lamelle, la faire glisser doucement sur toute la largeur de la cellule et s'assurer qu'elle adhère solidement (cellule-lamelle) (B).
- Faire une dilution de 1/200 pour le sperme, homogénéiser le sperme dilué à l'aide de vortex (C).
- À l'aide d'une micropipette, extrayez une goutte de semence diluée (D) et positionner la soigneusement. En bordure de lamelle pour la première et deuxième grille. Par action capillaire, la gouttelette se dispersera progressivement entre la lame et la lamelle (E).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

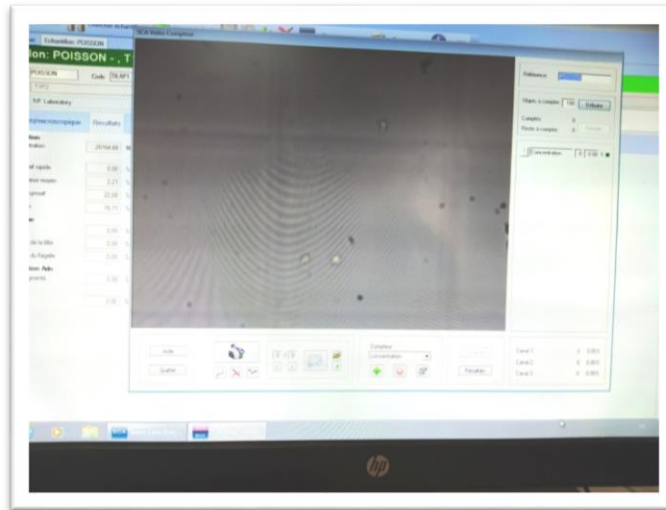
- Afin de garantir un décompte précis, il est nécessaire de laisser la semence diluée au repos pendant une durée de 10 minutes.
- Pour commencer le comptage, poser la lame sur le microscope et assurer que la mise au point est correctement ajustée pour une clarté optimale.
- Utilisez un microscope à contraste de phase avec un grossissement de x 40 pour effectuer l'observation (F).



**Figure 19 :** (A, B, C, D, E et F) Différentes étapes d'évaluation de la concentration

### ❖ Comptage

Le dénombrement des spermatozoïdes se fait dans les deux colonnes centrales (4 carrés pour chaque colonne) de chaque grille. Les spermatozoïdes qui sont en haut et à droite ne sont pas pris en considération (Figure 20).



**Figure 20 :** Comptage du spermatozoïde à l'aide du système CASA

### ❖ Calcule :

Le calcule se fait selon **Jacky (2007)**.

- les deux colonnes centrales d'une grille contiennent 8 x 16 soit 128 petits carrés
- le volume d'un petit carré est de  $1/4000 \text{ mm}^3$
- Volume des deux colonnes est :  $0.032 \text{ mm}^3$
- Calculez la somme spermatozoïdes comptés, et vérifiez la différence entre comptage des deux chambres, inférieure ou égale << value >>> (le tableau dans l'annexe 1)
- La concentration en spermatozoïdes par ml de diluant est calculée selon la formule suivante :

$$Cn = \frac{\text{la somme} \times D \times 1000}{\text{volumecompté} \times 2} \quad \text{Soit : } Cn = \frac{\text{la somme} \times 200 \text{million}}{64}$$

La somme = nombre de spermatozoïdes dans 8 grands carrés de la grille du haut et du bas.

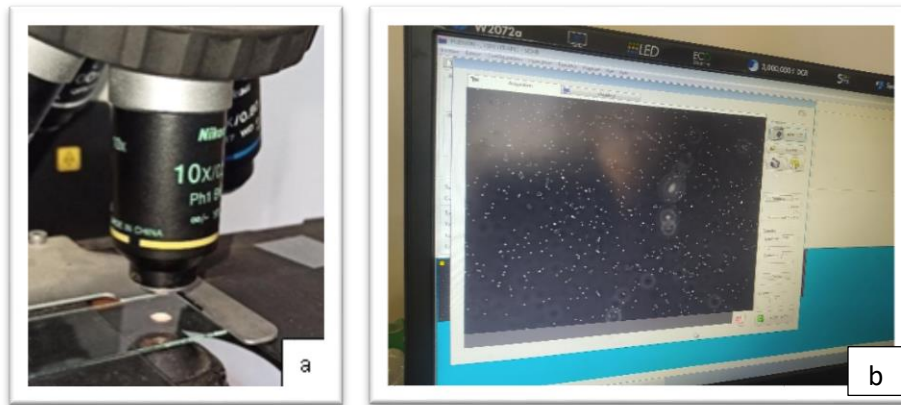
D = dilution du sperme.

### 3.5.3.2 Motilité

Selon Billard (1995), les spermatozoïdes des cyprinidés sont immobiles dans le testicule et le liquide séminale. La diminution de l'immobilisation nécessite une dilution. Dans notre expérience nous avons utilisé l'eau physiologique comme un dilueur de la semence fraîche.

### Pour déterminer la motilité :

- Secouer le tube contenant la semence de manière circulaire pour mélanger le sperme.
- Prélever une goutte de semence à l'aide d'une micropipette, réglée à 1 microlitre et déposer la dans un eppendorf contenant 10 microlitre de l'eau physiologique.
- Bien homogénéiser avec la micropipette.
- Déposer une goutte de la semence diluée sur une lame et observer à l'aide d'un microscope à un grossissement de x10 (**Figure 21**). .



**Figure 21** : Observation de la motilité des spermatozoïdes (**a** : le grossissement et **b** : écran de système casa)

Les valeurs de motilité des spermatozoïdes ont été appréciées selon l'échelle de Sanchez-Rodriguez et Billard (1977). Ces valeurs correspondent au nombre de spermatozoïdes mobiles ayant un mouvement traçant par rapport au nombre totale de spermatozoïdes.

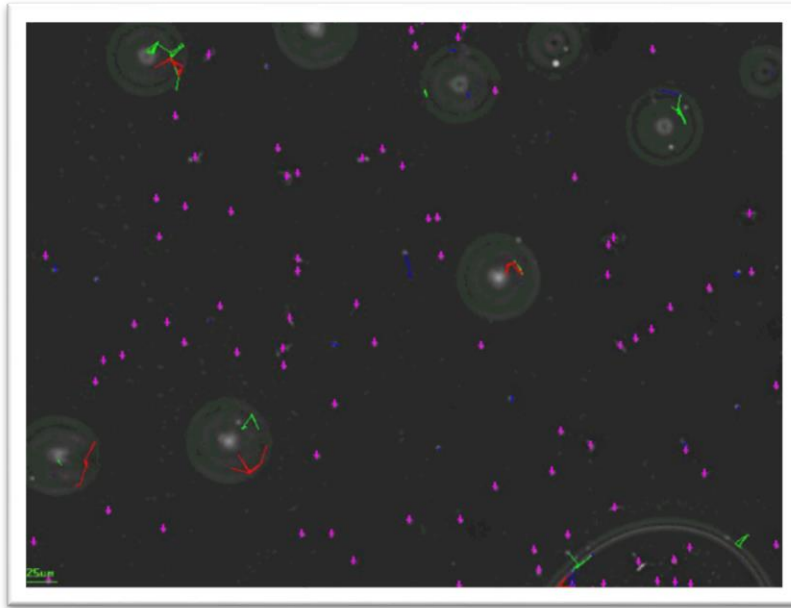
**Tableau 4 :** Echelle arbitraire pour apprécier la motilité des spermatozoïdes (Sanchez-Rodriguez et Billard, 1977)

Valeur	Observations
5	Tous les spermatozoïdes se déplacent vigoureusement ; impossibilité de fixer la vue sur aucun d'entre eux.
4	La majorité des spermatozoïdes se déplacent encore rapidement ; seuls quelques-uns sont visibles du fait de leur déplacement plus lent.
3	Les spermatozoïdes présentent trois comportements (en nombre sensiblement égaux) : <ul style="list-style-type: none"><li>- soit ils se déplacent vigoureusement ;</li><li>- soit ils se déplacent lentement ;</li><li>- soit ils sont immobiles.</li></ul>
2	Peu de spermatozoïdes se déplacent rapidement ; quelques-uns se déplacent lentement. La majorité des spermatozoïdes est immobile.
1	Seuls quelques spermatozoïdes ont une légère agitation.
0	Tous les spermatozoïdes sont immobiles.

Grâce à l'écran du système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis). Les mouvements de chaque spermatozoïde sont observés à un grossissement de x10 et en utilisant un filtre vert (Figure 22).



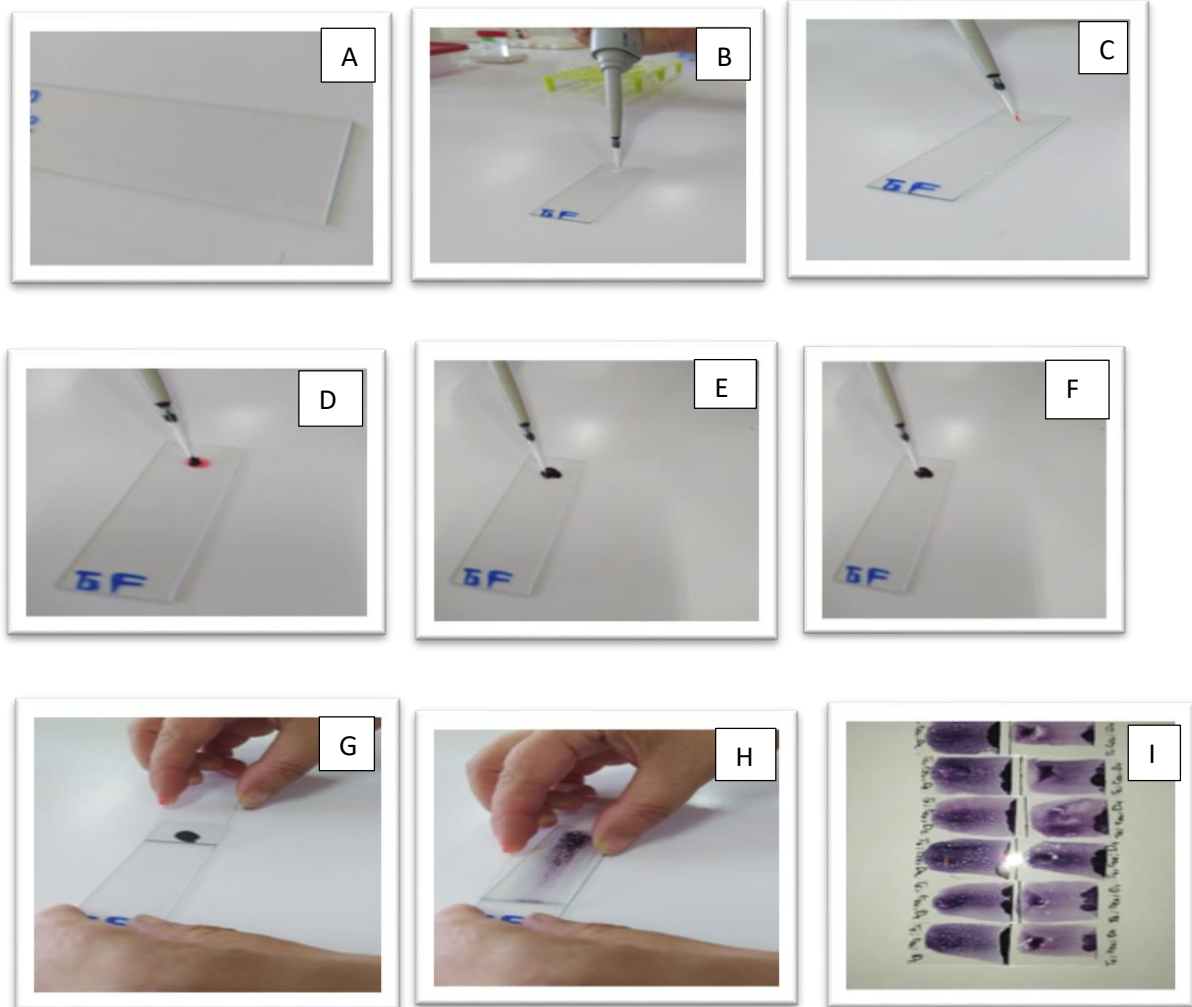
**Figure 22 :** Filtre vert



**Figure 23:** Observation sur le système CASA de la motilité

### 3.5.3.3 Vitalité

L'évaluation de ce paramètre a été réalisée en utilisant la technique de coloration éosine-nigrosine (Bamba, 1988), Il faut suivre les étapes suivantes (Figure 24) :

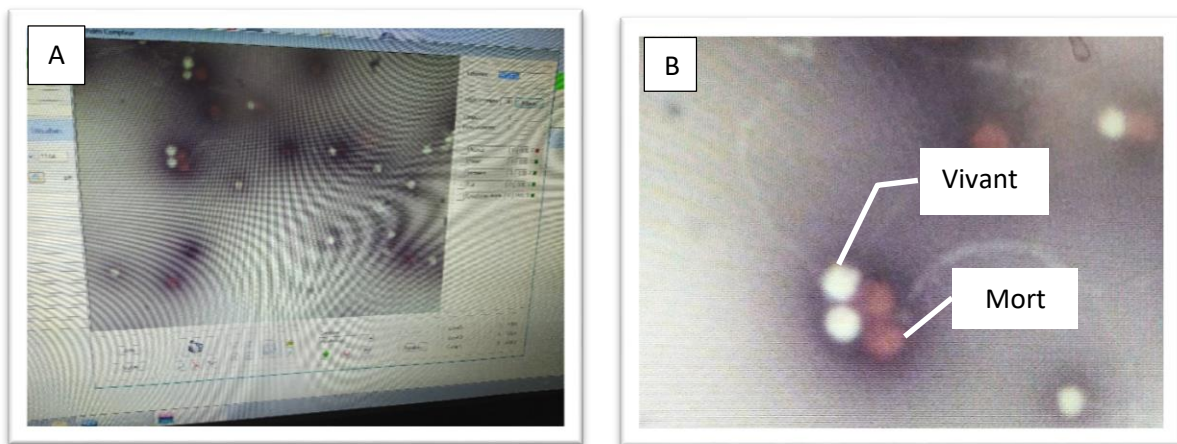


**Figure 24** : Protocole d'évaluation de vitalité spermatique.

- A.** Maitre la lame sur la paillasse.
- B.** Déposer sur la lame 10 $\mu$ l de sperme à l'aide d'une micropipette.
- C.** Ajouter 10 $\mu$ l d'éosine.
- D.** Mélanger.
- E.** Ajouter 10 $\mu$ l de négrosine.
- F.** Mélanger.
- G.** A l'aide d'une lame faire un frottis.
- H.** Répartir le mélange uniformément sur toute la surface de la lame.
- I.** Laisser les échantillons sécher

Dès que les lames sont complètement sèche, procéder à l'observation par le système CASA (Grossissement x 200), compter 200 spermatozoïdes. Les spermatozoïdes vivants apparaissent

d'une couleur claire et les morts dont la membrane est perméable au colorant, apparaissent avec couleur rose (Figure 25).



**Figure 25 :** Observation de la vitalité des spermatozoïdes (A : l'écran de système casa, B : les spermatozoïdes vivants et mort)

### 3.5.3.4 Morphologie

La morphologie est une étude de l'ultra structure, permet de connaître le nombre de spermatozoïdes anormales.

Les anomalies peuvent être identifiées dans différentes parties du spermatozoïde, y compris la tête, la pièce intermédiaire, la gouttelette cytoplasmique et la queue ou flagelle.

La même lame utilisée pour l'analyse de viabilité a été utilisée pour l'analyse de morphologie.

Nous avons analysé la morphologie à l'aide de système CASA à un grossissement de x 20. Cette analyse a été réalisée sur 200 spermatozoïdes pour chaque lame.

## 4. Analyse statistique des résultats

Les résultats numériques sont représentés sous forme de moyenne arithmétique accompagnée de l'erreur standard à la moyenne (SD).

# Chapitre III

## Résultats et discussion

### IV. Résultats Et Discussion

Dans cette partie d'étude, nous avons déterminé d'abord la taille et le poids corporel des poissons mâles mis en œuvre pour la réalisation de cette partie expérimentale, représentées par l'espèce tilapia, âgés d'environ 24 mois chacun. S'ensuit après, l'analyse macroscopique et microscopique de la qualité spermatique de ces derniers. Dans cette partie, nous exposons nos résultats en deux sections distinctes :

- La première section traite la qualité des semences fraîches le jour de la récolte.
- La deuxième section examine l'influence des dilueurs sur la qualité des semences durant et après la période de conservation.

#### 1. Taille et poids

Les mesures spécifiques relatives à la taille et au poids des poissons mâles utilisés de l'espèce tilapia sont rapportées dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Poids et la taille des espèces de tilapia.

N° des Poissons	Taille (mm)	Poids (g)
1	300	433
2	350	500
3	280	352
4	320	508
5	290	405
6	290	404
<b>Moyenne ± SD</b>	<b>305±25,88</b>	<b>433.67±60,49</b>

Les résultats récents sur les spécimens mâles de tilapia montrent une taille variant de 280 mm à 350 mm, avec une moyenne de 305±25,88 mm, et un poids variant de 352 g à 508 g, avec une moyenne de 433.67±60,49 g. Les résultats obtenus sont similaires avec les résultats trouvés dans les recherches de Harvey et Hoar (1980) et ceux de Billard et Cosson (1992)

### Qualité de la semence fraîche

Afin d'analyser l'effet des dilueurs sur la durée de conservation et la qualité de la semence, nous avons commencé par l'analyse des paramètres spermatique à l'état frais, le jour même de la récolte, en utilisant le logiciel CASA. Connaître la qualité du sperme avant réfrigération est cruciale pour évaluer les changements sur les spermatozoïdes.

#### 1.1 Taux de la récolte spermatique utile

Les valeurs moyennes du taux de la réponse positive aux sollicitations chez les mâles de tilapia sont présentées dans le tableau 6.

**Tableau 6 :** Taux des réponses aux sollicitations et des semences analysées de tilapia mâles

<b>Nombre d'animaux étudiés</b>	<b>7</b>
<b>Nombre de sollicitations</b>	<b>7</b>
<b>Nombre de semences collecté</b>	<b>7</b>
<b>Nombre de semences observé</b>	<b>6</b>
<b>Nombre de semences éliminé</b>	<b>1</b>
<b>Causes d'élimination</b>	
<b>Présence de sang</b>	<b>0</b>
<b>Présence d'urine</b>	<b>1</b>
<b>Réponse aux sollicitations</b>	
<b>Taux de réponse aux sollicitations (%)</b>	<b>100</b>
<b>Taux de semence utilisés (%)</b>	<b>85,71</b>

Le tableau 6 présente une analyse des taux de réponses aux sollicitations des semences de tilapia mâles, en utilisant un échantillon de 7 poissons et 7 semences collectées. Parmi ces semences, 6 ont été observées avec succès et 1 a été éliminée en raison de la présence d'urine. Le taux d'utilisation des semences observées est de 85,71 %, ce qui indique une qualité globale satisfaisante des semences collectées. Comparons ces résultats avec les études antérieures sur les taux de succès de collecte et de qualité des semences chez le tilapia.

Les recherches antérieures, telles que celles menées par François (2012), ont généralement rapporté des taux d'utilisation des semences variant de 70 % à 80 % (pour 16

échantillons), avec des éliminations dues à des contaminations comme la présence de sang ou d'urine. Les taux plus élevés observés dans les résultats actuels, avec un taux d'utilisation de 85,71 %, suggèrent une amélioration dans les techniques de sollicitation et de collecte des semences. Cette amélioration pourrait être attribuée à la procédure de collecte plus raffinée ou à des conditions environnementales optimisées.

Les taux de réussite plus élevés observés dans cette étude indiquent non seulement une meilleure efficacité dans les méthodes actuelles, mais également un potentiel d'amélioration continue. La présence d'une semence contaminée par l'urine souligne l'importance d'une surveillance et de pratiques rigoureuses pour éviter les contaminations et maximiser la qualité des semences collectées.

#### 1.2 Paramètres macroscopique

Les résultats des paramètres macroscopiques de la semence chez le tilapia mâle sont présentés dans le tableau 7.

**Tableau 7** : Valeurs moyennes des paramètres macroscopique de la semence du tilapia

N° des Poissons	Couleur	Volume (ml)	pH
1	blanc aqueux	0,2	7
2	blanc aqueux	0,1	8
3	blanc laiteux	0,15	7
4	blanc aqueux	0,2	6
5	blanc laiteux	0,2	7
6	blanc aqueux	0,8	6
<b>Moyenne ±SD</b>	<b>Blanc aqueux – blanc laiteux</b>	<b>0,28 ± 0,26</b>	<b>6,83±0,75</b>

Le tableau 7 présente les valeurs moyennes des paramètres macroscopiques de la semence de tilapia, montrant une diversité de couleurs allant de blanc aqueux et blanc laiteux à une exception jaune. La couleur jaune de la semence est due à la présence d'urine ce qui a conduit à son élimination. Les résultats observés sont en accord avec les données historiques de Maise (1990).

Le volume des semences collectées varie de 0,1 ml à 0,8 ml, avec une moyenne de  $0,28 \pm 0,26$  ml, tandis que le pH oscille entre 6 et 8, avec une moyenne de  $6,83 \pm 0,75$ . Ces résultats sont similaires avec les études antérieures telles que celles de Harvey et Hoar (1980) et Billard et Cosson (1992), qui rapportent généralement des volumes de semence dans une gamme similaire mais avec une variabilité plus faible. Le pH observé est en accord avec les données de certain auteurs (François, 1946 ; Billard et *al.* 1974), indiquant une stabilité dans l'acidité de la semence.

### 1.3 Paramètres microscopiques

#### 1.3.1 Concentration, Viabilité et Mobilité

Le tableau 8 regroupe les caractéristiques microscopiques (Concentration, Viabilité et Mobilité) du sperme de tilapia mâle étudié.

**Tableau 8 :** Valeurs moyennes des paramètres microscopique de la semence (Concentration, Viabilité et Mobilité)

N° des Poissons	Concentration $\times 10^6$ Spz /ml	Viabilité (Spz vivants %)	Mobilité (%)
1	471,875	82,5	60
2	566,667	26,5	40
3	27343,75	78,5	60
4	3125	69	40
5	1828,125	72	60
6	37,5	17,5	10
<b>Moyenne<math>\pm</math> SD</b>	<b>5562,15<math>\pm</math>10730,41</b>	<b>57,67<math>\pm</math>28,18</b>	<b>45<math>\pm</math>18,03</b>

En comparant les résultats des paramètres microscopiques de la semence des tilapia mâles avec ceux des études passées, plusieurs observations peuvent être faites. Les concentrations de spermatozoïdes observées dans cette étude (37,5 à 27 343,75  $\times 10^6$  Spz/ml, avec une moyenne de  $5562,15 \pm 10730,41 \times 10^6$  Spz/ml) montrent une variabilité plus large que celle rapportée dans les études antérieures. Comme celles de Linhart et Kudo (1997), qui avaient rapporté des concentrations de spermatozoïdes chez des poissons similaires avec une variabilité moins marquée, indiquant potentiellement des améliorations dans les techniques de collecte ou des différences dans les conditions expérimentales.

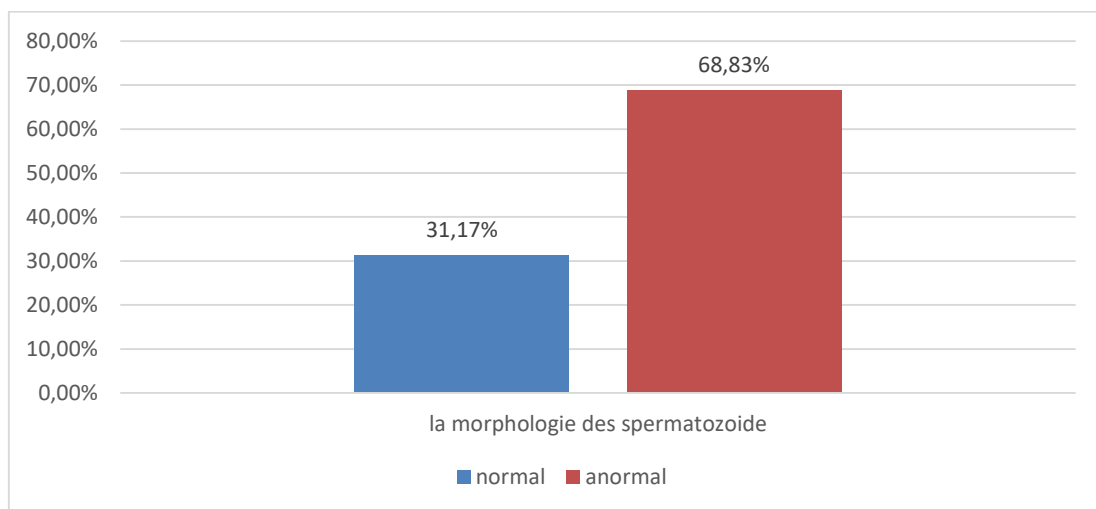
En ce qui concerne la viabilité des spermatozoïdes, avec une plage de 17,5 % à 82,5 % et une moyenne de  $57,67 \pm 28,18\%$ , les résultats sont plus diversifiés par rapport à ce qui a été

précédemment rapporté par Billard et Cosson (1992), où les valeurs étaient généralement plus homogènes. Cela pourrait suggérer des variations dans la santé des poissons à travers différentes études.

Pour la mobilité des spermatozoïdes, la plage observée de 10 % à 60 % avec une moyenne de  $45 \pm 18,03\%$  est également plus étendue que les données antérieures. Comme celles de Rurangwa et *al.* (1998), qui avaient généralement observé des taux de mobilité plus stables. Cette variation pourrait être attribuée à des facteurs environnementaux ou de manipulations. Aussi à des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (Van Look, (2001) ; Rurangwa et *al.* (1998)).

### 1.3.2 Morphologie des spermatozoïdes

La figure 26 représente le taux des spermatozoïdes normaux et anormaux



**Figure 26** : Taux des spermatozoïdes normaux et anormaux.

En comparant les résultats de la morphologie des spermatozoïdes de tilapia mâle, où 31,17 % des spermatozoïdes sont normaux et 68,83 % présentent des anomalies, avec des études antérieures, plusieurs éléments ressortent.

Des recherches passées, telles que celles de Billard et Cosson (1992), avaient généralement rapporté des proportions de spermatozoïdes normaux plus élevées dans des conditions optimales. Par exemple, dans des études antérieures, une prévalence d'anomalies de 20 % ou moins était plus courante, suggérant que les taux observés dans l'étude actuelle indiquent des problèmes plus graves. Ce constat pourrait pointer vers des changements dans les conditions de santé des tilapia ou des pratiques de gestion qui ont évolué depuis ces études.

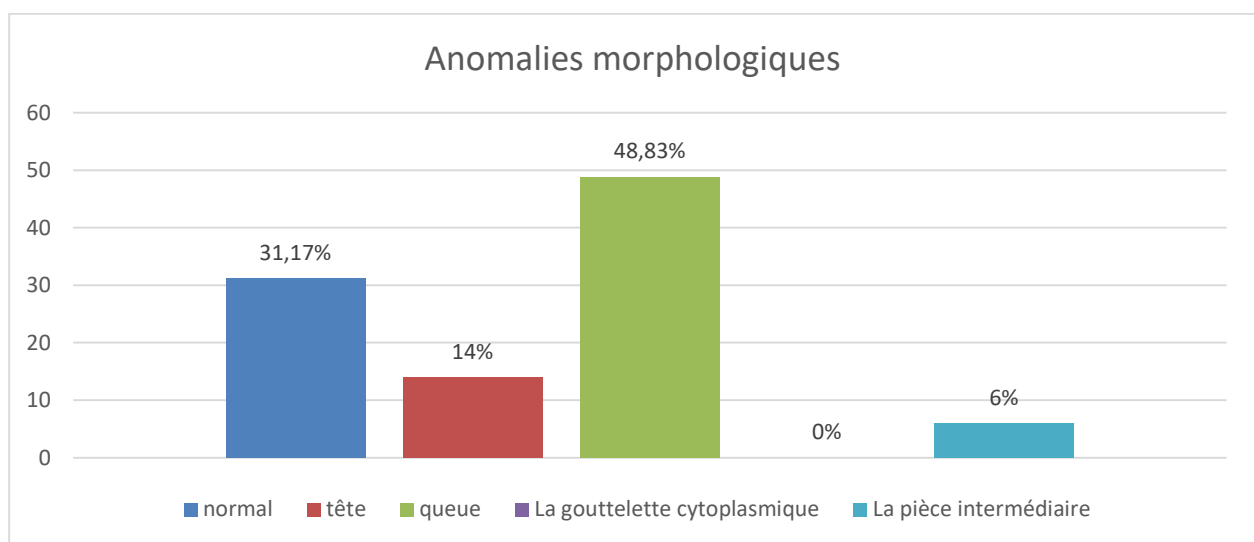
Les anomalies observées dans cette étude pourraient être dues à des facteurs environnementaux ou de gestion qui ne sont pas présents ou moins prononcés dans les

recherches antérieures. Par exemple, des facteurs tels que des infections, des conditions de stress, ou des carences nutritionnelles, mentionnés dans les études de Rurangwa et *al.* (1998).

En somme, la proportion élevée de spermatozoïdes anormaux observée dans cette étude est préoccupante par rapport aux données bibliographiques, suggérant un besoin urgent d'améliorer les conditions de gestion et de santé des tilapia pour optimiser leur fertilité et réduire les anomalies dans la semence.

### 1.3.3 Anomalies morphologiques

La figure 27 représente le taux des Anomalies morphologiques des spermatozoïdes.



**Figure 27** : Taux des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.

En comparant les anomalies morphologiques des spermatozoïdes de tilapia mâle observé dans l'étude actuelle avec les résultats d'études antérieures, plusieurs points clés émergent.

L'étude actuelle révèle que 31,17 % des spermatozoïdes ont une morphologie normale, tandis que 68,83 % présentent des anomalies. Parmi ces anomalies, 48,83 % sont des gouttelettes cytoplasmiques, 14 % concernent la queue, et 6 % la pièce intermédiaire. Les anomalies observées sont en accord avec des recherches antérieures telles que celles de Gage et *al.* (2002), qui ont montré que des anomalies morphologiques fréquentes dans les spermatozoïdes, comme les gouttelettes cytoplasmiques, peuvent être liées à des problèmes de maturation. Cependant, la proportion élevée d'anomalies observée ici est plus marquée que dans les études antérieures, où les anomalies se situaient souvent dans des plages inférieures (20-30 % d'anomalies totales).

Les gouttelettes cytoplasmiques, représentant 48,83 % des anomalies, sont particulièrement fréquentes dans cette étude, ce qui est un indicateur clé de problèmes de maturation des spermatozoïdes. Cette fréquence est plus élevée comparée aux résultats de Billard et Cosson (1992), qui ont observé une prévalence plus faible de cette anomalie dans des conditions optimales. Les anomalies au niveau de la queue et de la pièce intermédiaire, bien que moins fréquentes dans cette étude, peuvent aussi influencer la mobilité et la fécondation, comme le suggèrent Van Look (2001) et Rurangwa *et al.* (1998).

En conclusion, les résultats actuels indiquent une détérioration plus importante de la qualité de la semence par rapport aux études passées, suggérant une possible aggravation des conditions de santé ou de gestion du tilapia. Pour améliorer la situation, il est essentiel de mener des investigations approfondies sur les causes sous-jacentes, telles que les facteurs génétiques, environnementaux ou nutritionnels, et d'apporter les ajustements nécessaires aux pratiques de gestion et de nutrition des tilapia.

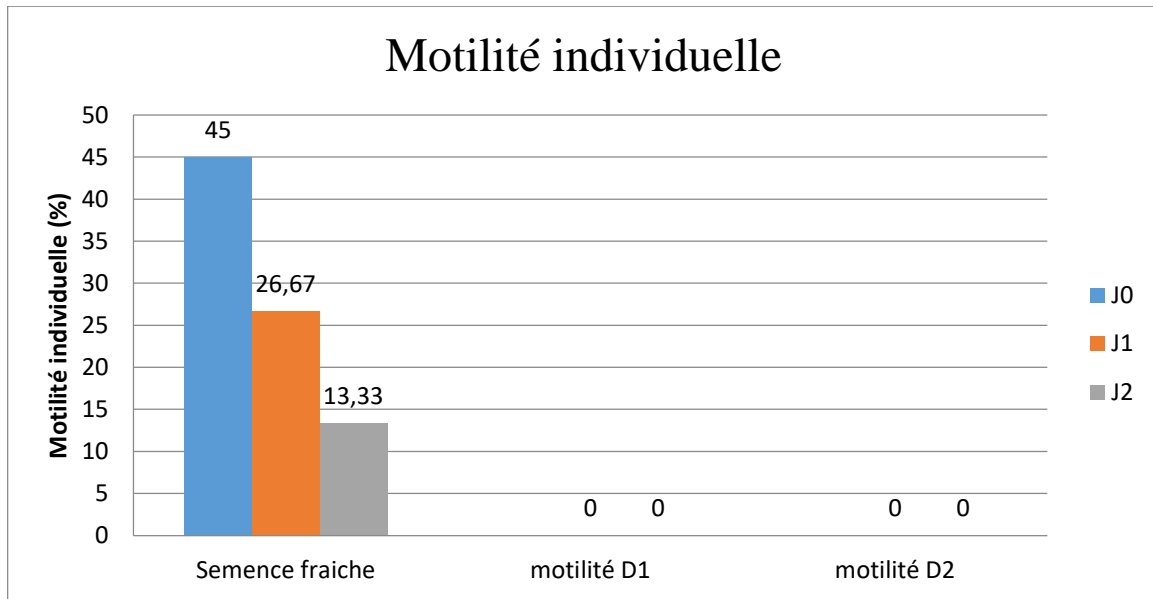
## **2. Effet des dilueurs sur la qualité spermatique durant la conservation à 4C°**

Le système CASA est utilisé pour évaluer les effets des deux dilueurs D1 et D2 durant une conservation de 48h sur les paramètres spermatiques à savoir la motilité et la vitalité des spz chez les espèces de tilapia

### **2.1 Motilité**

#### **2.1.1 Motilité individuelle**

La figure 28 illustre l'effet des dilueurs sur la motilité individuelle des spz, conservés à 4 °C.



**Figure 28** : Effet des dilueurs D1 et D2 sur la motilité individuelle des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence (D : Dilueur, J : jour).

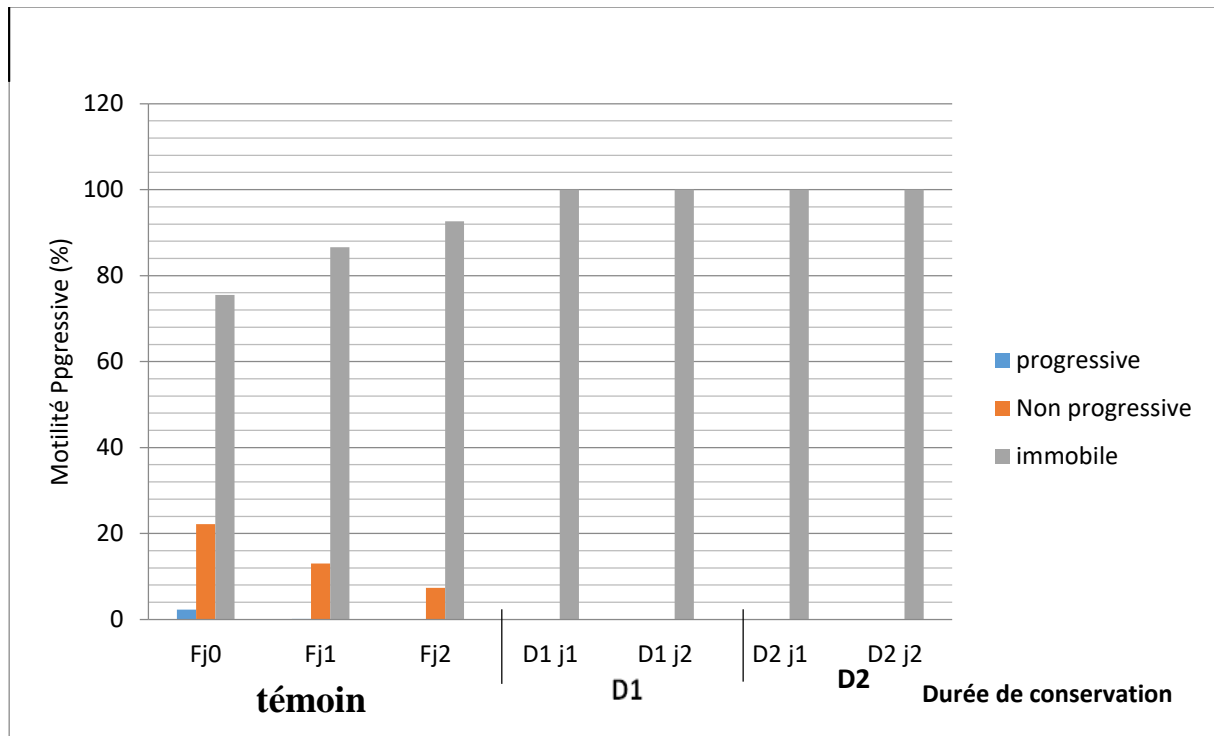
En comparant les résultats obtenus pour l'impact des dilueurs D1 et D2 sur la motilité des spermatozoïdes de tilapia mâle avec les études antérieures, plusieurs observations clés se dégagent.

Le graphique actuel montre que la motilité des spermatozoïdes de tilapia fraîchement collectés commence à 45 % à J0, puis diminue à 26,67 % à J1 et à 13,33 % à J2, ce qui est une tendance générale attendue. Cette diminution progressive est en accord avec les résultats de Kime et *al.* (1998) et Linhart et *al.* (2005), qui ont observé une diminution naturelle de la motilité des spermatozoïdes au fil du temps après la collecte, même en l'absence de dilueurs.

Cependant, les dilueurs D1 et D2 testées dans cette étude montrent une motilité nulle (0 %) à J1 et J2, contrairement aux résultats des recherches antérieures telles que celles de Gage (1994) et Morisawa et *al.* (1992), qui ont montré que certains dilueurs pouvaient maintenir une motilité significative sur une période de conservation. Les dilueurs D1 et D2 semblent donc inefficaces pour préserver la motilité des spermatozoïdes dans les conditions spécifiques de l'étude, suggérant une possible incompatibilité chimique ou une formulation inappropriée.

### 2.1.2 Motilité progressive

La figure 29 illustre l'effet des dilueurs sur la motilité progressive des spz, conservés à 4 °C.



**Figure 29 :** Effet des dilueurs D1 et D2 sur la motilité progressive des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence (D : dilueur, J : jour).

En comparant les résultats de l'effet des dilueurs D1 et D2 sur la progression des spermatozoïdes de tilapia mâles avec des études antérieures, plusieurs points de divergence et de similarité émergent.

La figure montre que dans le groupe témoin, les spermatozoïdes progressifs diminuent avec le temps de conservation, tandis que les spermatozoïdes immobiles augmentent de j0 à j2. Ce résultat est similaire aux observations faites par Linhart et *al.* (2005), qui ont également noté une diminution de la motilité des spermatozoïdes au fil du temps en l'absence de dilueurs. Cela suggère que la motilité naturelle des spermatozoïdes de tilapia décroît progressivement sans intervention.

Cependant, pour les dilueurs D1 et D2, tous les sous-groupes montrent une motilité nulle (100 % de spermatozoïdes immobiles) dès le deuxième jour de conservation (j1, j2). Ce résultat contraste fortement avec des études comme celles de Gage (1994) et Morisawa et *al.* (1992), où certains dilueurs ont réussi à maintenir une motilité significative des spermatozoïdes sur

plusieurs jours. Dans ces études, des dilueurs bien formulés ont contribué à prolonger la viabilité et la motilité des spermatozoïdes, ce qui n'est pas le cas avec les dilueurs D1 et D2 testés ici.

Les résultats de notre étude indiquent que les dilueurs D1 et D2 utilisés sont inefficaces pour maintenir la motilité des spermatozoïdes de tilapia au-delà du premier jour de conservation. En comparaison avec les travaux antérieurs, il semble que ces dilueurs spécifiques puissent contenir des composants chimiques ou présenter des conditions incompatibles avec la préservation de la motilité des spermatozoïdes.

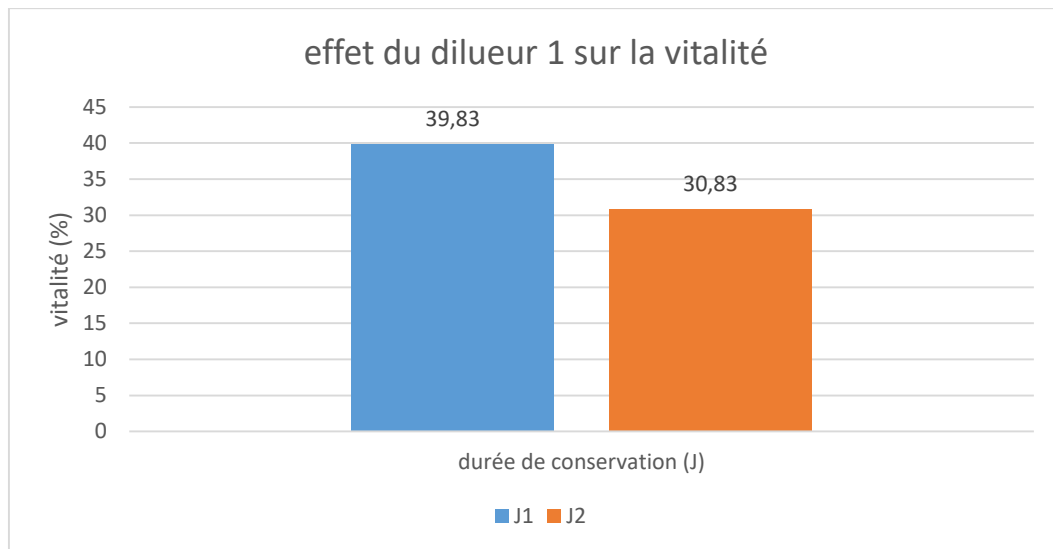
En conclusion, bien que la motilité des spermatozoïdes de tilapia diminue naturellement au fil du temps sans dilueurs, l'utilisation des dilueurs D1 et D2 ne parvient pas à préserver cette motilité, contrairement à ce qui a été observé dans des études antérieures avec d'autres types de dilueurs. Il est donc nécessaire de réévaluer la composition et les conditions d'utilisation de ces dilueurs pour améliorer leur efficacité dans la conservation de la motilité des spermatozoïdes de tilapia.

### **2.2 Vitalité**

Juste après la récolte (J0), le taux moyen de la vitalité (spermatozoïdes vivants) était de 57,67%.

#### **2.2.1 Pour le dilueur D1**

L'effet du dilueur D1 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation est illustré dans la figure 30.



**Figure 30 :** Effet du dilueur D1 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation (D : dilueur, J : jour).

En comparant les résultats de l'effet du dilueur D1 sur la vitalité des spermatozoïdes de tilapia mâle avec des études antérieures, plusieurs observations importantes peuvent être faites.

Le graphique montre que la vitalité des spermatozoïdes en présence du dilueur D1 est de 39,83 % après 24h de conservation (J1), mais diminue à 30,83 % après 48h (J2). Cette baisse de 9 % en un jour indique une détérioration progressive de la qualité des spermatozoïdes, suggérant que le dilueur D1 pourrait avoir une efficacité limitée au-delà de deux jours de conservation.

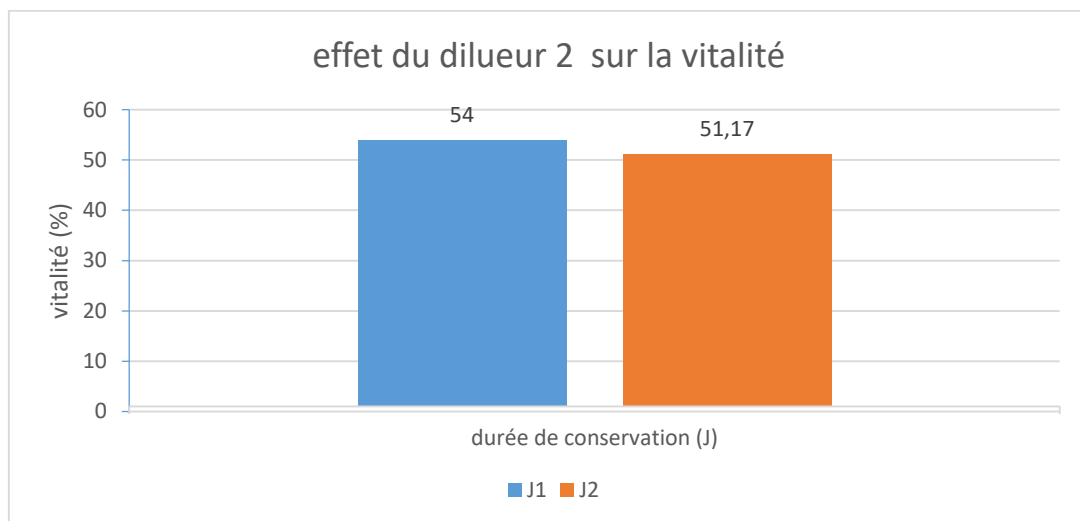
Les travaux de Billard et Cosson (1992), ont montré que certains dilueurs peuvent maintenir une vitalité supérieure de spermatozoïdes pendant des périodes prolongées. Dans leurs recherches sur les spermatozoïdes de poissons, ils ont trouvé que des dilueurs spécialement formulés pouvaient maintenir une vitalité de plus de 50 % après 2 jours de conservation. De même, Bromage et Roberts (1995), ont rapporté des résultats similaires dans leurs études sur les spermatozoïdes de poisson, avec des dilueurs qui préservaient une vitalité significativement plus élevée sur des périodes comparables.

Dans notre étude, nos résultats ont montré que le dilueur D1 est moins efficace pour préserver la vitalité des spermatozoïdes de tilapia au-delà de deux jours, par rapport aux dilueurs étudiés dans les travaux précédents. Cette efficacité réduite peut être due à des différences dans la composition chimique des dilueurs, la compatibilité avec les spermatozoïdes de tilapia, ou les conditions spécifiques de l'étude actuelle.

En conclusion, bien que le dilueur D1 permette de maintenir une certaine vitalité des spermatozoïdes de tilapia pendant deux jours, sa performance diminue au-delà de cette période. Comparé aux résultats d'études antérieures sur d'autres dilueurs, D1 semble moins efficace pour la conservation à long terme. Ces observations soulignent la nécessité de poursuivre les recherches pour développer ou identifier des dilueurs plus adaptés et efficaces pour prolonger la vitalité des spermatozoïdes de tilapia sur des périodes de conservation plus longues.

### 2.2.2 Pour le dilueur D2

L'effet du dilueur D2 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation est illustré dans la figure 31.



**Figure 31 :** Effet du dilueur D2 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation (D : dilueur, J : jour).

Le graphique illustre l'effet du dilueur D2 sur la vitalité des spermatozoïdes selon la durée de conservation. Nous observons que la vitalité est de 54 % après 24h de conservation (J1) et diminue légèrement à 51,17 % après 48h (J2). Cette diminution de la vitalité (moins de 3 %) indique que le dilueur D2 maintient efficacement la qualité des spermatozoïdes sur une période de trois jours. Comparé au dilueur D1, le dilueur D2 semble offrir une meilleure conservation de la vitalité, montrant une dégradation moins importante au fil du temps.

Le dilueur D2 utilisé dans notre expérimentation présente une efficacité comparable voire supérieure à certains dilueurs utilisés par Billard et Cosson (1992) ainsi que par Bromage et Roberts (1995), qui ont observé que certains dilueurs pouvaient maintenir une vitalité de plus de 50 % après 2 jours de conservation.

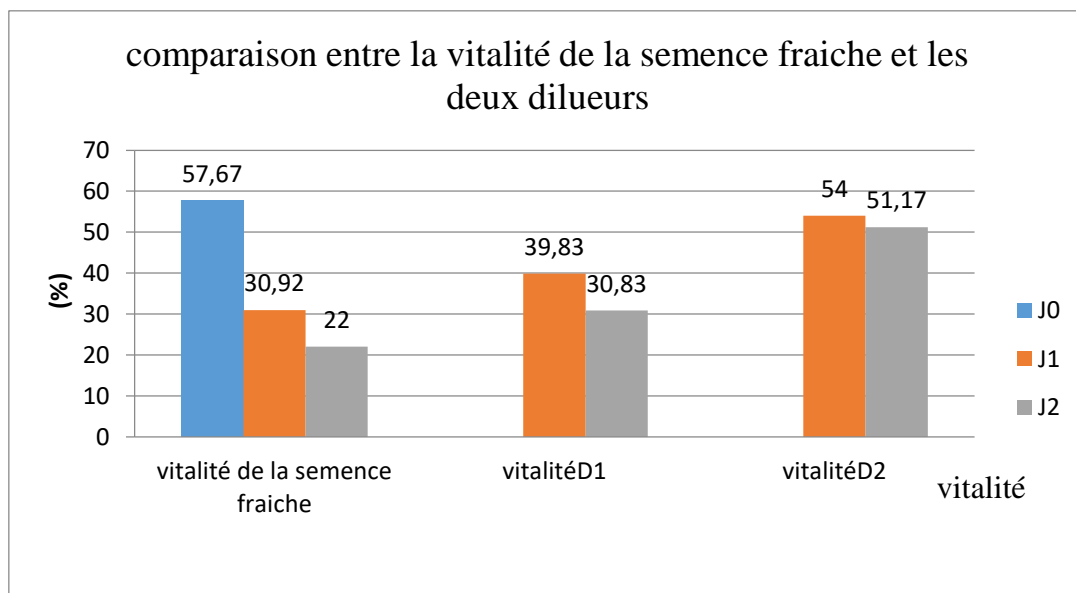
Dans cette partie expérimentale, nous avons constaté que le dilueur D2 se distingue par rapport au dilueur D1 par sa capacité à maintenir une vitalité plus élevée des spermatozoïdes durant cette période de conservation.

Cette efficacité accrue de D2 pourrait être attribuée à l'ajout du jaune d'œuf à la solution de dilution qui est plus compatible avec les besoins biologiques des spermatozoïdes de tilapia, réduisant les impacts négatifs potentiels sur leur qualité au fil du temps.

En conclusion, le dilueur D2 semble offrir une solution plus efficace pour la conservation à court terme de la vitalité des spermatozoïdes de tilapia par rapport à D1, et ses performances sont cohérentes avec les meilleures pratiques identifiées dans les études antérieures. Ces résultats soulignent l'importance de choisir le dilueur approprié pour des applications spécifiques afin de garantir la qualité et la viabilité des semences sur la durée souhaitée.

### 2.2.3 Comparaison entre la vitalité de la semence fraîche et les deux dilueurs

La figure 32 illustre la comparaison entre la vitalité de la semence fraîche et celle des spermatozoïdes conservés avec les dilueurs D1 et D2 durant 48h de conservations à 4°C.



**Figure 32 :** Comparaison entre la vitalité de la semence fraîche et les deux dilueurs.

La semence fraîche présente une vitalité initiale de 57,67 %, qui diminue significativement à 30,92 % au J1 et à 22 % au J2. Pour le dilueur D1, la vitalité est de 39,83 % au J1 et diminue à 30,83 % au J2. Le dilueur D2, quant à lui, montre une vitalité de 54 % au J1, avec une légère baisse à 51,17 % au J2.

### Chapitre III : Résultats et discussion

---

Ces résultats indiquent que la semence fraîche a une vitalité initialement supérieure, mais subit une dégradation rapide. Le dilueur D1 est moins efficace que le dilueur D2, lequel maintient une meilleure vitalité des spermatozoïdes conservé à 4°C pendant trois jours. Le dilueur D2 semble donc être le plus efficace des trois options pour conserver la vitalité sur une période prolongée.

En comparaison avec les études ultérieures, nos observations sont similaires avec celles de Billard et Cosson (1992) et Bromage et Roberts (1995). De plus, les résultats de Tvedt et *al.* (2001) soulignent l'importance de la composition chimique des dilueurs. Notre étude confirme cette observation, puisque le dilueur D2 est mieux formulé et maintient une vitalité plus élevée que le dilueur D1. En revanche, la semence fraîche, bien qu'initialement plus vitale, montre une dégradation rapide les jours suivants.

Ainsi, cette comparaison souligne l'importance cruciale de choisir des dilueurs appropriés pour la conservation de la semence, et confirme que le dilueur D2 est très efficace pour maintenir la vitalité des spermatozoïdes de tilapia conservés à 4°C pendant une période de 48h.

# | Conclusion

### V. Conclusion

Au terme de notre expérimentation, visant à comparer l'effet de deux dilueurs et l'effet de l'ajout de jaune d'œuf dans l'un des deux dilueurs sur une durée de conservation sur la semence de tilapia, nous pouvons conclure que :

- Les résultats obtenus sont variables par rapport à ceux trouvés dans la littérature sur les populations de tilapia.
- Le taux élevé d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes ( $68,83\% \pm 23,840$ ) est préoccupant et nécessite une investigation plus approfondie des causes potentielles.
- Les diluants utilisés ont un effet négatif sur la motilité des spermatozoïdes car nous n'avons observé aucun mouvement sur la durée de conservation, mais la préservation de semence de tilapia peut être améliorée avec des atténuateurs appropriés
- Le dilueur D2 a montré de meilleures performances que le dilueur D1 en termes de maintien de la vitalité des spz pendant la conservation à 4°C (nous avons enregistré un taux de vitalité de 54 pour le premier jour de conservation et un taux de 51,17 pour le deuxième jour).

Pour améliorer notre recherche, il est fortement recommandé de travailler avec un plus grand nombre d'échantillons ( $\geq 30$  échantillons) afin d'obtenir des résultats plus fiables. Il est essentiel d'utiliser d'autres diluants efficaces ayant un effet positif sur la conservation de la motilité des spermatozoïdes des poissons. La cryoconservation représente une méthode clé à explorer, car elle permet de maintenir la viabilité des spermatozoïdes à long terme. De plus, élargir notre étude à plusieurs d'autres espèces de poissons, ce qui nous permettra d'affiner nos techniques, augmentant ainsi nos chances de succès dans la préservation des ressources aquatiques.

# | Références bibliographiques

### VI. Références

- Alavi, S. M. H., Cosson, J, et al. (2004).** Spermatozoa motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: Effects of pH, dilution rate, ions, and osmolality. *Reproduction*, 128(6), p.p.819-828.
- Allyn, M. L., Sheehan, R. J., & Kohler, C. C. (2001).** The effect of capture and transportation stress on white bass semen osmolality and their alleviation via sodium chloride. *Transactions of the American Fisheries Society*, 130, p.p.706-711.
- Althouse, G. C., Kuster, C. E., et al. (2000).** Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*, 53(5), p.p.1167-1176.
- Alvariño, J. M. R. (2000, July).** Reproductive performance of male rabbits. In *Proceedings of the Seventh World Rabbit Congress* p.p. 4-7.
- Balarin, J. D., & Haller, R. D. (1982).** The intensive culture of tilapia in tanks, raceways, and cages. In Muir, J. F., & Roberts, R. (Eds.), *Recent Advances in Aquaculture* (Vol. 1). London: Butterworths.
- Bamba, K. (1988),** "Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin-nigrosin stain". *Theriogenology*, 29: p.p.1245-1251.
- Barbas, J. P., & Mascarenhas, R. D. (2009).** Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell and Tissue Banking*, 10, p.p.49-62.
- Baroiller, J. F. (1988).** Étude corrélée de l'apparition des critères morphologiques de la différenciation de la gonade et de ses potentialités stéroïdogènes chez *Oreochromis niloticus*. Thèse de Doctorat, Paris : Université P. et M. Curie, p 70.
- Baroiller, J. F., Fostier, A., & Jalabert, B. (1988).** Precocious steroidogenesis in the gonads of *Oreochromis niloticus* during and after sexual differentiation. In Y. Zohar & B. Breton (Eds.), *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*, Paris , Les Colloques de l'INRA, No. 44, p.p. 137-141.
- Billard, R., & Jalabert, B. (1974).** Insémination artificielle de la truite (*Salmo gairdneri* Richardson). *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 14(4A), p.p.601-610.
- Billard, R. (1995).** Les carpes : biologie et élevage. *Editions Quae*. Paris : Inra.
- Billard, R., Breton, B ,et al, (1971).** La production spermatogénétique chez la truite. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 11(2), p.p.199-212.
- Billard, R., Fostier, A.et al , (1982).** Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39(1), p.p.65-79.
- Blüm, V. (1966).** Zur hormonalen Steuerung der Brutpflege einiger Cichliden. *Zeitschrift für Zoologie*, 72, p.p.264-294.

## Références bibliographiques

---

- Blüm, V. (1968).** Immunological determination of injected mammalian prolactin in cichlid fishes. *General and Comparative Endocrinology*, 11, p.p. 595-602.
- Blüm, V. (1973).** Experimente mit teleosteen Prolaktin. *Zoologisches Jahrbuch (Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere)*, 77, p.p.335-347.
- Blüm, V., & Fiedler, K. (1965).** Hormonal control of reproductive behavior in some cichlid fish. *General and Comparative Endocrinology*, 5, p.p.186-196.
- Bobé, J., & Labbe, C. (2010).** Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165, p.p.535-548.
- Boukhris, S. (2018).** Reproduction et alevinage du tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) dans le CNRDPA (Hassi ben Abdallah – Ouargla). Mémoire de master, Ouargla : Université Kasdi Merbah, , p 21.
- Boussit, D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'Association Française de Cuniculture : Diffusion Lavoisier TEC et DOC.
- Boutouchent, R. (2002).** Perspectives de développement du tilapia en Algérie. *Agroligne*, (N°24), p.p.30-33.
- Cabrita, E., Robles, V.et al, (2005).** Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm. *Cryobiology*, 50(2), p.p.144-153.
- Cabrita, E., Robles, V., et Herráez, P. (2008).** -Sperm quality assessment. In *Methods in Reproductive Aquaculture*, p.p. 115-170. CRC press.
- Canyurt, M. A., & Akhan, S. (2008).** Effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8(1), p.p.171-175.
- Christ, S. A., Toth, G. P.et al , (1996).** Monthly variation in sperm motility in common carp assessed using computer-assisted sperm analysis (CASA). *Journal of Fish Biology*, 48, p.p. 1210-1222.
- Cosson, M.-P., et al. (1995).** cAPMP/ATP relationship in the activation of trout sperm motility: Their interaction in membrane-derived models and in live spermatozoa. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 31(2), p.p.159-176.
- Côté, J. (2004).** Performance et capacité métabolique des spermatozoïdes associées aux différentes tactiques de reproduction chez l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) (Doctoral dissertation, Université du Québec à Rimouski).
- Decuadro-Hansen, G. (2004).** La réfrigération et la congélation du sperme : expérience chez l'animal. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 32,p.p. 887–893.
- Diogo, P. A. C. (2010).** Sperm motility in *Solea senegalensis*: effect of temperature, salinity, pH and ovarian fluid (Doctoral dissertation).

- Dube, P. L. B., & Scott, P. M. (2022).** Spermatogenesis: An overview of the process and its regulation. *Journal of Andrology*, 43(1), p.p.1-15. <https://doi.org/10.1002/jand.122>
- Duponchelle, F., & Panfili, J. (1998).** Variations in age and size at maturity of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, populations from man-made lakes of Côte d'Ivoire. *Environmental Biology of Fishes*, 52, p.p. 453–465.
- Efole Ewoukem, T. (2011).** Optimisation biotechnique de la pisciculture en étang dans le cadre du développement durable des exploitations familiales agricoles au Cameroun. Thèse de doctorat, sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne, p .145.
- England, G. C. (1993).** Cryopreservation of dog semen. *Journal of Reproduction and Fertility*, p.p.243-255.
- Erraud, A., Kestemont, P.et al , (2019).** Le retour du saumon atlantique dans le bassin Mosan. Projet Saumon Meuse. Namur & Liège, Wallonie: SPW.
- Fauve, C., Suquet, M., & Cosson, J. (2010).** Evaluation of fish sperm quality. *Journal of Applied Ichthyology*, 26(5), p.p.636-643.
- Gage, M. J. G., Macfarlane, C.et al, (2002).** Relationships between sperm morphometry and sperm motility in the Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, 61, p.p.1528–1539.
- Gambakpo, 2021** Développement d'un marqueur de qualité spermatique chez le saumon Atlantique *Salmo salar* et optimisation de la cryoconservation. Mémoire de master. Gestion des ressources aquatiques et aquaculture. Belgique : Université de liege.
- Gennotte, V., François, E.et al, (2012).** Sperm quality analysis in XX, XY, and YY males of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Theriogenology*, 78, p.p.210-217.
- Gennotte, V., Sawadogo, P.et al , (2012).** Cortisol is responsible for positive and negative effects in the ovarian maturation induced by the exposure to acute stressors in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6), p.p.1619–1626.
- Giusti, F., Sabine, M., & Bernard, P. (2002).** Influence des interactions protiques sur les cinétiques de polymérisation du tris (hydroxyméthyl) acrylamidométhane (THAM) et de ses dérivés. *New Journal of Chemistry*,p.p. 1724–1732.
- Golvan, Y. J. (1965).** Acanthocéphales de Madagascar récoltés (Première note). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 40(3), p.p. 303-316.
- Hamouda, I. A. (2005).** Contribution à l'étude de l'inversion sexuelle chez une espèce de poisson d'eau douce : Tilapia (*Oreochromis niloticus*). France : Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral, p.5.
- Harvey, B. J., & Hoar, W. S. (1980).** Reproduction provoquée chez les poissons : théorie et pratique. *Aquaculture*, p. 48.

- Harvey, B., Kelley, R. N., & Ashwood-Smith, M. J. (1982).** Cryopreservation of zebra fish spermatozoa using methanol. *Canadian Journal of Zoology*, 60(8), p.p.1867-1870.
- Hyder, M. (1970).** Gonadal and reproductive patterns in *Tilapia leucosticta* (Teleostei: Cichlidae) in an equatorial lake, Lake Naivasha (Kenya). *Journal of Zoology*, 162(2), p.p.179-195.
- Izquierdo, M. S., Fernández-Palacios, H., & Tacon, A. G. J. (2001).** Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197(1-4), p.p.25-42.
- Jamieson, B. G. M. (1991).** *Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jaspers, E. J., Avault Jr., J. W., & Roussel, J. D. (1976).** Spermatozoal morphology and ultrastructure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 33, p.p.475-480.
- Javahery, S. et Nekoubin, H. (2013).** Effet de l'anesthésie des poissons avec l'huile de clou de girofle.
- Johnson, A., & Lee, T. (2023).** Induction of parental ventilation behavior in cichlids through ovine prolactin injection. *Journal of Comparative Physiology A*, 209(2), p.p.245-258.
- Kakar, S. S., & Ganguli, N. C. (1978).** Milk as an extender for semen. *Indian Journal of Animal Sciences*, 48, p.p.777-790.
- Kjorsvik, E.; Mangor, Jensen, A.; Holmefjord, T., (1990).** Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biol.* 26, p.p. 71-113.
- Labe, C., Maise, G. et al, (1995).** Thermal acclimation and dietary lipids alter the composition, but not fluidity, of trout sperm plasma membrane. *Lipids*, 30, p.p.23-33.
- Lacroix, E. (2004).** *Pisciculture en zone tropicale*. GTZ & GFA Terra Systems, Hamburg, Allemagne.
- Lazard, J. (2009).** La pisciculture des tilapias. *Cahiers Agricultures*, 18(2-3), p.p. 393-401.
- Lazard J. (2009).** Synthèse pisciculture de quelques espèces : la pisciculture des tilapias. *Cahiers de l'agriculture*, 18 (2-3) : p.p.174-182.
- Lazard J. (2013).** Les paradoxes et les questionnements soulevés par l'exploitation de la biodiversité (autochtones et introduites) en aquaculture. Académie d'agriculture de France. Groupe de travail sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement. p .13.
- Legendre, M., & Billard, R. (1980).** Cryoconservation du sperme de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.). *Bulletin Français de Pisciculture*, 278, p.p.11-33.

## Références bibliographiques

---

- Lévêque, C., Paugy, D., & Duponchelle, F. (2006).** La reproduction. In *Les poissons des eaux continentales africaines : diversité, écologie, utilisation par l'homme*, p.p. 147-175.
- Levillian, P. N. M. (2005).** Essai d'optimisation de la conservation de la semence par réfrigération : étude comparative de deux protocoles de réfrigération à 15°C et 5°C. Paris : INRA, p. 53.
- Lou, Y.-H., & Takahashi, H. (1989).** Spermatogenesis in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with notes on a unique pattern of nuclear chromatin condensation. *Journal of Morphology*, 200, p.p.321-330.
- Lowe-McConnell, R. H. (1982).** Tilapias in fish communities. In Pullin, R. S. V., & Lowe-McConnell, R. H. (Eds.), *The biology and culture of tilapias*, ICLARM Conference Proceedings, 7, p.p. 83-113.
- Lu, J. C., Huang, Y. F., & Lü, N. Q. (2014).** Computer-aided sperm analysis: Past, present, and future. *Andrologia*, 46(4), p.p. 329-338.
- Maise, G. (1990).** Le sperme des salmonidés : le point sur les connaissances. Applications à la salmoniculture. *INRA Productions Animales*, 3, p.p.223-228.
- Marieta, C. O., Santé, C. A. et al , (2018).** Le spermogramme : résultat et interprétation.
- Mattei, X. (1988).** The flagellar apparatus of spermatozoa in fish: Ultrastructure and evolution. *Biology of the Cell*, 63, p.p.151-158.
- McAllister, B. G., & Kime, D. E. (2003).** Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinisation and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 65, p.p.309-316.
- Mélard, C. (2014).** Base biologique de l'aquaculture : Biologie de la reproduction 3. Note de cours à l'intention des étudiants de Master Complémentaire en Aquaculture, Belgique : Université de Liège, CEFRA, Tihange.
- Milon, P. (2013).** Étude de l'impact de trois conditions d'élevage du poisson zèbre et mise au point d'une méthode de congélation de sa semence dans l'optique de réaliser une analyse comparative entre le niveau de méthylation de l'ADN des spermatozoïdes de poisson zèbre et d'étalon après congélation/décongélation. Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage, spécialité Productions Animales, option Ingénierie Zootechnique, CFR Rennes, p.46.
- Mocé, E., & Graham, J. K. (2008).** In vitro evaluation of sperm quality. *Animal Reproduction Science*, 105(1-2), p.p.104-118.
- Msiska, O. V. (2002).** The histology of mature gonads of *Oreochromis (Nyasalapia) karongae* (Trewavas). *African Journal of Ecology*, 40(2), p.p. 164-171.
- Ouedraogo, S. (2000).** Biologie de reproduction du tilapia : *Oreochromis niloticus* du lac de barrage de la Comoé. Mémoire d'Ingénieur du Développement Rural, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Bobo-Dioulasso, p. 77.

- Paméla, & Virginie, F. (2008).** Congélation de la semence de chien préalablement réfrigérée : étude expérimentale. Thèse de doctorat, Faculté de Médecine de Créteil, p.94 .
- Peña, A., & Linde-Forsberg, C. (2000).** Effects of Equex, one- or two-step dilution, and two freezing and thawing rates on post-thaw survival of dog spermatozoa. *Theriogenology*, 54(6), p.p.859-875.
- Peterson, M. S., Slack, W. T. et al , (2004).** Reproduction in nonnative environments: Establishment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in coastal Mississippi watersheds. *Copeia*, 4, p.p.842-849.
- Purdy, P. H. (2006).** A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research*, 63, p.p.215-225.
- Rana, K. J., & McAndrew, B. J. (1989).** The viability of cryopreserved tilapia spermatozoa. *Aquaculture*, 76, p.p.335-345.
- Réviers, M., & Sauveur, B. (1988).** Reproduction des volailles et production d'œufs. INRA, Paris, p.p. 219-449.
- Robeck, T. R., Gearhart, S. A. et al , (2011).** In vitro sperm characterization and development of a sperm cryopreservation method using directional solidification in the killer whale (*Orcinus orca*). *Theriogenology*, 76(2), p.p.267-279.
- Rosato, M. P., & Laffaldano, N. (2013).** Cryopreservation of rabbit semen: Comparing the effects of different cryoprotectants, cryoprotectant-free vitrification, and the use of albumin plus osmoprotectants on sperm survival and fertility after standard vapor freezing and vitrification. *Theriogenology*, 79(3), p.p. 508-516.
- Rothbard, S., Moav, B., & Yaron, Z. (1987).** Changes in steroid concentrations during sexual ontogenesis in tilapia. *Aquaculture*, 61, p.p. 59-74.
- Rurangwa, E., Kime, D. E. et al, (2004).** The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, p.p. 234, 1-28.
- Rurangwa, E., Roelants, I. et al, (1998).** The minimum effective spermatozoa: egg ratio for artificial insemination and the effects of mercury on sperm motility and fertilization ability in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 53, p.p. 402-413.
- Rurangwa, E., Kime, D. E. et al, (2004).** The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234(1-4), p.p.1-28.
- Sadiqul Islam, M., & Akhter, T. (2011).** Tale of fish sperm and factors affecting sperm motility: A review. *Advances in Life Sciences*, 1(1), p.p.11-19.
- Saheb, M. (2014).** Contribution à l'étude de l'identification de quelques espèces algales des cours d'eaux dans la région d'Oued Athmenia. Mémoire de master, Université Constantine 1, p.41.

## Références bibliographiques

---

**Sanchez, R. M., & Billard, R. (1977).** Conservation de la motilité et du pouvoir de fécondation du sperme de poisson de truite arc-en-ciel maintenu à des températures voisines de 0°C. *Bulletin Français de Pisciculture*, 265, p.p.144-152.

**Shelton W. L. et Rothard S. (2006).** Exotic species in global aquaculture: a review. *Isr. J. Aquac. Bamidgeh*, 58 : p.p.3-28.

**Smith, J., & Brown, L. (2022).** Hormonal influences on parental care behavior in Tilapia: A review. *Journal of Fish Biology*, 92(3), p.p.123-135.

**Stănescu, P. M., & Alin, I. B. (2010).** Comparative studies of ISSN p.p.1843-5270; Electronic ISSN p.p. 1843-5378.

**Talarczyk-Desole, J., Berger, A. et al, (2017).** Manual vs. computer-assisted sperm analysis: Can CASA replace manual assessment of human semen in clinical practice? *Ginekologia Polska*, 88(2), p.p. 56-60.

**Trewavas, E. (1983).** *Tilapiine Fishes of the Genera Sarotherodon, Oreochromis and Danakilia*. Cornell University Press, Dorchester, England.

**Tselutin, K., Seigneurin, F., & Blesbois, E. (1999).** Comparison of cryoprotectants and methods of cryopreservation of fowl spermatozoa. *Poultry Science*, 78, p.p.586-590.

**Van den Hurk, R., & Slof, G. A. (1981).** A morphological and experimental study of gonadal sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Cell and Tissue Research*, 218, p.p.487-497.

**Van den Hurk, R., & Van Oordt, W. (1985).** Effects of natural androgens and corticosteroids on gonad differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *General and Comparative Endocrinology*, 57, p.p.216-222.

**Van den Hurk, R., Lambert, J. G. D., & Peute, J. (1982).** Steroidogenesis in the gonads of rainbow trout fry *Salmo gairdneri* before and after the onset of gonadal sex differentiation. *Reproduction, Nutrition, Development*, 22, p.p.413-426.

**Van Look, K. J. (2001).** The development of sperm motility and morphology techniques for the assessment of the effects of heavy metals on fish reproduction. PhD thesis, University of Sheffield.

**Wipf, M., Barnes, M. E., & Durben, D. J. (2011).** An evaluation of two egg collection and two fertilization techniques during landlocked fall chinook salmon spawning. *North American Journal of Aquaculture*, 73(3), p.p. 339-342.

### Sites internet:

**FAO (2002).** Les méthodes de production d'alevins de tilapia nilotica. [En ligne]. [Consulté le 23/07/2024]

Disponible sur le site web :

[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis\\_niloticus/fr](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/fr) p.120.

## Références bibliographiques

---

**Rakocy, J. E (2005).** Cultured Aquatic Species Information Programme: *Oreochromis niloticus*. Cultured Aquatic Species Fact Sheets. Dans Département des pêches et de l'aquaculture [En ligne]. [Consulté le 15/07/2024]

Disponible sur le site web :

[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis\\_niloticus/fr](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/fr)

**FAO (2010).** Diversité aquatique, une richesse inexploitée. Commission des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture. [En ligne]. [Consulté le 10/06/2024]

Disponible sur le site web :

[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis\\_niloticus/fr](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/fr) 2p.

**FAO (2016).** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Contribuer à la sécurité alimentaire et à la nutrition pour tous. [En ligne]. [Consulté le 20/05/2024]

Disponible sur le site web :

[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis\\_niloticus/fr](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/fr) 224 p.

**FAO (2017b) :** Tilapia du Nil. [En ligne]. [Consulté le 12/03/2024]

Disponible sur le site web : <http://www.fao.org/fishery/affris/profil-des-especes/niletilapia/tilapia-du-nil>

**Labelians.fr.** cellule-de-thoma [En ligne]. [Consulté le 10/02/2024].

Disponible sur le site web : <https://catalogue.labelians.fr/cellule-de-thoma.html>

**Meghna, G.** Reproductive Systems of Scoliodon (With Diagram). [En ligne]. [Consulté le 10/06/2024]

Disponible sur le site web : <https://www.notesonzoology.com/fish/reproductive-systems-of-scoliodon-with-diagram-zoology/3686>

# Annexes

## VII. Les annexes

Annexe 1 : Table des marges d'erreur entre les deux grilles d'hémocytomètre « WHO semen manual, 1999

SUM	VALUE	SUM	VALUE	SUM	V
969-1000	61	376-395	38	59-66	15
938-968	60	357-375	37	52-58	14
907-937	59	338-356	36	44-51	13
876-906	58	319-337	35	38-43	12
846-875	57	301-318	34	32-37	11
817-845	56	284-300	33	27-31	10
788-816	55	267-283	32	22-26	9
760-787	54	251-266	31	17-21	8
732-759	53	235-250	30	13-16	7
704-731	52	219-234	29	10-12	6
678-703	51	206-218	28	7-9	5
651-677	50	190-205	27	5-6	4
625-650	49	176-189	26	3-4	3
600-624	48	163-175	25	2	2
576-599	47	150-162	24	1	1
551-575	46	138-149	23	0	0
528-550	45	126-137	22		
504-527	44	115-125	21		
482-503	43	105-114	20		
460-481	42	94-104	19		
438-459	41	85-93	18		
417-437	40	76-84	17		
396-416	39	67-75	16		

**Annexe 2 :** tableau d'évaluation de la qualité microscopique de sperme de tilapia conservé a 4° C après 24h (J1) et 48h (J2).

		<b>motilité</b>			<b>vitalité</b>		
J1	Poissons	F	D1	D2	F	D1	D2
	1	2	0	0	69.5	15	58
	2	0.5	0	0	31.5	33	55
	3	1.5	0	0	36	41	40
	4	2	0	0	19.5	35	53
	5	2	0	0	17	63	61
	6	0	0	0	12	52	57
J2		Motilité			vitalité		
	Poissons	F	D1	D2	F	D1	D2
	1	0.5	0	0	50	16	50
	2	0	0	0	11	29	56
	3	1	0	0	10	27	30
	4	1	0	0	13	27	48
	5	1.5	0	0	12	54	57
	6	0	0	0	26	32	66

**Annexe 3 :** le business model Canvas.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue de l'obtention du diplôme de :

Startup de l'arrêté ministériel n° 1275 Diplôme – Startup

Thème :

**BANQUE DE CONSERVATION DE SPERME DES ANIMAUX  
AQUATIQUES**

Présenté par :

**Melle KERKOUCHE Meriem**

**Année universitaire : 2023- 2024**

## Sommaire

Introduction .....	70
Chapitre 1 : Présentation du projet .....	70
Activité principale .....	70
Valeur ajoutée .....	70
Chapitre 2 : Analyse stratégique du marché .....	71
Clients .....	71
Relations clients .....	72
Canaux de distribution .....	72
Chapitre 3 : Plan de production et d'organisation .....	73
Ressource clé .....	73
Revenus .....	73
Partenaires clés .....	74
Chapitre 4 : Plan Financier .....	74
Coûts .....	74
Méthodologie .....	75
Chapitre 5 : Prototype expérimental .....	76
Prototype .....	76
Logos de l'entreprise .....	77
Conclusion .....	65

## **Introduction**

L'aquaculture, qui représente aujourd'hui une des sources principales de production alimentaire à travers le monde, est confrontée à plusieurs défis majeurs, notamment la préservation de la diversité génétique, l'amélioration des performances des élevages, et la gestion durable des ressources aquatiques. C'est dans ce cadre que la création d'une banque de sperme dédiée aux espèces aquatiques devient une initiative innovante et essentielle.

En Algérie, bien que le secteur aquacole soit en pleine expansion, il n'existe actuellement pas de banque de sperme spécifiquement dédiée à l'aquaculture. La mise en place d'une telle structure offrirait un avantage stratégique pour soutenir le développement durable du secteur. En conservant le matériel génétique de haute qualité, cette banque permettrait de préserver la biodiversité aquatique locale, d'améliorer les pratiques d'élevage, et d'augmenter la compétitivité de la production aquacole algérienne à l'échelle régionale et internationale.

Ce projet vise à fournir un service de cryoconservation pour les exploitations aquacoles et les centres de recherche, facilitant l'accès à des échantillons génétiques optimisés pour accroître la productivité, réduire les risques liés aux maladies et assurer une résilience face aux catastrophes environnementales. Cela positionnerait l'Algérie comme un acteur clé dans la région pour la préservation et l'amélioration génétique des espèces aquatiques.

## **Chapitre 1 : Présentation du projet**

### **Activité principale**

Notre vision est de créer une banque de sperme dédiée aux animaux aquatiques, avec pour objectif principal de constituer une réserve génétique précieuse des espèces ciblées. À travers la cryoconservation du sperme de poissons, nous visons à préserver et à valoriser le patrimoine génétique aquatique. Cette technologie permet de stocker le sperme à très basse température, pour l'utiliser ultérieurement dans des programmes d'insémination artificielle. En optimisant l'utilisation du matériel génétique, un seul mâle peut féconder un grand nombre de femelles, ce qui accroît l'efficacité des élevages. De plus, notre projet joue un rôle essentiel dans la conservation des espèces marines rares et menacées, en assurant la préservation de leur diversité génétique pour les générations futures. Grâce à cette initiative, nous contribuons non seulement à l'amélioration des performances des élevages aquacoles, mais aussi à la sauvegarde d'une biodiversité marine en danger.

### **Valeur ajoutée**

La valeur ajoutée de ce projet réside dans plusieurs aspects clés :

- **Préservation de la biodiversité marine** : La banque permet de conserver le sperme de poissons rares et menacés, contribuant ainsi à la sauvegarde des espèces en danger.
- **Amélioration des performances de l'aquaculture** : Elle fournit des ressources génétiques de haute qualité, optimisant la productivité des élevages grâce à des techniques d'insémination artificielle.
- **Développement durable du secteur** : La cryoconservation réduit la dépendance aux populations sauvages et favorise des pratiques de gestion responsable, soutenant ainsi la durabilité de l'aquaculture.
- **Opportunités économiques** : Le projet stimule l'innovation et attire des investissements dans l'aquaculture, renforçant le rôle de l'Algérie sur la scène internationale en matière de conservation marine.
- la saison de reproduction des mâles et des femelles ne soit pas en même temps chez les poissons pose souvent un problème pour la fécondation artificielle. Avoir une banque de sperme peut résoudre ce problème. Cela peut aider à stocker la semence pour les utiliser au moment propice afin d'assurer le succès des opérations de reproduction artificielle.

## Chapitre 2 : Analyse stratégique du marché

### Clients

- **Entreprises aquacoles** : Les fermes aquacoles algériennes et internationales pourraient être des clients majeurs, intéressées par l'accès à des ressources génétiques de haute qualité pour améliorer la productivité et diversifier leurs élevages.
- **Instituts de recherche scientifique** : Des centres de recherche et universités spécialisées en biologie marine et aquaculture pourraient utiliser les services de la banque pour leurs projets de recherche sur la génétique des poissons et la conservation des espèces.
- **Organisations de conservation marine** : Des ONG et organismes travaillant dans la préservation de la biodiversité marine pourraient collaborer avec la banque pour préserver des espèces rares ou menacées et soutenir leurs efforts de conservation.
- **Gouvernements et agences publiques** : Les autorités locales et nationales intéressées par la gestion durable des ressources marines et la protection de la biodiversité pourraient être des clients pour des projets de conservation et de développement durable.
- **Entreprises de biotechnologie** : Des entreprises spécialisées dans les technologies cryogéniques et les solutions de reproduction assistée pourraient également être des clients, en ayant besoin de matériel génétique pour leurs applications industrielles ou de recherche.

### **Les clients que nous avons déjà contactés :**

- Ferme aquacole Al-Taytari  
Bin Shekaw Médéa  
Benqurtubi Amine
- Ferme aquacole Abaidia  
Khemis miliana  
Abaidia Mohamed

### **Relations clients**

- **Support technique et scientifique** : Fournir une assistance technique et scientifique pour aider les clients à utiliser efficacement les ressources de la banque, ainsi qu'à intégrer les technologies de cryoconservation dans leurs pratiques.
- **Formations et ateliers** : Organiser des sessions de formation et des ateliers pour éduquer les clients sur les techniques d'insémination artificielle, la cryoconservation, et les meilleures pratiques en aquaculture.
- **Partenariats de recherche** : Proposer des collaborations pour des projets de recherche communs, permettant aux clients de bénéficier des dernières avancées scientifiques et de contribuer à des études importantes.
- **Programmes de fidélité et d'abonnement** : Mettre en place des programmes de fidélité ou des abonnements qui offrent des réductions ou des avantages pour les clients réguliers ou pour les engagements à long terme.
- **Rapports et analyses personnalisés** : Fournir des rapports détaillés et des analyses sur les performances des échantillons génétiques et l'impact sur la productivité, permettant aux clients de suivre les résultats et d'ajuster leurs stratégies.

### **Canaux de distribution**

Le projet BACAM bénéficiera d'une large diffusion grâce à divers canaux de distribution stratégiques. Voici les canaux de distribution clés que nous prévoyons d'utiliser :

- **Partenariats directs avec les entreprises aquacoles** : Collaborer directement avec des fermes aquacoles pour fournir des services de cryoconservation et des échantillons de sperme, facilitant l'intégration des ressources génétiques dans leurs élevages.
- **Centres de recherche et universités** : Établir des relations avec des institutions académiques et scientifiques pour leur offrir des services de conservation génétique et des collaborations en recherche.

- **Événements et salons spécialisés** : Participer à des conférences, salons et événements de l'industrie aquacole et de la biotechnologie pour promouvoir les services de BACAM et rencontrer des clients potentiels.
- **Plateforme en ligne** : Créer un site web dédié où les clients peuvent accéder aux informations sur les services, faire des demandes de stockage, et consulter des rapports sur les échantillons.
- **Partenariats avec des distributeurs de technologies** : Collaborer avec des entreprises spécialisées dans les technologies cryogéniques et de reproduction assistée pour promouvoir les services de BACAM auprès de leurs clients.
- **Organisations de conservation marine** : Travailler avec des ONG et des institutions de conservation pour élargir la portée des services de conservation et attirer des projets spécifiques.

### Chapitre 3 : Plan de production et d'organisation

#### Ressource clé

- **Personnel qualifié** : Environ 5 à 10 experts en biologie marine, cryoconservation et gestion des ressources génétiques.
- **Infrastructure et équipements** :  
2 à 3 chambres froides pour la conservation à très basse température.  
Équipements de cryoconservation, tels que des congélateurs à azote liquide et des réservoirs de stockage.
- **Système de gestion** : Logiciel pour le suivi des échantillons et des données.

#### Revenus

- **Service de cryoconservation** : le revenu annuel de ce service est : 100 000 000 DZD (pour 1000 échantillons le prix de l'échantillon 100000 DZD )
- **Services complémentaires** : En ajoutant des consultations et des formations spécialisées, estimées à environ 20 000 000 DZD supplémentaires.

**Revenu total estimé par an : 120 000 000 DZD.**

Cette estimation repose sur la capacité de la banque à attirer et à maintenir des clients dans un marché en pleine expansion.

## **Partenaires clés**

Pour assurer la réussite et la pérennité de la Banque Algérienne de Conservation des Animaux Marins (BACAM), plusieurs partenaires clés peuvent être identifiés. Tout d'abord, les institutions gouvernementales telles que le Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques et le Ministère de l'Environnement seraient des partenaires stratégiques, fournissant un cadre réglementaire et des soutiens financiers via des subventions pour la conservation des ressources marines. Ensuite, les centres de recherche et universités, comme le Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (CNRDPA) ou des universités et écoles algériennes spécialisées en biologie marine et aquaculture (ENSSMAL), pourraient contribuer par leur expertise scientifique et des collaborations pour des projets de recherche.

De plus, les entreprises aquacoles algériennes et internationales seraient des partenaires commerciaux importants, intéressées par l'accès à des ressources génétiques optimisées pour améliorer leurs performances d'élevage. Les organisations non gouvernementales (ONG) œuvrant dans la conservation marine seraient également des alliés essentiels pour promouvoir la préservation des espèces marines rares ou en voie de disparition. En ce qui concerne les aspects techniques, des fournisseurs de technologies cryogéniques seraient nécessaires pour assurer l'approvisionnement et l'entretien des équipements de cryoconservation.

Enfin, des collaborations avec des organismes internationaux tels que la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) ou des organisations méditerranéennes pourraient apporter un soutien financier, technique, et une reconnaissance à l'échelle régionale et internationale.

## **Chapitre 4 : Plan Financier**

### **Coûts**

#### **Coûts du matériel de laboratoire :**

- 590 000 DZD

#### **Coûts des ressources clés :**

#### **❖ Personnel : 15660000 DZD par an**

- 5 aquacultures (salaire de 60000 DZD par mois)
- 5 ingénieurs de laboratoire (salaire de 60000 DZD par mois)
- 4 agents (salaire de 40000 DZD par mois)
- 2 femmes de ménage (salaire de 35000 DZD par mois)
- 3 techniciens (salaire de 50000 DZD par mois)
- 2 informaticiens (salaire de 50000 DZD par mois)

- 5 sécuritaire (salaire de 37000 DZD par mois)
- Le coût de main d'œuvre : 15660000DZD
- ❖ **Chambres froides** : 2 000 000 DZD
- ❖ **Équipements de cryoconservation** : 6 750 000 DZD
- ❖ **Système de gestion** : 1 350 000 DZD
- ❖ **Le local** : le laboratoire de conservation + les bureaux : 40000000DZD
  - **Calcul du coût total du projet** :
  - 590 000 DZD+15660000DZD+2 000 000 DZD+6 750 000 DZD+1 350 000 DZD  
+40000000DZD= 66350000DZD
  - **Coût total estimé pour le projet** : **66350000DZD**

## **Méthodologie**

### **Étude de marché et analyse des besoins**

- Identifiez les besoins du marché en aquaculture et conservation.
- Évaluez la demande potentielle pour les services de cryoconservation.

### **Développement du plan d'affaires**

- Définissez les objectifs, les services proposés, et le modèle économique.
- Estimez les coûts, les revenus et les besoins en investissement.

### **Obtention des financements**

- Cherchez des financements via des subventions, des investisseurs ou des prêts.
- Préparez un dossier solide pour présenter votre projet.

### **Constitution juridique de l'entreprise**

- Enregistrez l'entreprise en tant qu'entité légale.
- Obtenez les licences et les autorisations nécessaires pour opérer.

### **Acquisition des équipements et des infrastructures**

- Achetez le matériel nécessaire pour la cryoconservation et les laboratoires.
- Mettez en place des chambres froides et des tanks de stockage.

### **Recrutement et formation du personnel**

- Embauche du personnel qualifié pour la gestion des opérations et la conservation.
- Assurez-vous que l'équipe est formée aux techniques de cryoconservation et aux procédures de laboratoire.

### **Mise en place des procédures opérationnelles**

- Établissez des protocoles pour la collecte, la conservation et la gestion des échantillons.
- Développez un système de gestion de la qualité pour garantir l'efficacité et la fiabilité.

### **Marketing et développement des partenariats**

- Promouvez vos services auprès des aquaculteurs, des instituts de recherche et des programmes de conservation.
- Établissez des partenariats avec des organisations et des entreprises du secteur.

#### **Lancement des opérations**

- Commencez les activités de conservation et de gestion des échantillons.
- Surveillez les opérations et ajustez les procédures si nécessaire.

#### **Évaluation et ajustement**

- Évaluez régulièrement les performances et la satisfaction des clients.
- Ajustez votre plan d'affaires et vos opérations en fonction des retours et des évolutions du marché.

<b>Étape</b>	<b>Dates</b>
<b>Étude de marché et analyse des besoins</b>	Janvier 2025 - Mars 2025
<b>Développement du plan d'affaires</b>	Avril 2025 - Juin 2025
<b>Obtention des financements</b>	Juillet 2025 - Septembre 2025
<b>Constitution juridique de l'entreprise</b>	Octobre 2025 - Décembre 2025
<b>Acquisition des équipements et infrastructures</b>	Janvier 2026 - Mars 2026
<b>Recrutement et formation du personnel</b>	Avril 2026 - Juin 2026
<b>Mise en place des procédures opérationnelles</b>	Juillet 2026 - Septembre 2026
<b>Marketing et développement des partenariats</b>	Octobre 2026 - Décembre 2026
<b>Lancement des opérations</b>	Janvier 2027
<b>Évaluation et ajustement</b>	Février 2027 et au-delà, tous les 6 mois

**Tableau 2.** Méthodologie générale en étapes.

## **Chapitre 5 : Prototype expérimental**

### **Prototype**

Notre produit est constitué de tubes contenant des spermatozoïdes de haute qualité, soigneusement sélectionnés pour différentes espèces de poissons. Ce produit innovant est conçu pour être utilisé dans le cadre de la fécondation artificielle des poissons, garantissant des taux de reproduction optimaux. Facile à utiliser, il permet aux aquaculteurs d'augmenter la survie des œufs tout en réduisant les coûts et les efforts associés à la reproduction naturelle. En choisissant notre solution, vous bénéficiez d'un produit fiable et performant qui répond aux besoins des professionnels soucieux de la qualité et de la durabilité de leur production piscicole.



**Logo de l'entreprise**



**Tableau 3. Business Model Canvas de BACAM**

<b>Partenaires clés</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Instituts de recherche marine</li> <li>- Aquaculteurs</li> <li>- Programmes de conservation</li> <li>- Fournisseurs d'équipements</li> </ul>	<b>Activité principale</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cryoconservation des spermés d'animaux marins</li> <li>- Insémination artificielle</li> <li>- Gestion des échantillons</li> </ul>	<b>Valeur ajoutée</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Préservation des espèces marines rares</li> <li>- Amélioration des pratiques d'aquaculture</li> <li>- Soutien aux programmes de conservation</li> </ul>	<b>Relation clients</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Service client personnalisé</li> <li>- Offres de consultation et formation</li> <li>- Assistance technique continue</li> </ul>	<b>Clients</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Aquaculteurs</li> <li>- Instituts de recherche marine</li> <li>- Programmes de conservation des espèces marines</li> </ul>
	<b>Ressources clés</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Équipements de cryoconservation (tanks, aspirateurs, etc.)</li> <li>- Personnel qualifié</li> <li>- Chambres froides</li> <li>- Système de gestion</li> </ul>		<b>Canaux de distribution</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Vente directe aux aquaculteurs</li> <li>- Partenariats avec instituts et programmes de conservation</li> <li>- Présence en ligne et promotions</li> </ul>	
<b>Coûts</b> Coûts du matériel de laboratoire : 590 000 DZD Personnel : 15660000 DZD par an Chambres froides : 2 000 000 DZD Équipements de cryoconservation : 6 750 000 DZD Système de gestion : 1 350 000 DZD Le local : 40000000DZD Coût total estimé pour le projet : 66350000DZD		<b>Revenus</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cryoconservation : 100 000 000 DZD/an (pour 1 000 échantillons)</li> <li>- Services complémentaires : 20 000 000 DZD/an</li> <li>- -Total estimé : 120 000 000 DZD/an</li> </ul>		

## **Conclusion**

En conclusion, la création de la Banque Algérienne de Conservation des Animaux Marins (BACAM) représente une initiative stratégique à la fois pour l'aquaculture et la préservation de la biodiversité marine. En s'appuyant sur des technologies avancées de cryoconservation, ce projet permet de préserver le patrimoine génétique des espèces aquatiques, d'améliorer la productivité des fermes aquacoles, et de contribuer à la protection des espèces en danger. Avec une infrastructure solide, des ressources humaines qualifiées, et un modèle économique bien défini, BACAM est bien positionnée pour répondre aux besoins croissants du secteur et générer des revenus tout en ayant un impact durable sur l'environnement marin. Ce projet innovant est une opportunité unique de renforcer l'industrie halieutique en Algérie et de promouvoir des pratiques durables à long terme.