

Évolution des caractéristiques du sperme de *Sparus aurata* et *Dicentrarchus labrax* au cours d'une saison de reproduction

M. H. Kara et S. Labeled

Département de Biologie Marine, Résidence "Le Belvédère"
Route du cap de Garde, Annaba, 23000, Algérie

Résumé : La qualité du sperme de daurade (*Sparus aurata*) et de loup (*Dicentrarchus labrax*) sauvages est estimée par la densité des spermatozoïdes et par leur intensité et durée de motilité après dilution. La survie du sperme conservé à 4 °C est examinée.

Chez les deux espèces, la laitance présente une qualité différente selon la date de prélèvement. Avec une moyenne saisonnière de $3,9 \cdot 10^9$ cell./ml chez la daurade et $14 \cdot 10^9$ cell./ml chez le loup, la densité des spermatozoïdes diminue progressivement au cours de la période de reproduction.

L'intensité initiale de motilité des gamètes est minimale à la fin de la saison de spermiation (2). La durée de motilité est maximale au milieu de cette dernière chez la daurade et augmente progressivement chez le loup.

Le sperme prélevé au milieu de la saison se conserve plus longtemps : 3 jours pour la daurade et 10 jours pour le loup.

Abstract : The sperm quality of sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is estimated by the density of spermatozoa, the intensity of their motility and his duration after dilution. The survival of sperm conserved at 4 °C is examined.

In the case of the two species, the milt presents a different quality depending on the date of the sample. With a mean seasonal value of $3,9 \cdot 10^9$ cell./ml for sea bream and $14 \cdot 10^9$ cell./ml for sea bass, the density of spermatozoa decreased progressively during the period of reproduction.

The initial intensity of gametes' motility is minimal at the end of spermiation's period. The motility's duration is maximal in the middle of this latter for the sea bream but it increases progressively in the case of the sea bass.

The sperm sampled in the middle of the season is conserved much longer : 3 days for the sea bream and 10 days for the sea bass.

INTRODUCTION

Chez les poissons, la possibilité de stockage du sperme est très recherchée. Elle intéresse aussi bien les aspects de la production aquacole que ceux liés à la conservation des espèces et à l'environnement.

Le succès de la conservation de la laitance est lié en partie à sa qualité. Celle-ci peut être caractérisée soit par des paramètres simples à mesurer, comme la densité des spermatozoïdes ou leur motilité après activation (Winnicki & Tomasik, 1976 ; Billard & Cosson, 1986), soit par d'autres critères plus diversifiés : ultrastructure, composition des membranes, charge énergétique, métabolisme, composition ionique et biochimique du liquide séminal et interaction spermatozoïdes-ovules (Billard, 1983 ; Maisse *et al.*, 1988 ; Rosenthal *et al.*, 1988).

De nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des conditions de conservation du sperme (Sanchez-Rodriguez & Billard, 1977 ; Billard, 1981). Les performances rapportées

sont très hétérogènes et varient selon les espèces et les individus, entre plusieurs jours et plusieurs semaines de survie. Souvent, la date de prélèvement est déterminante pour le succès de la conservation des gamètes et leur aptitude à la fertilisation des œufs (Piironen & Hyvärinen, 1983 ; Methven & Crim, 1991).

Chez les mâles de *D. labrax* en élevage, la qualité du produit sexuel diminue au cours de la période de reproduction, en particulier la motilité et l'aptitude à la conservation et à la congélation (Billard *et al.* 1977). La durée de stockage du sperme de cette espèce et de *Sparus aurata*, à 4 °C, est de plusieurs jours en début de période de spermiation, mais seulement de quelques heures à la fin de celle-ci chez le loup (Billard, 1984). Le sperme de ces deux espèces se prête également à la congélation, à condition qu'il soit prélevé en début de période de reproduction et qu'il soit mélangé à un dilueur, le DCS B4. Ce dernier présente l'inconvénient de mettre les spermatozoïdes en mouvement, ce qui nécessite une congélation très rapide après dilution.

Le sperme de daurade et de loup est peu étudié, notamment chez les individus sauvages. Pourtant, les gamètes des poissons pêchés constituent un potentiel reproductif important dont la conservation réduirait les frais de stabulation des géniteurs.

Ce travail analyse la qualité de la laitance de ces deux espèces pêchées dans le milieu naturel au cours de leur saison de reproduction. Les descripteurs utilisés sont : la densité des spermatozoïdes, leur motilité et leur durée de survie à 4 °C.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le sperme provient de géniteurs sauvages, de même longueur totale : 20 à 25 cm pour la daurade et 25 à 30 cm pour le loup. Ils sont pêchés dans le golfe d'Annaba (Algérie). La spermiation de la daurade s'étend de fin octobre au début janvier. Elle débute en décembre et s'achève vers la fin mars pour le loup.

Après un massage abdominal, le sperme est recueilli à l'aide d'une seringue dépourvue d'aiguille, en évitant tout contact avec l'eau. Immédiatement après le prélèvement, la laitance est utilisée pour l'examen de la viscosité, la numération et la motilité des spermatozoïdes. D'autres échantillons sont stockés au réfrigérateur en tubes stériles de 3 ml en vue de tester la durée de conservation. Souvent, les examens portent sur le sperme mélangé de deux ou de plusieurs poissons. Dans tous les cas, le comptage des gamètes est répété trois fois et une moyenne est calculée.

Viscosité

La viscosité est appréciée de façon approximative : si le retrait d'une pipette plongée dans le sperme forme un long fil, la viscosité est égale à 2. S'il se forme une goutte, la viscosité est moindre et égale à 1.

Numération des spermatozoïdes

0,1 ml de sperme est dilué au 1/100^e dans une solution de formol de Ringer. Une goutte du mélange homogénéisé est disposée sur une cellule de comptage de type Malassez et observée au microscope (Gr. x 160).

Mesure de la durée et de l'intensité de motilité, immédiatement après prélèvement

Un volume de 0,1 ml de sperme frais est dilué au 1/100^e dans un tube à essais, laissé à la température ambiante de 18 °C. La dilution est effectuée dans une eau de mer à 20 ‰. La motilité des gamètes est estimée selon une échelle arbitraire allant de 0 (aucun spermatozoïde n'est mobile) à 5 (tous les spermatozoïdes sont en mouvement très actif) (Billard, 1984). Les gamètes fraîchement émis sont immobiles et la mise en mouvement ne se produit qu'au moment de la dilution. La motilité est alors mesurée à intervalles réguliers, toutes les 5 minutes, jusqu'à cessation complète des mouvements.

Mesure de la durée de survie du sperme conservé, non dilué, à 4 °C

Quotidiennement, une aliquote de 0,1 ml de sperme maintenu au réfrigérateur, à 4 °C, est retirée. La motilité des gamètes est évaluée après dilution comme indiqué ci-dessus, et, après équilibration pendant 5 minutes à la température ambiante de 18 °C. Seule la valeur de la motilité initiale après dilution est retenue. Les essais sont poursuivis jusqu'à ce que les spermatozoïdes ne présentent plus de mouvement.

RÉSULTATS

Le tableau 1 montre que la densité des spermatozoïdes est minimale au démarrage de la spermiation chez les deux espèces. Elle atteint rapidement sa valeur maximale quelques jours plus tard, puis diminue progressivement au cours de la saison de reproduction. La viscosité du sperme est toujours égale à 2 chez *D. labrax*. Elle est de 1, à partir du 9 décembre, chez *S. aurata*.

TABLE I

Densité des spermatozoïdes et viscosité du sperme au cours de la saison de spermiation.

<i>Sparus aurata</i>				<i>Dicentrarchus labrax</i>			
Date	N	Densité (x 10 ⁹ /ml)	V	Date	N	Densité (x 10 ⁹ /ml)	V
17/11/1990	1	1,63±0,26	2	16/12/1990	5	4,99±1,27	2
26/11	2	7,12±2,04	2	27/12	1	22,64±0,31	2
09/12	2	4,24±1,78	1	13/01/1991	2	19,77±0,80	2
16/12	1	3,84±0,18	1	21/01	1	12,90±0,40	2
04/01/1991	4	2,96±0,09	1	05/03	1	12,09±0,69	2
				15/03	1	11,88±1,55	2

V : viscosité

La figure 1 indique que l'intensité maximale de motilité (5) est obtenue au début et au milieu de la période de reproduction chez la daurade. Chez le loup, elle est atteinte au tout début de la saison avec une valeur égale à 4.

Chez les deux espèces, l'intensité initiale de motilité des spermatozoïdes frais se maintient plus longtemps au milieu de la période de spermiation (15 min). La décroissance de la motilité est plus lente pendant cette période. Par exemple, une intensité 2 est enregistrée après 20 min le 31 octobre, et 40 min le 25 novembre chez la daurade. Elle est atteinte après 15 min le 18 décembre et 20 min le 21 janvier chez le loup. Cette intensité est obtenue immédiatement après la dilution vers la fin de la saison.

La durée totale de motilité des spermatozoïdes est plus longue au milieu de la période de reproduction de la daurade (70 min), alors qu'elle augmente progressivement chez le loup et passe de 30 à 60 min.

La figure 2 indique que le sperme peut être conservé au réfrigérateur pendant 3 jours chez la daurade et 10 jours chez le loup, sans perte notable de la motilité des gamètes (intensité $\geq 2,5$). Ces durées de conservation sont obtenues au milieu de la saison de spermiation chez la daurade (26 novembre) et le loup (3 janvier). La survie des spermatozoïdes est nettement moins bonne aux autres périodes de prélèvement.

DISCUSSION

Les poissons produisent un nombre considérable de spermatozoïdes, plus de 10^8 par gramme de testicule et par jour, soit dix fois la valeur enregistrée chez les mammifères (Billard, 1988). La concentration du sperme en gamètes est également importante et varie d'une espèce à une autre : $6,8.10^9$ spermatozoïdes/ml chez *Coregonus lavaretus*, $37,5.10^9$ chez *Lota lota*, $76,2.10^9$ chez *Perca fluviatilis* (Piironen & Hyvärinen, 1983) et $38,3.10^9$ chez *Scophthalmus maximus* (Suquet *et al.*, 1992). Les valeurs moyennes enregistrées chez la daurade ($3,9.10^9$) et le loup (14.10^9) sont relativement faibles.

La densité des spermatozoïdes diminue au cours de la saison de spermiation chez les deux espèces étudiées. Une évolution similaire est démontrée chez *Salmo gairdneri* (Büyükhattipoglu & Holtz, 1984) ; tandis que chez *Salmo salar*, la tendance est inverse (Piironen, 1985). Les faibles concentrations des gamètes, mesurées au tout début de la saison sont également signalées par Piironen et Hyvärinen (1983) chez *Salmo gairdneri*. Ces auteurs trouvent que la spermatocrite est constante ou croissante durant les premières semaines de la période de spermiation qui s'étend d'octobre à avril.

La viscosité du sperme n'est pas discriminante pour le loup. Ce paramètre ne paraît pas très sensible malgré des variations de densité assez importantes (de 5 à 22.10^9 cellules/ml). Chez la daurade, la viscosité décroît au cours du temps mais indépendamment de la quantité des spermatozoïdes présents. En revanche, une corrélation positive existe entre la concentration du sperme et sa viscosité chez *Scophthalmus maximus* (Suquet *et al.*, 1992).

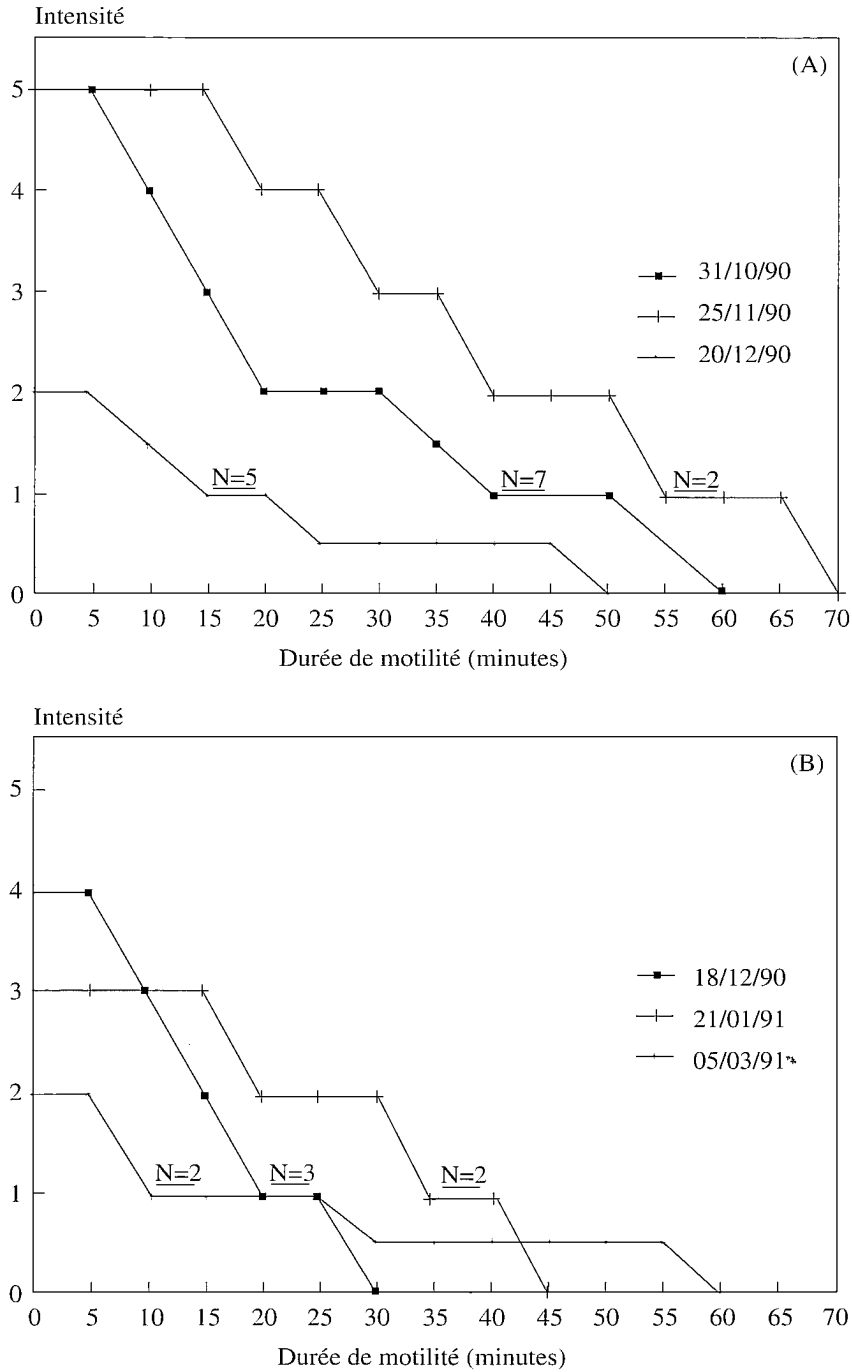


Fig. 1 : Motilité des spermatozoïdes de daurade (A) et du loup (B) après dilution du sperme frais.

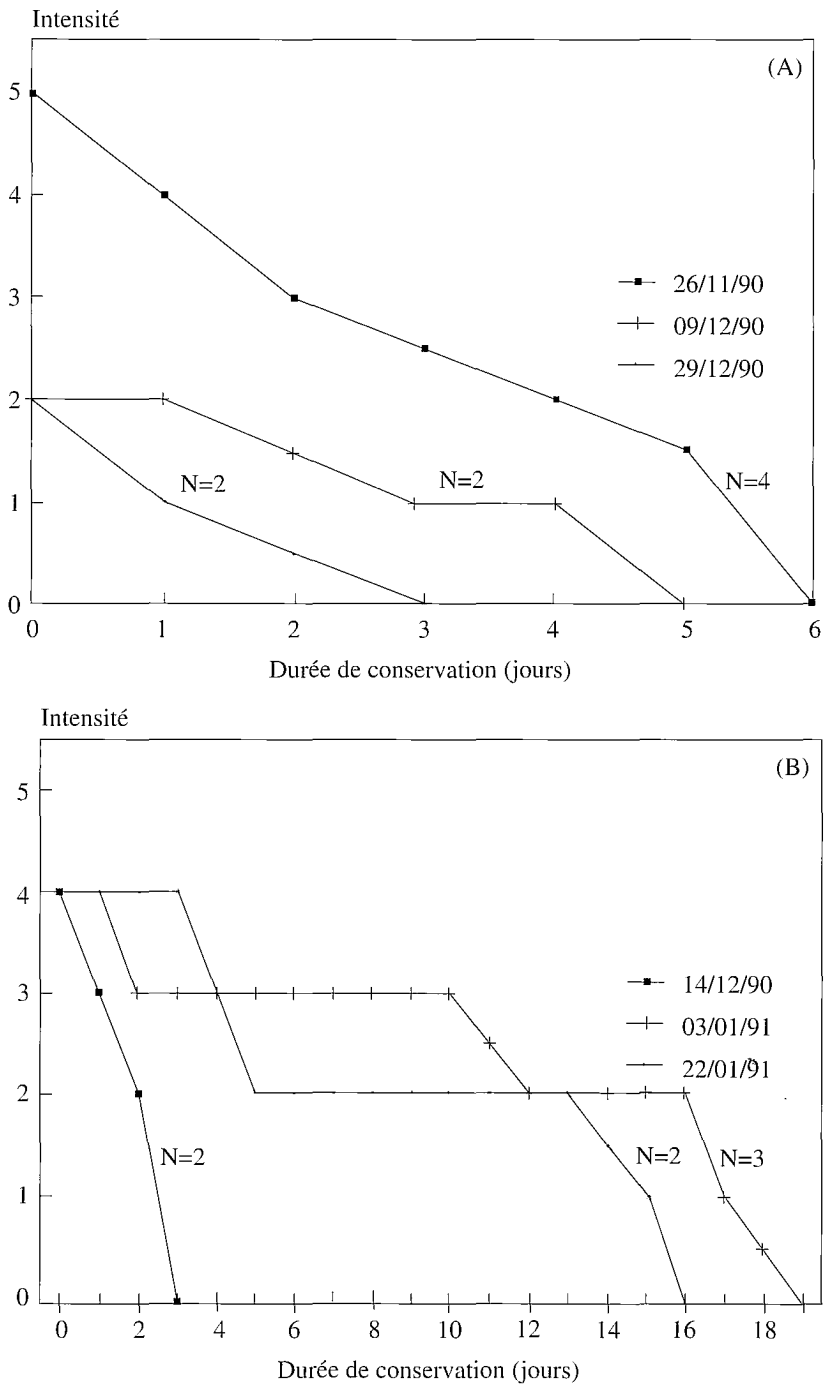


Fig. 2 : Durée de survie du sperme de daurade (A) et de loup (B), conservé à 4 °C.

L'intensité initiale de motilité des spermatozoïdes frais est relativement faible à la fin de la saison de spermiation (2), comme chez la truite *Salmo gairdneri* (Munkittrick & Moccia, 1987). Ce phénomène se manifeste généralement par une diminution du pouvoir fécondant du sperme (Chemayel, 1975). Il y aurait donc un vieillissement de ce dernier, car la reproduction de la daurade et du loup est saisonnière. Tous les spermatozoïdes sont formés avant que ne débute la spermiation et ne seront éliminés du testicule que très progressivement au cours de la période de reproduction ; les derniers spermatozoïdes recueillis sont ainsi plus âgés que ceux collectés en début de saison, et leur qualité apparaît alors fortement amoindrie (Billard, 1984). Les phénomènes de vieillissement du sperme ont été identifiés fréquemment chez les mammifères (Mann, 1964) mais peu d'informations existent en ce qui concerne les vertébrés inférieurs.

Seule l'intensité de motilité instantanée est réduite, la durée de motilité est maximale en milieu de spermiation chez la daurade et augmente progressivement chez le loup. Au contraire, chez cette espèce en captivité, la durée de motilité diminue au cours du temps et passe de 30 à 4 min (Billard *et al.*, 1977). En général, la motilité des spermatozoïdes est limitée à quelques minutes chez les espèces d'eau douce (Billard, 1978), mais elle est plus longue chez les poissons marins et atteint plusieurs jours chez le hareng (Yanagimachi, 1953).

La durée de conservation de la laitance, stockée au réfrigérateur à 4 °C, est plus longue au milieu de la période de spermiation. Elle est de 3 jours pour la daurade et de 10 jours pour le loup. En élevage, en début de saison, cette durée est d'environ 80 h (Billard, 1984) et diminue fortement lorsque s'avance la période de reproduction chez le loup (Billard *et al.*, 1977). En comparaison avec les données disponibles, tant pour les poissons marins (6 jours à 0,8 °C pour le hareng ; Dushkina, 1975) que pour les poissons d'eau douce (6-8 jours à 4 °C pour la carpe ; Saad *et al.*, 1988), la durée maximale de conservation du sperme est, dans notre cas, brève chez *S. aurata* et longue chez *D. labrax*.

A partir de ces résultats, l'expérimentateur ou le pisciculteur doit considérer que le sperme ne présente pas de caractéristiques constantes au cours de la période de spermiation. Il reste à tester l'évolution du pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Ainsi, il sera possible de choisir la date de prélèvement de la laitance pour sa conservation et la fertilisation des œufs en éclosérie ; ce qui permettra de supprimer les frais engendrés par la stabulation des géniteurs mâles, particulièrement lorsqu'ils subissent une stimulation hormonale de la spermiation ou lorsque la maturation de leurs gonades est réalisée par des manipulations du cycle de la lumière.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BILLARD, R., 1978. Some data on gametes preservation and artificial insemination in teleost fish. *Actes de colloques CNEXO, Paris*, 8 : 59-73.
- BILLARD, R., 1981. Short-term preservation of sperm under oxygen atmosphere in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 23 : 287-293.

- BILLARD, R., 1983. Ultrastructure of trout spermatozoa : changes after dilution and deep-freezing. *Cell Tissue Res.*, 228 : 205-218.
- BILLARD, R., 1984. La conservation des gamètes et l'insémination artificielle chez le bar et la daurade. In : G. Barnabé et R. Billard (eds), L'aquaculture du bar et des Sparidés, *INRA Publ., Paris*.
- BILLARD, R., 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. *Mar. Behav. Physiol.*, 14 : 3-21.
- BILLARD, R., J. DUPONT & G. BARNABÉ, 1977. Diminution de la motilité et de la durée de conservation du sperme de *Dicentrarchus labrax* L. (Poisson, Téléostéen) pendant la période de spermiation. *Aquaculture*, 11 : 363-367.
- BILLARD, R. & M.P. COSSON, 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo mykiss* ; effect of pH and temperature. In : INRA Paris (eds) ; Reproduction in fish. Basic and applied aspects in endocrinology and genetics. Tel-Aviv, Israel.
- BUYÜKHATİPOĞLU, B. & W. HOLTZ, 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. *Aquaculture*, 37 : 63-71.
- CHEMAYEL, M., 1975. Étude de la variabilité du pouvoir fécondant du sperme en relation avec ses caractéristiques chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Richardson). Thèse, Univ. Paris VI, 52 pp.
- DUSHKINA, L. A., 1975. Variability of herring (*Clupea*) eggs and fertilizing capacity of herring sperm stored under various conditions. *J. Ichthyol. (USSR)*, 15 (3) : 423-428.
- MAISSE, G. A. PINSON & M. LOIR, 1988. Caractérisation de l'aptitude à la congélation du sperme de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) par des critères physico-chimiques. *Aquat. Living Ressour.*, 1 : 45-51.
- MANN, T., 1964. Biochemistry of semen and of the male reproductive tract. Methuen, London, 237 pp.
- METHVEN, D. A. & L. W. CRIM, 1991. Seasonal changes in spermatozoa, plasma sex steroids and motility of sperm from Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). In : A. P. Scott, J. P. Sumpter, D. E. Kime, M. S. Rolfe (eds), *Proceedings of the fourth International symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Univ. East Anglia, Norwich, U. K.*
- MUNKITTRICK, K.R. & R.D. MOCCIA, 1987. Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen : effect of a delay in stripping on spermatozoa, motility, volume and seminal plasma constituents. *Aquaculture*, 46 : 147-156.
- PIIRONEN, J., 1985. Variation in the properties of milt from the finnish landlocked salmon (*Salmo salar* M. Sebago Girard) during a spawning season. *Aquaculture*, 48 : 337-350.
- PIIRONEN, J. & H. HYYÄRINEN, 1983. Composition of the milt of some teleost fishes. *J. Fish Biol.*, 22 : 351-361.
- ROSENTHAL, H., D. KLUMPP & J. WILLFÜHR, 1988. Influence of sperm density and contact time on herring egg fertilisation. *J. Appl. Ichthyol.*, 4 : 79-86.
- SAAD, A., R. BILLARD, M. C. THERON & M. G. HOLLEBECQ, 1988. Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen. *Aquaculture*, 71 : 133-150.
- SANCHEZ-RODRIGUEZ, M. & R. BILLARD, 1977. Conservation de la motilité et du pouvoir fécondant du sperme de truite arc-en-ciel maintenu à des températures voisines de 0 °C. *Bull. Fr. Pisc.*, 265 : 143-152.
- SUQUET, M., M. H. OMNES, Y. NORMANT & C. FAUVEL, 1992. Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 101 : 177-185.
- WINNICKI, A. & L. TOMASIK, 1976. Spermatozoa as a method for biological evaluation of fish sperm. *Act. Ichthyol. Pisc.*, 6 : 3-7.
- YANAGIMACHI, R., 1953. Effects of environmental salt concentration on fertilizability of herring gametes. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.*, 11 : 481-486.