



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies & Agro-Ecologie

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Analyse des paramètres cellulaires spermatiques en fonction de la durée de conservation de la semence chez le lapin local et synthétique

Présenté par

BOUAHOUS Imadeddine et BOUNAIRA Abdennour

Devant le Jury :

Djazouli Zahra	Professeur	SNV, Blida1	Présidente
Benazouz Fella	MAA	SNV, Blida1	Examinatrice
Boukenaoui-Ferrouk Nouria	MCA	ISV, Blida1	Promotrice
Tarzaali Dalila	MCB	ISV, Blida1	Co-Promotrice

Session 2021 / 2022

Dédicaces

En ce moment chaleureux dans ma vie, je tiens à remercier Tout d'abord ALLAH le tout Puissant qui m'a procuré du courage et de la volonté pour réaliser ce modeste travail que je dédié :

À mes très chers parents MOHAMED et DJAMILA qui m'ont soutenu et aidé tout au long de mon travail et rêvaient de me voir réussir. Que Dieu les protège et les garde.

A mon frère IYAD et mes sœurs MERIEM et LYNA qui ont été toujours présents et qui m'ont soutenu moralement.

A tous les membres de ma famille.

A tous mes amis.

A mon binôme et toute sa famille.

Dédicaces

Je dédie ce projet :

À mes très chers parents, a ma très chère tante Khadoudja qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs

A mes chère sœurs Nassima et Assia, a mon cher oncle Tonton hamoudi, a mes chères cousines Mouna, Amel et Houda pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de ma vie

A mon cher binôme couzhin et toute sa famille

A mes chers amis Amine, Amine, Rachid, Amar, Mehdi, Adel et toute la bande pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A mes chers neveux Nazim, Younes, Adem, Hamza

A mes chères nièces Sofia, Meriem, Batoul, Sanaa, Lyne, Sarah

Remerciements

Nous voudrions d'abord remercier **ALLAH le Dieu Seul et Unique, le Grand**, pour toutes ses bénédictions sur nous, et nous le remercions de nous avoir donné la force d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements aux membres du jury :

A notre promotrice

Madame **Boukenaoui-Ferrouk N.**, maître de conférences A, ISV, Blida 1

Pour l'aide qu'elle nous a apporté, pour sa patience, sa disponibilité, sa confiance, son encouragement et son œil critique qui nous a été très précieux pour structurer le travail.

Sincères remerciements

A notre Co-promotrice

Madame **Tarzaali D.**, maître de conférences B, ISV, Blida 1

Pour son encouragement, son conseil bienveillant, sa rigueur scientifique et sa grande disponibilité.

Nous le remercions vivement.

A notre présidente de jury

Madame **Djazouli Z.**, professeur, SNV, USD Blida 1

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre travail.

Hommages respectueux

A notre examinatrice

Madame **Benazouz F.**, maître assistante A, SNV, Blida 1

Qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail

Sincères remerciements

Aux **responsables et chercheurs** du laboratoire de biotechnologie lié à la reproduction animale de l'institut des sciences vétérinaires de Blida pour nous avoir mis à notre disposition tout le matériel disponible pour réaliser ce travail.

Finalement, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I Données bibliographiques	3
I.1 Caractéristiques de la reproduction chez le lapin	3
I.1.1 Appareil génital mâle	3
I.1.2 Physiologie de la reproduction	5
I.1.3 Semence et caractéristique	8
I.2 Récolte et conservation de la semence	13
I.2.1 Préparation des mâles.....	13
I.2.2 Récolte	13
I.2.3 Conservation	14
I.2.4 Utilisation des dilueurs	14
Chapitre II Matériel et méthodes.....	16
II.1 Objectif.....	17
II.2 Lieu et durée de l'expérimentation	17
II.3 Bâtiment d'élevage et habitat des animaux	17
II.4 Matériel.....	17
II.4.1 Matériel biologique	17
II.4.2 Matériel non biologique	19
II.5 Méthodes	19
II.5.1 Protocole expérimental	19
II.5.2 Récolte de la semence	19
II.6 Analyse statistique des résultats	30
Chapitre III Résultats.....	32
III.1 Poids corporels	33
III.2 Caractéristiques macroscopiques.....	33
III.2.1 Couleur	33
III.2.2 Volume de la semence.....	33
III.2.3 pH.....	34
III.3 Caractéristiques microscopiques.....	35
III.3.1 Concentration.....	35
III.3.2 Morphologie.....	35
III.3.3 Motilité.....	36
III.3.4 Vitalité	37
Chapitre IV Discussion	39

IV.1	Motilité.....	40
IV.1.1	Motilité massale	40
IV.1.2	Motilité individuelle.....	40
IV.2	Concentration.....	41
IV.3	Vitalité	42
IV.4	Morphologie	43
	Conclusion.....	46
	Références bibliographiques.....	49
	Annexes.....	56

Liste des figures

Figure 1: Appareil génital du lapin male (Garreau et <i>al.</i> , 2015).....	3
Figure 2: Organisation du testicule et de l'épididyme (Fortun-Lamothe et <i>al.</i> , 2015).....	4
Figure 3: Cycle spermato-génétique (Posière, 2002)	7
Figure 4: Organisation interne du spermatozoïde (Benzeghiba et Benyaya, 2020)	9
Figure 5: Anomalies de tête (Kuzminsky et <i>al.</i> , 1996)	11
Figure 6: Anomalies de la pièce intermédiaire (Kuzminsky et <i>al.</i> , 1996)	11
Figure 7: Anomalies de la queue (Kuzminsky et <i>al.</i> , 1996)	12
Figure 8: Bâtiment d'élevage et cages individuelles	17
Figure 9: Animaux utilisés et leur poids corporelle	18
Figure 10: Résumé des différentes étapes du protocole expérimental	19
Figure 11: Préparation du vagin artificiel.....	20
Figure 12: Collecte de la semence	20
Figure 13: Couleur et volume de la semence.....	21
Figure 14: Bandelette de papier pH (AraGen, Urine analysis strips).....	22
Figure 15: Thermos, Porte tube et bain marie	22
Figure 16: Etapes d'évaluation de la motilité massale	23
Figure 17: Dilueur utilisé (DP-SOW).....	24
Figure 18: Etapes d'évaluation de la motilité individuel	25
Figure 19: Filtre vert.....	25
Figure 20: Observation sur le système CASA et les quatre couleurs de la vitesse.....	26
Figure 21: Etapes d'évaluation de la concentration	28
Figure 22: Préparation des lames pour la vitalité	29
Figure 23: Observation des spermatozoïdes vivants et mort	30
Figure 24: Poids corporel (kg) des deux races de lapins locale et Synthétique	33
Figure 25: Volume moyen (ml) de la semence des deux races de lapins locale et synthétique	34
Figure 26: pH moyen des deux races de lapins (Locale et Synthétique)	34
Figure 27: Concentration ($\times 10^6$ spz/ml) moyenne des deux races de lapins (Locale et Synthétique)	35
Figure 28: Pourcentage des anomalies morphologiques des spermatozoïdes des deux races de lapins (Locale et Synthétique)	36
Figure 29: Motilité massale et motilité individuel en pourcentage des deux races de lapins (Locale et Synthétique) en fonction de la durée de conservation de la semence.....	37
Figure 30: Vitalité en pourcentage des deux races de lapins (Locale et Synthétique) en fonction de la durée de conservation de la semence.....	38

Liste des tableaux

Tableau 1: Echelle de Petitjean (1965) pour notation de motilité massale (Boussit, 1989) ...	24
Tableau 2: Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle (Boussit, 1989)	27
Tableau 3: Données bibliographiques de la motilité chez différentes races de lapins et d'autre espèces.....	41
Tableau 4: Données bibliographiques de la concentration chez différentes races de lapins .	42
Tableau 5: Données bibliographiques de la vitalité chez différentes races de lapins et une race de chat	43
Tableau 6: Données bibliographiques des spermatozoïdes anormaux chez différentes races de lapins et d'autre espèces.....	44
Tableau 7: Quelques données des anomalies des différentes parties des spermatozoïdes chez différentes races de lapins et autre espèce.	45

Liste des abréviations

CASA : Computer-Aided Sperm Analysis

L : Locale

MI : Motilité individuelle

MM : Motilité massale

n : Nombre

Pc : Poids corporel

pH : Potentiel en hydrogène

S : Synthétique

Spz : Spermatozoïde

Résumé

Nous avons mené une étude sur le sperme de deux races de lapins (la population locale et souche synthétique) afin d'identifier les caractéristiques du sperme (microscopique et macroscopique) en général et de comparer les caractéristiques spermatiques des deux races en utilisant le système CASA. Nous avons également conservé le sperme pour savoir si le stockage affecte la vitalité et la motilité des spermatozoïdes. Ce qui permet d'obtenir la bonne qualité du sperme utilisée pour la production cunicole en utilisant l'insémination artificielle.

Les résultats pour l'analyse macroscopique concernant l'évaluation du volume et pH moyen de la semence entre les deux races de lapins ne révèle aucune différence significative.

Pour les résultats d'analyse microscopiques : L'analyse statistique de la motilité massale à révéler un résultat hautement significatif pour les deux races (3h= 90,28±4,74 vs 72h= 16,68±3,21) pour la population locale et (3h= 77,78±6,46 vs 72h= 20,84±3,50) pour la souche synthétique, et un résultat significatif et très significatif pour l'analyse statistique de la motilité individuelle de la population locale (3h= 65,63±9,38 vs 72h= 34,38±5,99) et la souche synthétique (3h= 71,88±7,86 vs 72h= 6,25±3,61).

L'analyse statistique de pourcentage de la vitalité révèle des différences hautement significatives pour la population locale et très significatives pour la souche synthétique entre les périodes (3h vs 72h).

En conclusion la durée de conservation de la semence des lapins sans conservateur affecte la vitalité et la motilité.

Mots clés : Lapins, Souche synthétique, Population locale, semence, système CASA.

ملخص

قمنا بعمل دراسة حول النطاف الخاص بسلالتين من الأرناب (السلالة المحلية والسلالة التركيبية) وذلك من أجل التعرف على خصائص النطاف (الميكروسكوبية والماكروسكوبية) بصفة عامة والمقارنة بين خصائص نطاف السلالتين باستخدام نظام كازا. كما أننا قمنا بتخزين النطاف من أجل معرفة هل يؤثر التخزين على الحيوية والحركية الخاصة بالحيوانات المنوية. مما يساعد في الحصول على نطاف ذو جودة جيدة لإنتاج الأرناب بإستعمال التلقيح الإصطناعي.

نتائج التحليل الماكروسكوبي المتعلقة بتقييم متوسط الحجم وال pH الخاصين بالسائل المنوي بين السلالتين من الأرناب لا تكشف عن أي فرق معنوي.

بالنسبة لنتائج التحليل المجهرى: أظهر التحليل الإحصائي للحركة الكتلية نتيجة مهمة للغاية لكلا السلالتين (3 ساعات = $90,28 \pm 4,74$ مقابل 72 ساعة = $16,68 \pm 3,21$) للسلالة المحلية (3 ساعات = $77,78 \pm 6,46$ مقابل 72 ساعة = $20,84 \pm 3,50$) للسلالة التركيبية ، ونتائج مهمة ومهمة للغاية للتحليل الإحصائي للحركة الفردية لكل من السلالة المحلية (3 ساعات = $65,63 \pm 9,38$ مقابل 72 ساعة = $5,99 \pm 34,38$) والسلالة التركيبية (3 ساعات = $88,71 \pm 7,86$ مقابل 72 ساعة = $6,25 \pm 3,61$).

يكشف التحليل الإحصائي للنسبة المئوية للحياة عن فروق ذات دلالة إحصائية عالية جدا للسلالة المحلية وذات دلالة عالية للسلالة الاصطناعية بين الفترات (3 ساعات مقابل 72 ساعة).

في الختام، إن مدة تخزين السائل المنوي للأرناب بدون مواد حافظة يؤثر على الحيوية والحركة.

الكلمات المفتاحية: الأرناب، السلالة التركيبية، السلالة المحلية، السائل المنوي، نظام كازا.

Abstract

We conducted a study on the sperm of two breeds of rabbits (the local population and synthetic strain) to identify the characteristics of sperm (microscopic and macroscopic) in general and to compare the sperm characteristics between the two breeds using CASA system. We also stored the sperm to find out if storage affects sperm vitality and motility. which helps obtain a good quality of semen for rabbit production using artificial insemination.

The results for the macroscopic analysis concerning the evaluation of the average volume and pH of the semen between the two races do not reveal any significant difference.

For microscopic analysis results: Statistical analysis of mass motility revealed a highly significant result for both breeds (3h= 90,28±4,74 vs 72h= 16,68±3,21) for the population and (3h= 77,78±6,46 vs 72h= 20,84±3,50) for the synthetic strain, and a significant and very significant result for the statistical analysis of the individual motility of the local population (3h= 65,63±9,38 vs 72h= 34,38±5,99) and the synthetic strain (3h= 71,88±7,86 vs 72h= 6,25±3,61).

Statistical analysis of percentage vitality's reveals very highly significant differences for the local population and highly significant for the synthetic strain between the periods (3h vs 72h).

In conclusion, the duration of storage of rabbit semen without extenders affects vitality and motility.

Keywords: Rabbits, Synthetic strain, Local population, semen, CASA system.

Introduction

La cuniculture ou élevage des lapins domestiques, connaît un nouvel essor depuis quelques années en Algérie. Le Lapin présente un bon prototype pour la maîtrise en recherche scientifique des techniques d'élevage (cycle court, une prolificité élevée, facilement manipulable...) et contribue ainsi au développement des productions animales dans le but d'obtenir des viandes riches en protéine, pauvres en lipide et en cholestérol donc très bon marché.

Parmi les techniques pour l'amélioration de la productivité de l'élevage cunicole, le recours aux biotechnologies est primordial, et plus précisément, l'insémination artificielle. Son succès dépend grandement de la qualité de la semence, ce qui nécessite l'utilisation de techniques analytiques fiables afin de l'évaluer.

Dans le cadre de notre étude nous avons choisi d'analyser la qualité de la semence de deux populations, la souche locale et la souche synthétique. En revanche, les recherches spécifiques au lapin mâle local et souche synthétique demeurent encore minoritaires (Meskouri, 2017).

La caractérisation des capacités reproductives des lapins et l'étude des facteurs de variation influençant la production spermatique peuvent définir les conditions d'utilisation des mâles afin d'obtenir une quantité optimale du sperme. En conséquence, la variation de la qualité de la semence du lapin affecte sa fertilité et la production cunicole.

La population locale (blanche ou colorée), possède une faible sensibilité à la chaleur, lui permettant ainsi une bonne adaptation au milieu d'élevage en Algérie. L'inconvénient, est que c'est une souche légère et peu productive (Zerrouki et *al.* 2005 ; Zerrouki, 2006). La souche synthétique a été obtenue par croisement initial de femelles de la population locale avec une souche de l'INRA de Toulouse (INRA 2666) par insémination artificielle pour améliorer le potentiel génétique des lapins (Gacem et Bolet, 2005 ; Gacem *et al.*, 2009 ; Zerrouki *et al.*, 2014). Apparue en 2003 à L'ITELV cette souche est plus lourde et plus productive comparée à la population locale.

Notre présent travail, porte sur l'analyse de la qualité de la semence du lapin de la population locale et de la souche synthétique, par des techniques macroscopiques (couleur, volume, pH) et également microscopique tel que le système CASA (Computer-Aided Sperm Analysis), en fonction de la durée de conservation de la semence fraîche.

Notre présent travail comporte deux parties :

Une partie bibliographique dans laquelle nous avons développé dans un premier volet un rappel anato-physiologique de l'appareil reproducteur du lapin mâle et des

caractéristiques de la semence. Dans le deuxième volet, nous avons décrit les méthodes de récolte, de conservation et d'analyse de la semence par diverses méthodes analyses notamment par le système CASA.

La partie expérimentale se compose quant à elle des chapitres suivants : Matériel et méthodes utilisés dans notre expérimentation, suivie par les résultats obtenus puis de la discussion. Notre document s'achève par une conclusion.

Chapitre I

Données bibliographiques

I.1 Caractéristiques de la reproduction chez le lapin

I.1.1 Appareil génital mâle

Les organes reproducteurs ne sont pas indispensables pour la vie des individus, mais ils jouent un rôle essentiel dans la reproduction et la vie des espèces. Souvent, ce sont les seuls organes qui à faible toxicité, présentent des changements structurels et fonctionnels.

Le système reproducteur du lapin (**Fig. 1**) se compose des testicules qui pesaient plus de 6 grammes chez certaines races, de l'épididyme, des ampoules, du canal déférent, des glandes préputiales (Tout ce qui précède sont $n=2$), de l'urètre, du pénis, des glandes accessoires et d'un scrotum bien développé situé à côté du pénis et de l'ouverture urogénitale (Onuoha, 2020).

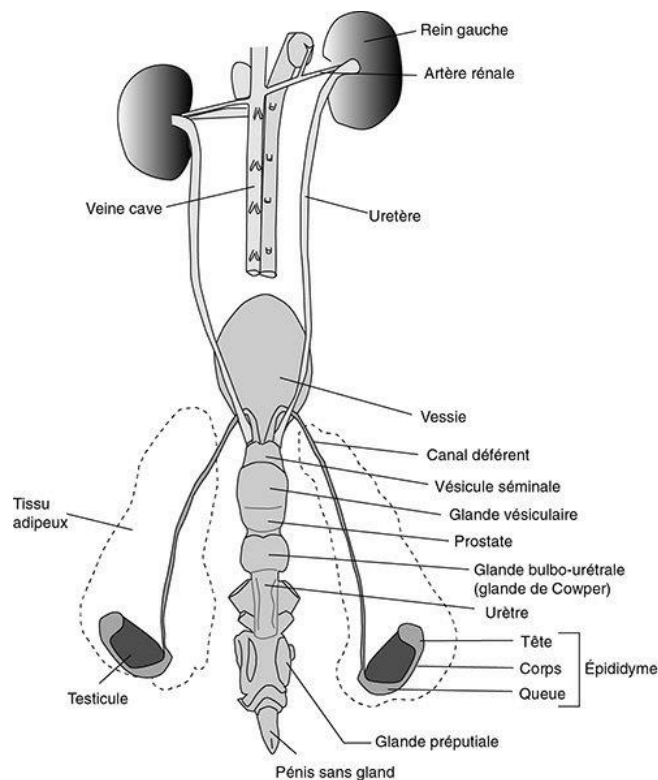


Figure 1: Appareil génital du lapin male (Garreau et *al.*, 2015)

I.1.1.1 Scrotum

Contrairement à celui de la plupart des autres mammifères placentaires mais similaire à celui des marsupiaux, les lapins n'ont pas de scrotum mais plutôt deux sacs scrotaux glabres (Vella et Donnelly, 2012). Ce sont des sacs formés de peau, de tissu fibromusculaire, de tissu conjonctif et de la tunique vaginale pariétale. Leur fonction

principale est de maintenir les testicules à une température légèrement inférieure à la température corporelle (Van Praag, 2015).

I.1.1.2 Testicules

Chez le mâle, les testicules de forme ovale (**Fig. 2**) à l'intérieur le scrotum reste en communication avec la cavité abdominale, où ils se trouvaient naissance. Le lapin est en fait capable de retirer ses testicules lorsqu'il est effrayé ou qu'il se bat avec d'autres mâles. Les testicules descendent vers l'âge de deux mois (Lebas et *al.*, 1997). La figure 1 montre la position relative des divers organes.

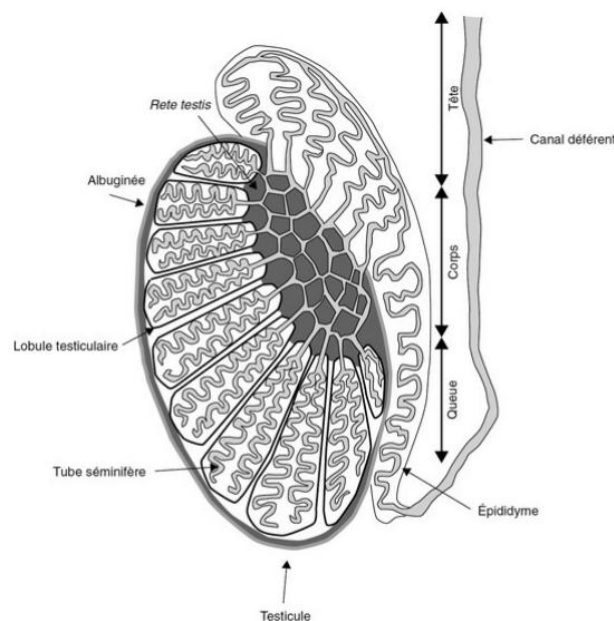


Figure 2: Organisation du testicule et de l'épididyme (Fortun-Lamothe et *al.*, 2015)

I.1.1.3 Epididyme

Chaque épididyme est constitué de trois parties : la tête, le corps et la queue (**Fig. 2**). La tête volumineuse coiffe le pôle antérieur du testicule. Le corps est également accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure. L'épididyme se termine par la queue, libre, légèrement renflée qui est le lieu de stockage des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

I.1.1.4 Canal déférent

Le canal déférent transporte le sperme du testicule vers la vésicule séminale (Van Praag, 2015). Le canal déférent s'étend dorsal-crânien au corps de l'épididyme par le canal inguinal et pénètre dans la cavité abdominale. La dernière partie du canal déférent forme une boucle autour de l'uretère et devient à ce stade fusiforme. Bien que

l'épaisseur du diamètre ne diffère pas du reste du canal déférent, ce segment est généralement appelé ampoule (Onuoha, 2020).

I.1.1.5 Urètre

L'urètre est un grand canal qui traverse l'organe du pénis vers l'extérieur du corps. C'est le point de connexion auquel les deux canaux déférents convergent des côtés gauche et droit du corps pour se connecter à son extrémité supérieure ; très près de l'endroit où la vessie s'ouvre dans l'urètre (Onuoha, 2020).

I.1.1.6 Glandes annexes

Elles ont pour rôle de sécréter les constituants du plasma séminal au moment de l'éjaculation (Garreau et *al.*, 2015).

Les glandes annexes sont nombreuses : La vésicule séminale est impaire et bilobée. Les différents canaux déférents fusionnent avec le canal éjaculateur. Ce dernier débouche dans l'urètre prostatique. Lorsque la pression augmente dans cette glande, l'éjaculation devient possible (Van Praag, 2015). La glande vésiculaire s'ouvre dans l'urètre par deux canaux excréteurs. La prostate, oblongue et volumineuse, est située sous la glande vésiculaire. Les glandes paraprostatiques recouvrent en partie les ampoules déférentielles et, parfois, la vésicule séminale. Enfin, la glande de Cowper, bilobée, est située postérieurement à la prostate (Garreau et *al.*, 2015).

I.1.1.7 Organe de copulation et voies externes d'excrétion

Le pénis appartient à la structure externe de l'organe reproducteur. Il est court et son diamètre diminue de la base à la pointe. Il est dirigé obliquement vers l'arrière. Lors de l'érection, le prépuce s'ouvre, ce qui permet au pénis de se porter en avant et s'extérioriser (Van Praag, 2015).

Les deux glandes préputiales, situées en arrière du pénis et sécrétant une substance très odorante. Elles jouent un rôle dans le déclenchement de l'ovulation de la femelle en stimulant le réflexe ovulatoire (Garreau et *al.*, 2015).

I.1.2 Physiologie de la reproduction

I.1.2.1 Développement des gonades et puberté

Les gonades commencent à se différencier le 16^{ème} jour après la fécondation. Après la naissance, les testicules se développent moins rapidement que le reste du corps. À partir de l'âge de cinq semaines, ils commencent à croître très rapidement. Les glandes

accessoires subissent un développement similaire, mais à un rythme plus régulier et sont moins précoces (Lebas et *al.*, 1997).

L'âge à la puberté varie avec la race et les conditions d'élevages, notamment l'alimentation (Fortun-Lamothe et *al.*, 2015). C'est environ 4 à 5 mois chez les races légères. À la puberté, les organes reproducteurs sont complètement développés. Les testicules sont logés dans le scrotum. Les cellules sexuelles mâles sont formées dans les minuscules tubules séminifères qui sont essentiellement des boucles à deux extrémités avec deux extrémités s'ouvrant dans le *rete testis*, chaque tubule est largement alambiqué et une proportion appréciable est ramifiée de sorte qu'ils ont trois ouvertures dans le *rete testis* (Onuoha, 2020). L'âge auquel les lapins atteignent la maturité sexuelle varie considérablement selon la race (Vella et Donnelly, 2012). La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de sperme cesse d'augmenter, est atteinte à 32 semaines pour les lapins néo-zélandais blancs dans des climats tempérés. Les premières manifestations du comportement sexuel apparaissent aux jours 60 à 70 lorsque le lapin fait ses premières tentatives de chevauchement. Le coït peut survenir pour la première fois vers 100 jours, mais la viabilité des spermatozoïdes est très faible voire nulle dans les premiers éjaculats. Alors le premier accouplement doit être programmé pour l'âge de 135 à 140 jours. Tous ces chiffres doivent être considérés comme approximatifs (Lebas et *al.*, 1997).

I.1.2.2 Spermatogenèse et Production des gamètes mâles

La spermatogenèse commence entre les jours 40 et 50. Les tubes testiculaires deviennent actifs à environ 84 jours. Les premiers spermatozoïdes sont présents dans l'éjaculat à environ 110 jours (Lebas et *al.*, 1997).

I.1.2.2.1 Cycle spermato-génétique

Le cycle spermato-génétique (**Fig. 3**) est un processus complexe qui conduit à la réduction chromatique (chez le lapin $2n = 44$ chromosomes) et implique la réorganisation des composants nucléaires et cytoplasmiques. Les spermatogonies (cellules germinales) sont transformées en spermatocytes I ($2n$ chromosomes), puis après méiose en spermatocytes II (n chromosomes). Chaque spermatocyte II donne deux spermatides. Au cours d'une métamorphose complexe, la spermiogénèse, chaque spermatide se transforme en spermatozoïde (Fortun-Lamothe et *al.*, 2015).

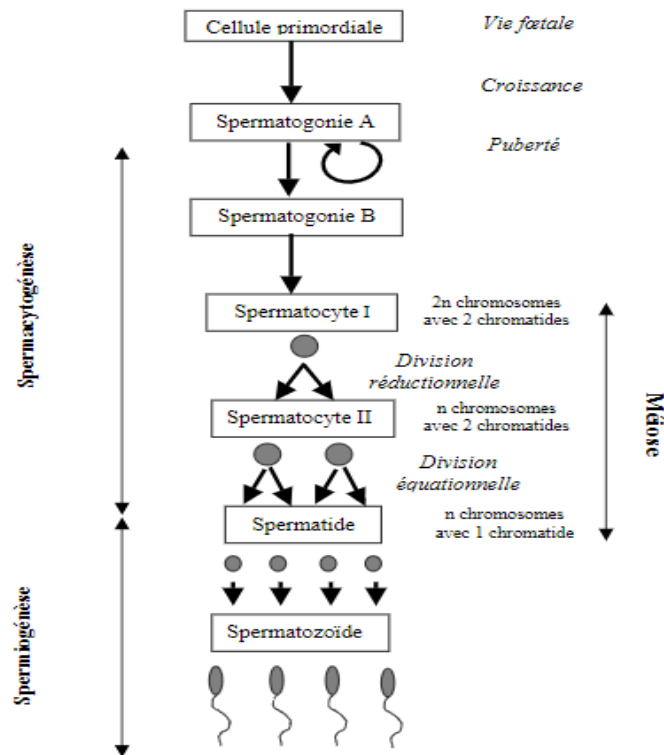


Figure 3: Cycle spermato-génétique (Posière, 2002)

I.1.2.2.2 Production des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes sont produits à partir de spermatogonies et sont gardés au sein des testicules du lapin jusqu'au moment où ils sont déversés dans l'épididyme avec le liquide spermatique (Van Praag, 2015). Les testicules continuent de croître et d'augmentent la production de spermatozoïdes jusqu'à l'âge de six mois (Morton, 1988). Le voyage des spermatozoïdes dans les tubules testiculaires afin d'atteindre le canal déférent peut prendre jusqu'à une semaine (Van Praag, 2015).

Le volume de sperme éjaculé est d'environ 0,3 à 0,6 ml. La concentration est évaluée d'environ 150 à 500 x 10⁶ spermatozoïdes par ml, mais le volume et la concentration sont susceptibles de varier (Lebas et al., 1997).

I.1.2.2.3 Maturation des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes prélevés directement au niveau des tubes séminifères sont pratiquement immobiles. Leur motilité ne se manifeste qu'à la fin du transit épидидymaire dans la queue de l'épididyme. Ainsi, prélevés au niveau des tubes séminifères et même au début de l'épididyme, les spermatozoïdes ne sont pas encore féconds. La queue de

l'épididyme contient aussi le stock des spermatozoïdes qui peuvent se trouver affectés par la fréquence de saillies (Fortun-Lamothe et *al.*, 2015).

I.1.3 Semence et caractéristique

I.1.3.1 Composition de semence

Le sperme est un mélange de spermatozoïdes produits par les testicules et de plasma séminal sécrété par les glandes accessoires et par l'épididyme, qui sont combinés au moment de l'éjaculation (Abd El-Azim et El-kamash, 2011). Le sperme de lapin se compose de deux parties principales : une partie liquide et une partie gélatineuse (Mukherjee, 1951).

I.1.3.1.1 Plasma séminal

La partie liquide du sperme est représentée comme le plasma séminal (Onuoha, 2020). Le plasma séminal fournit notamment des substrats énergétiques aux spermatozoïdes (Fortun-Lamothe et *al.*, 2015). Il contient des constituants tels que les glucides, les lipides, les protéines et les minéraux qui sont importants pour le métabolisme des spermatozoïdes. Leur présence affecte positivement la survie et les paramètres de la motilité des spermatozoïdes chez le lapin (Onuoha, 2020).

I.1.3.1.2 Gel

La masse gélatineuse ou le gel du sperme de lapin provient de la vésicule et il est androgène dépendant. Il contient une quantité importante de substances œstrogéniques, d'acide citrique et de petites quantités de fructose (Onuoha, 2020).

I.1.3.1.3 Spermatozoïdes

Le spermatozoïde (**Fig. 4**) se compose de :

- La tête, de forme ovoïde ($7 \times 4 \times 0,5 \mu\text{m}$) qui comprend notamment le noyau contenant les chromosomes et l'acrosome.
- La pièce intermédiaire, qui contient la gaine mitochondriale, l'essentiel des mitochondries de la cellule. Elle est le siège de la production énergétique nécessaire au mouvement.
- Le flagelle, qui mesure de 45 à 55 μm , est l'organe moteur responsable du déplacement.

- La gouttelette cytoplasmique est éliminée progressivement durant le transit épидидymaire ou au contact des sécrétions séminales (Fortun-Lamothe et *al.*, 2015).

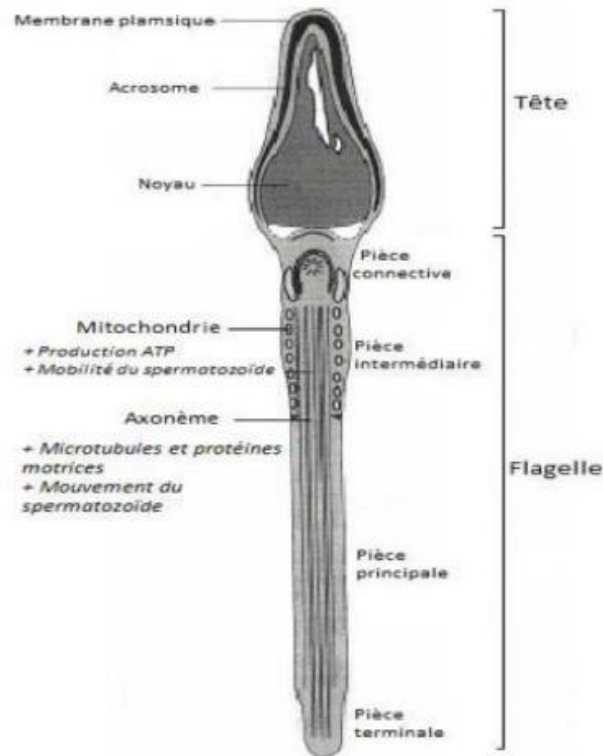


Figure 4: Organisation interne du spermatozoïde (Benzeghiba et Benyaya, 2020)

I.1.3.2 Facteurs influençant sur la production et la qualité du sperme

I.1.3.2.1 Fréquence de collecte

La fréquence de collecte n'influence probablement pas la production de spermatozoïdes dans le testicule ; mais un rythme élevé de récolte peut réduire la durée du transit épидидymaire, et de ce fait peut affecter le processus de maturation épидидymaire des spermatozoïdes. La fréquence de collecte influence grandement les caractéristiques de l'éjaculat (Bencheikh, 1995).

La fréquence de collecte affecte aussi la concentration de granules séminales : une collecte quotidienne, par rapport à une collecte hebdomadaire, a réduit la concentration de spermatozoïdes et de granules même si les granules ont montré une production plus stable et plus élevée (Castellini, 2008).

I.1.3.2.2 Lumière

La longueur de la lumière affecte l'axe hypothalamo-hypophysaire et par conséquent la libération hormonale et la production de spermatozoïdes (Castellini, 2008). Au contraire, l'intensité lumineuse n'y avait aucun effet sur la libido, la concentration et la motilité des spermatozoïdes (Besenfelder et al. 2004).

I.1.3.2.3 Age

La qualité du sperme diminue généralement chez les lapins mâles plus âgés. Récemment, certains auteurs ont montré que la structure de la chromatine spermatique du sperme de lapins âgés de 5 à 28 mois changeait de manière significative. Des changements dans la structure de la chromatine suggèrent une stabilité relativement élevée de la chromatine du sperme chez le lapin. Le plus faible pourcentage de spermatozoïdes présentant une chromatine endommagée (1,7-2,4 %) a été observé entre 6 et 16 mois.

Les spermatozoïdes des animaux âgés présentent des membranes moins stables et ils semblent plus vulnérables aux carences alimentaires en acides gras polyinsaturés (Castellini, 2008).

I.1.3.2.4 Alimentation

Les mâles nourris *ad libitum* ont montré une augmentation du volume de sperme et une meilleure libido. Cependant, leur concentration en spermatozoïdes (spermatozoïdes/ml) était comparable à celle des mâles nourris avec un régime restreint. À l'exception du pH, la qualité du sperme n'a pas été affectée par le régime alimentaire. Seul un léger effet sur le pH initial a été observé (Alvariño, 2000).

I.1.3.2.5 État de santé

Il soit bien connu que les maladies graves et l'inflammation réduisent la fertilité masculine (O'Bryan, 2000).

Une concentration élevée de leucocytes pendant la spermatogenèse ou après l'éjaculation causée par une inflammation (infection) peut réduire profondément l'intégrité de l'acrosome en augmentant la production de radicaux libres. La santé des lapins doit être régulièrement contrôlée principalement chez les animaux âgés (Castellini, 2008).

I.1.3.2.6 Température

Des températures élevées (supérieures à 27 °C) peuvent affecter la fertilité en raison de l'augmentation des valeurs du pH du sperme et des altérations morphologiques, ainsi qu'une diminution de la motilité et de la libido des spermatozoïdes (Alvariño, 2000).

I.1.3.3 Anomalie morphologie des spermatozoïdes

Dans une recherche de Kuzminsky et *al.* (1996), les anomalies morphologiques des spermatozoïdes de lapin ont été étudiées pour améliorer les critères de jugement de la qualité des éjaculats.

Les résultats des anomalies dans les figures (5, 6 et 7) sont les suivantes :

- **Anomalies de la tête** : acrosome contient plusieurs gonflements (**Fig. 5a**) double acrosome (**Fig. 5b**), acrosome déformé (**Fig. 5c**), acrosome rétracté avec des cordes gonflées (**Fig. 5d**), acrosome vésiculaire contenant des gouttelettes (**Fig. 5e**) et double tête (**Fig. 5f**).

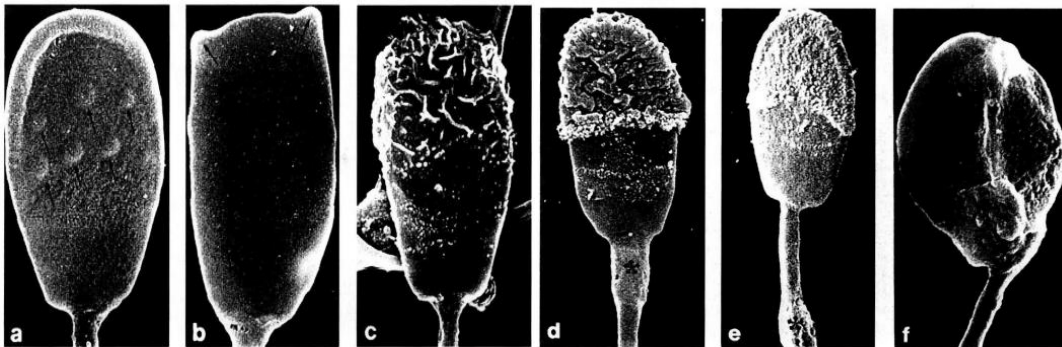


Figure 5: Anomalies de tête (Kuzminsky et *al.*, 1996)

- **Anomalies de la pièce intermédiaire** : PI déformé (**Fig. 6a**), PI réduit (**Fig. 6b**) PI déformé et gonfle (**Fig. 6c**). Les anomalies sont montrées dans la figure 5 dans l'ordre alphabétique.

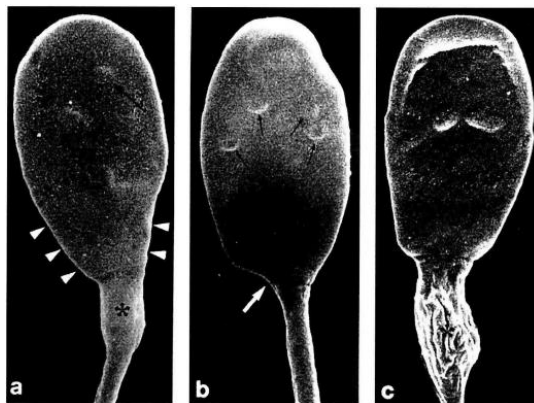


Figure 6: Anomalies de la pièce intermédiaire (Kuzminsky et *al.*, 1996)

- **Anomalies de la queue** : la queue contient des gouttelettes (**Fig. 7a, b**), l'extrémité de la queue ressemble à une spatule (**Fig. 7c**), la queue contient double corde (**Fig. 7d**), la queue particulièrement enroulée (**Fig. 7e**) et double queue (**Fig. 7f**).

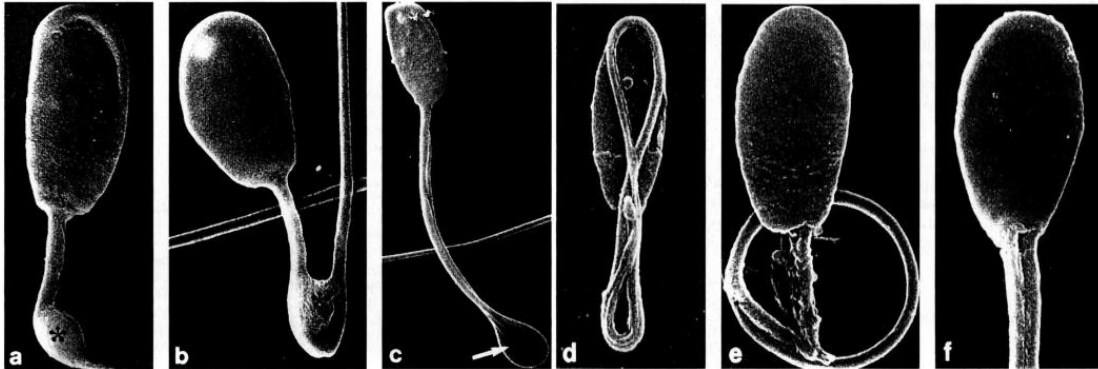


Figure 7: Anomalies de la queue (Kuzminsky et *al.*, 1996)

I.1.3.4 Causes d'infertilité

Selon Van Praag (2016), tant des facteurs influent sur la fertilité masculine, pourtant la stérilité est rare et la plupart des lapins mâles produisent une descendance nombreuse.

I.1.3.4.1 Alimentation

L'alimentation doit être riche en nutriments et en vitamines, Sans rendre le lapin obèse. En effet, l'hiver est une saison difficile avec peu de variété d'aliments frais. Il peut en résulter des carences nutritionnelles. Des carences en vitamines A, E, B12 et l'acide folique entraînent une stérilité. La vitamine B12 est produite par les bactéries contenues dans les caecotrophes. Certains lapins refusent de les ingérer. Cette vitamine accroît le nombre de spermatozoïdes alors que l'acide folique prévient des anomalies chromosomiques (Van Praag, 2016).

I.1.3.4.2 Cause virale (myxomatose)

La myxomatose est causée par un virus appartenant à la famille des Poxviridae. Il existe plusieurs souches dont certaines sont très virulentes alors que d'autres se manifestent par une forme chronique de la maladie. La forme chronique de la myxomatose présente la formation de tumeurs cutanées sur les oreilles, le nez et les membres. Ces tumeurs se résorbent par elles-mêmes après un certain temps. Les lapins guérissent de cette forme. Les mâles survivants sont souvent stériles (Van Praag, 2016).

I.1.3.4.3 Infections bactériennes et fongiques

Une réticence à l'accouplement en présence d'une femelle peut être le signe de douleur causé par une inflammation du testicule ou de l'épididyme, soit le corps situé sur la partie supérieure d'un testicule.

Les bactéries responsables sont *Pasteurella multocida* ou *Staphylococcus aureus*. La fièvre qui accompagne ces infections peut rendre le mâle temporairement ou définitivement stérile. En effet, la production du sperme est dépendante de la température. Si la température augmente trop dans le testicule, la qualité et la durée de vie des spermatozoïdes sera réduite (Van Praag, 2016).

I.2 Récolte et conservation de la semence

I.2.1 Préparation des mâles

Les mâles, pubères c'est-à-dire leur âge doit dépasser cinq mois, doivent être habitués à éjaculer dans le vagin artificiel. Le jour de la collecte, il est possible d'accomplir un chevauchement sans prélèvement quelques minutes avant le début de la collecte afin de faciliter les prélèvements du jour (Dahmani et Sari, 2020).

I.2.2 Récolte

Deux techniques permettent la récolte du sperme du lapin :

I.2.2.1 Collecte du sperme par vagin artificielle :

La collecte du sperme se fait à l'aide d'un vagin artificiel. C'est un réceptacle qui fournit à l'organe copulateur des stimuli thermiques et mécaniques et de l'élasticité nécessaire pour l'éjaculation (Alvarino, 1993). La récolte au vagin artificiel est la méthode la plus couramment utilisée.

Au moment de la récolte spermatique une femelle boute-en-train est introduit dans la cage du mâle, pendant quelques secondes afin de déclencher le processus d'accouplement dès que le mâle tente de chevaucher la femelle, l'opérateur attrape celle-ci par la peau des épaules en serrant les oreilles afin de l'immobiliser. La main libre tenant le vagin artificiel passe sous l'abdomen de la femelle et relève le train arrière (recherche de la position de lordose). Le vagin artificiel, tenu au creux de la main, se trouve juste sous la zone uro-génitale légèrement en retrait sous l'abdomen. Ces opérations doivent s'effectuer rapidement pour profiter de la libido exacerbée du mâle. Le comportement du mâle est strictement identique à celui qu'on observe lors de la saillie

naturelle. L'opérateur peut néanmoins orienter le vagin artificiel afin de faciliter l'intromission du pénis (Boussit, 1989 ; Arencibia et Rosario, 2009).

I.2.2.2 Collecte du sperme par électro-éjaculat L'électro-éjaculation

Permet d'obtenir l'éjaculation par stimulation électrique des nerfs sympathiques éjaculatoires. Le pénis est dévaginé par une pression manuelle et un tube en plastique est placé à son extrémité pour récolter la semence. Mais cette technique reste moins réussie par rapport au prélèvement par vagin artificiel (Dooley, 1986).

I.2.3 Conservation

I.2.3.1 Conservation à court terme

Pour le stockage à court terme (jusqu'à 24 h), il est préférable de conserver la semence par refroidissement à 0–5°C (Kubovicova et *al.*, 2021).

I.2.3.2 Conservation à long terme

Pour le stockage à long terme il est nécessaire de cryoconserver des doses de sperme par surgélation à très basse température. La technique la plus efficace et la plus fiable pour la cryoconservation du sperme est la vitrification car la qualité du sperme après vitrification est comparable à celle des spermatozoïdes standard congelés lentement et décongelés. (Kubovicova et *al.*, 2021).

I.2.4 Utilisation des dilueurs

Les spermatozoïdes conservés par réfrigération ou par congélation doivent être dilués dans des bons dilueurs (England, 1993), parce que ces derniers jouent un rôle important : protègent les spermatozoïdes de l'effet négatif de la baisse des températures et permet l'obtention d'une concentration finale, précédemment établie, de spermatozoïdes (Peña et *al.*, 2000 ; Stănescu et Alin, 2010).

I.2.4.1 Caractéristiques du milieu de dilution

Un milieu permettant la survie des spermatozoïdes est répondant à un certain nombre de critères (Decuadro- Hansen, 2004) :

- Avoir un pH entre 6,7 et 7,3 chez les mammifères domestiques ;
- Contenir des éléments nutritifs pour éviter l'épuisement des spermatozoïdes (glucose, fructose, glutamine, etc.);
- Avoir des solutions tampons (Tes, Pipes, Hepes, Tris, etc.) et des ions minéraux permettant de maintenir le pH;

- Contenir des lipoprotéines animales ou végétales qui ont un rôle protecteur des membranes durant le processus de congélation- décongélation;
- Avoir des antibiotiques destinés à contrôler la flore microbienne banale et les pathogènes opportunistes

I.2.4.2 Composition des dilueurs

Parmi les constituants des dilueurs les plus utilisés il y a :

- **Jaune d'œuf**

Le jaune d'œuf contient des phospholipides et des lipoprotéines (LDL) qui assurent une protection efficace de la membrane des spermatozoïdes et qui constituent un soutien nutritionnel pour elle (Manjunath et *al.*, 2002), mais l'utilisation de jaune d'œuf présente de nombreux inconvénients qui sont attribués principalement à l'hygiène et au risque de contamination bactérienne (Aires et *al.*, 2003 ; Masoudi et *al.*, 2016), le remplacement du jaune d'œuf par la lécithine de soja peut réduire les risques hygiéniques dans les diluants (Nishijima et *al.*, 2015).

- **Antibiotiques**

Ils ont un effet néfaste sur les spermatozoïdes, ils freinent la propagation de bactéries car la plupart des éjaculats sont contaminés par des bactéries (Althouse, 2000).

- **Diméthyle-sulfoxyde (DMSO)**

Empêche la formation de cristaux intracellulaires et extracellulaires dans les cellules pendant le processus de congélation (Hall et *al.*, 2017).

- **Ethylène-glycol (EG)**

L'éthylène glycol améliore la qualité des spermatozoïdes (la viabilité, l'intégrité de l'acrosome, et de la membrane et une faible anomalie à l'expression de la mobilité) (Swelum et *al.*, 2011).

- **Glycérol**

Le Glycérol possède une action à la fois intra et extracellulaire, Il pénètre à l'intérieur des spermatozoïdes et modifie la configuration des cristaux de glace qui s'y forment en les rendant plus arrondis, ce qui diminue le risque de perforation des membranes (Stănescu et Alin, 2012).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1 Objectif

L'objectif de notre travail est d'établir une étude comparative des caractéristiques de la semence du lapin de population locale et de la souche synthétique. En fonction de la durée de conservation de la semence fraîche à l'aide d'un système d'analyse du sperme assisté par ordinateur (système CASA).

II.2 Lieu et durée de l'expérimentation

L'expérimentation a été faite au niveau de l'université de Blida 1, plus précisément au sein du clapier de la station expérimentale et dans le laboratoire de recherche de biotechnologie liée à la reproduction animale de l'institut des sciences vétérinaires. Notre expérimentation s'est étalée de la fin du mois de mai jusqu'au mois de juin 2022.

II.3 Bâtiment d'élevage et habitat des animaux

Le clapier est un bâtiment en dur d'une superficie de 184 m² avec une charpente de type métallique, le bâtiment est ouvert sur la lumière du jour par plusieurs fenêtres chaque mur comporte deux fenêtres de type vasistas (**Fig. 8A**). Ce bâtiment comporte deux salles de maternité et une grande salle d'engraissement des animaux.

Les animaux sont placés dans des cages de 70 cm de longueur sur 40 cm de largeur et 30 cm de hauteur, chaque cage équipée par une mangeoire et un système d'abreuvement à tétine (**Fig. 8B**).

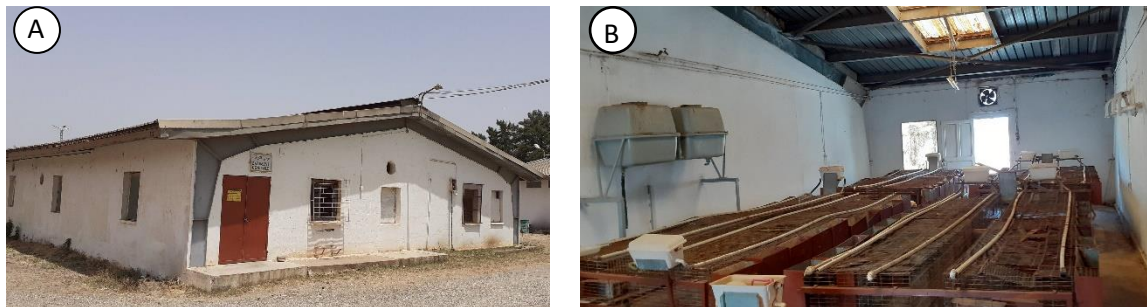


Figure 8: Bâtiment d'élevage et cages individuelles

II.4 Matériel

II.4.1 Matériel biologique

Les lapins utilisés dans cette expérimentation sont issus de deux populations différentes (**Fig. 9**) :

- **Souche synthétique**

Les lapins de souche synthétique (n=5), utilisés sont âgés en moyenne de 24 mois et ayant un poids moyen d'environ $3,56 \pm 0,16$ kg.

- **Population locale**

Les lapins de la population locale (n=5), utilisés sont âgés en moyenne de 24 mois et ayant un poids moyen d'environ $3,75 \pm 0,15$ kg.

Un animal de souche synthétique (S3) et un de la population locale (L2), ont répondu négativement aux sollicitations et n'ont pas éjaculé. Donc nous n'avons pas pu récolter la semence des deux, ces derniers ne sont pas pris en considération dans l'effectif.

- Au cours de l'expérimentation, deux lapines « **boute-en-train** » sont utilisées pour la récolte de la semence (population locale : n = 1 et souche synthétique : n = 1).

- Les lapins sont placés dans des cages métalliques, ils sont abreuvés et nourris *ad libitum* avec un aliment standard et équilibré à base d'aliment granulé spécial lapin.



Figure 9: Animaux utilisés et leur poids corporelle

II.4.2 Matériel non biologique

Le matériel de collecte et de laboratoire utilisés lors du présent travail sont présentés dans l'Annexe.

II.5 Méthodes

II.5.1 Protocole expérimental

Les étapes du protocole expérimental utilisé dans notre travail sont présentées dans la figure 10.

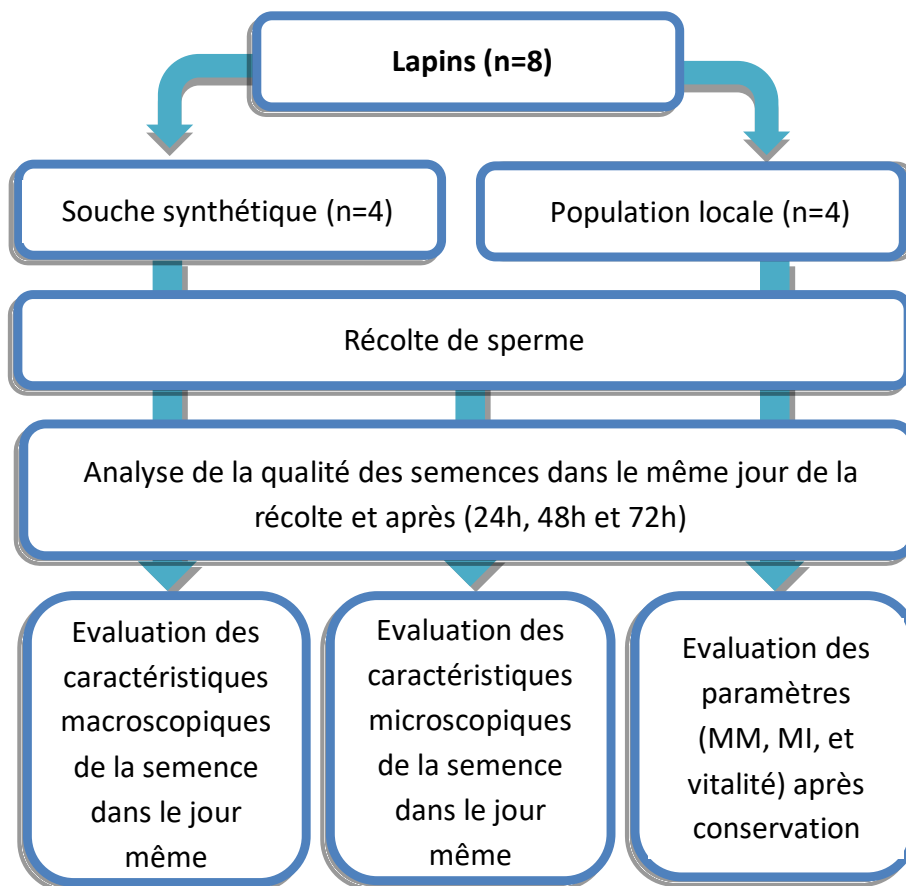


Figure 10: Résumé des différentes étapes du protocole expérimental

II.5.2 Récolte de la semence

II.5.2.1 Préparation du matériel

La récolte de la semence nécessite un vagin artificiel en silicone de structure élastique qui doit être préchauffé dans un bain marie stabilisé à une température entre 55 et 60°C pour avoir à l'intérieur du vagin une température égale à 37°C (**Fig. 11A**). Une

fois le vagin chauffé il doit être bien séché. A l'extrémité du vagin artificiel un tube gradué est placé afin de recueillir la semence (**Fig. 11B**).

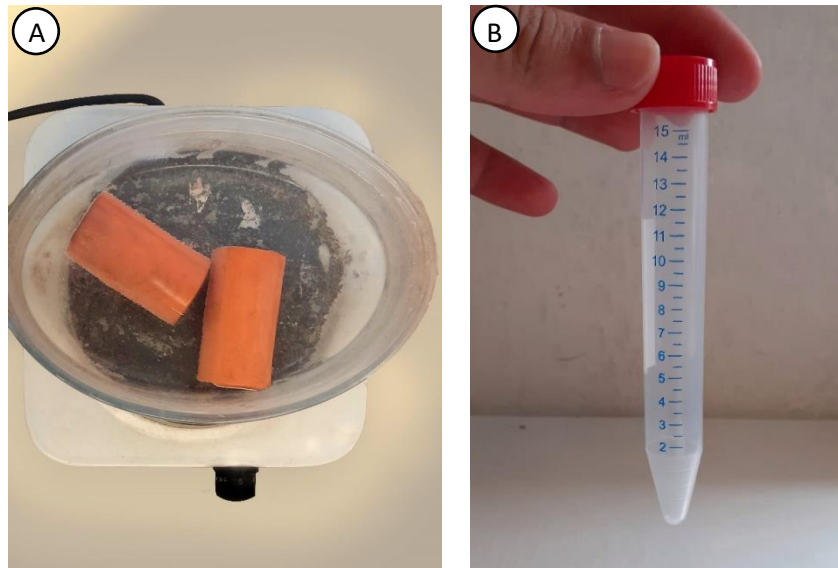


Figure 11: Préparation du vagin artificiel

II.5.2.2 Technique de la récolte

Pendant que le vagin artificiel est chauffé on place la femelle sur la cage du lapin male pour le stimuler (**Fig. 12A**), une fois que le vagin artificiel est prêt à l'usage la femelle est introduite dans la cage du mâle, le préleveur immobilise rapidement le corps de celle-ci avec la main gauche placée sur le dos, et la main droite tenant le vagin artificiel passe sous l'abdomen de la femelle, et oriente le vagin artificiel vers le pénis afin de faciliter l'intromission de ce dernier. Après éjacula le lapin tombe et la semence est récolté dans le tube gradué (**Fig. 12B**).



Figure 12: Collecte de la semence

II.5.2.3 Analyse du sperme

II.5.2.3.1 Examen macroscopique

Pour chaque lapin, l'examen macroscopique est effectué au niveau du clapier, immédiatement après la collecte du sperme. Cet examen consiste à étudier la couleur, le volume et le pH.

- **Couleur**

La couleur est déterminée par l'observation de semence dans le tube. La couleur spermatique varie entre quatre variantes de blanc (Blanc clair, laiteux, crème, ivoire) (**Fig.13**).

- **Volume**

Le volume est mesuré sur le tube gradué utilisé pour la récolte (**Fig. 13**).



Figure 13: Couleur et volume de la semence

- **pH**

La mesure de pH est réalisée à l'aide de bandelettes de papier pH (Urine Analysis strips) (**Fig. 14A**). Une goutte de la semence est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur et déposée sur une bandelette de pH (**Fig. 14B**). La couleur obtenue sur la bandelette est donc comparée avec la couleur trouvée sur la boîte pour avoir le pH correspondant (**Fig. 14C**).

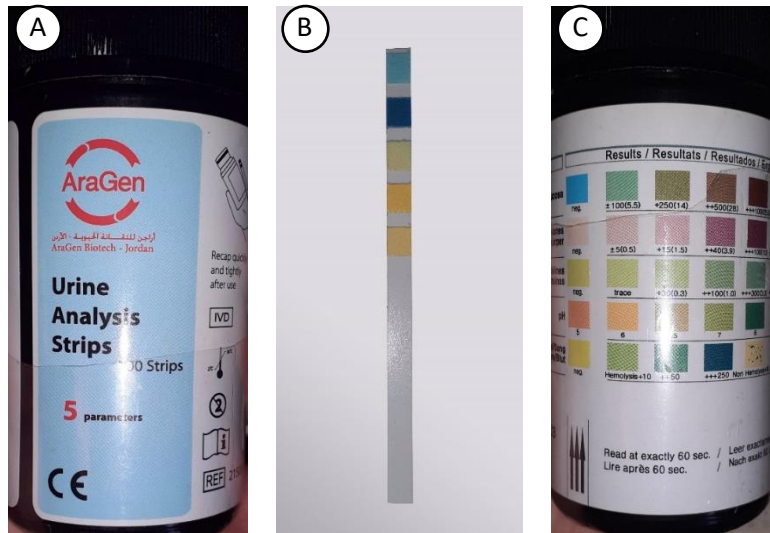


Figure 14: Bandelette de papier pH (AraGen, Urine analysis strips)

Après l'examen macroscopique le tube est déposé dans un thermos rempli d'eau maintenue à une température de 37°C (**Fig. 15A**) pour conserver la température de la semence et la protéger de la lumière jusqu'à ce qu'on le livre au labo, où le mettre au bain-marie maintenu aussi à 37°C (**Fig. 15B et C**). Ceci, et le tube est dans la poignée pour le protéger de la lumière du soleil et des basses températures pendant la période entre sa collecte et sa mise en dépôt dans le thermos (Sauf pour la période de l'examen).

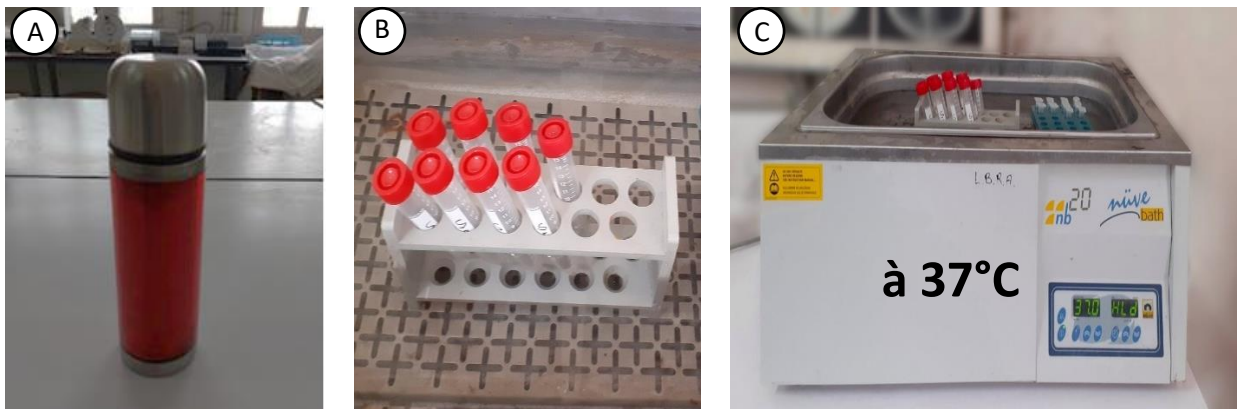


Figure 15: Thermos, Porte tube et bain marie

II.5.2.3.2 Examen microscopique

II.5.2.3.2.1 Motilité

- **Motilité massale :** c'est l'étude de l'ensemble des mouvements des spermatozoïdes de la semence. Le mouvement global des spermatozoïdes est apprécié en fonction de l'intensité des vagues observée.

Le déroulement de cette étude commence tout d'abord par le dépôt de la lame sur la plaque chauffante du système pour éviter un éventuel choc thermique de la semence avec la lame (**Fig. 16A**). Au même temps, le tube contenant la semence doit être mélangé de façon circulaire (**Fig. 16B**) avant de prélever une goutte de celle-ci avec une micropipette réglée sur 10 microlitres (**Fig. 16C**) puis elle est déposée sur la lame chauffée (**Fig. 16D**). L'observation se fait à un grossissement x10. L'écran du système CASA nous permet de voir l'intensité des vagues (**Fig. 16E**).

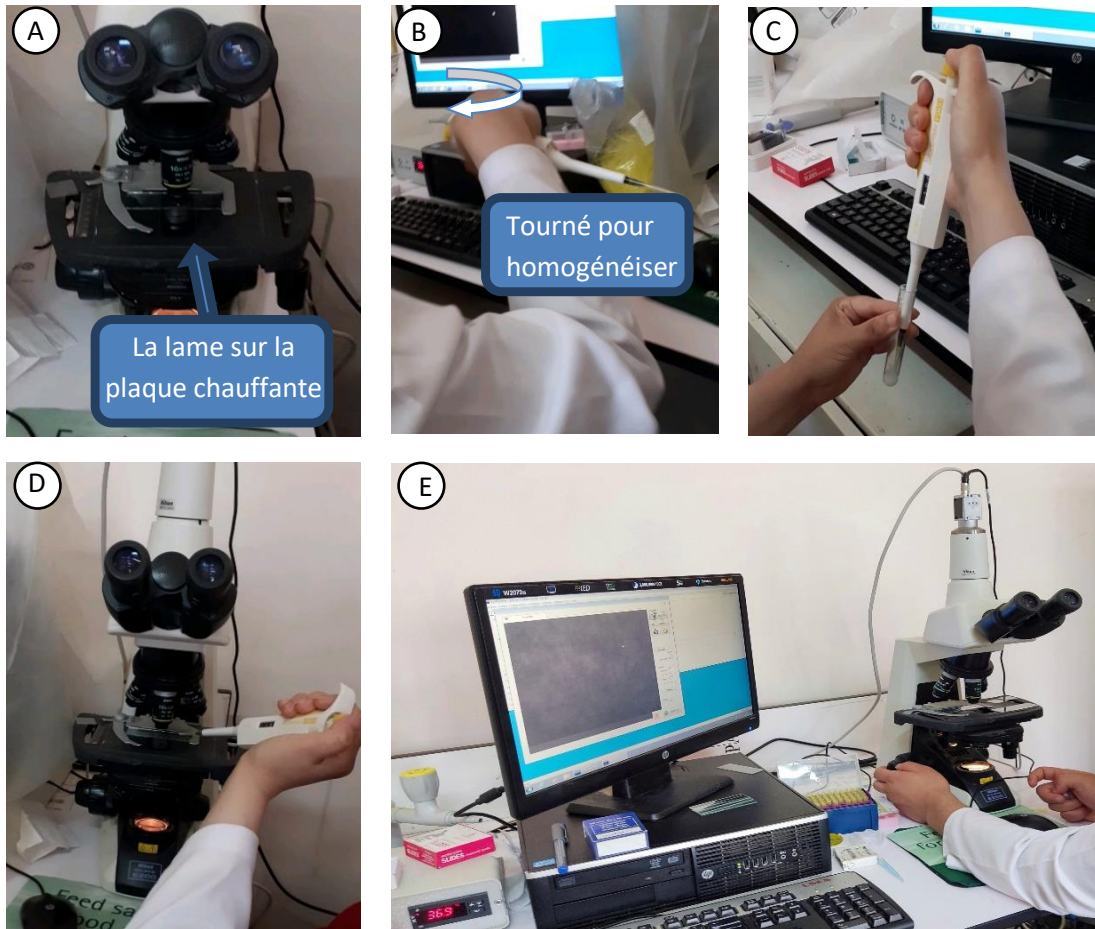


Figure 16: Etapes d'évaluation de la motilité massale

Cette observation permet l'attribution d'un score de la motilité massale (de 0 à 9) (**Tab. 1**), qui est basé sur la grille de Petit jean (1965) cité par Boussit (1989).

Tableau 1: Echelle de Petitjean (1965) pour notation de motilité massale (Boussit, 1989)

Note	Nature et intensité du mouvement
0	Pas de spermatozoïdes.
1	Spermatozoïdes immobiles.
2	Quelques spermatozoïdes agités, oscillants sur place.
3	Beaucoup de spermatozoïdes agités sans déplacement notable.
4	Quelques spermatozoïdes immobiles, quelques spermatozoïdes agités sur place, quelques spermatozoïdes mobiles.
5	Même chose que 4 mais plus de spermatozoïdes mobiles. Motilité assez bonne mais pas homogène.
6	La quasi-totalité des spermatozoïdes se déplace. Motilité bonne et homogène.
7	Même chose que 6 avec amorce de mouvements de vagues lents.
8	Même chose que 7 avec mouvements de vague distinct lents.
9	Vagues énergiques. Aspects de tourbillons.

- **Motilité individuelle :** c'est l'étude du mouvement de chaque spermatozoïde par le système CASA cette étude nécessite un dilueur (**Fig. 17**), et pour cela nous avons utilisé un dilueur destiné aux verrats, mais il a prouvé son efficacité chez les lapins et ceci pour ceux qui l'ont utilisé parmi les inséminateurs. Nous l'avons utilisé pour faciliter le processus d'observation et non pas pour la conservation.



Figure 17: Dilueur utilisé (DP-SOW)

Le déroulement de cette étude commence par le prélèvement de 10 microlitres de la semence pure, pour la diluer dans 299 microlitres du dilueur dans un tube Eppendorf (**Fig. 18A**) préchauffé au bain marie (**Fig. 18B**), afin d'obtenir une dilution de (1/30) et homogénéiser à l'aide de la micropipette (**Fig. 18C**), puis prélever avec la micropipette

10 μ l de la semence diluée et la déposer sur la lame préchauffée (**Fig.18D**) et la recouvrir avec la lamelle.

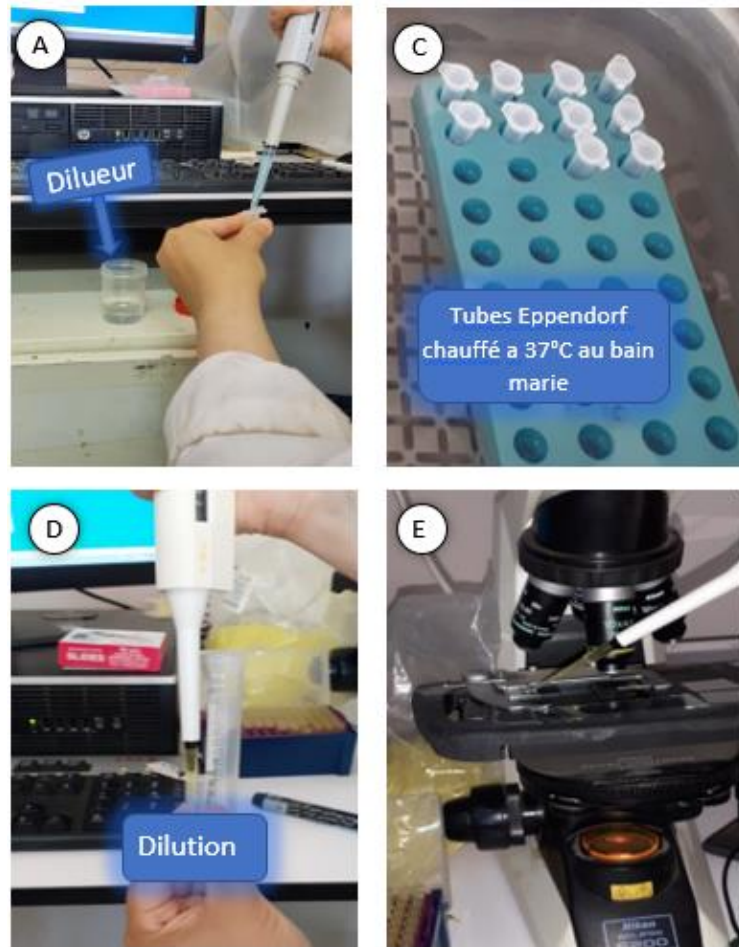


Figure 18: Etapes d'évaluation de la motilité individuel

L'observation sur le système CASA se fait à un grossissement x10 et en utilisant un filtre vert (**Fig. 19**).



Figure 19: Filtre vert

Ce qui nous permet de voir les mouvements de chaque spermatozoïdes (immobiles, circulaires...) sur l'écran du système CASA et d'apprécier leurs vitesse (**Fig. 20**), apparentes selon quatre couleurs :

- Jaune : spermatozoïde statique
- Bleu : spermatozoïde a vitesse lente
- Vert : spermatozoïde a vitesse moyenne
- Rouge : spermatozoïde a vitesse rapide

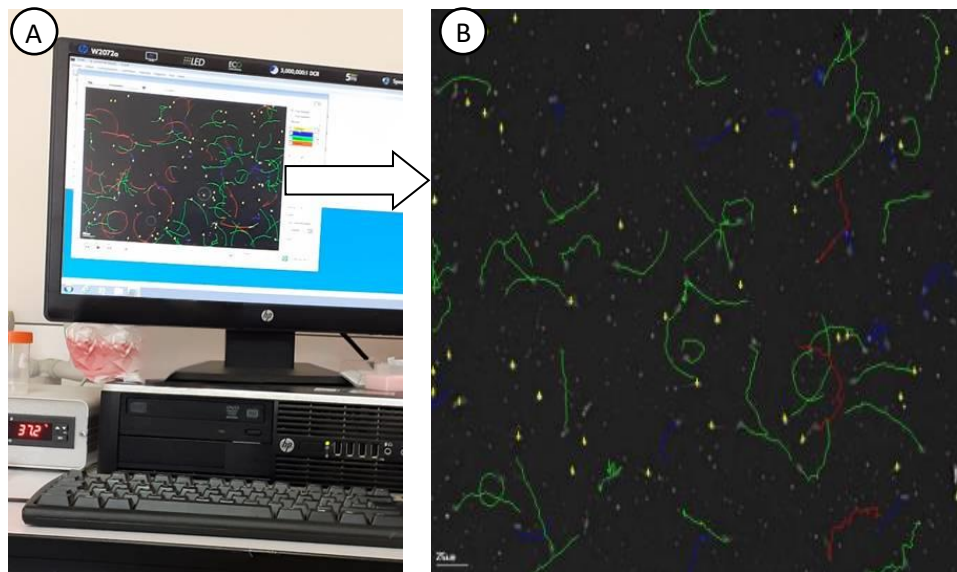


Figure 20: Observation sur le système CASA et les quatre couleurs de la vitesse

Cette observation permet d'élaborer un score (**Tab. 2**) pour la motilité individuelle (de 0 à 4) par l'échelle d'Andrieu (1974) cité par Boussit (1989).

Tableau 2: Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle (Boussit, 1989)

Note	Motilité individuelle
0	Spermatozoïdes immobiles.
1	Les spermatozoïdes ont des mouvements de flagelle sans déplacement.
2	Les spermatozoïdes se déplacent lentement. Les mouvements circulaires dominants.
3	Les spermatozoïdes ont des mouvements heurtés. Leur déplacement s'effectue le long d'une hélice de diamètre sensiblement égal à leur longueur ou de cercle de larges diamètres.
4	Les spermatozoïdes se déplacent rapidement le long d'une hélice de faible diamètre.

II.5.2.3.2.2 Concentration

Cette mesure consiste à déterminer le nombre de spermatozoïdes par millilitre de semence pure en utilisant un hématimètre de type cellule de Thoma (**Fig. 21A**), cette dernière ayant deux grilles. Chaque grille est divisée en 16 grands carrés, eux-mêmes divisés en 16 petits carrés. Nous prenons 10 microlitres de sperme à l'aide d'une micropipette auquel nous ajoutons 1990 microlitres de formol dilué à 10%, afin de diluer et de fixer le sperme. La semence diluée est homogénéisée par la suite à l'aide d'un agitateur (Vortex) avant de manipuler (**Fig. 21C**).

La préparation de la cellule de Thoma consiste à la déposer sur une surface bien horizontale puis la lamelle est collée sur la cellule en humectant les deux bords, faire glisser la lamelle sur la largeur de la cellule et vérifier la bonne adhésion (cellule-lamelle) (**Fig. 21B**).

Prendre une goutte de la semence diluée à l'aide d'une micropipette (**Fig. 21D**) et la mettre en bordure de lamelle pour la première et deuxième grille (**Fig. 21E**). La gouttelette par capillarité sera diffusée entre lame et lamelle.

La précipitation des spermatozoïdes sur le fond de la lame est obligatoire pour que le dénombrement soit juste, la lame doit reposer pendant 10 minutes.

Placer la lame sur le microscope et ajustez la mise au point appropriée et claire (**Fig. 21F**). L'observation se fait au microscope à contraste de phase (grossissement x 40).

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.

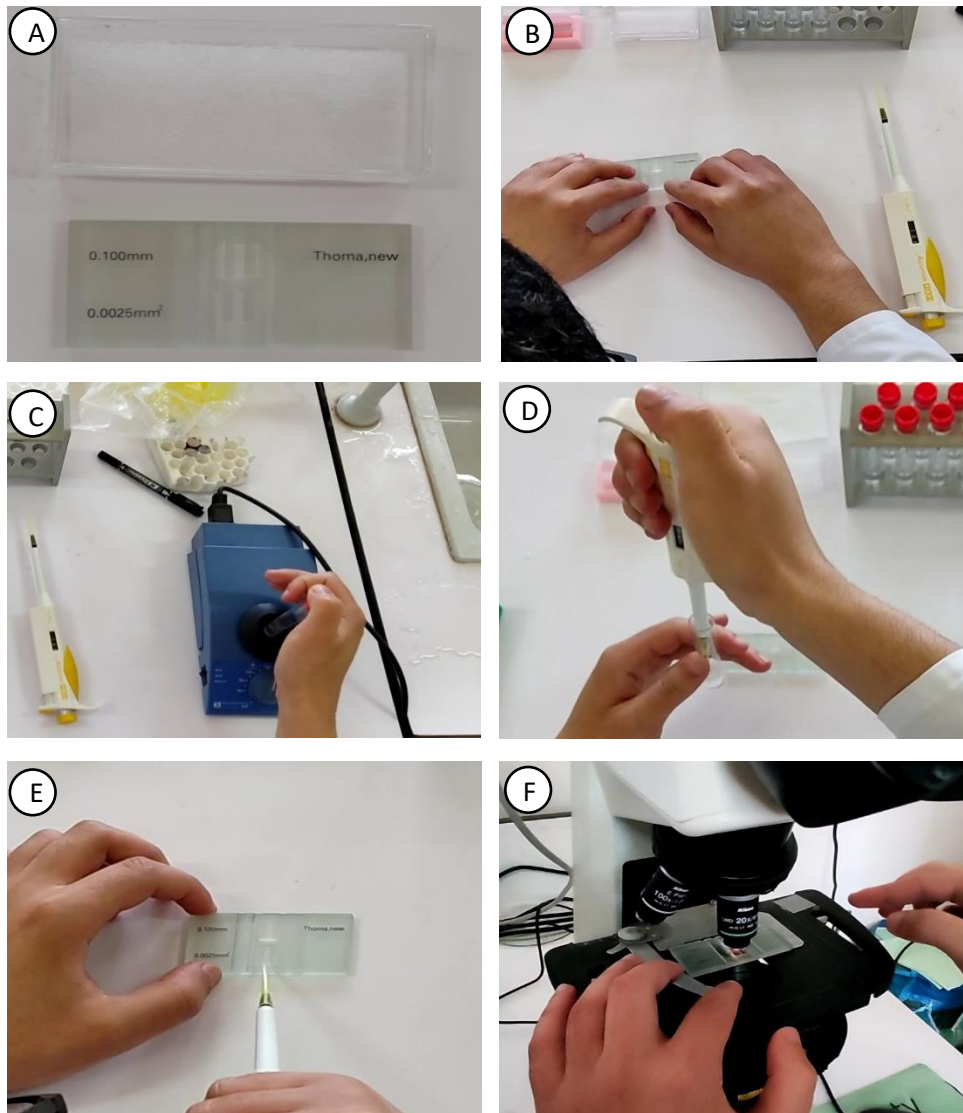


Figure 21: Etapes d'évaluation de la concentration

Le calcul se fait selon **Jacky (2007)**, comme suit, les deux colonnes centrales d'une grille contiennent 8 x 16 soit 128 petits carrés, sachant que le volume d'un petit carré est de $1/4000 \text{ mm}^3$, le volume de 8 grands carrés est de $0,032 \text{ mm}^3$. La concentration en spermatozoïdes par ml de diluant, sera si on compte les deux grille (haut et bas) :

$$Cn = \frac{x \times D \times 1000}{\text{volume compté} \times 2}$$

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

D = dilution du sperme.

II.5.2.3.2.3 Vitalité

L'étude de la viabilité c'est d'établir un pourcentage pour les spermatozoïdes vivants et morts, par observation du système CASA au grossissement x20.

Avant l'observation un frottis doit être établi, à l'aide d'une micropipette prélever 10 microlitres de la semence fraîche et la déposer sur une lame et rajouter 10 microlitres d'éosine (**Fig. 22A**) puis 10 microlitres de nigrosine (**Fig. 22B**), étaler le tout avec une lame sous un angle de 45° sur toute la largeur et laisser sécher (**Fig. 22C et D**).

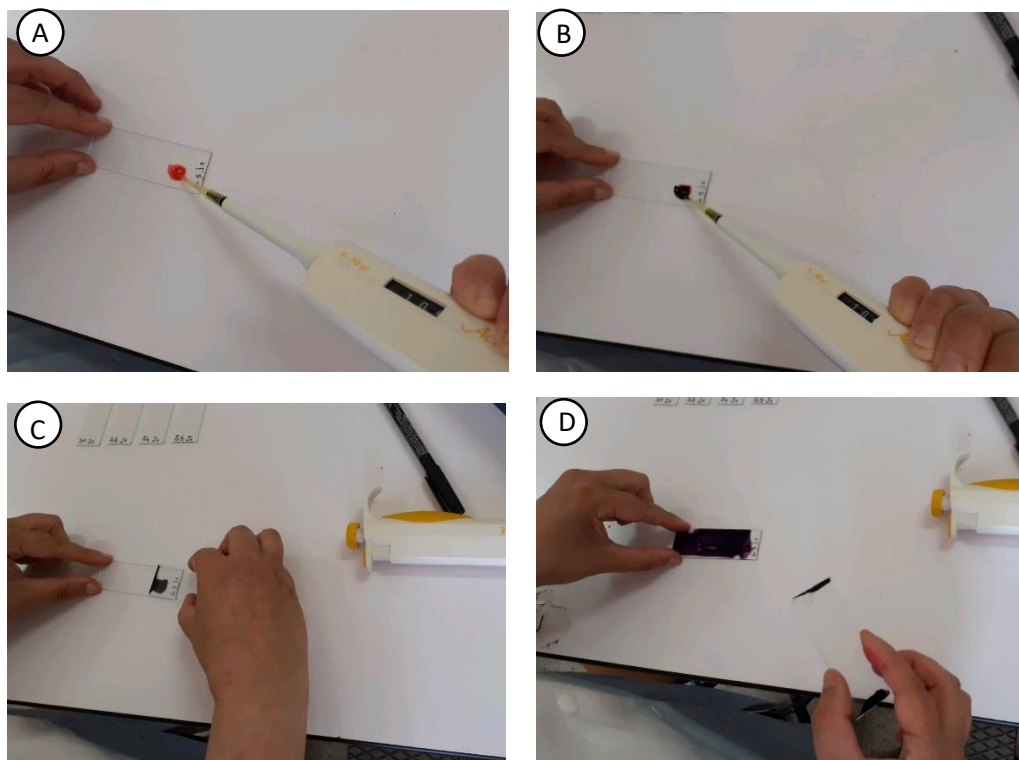


Figure 22: Préparation des lames pour la vitalité

Dès que la lame est bien séchée, l'étape à suivre c'est l'observation à l'aide du système CASA, pour ce paramètre 200 spermatozoïdes sont généralement comptés (**Fig. 23A**). Les spermatozoïdes ayant une tête blanche sont considérés comme vivants et ceux avec une tête rouge sont considérés comme morts (**Fig. 23B**).

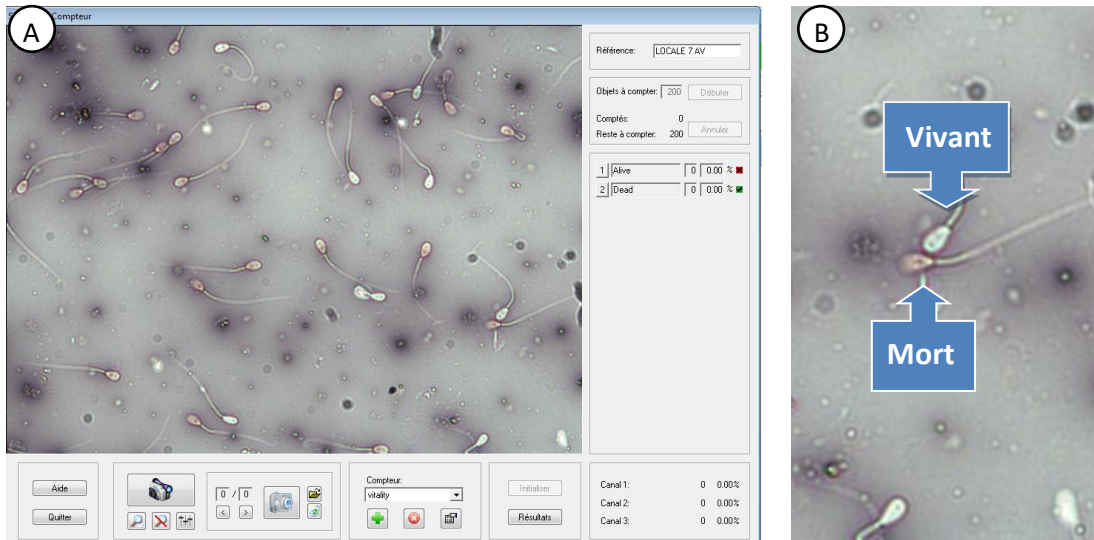


Figure 23: Observation des spermatozoïdes vivants et mort

II.5.2.3.2.4 Morphologie

La morphologie est une étude d'ultra structure. L'observation de ce paramètre se fait sur la même lame utilisée pour l'étude de la viabilité avec le système CASA au grossissement x 20. Plusieurs types d'anomalies peuvent être distingués, liés soit à la tête, la pièce intermédiaire, gouttelette cytoplasmique ou bien à la queue ou flagelle du spermatozoïde. Ce calcul se fait sur 200 spermatozoïdes.

II.6 Analyse statistique des résultats

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

- **Moyenne arithmétique :**
$$X = \frac{\sum x_i}{n}$$

- **Erreur standard à la moyenne :**
$$ESM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad \text{avec} \quad \sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Où : x_i : valeurs individuelles

n : nombre de valeurs

σ : écart-type

La validité statistique des différences entre les moyennes de deux séries expérimentales, est calculée par le **test « t » de Fisher-Student**

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{Avec} \quad S^2 = \sqrt{\frac{\sum(x_1 - \bar{x}_1)^2 + \sum(x_2 - \bar{x}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Où : \bar{X}_1 et \bar{X}_2 : valeurs moyennes arithmétiques de chaque série

x_1 : valeurs individuelles de la première série

x_2 : valeurs individuelles de la deuxième série

n_1 et n_2 : nombre de valeurs de chaque série

La probabilité « p » est déterminée sur la table de distribution des « t » en fonction du degré de liberté ($n_1 + n_2 - 2$) ; si :

- $p > 0,05$: résultat non significatif
- $p < 0,05$: résultat significatif (*)
- $p < 0,01$: résultat très significatif (**)
- $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***)

Chapitre III

Résultats

Dans ce chapitre les résultats obtenus sont représentés par des graphes pour chaque paramètre

III.1 Poids corporels

Le poids corporels moyen de la population locale et de la souche synthétique est illustré dans la figure 24.

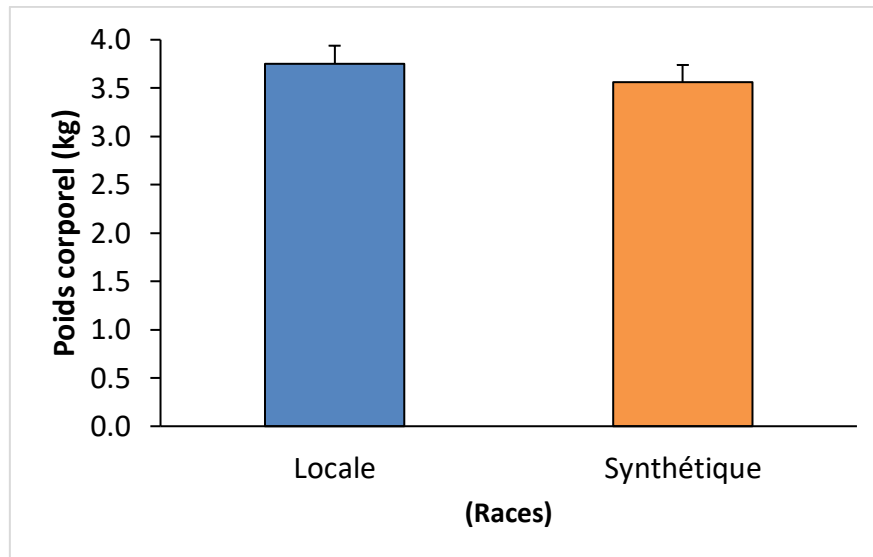


Figure 24: Poids corporel (kg) des deux races de lapins locale et Synthétique

Le poids corporel moyen de la population locale et de la souche synthétique est de $3,75\pm 0,15$ kg et de $3,56\pm 0,16$ kg, respectivement. La différence du poids corporel entre les deux races est statistiquement non significative ($p > 0,05$).

III.2 Caractéristiques macroscopiques

III.2.1 Couleur

Lors des huit récoltes pour les deux races, un prélèvement pour chaque animal de la race (quatre synthétiques et quatre locale), nous avons remarqué que la couleur était la même blanche crème, sauf pour un animal qui avait une couleur blanche c'est le S5.

III.2.2 Volume de la semence

Le volume moyen de la semence de la population locale et de la souche synthétique est présenté dans la figure 25.

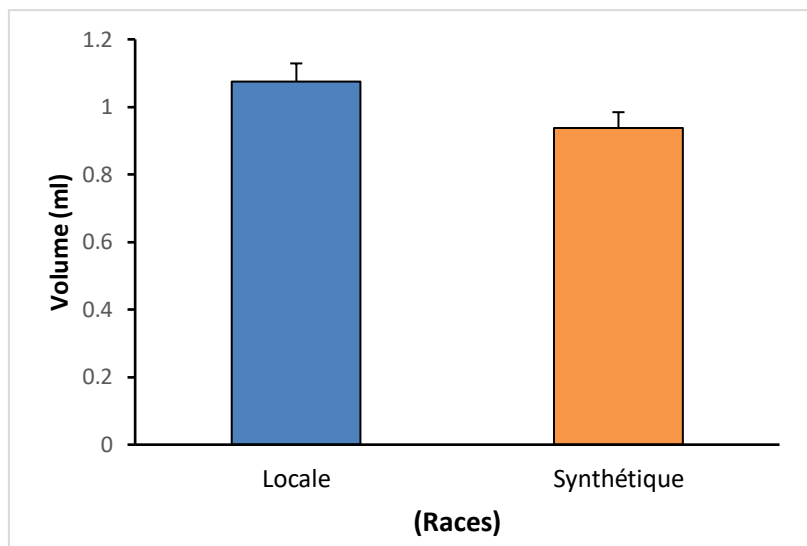


Figure 25: Volume moyen (ml) de la semence des deux races de lapins locale et synthétique

Le volume moyen de la semence chez les lapins de population locale est de $1,08 \pm 0,15$ ml et de $0,94 \pm 0,30$ ml chez les lapins de souche synthétique.

Les résultats concernant l'évaluation du volume moyen de la semence entre les deux races ne révèle aucune différence significative au seuil de ($p > 0,05$).

III.2.3 pH

Le pH moyen de la population locale et de la souche synthétique est illustré dans la figure 26.

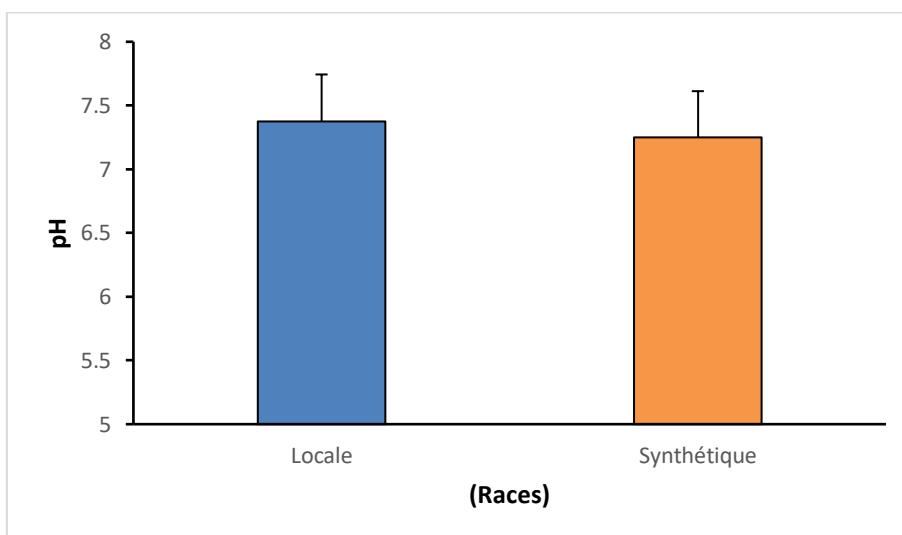


Figure 26: pH moyen des deux races de lapins (Locale et Synthétique)

Le pH moyen de la semence de la population locale est de $7,38 \pm 0,13$ et celui de la souche synthétique est de $7,25 \pm 0,14$. La différence entre les deux races est statistiquement non significative ($p > 0,05$).

III.3 Caractéristiques microscopiques

III.3.1 Concentration

Le taux de la concentration moyenne des spermatozoïdes de la population locale et de la souche synthétique est présenté dans la figure 27.

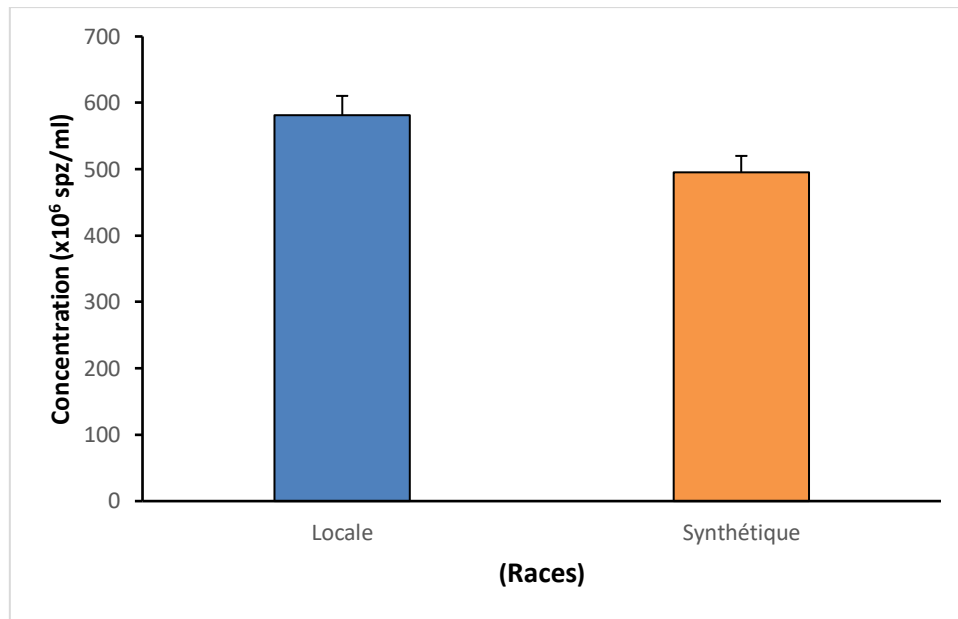


Figure 27: Concentration ($\times 10^6$ spz/ml) moyenne des deux races de lapins (Locale et Synthétique)

La concentration moyenne des lapins de population locale est de $581,41 \pm 207,43 \times 10^6$ spz/ml et de $495,31 \pm 166,06 \times 10^6$ spz/ml pour les lapins de souche synthétique. La différence entre les deux races est statistiquement non significative ($p < 0,05$).

III.3.2 Morphologie

Le taux moyen des anomalies morphologiques des spermatozoïdes de la race locale et de la race synthétique est présenté dans la figure 28.

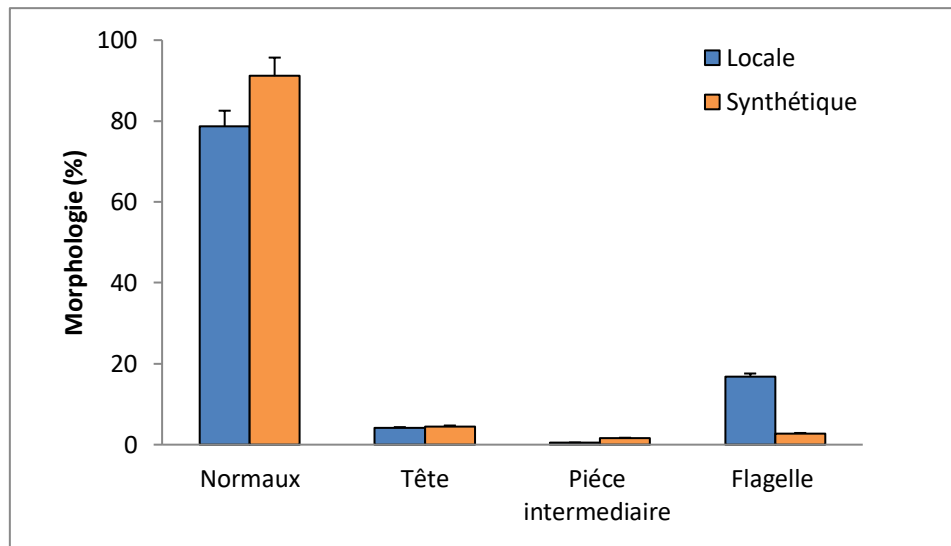


Figure 28: Pourcentage des anomalies morphologiques des spermatozoïdes des deux races de lapins (Locale et Synthétique)

Le taux des spermatozoïdes normaux est de $78,63 \pm 9,39\%$ pour les lapins de population locale et de $91,5 \pm 1,78\%$ pour les lapins de souche synthétique.

Le pourcentage des spermatozoïdes normaux pour les deux races de lapin (locale et synthétique) présente un résultat non significatif ($p > 0,05$).

Les valeurs moyennes des anomalies de la tête sont de $4,13 \pm 2,19\%$ pour les lapins de population locale et de $4,50 \pm 0,84\%$ pour les lapins de la souche synthétique. Les valeurs moyennes des anomalies de la pièce intermédiaire $0,50 \pm 0,20\%$ pour les lapins de race locale et de $1,63 \pm 0,52\%$ pour les lapins de race synthétique. Les valeurs moyennes des anomalies du flagelle sont de $16,75 \pm 10,21\%$ pour des lapins de race locale et de $2,75 \pm 0,48\%$ pour les lapins de race synthétique.

Les valeurs obtenues pour les anomalies morphologique de différentes parties de spermatozoïdes (tête, pièce intermédiaire et flagelle) de deux race (locale et synthétique) ne possèdent aucun résultat significatif ($p > 0,05$).

III.3.3 Motilité

III.3.3.1 Motilité massale

Le taux de motilité massale est de $90,28 \pm 4,74\%$ à 3h et diminue avec le temps de $25 \pm 8,33\%$ en 24h puis de $22,22 \pm 4,54\%$ en 48h pour atteindre $16,67 \pm 3,20\%$ à 72h chez les lapins de population locale. Cependant chez les lapins de souche synthétique la motilité massale est de $77,78 \pm 6,42\%$ à 3h et diminue de $38,89 \pm 14,70\%$ en 24h puis de $30,56 \pm 6,99\%$ en 48h pour atteindre $20,83 \pm 3,49\%$ en 72h (**Fig. 29**).

L'analyse statistique de la variation de la motilité massale de la population locale a révélé une diminution très significative ($p < 0,01$) entre les périodes 3h vs 24h et une diminution hautement significative ($p < 0,001$) entre les périodes 3h vs 72h. Par contre, chez la souche synthétique l'analyse statistique de la motilité massale montre une diminution non significative ($p < 0,05$) entre les périodes 3h vs 24h, mais hautement significatif ($p < 0,001$) entre les périodes 3h vs 72h.

III.3.3.2 Motilité individuelle

Le taux de motilité individuelle est $65,63 \pm 9,38\%$ à 3h et diminue avec le temps de $56,25 \pm 6,25\%$ en 24h puis de $50,01 \pm 10,21\%$ en 48h pour atteindre $34,38 \pm 5,98\%$ en 72h pour les lapins de population locale. Cependant, pour les lapins de souche synthétique la motilité individuelle est de $71,88 \pm 7,86\%$ à 3h puis diminue de $43,75 \pm 14,88\%$ en 24h puis de $6,25 \pm 3,61\%$ en 48h pour atteindre $6,25 \pm 3,60\%$ en 72h (**Fig. 29**).

L'analyse statistique de la motilité individuelle de la population locale à révéler un résultat significatif ($p < 0,05$) entre les périodes 3h vs 24h et 3h vs 72h, et un résultat très significatif ($p < 0,01$) pour l'analyse statistique de la motilité individuelle de la souche synthétique entre les périodes 3h vs 72h.

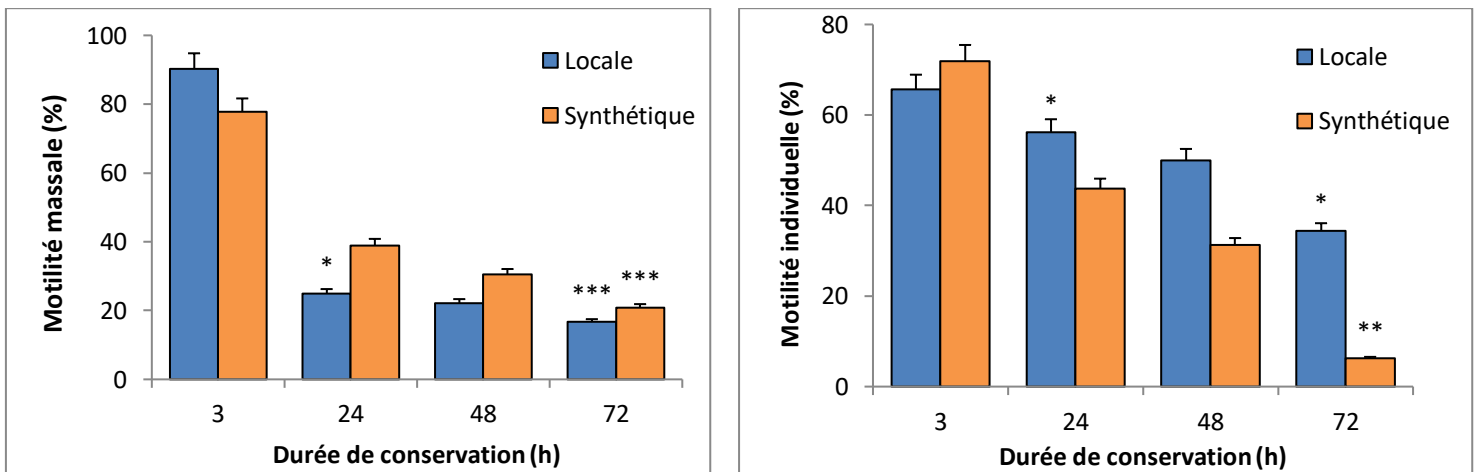


Figure 29: Motilité massale et motilité individuel en pourcentage des deux races de lapins (Locale et Synthétique) en fonction de la durée de conservation de la semence

III.3.4 Vitalité

Le taux moyen des spermatozoïdes vivant de la population locale et de la souche synthétique en fonction de la durée de conservation de la semence est présenté dans la figure 30.

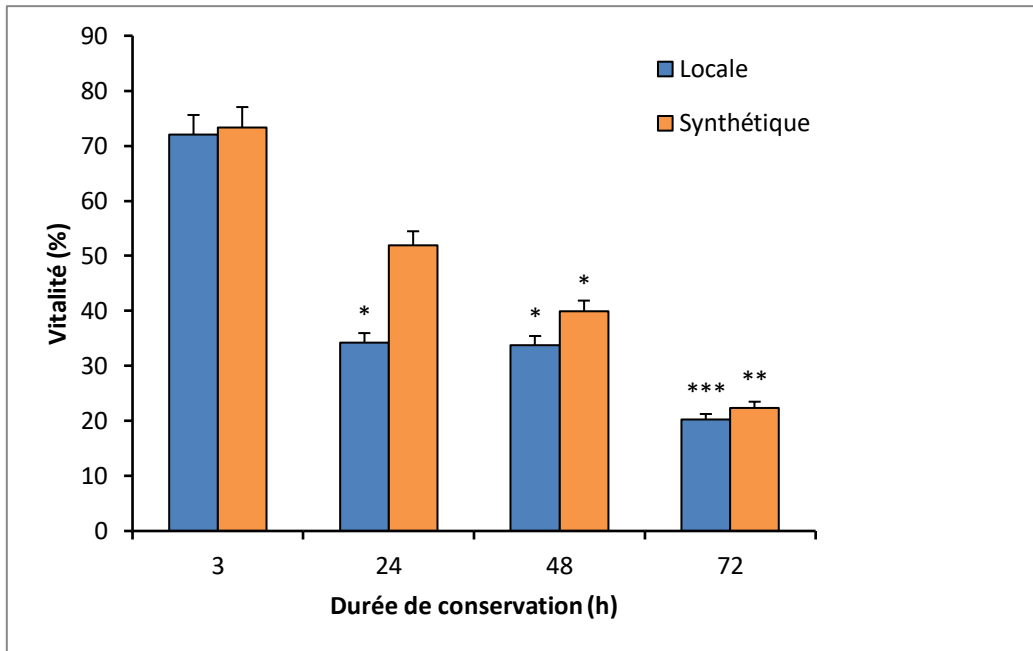


Figure 30: Vitalité en pourcentage des deux races de lapins (Locale et Synthétique) en fonction de la durée de conservation de la semence

Le taux de vitalité des spermatozoïdes pour la population locale a diminué d'environ la moitié après 24h de (72,00±5,68% à 34,25±8,92%), puis a lentement diminué pour atteindre 20,25±6,18% à 72h. Pour la souche synthétique le pourcentage de vitalité du sperme est de 73,38±8,59% à 3h, puis diminue progressivement jusqu'à atteindre 22,38±4,16% en 72h. Le taux de vitalité des spermatozoïdes des deux races est proche à 3h et 72 heures, alors que la différence à 24h est notable (de 34,25±8,92% pour la population locale et de 51,88±8,04% pour la souche synthétique).

L'analyse statistique révèle des résultats significatives ($p < 0,05$) entre les périodes (3h vs 24h et 3h vs 48h) et hautement significatives ($p < 0,001$) entre (3h vs 72h) pour la population locale. Pour la souche synthétique L'analyse statistique révèle des résultats non significatives ($p > 0,05$) entre les périodes (3h vs 24h) et significatifs ($p < 0,05$) et très significatifs ($p < 0,01$) entre les périodes (3h vs 48h et 3h vs 72h) respectivement.

Chapitre IV

Discussion

Nos résultats de caractéristiques microscopiques seront discutés selon des données bibliographiques de quelques races lapins et d'autre espèce.

IV.1 Motilité

IV.1.1 Motilité massale

Dans notre partie expérimentale, le taux de la motilité massale des lapins de population locale est supérieur à celui rapporté chez le bélier Djallonké (Haye et *al.*, 2004), chez le lapin synthétique (Meskouri, 2017), chez le lapin néozélandais (Safaa et *al.*, 2004). Par contre il est comparable aux autres études.

Le taux de la motilité massale des lapins souche synthétique est inférieur à celui rapporté chez d'autre races et dans d'autres études (**Tab. 3**). Chez le lapin de race mixte (Bouhala et Boukerram, 2013), chez le lapin de race Bianca Italiana (Di Iorio et *al.*, 2014), chez le lapin de race néozélandais blancs (Carluccio et *al.*, 2004) et chez le chat domestique (De Sousa et *al.*, 2019), par contre il est élevé à celui rapporté chez le bélier Djallonké (Haye et *al.*, 2004), chez le lapin néozélandais (Safaa et *al.*, 2004) et chez le lapin synthétique (Meskouri, 2017).

IV.1.2 Motilité individuelle

Le taux de la motilité individuelle pour les lapins de race locale de notre étude est semblable à celui rapporté par Meskouri (2017), chez les lapins de race locale. Cependant, il est supérieur à ceux rapportés par De Sousa et *al.* (2019), chez le chat domestique et par Meskouri (2017), chez les lapins de race synthétique et inférieure à celui rapporté par Bouhala et Boukerram (2013), chez le lapin de race mixte et par Di Iorio et *al.* (2014), chez les lapins de race bianca italiana et par Carluccio et *al.* (2004), chez les lapins néozélandais blancs. Le taux de la motilité individuelle pour les lapins de race synthétique de notre étude est semblable à celui rapporté par Di Iorio et *al.* (2014), chez les lapins de race Bianca Italiana et par Carluccio et *al.* (2004), chez les lapins néozélandais blancs. Nos résultats sont élevés par rapport à ceux rapportés par Meskouri (2017), chez les lapins de race synthétique et locale et de ceux De Sousa et *al.* (2019), chez le chat domestique. Cependant, ils sont inférieurs par rapport ceux rapportés par Bouhala et Boukerram (2013), chez les lapins de race mixte (**Tab. 3**).

Tableau 3: Données bibliographiques de la motilité chez différentes races de lapins et d'autre espèces

Espèces	Races	Type de récolte	Motilité %		Références
			Massale	Individuelle	
Lapin	Locale	Ejacula	90,28 ± 4,74	65,63 ± 9,38	Résultats personnel
	Synthétique		77,78 ± 6,42	71,88 ± 7,86	
	Locale		82,77 ± 6,11	62,75 ± 5,25	(Meskouri, 2017)
	Synthétique		65 ± 5,77	55,75 ± 5	
	Race mixte		88,08	83,93	(Bouhala et Boukerram, 2013)
	Néozélandais		65,4 ± 3,5	-	(Safaa et <i>al.</i> , 2004)
	Bianca Italiana		88,31 ± 0,84	76,00 ± 0,98	(Di Iorio et <i>al.</i> , 2014)
	Néo-zélandais Blancs		83,52 ± 2,72	78,8 ± 1,7	(Carluccio et <i>al.</i> , 2004)
Chat	Domestique	86,11 ± 2,51	35,15 ± 3,24	(De Sousa et <i>al.</i> , 2019)	
Bélier	Djallonké	56,6 ± 4,4	-	(Haye et <i>al.</i> , 2004)	

IV.2 Concentration

La concentration retrouvée de la population locale dans notre travail est supérieure aux résultats rapportés chez la race locale par Meskouri (2017) et chez la race Néozélandais rapportés par Safaa et *al.* (2004) et légèrement supérieure aux résultats rapportés par Bouhala et Boukerram (2013).

La concentration retrouvée pour la race synthétique est supérieure à celle obtenue chez la race synthétique par Meskouri (2017) ; elle est supérieure à celle

retrouvée chez la race Néozélandais par Safaa et *al.* (2004). Par contre, elle est inférieure à celle retrouvée chez les lapins de race mixtes (Bouhala et Boukerram, 2013).

Nos résultats obtenus des deux races locales et synthétiques sont inférieurs à ceux de la race Bianca Italiana rapportés par Di Iorio et *al.* (2014). Nos résultats et ceux d'autres auteurs sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Données bibliographiques de la concentration chez différentes races de lapins

Espèces	Races	Type de récolte	La concentration ($\times 10^6$ spz/ml)	Références
Lapin	Locale	Ejacula	581,41 ± 207,43	Résultats personnel
	Synthétique		495,31 ± 166,06	
	Locale		498,80 ± 72,31	(Meskouri, 2017)
	Synthétique		322,64 ± 69,32	
	Race mixte		546,96	(Bouhala et Boukerram, 2013)
	Néozélandais		232 ± 15,30	(Safaa et <i>al.</i> , 2004)
	Bianca Italiana		645 ± 32	(Di Iorio et <i>al.</i> , 2014)

IV.3 Vitalité

Le taux des spermatozoïdes vivants de deux races locale et synthétique est élevé par rapport à ceux rapportés chez différentes races de lapin obtenu par différents auteurs (Meskouri, 2017 ; Bouhala et Boukerram, 2013 ; Safaa et *al.*, 2004) et même à ceux rapportés chez le chat domestique (De Sousa et *al.*, 2019), par contre il est inférieur à celui rapporté chez la race Bianca italiana (Di Iorio et *al.*, 2014) et la race Néozélandais blancs (Carluccio et *al.*, 2004) (**Tab. 5**).

Tableau 5: Données bibliographiques de la vitalité chez différentes races de lapins et une race de chat

Espèces	Races	Type de récolte	Vitalité (%)	Références
Lapin	Locale	Ejacula	72,00 ± 5,68	Résultats personnel
	Synthétique		73,38 ± 8,59	
	Locale		62,45 ± 3,77	(Meskouri, 2017)
	Synthétique		57,49 ± 3,61	
	Race mixte		48,50	(Bouhala et Boukerram, 2013)
	Néozélandais		65,50 ± 2,60	(Safaa et <i>al.</i> , 2004)
	Bianca Italiana		84,97 ± 1,22	(Di Iorio et <i>al.</i> , 2014)
	Néo-zélandais Blancs		92,20 ± 1,80	(Carluccio et <i>al.</i> , 2004)
Chat	Domestique	Epididymaire	61,05 ± 1,71	(De Sousa et <i>al.</i> , 2019)

IV.4 Morphologie

Le pourcentage des spermatozoïdes anormaux est élevé par rapport à celui rapporté par Carluccio et *al.* (2004), chez le lapin néozélandais blanc et par Haye et *al.* (2004) chez le bélier Djallonké pour les deux races locale et synthétique. Par contre il est inférieur à celui rapporté chez la race locale et synthétique par Meskouri (2017), et chez le chat domestique par De Sousa et *al.* (2019).

Le taux de spermatozoïdes anormaux est semblable à celui rapporté chez le lapin néozélandais par Bouhala et Boukerram (2013). Les résultats sont représentés dans le tableau 6.

Tableau 6: Données bibliographiques des spermatozoïdes anormaux chez différentes races de lapins et d'autres espèces

Espèces	Races	Type de récolte	Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux (%)	Références
Lapin	Locale	Ejacula	21,38 ± 9,40	Résultats personnel
	Synthétique		8,88 ± 1,78	
	Locale		38,37 ± 3,01	(Meskouri, 2017)
	Synthétique		35,13 ± 2,89	
	Race mixte		11,95	(Bouhala et Boukerram, 2013)
	Néozélandais		20,7 ± 1,54	(Safaa et <i>al.</i> , 2004)
	Néo-zélandais Blancs		2,4 ± 0,6	(Carluccio et <i>al.</i> , 2004)
Chat	Domestique	Epididymaire	32,79	(De Sousa et <i>al.</i> , 2019)
Bélier	Djallonké	Ejacula	4,98	(Haye et <i>al.</i> , 2004)

Les données des anomalies des spermatozoïdes enregistrés dans notre étude chez la population locale et la souche synthétiques sont discutées avec ceux de la littérature (Tab. 7).

Le pourcentage de l'anomalie de la tête chez la population locale est supérieur à celui rapporté par Bouhala et Boukerram (2013), chez le lapin de races mixtes. Par contre il est exactement semblable à celui obtenu par De Sousa et *al.* (2019), chez le chat domestique. Le résultat de la souche synthétique est supérieur à ceux rapportés par Bouhala et Boukerram (2013), chez le lapin de races mixtes et comparable à celui obtenu par De Sousa et *al.* (2019), chez le chat domestique.

Le pourcentage des anomalies de la pièce intermédiaires dans notre étude semble être nettement inférieur à ceux rapporté par Bouhala et Boukerram (2013), chez le lapin de race mixte et par De Sousa et *al.* (2019), chez le chat domestique.

Les anomalies du flagelle notés dans nos résultats chez le lapin de race locale sont comparables à ceux obtenu par De Sousa et *al.* (2019), Chez le chat domestique et supérieur à ceux obtenu par Bouhala et Boukerram (2013), chez le lapin de race mixte. Les résultats retrouvés chez le lapin de race synthétique vis-à-vis des anomalies du flagelle montrent une infériorité par rapport aux résultats apportés par Bouhala et Boukerram, (2013) chez le lapin de race mixte, et une infériorité notable à ceux rapportés par De Sousa et *al.* (2019), chez le chat domestique.

Tableau 7: Quelques données des anomalies des différentes parties des spermatozoïdes chez différentes races de lapins et autre espèce.

Espèces	Races	Type de récolte	Le pourcentage des anomalies (%)			Références
			Anomalie de la tête	Anomalie de la pièce intermédiaire	Anomalie du flagelle	
Lapin	Locale	Ejacula	4,13 ± 2,19	0,5 ± 0,20	16,75 ± 10,21	Résultat personnel
	Synthétique		4,50 ± 0,84	1,63 ± 0,52	2,75 ± 0,48	
	Race mixte		1,57	5,07	5,285	(Bouhala et Boukerram, 2013)
Chat	Domestique	Epididymaire	4,13 ± 0,82	10,60 ± 0,79	18,06 ± 1,53	(De Sousa et <i>al.</i> , 2019)

Conclusion

A l'issue de notre étude menée sur la comparaison des caractéristiques macroscopiques et microscopiques de la semence entre les lapins de la population locale et celle de souche synthétique, nous pouvons conclure que :

Les caractéristiques macroscopiques de la semence (couleur, pH et volume) sont sensiblement assimilables entre les lapins males de population locale et de souche synthétique.

Par ailleurs, concernant les caractéristiques macroscopiques (motilité, concentration, vitalité, morphologie), nous notons de légères variations entre les deux populations étudiées.

En effet, le taux de la motilité massale est légèrement plus élevé chez la race locale, bien que chez les deux races ce taux diminue avec le temps. Cependant, concernant le taux de motilité individuelle, il est légèrement plus bas chez les lapins de race locale, mais diminue avec le temps chez les deux populations. La concentration des spermatozoïdes est légèrement plus élevée chez la population locale. Le taux de vitalité est comparable au début du prélèvement entre les deux populations, puis il décroît avec la durée de conservation d'une manière significative chez l'espèce locale et non significative chez la souche synthétique.

Le taux des spermatozoïdes normaux est plus élevé chez la souche synthétique. Par contre, concernant le pourcentage d'anomalies des spermatozoïdes, à l'exception de celle de la tête, nous notons quelques différences entre les deux groupes expérimentaux au niveau de la pièce intermédiaires et du flagelle.

Les données recueillies dans ce présent travail sont variables par rapport aux valeurs retrouvées dans la littérature sur différentes populations et races du lapin ainsi que chez d'autres espèces animales (chat, bélier).

Les différences que nous remarquons dans la qualité de la semence entre les lapins de population locale et de souche synthétique, bien qu'elles ne soient pas très importantes pourraient être liées en partie au facteur génétique.

Notre présent travail constitue une étude préliminaire pour caractériser la qualité de la semence du lapin de la population locale et de la souche synthétique. Les conclusions auxquelles nous avons pu aboutir, nous orientent vers l'identification de quelques axes de

recherche scientifiques. A ce propos, plusieurs paramètres et protocoles expérimentaux seraient intéressants à envisager :

- Une caractérisation complète de la semence en fonction du procédé de sa collecte (vagin artificielle, électro-éjaculat...).
- Une caractérisation complète de la semence, corrélée avec divers facteurs de variation (tel que les cycles circadiens, cycles saisonniers, l'alimentation, l'âge...).
- L'application des biotechnologies, et plus précisément l'insémination artificielle après avoir caractériser la qualité de la semence dans le but d'améliorer la production des viandes cunicoles.

Références bibliographiques

A

- Abd El-Azim, A., El-kamash, E. M. Evaluation of semen quality and its relation to mating system for some breeds of rabbits under environmental conditions in the middle of Egypt, 2011, Egyptian Poultry Science Journal, 31, pp. 467-480.
- Aires, V.A., Hinsch, K.D., Muller-Schlosser, F., Bonger, K., Muller-Schlosser, S., Hinsch E. In vitro and in vivo comparison of egg-yolk-based and soya bean-based extenders for cryopreservation of bovine semen, Theriogenology, 2003, 60, 269–79.
- Althouse, G.C., Kuster, C., Clark, S.G. Weisiger R.M. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. Theriogenology, 2000, 53, 1167, 117.
- Alvariño J.M.R. Reproductive performance of male rabbits. In: 7th World Rabbit Congress, Valencia Spain, 2000, pp. 13-35.
- Arencibia, A.D.F., Rosario, F.L.A. Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de Conejos aplicado en estuiduos de toxicologia de la fertilidad. (REDVET) Revista Electronica Veterinaria, 2009, 8, pp.1-18.

B

- Bencheikh, N. Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 1995, 44, pp. 263-279.
- Benzeghiba, Z., Benyaya K. (2020). Effet du pollen de *Phoenix Dactylifera L* dans la cryoconservation de la semence canine. Mémoire De fin d'étude en vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Biologie et Physiologie de la reproduction, BLIDA, Université Saad Dahleb Blida. pp. 62.
- Besenfelder, U., Theau-clément, M., Sabbioni, E., Castellini, C., Renieri, T., Havlicek, V., Huber, T., Wetscher, F., Mösslacher, G., Brem, G. Effects of different light intensities on quality of spermatozoa in rabbits. World Rabbit Science, 2004, 12, pp. 227-234.
- Bolet, G., Zerrouki, N., Gacem, M., Brun, J.M., Lebas, F. Genetic parameters and trends for litter and growth traits in a synthetic line of rabbits created in Algeria. proceedings 10th world rabbit, 2012, pp. 195-199.

- Bouhala, S., Boukerram, N. (2014). Optimisation de la conservation du Sperme de Lapin par Congélation. Mémoire De fin d'étude en vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Reproduction et biotechnologies Animales, BEJAIA, Université Abderrahmane Mira. pp. 54.

- Boussit D., Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Ed. Lempdes France : l'association français de cuniculture, 1989, pp. 234.

C

- Carluccio, A., Robbe, D., De Amicis, I., Contri, A., Tosi, U., Russo, F., Paoletti M. Artificial insemination in rabbits: Laboratory and field trail with three different semen extenders. World Rabbit Sci (WRS), 2008, 16, pp. 141-148.

- Castellini, C. (2008), Semen production and management of rabbit bucks. In: 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy, June, pp. 10-13.

D

- Dahmani H., Sari W., (2020). Etude comparative entre la qualité de sperme du lapin locale et synthétique. Thèse de master, Université Akli Mohand Oulhad, p. 19.

- De Sousa B. B., Rodrigues Silva, H. V., Tabosa, B.E.A., Nunes, T.G.P., Felipe de Magalhães, F. et Machado da Silva, L.D. Morphological and morphometric characterization of domestic cat epididymal sperm. Reproduction in Domestic Animals, 2019, 54, pp. 1630-1636.

- Decuadro , Hansen, G. La réfrigération et la congélation du sperme : expérience chez l'animal Chilled and frozensemen: the animal experience. Gynécologie obstétrique et fertilité, 2004, 887–893.

- Di Iorio, M., Manchisi, A., Rocco, M., Chrenek, P., Laffaldano, N. Comparison of Different Extenders on the Preservability of Rabbit Semen Stored at 5°C for 72 Hours. Italian Journal of Animal Science (IJAS), 2014, 13, pp. 710-714.

E

- England, G.C.W. Cryopreservation of dog semen. *Journal of Reproduction and Fertility Supplements*, 1993, 4, pp. 243-255.

F

- Fortun-Lamothe, L., Theau-Clément, M., Combes, S., Allain, D., Lebas, F., Le Normand, B., Gidenne T. *Physiologie*. In: *Le Lapin : de la biologie à l'élevage*. Versailles, France: Editions Quae, 2015, pp. 39-83.

G

- Gacem, M., et Bolet, G. Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche européenne. *7^{èmes} Journées de le Recherche Cunicole*, 2005, pp. 15-18.

- Gacem, M., Zerrouki, N., Lebas, F., et Bolet, G., *Comparaison des performances de reproduction d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie*", *13^{ème} Journées de la Recherche Cunicole*, 2009, pp. 2.

- Garreau, H., Theau-Clément, M., Gidenne, T. *Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication*. In: *Le lapin : de la biologie à l'élevage*. Quae Editions., 2015. pp. 14-37.

H

- Hall, S.E., Negus, C., Johnke, D., Bathgate, R. Adjusting cryodiluent composition for improved post-thaw quality of rabbit spermatozoa. *PLoS One*, 2017, pp.12.

- Haye A., M'betieque C., Nazaire L. G., Tanon, B. Evaluation du sperme du bélier de race djallonke en région de savane humide de côte d'ivoire. *Agronomie Africaine*, 2004, 16, pp. 37-46.

J

- Jacky, F., Theau-Clément, M. Duzert, R. Estimation de la concentration de spermatozoïdes dans la semence du lapin. INRA, Unité SAGA, UR 631, Génétique Animale, 2007, pp. 2.

K

- Keddari, D. et Korichi, O. (2017). Les performances de la reproduction des lapins de la population locale. Thèse de Doctorat en vétérinaire, Blida : Université de Blida 1 (USDB1). pp. 55.

- Kubovicova, E., Makarevich, A.V., Balazi, A., Vasicek, J., Chrenek, P. Factors affecting rabbit sperm cryopreservation. a mini review. Zygote, 2022, pp. 1-8.

- Kuzminsky, G., Fausto A.M., Morera P. Morphological abnormalities of rabbit spermatozoa studied by scanning electron microscope and quantified by light microscope. Reprod Nutr Dev, 1996, 36, pp. 565-575.

L

- Lebas, F., Coudert, P., de Rochambeau, H., Thébault, R.G. THE RABBIT Husbandry, health and production. 21. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1997, pp. 250.

M

- Manjunath, P., Nauc, V., Bergeron, A., Ménard, M. Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. Biol Reprod, 2002, 67.

- Masoudi, R., Sharafi, M., ZarehShahneh, A., Towhidi, A., Kohram, H., Esmaili, V., Shahverdi, A., Davachi, N.D. Fertility and flow cytometry study of frozen-thawed sperm in cryopreservation medium supplemented with soybean. Cryobiology, 2016, 73, 69–72.

- Meskouri, I. (2017). Etude comparative des caractéristiques de la semence (Observation visuelle et analyse d'images par le système CASA) chez le lapin mâle de la souche syntétique et de la population locale. Mémoire De fin d'étude en vue de l'Obtention du Diplôme de Master en Biologie : Reproduction animale, Blida : Université de Blida 1 (USDB1). pp. 72.

- Morton, D. The Use of Rabbits in Male Reproductive Toxicology. Environmental Health Perspectives, 1988, 77, pp. 5-9.

- Mukherjee, D. P., Johari, M., Bhattacharya, P. The Gelatinous Mass in Rabbit Semen. Nature, 1951, 168, pp. 422-423.

N

- Nishijima, K., Kitajima, S., Koshimoto, C., Morimoto, M., Watanabe, T., Fan, J., Matsuda, Y. Motility and fertility of rabbit sperm cryopreserved using soybean lecithin as an alternative to egg yolk. Theriogenology, 2015, 84, 1172–5.

O

- O'Bryan, M.K., Schlatt, S., Phillips, D.J., De Kretser, D.M. Hedger, M.P. Bacterial lipopolysaccharide-induced inflammation compromises testicular function at multiple levels in vivo. Endocrinology. 2000, 141, pp. 238-246.

- Onuoha, C.H., Reproductive Physiology of Male Rabbits: A Key Factor in Buck Selection for Breeding (Paper Review). Advances in Reproductive Sciences, 2020, 8, 97-112.

P

- Peña, A.I., Linde F.C. Effects of Equex, one or two steps dilution, and two freezing and thawing rates on post thaw survival of dog spermatozoa. Theriogenology, 2000,53, pp. 859-875.

- Posière S.C.G.J., (2002). Récolte de la semence de chat (*felis catus*) par électro éjaculation et par dissection de l'épididyme (Comparaison des méthodes, essai de cryoconservation avec un dilueur canin). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, pp. 95.

S

- Safaa, H.M., Vicente, J.S., Lavara, R., Viudes de Castro, M.P. Semen evaluation of two selected lines of rabbit bucks. *World Rabbit Sci (WRS)*, 2008, 16, pp. 141-148.
- Stănescu, P. M., Alin I.B. Comparative Studies of ISSN. *Electronic ISSN*, 2010, 1843-5378.

V

- Van Praag, E. Causes de stérilité chez le lapin mâle. 2016. [Consulté le 05/07/2022].
url :http://www.medirabbit.com/FR/Urogenital/Male/Steril/Sterility_male_fr.pdf
- Van Praag, E. Testicules tombants ou traînants causés par une dysplasie du collagène chez le lapin mâle non-castré. *MediRabbit*. 2015. [Consulté le 09/06/2022] url :
http://www.medirabbit.com/FR/Urogenital/Male/Test_tombant/Testic_pendants_fr.pdf
- Vella, D., Donnelly, T. M., Saunders, W.B., Katherine, E., James, W. Basic Anatomy, Physiology, and Husbandry. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents*, 2012, 3, pp. 157–173.

Z

- Zerrouki, N., Bolet, G., Berchiche, M., Lebas, F. Evaluation of breeding performance of local Algerian rabbit population raised in the Tizi-Ouzou area. *World Rabbit Science (WRS)*, 2005, 13, pp. 29-37.
- Zerrouki, N., Lebas, F., Gacem, M., Meftah, I., Bolet, G. Reproduction performances of a synthetic rabbit line and rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations, *World Rabbit Science (WRS)*, 2014, 22, pp. 269-278.

Annexes

Matériel et réactifs utilisés dans la partie expérimentale

1. Matériel de collecte de la semence

- Plaque chauffante et le Cristallisoir (**Fig. 1**) pour chauffer le vagin artificiel.
- Vagin artificiel (**Fig. 1**).
- Les Tubes gradués stériles (**Fig. 2**), d'un volume de 15 ml au max, pour le prélèvement de la semence.
- Thermos (**Fig. 3**) qui servira à transporter l'échantillon.

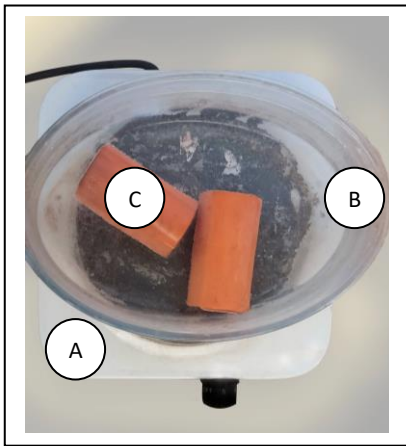


Figure 1 : Plaque chauffante (A), le cristallisoir(B) et le vagin artificiel (C)



Figure 2 : Tube gradué de collecte



Figure 3 : Thermos

2. Matériel de laboratoire pour l'analyse de la semence

- Microscope photonique de type Optika (**Fig. 4**), qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions.
- Le système CASA (Computer-Aided Sperm Analysis) (**Fig. 5**), le logiciel utilisé permet de quantifier plusieurs paramètres de motilité, vitalité et morphologie.
- Cellule de Thomas (**Fig. 6**), qui est un hématimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution.
- Bain marie, pour la conservation de la semence à 37 °C.
- Pipettes pasteurs et micropipettes avec embouts à usage unique (embouts jaunes et bleus) pour les différents prélèvements.
- Tubes Eppendorf (1,5ml) pour préparer les différentes solutions.
- Lames, lamelles pour les différentes observations microscopiques.
- Vortex pour l'homogénéisation des solutions.

- Filtre vert pour l'observation de la motilité individuelle (**Fig. 7**).



Figure 4 : Microscope photonique de type optika

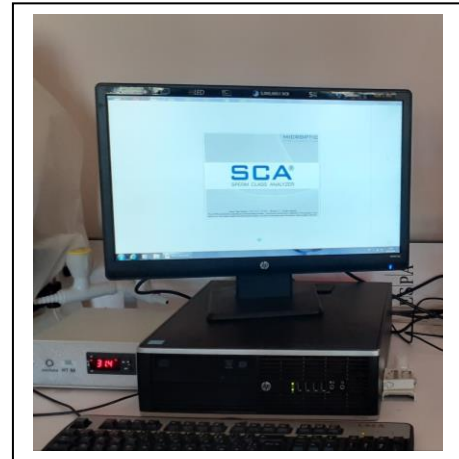


Figure 5 : Système CASA



Figure 6 : Cellule de Thomas



Figure 7 : Filtre vert

3. Réactifs et solutions de l'analyse de la semence

- Papier pH.
- Dilueur utilisé DP-SOW (**Fig. 8**).
- Eosine et nigrosine utilisés pour la coloration dans le test de la vitalité et la morphologie.
- Formol à 35% utilisé afin de diluer la semence pour la concentration.

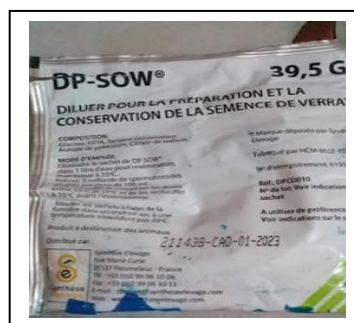


Figure 8 : Diluer DP-SOW