

N° d'ordre :

.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministry of Higher Education and Scientific Research



معهد العلوم البيطرية
Institute of Veterinary
Sciences

جامعة البليدة 1
University Blida-1



Mémoire de Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFET DE DEUX DILUEURS SUR
LA CONSERVATION DE LA SEMENCE DE LAPIN DE LA
SUCHE SYNTHETIQUE**

Présenté par

Ben Babaali Maamoun Boulanouar

Achour Ayoub et Seddiki Yacine

Soutenu le **01/07/2024**

Présenté devant le jury :

Présidente :	LAGHOUATI Amel	MCB	ISV/Blida 1
Examinatrice :	BOUMAHDI MERAD Zoubeida	Professeur	ISV/Blida 1
Promotrice :	TARZAALI Dalila	MCA	ISV/Blida 1

Année universitaire **2023/2024**

N° d'ordre :

.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministry of Higher Education and Scientific Research



معهد العلوم البيطرية
Institute of Veterinary
Sciences

جامعة البليدة 1
University Blida-1



Mémoire de Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFET DE DEUX DILUEURS SUR
LA CONSERVATION DE LA SEMENCE DE LAPIN DE LA
SOUCHE SYNTHETIQUE**

Présenté par

Ben Babaali Maamoun Boulanouar

Achour Ayoub et Seddiki Yacine

Soutenu le 01/07/2024

Présenté devant le jury :

Présidente :	LAGHOUATI Amel	MCB	ISV/Blida 1
Examinatrice :	BOUMAHDI MERAD Zoubeida	Professeur	ISV/Blida 1
Promotrice :	TARZAALI Dalila	MCA	ISV/Blida 1

Année universitaire 2023/2024

REMERCIEMENTS

A Dieu le tout puissant, qui nous a illuminé notre chemin vers la connaissance de la science.

Nous adressons nos vifs remerciements aux membres du jury, qui ont accepté de juger ce travail :

*Dr **TARZAALI Dalila**, Maitre de conférences A, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, notre chère promotrice qui a accepté d'encadrer ce travail, et pour sa disponibilité, merci beaucoup pour l'intérêt que vous avez toujours manifesté par vos conseils, critiques constructives qui ont valorisé ce travail.*

*Dr **LAGHOVATI Amel**, Maitre de conférences B, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.*

*Dr **BOUMAHDI MERAD Zoubeida**, Professeur, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Au Professeur **Bouyoucef**, directeur du laboratoire de Biotechnologies liées à la reproduction Animale (LBR A), de nous avoir permis de réaliser la partie expérimentale, ainsi qu'au ingénieurs de laboratoire pour leurs efforts et aides.*

*Nous désirons aussi remercier les professeurs de l'Université Blida 1, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires. Nous tenons à remercier spécialement Dr **BELALLA Redha**, le directeur de l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, pour ses conseils avisés.*

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour nous aider à réaliser ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à:

Mes chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis merci mes parents.

Ma chère sœur, la plus gentille femme du monde merci énormément.

Mes frères, merci pour être toujours à mes cotes.

***Maamoun**, mon cher frère, merci d'être à mes côtés dans les moments les plus difficiles. Tu es vraiment mon soutien. Je te souhaite de succès et une vie pleine de réussite.*

*Tous mes amis et mes collègues de la promo spécialement à mes collègues **Yacine** et **Maamoun**, merci pour tout, pour vos efforts et votre patience pour mener à bien ce projet. Bonne chance à vous.*

AYOUB

Dédicaces

À ma famille et à mes proches:

Je tiens à les remercier pour leur soutien inconditionnel, et leurs encouragements constants.

À tous mes amis de la promo :

Merci pour ces années incroyables passées ensemble. Vous avez rendu cette aventure mémorable et unique. Que notre amitié perdure bien au-delà de nos études.

À Samir, Yacine et Riadh:

Vous êtes des amis et des frères extraordinaires. Merci pour les moments de complicité, les fous rires, et le soutien.

Yacine

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

A ma mère

Affable, honorable, aimable. Tu es la lumière de ma vie et le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À mon frère et mes sœurs merci pour d'être toujours à mes cotes.

À toute ma famille, mes cousins et mes cousines merci énormément.

À mes amis et mes proches: Malek, Amine, Ayoub et Mohamed.

Maamoun

Résumé

L'objectif de notre étude est d'analyser l'impact de deux dilueurs, Galap (D1) et DP SOW (D2) sur la qualité macroscopique et microscopique de la semence, collectée chez cinq lapins de souche synthétique, âgés de 3 ans et conservé à une température de 4 °C pendant 24, 48 et 72 heures). Nous avons utilisé le système CASA pour l'analyse des paramètres microscopiques de la semence. Les résultats de l'analyse microscopique de cette dernière ont montré qu'il n'y a aucune différence significative entre les deux dilueurs en ce qui concerne la motilité progressive du D1 (3h = $50,17 \pm 13,69$ vs 72h = $2,9 \pm 2,56$ %) et du D2 (3h = $50,17 \pm 13,69$ vs 72h = 0 %) et la vitalité du D1 (3h = $70 \pm 9,37$ vs 72h = $51,6 \pm 6,69$ %) et pour le D2 (3h = $70 \pm 9,37$ vs 72h = $42,45 \pm 6,68$ %), avec un p-value >0,05.

Nos résultats indiquent que le dilueur D1 (Galap) avait un meilleur effet sur la conservation de la semence du lapin de la souche synthétique par rapport au dilueur D2 (DP Sow). En conclusion, nous avons constaté que la vitalité et la motilité de la semence du lapin de la souche synthétique sont influencées par le type du dilueur et la durée de conservation de la semence.

Mots clés : Sperme, lapin synthétique, Galap, DP Sow, Conservation, CASA.

ملخص

الهدف من دراستنا هو تحليل تأثير اثنين من المخففات، Galap (D1) و DP SOW (D2) على الجودة العيانية والمجهريية للبدور، التي تم جمعها من خمسة أرانب من السلالة الاصطناعية، تبلغ من العمر 3 سنوات ويتم تخزينها عند درجة حرارة 4 درجة مئوية لمدة 24 و 48 و 72 ساعة). استخدمنا نظام CASA لتحليل المعلمات المجهريية للبدور. أظهرت نتائج التحليل المجهري لهذا الأخير أنه لا يوجد فرق كبير بين المخففين فيما يتعلق بالحركة التدريجية لـ D1 (3h = 50.17 13.69) مقابل 72 ساعة = 2.9 2.56%) و D2 (3h = 50.17 13.69) مقابل 72 ساعة = 0%) وحيوية 937 ± 70 مقابل D1 (3h = 70 ± 937) مقابل 72 ساعة = 51.6 ± 669%) et pour le D2 (3h = 70 ± 937) h = 42.45 ± 66872) avec un p-value >,005.

تشير نتائجنا إلى أن D1 المخفف (Galap) كان له تأثير جيد على الحفاظ على بذور الأرانب من السلالة الاصطناعية مقارنة بـ D2 المخفف (DP Sow). في الختام، وجدنا أن حيوية وحركة بذور الأرانب من السلالة الاصطناعية تتأثر بنوع المخفف والعمر الافتراضي للحيوانات المنوية.

الكلمات الرئيسية: الحيوانات المنوية، الأرانب الاصطناعية، كازا، غالاب، دب سو، الحفاظ

Abstract

The objective of our study is to analyze the impact of two diluents, Galap (D1) and DP SOW (D2) on the macroscopic and microscopic quality of the semen, collected from five rabbits of synthetic strain, aged 3 years and stored at a temperature of 4°C for 24, 48 and 72 hours). We used the CASA system to analyze the microscopic parameters of the semen. The results of the microscopic analysis of the latter showed that it has no significant difference between the two diluents regard to the progressive motility of D1 (3h = 50.17 13.69 vs 72h = 2.9 2.56%) and D2 (3h = 50.17 13.69vs 72h = 0%) and the vitality of D1 (3h = 70±9, 37 vs 72h = 51.6±6, 69 %) and for D2 (3h = 70±9, 37 vs 72h = 42.45±6,68 %), with a p-value >0,05.

Our results indicate that diluent D1 (Galap) had a good effect on the preservation of rabbit seed from the synthetic strain compared to diluent D2 (DP Sow). In conclusion, we found that the type of diluent and the shelf life of the seed influence the vitality and motility of rabbit seed from the synthetic strain.

Keywords: Sperm, synthetic rabbit, Galap, DP Sow, Conservation, CASA.

SOMMAIRE

Introduction	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1 : ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GÉNITAL MALE	2
1.1 Anatomie de l'appareil génital mâle	2
1.1.1. Scrotum	2
1.1.2. Testicules	3
1.1.3. Épидidyme	3
1.1.4. Canal déférent	3
1.1.5. Urètre	4
1.1.6. Glandes annexes	4
1.1.6.1 Vésicule séminale	4
1.1.6.2 Glande vésiculaire	5
1.1.6.3 Prostate	5
1.1.6.4 Glandes para prostatiques	5
1.1.6.5 Glande bulbo-urétrale (glande de Cowper)	5
1.1.7. Pénis	5
1.2. Physiologie de la reproduction chez le mâle	6
1.2.1. Développement des gonades et la puberté	6
1.2.2. Spermatogénèse et production des gamètes mâles	6
1.2.2.1 Cycle spermato-génétique	7
1.2.2.2 Production des spermatozoïdes	7
1.2.2.3 Maturation des spermatozoïdes	8
1.3. Composition de la semence chez le lapin mâle	8
CHAPITRE 2 : MÉTHODES DE RÉCOLTE ET ÉVALUATION DE LA SEMENCE CHEZ LE LAPIN MALE.	
2.1. Récolte du sperme	10
2.1.1. Préparation du mâle à la collecte	10
2.2. Évaluation de la semence	11
2.2.1. Évaluation Macroscopique	11

2.2.2. Évaluation microscopique	12
2.3. Facteurs influençant sur la production et la qualité du sperme	16
2.3.1. Age et race	16
2.3.2. Fréquence de collecte	17
2.3.3. Saison	17
2.3.4. Nutrition	17
2.3.5. Température	17
CHAPITRE 3 : CONSERVATION ET L'EFFET DES DILUEURS	
3.1. Conservation de sperme	18
3.1.1. A l'état frais « réfrigération »	18
3.1.2. Congélation	18
3.2. Principes généraux	19
3.2.1. Utilisation des dilueurs	19
3.2.2. Caractéristiques du milieu de dilution	19
3.2.3. Composition des dilueurs	20
3.3. Différents dilueurs utilisés pour le lapin	21
PARTIE EXPERIMENTALE	
1. Objectif	22
2. Lieu et durée de l'expérimentation	22
3. Bâtiment d'élevage	22
4. Aliment	23
5. Eau de boisson	24
6. Matériel	24
6.1. Matériel biologique	24
6.2. Matériel Non biologique	25
7. Méthodes	25
7.1. Préparation des dilueurs	26
7.2 Récolte de la semence	27
7.2.1 Préparation des mâles à la récolte de la semence	27
7.2.2 Préparation du matériel de récolte de la semence	27

7.2.3 Technique de récolte	27
7.3 Analyse du sperme	28
7.3.1 Examen macroscopique	28
7.3.2. Examen microscopique	29
7.3.2.1. Système CASA	30
7.3.2.2. Estimation de la motilité massale	30
7.3.2.3. Motilité individuelle	32
7.3.3.Détermination de la concentration	33
7.3.4. Estimation de la vitalité	34
7.3.5.Evaluation de la morphologie	35
7.4 Etapes de dilution du sperme de lapin et conservation par réfrigération	36
7.5.Analyse statistique des résultats	36
8.Résultats	37
8.1.Qualité de la semence fraîche	37
8.1.1.Analyse macroscopique	37
8.1.2.Analyse microscopique	37
8.2. Effet des dilueurs et la durée de conservation sur la qualité de semence Conservée	40
8.2.1.2. Vitesse de déplacement des spermatozoïdes (Rapide, Moyenne, lente, Immobile)	42
9.Discussion	46
9.1.Avant conservation	46
9.1.1 Analyse macroscopique	46
9.1.1 Analyse microscopique	47
9.2.Après conservation	49
Conclusion	52
Références bibliographiques	53

Liste des figures

Figure 1 : Appareil génital du lapin mâle (6)	2
Figure 2 : Organisation de testicule et l'épididyme (15)	4
Figure 3 : Pénis du lapin (21)	6
Figure 4 : Étapes de la spermatogenèse (25).	7
Figure 5 : Structure du spermatozoïde de lapin (32).	8
Figure 6 : Illustrations des anomalies de taille de la tête de <i>spz</i> (51).	14
Figure 7 : Illustrations des anomalies de forme et de texture de la tête de <i>spz</i> (51).	14
Figure 8 : Illustrations les anomalies de la pièce intermédiaire de <i>spz</i> (51).	15
Figure 9 : Illustrations des anomalies du flagelle (51).	16
Figure 10 : Bâtiment d'élevage cunicole (a) et cages individuelles (b).	23
Figure 11 : Aliment Granulé.	23
Figure 12 : Bac d'eau.	24
Figure 13 : Pesé des lapins de souche synthétique.	24
Figure 14 : Protocole expérimental utilisé	25
Figure 15 : Étapes de préparation du dilueur D2 (a, b, c)	26
Figure 16 : Préparation du vagin artificiel	27
Figure 17 : Etapes de la technique de récolte (a,b,c)	28
Figure 18 : Evaluation de la couleur	28
Figure 19 : Mesure du pH	29

Figure 20 : Gourdes isotherme (a) et Bain marie(b).	29
Figure 21 : Système CASA et Microscope Nikon.	30
Figure 22 : Étapes de l'évaluation de la motilité massale.	31
Figure 23 : Hématimètre de Thoma	33
Figure 24 : Étapes d'évaluation de la concentration des spermatozoïdes	33
Figure 25 : Tubes eppendorf contenant de l'eosine et nigrosine.	34
Figure 26 : Etapes de l'évaluation de la vitalité (a, b, c, d).	35
Figure 27 : Anomalies des spermatozoïdes	35
Figure 28 : Pourcentage des spz normal et anormal.	39
Figure 29 : Pourcentage des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.	39
Figure 30 : Effet des dilueurs D1 et D2 sur la progression des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence.	40
Figure 31 : Effet des dilueurs D1 et D2 sur la vitesse des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence par pourcentage.	42
Figure 32 : Evolution de la Vitesse rapide de la semence fraiche et diluée (D1 : Galap et D2 : DP Sow), après une conservation à 4°C pendant 72h	43
Figure 33 : Effet du dilueur D1 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation.	44
Figure 34 : Effet du dilueur D2 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation.	45
Figure 35 : Comparaison entre la vitalité de la semence fraiche et les deux dilueurs	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Echelle de Petitjean (1965) pour notation de la motilité massale (13).	31
Tableau 2 : Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle (13).	32
Tableau 3 : Score de la motilité massale et individuelle des spz des semences.	38

Liste des abréviations

CASA : Computer Assisted Sperm Analysis.

DMSO : Diméthyle Sulfoxide.

EG : Éthylène Glycol.

MI : Motilité individuelle.

MM : Motilite Massale.

pH : Potentiel hydrogène.

PI : Piece intermediare.

SPZ : Spermatozoïdes.

INTRODUCTION

La cuniculture en Algérie a connu des progrès significatifs ces dernières années avec la création d'une souche synthétique de lapin par l'institut Technique de L'Elevage (ITELV). Cette souche, issue du croisement entre une population locale algérienne et une souche de l'INRA en France, vise à améliorer la productivité de la cuniculture tout en conservant une bonne adaptation aux conditions locales (1-2).

La mise en place de l'insémination artificielle (IA) est un outil essentiel pour améliorer la productivité de la cuniculture en Algérie. Cependant, la réussite de cette technique dépend de plusieurs facteurs, notamment la qualité de la semence utilisée. L'évaluation précise des caractéristiques du sperme, telles que la motilité, la vitesse et la morphologie des spermatozoïdes, est cruciale pour s'assurer de la fertilité des doses inséminées. L'utilisation de système d'analyse assistée par ordinateur tel que le système CASA (computer aided sperm analysis) permet une évaluation objective et standardisée de ces paramètres, améliorant ainsi la fiabilité de l'analyse du sperme (3).

L'insémination artificielle chez les lapins nécessite l'utilisation de dilueurs spécifiques pour préserver la viabilité des spermatozoïdes en leur fournissant un milieu nutritif adapté favorisant ainsi leur survie *in vitro* pendant la conservation à court terme. Ces dilueurs permettent de maintenir les caractéristiques du sperme, pendant une période allant de 24 à 72 heures généralement, à la température du réfrigérateur (4).

L'objectif de notre travail est de faire une comparaison de l'effet de deux dilueurs différents le GALAP (D1) et le DP-SOW (D2) sur les paramètres spermatiques lors d'une conservation à 4°C lors d'une durée allant jusqu'à 72h, en prenant en compte quelques paramètres macroscopiques et microscopiques de la semence éjaculée chez des lapins mâles adultes de la souche synthétique.

CHAPITRE I

Anatomie et physiologie l'appareil
génital mâle

CHAPITRE 1 : ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GÉNITAL MALE.

1.1 Anatomie de l'appareil génital mâle

Il comporte 3 grandes parties : la partie glandulaire constituée par les testicules, la partie tubulaire constituée par l'épididyme, le canal déférent, l'urètre et en fin la partie copulatrice constituée par le pénis (5), ainsi que les glandes annexes qui sont ; la prostate, les vésicules séminales, la glande de Cowper (Figure 1).

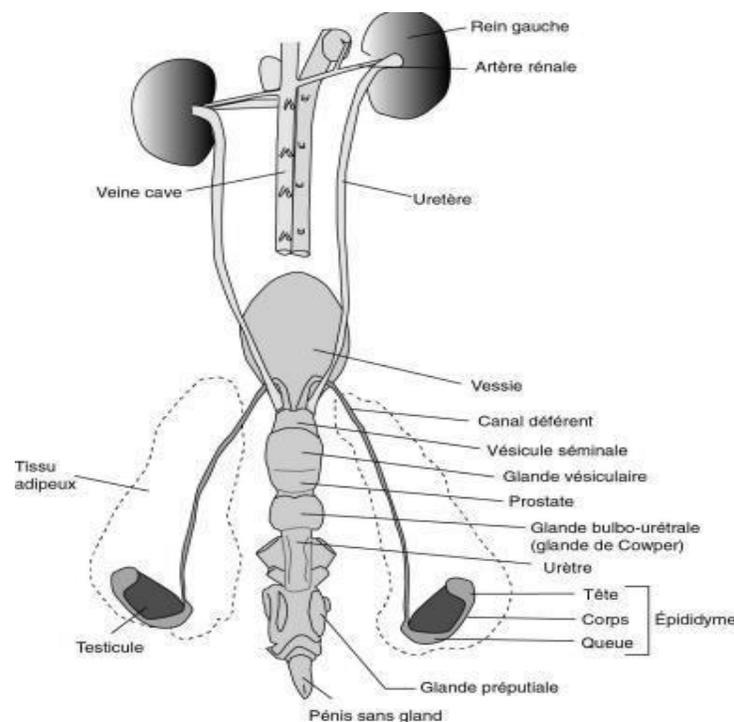


Figure 1 : Appareil génital du lapin mâle (6).

1.1.1. Scrotum

Contraire 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 glabre (7). Ce sont des sacs formés de peau, tissu fibreux musculaire, de tissu conjonctif et d'une tunique vaginale pariétale. Leur fonction principale est de maintenir les testicules à une température légèrement inférieure à la température corporelle (8).

1.1.2 Testicules

Sont contenus dans le scrotum et positionnés dans la cavité abdominale, ils sont le siège de la spermatogenèse avec une particularité exorchide et endorchide contrairement à beaucoup d'autres rongeurs (5), ils sont de couleur rose, de consistance ferme et sont logés dans les enveloppes testiculaires (9).

1.1.3 Épididyme

Les spermatozoïdes quittent la rete testis vers les canaux efférents pour être dirigés dans l'épididyme où ils subissent leur maturation (10-11). L'épididyme du lapin est situé au bord médian du testicule avec lequel il est lié, c'est un canal extrêmement replié sur lui-même à l'intérieur d'une tunique conjonctive qui lui confère une forme globale et allongée en croissant d'un pôle à l'autre du côté dorsale du testicule (12). Chaque épididyme est constitué de trois parties : la tête, le corps et la queue. La tête est volumineuse et 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 (13).

1.1.4 Canal déférent

Ce canal transporte le sperme du testicule vers la vésicule séminale (8), le canal déférent s'étend dorso-crânialement au corps de l'épididyme par le canal inguinal et pénètre dans la cavité abdominale. La dernière partie de ce canal forme une bascule autour de l'urètre et devient à ce stade fusiforme. Bien que l'épaisseur de diamètre ne diffère pas du reste du canal déférent (Figure 2). Ce segment est généralement ampoulé (14).

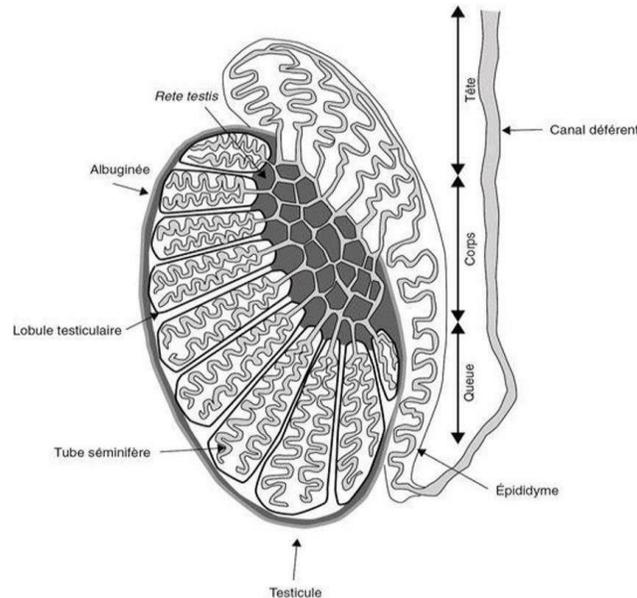


Figure 2 : Organisation de testicule et l'épididyme (15).

1.1.5 Urètre

L'urètre est un conduit long de 12 à 13 Cm dont 8-9 Cm seulement pour la partie spongieuse (pénienne), servant à la fois à l'évacuation de l'urine lors de la miction et du sperme lors de l'éjaculation (16). Il part de la vessie et tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité (17).

1.1.6 Glandes annexes

Plusieurs types de glandes sont associés au tractus génital mâle : la vésicule séminale, la glande vésiculaire, la prostate, les glandes para-prostatiques et la glande de Cowper. L'ensemble de leurs sécrétions constitue le liquide spermatique lequel mélangé aux spermatozoïdes, constitue le sperme (18).

1.1.6.1 Vésicule séminale

La vésicule séminale est bilobée, placée entre le rectum et la vessie, dont la partie terminale fusionne avec les ampoules différentielles pour former le canal éjaculateur qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre (13).

1.1.6.2 Glande vésiculaire

Aussi appelée glande pro prostatique ou prostate crâniale, elle est de forme ovale, relativement volumineuse, bilobée avec une couleur blanchâtre liée à l'accumulation des sécrétions granulaires blanches. Sur la face dorsale, elle s'ouvre dans l'urètre par deux canaux excréteurs (19).

1.1.6.3 Prostate

La prostate est la principale glande accessoire de l'appareil génital, elle est volumineuse, et facilement reconnaissable par sa couleur claire. Elle est située sous la glande vésiculaire et s'ouvre par quatre à six conduits dans l'urètre (13).

1.1.6.4 Glandes para prostatiques

Les glandes para prostatiques sont nettement plus petites, arrondies situées de part et d'autre de l'urètre, ventralement à la prostate. Elles débouchent dans l'urètre par un nombre variable de petits conduits (17).

1.1.6.5 Glande bulbo-urétrale (glande de Cowper)

Ce sont des formations sphériques paires, bilobées, volumineuses chez les lapins et placées postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par au moins 4 canaux (20).

1.1.7 Pénis

Il est court et son diamètre diminue de la base à la pointe. Il est dirigé obliquement vers l'arrière (Figure 3). Lors de l'érection, le prépuce s'ouvre, ce qui permet au pénis de se porter en avant et s'extérioriser (8).

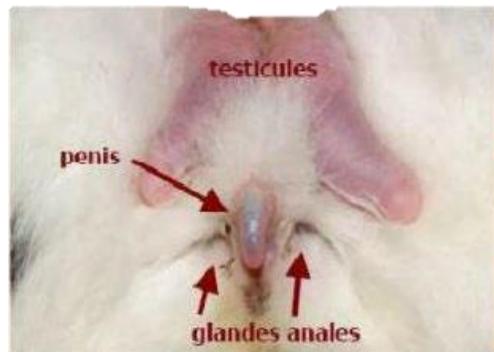


Figure 3 : Pénis du lapin (21).

1.2 Physiologie de la reproduction chez le mâle

1.2.1 Développement des gonades et la puberté

La différenciation des gonades commence le 16^{ème} jour suivant la fécondation. Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis ont une croissance très rapide après l'âge de cinq semaines. Les glandes annexes ont une croissance du même type mais légèrement décalée dans le temps (22).

1.2.2 Spermatogénèse et production des gamètes mâles

La spermatogénèse est l'ensemble des divisions et différenciations cellulaires, composée par 2 étapes, la phase d'élaboration proprement dite dans les tubes séminifères et la phase de maturation (ou cycle spermatogénétique) au niveau de l'épididyme. Elle commence entre 40 et 50 jrs après la naissance, les tubes séminifères étant actif aux alentours de 12 semaines. Des spermatozoïdes sont présents dans les éjaculats à partir de 16 semaines (23-24), les jeunes lapins cherchent à s'accoupler. Cependant, la qualité de la semence est encore faible.

1.2.2.1 Cycle spermato-génétique

Le cycle spermato-génétique représente la succession chronologique des différents stades de la spermatogenèse en un point donné du tube séminifère (Figure 4). Il représente l'ensemble des divisions et différenciations cellulaires, permettant à partir d'une cellule souche qui est la spermatogonie d'élaborer un spermatozoïde non mature (13).

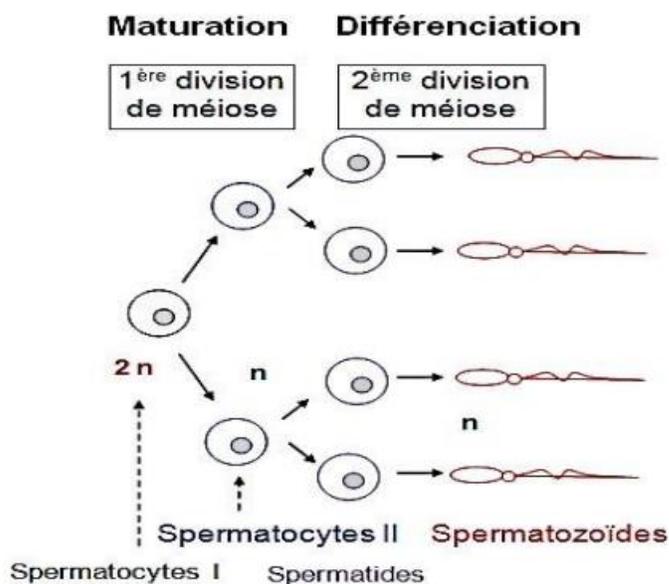


Figure 4 : Étapes de la spermatogenèse (25).

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 seront déversés dans l'épididyme avec le liquide spermatique (8). Les testicules continuent de croître et d'augmenter la production de spermatozoïdes jusqu'à l'âge de six mois (26). Le voyage des spermatozoïdes dans les tubules testiculaires afin d'atteindre le canal déférent peut prendre jusqu'à une semaine (8). Le volume de sperme éjaculé est d'environ 0,3 à 0,6 ml. La concentration est évaluée d'environ 150 à 500 x10⁶ spermatozoïdes par ml, mais le volume et la concentration sont susceptibles de varier (27).

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, les spermatozoïdes prélevés au niveau des tubes séminifères et même au début de l'épididyme ne sont pas encore fécondants. Le transit épидидymaire permet leur transport, stockage au niveau de la queue et l'acquisition de motilité (28).

1.3. Composition de la semence chez le lapin mâle

1.3.1. Spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule profondément transformée, apte à féconder un ovule maternel d'une même espèce (29). Le spermatozoïde mature comprend deux parties principales, la tête et la queue qui sont reliées par le cou. La queue est composée d'une pièce intermédiaire et deux pièces principales et terminales qui constituent le flagelle (Figure 5) (30). Le spermatozoïde du lapin mesure entre 55 et 57 μm , dont la tête 6,5 à 9 μm , la pièce intermédiaire 9 μm et la portion principale et terminale 39 μm (31).

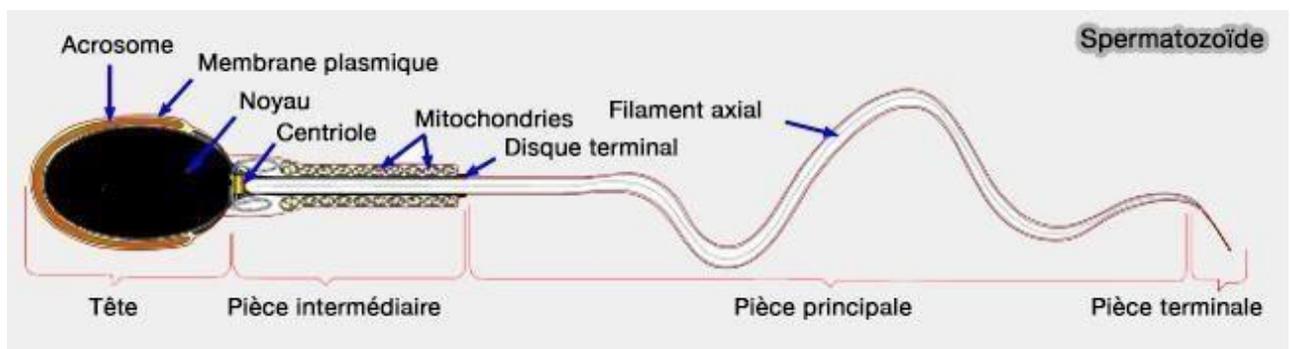


Figure 5 : Structure du spermatozoïde de lapin (32).

1.3.2. Plasma séminal

Le plasma séminal est constitué d'un mélange des sécrétions de l'épididyme et des glandes annexes. Il est composé d'une partie fluide et l'autre gélatineuse. Il assure le transport des gamètes lors de l'éjaculation et assure aussi d'autres rôles biologiques. Son pH varie entre 6,8 et 7,3 alors que la pression osmotique semble proche de 308 milliosmole (mOsm). Le plasma par sa composition peut radicalement modifier les caractéristiques de la semence (13).

1.3.3. Gel

Le gel est muco-gélatineux sécrété par les glandes annexes, il est plus ou moins consistant, transparent et peu soluble. Il pose problème lors de la dilution et c'est pour cela qu'il faut l'enlever de la fraction spermatique par glissement le long de la paroi du tube soit par une pipette pasteur, soit par une paille. La présence ou l'absence de gel doit être notée pour caractériser l'éjaculat et le mâle (13).

CHAPITRE II

Méthodes de récolte et évaluation
de la semence chez le lapin mâle

CHAPITRE 2 : MÉTHODES DE RÉCOLTE ET ÉVALUATION DE LA SEMENCE CHEZ LE LAPIN MALE.

2.1. Récolte du sperme

On utilise un vagin artificiel de taille adaptée. Un tube collecteur gradué à fond conique est fixé à une extrémité. La lapine boute-en-train est introduite dans la cage du mâle, le vagin artificiel placé sous son ventre en arrière. Lorsque le mâle s'appuie sur la lapine, on dirige son pénis vers le vagin artificiel de l'index (33-34). Le lapin peut être collecté 1 à 7 fois par semaine (35). Lorsqu'on compare un rythme de collecte intensif (lundi, mercredi et vendredi), un rythme intermédiaire (mardi et vendredi) et un rythme extensif (1 jour par semaine, le jeudi), la meilleure combinaison entre les caractéristiques du sperme, la production de spermatozoïdes par semaine et la fertilité est obtenue avec le rythme extensif (36), avec 2 sauts à 15 minutes d'intervalle chaque fois (35). L'utilisation d'un électro-éjaculateur fournit un volume de sperme inférieur : 0,33 ml contre 0,72 ml avec un vagin artificiel (35).

2.1.1. Préparation du mâle à la collecte

Le mâle étant le premier concerné par la réussite de la collecte, il a été constaté qu'il pouvait répondre plus ou moins bien à la sollicitation selon l'opérateur. Un opérateur calme, attentif et patient augmentera ses chances de réussite. La femelle utilisée comme boute-en-train constitue un des stimuli de l'éjaculation. Elle doit être présentée en position de lordose (13). (37) ont débuté l'entraînement des mâles au vagin artificiel à l'âge de 5 mois. À l'âge de 6 mois, ils entrent en phase de production. Pendant 7 semaines, 2 éjaculats par mâle et par semaine ont été prélevés, avec un intervalle de 30 minutes entre les prélèvements. (38) ont pratiqué la même procédure de prélèvement d'une fois par semaine à raison de 2 éjaculats à 15 minutes d'intervalle.

2.2. Évaluation de la semence

2.2.1. Évaluation Macroscopique

Immédiatement après la récolte, un examen visuel est réalisé dans le tube de récolte. Ce qui permet d'apprécier :

- 1) **Volume** : le volume de l'éjaculat recueilli est mesuré après élimination du gel au moyen d'une pipette en verre, par lecture directe sur le tube gradué (39). Le volume de sperme du lapin varie entre les valeurs extrêmes de 0,25 à 1ml avec une moyenne de 0,6ml par l'éjaculat (40).
- 2) **Couleur** : la couleur a été déterminée selon (13), par observations de sperme dans un tube de collecte transparent. Le sperme a une couleur blanchâtre. Les éjaculats de faible concentration sont clairs, d'aspect aqueux voir légèrement jaunâtre. Ils contiennent parfois un gel muco-gélatineux plus ou moins consistant et transparent (13).

La couleur optimale de la semence est blanc nacré. Cette dernière peut être modifiée par la présence d'éléments étrangers (41) :

- Couleur jaune : présence d'urine ou de pus.
- Couleur rougeâtre : présence de sang frais.
- Couleur marron : présence d'éléments sanguins dégénérés ou matières fécales.
- Couleur blanchâtre ou transparente : indique une faible concentration en spermatozoïdes.

3) **Viscosité ou Consistance** : dépend de la concentration en spermatozoïde, comparée à l'eau distillé.

4) **pH** : la mesure du pH doit effectuer juste après la récolte, se fait à l'aide d'un pH mètre ou d'un papier indicateur. Les valeurs normales varient en général entre 6,8 à 7,3 (40).

2.2.2. Évaluation microscopique

2.2.2.1 Mobilité : Elle se traduit par des mouvements plus ou moins importants des spermatozoïdes (spz), et est indispensable pour que les spz remontent le tractus génital femelle. Elle peut être mesurée, sous microscope, soit en semence pure, soit en semence diluée (42).

2.2.2.2. Motilité massale (MM) : Par examen microscopique, on observe l'impulsion en masse des spermatozoïdes en mouvements, représentée sous forme de vagues. L'Intensité de la motilité massale est notée sur différents degrés référenciés. Selon (13), la motilité massale est classée sur une échelle de 0 (pas de spermatozoïdes) à 9 (aspect de tourbillons).

2.2.2.3. Motilité individuelle (MI) : elle est appréciée à l'aide de l'échelle d'Andrieu. Cette mesure est réalisée en utilisant une échelle allant de 0 à 5 ou de 0 à 4. L'estimation doit tenir compte donc de la vitesse de déplacement des spermatozoïdes, de la rectitude de celui-ci et de ses mouvements latéraux (13,30,43).

2.2.2.4. Pourcentage de spermatozoïdes mobiles : L'estimation visuelle du taux de spermatozoïdes mobiles est réalisée en même temps que l'estimation de la motilité individuelle. Si l'opérateur est entraîné, la corrélation entre le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et le pourcentage de spermatozoïdes vivants est généralement élevée (≥ 0.90). (30,44).

2.2.2.5. Concentration : Peut être mesurée à l'hématimètre (cellule de Thomas) après dilution avec une solution formolée à 1%. (45). La concentration moyenne de l'éjaculat du lapin est de l'ordre de 300 millions de spz/ml avec des extrêmes de plus de 750 millions spz/ml. (13).

2.2.2.6. Viabilité : La notion de viabilité spermatique est liée à l'intégrité membranaire du spz. L'estimation de l'intégrité membranaire peut être élaborée par plusieurs méthodes (46). On utilise généralement une série de colorations, parmi lesquelles l'éosine-nigrosine, l'iodure de pro pidium ou le trypan bleu. Toutes ces techniques reposent sur la capacité du spermatozoïde à empêcher l'incorporation de certains

colorants à l'intérieur, en raison de l'effet barrière exercé par sa membrane cytoplasmique (44).

2.2.2.7. Morphologie et les anomalies des spermatozoïdes

2.2.2.7.1. Morphologie

La morphologie du spermatozoïde du lapin est déterminée par la réalisation d'un frottis après coloration à l'éosine-nigrosine qui permet de classer les spermatozoïdes normaux et anormaux.

La morphologie des spermatozoïdes sera détectée par observation au microscopique (100x).

2.2.2.7.2. Anomalies de spermatozoïdes

La classification des anomalies développée pour les bovins et les porcs, et utilisée pour les lapins par certains auteurs (47-49), est comme suit :

1) Anomalies de la tête

Selon (50) les anomalies les plus fréquentes sont (Figure 6, 7) :

- **Tête allongée** : le grand axe est plus long que la normale et le petit axe présente une longueur normale.
- **Tête amincie** : le petit axe a une longueur plus petite que la normale et le grand axe présente une longueur normale.
- **-Tête microcéphale** : le grand axe et le petit axe sont plus petit que la normale.
- **Tête macrocéphale** : le grand axe et petit axe sont plus grands que la normale.
- **Tête multiple** : plus d'une tête par spermatozoïdes.
- **Tête à acrosome anormal ou absent** : l'acrosome normal occupe 40-70% de la surface de l'acrosome. L'acrosome normal joue un rôle important dans l'interaction des spermatozoïdes avec l'ovocyte.

- **Tête présentant une base (région post-acrosomique) anormale** : cette anomalie correspond à un défaut de la morphog nese de la tête et ou du noyau dans sa partie distale.

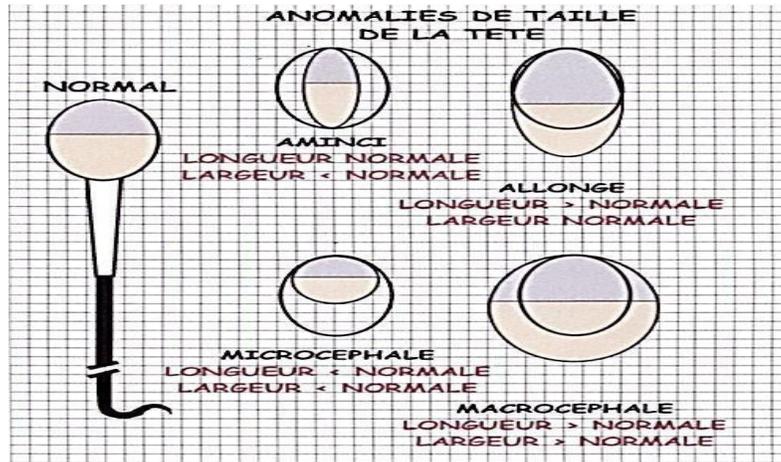


Figure 6 : Illustrations des anomalies de taille de la tête de *spz* (51).

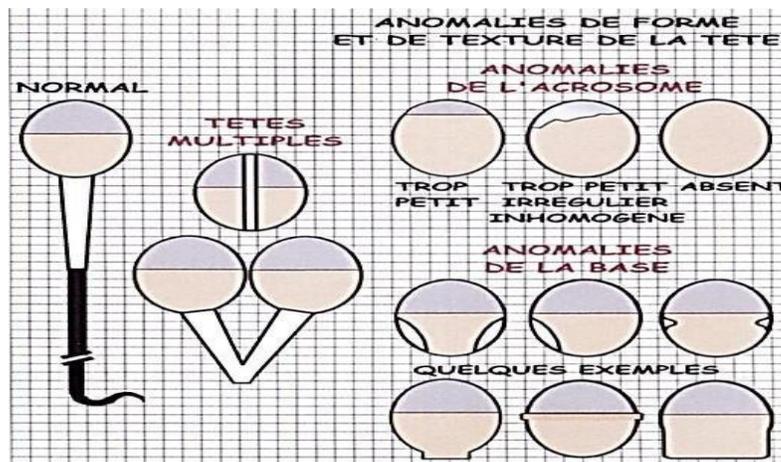


Figure 7 : Illustrations des anomalies de forme et de texture de la tête de *spz* (51).

2) Anomalies de la pièce intermédiaire

Selon (50), les Anomalies de la pièce intermédiaire sont (Figure 8) :

- **Le reste cytoplasmique** : est considéré comme anomalie s'il y a une surface supérieure au tiers de la surface d'une tête normale. Il se situe à la jonction de tête à la pièce intermédiaire.
- **Pièce intermédiaire grêle** : correspond à une gaine mitochondriale qui ne s'est pas constituée.
- **Pièce intermédiaire enroulée** : la pièce intermédiaire et l'axe de la tête forment un angle net.

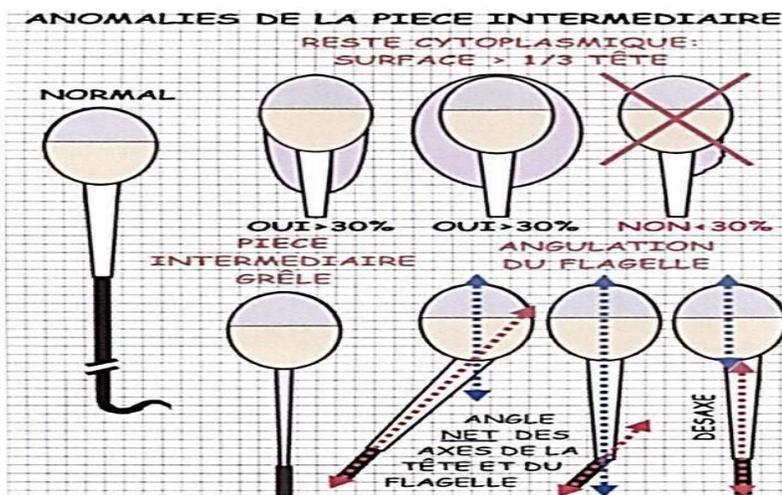


Figure 8 : Illustrations les anomalies de la pièce intermédiaire de spz (51).

3) Anomalies du flagelle

Selon (50) (Figure 9) :

- **Flagelle absent** : ou la pièce connective est rudimentaire.
- **Flagelle court** : flagelle inférieur à cinq fois la longueur de la tête.

- **Flagelle irrégulier** : quand le diamètre du flagelle est variable, présentant des rétrécissements ou élargissement.
- **Flagelle enroulé** : flagelle enroulé autour de la tête ou en dehors de la tête.
- **Flagelle multiple** : il y a plus d'un flagelle par spermatozoïde, la pièce intermédiaire étant commune ou multiple.

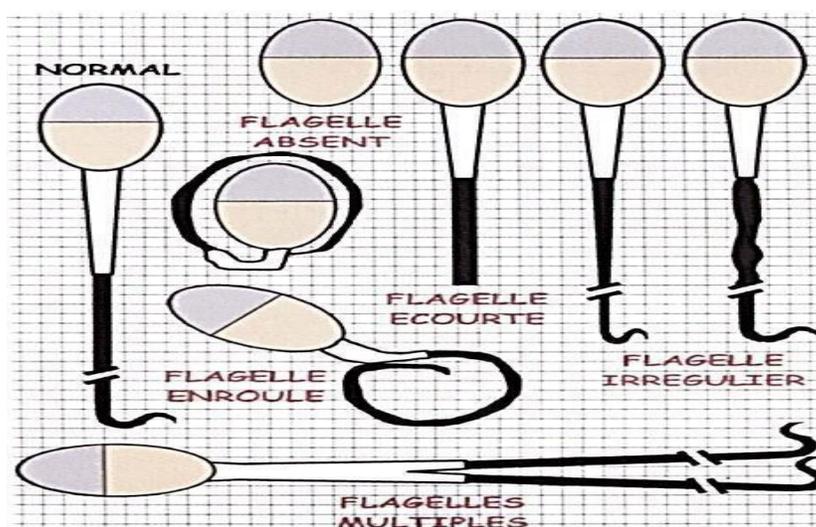


Figure 9 : Illustrations des anomalies du flagelle (51).

2.3. Facteurs influençant sur la production et la qualité du sperme

2.3.1. Age et race

La qualité et la quantité de semence produite par le mâle, varie selon son origine génétique (52). L'âge des mâles influence significativement sur la concentration et le nombre des spermatozoïdes motiles obtenus par éjaculat. En effet les mâles adultes de 9 à 12 mois ont une semence de concentration et un nombre de spermatozoïdes motiles plus élevé que celle des mâles jeunes de 4 à 5 mois (53).

2.3.2. Saison

De nombreux travaux ont décrit les variations saisonnières de l'activité sexuelle du lapin mâle dans la nature. Ainsi, l'activité de reproduction est importante pendant les jours croissants (de février à juillet généralement) et devient quasi nulle en automne (54).

2.3.3. Nutrition

L'alimentation des mâles est un facteur influençant sur les caractéristiques de la semence et la libido, particulièrement lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant (55).

Il est conseillé que l'aliment donnée aux lapins comporte plus de 15% de protéines (56).

2.3.4. Température

La température est un facteur qui influence significativement la spermatogenèse, en affectant la qualité du sperme, la concentration et le volume des éjaculats (55). Au-dessus d'une température ambiante de 30°C, l'activité sexuelle du lapin est réduite suivie d'une chute de la spermatogénèse et de la qualité de la semence (57,54). En contrepartie les températures faibles (inférieures à 10°C, voire 0°C) ne semblent pas perturber les lapins dans leurs activités sexuelles (54).

2.3.5. Fréquence de collecte

Bien que la production de sperme soit très variable entre les mâles et selon les éjaculats pour un même mâle, la fréquence des collectes influence directement la quantité et la qualité de la semence (55). Un rythme de collecte trop intense augmente le nombre des spz immatures et diminue les résultats de fertilité (55).

CHAPITRE III

Conservation et l'effet des dilueurs

CHAPITRE 3 : CONSERVATION ET L'EFFET DES DILUEURS

3.1. Conservation de sperme

La conservation de la semence à moyen et à long terme présente des intérêts indubitables. Par deux techniques : la réfrigération et la congélation, la première permet une conservation de quelques heures à quelques jours, la seconde rend possible la dissociation totale de chantiers de collecte et d'insémination (13).

L'intérêt de conserver la semence de lapin pendant une période de 24-72h a fait l'objet de plusieurs essais durant ces dernières années, ainsi la possibilité de conserver la semence pendant cette période améliorerait l'organisation des centres de diffusion de semence de lapin. Une diminution de la température permet d'augmenter la durée de conservation et la capacité fécondante du sperme (58).

De nombreux auteurs ont étudié l'effet de la conservation sur la motilité. Ils ont observé qu'une température de conservation comprise entre 15 et 19°C est la plus favorable à la survie des spermatozoïdes. De bons résultats de fertilité et de prolificité ont aussi été obtenus avec du sperme conservé pendant 24-72h avec des doses d'insémination comprenant un nombre important de spermatozoïdes (entre 26 et 48 x 10⁶) (58).

3.1.1. A l'état frais « réfrigération »

La conservation de la semence animale à l'état frais passe par sa dilution immédiate après le prélèvement du sperme. La conservation de la semence fraîche à 4 °C réduit le métabolisme des spermatozoïdes ce qui permet une économie de leurs réserves énergétiques et une bonne conservation de leur mobilité qui est restaurée après réchauffement (59).

3.1.2. Congélation

La cryoconservation correspond à la préparation d'une suspension de cellules en vue de son stockage à une température inférieure à -80°C. Cette action permet la conservation de cette suspension pendant de nombreuses années et son utilisation après décongélation à une

température corporelle (60). La décongélation est la dernière étape de la congélation, qui est essentielle pour assurer la survie, la mobilité et la capacité de fécondation des spz cryoconservés. La décongélation se réalise de manière similaire en utilisant un bain- marie (61).

3.2. Principes généraux

3.2.1. Utilisation des dilueurs

Les spermatozoïdes conservés par réfrigération ou par congélation doivent être dilués dans de bons dilueurs (62), 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 (63-64).

3.2.2. Caractéristiques du milieu de dilution

Un milieu permettant la survie des spermatozoïdes et répondant à un certain nombre de critères doit (59) :

- 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.

3.2.3. Composition des dilueurs

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

a. Jaune d'œuf

Son utilisation a montré une augmentation du pouvoir fécondant. Il est généralement utilisé à des concentrations de 20% V/V (65). Le jaune d'œuf contient des 7 phospholipides et des lipoprotéines (LDL) qui assurent une protection efficace de la membrane des spermatozoïdes et qui constituent un soutien nutritionnel pour elle (66).

b. Antibiotiques

Ils freinent la propagation de bactéries car la plupart des éjaculats sont contaminés par des bactéries (67).

c. Iméthyl sulfoxide (DMSO)

Il a été découvert en 1959 par Lovelock et Bishop M. C'est un cryoprotecteur intracellulaire, à pénétration rapide, ce qui permet de limiter la durée de l'équilibration (68).

d. Ethylène-glycol (EG)

Les chercheurs ont montré que l'EG est un cryoprotecteur (69). En 2011, (70) ont trouvés que 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).

e. Glycérol

C'est le plus utilisé des cryoprotecteurs dans le monde. Il 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 (64).

3.3. Différents dilueurs utilisés pour le lapin

Les dilueurs à base de Tris (Tris, acide citrique et fructose ou glucose) sont la base des dilueurs fréquemment utilisés pour la cryoconservation des spz de lapin (46). Plusieurs dilueurs ont été mis au point par des chercheurs, Il est reconnu que le jaune d'œuf et le lait contiennent des protéines qui assurent une protection et une stabilisation des membranes des spz (71).

-D'ailleurs, (72) ont montré que l'utilisation d'un dilueur à base de lait écrémé permet d'obtenir de bons résultats en termes de mobilité et de vitalité des spz après leur réfrigération.

-(73) ont également montré que le jaune d'œuf permet de maintenir la mobilité et l'intégrité acrosomiale des spz au cours de leur réfrigération.

-(74), ont montré que l'ajout de sucres (glucose ou fructose) au dilueur permet de maintenir une mobilité supérieure à 70 % jusqu'à 8 jours de conservation à 5°C.

Partie Expérimentale

Partie Expérimentale

1. Objectif

Notre étude vise à comparer l'effet de deux dilueurs différents (Galap et le DP-SOW) sur la conservation de la semence du lapin, sur une durée de (24, 48,72h) à une température de 4°C.

2 . Lieu et durée de l'expérimentation

L'expérimentation a été menée dans le clapier de la station expérimentale de l'Université de Blida 1, ainsi qu'au laboratoire de recherche en biotechnologie de la reproduction animale (LBRA) de l'Institut des Sciences Vétérinaires (ISV) de l'université de Blida 1. Notre expérimentation s'est étalée de janvier jusqu'à Février 2024.

3 . Bâtiment d'élevage

Le clapier est intégré à un bâtiment en dur d'une superficie de 184 mètres carrés (Figure 10a), doté d'une charpente métallique et d'une toiture en plaques d'éternit pour assurer une ventilation naturelle. Des néons sont installés dans tout le bâtiment et sont allumés pendant les manipulations. À l'entrée principale se trouve un couloir, avec deux salles de maternité sur la droite et une grande salle d'engraissement à l'arrière. Les murs sont pourvus de deux fenêtres de type vasistas pour un éclairage naturel. Les animaux sont logés dans des cages (voir figure 10b) mesurant 70 cm de long, 40 cm de large et 30 cm de haut. Chaque cage est équipée d'une mangeoire et d'un système d'abreuvement à tétine.



Figure 10 : Bâtiment d'élevage cunicole (a) et cages individuelles (b).

4 . Aliment

Tous les animaux étaient nourris à base d'un aliment granulé spécial pour lapins à volonté produit localement à Boumerdes, dans des trémies métalliques qui équipent chacune des d'élevage (Figure 11).



Figure 11 : Aliment Granulé.

5 . Eau de boisson

L'eau destinée aux animaux est issue du réseau local d'eau potable. Chaque matin des bacs en plastiques de 6 litres connectés au système de conduits, sont remplis d'eau potable et fraîche (Figure 12).



Figure 12 : Bac d'eau.

6 . Matériel

6.1 Matériel biologique

Les lapins utilisés dans cette expérimentation sont issus de la souche synthétique. Produit et élevés dans le clapier de la station expérimentale. Les lapins de souche synthétique (n=5) sont âgés en moyenne de 3 ans et d'un poids varient entre 2,95 et 3,67 kg (Figure 13).



Figure 13 : Pesé des lapins de souche synthétique.

6.2. Matériel Non biologique

Le matériel non biologique est présenté dans l'Annexe A.

7 . Méthode

Les différentes étapes suivies dans notre partie expérimentale sont présentées dans l'organigramme suivant :

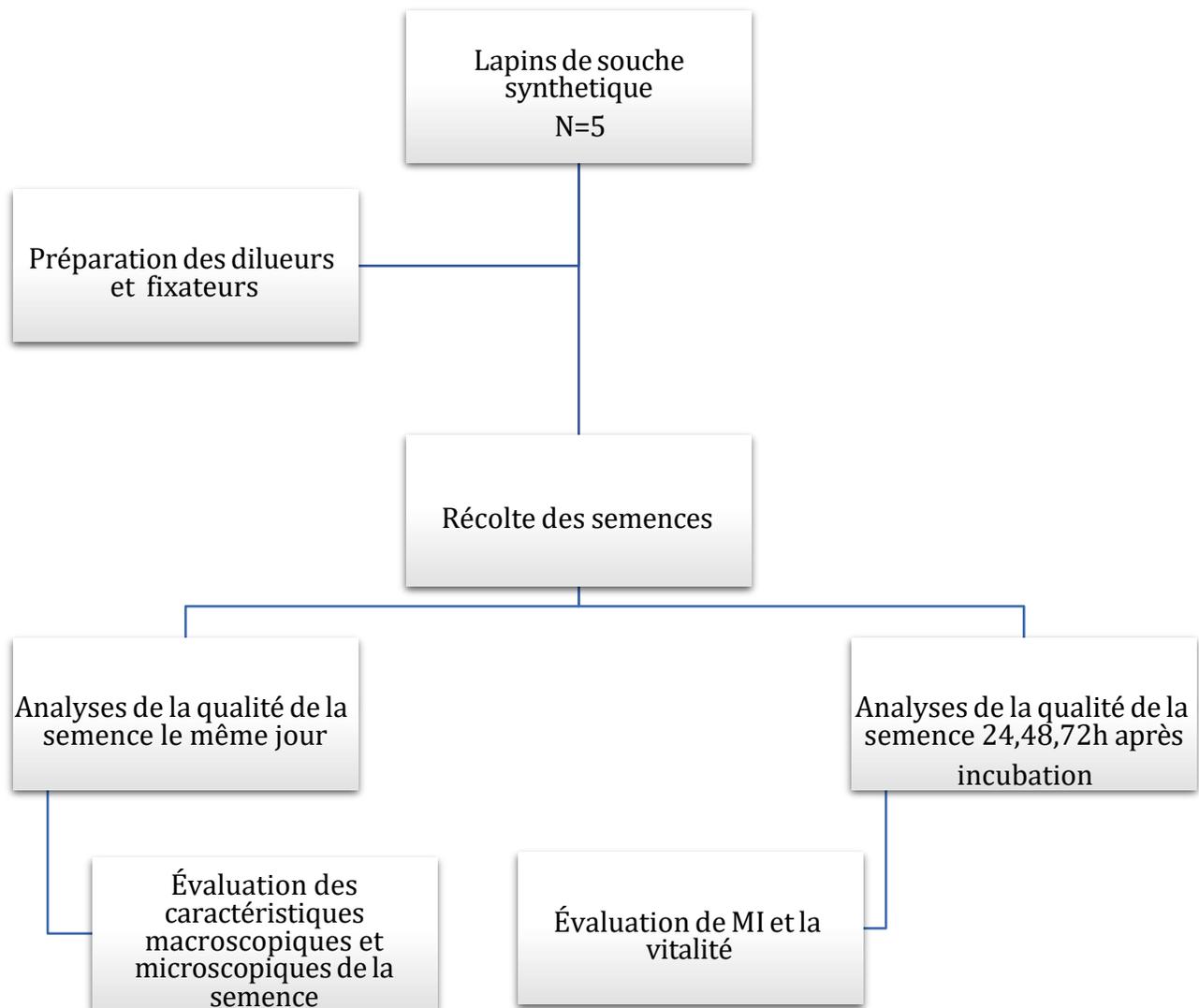


Figure 14 : Protocole expérimental utilisé

7.1 Préparation des dilueurs

Nous avons utilisé dans notre étude deux dilueurs, le dilueur GALAP (D1) fait spécialement pour le lapin et le dilueur DP-SOW (D2) destiné au verret dont les compositions sont présentées ci- dessous :

Composition :

- GALAP : Conservateur et antibiotiques.
- DP-SOW : Glucose, EDTA, Citrate de sodium, Acétate de potassium, Tampon conservateur.

Technique de préparation (Figure 15) :

- Pour le dilueur D1 : le dilueur est déjà préparé et prêt à l'emploi.
- Pour le dilueur D2 : le dilueur est en forme de poudre et se prépare comme suit :

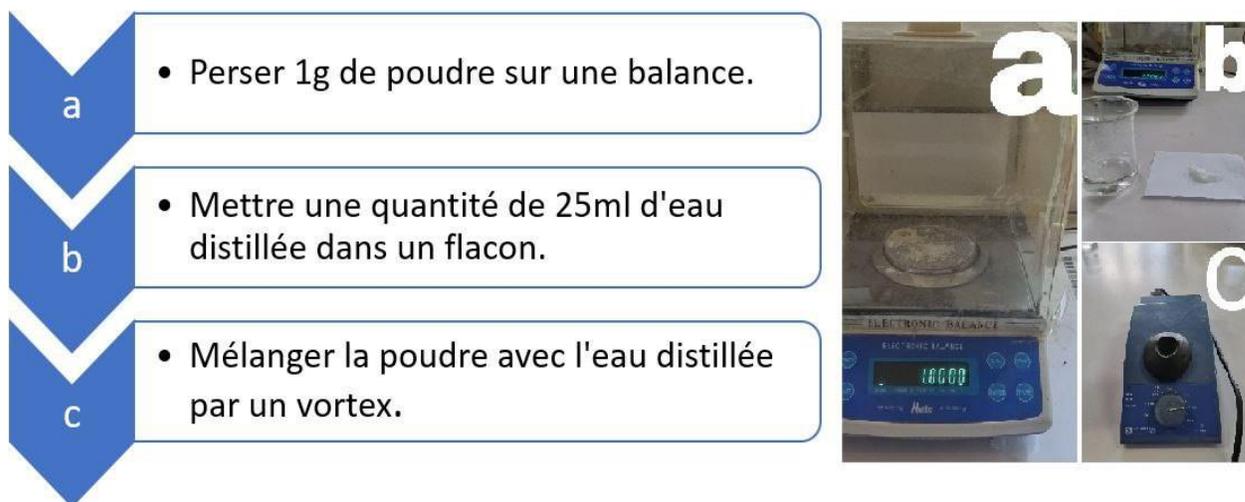


Figure 15 : Étapes de préparation du dilueur D2 (a, b, c)

7.2 Récolte de la semence

7.2.1 Préparation des mâles à la récolte de la semence

Avant la récolte et l'analyse de la semence pour notre expérimentation, les mâles ont subi un entraînement quotidien pour la collecte du sperme à l'aide d'un vagin artificiel en utilisant des femelles boute-en-train.

7.2.2 Préparation du matériel de récolte de la semence

Avant la collecte, le vagin artificiel est d'abord bien nettoyé et réchauffé avant l'utilisation à l'aide d'un bain marie maintenue entre 55 et 60°C pour avoir à son intérieur une température égale à 37°C (Figure 16), le tube de collecte gradué est placé à son extrémité pour pouvoir récolter la semence.



Figure 16 : Préparation du vagin artificiel

7.2.3 Technique de récolte

En premier lieu, déposer la femelle sur la cage pendant 5 mn afin de stimuler le mâle (Figure 17a). Après, introduire la femelle dans la cage, en portant le vagin artificiel entre les pattes arrières proche du périnée en orientant le vagin vers le pénis pour faciliter l'intromission de ce dernier (Figure 17b, c). Lorsque le mâle éjacule, il tombe en arrière ou à côté en émettant quelque fois un cri caractéristique.



Figure 17 : Etapes de la technique de récolte (a,b,c)

7.3 Analyse du sperme

7.3.1 Examen macroscopique

L'examen macroscopique commence au niveau du clapier juste après la collecte du sperme. Nous débutons l'analyse en évaluant la couleur, le volume avec et sans gel et le pH.

- **Couleur** : La couleur est évaluée par l'observation de la semence éjaculée dans un tube de collecte transparent (Figure 18).



Figure 18 : Evaluation de la couleur

- **Volume** : Le volume total de l'éjaculat recueilli est mesuré par une lecture directe sur le tube gradué servant à la collecte. Si le sperme recueilli contient du gel, ce dernier est retiré.

pH : La mesure du pH se fait à l'aide d'un papier pH comme suit ; Une goutte de semence est prélevée à l'aide d'une micropipette et est déposée sur une bandelette de pH. La couleur obtenue est comparée avec la couleur sur la boîte (Figure 19).



Figure 19 : Mesure du pH

7.3.2 Examen microscopique

Après la récolte, les tube de collectes sont mis dans des gourdes isothermes (Figure 20a) afin d'éviter la diminution de la température, puis sont transporté immédiatement au niveau du laboratoire de recherche et sont placés dans un bain marie à 37°C (figure 20b) pour réaliser l'examen microscopique.



Figure 20 : Gourdes isothermes (a) et Bain marie(b).

7.3.2.1. Système CASA

Le système CASA (Computer Analyser System Assisted) (figure 21) est constitué d'un microscope (Nikon) avec des objectifs à contraste de phase négatif (10×, 20×, 40×, 60×), une caméra (Nikon), et un moniteur (hp) qui permet de voir en même temps l'image du microscope et l'image digitalisé par la fiche de l'ordinateur. Le logiciel utilisé pour l'analyse de la motilité est le SCA ver qui permet de quantifier le nombre de spermatozoïdes (spz) ayant un déplacement lent, moyen, rapide, et progressif, les paramètres de vitesse, l'angle et la rectitude des trajectoires. Ce système nous permet aussi le dénombrement et trouver le pourcentage des spermatozoïdes vivants.



Figure 21 : Système CASA et Microscope Nikon.

7.3.2.2. Estimation de la motilité massale :

La motilité massale est le mouvement d'ensemble des spermatozoïdes. Cette dernière est estimée directement après la collecte par observation d'une goutte de sperme déposée sur une lame sous microscope optique au grossissement X10. Une note est attribuée selon l'échelle de Petitjean de 0 à 9 (Tableau 1). Pour observer, nous passons par les différentes étapes (Figure 22).

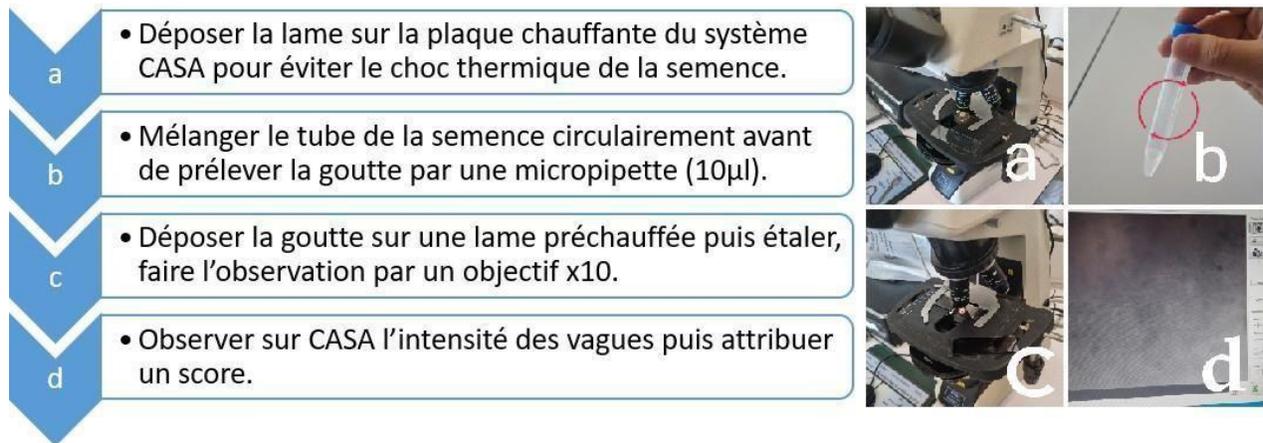


Figure 22 : Étapes de l'évaluation de la motilité massale.

Tableau 1 : Echelle de Petitjean (1965) pour notation de la motilité massale (13).

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 bonnemaïs 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 énergétiques, aspect de tourbillons, motilités excellentes.

7.3.2.3. Motilité individuelle

La motilité individuelle des spz est évaluée comme suit :

Prélever 10 microlitres de semence et les diluer dans 200 microlitres de sérum physiologique à savoir une dilution au 1/30 puis homogénéiser la solution contenant les spermatozoïdes. Mettre 10 microlitres de la semence diluée entre la lame et la lamelle, puis observer au Microscope du système CASA (grossissement X10) avec un filtre vert.

Ce système nous permet de voir les mouvements de chaque spz immobiles, circulaires, et d'apprécier leur vitesse, ils apparentent selon quatre couleurs : jaune pour statique, verte pour la vitesse moyenne, bleue pour la vitesse lente et rouge pour la vitesse rapide. Puis donner un score selon l'échelle d'Andrieu (Tableau 2).

Tableau 02 : Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle (13)

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.

7.3.3. Détermination de la concentration

La concentration de spz par ml de semence fraîche est déterminée à l'aide d'un hématimètre de type cellule de Thoma (Figure23).

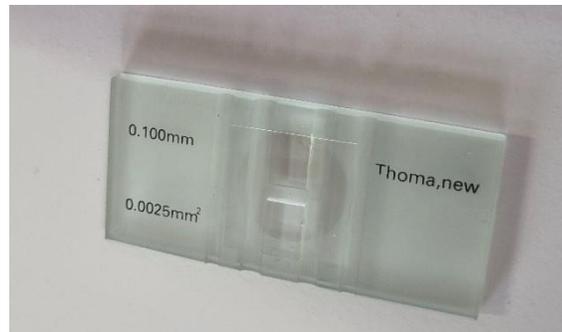


Figure 23 : Hématimètre de Thoma.

Le sperme est dilué dans une solution de fixative à une proportion de 1/200. L'évaluation se déroule en plusieurs étapes (Figure 24) :

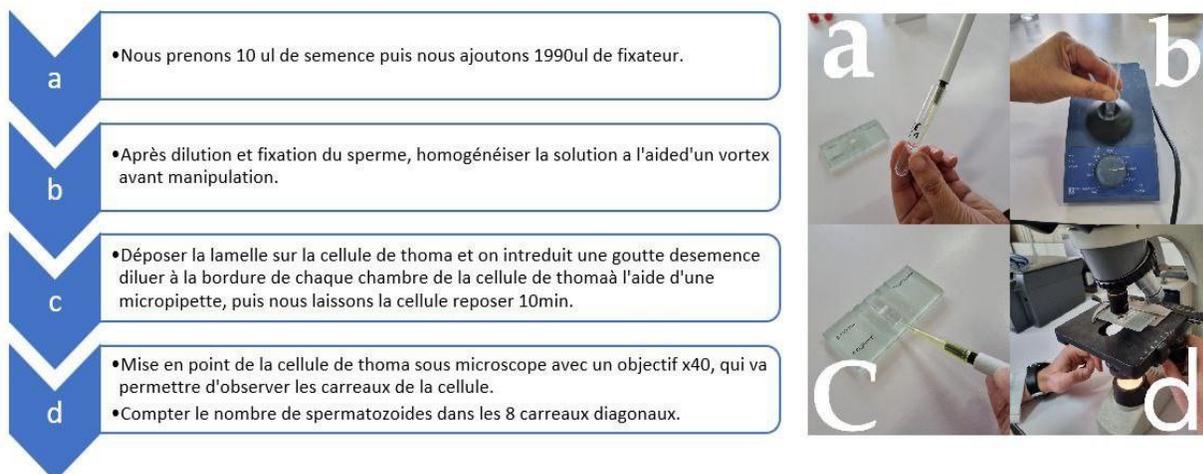


Figure 24 : Étapes d'évaluation de la concentration des spermatozoïdes (a, b, c, b).

Le calcul de la concentration des spz se fait à l'aide de la formule suivante :

$$C = N \times 200 / 64 \text{ (} 10^6 \text{ spz)}$$

Avec :

C = Concentration des spz par ml.

N = Nombre des spz comptés dans les huit carreaux.

D = Facteur de dilution (=200)

7.3.4. Estimation de la vitalité

C'est le pourcentage des spz vivants comptés par observation sur le système CASA avec le grossissement $\times 20$ après avoir réalisé un frottis spermatique coloré à l'éosine-nigrosine (Figure 25).



Figure 25 : Tubes eppendorf contenant de l'eosine et nigrosine.

Les étapes sont les suivants (Figure 26) :

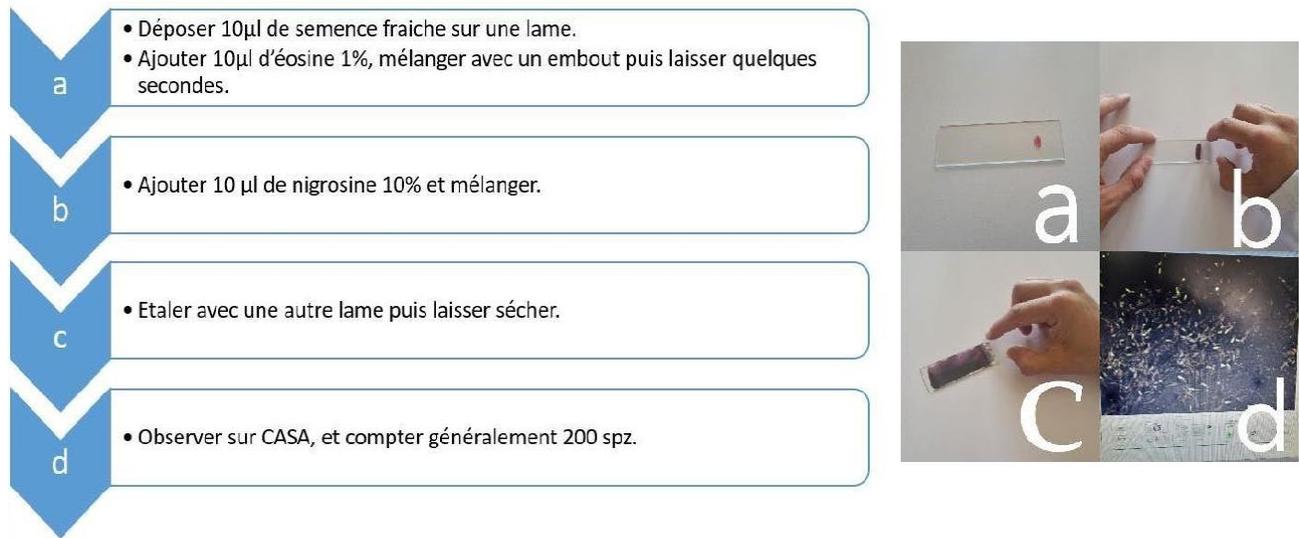


Figure 26 : Etapes de l'évaluation de la vitalité (a, b, c, d).

Les spermatozoïdes dont la tête est colorée en rouge sont morts tandis que les spermatozoïdes vivants ont une tête colorée en blanc.

7.3.5. Évaluation de la morphologie

La même lame qui a été utilisée pour évaluer la vitalité des spermatozoïdes est également utilisée pour détecter les anomalies de ces derniers en examinant 200 spermatozoïdes, en utilisant toujours le système CASA avec un grossissement x20 et sans le filtre vert. Il existe plusieurs types d'anomalies qui peuvent être identifiées, liées à la tête, à la pièce intermédiaire, à la gouttelette cytoplasmique ou à la queue ou au flagelle du spermatozoïde (Figure 27).

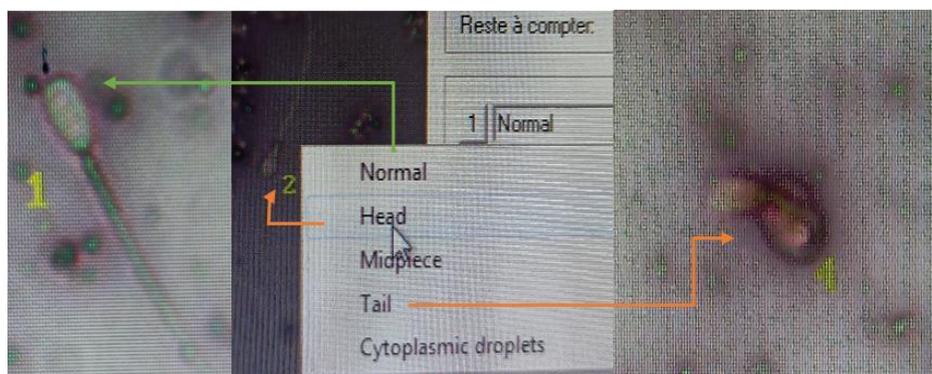


Figure 27 : Anomalies des spermatozoïdes

7.4. Étapes de dilution du sperme de lapin et conservation par réfrigération

Pour le dilueur D1 et D2 :

On préleve de la semence et dilueur par micropipette et on réalise une dilution de l'ordre de 1/30, puis on transfère délicatement le sperme et les dilueur dans des tubes (identifiés et stériles) en mélangeant doucement pour homogénéiser la solution.

Pour permettre la conservation du dilueur D1, D2 et du témoin :

On Stocke le sperme témoin et dilué à la température appropriée (4°C du réfrigérateur).

7.5. Analyse statistique des résultats

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

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

La probabilité « **p** » est déterminée sur la table de distribution des « t » en fonction du degré de liberté (**n1 + n2 - 2**) ; si :

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

8. Résultats

Dans ce chapitre, nous exposons nos résultats en deux sections distinctes :

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

8.1. Qualité de la semence fraîche

Connaitre la qualité du sperme avant réfrigération est cruciale pour évaluer les changements des spermatozoïdes. C'est pourquoi nous avons commencé par analyser la semence immédiatement après la collecte.

8.1.1. Analyse macroscopique

8.1.1.1. Volume

Le volume moyen de la semence chez les lapins de la souche synthétique est de $1,5 \pm 0,25$ ml.

8.1.1.2. Couleur

Nous avons remarqué que sur les cinq lapins utilisés, il y en avait quatre qui avaient la même couleur spermatique blanchâtre, sauf un qui avait une couleur blanc laiteux.

8.1.1.3. pH

La valeur moyenne du pH obtenue est : 6,95.

8.1.2. Analyse microscopique

8.1.2.1. Motilité massale

Le score de motilité massale varie entre 0,5 et 7,5 selon le l'échelle de petitjean 0 à 9 (Tableau 2). Deux lapins (3,4) présentent un sperme avec une bonne mobilité, deux autres (1,5) présentent un sperme avec une mobilité moyenne, et un lapin (2) a une faible mobilité.

8.1.2.2. Motilité individuelle

Le score varie entre 0,25 et 3 représente selon le tableau de 0 à 4 d'Andrieu (Tableau 3).

Tableau 3 : Score de la motilité massale et individuelle des spz du sperme des différents lapins.

N° des lapins	Motilité Massale	Motilité Individuelle
1	5	2,75
2	0.5	0,25
3	7.5	2,75
4	7.5	3
5	4	2,75

8.1.2.3. Concentration en spermatozoïdes

La concentration en spz de la semence analysée dans notre étude est en moyenne de $371,875 \times 10^6$ spz/ml.

8.1.2.4. Morphologie des spermatozoïdes

Selon les résultats rapportés dans la figure (28), nous pouvons remarqués que 38,45% des spz sont normaux, alors que le pourcentage de spz anormaux est estimé à 51,55%, la plupart des anomalies sont liés à la queue avec une moyenne de 48,4%. Un faible pourcentage est trouvé pour les anomalies de la tête avec une moyenne de 2,35%, et 0,35% pour les anomalies liées à la pièce intermédiaire (Figure 29).

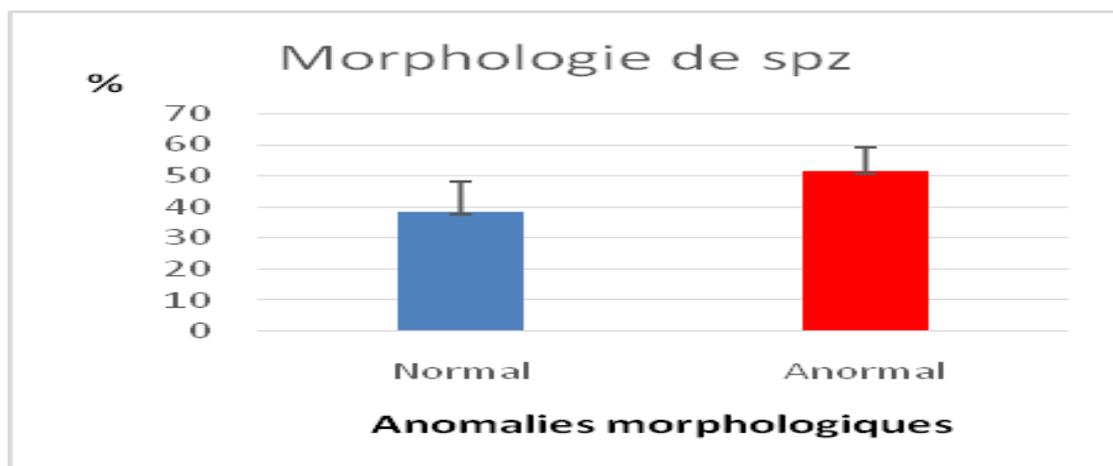


Figure 28 : Pourcentage des spz normaux et anormaux.

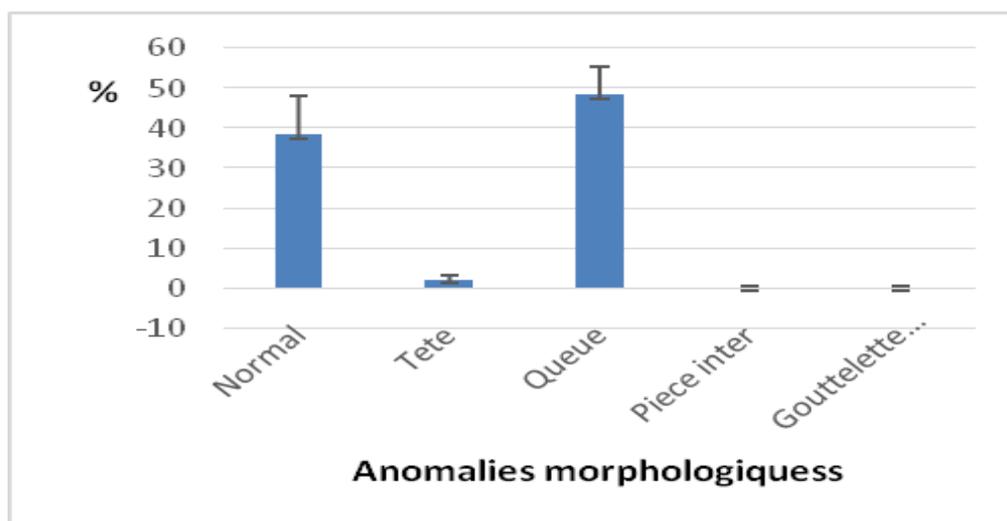


Figure 29 : Pourcentage des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.

8.1.2.5. Vitalité

Après la coloration par l'éosine-nigrosine. Le pourcentage des spz vivants est en moyenne de 70% et celui des spz morts est en moyenne de 30%.

8.2. Effet des dilueurs sur la qualité spermatique durant la conservation à 4°C

Le système CASA est utilisé pour évaluer les effets des deux dilueurs D1 et D2 durant une conservation de 72h sur les paramètres spermatiques à savoir la motilité et la vitalité des spz chez les lapins de souche synthétique.

8.2.1. Motilité

8.2.1.1. Motilité progressive

❖ La figure 30 illustre l'effet des dilueurs sur la motilité des spz, conservés à 4 °C.

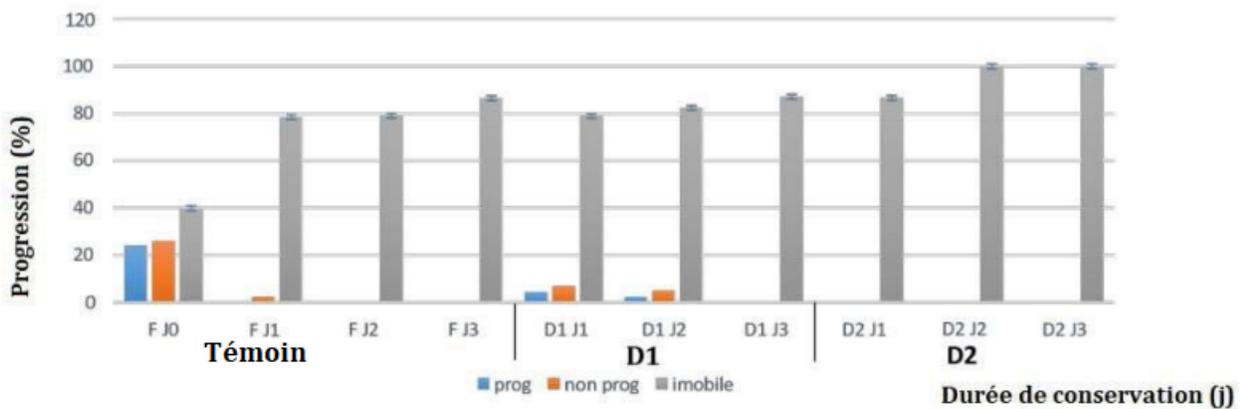


Figure 30 : Effet des dilueurs D1 et D2 sur la progression des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence. T : témoin, D : dilueur, J : jour.

Les résultats de l'analyse de la semence fraîche juste après la collecte (J0) a révélé un taux de motilité progressive de 24,08% ; non progressive est de 26,08% et immobile est de 39,82%. Nous avons constaté que la motilité progressive a diminué les jours suivants (J1 : 1,12 % ; J2 : 0,29% et J3 : 0,014 %). De même pour la motilité non progressive (J1 : 2,40 % ; J2 : 1,21 % et J3 : 0,67 %).

- **Pour le dilueur D1**, la motilité progressive diminue avec la durée de conservation. Elle est de 4,29% à J1, de 2,52% à J2 et de 1,25% à J3. La progression non progressive diminue elle aussi avec la durée de conservation. Elle diminue de J0 à J1 pour atteindre 6,82%, continue à J2 à 5,06%, et diminue encore à J3 pour atteindre 1,67%. Le pourcentage de spz immobiles augmente de J0 à J1 pour atteindre 78,87%, atteint 82,42% à J2, et continue jusqu'à atteindre 87,11% à J3.
- **Pour le dilueur D2**, la motilité progressive est de 1,61% à J1, et diminue encore jusqu'à atteindre 0% à J2 et J3. De même, la motilité non progressive diminue jusqu'à 1,75% à J1, et atteint 0% à J2 et J3. Le pourcentage des spz immobiles augmente avec la durée de conservation jusqu'à 86,63% à J1, et atteint 100% à J2 et J3.

Les résultats obtenus ont montré que la semence conservée à 4 °C présente une baisse de la motilité progressive de la semence fraîche ainsi que celle diluée dans le deuxième dilueur (DP Sow). Cependant, la semence diluée dans la solution de Galap maintient sa motilité progressive jusqu'au 3^{ème} jour (J3 : 1,252%). L'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative ($p=0,084$) sur l'effet des deux dilueurs sur la motilité progressive de la semence conservée à 4 °C.

8.2.1.2. Vitesse de déplacement des spermatozoïdes (Rapide, Moyenne, lente, Immobile)

L'Effet des dilueurs D1 et D2 sur la vitesse des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence est représenté dans la figure 31.

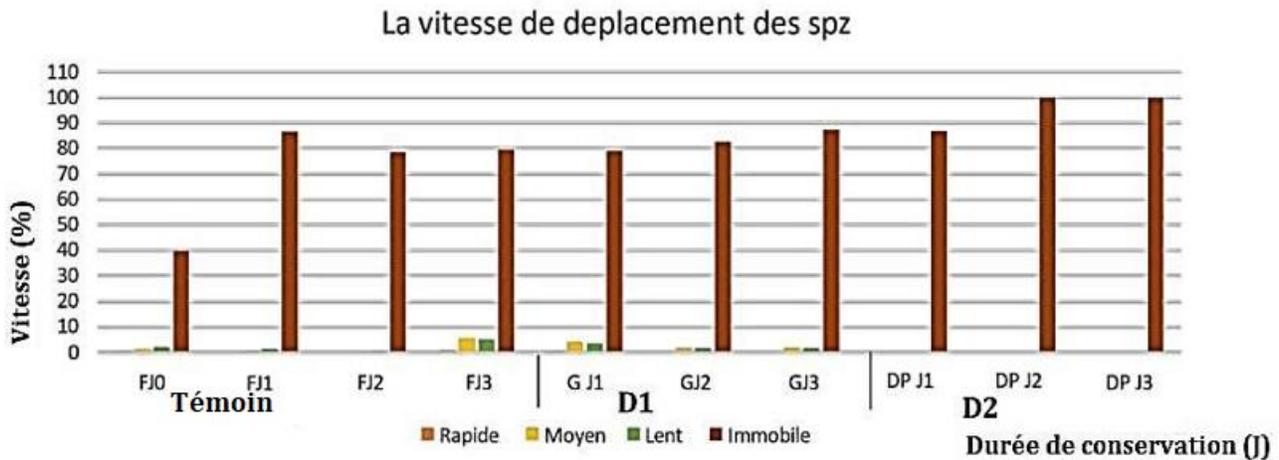


Figure 31 : Effet des dilueurs D1 et D2 sur la vitesse des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation de la semence par pourcentage. T : témoin, D : Dilueur, J : jour.

- Les résultats de l'analyse de la **semence fraîche** juste après la collecte (**J0**) ont révélé que le taux des spz ayant une vitesse rapide est de 3,45% ; la vitesse moyenne est de 26,62% et la vitesse lente est de 20,09%. Le taux des spermatozoïdes ayant une vitesse immobile est de 39,82%.
- **Pour le dilueur D1**, la vitesse rapide diminue jusqu'à 0,75% à J1, continue jusqu'à 0,63% à J2 puis diminue totalement à J3. La vitesse moyenne diminue pour atteindre 5,47% à J1, elle diminue légèrement à J2 à 3,76% pour atteindre 1,54% à J3. La vitesse lente est de 4,9% à J1, elle diminue progressivement pour atteindre 3,29% à J2 et 1,36% à J3.

- **Pour le dilueur D2**, la vitesse rapide diminue à 0,13% à J1 pour atteindre 0% à J2 et J3. La vitesse moyenne diminue elle aussi à 1,81% à J1 et à 0% à J2 et J3. De même, la vitesse lente diminue avec la durée de conservation de J1 (1,41%) à J2 et J3 (0%). Le pourcentage des spz immobiles augmente et passe en moyenne de $78,38 \pm 6,97\%$ (J1) à $92,46 \pm 1,18\%$ (J3).

❖ La figure 32 représente l'évolution de la vitesse rapide de la mobilité des spermatozoïdes de la semence du lapin de la souche synthétique, conservée à 4°C dans deux dilueurs (D1 : Galap et D2 : DP Sow), durant une période de 03 jours (J0, J1, J2 et J3).

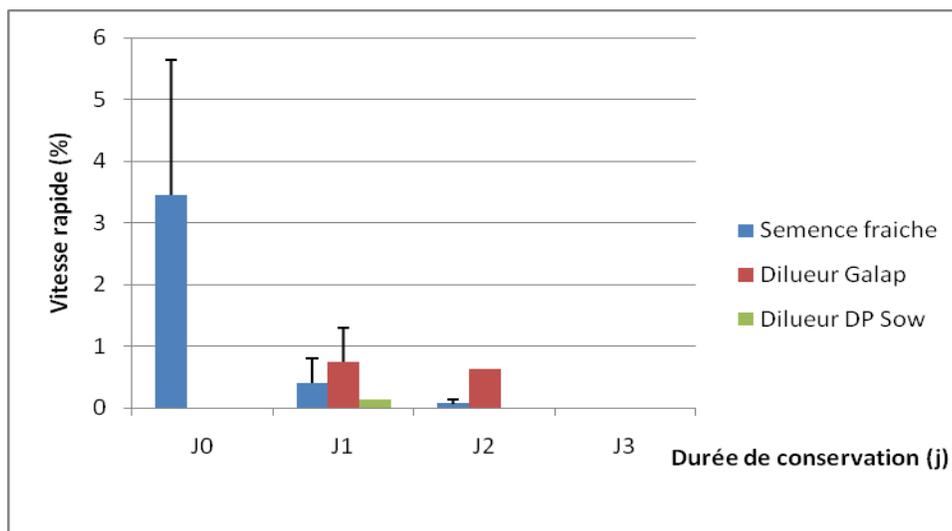


Figure 32 : Evolution de la Vitesse rapide de la semence fraiche et diluée (D1 : Galap et D2 : DP Sow), après une conservation à 4°C pendant 72h

Les résultats obtenus ont montré que la semence fraîche conservée à 4 °C présente une baisse rapide du taux des spermatozoïdes ayant une vitesse rapide le J1 (0,40%) et j2 (0,07%). La semence diluée avec le DP Slow a enregistré le même constat le j1 (0,14%). Cependant, le taux des spz de la semence diluée dans la solution de Galap a enregistré est supérieur par rapport à celui de la semence fraîche et celle diluée avec le DP Slow (J1 : 0,75% ; J2 : 0,64). Même si la solution de galap affiche une valeur supérieure, l'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative ($p=0,154$) sur l'effet des deux dilueurs sur la vitesse rapide de la semence conservé à 4 °C.

8.2.2. Vitalité

Après la récolte (J0), le taux moyen de la vitalité (spermatozoïdes vivants) est de 70%.

- **Pour le dilueur D1**, il est de 68 % à J1, puis diminue pour atteindre une valeur de 56,55% à J2 puis à J3 elle est de 51,6% (figure 36)

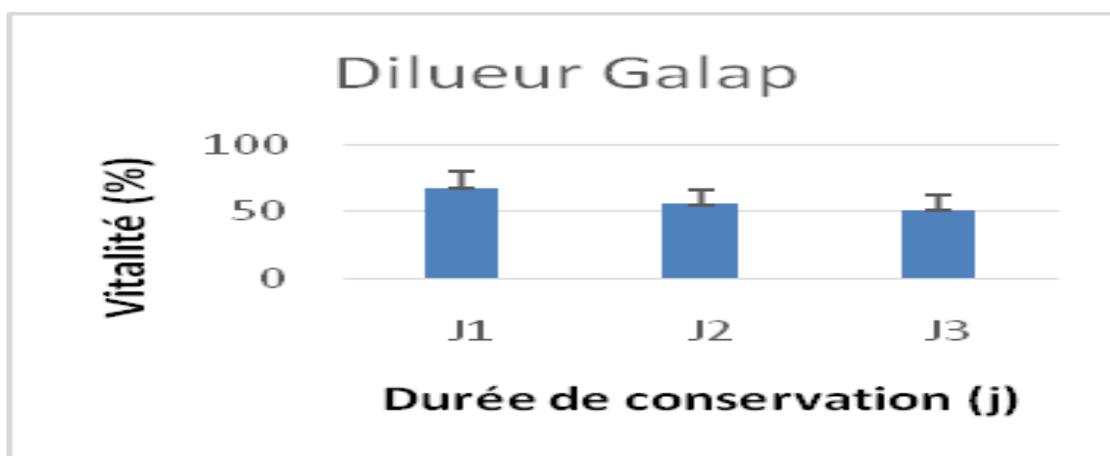


Figure 33 : Effet du dilueur D1 sur la vitalité des spermatozoïdes en fonction de la durée de conservation. F : fraîche, D : dilueur, J : jour.

- **Pour le dilueur D2**, la vitalité est de 54,05% à J1 puis elle diminue pour atteindre une valeur de 46,6% à J2, et continue à baisser jusqu'à 42,45% à J3 (figure 33).

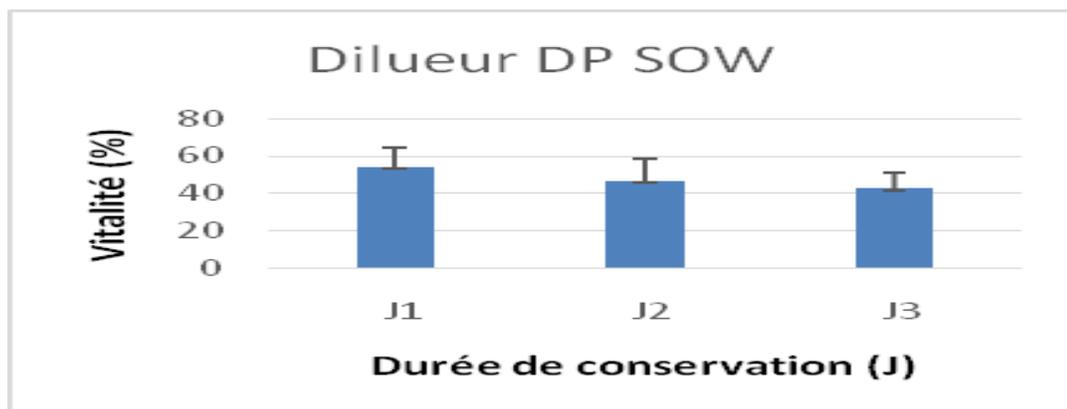


Figure 34 : Effet du dilueur D2 sur la vitalité des spermatozo ides en fonction de la durée de conservation. F : fraîche, D : dilueur, J : jour.

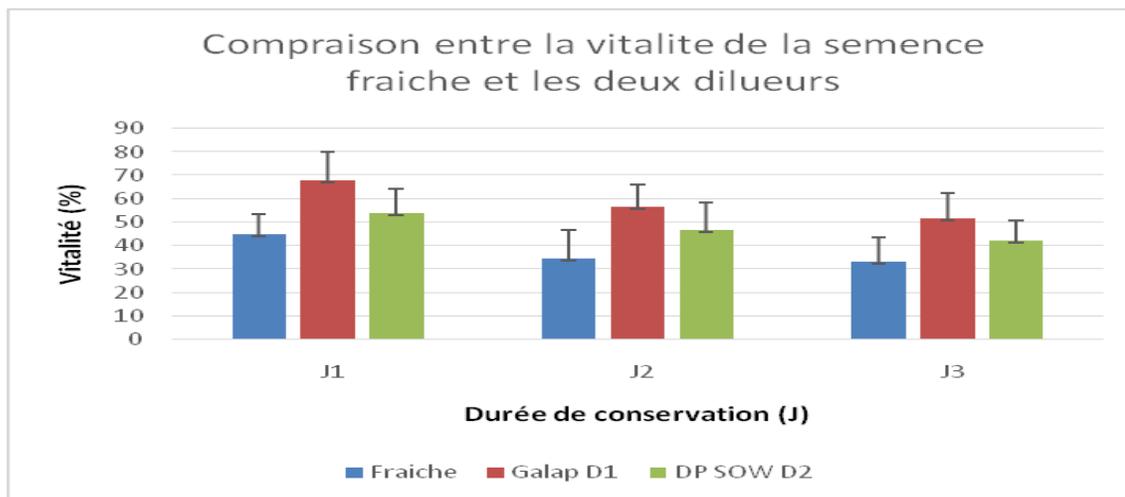


Figure 35 : Comparaison entre la vitalité de la semence fraiche et les deux dilueurs.

Les résultats obtenus ont montré une baisse du taux moyen de la vitalité des spermatozo ides conservés à 4  C à l'état frais et dilués dans les deux dilueurs (D1 : Galap et D2 : DP Sow) au cours des trois jours de conservation. Cependant, la semence diluée par la solution de Galap avait enregistré un taux de vitalité supérieur à celui de la semence fraiche et de celle diluée avec le deuxième dilueur (D2 : DP Slow). L'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative ($p=0,136$) sur l'effet des deux dilueurs sur la vitalité de la semence conservé à 4  C.

9. Discussion

L'ensemble des résultats sont discutés selon des données bibliographiques sur quelques races de lapins.

9.1. Avant conservation

9.1.1 Analyse macroscopique

- **Volume**

Le volume spermatique moyen rapporté dans nos résultats (**1,5±0,25 ml**) est légèrement supérieur aux normes (0,3-0,9 ml), et comparable à celui retrouvé par Boudaoui et Terai (2023) et par Meskouri (2017) chez la souche synthétique (1,62±0,47 ml et 1,88±0,24 ml) respectivement. D'après l'étude de Bouahouas et Bounaira (2022), le volume de sperme récolté après l'éjaculation est plus faible chez la souche synthétique de lapins (0,94±0,30 ml) ainsi que chez la population locale de lapins (1,08±0,15 ml). Les différences de volume d'éjaculat entre les races et les saisons peuvent être attribuées à des variations de l'activité des glandes sexuelles accessoires en réponse à l'hormone testostérone (75).

- **pH**

La valeur moyenne du pH observé chez nos lapins de souche synthétique est de (6,95±1,93). D'après (40), le pH moyen du sperme chez les lapins varie entre 6,8 et 7,3. Ainsi, nos résultats sont conformes à la norme (7,1). Cependant, elle est proche à celle retrouvée chez la souche synthétique de lapin (7,3±0,3) par (Boudaoui et Terai, 2023), et aussi chez la souche synthétique (7,59±0,14) et la population locale de lapin (7,70±0,15) par (Meskouri, 2017). Nous pouvons également dire qu'elle est proche, avec les résultats de Bouahouas et Bounaira, (2022) chez la population locale (7,38±0,13) et la souche synthétique (7,25±0,14) de lapins. Selon (76), le pH joue un rôle en tant qu'indicateur de la sécrétion normale des glandes accessoires et de la capacité des

spermatozoïdes à survivre.

- **Couleur**

Le sperme a une couleur blanchâtre (13). Dans notre expérimentation nous avons noté une couleur blanche pour la quasi-totalité des prélèvements sauf un seul qui a une couleur blanche crémeuse, cette différence est la même pour Boudaoui et Terai, (2023), ainsi que pour Tarzaali, (2021), chez la souche synthétique et population locale de lapins.

9.1.2. Analyse microscopique

- **Motilité individuelle**

Le taux de la motilité individuelle pour les lapins de la souche synthétique de notre travail ($50,17 \pm 32,29$) est supérieur par rapport à celui rapporté chez la souche synthétique ($40,26 \pm 13,69$) par Boudaoui et Terai, (2023). Par contre il est inférieur aux résultats rapportés par Bouahouas et Bounaira, (2022), chez la population locale ($65,63 \pm 9,38$) et la souche synthétique ($71,88 \pm 7,86$) et par Meskouri, (2017) chez la population locale ($62,75 \pm 5,25$) et souche synthétique ($55,75 \pm 5,00$).

Il est également inférieur par rapport à ceux rapportés chez différentes races de lapins :

- Bouhala et Boukerram (2013), race Croisée ($83,93$).
- Di Iorio et al. (2014), race Blanca italiana ($76,00 \pm 0,98$).
- Carluccion et al. (2019), race Néo-Zélandaise ($78,80 \pm 1,70$).

- **Concentration en spermatozoïdes**

A état normal, la concentration moyenne de l'éjaculat du lapin est de l'ordre de 300 millions de spz/ml avec des extrêmes de plus de 750 millions spz/ml (13). La concentration en spz retrouvée dans notre expérimentation ($371,875 \times 10^6$ spz/ml) est supérieur par rapport

à celle rapporté par Boudaoui et Terai, (2023) ($228 \pm 64,68 \times 10^6$ spz/ml) chez les lapins de la souche synthétique et par Safaa et al. (2004) ($232 \pm 15,30 \times 10^6$ spz/ml) chez la race Néo-Zélandaise ainsi que par Meskouri, (2017) ($323 \pm 69,32 \times 10^6$ spz/ml) chez les lapins de souche synthétique. Par contre elle est inférieure aux résultats rapportés par Bouhala et Boukerram (2013), Race Croisée (547×10^6 spz/ml), Di Iorio et al. (2014), Race Bianca Italiana ($645 \pm 32,00 \times 10^6$ spz/ml). Et par Bouahouas et Bounaira (2022) chez la population locale ($581 \pm 207,43 \times 10^6$ spz/ml) et la souche synthétique ($495 \pm 166,06 \times 10^6$ spz/ml). Cette différence de concentration pourrait être liée au type génétique, âge, conditions d'élevage et d'alimentation.

- **Vitalité**

Le taux des spz vivants de la souche synthétique est de $70\% \pm 9,37$. Cette donnée rapportée à la bibliographie nous indique une semence de bonne qualité (44). Nos résultats sont semblable à ceux rapportés par Bouahouas et Bounaira (2022), chez la souche synthétique ($73,38\% \pm 8,59$) et la race locale ($72,00\% \pm 5,68$), les résultats trouvés par Meskouri (2017) sont inférieurs aux nôtres pour la souche synthétique ($57,49\% \pm 3,61$) ainsi que la race locale ($62,45\% \pm 3,77$), Tarzaali (2021), a également rapporté des valeurs inférieures ($56,21\%$) pour la race locale et $55,88\%$ pour la souche synthétique, Boudaoui et Terai (2023), ont également trouver une valeur inférieure à la nôtre qui est de ($58\% \pm 9,37$) pour la souche synthétique. Comparé à la race Néo-Zélandaise, Safaa et al (2004), ont rapporté un résultat inférieur au nôtre ($65,50\% \pm 2,60$), chez cette même race Carluccio et al. (2004), ont trouvé une valeur supérieure ($92,20\% \pm 1,80$). Il est possible que cette différence soit liée aussi à l'âge des mâles.

- **Morphologie**

Comparé aux données bibliographiques, notre taux de spz morphologiquement anormaux ($51,55\% \pm 16,48$) est largement supérieur à la valeur minimale rapportée par la littérature (entre 11,6 et 30,5%) (77-79). Nos résultats sont supérieurs à ceux de Bouahouas et Bounaira (2022) qui ont trouvé ($21,38\% \pm 9,40$) pour la population locale et ($8,88\% \pm 1,78$) pour la synthétique et à ceux de Meskouri (2017) qui a trouvé ($38,37\% \pm 3,01$) pour la race locale et ($35,13\% \pm 2,89$) pour la synthétique, et aussi ceux de Boudaoui et Terai (2023) qui ont obtenu un résultat de ($20,73\% \pm 1,05$) pour la souche synthétique. Chez la race Néozélandaise Safaa et *al.* (2004) ont rapporté un résultat inférieur au notre ($20,7\% \pm 1,54$), chez cette même race. Carluccio et *al.* (2004), ont trouvé une valeur largement inférieure ($2,4\% \pm 0,6$).

Les variations observées lors de l'examen morphologique des spz sont dues au manque de standardisation des méthodes d'examen et de formation. Mais également choix de la classification des anomalies morphologiques des spz (80), cité par (43). Ces anomalies pourraient également être liées aux procédures de préparation des échantillons spermatiques (facteur de dilution et des lames qui vont servir à l'analyse morphologique assistée par ordinateur (81).

9.2. Après conservation

- **Motilité**

Le taux de la motilité progressive chez la souche synthétique diluée avec le dilueur D1 est supérieur à celle diluée par le dilueur D2 tout le long de la durée de conservation. Les résultats obtenus sont de l'ordre suivant :

Pour le dilueur D1 la motilité baisse progressivement. À J1 elle est de ($11,12\% \pm 4,79$), à J2 ($7,65\% \pm 3,62$), et à J3 ($2,9\% \pm 2,56$). **Pour le dilueur D2** la motilité individuelle est faible à J1 ($3,36\% \pm 3,14$), et devient nul à J2 et J3.

Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés chez différentes races de lapin dans d'autres études comme chez Bouahouas et Bounaira (2022), qui ont trouvé pour la race locale à J1 ($56,2\% \pm 6,2$), à J2 ($50,0\% \pm 10,2$), et à J3 ($34,4\% \pm 5,9$). Et pour la synthétique ($43,7\% \pm 14,9$) à J1, ($6,2\% \pm 3,6$) à J2 et ($6,2\% \pm 3,6$) à J3. Boudaoui et Terai (2023), ont trouvé chez la souche synthétique des résultats assez similaires aux nôtres pour le dilueur base de DMSO ($13,7\% \pm 9,6$) à J1, ($22,2\% \pm 8,3$) à J2, et ($3,5\% \pm 2,7$) à J3 et le dilueur à base de lait écrémé elles ont rapporté ($21,7\% \pm 7,3$) à J1, ($8,0\% \pm 2,1$) à J2, et ($7,5\% \pm 1,3$) à J3.

À partir de ces résultats, il apparaît que le dilueurs D1 (Galap) a un effet favorable sur la motilité progressive jusqu'au 3^{ème} jour (J3 : $1,252\%$) et la vitesse rapide jusqu'au 2^{ème} jour (J2 : $0,638\%$).

• Vitalité

Le taux des spz vivants de la souche synthétique après conservation est de l'ordre suivant :

Pour le dilueur (D1) nous avons enregistré un taux de vitalité de 68 % à J1, puis ce dernier diminue pour atteindre une valeur de 56,55% à J2 et elle continue à baisser pour atteindre 51,6% à J3.

Pour le dilueur (D2) elle est de 54,05% à J1 puis elle diminue pour atteindre une valeur de 46,6% à J2, et continue à diminuer jusqu'à 42,45% à J3.

- Nos résultats sont supérieurs comparés à ceux rapporté par :

Bouahouas et Bounaira (2022), qui ont trouvées respectivement $34,25\% \pm 8,92$ à J1 et $20,2\% \pm 6,18$ à J3 pour la race locale. Et ont également trouvé des valeurs de l'ordre de $51,88\% \pm 8,04$ à J1 et $22,4\% \pm 4,16$ à J3 pour la synthétique.

- Nos résultats sont supérieurs à ceux rapporté par Boudaoui et Terai (2023) chez la synthétique qui ont enregistré un taux de vitalité ($54\% \pm 8,41$) avec le dilueur DMSO à J1, et inférieurs le J2 et J3 ($63\% \pm 5,67$ et $64\% \pm 6,68$, respectivement). Pour le dilueur à base

de lait nos résultats sont supérieurs à ceux de ces derniers le J1 ($51,7\% \pm 11,15$), et inférieurs le J2 et J3 où elles ont trouvé respectivement $64,5\% \pm 5,51$ et $67,7\% \pm 6,69$.

Conclusion

Au terme de notre expérimentation, visant à comparer l'effet de deux dilueurs sur une durée de conservation sur la semence de lapin de souche synthétique, nous pouvons conclure que :

- Les résultats obtenus sont variables par rapport à ceux trouvés dans la littérature sur différentes populations et races de lapins.
- Les dilueurs utilisés ont peu d'effet sur la vitalité, la motilité ou nous avons noté des valeurs variables, cependant la conservation de la semence de lapin peut être améliorée à l'aide de dilueurs appropriés.
- Le dilueur D1 a montré de meilleures performances que le dilueur D2 en termes de maintien de la motilité progressive, vitesse rapide et vitalité des spz pendant la conservation à 4°C. Mais qui sont statistiquement non significatifs.
- Les résultats obtenus avec le dilueur D1 sont inférieurs à ceux rapportés dans d'autres études. Son efficacité reste à prouver.
- Le taux élevé d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes ($51,55\% \pm 16,48$) est préoccupant et nécessite une investigation plus approfondie des causes potentielles.
- En résumé, l'utilisation de dilueurs adaptés, la réfrigération à 4°C et l'insémination rapide permettent de conserver efficacement la semence de lapin pendant maximum 2 jours après le début de la conservation à 4 °C.

Pour aller plus loin, il est essentiel de confirmer ces résultats par des études supplémentaires sur des échantillons plus importants. Il serait également nécessaire de procéder à des inséminations artificielles afin d'évaluer l'efficacité réelle de ces dilueurs en mesurant les taux de fertilité et de prolificité.

Références bibliographiques

1. Gacem M., Bolet G. Cre ation d'une ligne e issue du croisement entre une population locale et une souche europe enne pour ame liorer la production cunicole en Alge rie. 11 e mes Journe es de la Recherche Cunicole. 2005 : 15-18p
2. Gacem M, Zerrouki N, Lebas F, Bolet G. Strategy of developing rabbit meat in Algeria: creation and selection of a synthetic strain. 9th World Rabbit Congress. Verona-Italy, 10-13 June 2008: 85-89p
3. Van der Horst, G. Computer Aided Sperm Analysis (CASA) in domestic animals: Current status, three D tracking and flagellar analysis. Anim repro sci. March 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106350>
4. Di Iorio M, Manchisi A, Rocco M, Chrenek P, Iaffaldano N. Comparison of Different Extenders on the Preservability of Rabbit Semen Stored at 5°C for 72 Hours, Italian Journal of Animal Science. 2014 ; 13:4, 3444, DOI: 10.4081/ijas.2014.3444
5. Barone, R. Anatomie compare e des mammife res domestiques. Vigot Freres Editeurs. Paris. 1976.
6. Barone R, Pavaux C, Blin PC, Cuq P. Atlas d'anatomie du lapin, Masson éditions Paris.1973. 220 p.
7. Vella D, Donnelly T. Rabbits: Basic Anatomy, Physiology, and Husbandry.2012 DOI: 10.1016/B978-1-4160-6621-7.00012-9.
8. Van Praag E. Testicules tombants ou traï nants cause s par une dysplasie du collage ne chez le lapin ma le non-castre. MediRabbit. 2015 [Consulte le 02/02/2024]. http://www.medirabbit.com/FR/Urogenital/Male/Test_tombant/Testic_pendants_fr.pdf
9. Barone R. Anatomie compare e des Mammife res domestiques : Tome 3 : Splanchnologie1 : Appareils digestif et respiratoire. Paris : Vigot. 1984. 896 p.
10. Hamilton DW. Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymis, and ductus deferens in the rat. In R.O. Geep et E.B. Astwood (e d). Handbook of physiology, Section 7, Volume 5. Washington, DC: American Physiology Society; 1975. p.259-301.
11. Hermo L, Robaire B. Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure functions, andHireche, S. Chapitre II : Anatomie et fonctions de l'appareil ge nital ma le. 2022. thier regulation. Edited by knobil E, Neill J et al. The physiology of Reproduction, New York; -Holtz W, Foot RH. The Anatomy of the reproductive system in male Dutch Rabbits (Oryculus 1988. 1085p. cuniculus) with special emphasis on the accessory sex glands. Journ of Morph. 1978 ;158: 120.
12. Thibault C, Levasseur MC. La reproduction chez les mammife res et l'homme. Edition Quae (Paris);2001. 940p.
13. Boussit D. Reproduction et insémination artificielle en cuniculture, association française de cuniculture Ed. Lempdes France.1989. 234p
14. Onuoha CH. Reproductive Physiology of Male Rabbits: A Key Factor in Buck Selection For breeding (Paper Review). Advances in Reproductive Sciences. 2020; 8: 97-112.
15. Fortun-Lamothe L, Theau-Clément M, Combes S, Allain D, Lebas F, Le Normand B, Gidenne T. Chapitre 2 : Physiologie.in Gidenne ., Le Lapin : de la biologie à l'élevage, Editions Quae Versailles France. 2015. P39-83.
16. Nguyen T., Ferry N. La reproduction des verte bres,2007,pp.83

17. Barone R, Simoens P. Anatomie compare e des mammifères domestiques-tome 4: Splanchnologie II/appareil uro-genital, foetus et ses annexes, peritoine et topographie abdominale. Paris : Edition VIGOT. 2001. 896 p.
18. Tortora GJ, Grabowski SR, Parent JC. Biologie humaine Cytoge ne tique re gulation reproduction. Edition CEC, colle gial et universitaire ; 1995 : 311- 322.
19. Holtz W, Foot RH. The Anatomy of the reproductive system in male Dutch Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with special emphasis on the accessory sex glands. *Journ of Morph.* 1978 ;158: 120.
20. Sabbagh M. Etude de la sexualite et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* a des temperatures elevees en correlation avec la regulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrenalien en periode d'adaptation au stress thermique. These de Doctorat Veterinaire, Universite de DAKAR, Ecole inter-etats des Sciences et Veterinaires ; 1983. 113p.
21. Shinkichi T. VEIN (Veterinary Exotic Information Network). Japon : 9 fe v 2002 [mis a jour le 01 juin 2006; consulte le 11 mars 2024]. Disponible : <http://vein.ne.jp>
22. Theau-Clément M, Mercier P. Influence of lighting programs on the productivity of rabbit does of two genetic types. 8th World Rabbit Cong., September 7-10, Puebla, Mexico,2004. 358-363.
23. Berger M, Jean-Faucher Ch, De Turckheim M, Veyssiere G, Jean CI. La maturation sexuelle du lapin mâle. 3emes Journées de la Recherche Cunicole, 8 et 9 Décembre 1982 Paris. Communication n° 11.
24. LEBAS F. Rappel sur la physiologie de la reproduction du mâle et de la femelle. Journée AERA/ASFC La reproduction chez le lapin, 20 janv.1994, 2-11.
25. Gayrard V. Physiologie de la reproduction des mammifères domestiques. Toulouse (France) ; Ecole nationale veterinaire de toulouse. Septembre 2018. 241p.
26. Morton D. The Use of Rabbits in Male Reproductive Toxicology. *Environmetal Health Perspectives*, 1988 ; 77: pp. 5-9.
27. Lebas, F, Coudert P, De Rochambeau H, Thébault RG. THE RABBIT Husbandry, health and production. 21. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1997, p250.
28. Gidenne T. Le lapin : De la biologie à l'élevage. Edition Quae ; 2015 270p.
29. Vaissaire JP. Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Paris, Maloine SA Editeur. ed 1 vol ; 1977 : 457 p.
30. Baril G, Chemineau P, Cognie Y, Guérin Y, Leboeuf B, Orgeur P, Vallet J-C. Manuel de formation pour l'insémination artificielle. 1993. 231 p.
31. Espinosa E, Josa A, Viloría A. Fisiología de la reproducción en el conejo. 2009. p 135-139.
32. Mariana R. Complete diagram of a human spermatozoa [En ligne]. Wikimedia Commons ; 15 décembre 2006 [Consulté le 28 juin 2024]. Disponible : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Complete diagram of a human spermatozoa fr.svg?uselang=fr](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Complete_diagram_of_a_human_spermatozoa_fr.svg?uselang=fr)

33. Morin M. Le point sur l'insémination artificielle en aviculture. *Bul. Techn. Ins. Artif.* 1976 ; (1): 5-7.
34. Lebas F, Coudert P, De Rochambeau H, Thébault RG. Le lapin : élevage et pathologie. Rome (Italie), FAO., ed., *Production et Santé Animales n° 19*, 1 vol. 1996. 227 p.
35. Montaillé G. L'insémination artificielle en élevage cunicole. Thèse méd vét n° 81. Lyon : Ecole Nat Vét De Lyon, 1992. 153 p.
36. Bencheikh N, De Rochambeau H. (dir). Production de sperme et fertilité du lapin mâle, *Oryctolagus cuniculus*. Effets de la fréquence de collecte et du type génétique. Institut national polytechnique, Toulouse, France. Thèse. 1993.
37. Garcia-Tomas M, Sanchez J, Rafel O, Ramon J, Piles. M. Variabilité et relations phénotypiques de plusieurs caractéristiques de production et de qualité du sperme chez le lapin. 11èmes Journées de la Recherche Cunicole. 29-30 novembre 2005, Paris.
38. Brun JM, Ailloud E, Balmissse E, Sanchez A, Bolet G, Theau-Clement M. Héritabilité de la fécondance de la semence de lapin utilisée en insémination artificielle. 15èmes Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre 2013, Le Mans, France.
39. Bencheikh N. Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin, INRA, station d'amélioration génétique des animaux, Auzeville, France. 1995.
40. Francisco DAA, Luis ARF. Analysis of seminal quality, a tool in fertility experimental toxicology study. 2003: p44-46.
41. Alvarino MR. Control de la reproduction en el conejo. 1 ere e d., IRYDA, Mundi -Prensa ;1993 137p.
42. Nelson. In « physiologie of fertilisation. » Academic Press, London, New York. volume II.1985. p 215-234.)
43. Cabannes CR. Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans l'espèce bovine, canine et humaine. Thèse de doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ; 2008. 107 p.
44. Arencibia Arrebola DF, Rosario Fernandez LA. Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de Conejos aplicado en estidiuos de toxicologia de la fertilidad. *Redvet Revista Electronica Veterinaria*. 2009; 8 (10): 1-18.
45. Meyer C. L'insémination artificielle de la lapine. Note bibliographique. Cirad Campus de Baillarguet, MONTPELLIER, France. 2009. 13p
46. Mocé E, et Graham JK. In vitro evaluation of sperm quality. *Anim Reprod Sci*. 2008 ;105 :104-118. 1N°septembre 1974.
47. Bamba K, Cran DG. Effect of rapid warming of bull and rabbit semen. *J Reprod. Fertil*. 1988;82: 501-507
48. Barth AD, Oko RJ. Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa. Iowa State University Press, Ames, USA;1989. 285 p.

49. Della Porta P, Della Porta D, Maccario P, Borrelli A. Inseminazione artificiale nel coniglio. Ed d Gruppo Azeta, Avellino, Italy. 1991.
50. David G, Bisson JP, Czyglik F et al. Anomalie morphologique des spermatozoïdes humains. 1) Proposition pour un système de classification. J. Gyn Obstet Biol Reprod; 1975,4, suppl. I : 17-36.
51. Auger J, Eustache F. Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. Andrologie (2000), N°4, 358-373.
52. Alvarino JMR. Reproductive performance of male rabbits. in: Proceeding of the 7th World Rabbit Congress (p.13-35) ; 2000 ; Valencia, Spain.
53. Theau-Clément M, Sanchez A, Duzert R, Saleil G, Brun JM. Etude de facteurs de variation de production spermatique chez le lapin. 13eme journée de la recherche cunicole. Edition le Mans, 2009. France.
54. Lebas F. Biologie du lapin. 2009 ; <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm>.
55. Joly T, Theau-Clément M. Reproduction et physiologie de la reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture. A.S.F.C. Journée du 5 Décembre 2000, Valencia 2000 "Ombres et lumières", thème "Reproduction", p. 19-24.
56. Nizza A, Di Meo C, Taranto S. Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. Proceeding: seventh World Rabbit Congress; 2000: (p.217, 223); Valencia, Spain.
57. Finzi A. Recherches pour la sélection de souches de lapins thermotolerants. Options Méditerranéennes (Série Séminaires).1990 ; 8 : 41-45.
58. Viudes De Castro MP, Vicente JS, Lavara R. Effet du nombre de spermatozoïdes sur la fertilité de la semence conservée 24 heures chez le lapin. Annales de zootechnie. 1999; 48(5):407-412.
59. Decuadro-Hansen G. La réfrigération et la congélation du sperme : expérience chez l'animal Chilled and frozen semen: the animal experience, Gynécologie Obstétrique & Fertilité 32 ; 2004. 887-893p.
60. Amann RP. Cryopreservation of sperm. In: Knobil E., Neill J.D. (eds.). Encyclopedia of reproduction. Volume 1. Academic press, San Diego; 1998. p.773-783.
61. Ponthier J. Van Den Berghe F, Parilla-Hernandez S, HANZEN C, Deleuze S. Congélation du sperme dans l'espèce équine : état des lieux et perspectives. Ann Méd Vét. 2014 ;159 :56-71.

62. England GCW. Cryopreservation of dog semen: a review, *Journal of Reproduction and Fertility*.1993; Suppl 4, 243-255.
63. Peña AI, Linde-Forsberg C. Effects of Equex, one- or two- steps dilution, and two freezing and thawing rates on post-thaw survival of dog spermatozoa. *Theriogenology*;2000. 53,859, 875.
64. Stănescu PM, Alin IB. Comparative Studies of ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378. 2015.
65. Foulkes JA. The separation of lipoproteins from egg yolk and their effect on the motility and integrity of bovine spermatozoa, *J Reprod Fertil*. 1977; 49:277-284.
66. 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: 1250–1258.
67. Althouse GC, Kuster C, Clark SG, Weisiger RM. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*.2000 march;53(5) : 1167- 1176.
68. Billard R, Legendre M. cryoconservation du sperme de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.).1980.
69. Martins-Bessa A, Rocha A, Mayenco-Aguirre A. Comparing ethylene glycol with glycerol for cryopreservation of canine semen in egg-yolk TRIS extenders, *Theriogenology*.2006 Dec; 66(9): 2047–2055.
70. Swelum AA, Mansour H, Elsayed AA, Amer HA. Comparing ethylene glycol with glycerol for cryopreservation of buffalo bull semen in egg-yolk containing extenders. *Theriogenology* 76(5):833-42. June 2011
DOI : 10.1016/j.theriogenology.2011.04.015
71. Feldman EC, Nelson RW. *Canine and feline endocrinology and reproduction* .2004, 1016-104
72. Bue P. Contribution à l'étude de la conservation d'une semence de chien pendant 48 h à +4°C : choix d'un milieu et influence du glycérol. Thèse Méd. Vét., Nantes; 1992. n°127, p 81.
73. Iguer-ouada M, Verstegen JP. Long-term preservation of chilled canine semen: effect of commercial and laboratory prepared extenders. *Theriogenology*. 2001; 55(2) :671-84.
74. Ponglowhapan, S; Essén-Gustavsson, B; Linde Forsberg, C. Influence of glucose and fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*. 2004 ;62(8) :1498-517.
75. El-Kamash, HA, Gabr HA, Bahgat LB, Zeidan AEB, Seleem TST. "Effects of intramuscular injection of gonadotropin-releasing hormone on

semen characteristics of buckrabbits, under different seasons of the year". Inter. Conf. On Anim. Prod. And health, 2-4 Sept., Giza, Egypt, 2000, 587-592.

76. Abd El-Ghaffar AE. Some studies on the artificial insemination in rabbits. Ph.D. Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University, Benha Branch; 1992 Egypt.
77. Khalil MH. The Giza White rabbits (Egypt). In rabbits genetic resources in mediterranean countries. Options Me diterrane ennes, se rie, CIHEAM, Zaragoza. 2002b. N° 38, p. 23-36
78. Safaa HM, Emarah ME, Saleh NFA. Seasonal effects on semen quality in Black Baladi and White New Zealand rabbit bucks. World Rabbit Science. 2008; 16: 13-20.
79. Garcia-Tomas M, Sanchez J, Rafel O, Ramon J, Piles M. Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. Livestock Science. 2006a ; 100 : 111- 120.
80. Davis, RO, Gravance CG, Overstreet JW. A standardized test for visual analysis of human sperm morphology. Fertility and Sterility. 1995; 63, 1058-1063p.
81. Davis RO, Gravance, CG. Standardization of specimen preparation, staining, and sampling methods improves automated sperm- head morphometry analysis. Fertil. Steril. 1993; 59. 412-417p.

Annexes

Annexe A

Matériel et réactifs utilisé dans la partie expérimentale

Matériel pour la collecte de la semence et analyse macroscopique

Afin de réaliser un prélèvement de sperme de lapin sans contact réel avec la lapine, il est nécessaire d'avoir le matériel prévu à son initiative :

- Plaque chauffante et cristallisoir pour chauffer et le vagin artificiel (figure 1).
- Papier pH pour déterminer le pH de la semence (figure 2).
- Les tube gradues stérile pour le prélèvement de la semence, voir la couleur et Volume (figure 3).



Figure 1: Plaque chauffante avec un vagin artificiel.



Figure 2: Papier pH avec micropipette.



Figure3 : Tube gradue

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

- Dilueurs Galap D1 et DP-SOW D2 (figure 4)
- Bain marie pour garder la température de la semence à 37°C (figure 5).
- Vortex pour homogénéisation des solutions (figure 6).



Figure 4 : Dilueur GALAP Et DP SOW



Figure 5: Bain-Marie.



Figure 6 : Vortex.

- Cellule Thoma pour l'analyse de la concentration (figure 7).
- Micropipette de 10 et 1000 microlitres, embouts (jaune et bleu) à usage unique pour les différents prélèvement (figure 8).
- Lames et lamelle pour la différente observation microscopique (figure 9).
- Tubes sec (figure 10).

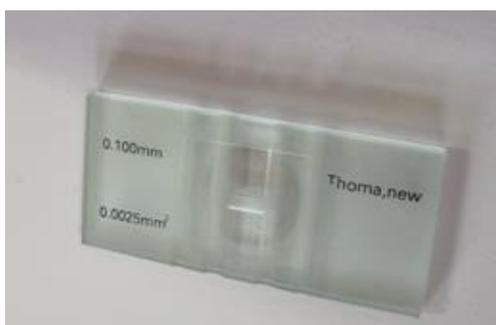


Figure 7 : Cellule Thoma.



Figure 8 : Micropipette



Figure 9 : Lames et lamelles.



Figure 10 : Tube sec

-System CASA (computer aided sperm analysis) et microscope de type Nikon pour l'analyse microscopique de la semence (figure 11).



Figure 11 : Système CASA.

3. Réactifs et solution pour l'analyse de la semence

-Eosine-nigrosine pour l'analyse de la vitalité (figure 12).

- Formol a 10% pour l'analyse de la concentration (figure 13).



Figure 12 : Eosine-nigrosine



Figure 13 : Formol a 10%

Ben babaali Maamoun Boulanouar

Achour Ayoub

Seddiki Yacine

Université de Blida- 1 / Institut des Sciences Vétérinaires

Promotrice : Dr. Tarzaali Dalila

Etude comparative de l'effet de deux dilueurs sur la conservation de la semence de lapin de souche synthétique.

Résumé : L'objectif de notre étude est d'analyser l'impact de deux dilueurs, Galap (D1) et DP SOW (D2) sur la qualité macroscopiques et microscopiques de la semence, collectée chez cinq lapins de souche synthétique, âgés de 3 ans et conservé à une température de 4 °C pendant 24, 48 et 72 heures). Nous avons utilisé le système CASA pour l'analyse des paramètres microscopiques de la semence. Les résultats de l'analyse microscopique de cette dernière ont montré qu'il n'a aucune différence significative entre les deux dilueurs en ce qui concerne la motilité progressive du D1 (3h = $50,17 \pm 13,69$ vs 72h = $2,9 \pm 2,56$ %) et du D2 (3h = $50,17 \pm 13,69$ vs 72h = 0 %) et la vitalité du D1 (3h = $70 \pm 9,37$ vs 72h = $51,6 \pm 6,69$ %) et pour le D2 (3h = $70 \pm 9,37$ vs 72h = $42,45 \pm 6,68$ %), avec un p-value $> ,005$.

Nos résultats indiquent que le dilueur D1 (Galap) avait un bon effet sur la conservation de la semence du lapin de la souche synthétique par rapport au dilueur D2 (DP Sow). En conclusion, nous avons constaté que la vitalité et la motilité de la semence du lapin de la souche synthétique sont influencées par le type du dilueur et la durée de conservation de la semence.

Mots clés : Sperme, lapin synthétique, Galap, DP Sow, Conservation, CASA.

