UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Institut des sciences vétérinaires

THESE DE DOCTORAT

en Sciences Vétérinaires

Spécialité : Sciences Vétérinaires

ETUDES DES VARIATIONS SAISONNIERES DE LA PRODUCTION SPERMATIQUE CHEZ LE BOUC DE RACE ARBIA DANS LA REGION DE TIARET

Par

Belkacem Tahar BELHAMITI

devant le jury composé de :

M. LAFRI	Professeur, Université Blida 1	Président
D. KHELEF	Professeur, ENSV Alger	Examinateur
B. KHIATI	Maître de conférences A, ISV TIARET	Examinateur
M. TAHERTI	Maître de conférences A, Université de CHLEF	Examinateur
R. KAIDI	Professeur, Université Blida 1	Rapporteur

RESUME

Notre étude a pour objectifs d'étudier les variations saisonnières de la production spermatique des boucs de race Arbia dans la région de Tiaret d'une part, et la possibilité de la conservation de la semence des boucs à une température de 5°c pour son utilisation dans l'insémination artificielle des chèvres après synchronisation des chaleurs. De ce fait, cette thèse comporte trois parties :

La semence de trois boucs était récoltée, à l'aide d'un vagin artificiel, une fois par semaine pendant 14 mois. L'examen de la semence nous a permis d'évaluer les paramètres spermatiques, en l'occurrence, le volume, la concentration, la mobilité et la viabilité spermatiques et le pH de la semence.

Le volume spermatique est élevé en automne $(1,1 \pm 0,39\text{ml})$ et faible au printemps $(0,11 \pm 0,14\text{ml})$. Egalement, la mobilité et la viabilité spermatiques sont élevées en été et en automne et faibles en hiver et au printemps. Au contraire des ces paramètres, la concentration spermatique est élevée en hiver et au printemps $(7,87 \pm 2,38\text{spz/ml})$ et $7,61 \pm 1,81\text{spz/ml}$, respectivement) et faible en été et en automne $(6,64 \pm 4,07\text{spz/ml})$ et $6,4 \pm 2,62\text{spz/ml}$, respectivement). Le pH spermatique fluctue au cours de l'année entre $6,8 \pm 0,2$ et $6,65 \pm 0,15$.

L'analyse statistique de ces résultats montre qu'il existe une corrélation positive entre le volume spermatique, la motilité, la viabilité et le pH spermatiques. Cette corrélation est hautement significative entre le volume et la viabilité spermatique (r = 0.98; p = 0.0148). Par contre, la concentration spermatique est corrélée négativement avec le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques et positivement avec le pH de la semence, mais cette corrélation n'est, en aucun cas, significative (p > 0.05).

Nous avons essayé de conserver la semence des boucs de race Arbia en vue de son utilisation pour une éventuelle insémination artificielle. Huit éjaculats ont été dilués dans un dilueur à base de Tris – jaune d'œuf – acide citrique à trois concentrations différentes du jaune d'œuf, et conservés à 5°c pendant 48heures.

La mobilité des spermatozoïdes diminue en fonction du temps de conservation pour les différents milieux utilisés. Pour les éjaculats non lavés, la moyenne du pourcentage des spermatozoïdes mobiles est plus élevée que celle des éjaculats ayant subi un lavage préalable à leur dilution.

L'analyse statistique des résultats enregistrés montre que le temps de conservation et le lavage de la semence ont une influence significative (p<0,05) sur le taux des spermatozoïdes mobiles.

Les résultats obtenus après synchronisation des chaleurs et insémination artificielle des chèvres montrent que le taux de conception est présumé à 80% après un diagnostic de gestation par la détection des retours en chaleurs et le dosage de la progestérone plasmatique (> 5ng/ml). Cependant, ce taux est de 20%, déterminé par un examen échographique à 35j de la date d'insémination artificielle. La mortalité embryonnaire, le moment d'insémination et l'état de la semence peuvent expliquer cette baisse du taux de conception.

Les boucs de race Arbia manifestent des variations saisonnières de leur production spermatique au cours de l'année. L'été et surtout l'automne sont les saisons de la production d'une semence de bonne qualité. La semence de ces boucs peut être diluée dans des milieux à base de jaune d'œuf, conservée et utilisée pour l'insémination artificielle des chèvres qui a donné des résultats motivants.

<u>Mots clefs</u>: Caractéristiques spermatiques, Bouc Arbia, Variations saisonnières, Conservation de la semence, Insémination artificielle.

ملخص

تهدف الأطروحة إلى دراسة التغيرات الموسمية في إنتاج الحيوانات المنوية عند التيس من السلالة "عربية" في منطقة تيارت من جهة ، وإمكانية الحفاظ على السائل المنوي في درجة حرارة ٥٠ م ليستخدم في تلقيح الماعز اصطناعيا لذلك ، تحتوي هذه الأطروحة على ثلاثة أجزاء:

تم استئصال المني من ثلاثة أتياس، باستعمال مهبل اصطناعي، مرة واحدة في الأسبوع لمدة 14 شهرًا. سمح لنا فحص السائل المنوي دراسة الخاصيات المنوية المتمثلة في حجم و تركيز ودرجة حموضة السائل المنوي و تنقل وحيوية الحيوانات المنوية.

يرتفع حجم السائل المنوي في الخريف (1.1 \pm 0.30 مل) وينخفض في الربيع (0.11 \pm 0.14 مل). فيما يخص تنقل وحيوية الحيوانات المنوية فهما عاليتين في الصيف والشتاء ومنخفضتين في الشتاء والربيع. وعلى النقيض من هذه الخصائص، يكون تركيز الحيوانات المنوية مرتفعًا في الشتاء والربيع (7.87 \pm 2.28 حيوان منوي/ مل و 7.61 \pm 1.81 حيوان منوي/ مل، على التوالي) ومنخفضا في الصيف والخريف (6.64 \pm حيوان منوي/ مل 7.00 و 6.64 \pm 0.20 و حيوان منوي/ مل ، على التوالي). يتذبذب الأس الهيدروجيني المنوي خلال السنة بين 6.8 \pm 0.0 و 6.65 \pm 6.65.

يبين التحليل الإحصائي لهذه النتائج أن هناك علاقة إيجابية بين كل من حجم السائل المنوي، حركة وحيوية الحيوانات المنوية والرقم الهيدروجيني، دلالتها الإحصائية كبيرة بين حجم السائل

المنوي وحيوية الحيوانات المنوية (r = 0.98; p = 0.0148). يرتبط تركيز الحيوانات المنوية سلبًا مع حجم السائل المنوي، وحركة و حيوية الحيوانات المنوية، وبشكل إيجابي مع درجة حموضة السائل المنوي، ولكن هذه العلاقة ليست معنوية بأي حال (p > 0.05).

حاولنا الحفاظ على السائل المنوي للأتياس لاستخدامه في عملية التلقيح الاصطناعي. تم تخفيف ثمانية قذفات في سائل مخفف مكون من تريس صفار البيض حمض الليمون في ثلاث تركيزات مختلفة من صفار البيض ، وتخزينها في درجة حرارة 5°م لمدة 48 ساعة.

تقل حركة الحيوانات المنوية مع مرور مدة الحفظ. يكون متوسط النسبة المئوية للحيوانات المنوية المتحركة أعلى في القذفات الكاملة المخففة ، منه في القذفات المخففة بعد إزالة مصل السائل المنوي منها.

ويبين التحليل الإحصائي للنتائج المسجلة أنه يوجد تأثير معنوي لمدة الحفظ و إزالة مصل السائل المنوي على معدل الحيوانات المنوية المتحركة (p<0,05).

تبين النتائج المتحصل عليها من خلال علاج تزامن الشبق و التاقيح الاصطناعي لإناث الماعز أنه يُفترض أن معدل الحمل هو 80 ٪ بناءًا على تشخيص الحمل بواسطة مراقبة عودة الشبق و تركيز البروجسترون في الدم (أكبر من 5نغ في مل) إلا أنه تبين أن هذا المعدل هو 20 ٪ بعد فحص الماعز بالموجات فوق الصوتية بعد مرور 35 يوما من تاريخ التاقيح الاصطناعي. يمكن تقسير تراجع معدل الحمل بإمكانية فقدان الأجنة و توقيت التاقيح الاصطناعي و نوعية الحيوانات المنوية.

تظهر سلالة الماعز "عربية" اختلافات موسمية في إنتاج الحيوانات المنوية خلال السنة إذ أن فصلا الصيف و الخريف يتزامنان مع قذف حيوانات منوية ذات نوعية جيد ة. يمكن حفظ مني هذه الأتياس في مخفف يحتوي على صفار البيض واستخدامه في عملية التلقيح الاصطناعي التي أبدت نتائج محفزة.

الكلمات الدالّة : الخصائص المنوية، تيس السلالة عربية، التغيرات الموسمية، حفظ المني، التلقيح الاصطناعي.

ABSTRACT

The aim of our study is to study the seasonal variations in Arbia buck's sperm production in the Tiaret region, and the possibility of conserving goat semen at a temperature of 5 ° C for its use in artificial insemination after female goat's heat synchronization. However, this thesis has three parts:

The semen of three Arbia bucks was collected, using an artificial vagina, once a week for 14 months. The semen examination allowed us to evaluate sperm parameters, namely ejaculate volume, sperm concentration, motility and viability and semen pH.

The ejaculate volume is high in autumn (1.1 \pm 0.39ml) and low in spring (0.11 \pm 0.14ml). Also, sperm mobility and viability are high in summer and autumn and low in winter and spring. In contrast to these parameters, the sperm concentration is high in winter and spring (7.87 \pm 2.28spz / ml and 7.61 \pm 1.81spz / ml, respectively) and low in summer and autumn (6,64 \pm 4,07spz/ml et 6,4 \pm 2,62spz/ml, respectively). Semen pH fluctuates during the year between 6.8 \pm 0.2 and 6.65 \pm 0.15.

Statistical analysis of these results shows that there is a positive correlation between ejaculate volume, sperm motility and viability and semen pH. This correlation is highly significant between volume and sperm viability (r = 0.98, p = 0.0148). In contrast, semen concentration is negatively correlated with sperm volume, mobility and viability, and positively with semen pH, but this correlation is by no means significant (p > 0.05).

We tried to keep the Arbia breed goats semen for prospective artificial insemination. Eight ejaculates were diluted in a tris-egg yolk-citric acid diluent at three different concentrations of egg yolk, and stored at 5 ° C for 48 hours.

The sperm mobility decreases as a function of the conservation time in the different media used. For unwashed ejaculates, the average percentage of motile spermatozoa is higher than that of ejaculates that have been washed prior to dilution.

The statistical analysis of the recorded results shows that storage time and semen washing have a significant influence (p <0.05) on the rate of motile spermatozoa.

The results obtained after heat synchronization treatment and artificial insemination of female goat show that the conception rate is presumed to be 80% after a gestation diagnosis by heat returns detection and plasma progesterone levels (> 5ng / ml). However, this rate is 20% at 35 days after artificial insemination date determined by an ultrasound examination. Embryo mortality, insemination moment, and semen conditions may explain this conception rate's decrease.

Arbia breed bucks show seasonal variations in their sperm production during the year. Summer and especially autumn are the seasons of good quality semen's production. The semen of these bucks can be diluted in egg yolk diluent, preserved and used for female goat artificial insemination, which has shown motivating results.

<u>Key words:</u> Semen characteristics, Arbia breed buck, Seasonal variations, Semen conservation, Artificial insemination.

REMERCIEMENTS

Mes vifs remerciements vont, tout d'abord, à Dieu le tout puissant qui m'a aidé et m'a permis de réaliser ce modeste travail.

Je tiens à adresser mes remerciements à mon promoteur Mr KAIDI Rachid, professeur à l'institut des sciences vétérinaires de l'université SAAD DAHLAB de Blida d'avoir accepté la direction de ce mémoire et de m'avoir fait bénéficier de sa compétence et de sa disponibilité sans limitation aucune. Qu'il agrée ici l'expression de ma plus grande gratitude.

Je remercie Mr. M. LAFRI, professeur à l'université de Blida 1, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire.

Mes remerciements vont, également, aux enseignants qui nous ont fait le plaisir et l'honneur de participer à notre jury de mémoire en tant qu'examinateurs:

- D. KHELEF Professeur, UNSV Alger
- B. KHIATI Maître de conférences A, ISV TIARET
- M. TAHERTI Maître de conférences A, Université de CHLEF Veiller croire en l'expression de notre profond respect.

Je tiens à remercier du fond du cœur messieurs AIT AMRANE A., SELLES S.M.A., HAMMOUDI S.M., BENIA A.R., MAMMERI E.A., BENAICHATA L., MAACHI M. et mon neveu Hadj M'hamed pour leur collaboration durant la réalisation du travail.

Mes vives reconnaissances vont également aux personnels de l'institut des sciences vétérinaires en particuliers ceux du LBRA, à Mr et Mme KHELLIL du C.R.N.D. et au personnel du centre d'insémination artificielle d'OULED DJELLAL.

DEDICACES

A la mémoire du père HADJ M'Hamed, qui ses derniers moments de vie étaient une souffrance pour que je puisse arriver là. Que Dieu lui accorde sa miséricorde.

A mes plus chers proches :

- Ma mère qui ne cessera jamais de m'encourager.
- Ma femme et mon triplé : M'hamed Amar, Anfale et Khouloud
- Mes frères et sœurs et leur famille.
- A toute la famille BELHAMITI.
- A toute la famille AIT AMRANE.

A la mémoire des chers cousins AZIZ et MOKHTARIA. Que Dieu ait grâce de leur âme.

TABLE DES MATIERES

RESUME FRANÇAIS	1
RESUME ARABE	2
REMERCIEMENTS	3
DEDICACES	4
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	6
INTRODUCTION	7
CHAPITRE 1 : LA PRODUCTION SPERMATIQUE CHEZ LE BOUC	
1. Les cellules de sertoli	9
 1.1. Rôles des cellules de Sertoli 1.1.1. Support et protection et phagocytose des cellules germinales 1.1.2. Nutrition des cellules germinales 1.1.3. Spermiation 1.1.4. Sécrétion et synthèse 	10 11 11 11
2. Les cellules de la lignée germinale	13
2.1. La spermatogenèse2.1.1. Spermatocytogenèse2.1.2. Méiose2.1.3. Spermiogenèse	13 13 15 15
3. Le cycle spermatogénétique	16
4. Contrôle neuroendocrinien de la spermatogénèse	17
5. Le sperme	19
5.1. Le plasma séminal5.2. Le spermatozoïde5.2.1. La tête5.2.2. Le col5.2.3. Le flagelle	19 19 20 20 20
6. Les facteurs de variations de la production spermatique	21
6.1. La photopériode6.2. Age6.3. Alimentation et état général6.4 Structure social	22 26 27 28

	6.5. Température6.6. Race et individu	30 30
	CHAPITRE 2 : LA RECOLTE DU SPERME, L'EXAMEN DE LA SEMENC	'E ET
	L'INSEMINATION ARTIFICIELLE	<i>/</i> L L I
,		20
Ί.	. La récolte du sperme	32
	1.1. La récolte du sperme au vagin artificiel	33 33
	1.1.1. Le vagin artificiel 1.1.2. La technique de récolte	34
	1.2. La récolte du sperme par électro-éjaculation	35
	1.2.1. La technique de récolte	35
2.	. Examen de la semence	37
	2.1. Examens macroscopiques	37
	2.1.1. Le volume 2.1.2. La couleur du sperme	37 37
	2.1.3. La consistance et l'aspect du sperme	38
	2.2. Examens microscopiques	38
	2.2.1. La concentration2.2.1.1. Le comptage direct par hématimètre	38 38
	2.2.1.2. La spectrophotométrie	39
	2.2.2. La motilité massale	40
	2.2.3. Pourcentage des spermatozoïdes mobiles	41 41
	2.2.4. La motilité individuelle des spermatozoïdes2.2.5. Etude de la morphologie spermatique	41
	2.2.5.1. Coloration totale	42
	2.2.5.2. Coloration vitale	43
	2.2.6. L'intégrité membranaire 2.3. Examens biochimiques	45 45
	2.3.1. La mesure du pH	45
	2.3.2. Le test de fructolyse	46
	2.3.3. La réduction du bleu de méthylène 2.3.4. La thermorésistance	46 46
3	. La dilution de la semence	46
J.		_
	3.1. Le cryoprotecteur 3.1.1. Cryoprotecteurs non pénétrant	47 48
	3.1.2. Cryoprotecteurs pénétrant	50
	3.2. Le système tampon	51
	3.3. Les sucres	51
	. La conservation de la semence	51
5.	. Mise en place de la semence ou insémination proprement dite	53
	5.1. L'insémination cervicale	53 53
	5.1.1. Insémination vaginale ou péricervicale5.1.2. Insémination transcervicale	53 53
	5.1.3. Insémination intra-utérine transcervicale	54
	5.2. L'insémination intra-utérine par laparoscopie	56

6. Le diagnostic de gestation	58
 6.1. Les méthodes de laboratoires : 6.1.1. Le dosage de la progestérone 6.1.2. Le dosage du sulfate d'œstrone 6.1.3. Dosage des protéines de gestation et de l'hormone lactogène 	58 58 59
placentaire 6.2. Les méthodes cliniques 6.2.1. Le retour en chaleur 6.2.2. La palpation abdominale 6.2.3. Le diagnostic échographique 6.2.3.1. Echographie transcutanée 6.2.3.2. Echographie transrectale	60 60 61 61 62 63
7. Facteurs de variation de la fertilité après insémination	64
 7.1. Le moment d'insémination 7.2. Le traitement hormonal 7.3. La qualité des spermatozoïdes 7.4. L'endroit du dépôt de la semence 7.5. L'inséminateur 	64 65 66 67 67
PARTIE EXPERIMENTALE	
PARTIE A : ETUDE DES VARIATIONS SAISONNIERES DE LA PRODUC	TION
SPERMATIQUE DES BOUCS DE RACE ARBIA	
1. La localisation	68
2. Matériels et méthodes	69
 2.1. Milieu et animaux 2.1.1. Animaux 2.1.2. Bâtiments 2.2. Matériels 2.2.1. La récolte du sperme 	69 69 69 69
2.2.2. L'examen de la semence 2.3. Méthodes	70 70
2.3.1. La récolte de la semence	70
2.3.2. L'examen de la semence	70
PARTIE B : ESSAIS DE CONSERVATION A COURT TERME DE LA SEM	ENCE
DES BOUCS DE RACE ARBIA.	
1. Matériels et méthodes	72
1.1. Matériels1.2. Méthodes	72 72

PARTIE C : ES	SAI DE L'INSEMINA	TION ARTIFICIELL	E DES CHEVRES	DE
RACE ARBI	A AVEC UNE SEMEN	NCE DILUFE ET C	ONSERVEE A 5°C	

1. Matérie	els et méthodes	75
1.2. I 1.3. I 1.3.1 1.3.2 1.3.3	Matériels Milieu et animaux Méthodes I. La synchronisation des chaleurs 2. La détection des chaleurs 3. La mise en place de la semence 4. Le diagnostic de gestation	75 75 76 76 76 77 78
	RESULTATS ET DISCUSSION	
PARTIE	A : ETUDE DES VARIATIONS SAISONNIERES DE LA PRODUCT	TION
	SPERMATIQUE DES BOUCS DE RACE ARBIA.	
I. Résultat	ts	79
1. Les mo	yennes mensuelles des paramètres spermatiques	79
1.2. I 1.3. I 1.4. I 1.5. I 1.6. (L'évolution mensuelle du volume de l'éjaculat L'évolution mensuelle de la concentration de l'éjaculat L'évolution mensuelle de la mobilité des spermatozoïdes L'évolution mensuelle de la viabilité des spermatozoïdes L'évolution mensuelle du pH spermatique des boucs Comparaison entre l'évolution mensuelle des paramètres spermatiques étudiés Comparaison entre l'évolution des paramètres spermatiques et la	79 81 82 83 84
ĭ	photopériode	87
2. Les mo	yennes saisonnières des paramètres spermatiques	88
2.2. l 2.3. l 2.4. l 2.5. l	L'évolution saisonnière du volume spermatique L'évolution saisonnière de la concentration spermatique L'évolution saisonnière de la mobilité spermatique L'évolution saisonnière de la viabilité spermatique L'évolution mensuelle du pH spermatique Comparaison entre l'évolution saisonnière des paramètres	88 89 90 91 92
5	spermatiques étudiées	94
II. Discuss	sion	96
1. Le volui 2. La cond 3. La mob 4. Le pH		99 101 102 103
PARTIE I	B : ESSAIS DE CONSERVATION A COURT TERME DE LA SEME	NCE
	DES BOUCS DE RACE ARBIA.	
I. Résultat	ts	105

2. La coi	nps de conservation ncentration du jaune d'œuf vage de la semence	108 108 109
II. Discu	ssion	110
2. La coi	nps de conservation ncentration du jaune d'œuf vage de la semence	111 111 113
PART	TIE C : ESSAI DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE	DES CHEVRES DE
RA	CE ARBIA AVEC UNE SEMENCE DILUEE ET CON	ISERVEE A 5°C.
I. Résult	ats	118
1. La syr	nchronisation des chaleurs	117
2. L'insé	emination artificielle	119
	Le retour en chaleur Le dosage de la progestérone plasmatique L'examen échographique	119 119 120
II. Discu	ssion	121
CONCL		127
REFERE	ENCES	

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

FIGURES	
Figure 1.1 : Structure histologique du tube séminifère	10
Figure 1.2 : Schéma représentatif des différentes fonctions des cellules de Sertoli	12
Figure 1.3 : La biologie de la spermatogénèse chez le rat	14
Figure 1.4: Etapes de la spermiogenèse	16
Figure 1.5: Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse	17
Figure 1.6 : Ultrastructure du spermatozoïde humain	21
Figure 1.7 : Effet de la photopériode sur la production spermatique des béliers de	
race île-de-France	22
Figure 1.8 : Proportion de chèvres présentant un œstrus (en vert) ou une ovulation	1
(en rouge) selon le mois de l'année dans un troupeau de chèvres	
Alpines (n=15)	23
Figure 1.9 : Représentation schématique de l'action du photopériodisme sur la	
reproduction	24
Figure 1.10 : Représentation schématique des variations de la concentration de la	
mélatonine en fonction de la photopériode	25
Figure 1.11 : Leptine et modulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique	28
Figure 1.12 : Début de l'activité sexuelle, au cours des tests de collecte de	
semence, de jeunes béliers Lacaune élevés dans trois conditions	
différentes pendant le jeune âge	29
Figure 2.1 : Le vagin artificielle	34
Figure 2.2 : Electro-éjaculateur avec des sondes différentes	36
Figure 2.3 : Variations mensuelles du volume de l'éjaculat et de sa teneur en	
spermatozoïdes chez le bouc de race Alpine (n = 5 boucs âgés de 10	
mois au début de l'étude) en France à 45° de latitude nord	39

Figure 2.4 : Classification des différentes anomalies spermatiques 4	4
Figure 2.5 : Eau congelée avec ou sans adjonction d'un cryoprotecteur	.8
Figure 2.6 : Mécanisme de protection des spermatozoïdes par le jaune de d'œuf	
et le lait	.9
Figure 2.7 : Schéma d'une paillette d'insémination artificielle	2
Figure 2.8: Méthode d'insémination artificielle cervicale	4
Figure 2.9 : Technique (a) et équipement (b) pour l'insémination artificielle intra-	
utérine transcervicale 55	55
Figure 2.10 : Contention d'une brebis pour IA par laparoscopie 56	6
Figure 2.11 : Sites d'insertion des trocarts 5	7
Figure 2.12 : Visualisation des cornes utérines (A) et dépôt de semence dans la	
grande courbure de la corne utérine (B) 5	7
Figure 2. 13 : Echographie transcutanée 63	3
Figure 2.14 : Echographie transrectale 63	3
Figure 2.15 : Fertilité (pourcentage de chèvres mettant bas) après IA selon	
l'intervalle entre le retrait de l'éponge vaginale et le début de l'œstrus.	
a1 vs b et a2 vs c : P<0,01 ; a2 vs d : P<0,05	6
Figure 3.1: Bouc entier muni d'un tablier utilisé pour la détection 70	6
Figure 3.2 : Contention de la chèvre au cours d'insémination 7	7
Figure 3.3 : Gestation chez une chèvre à 35j	20
TABLEAUX	
Tableau 2.1 : La description de la motilité massale des spermatozoïdes 40	.0
Tableau 2.2 : Détermination de la note de motilité individuelle des spz 4	
Tableau 2.3 : Exactitude du diagnostic de gestation à 21j	
Tableau 2.4 : Fertilité des chèvres inséminées avec de la semence fraîche à	
différents moments du début de l'æstrus	5
Tableau 3.1.: Les moyennes mensuelles du volume spermatique des boucs 79	
Tableau 3.2. : Les moyennes mensuelles de la concentration spermatique des	
Boucs 8	i1
Tableau 3.3. : Les moyennes mensuelles de la mobilité spermatique des boucs 82	2
Tableau 3.4. : Les moyennes mensuelles de la viabilité spermatique des boucs 83	3
Tableau 3.5. : Les moyennes mensuelles du pH spermatique des boucs	
• • • • • • •	

spermatiques étudiés	87
Tableau 3.7 : Les moyennes saisonnières du volume spermatique des boucs	88
Tableau 3.8 : Les moyennes saisonnières de la concentration spermatique des	
Boucs	89
Tableau 3.9 : Les moyennes saisonnières de la mobilité spermatique des boucs	90
Tableau 3.10 : Les moyennes saisonnières de la viabilité spermatique des boucs	91
Tableau 3.11 : Les moyennes saisonnières du pH spermatique des boucs	93
Tableau 3.12 : La corrélation entre les moyennes saisonnières des paramètres	
spermatiques étudiés	95
Tableau 3.13 : La moyenne des taux des spermatozoïdes mobiles en fonction du	
temps et de la concentration du jaune d'œuf	105
Tableau 3.14 : L'étude statistique des facteurs influençant la conservation de la	
Semence	108
Tableau 3.15 : Apparition des chaleurs et moment d'IA par rapport à celle-ci	118
Tableau 3.16: La progestéronémie des chèvres à 21j post-insémination	119
GRAPHES	
Graphe 3.1: Les moyennes mensuelles du volume spermatique des boucs	79
Graphe 3.2: Les moyennes mensuelles de la concentration spermatique des	
Boucs	81
Graphe 3.3: Les moyennes mensuelles de la mobilité spermatique des boucs	83
Graphe 3.4: Les moyennes mensuelles de la viabilité spermatique des boucs	84
Graphe 3.5: Les moyennes mensuelles du pH spermatique des boucs	85
Graphe 3.6 : La comparaison entre l'évolution des moyennes mensuelles des	
paramètres spermatiques étudiés	86
Graphe 3.7 : La comparaison entre l'évolution des moyennes mensuelles des	
paramètres spermatiques étudiés et la photopériode	88
Graphe 3.8 : Les variations saisonnières du volume spermatique chez le bouc	89
Graphe 3.9: Les variations saisonnières de la concentration spermatique chez le	
Bouc	90
Graphe 3.10: Les variations saisonnières de la mobilité spermatique chez le bouc	91
Graphe 3.11: Les variations saisonnières de la viabilité spermatique chez le bouc	92
Graphe 3.12: Les variations saisonnières du pH spermatique chez le bouc	93
Graphe 3.13 : La comparaison entre l'évolution des moyennes saisonnières des	

paramètres spermatiques étudiés	94
Graphe 3.14: Le taux des spermatozoïdes mobiles dans un milieu à base de jaune	;
d'œuf à 2%	106
Graphe 3.15 : Le taux des spermatozoïdes mobiles dans un milieu à base de	
jaune d'œuf à 10%	107
Graphe 3.16 : Le taux des spermatozoïdes mobiles dans un milieu à base de	
jaune d'œuf à 20%	107
Graphe 3.17 : L'immobilisation des chèvres aux chevauchements du bouc après	
un traitement de synchronisation des chaleurs	117



INTRODUCTION

La sécurité alimentaire est l'objectif principal de toute nation. Malgré les efforts consentis, notre pays demeure loin d'assurer cet objectif. Comparativement à d'autres secteurs stratégiques, le secteur de l'alimentation, en Algérie, a longtemps été l'apanage de l'état qui a mis en place un système qualifié d'importateur agroalimentaire [1].

Malgré le potentiel d'élevage considérable de l'Algérie, le pays est toujours confronté à un énorme déficit de production laitière et de viande [1]. La compétitivité de la production locale reste faible et la demande nationale de produits d'origine animale est satisfaite par les importations [2]. Chaque année l'état importe entre 250000 et 280000 tonnes de poudre de lait et plus de 50000 tonnes de viandes rouges [1].

La caractérisation des performances réelles de production ou de reproduction d'un élevage est la première étape pour mettre en place des politiques de développement durable du secteur de l'élevage [3, 4].

Les caprins comptent parmi les animaux domestiques les plus fertiles. En absence d'une imperfection en matière d'alimentation et de gestion sanitaire et reproductive, leur taux de conception est de l'ordre de 90% [5].

Dans ces contextes, l'élevage caprin, par son taux de 15% par rapport aux ruminants [6], présente un potentiel de développement rural. En effet, il représente une alternative à la production du lait et de la viande, étant mieux adapté que les

bovins aux conditions montagneuses et nécessitant un moindre coût d'investissement [2].

Cependant, certaines races caprines manifestent d'importantes variations saisonnières de leur activité sexuelle se traduisant par l'existence d'une période d'activité sexuelle maximale et d'une autre minimale. Cette saisonnalité de la reproduction peut être, donc, un facteur limitant de la production surtout en système intensif [5].

Récemment, HAMMOUDI et al., (2010) [7] et AIT AMRANE et al., (2013) [8] ont montré que le bouc de race Arbia, la principale population indigène en Algérie [4], manifeste des variations saisonnières de son activité sexuelle.

Chez les caprins comme chez les autres animaux domestiques, l'application des biotechnologies de la reproduction, à savoir la synchronisation des chaleurs, le diagnostic et le suivi de la gestation, l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire, ont permis le passage de l'élevage traditionnel à l'élevage industriel en maîtrisant au mieux la reproduction. Ces biotechnologies sont toujours associées au contrôle de la qualité des caractéristiques de reproduction du reproducteur [9].

Dans ce présent travail, nous souhaiterions élucider, un tant soit peu, la question relative aux caractéristiques spermatiques des boucs de race Arbia en étudiant :

- Les variations annuelles de la production spermatique des boucs de race Arbia.
- Le moment propice à la production d'une semence de bonne qualité.
- Le ou les facteurs susceptible(s) d'influencer la production spermatique des boucs de race Arbia.
- La possibilité de conservation de la semence à court terme.
- La possibilité de la pratique de l'insémination artificielle en utilisant une semence conservée à 5°c.

CHAPITRE 1 LA PRODUCTION SPERMATIQUE CHEZ LE BOUC

LA PRODUCTION SPERMATIQUE CHEZ LE BOUC

La spermatogenèse ou formation des spermatozoïdes est un phénomène continu débutant à la puberté, qui aboutit à la production d'un grand nombre de spermatozoïdes à la suite d'une séquence de divisions et de différenciations des spermatogonies. Elle a lieu dans les tubes séminifères, où les cellules de la lignée spermatogénique sont associées à des cellules de soutien appelées cellules de Sertoli [10].

1. Les cellules de Sertoli

Ce sont des cellules somatiques à fonction identique et aux structures semblables à celles de tous les vertébrés [11]. Petites, rondes, empilées dans le désordre dans le tube séminifère avant la puberté, elles deviennent, à la puberté, de forme pyramidale reposant sur la membrane basale tendant de nombreux embranchements vers les cellules germinales et servant de tremplin aux spermatozoïdes enfoncés à leur sommet. Les cellules de Sertoli s'étendent sur la hauteur du tube séminifère et s'unissent, d'une part, entre elles par des jonctions serrées, et d'autre part, avec les cellules germinales par des jonctions d'ancrages [12, 13].

Les jonctions serrées partagent l'épithélium du tube séminifère en deux compartiments : le compartiment basal qui communique avec le tissu sous-jacent et le compartiment juxta-luminal, qui en est protégé et isolé, et constituent une barrière de diffusion, également, dénommée « barrière hémato-testiculaire » (figure 1.1). Cette dernière empêche, sélectivement, de nombreuses substances de pénétrer dans le compartiment juxta-luminal, où les processus vitaux de la

méiose et la spermiogenèse auront lieu dans un microenvironnement contrôlé [14].

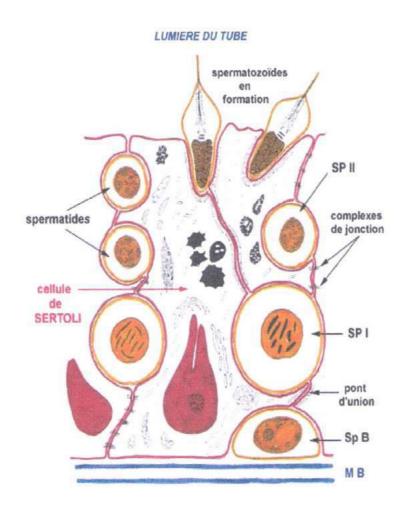


Figure 1.1 : Structure histologique du tube séminifère [16].

1.1. Rôles des cellules de Sertoli :

Les cellules de Sertoli jouent un rôle crucial dans le développement des cellules germinales et dans la régulation de la spermatogenèse. Le nombre de ces dernières soutenues par une seule cellule de Sertoli est le meilleur reflet de l'efficacité fonctionnelle de cette cellule et est généralement corrélée avec une efficacité spermatogénétique [15].

Toutefois, le rôle des cellules de Sertoli ne se borne pas à materner les gamètes mâles dans l'univers clos du tube séminifère mais, certains produits de sécrétion de ces cellules agissent, également, à distance de leur lieu de production, répondant, ainsi, à la définition d'une hormone (figure 1.2).

1.1.1. Support, protection et phagocytose des cellules germinales :

Les cellules de Sertoli relient les cellules de la lignée germinale et les protègent des réactions immunologiques. Leur base forme une barrière sélective entre le sérum et les cellules germinales évoluées, leur corps constitue un échafaudage qui maintient en place les clones de cellules germinales en voie de différenciation et absorbe les débris cellulaires qui en résultent, ainsi que les corps résiduels après libération des spermatozoïdes dans la lumière tubulaire et les cellules germinales dégénérées [17].

1.1.2. Nutrition des cellules germinales :

Les échanges métaboliques de cellules germinales se font à travers le cytoplasme sertolien en raison de non vascularisation de l'épithélium séminal. Les cellules de Sertoli synthétisent des produits spécifiques qui sont nécessaires pour la survie des cellules germinales et que ces produits se combinent pour former un environnement unique et essentiel dans le compartiment adluminal [18].

1.1.3. Spermiation :

Leurs protéases cellulaires participent dans la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère. Ce processus est complexe et implique l'expulsion des spermatides à partir des cryptes sertoliennes vers la lumière : (i) l'encapsulation des spermatides par les processus cytoplasmiques, (ii) la libération des têtes des spermatides de la région apicale des cellules de Sertoli puis (iii) le détachement et enfin la phagocytose des corps résiduels [19].

1.1.4. Sécrétion et synthèse :

Les cellules de Sertoli sont connues pour avoir une fonction de sécrétion très importante. Cette fonction comprend la production de :

- Fluide des tubes séminifères : la sécrétion de fluide des tubes séminifères est une fonction essentielle des cellules de Sertoli. Les rôles présumés de ce fluide sont la nutrition des cellules germinales et des spermatozoïdes libérés et le transport des substances chimiques à partir de la base à la partie apicale de l'épithélium séminifère [20].

- Protéines : l'androgen-binding protein (ABP) est la première protéine sécrétée par les cellules de Sertoli. Elle a été mise en évidence, chez le bouc, en 1978 par JEGOU et CHEMINEAU [21]. En plus des protéines testiculaires spécifiques telles que l'ABP, les cellules de Sertoli produisent de nombreuses protéines qui fonctionnent comme des facteurs de croissance ou des facteurs paracrines (exemple : AMH (Anti-Mullerian Hormone), TGFα et TGFβ: Transforming Growth Factor) [22, 23, 24, 25]. Les cellules de Sertoli peuvent sécréter des peptides bioactifs tels que prodynorphine et des nutriments ou des intermédiaires métaboliques [18].
- Stéroïdes : les cellules de Sertoli ont une capacité de synthétiser et de métaboliser de nombreux stéroïdes. Le rôle de ces stéroïdes, bien que largement négligé, est probablement très important dans la régulation autocrine, paracrine et endocrine de la spermatogenèse [20].

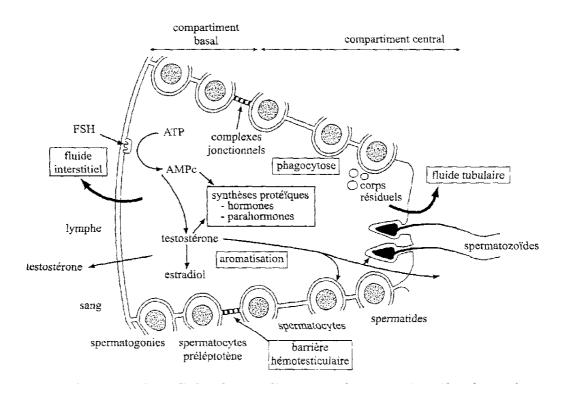


Figure 1.2 : Schéma représentatif des différentes fonctions des cellules de Sertoli [13].

2. Les cellules de la lignée germinale :

Les cellules germinales sont composées de trois grandes catégories de cellules correspondant à des phases de la spermatogenèse. La phase de division implique les spermatogonies et permet la continuité de la spermatogenèse chez l'adulte. La phase de méiose concerne les spermatocytes et permet la création de cellules haploïdes et le brassage génétique. Enfin, pendant la phase de différenciation, la spermatide va subir un processus majeur de différenciation aboutissant au spermatozoïde.

2.1. La spermatogenèse :

La spermatogenèse commence à la puberté. C'est un processus dynamique par lequel les spermatogonies se développent pour devenir des spermatozoïdes [26, 27], qui implique, à la fois, des divisions mitotique et méiotiques [28]. Elle se divise en trois phases (figure 1.3): (a) spermatocytogenèse: processus durant lequel les spermatogonies se divisent par mitose plusieurs fois et donnent finalement des spermatocytes primaires; (b) méiose: la division de maturation des spermatocytes qui donne des spermatides avec un nombre réduit de chromosomes (haploïde); et (c) spermiogenèse: processus de transformation des spermatides en spermatozoïdes.

2.1.1. Spermatocytogenèse:

Trois types de spermatogonies ont été, initialement, décrits en fonction de leur morphologie nucléaire. Les spermatogonies Type A ont été considérées comme les plus primitives parce que l'hétérochromatine est absente dans le noyau, une caractéristique générale de cellules indifférenciées. Les noyaux des spermatogonies de type intermédiaire contiennent une petite quantité de l'hétérochromatine et ceux des spermatogonies de type B en contiennent une grande quantité, indiquant un état plus différencié.

Les spermatogonies A indifférenciées peuvent se diviser en spermatogonies A_{single} (A_s), A_{paired} (A_{pr}) and $A_{aligned}$ (A_{al}) qui ne diffèrent que par leur agencement topographique sur la membrane basale du tube séminifère. La division d'une spermatogonie A_s produit des spermatogonies A_{pr} qui soit, produisent deux nouvelles spermatogonies A_s (auto-renouvellement) soit, restent

reliées par un pont cytoplasmique intercellulaires et produisent une chaîne de quatre spermatogonies A_{al} à la prochaine division. Ces dernières deviennent des spermatogonies différenciées (A1, A2, A3, A4, intermédiaire et B). Les spermatogonies B se divisent une à trois fois donnant naissance à des spermatocytes primaires qui progressent dans la méiose. Ce modèle est très proche de celui des spermatogonies *Ad* (Dark, type A) et *Ap* (pâle, type B) [29] ; la lignée active est comprise entre A1 et A4, quand ces dernières se divisent, soit, elles renouvellent les cellules A1, soit elles donnent des cellules intermédiaire différenciées [30].

Les spermatogonies donnent naissance à des spermatocytes après un nombre fixe de divisions mitotiques caractéristiques de chaque espèce, dont six générations de spermatogonies différenciées ayant été observées chez les caprins [31].

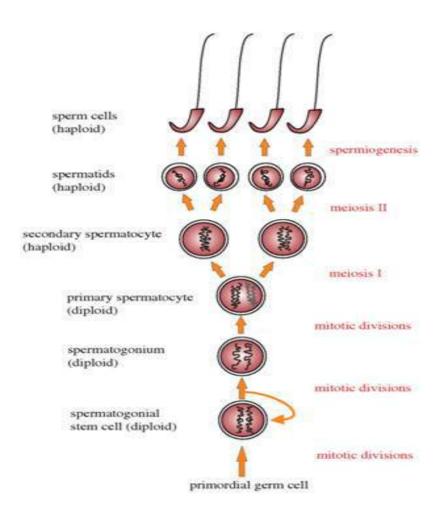


Figure 1.3 : La biologie de la spermatogénèse chez le rat [33].

2.1.2. Méiose :

Les cellules germinales se multiplient d'abord par divisions mitotiques successives puis par méiose. Dans ce dernier processus, deux divisions cellulaires successives après un cycle de réplication de l'ADN donnent naissance à quatre cellules haploïdes provenant d'une seule cellule diploïde.

Le spermatocyte I devient une grande cellule ovalaire et entre par la suite en division méiotique aboutissant à la formation de deux « spermatocytes du deuxième ordre » ou « spermatocytes II » possédant la moitié du stock chromosomique : c'est la première division de la méiose (réductionnelle). Sa prophase compte cinq étapes : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse. Suite à la deuxième division de la méiose, chaque spermatocyte II donne deux nouvelles cellules appelées « spermatides » [32].

2.1.3. Spermiogenèse :

Les spermatides ne se divisent pas mais subissent une série de modifications aboutissant à la libération des spermatozoïdes : c'est la spermiogenèse. Elle se déroule de la façon suivant (figure 1.4) :

- Réorganisation du noyau : il s'aplatit latéralement, se dirige vers le pôle acrosomique et sa condensation se poursuit.
- Apparition des vésicules et des granules proacrosomaux dans l'appareil de Golgi,
- Formation d'un seul granule acrosomique de grande taille dans une vésicule plus grande qui marque le noyau.
- Assemblage des structures du flagelle : les formations flagellaires apparaissent à partir du col marqué par le centriole distal [17, 16, 31].

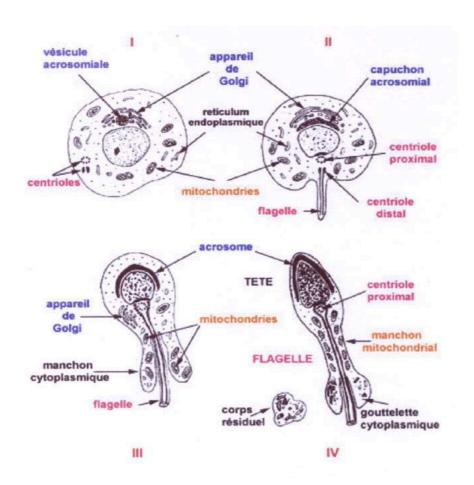


Figure 1.4: Etapes de la spermiogenèse [16].

A la fin de la spermiogenèse, les spermatozoïdes sont libérés dans la lumière du tube séminifère, c'est la spermiation [32].

3. Le cycle spermatogénétique :

Le cycle spermatogénétique est l'ensemble des modifications que subisse une cellule germinale mâle depuis le stade gonie primordiale jusqu'au stade spermatozoïde. Quand une cohorte de spermatogonie initie la spermatogénèse en un point particulier du tube séminifère, cette dernière ne recommence en ce même point qu'après un laps de temps de plusieurs jours, caractéristique de l'espèce, c'est le cycle de l'épithélium séminal [34]. La connaissance de la durée du cycle spermatogénétique est fondamentale pour déterminer l'efficacité spermatogénétique et effectuer des études comparatives entre les espèces. La durée totale de la spermatogenèse basée sur 4,5 cycles de l'épithélium séminal varie d'environ 30 à 78 jours chez les mammifères [31].

4. Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse :

Le contrôle endocrinien de la spermatogenèse est régi par l'activité neuroendocrine de l'axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire (figure 1.5). Chez les mammifères, la spermatogenèse nécessite l'action d'un assortiment complexe d'hormones peptidiques et stéroïdiennes, dont chacun joue un rôle important dans le fonctionnement normal de l'épithélium séminifère [35].

La spermatogenèse est régulée par deux gonadotrophines libérées par l'hypophyse antérieure en réponse à la stimulation de la GnRH: l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculo-stimulante (FSH).

Le signal central hypothalamique à l'hypophyse est une hormone décapeptide GnRH caractérisée par une sécrétion pulsatile énergique et agit par l'intermédiaire du récepteur GnRH transmembranaire [36]. Un pulse de GnRH correspond à la somme de petites quantités d'hormone libérées de façon synchrone chacune par un neurone selon un rythme endogène de 15 à 30 minutes, qui implique l'existence d'un « pacemaker » et d'un synchronisateur dont la nature, la structure, la localisation et le mode de fonctionnement sont mal connus [34].

La GnRH stimule la sécrétion hypophysaire de deux autres hormones FSH et LH considérées comme une partie des facteurs de croissance TGFβ. Relativement, et en général, la libération pulsatile de LH est énergique et similaire à celle de GnRH, tandis que la libération pulsatile de FSH est plutôt lente [35, 36]. Les effets de la GnRH sur la sécrétion de FSH sont moins aigus que ceux sur la sécrétion de LH. Ainsi, alors que la sécrétion de GnRH est le modulateur essentiel de la sécrétion de LH, la GnRH serait indispensable au maintien d'un niveau suffisant de la biosynthèse de FSH par l'hypophyse qui est modulée par différents facteurs gonadiques, stéroidiens ou protéiques [34].

La FSH et la LH partagent, dans leur structure, une sous-unité α commune et se distinguent par leur sous-unité β spécifique aux hormones. Par conséquent, il faut que les 2 sous unités soient associées pour acquérir une activité [34].

L'expression du récepteur FSH (FSH-R) est limitée aux cellules testiculaires de Sertoli [37], tandis que les récepteurs LH-R sont principalement présents dans les cellules de Leydig [38, 39].

La FSH exerce son action au niveau de l'épithélium séminal et au niveau des cellules de Sertoli qui secrètent l'*ABP* et l'*inhibine*. Cette dernière exerce un feed-back négatif sur la sécrétion de FSH, en agissant soit sur les neurones hypothalamiques, soit sur les noyaux hypophysaires. La LH ou ICSH agit sur les cellules de Leydig et stimule la sécrétion de la testostérone. Celle-ci se lie au niveau du cytoplasme sertolien à l'ABP dont le complexe ainsi formé stimule le développement de l'épithélium séminal [32].

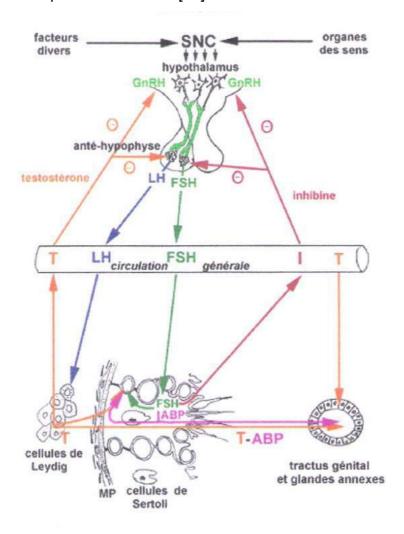


Figure 1.5: Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse [16].

En raison de la proximité entre les cellules de Leydig et les tubes séminifères, des quantités importantes de testostérone diffusent dans les tubes séminifères et deviennent concentrées dans le compartiment adluminal par l'ABP. Des concentrations en testostérone dans les tubes séminifères 100 fois plus élevées que les concentrations circulantes sont absolument nécessaires au déroulement de la spermatogenèse [34].

La testostérone circulante stimule le tractus génital et les glandes annexes, d'une part, et inhibe par rétroaction négative la sécrétion de LH, d'autre part. Ainsi, les cellules de Leydig produisent également des oestrogènes qui, tout comme la testostérone, exercent un feedback négatif sur la GnRH et les hormones LH et FSH [40, 41].

5. Le sperme :

Chez le bouc, le sperme apparaît comme un liquide épais, crémeux et inodore avec une viscosité plus élevée que celle du taureau, il est constitué de deux fractions :

- Une fraction liquide appelée plasma séminale, faite des sécrétions testiculaires et des glandes annexes.
- Une fraction cellulaire constituée par les spermatozoïdes produits par les testicules.

5.1. Le plasma séminal :

Les vésicules séminales sont la source de substrats énergétiques des spermatozoïdes et de protéines de natures diverses. Chez le bouc, leurs sécrétions sont riches en fructose, acide citrique et contiennent, également, des prostaglandines. Les produits de sécrétions prostatiques sont riches en ions de zinc, en acide citrique et en protéines à activité protéasique. Les glandes de Cowper émettent un fluide clair et visqueux qui sert comme un lubrifiant [32]

5.2. Le spermatozoïde :

Le spermatozoïde est une cellule hautement spécialisée qui assure la transmission du génome haploïde mâle (ADN) à l'œuf de la femelle [42].

C'est une petite cellule allongée, très mobile, de longueur variable selon les espèces (60 à 65µ chez le bouc) [43]. Elle se constitue d'une tête et d'un flagelle réunis par un col très bref (figure 1.6).

5.2.1. La tête :

Chez le bouc, elle présente une forme massive, longue de 8µ et large de 4,5 à 5µ. Elle est constituée essentiellement du noyau à chromatine dense dont les deux tiers antérieurs sont recouverts par l'acrosome [42]. Le segment antérieur de ce dernier contient la « Hyaluronidase » qui digère le matériel unissant les cellules du cumulus oophorus, tandis que le segment postérieur renferme l'acrosine dont le rôle est la perforation de la zone pellucide de l'œuf [44].

5.2.2. Le col:

C'est une courte partie cytoplasmique (2 à 3µ) contenant une plaque basale, le centriole proximal, 9 fibres denses disposées autour d'un complexe filamenteux axial (axonème) qui comprend 9 paires de tubules périphériques et une paire de tubules centraux. Le tout s'entoure d'une gaine mitochondriale, ellemême, entourée d'une mince couche cytoplasmique [32].

5.2.3. Le flagelle : présente, lui-même, trois parties successives :

- ➤ <u>La pièce intermédiaire</u>: débute au niveau du centriole distal et se termine par un épaississement de la membrane cytoplasmique en partie caudale : c'est l'annulus. Elle contient les éléments fibrillaires présents au niveau du col et des mitochondries disposées en gaine spiralée.
- *La pièce principale :* c'est la partie la plus longue de la queue. A son niveau, la gaine mitochondriale est substituée par une gaine fibreuse.
- ➤ <u>La pièce terminale</u>: ne contient que le filament axial avec une mince membrane remplaçant la gaine fibreuse [45].

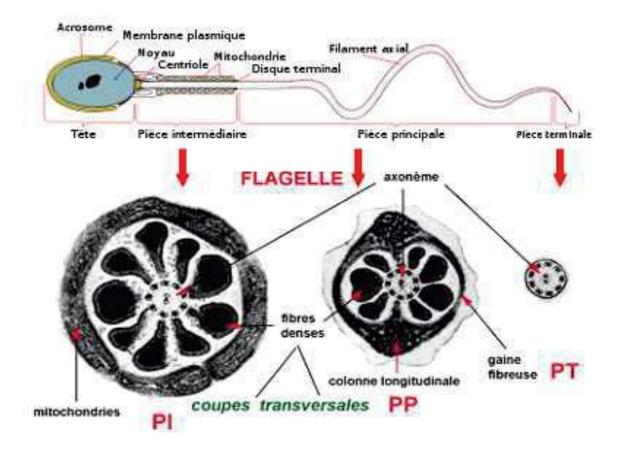


Figure 1.6 : Ultrastructure du spermatozoïde humain [46].

Le flagelle est l'élément moteur du spermatozoïde car les mitochondries assurent les phosphorylations oxydatives du fructose présent dans le liquide séminale fournissant l'énergie nécessaire aux mouvements de la queue, tandis que les structures de l'axonème ont des propriétés contractiles. Ainsi, les microtubules périphériques sont riches en ATPase [16, 47].

6. Les facteurs de variations de la production spermatique :

Certaines races caprines manifestent d'importantes variations saisonnières de leur activité sexuelle se traduisant par l'existence d'une période d'activité sexuelle maximale et d'une autre minimale. Ces variations se manifestent, chez le mâle, par une diminution de l'intensité du comportement sexuel et de la production spermatique, tant en quantité qu'en qualité, ce qui est à l'origine d'une diminution plus ou moins importante de la fertilité [48].

Différents facteurs sont susceptibles d'influencer l'expression de cette activité reproductive, à savoir :

- ▲ Facteurs environnementaux : photopériode, température, structure sociale et état nutritionnel.
 - ▲ Facteurs internes : taux des hormones stéroïdes, race et individu.

6.1. La photopériode :

La photopériode est le principal entraîneur de la fonction de reproduction. Chez les boucs de race saisonnée, le comportement sexuel, le volume testiculaire et la production spermatique (figure 1.7) sont influencés par les changements photopériodiques [49, 50, 51]. Ainsi, on observe une diminution de l'activité sexuelle durant le printemps en opposition avec une augmentation de l'activité alimentaire. Cependant, cette diminution est atténuée si les animaux sont entraînés régulièrement à éjaculer dans un vagin artificiel [52].

Chez les mâles des espèces saisonnières, l'activité spermatogénétique et le comportement sexuel ne s'arrêtent pas complètement, mais sont, également, très dépendants de la saison [53].

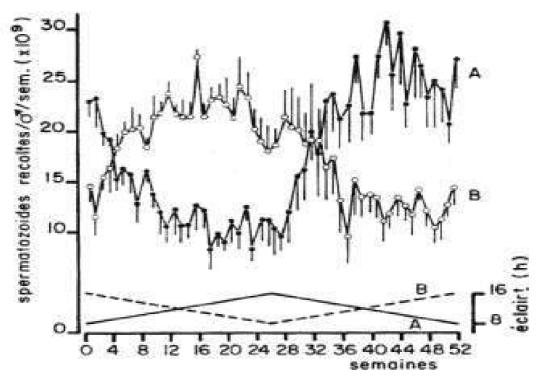


Figure 1.7 : Effet de la photopériode sur la production spermatique des béliers de race île-de-France [54].

La durée de la saison sexuelle varie inversement avec la latitude, les races de chèvre ayant la saisonnalité la plus marquée étant celles vivant à des latitudes moyennes ou élevées (supérieure à 35°) [55].

Les caprins originaires des zones tempérées manifestent d'importantes variations saisonnières de leur activités sexuelle (figure 1.8). Dans les deux sexes, il existe une période d'activité sexuelle maximale qui s'étend, en général, d'octobre à janvier et une période d'activité minimale de février à septembre [56].

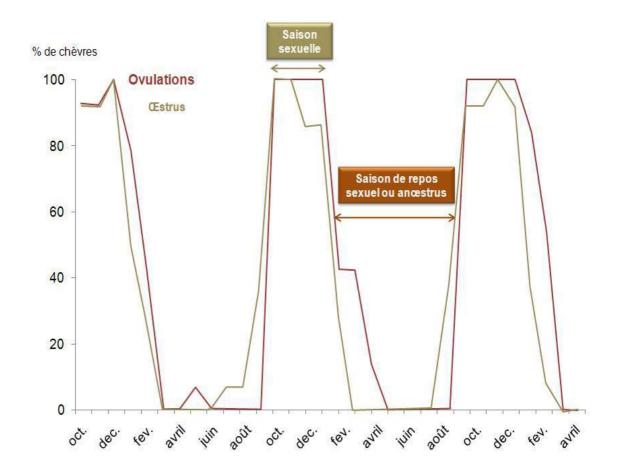


Figure 1.8 : Proportion de chèvres présentant un œstrus (en vert) ou une ovulation (en rouge) selon le mois de l'année dans un troupeau de chèvres Alpines (n=15) [57].

Le changement de la photopériode agit comme un bio-régulateur de l'activité reproductrice et de la fertilité grâce à la médiation du système nerveux central, de l'hypothalamus, de l'adénohypophyse et de la glande pinéale.

L'hormone pinéale, la mélatonine, à travers sa sécrétion nocturne, s'est révélée être le principal transducteur de l'information photopériodique à l'axe neuroendocrinien de la reproduction [58, 59]. L'information lumineuse est perçue par la rétine de l'œil. Le message lumineux est, ensuite, traduit en signal neuronal et dirigé, par l'intermédiaire de plusieurs relais nerveux tels que les noyaux suprachiasmatiques et paraventriculaires et le ganglion cervical supérieur (figure 1.9), vers la glande pinéale [60, 61] qui sécrète la mélatonine à partir du Tryptophane et de la sérotonine, sous l'effet de la N-acétyl transférase dont l'activité est commandée par la perception jour/nuit [62, 63].

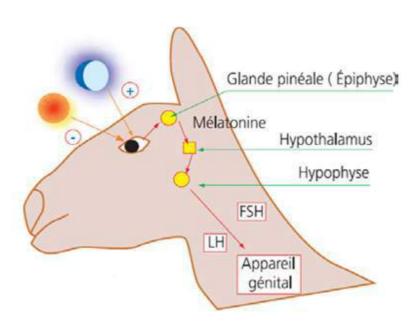


Figure 1.9 : Représentation schématique de l'action du photopériodisme sur la reproduction [64].

La mélatonine présente, alors, des concentrations dans le sang périphérique multipliées au moins par 20 (figure 1.10), à l'occasion du passage lumière/obscurité [62].

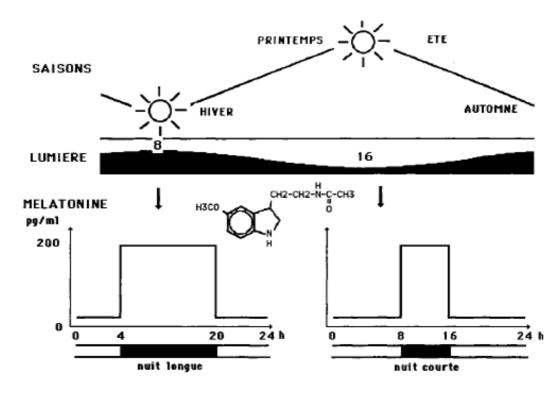


Figure 1.10 : Représentation schématique des variations de la concentration de la mélatonine en fonction de la photopériode [65].

C'est grâce à la durée de cette sécrétion que les boucs et les chèvres, comme tous les mammifères étudiés, sont capables de mesurer la durée de la nuit, et donc celle du jour [62]. Bien que la sécrétion de mélatonine soit toujours maximale pendant la nuit, les changements dans la durée du jour entraîneront évidemment des changements dans les relations exactes entre la phase de l'élévation de la mélatonine et certains points de référence dans le cycle lumière-obscurité [59]. La phase "photosensible ", située avec exactitude chez les ovins 17 à 18 heures après l'aube et supposée au même moment chez les caprins, est le moment privilégié de la période nocturne dont l'éclairement provoque la lecture d'un jour long [66].

Le mécanisme principal dans la reproduction saisonnière est le contrôle neural de la GnRH hypothalamique. L'augmentation de la sécrétion de mélatonine atteignant l'hypothalamus stimule, alors, la sécrétion pulsatile de GnRH. Par la suite, la sécrétion de FSH et de LH par l'hypophyse augmente, ce qui entraîne le déclenchement de l'activité sexuelle et le début de la saison de reproduction [63].

Le changement saisonnier de la sensibilité aux œstrogènes est le principal mécanisme de passage de la saison de reproduction à la contre-saison d'activité sexuelle [67]. Les variations annuelles de la photopériode avaient un effet indirect sur la reproduction en modifiant la sensibilité de l'hypothalamus à l'action négative de l'œstradiol. Ainsi, suite à la régression du corps jaune du dernier cycle œstral de la saison de reproduction, l'augmentation de la pulsatilité de LH et de la sécrétion d'œstradiol par les follicules en croissance aurait un effet négatif sur l'hypothalamus, qui deviendrait plus sensible à l'effet de l'œstradiol à l'approche de la contre-saison. Cette rétroaction de l'œstradiol aurait ensuite pour effet d'inhiber la sécrétion de GnRH, de LH et également d'œstradiol, bloquant ainsi le pic de LH pré-ovulatoire, l'ovulation et causant l'arrêt de la saison sexuelle des animaux qui retourneraient alors en période d'anœstrus [63, 68].

D'autres neuropeptides interviennent dans la régulation de la saisonnalité de la reproduction des animaux. La kisspeptine, appelée aussi métastine, est un neuropeptide à 54 acides aminés, intervient dans la régulation de reproduction saisonnière [63, 69, 70]. Au début de la saison sexuelle, il existe une stimulation de la kisspeptine dans la région arquée de l'hypothalamus. Ce neuropeptide est un puissant stimulateur de la sécrétion de la GnRH car, les cellules à kisspeptine dans la région arquée de l'hypothalamus se prolongeant aux neurones à GnRH sont plus nombreuses durant la saison sexuelle [71, 72]. HASHIZUME et al., (2010) [73] ont montré que l'injection de la kisspeptine aux chèvres stimule la sécrétion de la GnRH. Chez les mammifères, la GnIH est impliqué dans la régulation inhibitrice de la sécrétion de GnRH et de la libération de gonadotrophines de l'hypophyse [74]. Il y a, à la fois, une réduction de l'expression de la GnIH ainsi que du nombre des ses neurones au début de la saison de reproduction [67].

6.2. Age :

Chez le mâle, la puberté peut être définie comme la première monte et / ou éjaculation [75]. Bien que les chevreaux puissent entrer en puberté dès l'âge de 4 mois, pour atteindre leur plein potentiel reproducteur, les mâles doivent atteindre leur maturité sexuelle, qui est le moment durant lequel, ils expriment leur pleine capacité reproductive [76].

La puberté retardée peut être le résultat de la race, de la génétique à l'intérieur de la race, d'une mauvaise nutrition pré-pubertaire, de maladies, du parasitisme, du mois de naissance et des blessures [77].

Chez le jeune mâle les premiers cycles spermatogénétiques sont incomplets, le sperme est de mauvaise qualité et la fertilité est faible [78]. Ainsi, les caractéristiques physiques et morphologiques du sperme, entre autres l'aspect, le volume, la motilité massale et individuelle et la concentration des spermatozoïdes, ont été, significativement, influencées par l'âge, permettant ainsi l'évolution progressive de la qualité et de la quantité de la semence [79]. Mais cette évolution n'est pas toujours croissante, elle diminue avec le vieillissement du mâle [80] en fonction de sa santé, son environnement et de son utilisation [77] car, MAXWELL et EVANS, (1987) [81] et HAFEZ (1987) [82] indiquent que la fréquence des récoltes influe sur le volume des éjaculats.

6.3. Alimentation et état général :

Les caractéristiques reproductives des mâles, entre autres, la libido, le poids testiculaire, la concentration et le nombre total des spermatozoïdes par éjaculat, peuvent être, sévèrement, affectés par la sous-alimentation [57]. En 1994, WALKDEN-BROWN et al., (1994a) [83] rapportent l'existence d'une forte corrélation entre la nutrition et la reproduction. Les apports énergétiques élevés ont des effets bénéfiques sur l'avancement de l'âge de la puberté, et la production spermatique, tandis que les restrictions énergétiques et protéiques sont plus néfastes sur la production spermatique chez le jeune que chez l'adulte [84]

Le mécanisme par lequel l'alimentation contrôle la reproduction, semble étroitement lié aux concentrations périphériques de leptine [85], hormone principalement synthétisée et sécrétée par le tissu adipeux (figure 1.11), impliquée dans la régulation centrale de plusieurs fonctions dont l'activité reproductrice [86, 87]. Il a été démontré que la leptine accélère la pulsatilité, mais non pas l'amplitude, de la GnRH de manière dose-dépendante dans les neurones arqués hypothalamiques. Elle peut stimuler, directement, la libération de la LH et, dans une moindre mesure, la FSH, par l'hypophyse [88].

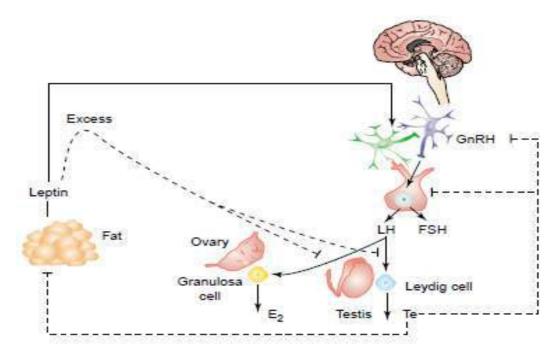


Figure 1.11 : Leptine et modulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique [89].

L'influence des maladies du reproducteur sur la production spermatique ultérieure est, toujours, évidente. Dans le cas d'une infection, essentiellement orchite et épididymite, la mise en action du système immunitaire peut être associée à une diminution de la fréquence des pulses de LH [85, 90].

Il a été démontré que le dysfonctionnement de la thyroïde peut affecter le développement des testicules. Les effets des hormones thyroïdiennes impliquent la prolifération et la différenciation des cellules de Sertoli et de Leydig au cours du développement, de la spermatogenèse et de la stéroïdogénèse, donc, les troubles de ces hormones sont en corrélation avec le dysfonctionnement reproductif [91].

6.4. Structure social:

L'environnement social (présence de partenaires de même sexe ou de sexe opposé) joue, aussi, un rôle important pour faciliter la pleine expression du comportement sexuel chez le mâle [92], en interaction avec des facteurs tels que la nutrition ou la saison [83].

L'homosexualité, conséquence de l'élevage des boucs en groupes, se traduit par une inhibition du comportement sexuel avec augmentation de la latence à l'éjaculation du mâle en présence de la femelle (figure 1.12), en particulier celui qui sera collecté au vagin artificiel [57]. Récemment, UNGERFELD et al., (2014) [93] ont montré que le comportement homosexuel du bouc de race Gabon était fortement influencé par la saison et l'absence de contact avec les chèvres.

Au sein d'un groupe de mâles, le rang social joue, également, un rôle très important car, un mâle dominé refuse de s'accoupler en présence du mâle dominant. Au contraire, un contact hétérosexuel a un effet particulièrement positif sur le début de l'activité copulatoire et sur l'efficacité des mâles mais, ne semble pas affecter la production spermatique [57, 94].

Les relations homme – animal ont, également, une grande importance pour l'utilisation des mâles des centres d'insémination artificielle [57].

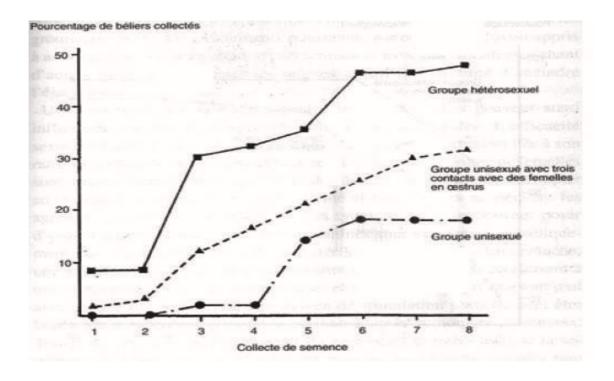


Figure 1.12 : Début de l'activité sexuelle, au cours des tests de collecte de semence, de jeunes béliers Lacaune élevés dans trois conditions différentes pendant le jeune âge [57].

6.5. Température :

Les races tropicales et subtropicales peuvent se reproduire toutes l'année, mais la période de mise-bas dépend de facteurs environnementaux autres que la photopériode [95]. Toutefois, la température est susceptible de limiter les aptitudes de reproduction, particulièrement, dans les races importées des zones tempérées [57].

Quand la température ambiante augmente, le nombre maximum des éjaculats obtenus en une heure diminue. L'effet de la température sur la libido ne se manifeste qu'à partir de la deuxième semaine avec une chute maximale à la troisième semaine [96].

A titre d'exemple, de nombreuses études faites chez le bélier indiquent que les températures élevées (supérieures à $29 - 30^{\circ}$ c) affectent négativement la qualité de la semence, avec une diminution de la motilité et du pourcentage des cellules mobiles et une augmentation du taux des spermatozoïdes anormaux [97].

L'augmentation de la température testiculaire sera à l'origine de dégénérescences spécifiques, avec apparition d'anomalies à des stades critiques et précis du cycle spermatogénétique [98].

En effet, la température ambiante n'influe pas uniformément sur les animaux, certains sont très sensibles aux variations thermiques, tandis que d'autres semblent peu affecter et continuent à produire une semence de bonne qualité [99].

6.6. Race et individu:

Les facteurs environnementaux impliqués dans les variations de l'activité sexuelle et de la production de semence sont, toujours, modulés par la race et les individus [100]. Des différences entre les races dans la longueur et le moment de la saison de reproduction sont observées chez les boucs des régions subtropicales.

Par exemple, le bouc de race Angora montre des variations saisonnières marquées de sa libido et de sa taille testiculaire qui culminent en automne [101], tandis que les boucs de races Cashmere Australien, Damascus et Rayini manifestent des variations saisonnières modérées de leur activité sexuelle [102, 103, 104]. Au contraire, la production spermatique des boucs Coréen ne varie pas en fonction des saisons [105].

En Algérie, la production spermatique des races caprines locales les plus exploitées est mal connue en raison du manque d'études de caractérisation permettant de sélectionner les meilleures et de conserver et d'améliorer leurs capacités.

Les boucs de race Arbia, principale population caprine indigène, se caractérisent par des cornes markhar et des oreilles tombantes. Le profil de la tête et du dos est droit. La couleur des poils, plus au moins long, est noire. La plupart des boucs (96%) porte une barbiche et sont, généralement, dépourvue de pendeloques [4].

HAMMOUDI et al., (2010) [7] et AIT AMRANE et al., (2013) [8] ont montré que certains éléments de l'activité sexuelle du bouc de cette race Arbia, en l'occurrence la circonférence scrotale, le comportement sexuel et la testostéronémie varient en fonction des saisons. Ces auteurs ont constaté que les valeurs maximales de ces paramètres s'observent en fin d'été et en automne, alors que leurs valeurs minimales s'observent au printemps.

CHAPITRE 2 LA RECOLTE DU SPERME, L'EXAMEN DE LA SEMENCE ET L'INSEMINATION ARTIFICIELLE

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE

L'application des biotechnologies de la reproduction permet l'accélération du progrès génétique [106, 107] en accroissant la sélection différentielle (insémination artificielle et transfert embryonnaire) et en accélérant le développement par la diminution de l'intervalle des générations [108].

D'ailleurs, en combinaison avec la synchronisation hormonale des chaleurs et de l'ovulation, certaines de ces techniques permettent d'avoir, chez les espèces saisonnières telle que les caprins, des mises bas et des lactations en dehors des périodes d'activité sexuelle [109, 110].

L'insémination artificielle est la biotechnologie de reproduction la plus largement utilisée dans le monde [81]. C'est un itinéraire technique qui va du mâle à la femelle. Elle inclue essentiellement : la récolte du sperme, l'évaluation de la semence, le conditionnement et la conservation des doses d'IA et enfin la mise en place proprement dite de ces doses chez les femelles fécondables [111].

1. La récolte du sperme :

La récolte du sperme est la première opération à réaliser dans la technique de l'insémination artificielle et/ou de son examen. Chez le bouc, elle se fait par deux méthodes communes pour toutes les espèces animales. La première est celle du vagin artificielle [112, 113] et la seconde est l'électro-éjaculation [114].

1.1. La récolte du sperme au vagin artificiel :

Chez le mâle des animaux domestiques, la récolte au vagin artificiel est la méthode la plus préférée en raison de la facilité de collection et du confort de l'animal [115], mais nécessite un apprentissage préalable [116]. Elle est presque similaire au service naturel, de ce fait, la récolte au vagin artificiel est indolore, rapide, moins stressante et plus hygiénique, permettant l'obtention des éjaculats avec les caractéristiques spermatiques désirables [77, 117].

1.1.1. Le vagin artificiel :

Le vagin artificiel a une forme et des dimensions en rapport avec l'espèce pour laquelle il est conçu, en tenant compte de la conformation du pénis et de la taille de l'animal. Chez le bouc, on utilise un vagin artificiel conçu pour les petits ruminants ou même pour les chiens [118].

C'est un dispositif à double paroi avec une ouverture permettant l'intromission du pénis à une extrémité, et un tube de collecte en verre ou au mieux en plastique à l'autre [119]. Le tube de collecte doit être protégé des rayons solaires et des températures froides [77]. La cavité close qui se forme entre les deux parois réalise une chambre circulaire communicant avec l'extérieur par l'ajutage du cylindre extérieur (figure 2.1) qu'on remplie d'eau à 44 – 45°c en quantité suffisante de manière à créer une pression rappelant celle du vagin naturel. L'extrémité servant à la pénétration du pénis est enduite d'un lubrifiant, facilitant ainsi l'intromission de l'organe [119].



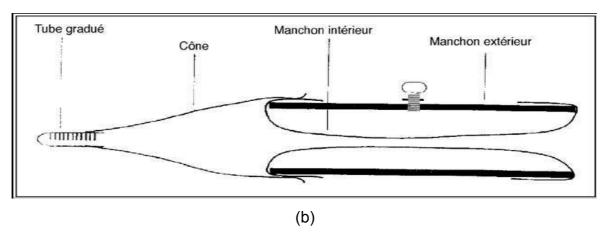


Figure 2.1: Le vagin artificielle [120].

1.1.2. La technique de récolte :

La récolte de la semence par le vagin artificiel est une technique qui nécessite beaucoup de travail et de patience. Du fait de leur élevage en case individuel, chaque bouc, dont sa partie abdominale et son fourreau sont nettoyés, est conduit directement de son box jusqu'à la salle de collecte, où une femelle boute-en-train est, alors, immobilisée. La semence du bouc est collectée en lui permettant de chevaucher, de préférence, une chèvre en chaleur. On peut également utiliser des femelles castrées, des mâles ou des mannequins. Les mâles peuvent également être collectés dans leur box [57].

L'opérateur s'agenouille à côté du mâle. Lors du chevauchement, il dévie le pénis du bouc, en le manipulant au niveau du fourreau, vers l'ouverture du vagin artificiel dirigé de bas en haut selon un angle de 45° et légèrement vers l'extérieur [119]. Il est nécessaire de mettre le vagin artificiel dans le prolongement du pénis afin d'assurer une intromission complète de l'organe.

Après cela, l'animal éjacule immédiatement, le vagin est, alors, retourné de manière à recueillir le sperme dans le tube collecteur [118].

Il est important que le temps de contact entre la semence et le caoutchouc du cône soit le plus court possible [121].

Alors, la réaction des mâles envers la femelle est différente, donc, on peut avoir :

- Des mâles qui manifestent des éléments du comportement sexuel,
- Des mâles peu motivés qui montrent seulement des tentatives d'accouplement,
 - Des mâles qui ne manifestent aucun comportement sexuel [57].

1.2. La récolte du sperme par électro-éjaculation :

Cette méthode est peu utilisée pour la collecte de semence. Elle est réservée aux mâles domestiques ayant perdus leur libido ou qui ne peuvent pas servir le vagin artificiel par faute d'érection normale, lésions articulaires ou, simplement, par son refus [119, 122], et aux mâles des animaux sauvages [123].

L'électro-éjaculation consiste en une stimulation électrique des nerfs érecteurs et éjaculateurs provoquant l'émission du sperme [124]. Elle s'accomplit par la stimulation électrique des muscles lisses de l'ampoule et du canal déférent à l'aide d'une sonde intra-rectale et d'une source électrique avec contrôle de la tension [125, 126].

1.2.1. La technique de récolte :

L'électro-éjaculateur est fait d'une électrode bipolaire et d'une source de courant alternatif à un bas ampérage (figure 2.2). Après évacuation des matières fécales, l'électrode est introduite dans le rectum au dessus des glandes accessoires. Chez le bouc, l'émission de 3 ou 4 stimulations de 2,5 à 8 volts provoque l'éjaculation [127]. JIMÉNEZ-RABADÁN et al., (2012) [128] ont utilisé, chez le bouc de race Blanca-Celtibérica, des séries consécutives de quatre impulsions de 5s de tension similaire, séparées chacune par une pause de 5s. La tension initiale était de 1v et augmentée dans chaque série jusqu'à un maximum de 5v. CAMERON (1977) [129], démontre que, chez le bélier Merino, l'éjaculation se produit à une tension maximale moyenne de 5,1v.

Cependant, cette technique est décrite comme une technique stressante désignée par différents comportements tels que la vocalisation, les difficultés, la position allongée ou les fortes contractions musculaires chez l'animal [130, 131].



Figure 2.2 : Electro-éjaculateur avec des sondes différentes [132]

Les organismes du bien-être animal ont exprimé leur inquiétude concernant l'utilisation de l'électro-éjaculation en tant que technique de collecte de sperme. Mais, les innovations relatives aux électrodes longitudinales (par opposition aux électrodes à anneaux), à l'anesthésie épidurale, à la sédation et aux commandes programmées s'annoncent prometteuses afin de réduire la détresse causée par l'électro-éjaculation [133, 134].

La collecte par électro-éjaculation permet l'obtention des éjaculats de volume important et de concentration en spermatozoïdes plus faible, mais sans diminution de la motilité de ces derniers [135, 136]. En outre, des différences substantielles de la composition du plasma séminal peuvent exister entre les éjaculats obtenus par les deux techniques. Par exemple, la concentration du plasma séminal en sodium est plus élevée dans les éjaculats obtenus par électro-éjaculation en comparaison avec ceux obtenus par vagin artificiel [122]. Il est possible que la concentration des protéines du plasma séminal prévenant le choc thermique des spermatozoïdes [137] et les substances antioxydantes [138], peut être altérée ; cela pourrait être la raison des grandes lésions de l'ADN observées dans ces échantillons [139].

2. Examen de la semence :

Après que le sperme ait été collecté du mâle, la prochaine étape sera de l'évaluer. L'évaluation de la qualité de la semence a pour but d'évaluer la capacité de fertilisation des boucs [77]. Elle concerne l'examen de divers paramètres macroscopiques, microscopiques ou biochimiques dont leur concordance permet de tirer des concluions valables car, il n'y a pas de critère unique pouvant être utilisé pour évaluer, définitivement, la fertilité des échantillons spermatiques.

2.1. Examens macroscopiques :

2.1.1. Le volume :

La mesure du volume de l'éjaculat s'effectue par la lecture directe des graduations du tube de collecte sans tenir compte de la partie mousseuse de la semence [57].

Selon SETCHELL, (1977) [140] et TAURE, (1988) [141], le volume de l'éjaculat varie entre 0,2 et 0,5ml chez les jeunes boucs de 7 à 10mois, et entre 0,6 et 2ml chez les adultes. SMITH (1978) [142] a signalé que le volume moyen de l'éjaculat du bouc se situait entre 0,5 et 1,0 ml.

Le volume de l'éjaculat dépendra de divers facteurs, à savoir, l'âge, la saison et la fréquence de récolte [81, 82]. La qualité du sperme peut diminuer lorsque le volume total de l'éjaculat augmente [143]. Mais, généralement, des volumes plus importants signifient plus de spermatozoïdes. Les mâles plus âgés ont, généralement, un volume d'éjaculat plus important que les mâles plus jeunes. Par conséquent, l'âge doit être pris en considération lors de l'évaluation de ce paramètre [77].

2.1.2. La couleur du sperme :

Chez la plupart des espèces animales, la couleur du sperme peut varier du blanc clair au jaune brillant [144]. Chez le bouc, le sperme est de couleur blanc jaunâtre. Cette coloration est due à la présence d'un pigment lipochrome élaboré par la vésicule séminale.

La présence d'éléments anormaux dans le sperme peut être à l'origine d'une modification de sa couleur, et on peut avoir, donc :

- Une couleur jaune, due à la présence d'urine ou de pus, et dans ce cas, le pouvoir fécondant de la semence peut être complètement compromis.
- Une couleur rosée ou rougeâtre, traduisant l'existence de sang frais ou l'administration de phénothiazine.
- Une couleur bleuâtre, résultat d'une diminution de la concentration ou de l'administration de bleu de méthylène.
- Une coloration brunâtre ou grise indique une contamination du tractus génital du mâle [81, 82].

2.1.3. La consistance et l'aspect du sperme :

Le sperme du bouc est un liquide épais, crémeux, inodore et assez visqueux [145]. La consistance de la semence est fonction du rapport entre les spermatozoïdes et le plasma séminal. Ainsi, le sperme de forte consistance contient beaucoup plus de spermatozoïdes que celui de faible consistance [82, 146].

2.2. Examens microscopiques:

2.2.1. La concentration :

C'est un critère important pour le jugement de la qualité de la semence. La concentration d'un éjaculat exprime le nombre de spermatozoïdes par millilitre de sperme. L'appréciation de la couleur peut être une méthode empirique pour l'évaluation de la concentration. Ainsi, une couleur jaune très claire signifie une concentration inférieure à 1 milliard de spz/ml. En revanche, un sperme blanc ivoire peut exprimer une concentration supérieure ou égale à 3 – 4 milliards de spz/ml [145].

Cette évaluation subjective peut être remplacée par d'autres méthodes objectives, à savoir :

2.2.1.1. Le comptage direct par hématimètre : il consiste en une dilution préalable du sperme dans une solution susceptible de disperser et de tuer les spermatozoïdes, tels que le Nacl à 3% ou solution de formaldéhyde à 1%. Pour le

sperme de bouc, un taux de dilution de 5% est conseillé [119]. Généralement, les hématimètres se diffèrent par les cellules de comptage, il existe, alors, les cellules de Malassez, de Thoma, de Neubauer ou de Türk.

2.2.1.2. La spectrophotométrie : ou néphélométrie, c'est la méthode universelle utilisée dans les centres d'insémination artificielle. Elle consiste à apprécier la concentration en spermatozoïdes, en comparant la densité optique de la solution, utilisée pour la dispersion des spermatozoïdes, seule avec celle contenant ces derniers. La longueur d'onde utilisée est de 550nm [57, 147].

Chez les races saisonnées, la concentration spermatique suit une évolution inverse de celle du volume, elle est élevée en dehors de la saison de reproduction et faible en saison sexuelle (figure 2.3). Ces variations sont le reflet de la synthèse et de la sécrétion des glandes annexes. Celles-ci sont stimulées par la testostérone qui est élevée en saison sexuelle et basse en contre saison [57].

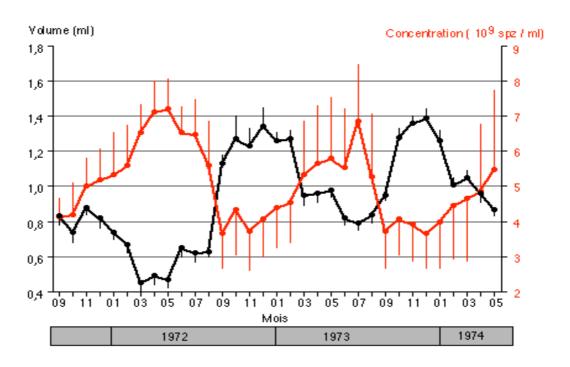


Figure 2.3 : Variations mensuelles du volume de l'éjaculat et de sa teneur en spermatozoïdes chez le bouc de race Alpine (n = 5 boucs âgés de 10 mois au début de l'étude) en France à 45° de latitude nord [148].

2.2.2. La motilité massale:

C'est une mesure rapide et facile. La motilité massale est le résultat des mouvements ondulatoires des gamètes. On dépose une goutte de sperme pur sur une lame préchauffée et placée sur la platine chauffante du microscope (37 à 38°c), sous un grossissement variable. Un grossissement de 4×, 40×, 80× et de 100× est utilisé par FERREIRA et al., (2014) [149], DOGAN et al., (2005) [150], BARIL et al., (1993) [57] et NGOULA et al., (2012) [151], respectivement.

L'observation doit être rapide, car à cette température, la motilité massale diminue au bout de 15 à 20 secondes. L'utilisation d'une échelle allant de 0 à 5 (tableau 2.1) permet de noter la qualité de la semence, selon le tableau ci-dessous [57, 81];

Tableau 2.1 : La description de la motilité massale des spermatozoïdes [146]. (Salamon, 1976).

Note	Description
5	Très bonne motilité : vagues et tourbillons, mouvements très rapides ; les
	spermatozoïdes ne peuvent pas être visionnés individuellement.
4	Bonne motilité : mouvements rigoureux, vagues et tourbillons ne sont pas
	aussi évidents qu'en score 5.
3	Motilité massale faible : il n'y a pas ou il y a peu de vagues lentes ; les
	spermatozoïdes peuvent être individualisés. 45-65% des spermatozoïdes
	sont actifs.
2	Motilité très faible : 20 à 40% des spermatozoïdes sont actifs ou vivants,
	leur motilité est très faible. Absence de vagues.
1	Très faible motilité : très peu de spermatozoïdes montrent des signes de
	vie sans mouvements progressifs.
0	Pas de motilité : tous les spermatozoïdes sont morts.

Pour évaluer la motilité massale des spermatozoïdes, SIDDIQUA et al., (2016) [152] utilisaient une échelle à quatre niveaux

- + = pas d'activité de masse,
- ++ = mouvement lent sans former d'ondes,

- +++ = mouvement rapide des ondes avec formation de tourbillons à la fin des vagues,
 - ++++ = mouvement très rapide des vagues avec des tourbillons distincts.

2.2.3. Pourcentage des spermatozoïdes mobiles :

Le taux des spermatozoïdes mobiles est déterminé en examinant une goutte de semence diluée dans du sérum physiologique [153] ou dans un tampon phosphate salin [128] entre lame porte-objet et lamelle préalablement chauffées et maintenues à une température de 37°c à l'aide de la platine chauffante du microscope à un grossissement de 100 à 200× [57, 154]. Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles est évalué, subjectivement, en observant 5 à 6 champs microscopiques par lame [155].

2.2.4. La motilité individuelle des spermatozoïdes :

Cette évaluation est réalisable en même temps que l'estimation du pourcentage des spermatozoïdes mobiles, d'ailleurs, elles sont effectuées dans les mêmes conditions de grossissement et de température. Cette évaluation classe la motilité des spermatozoïdes en fonction d'une échelle à 6 niveaux de 0 à 5 [57, 82] (tableau 2.2).

Tableau 2.2 : Détermination de la note de motilité individuelle des spz [57].

Note	Motilité individuelle
0	Pas de déplacement des spermatozoïdes
1	Déplacement très lent ou pas de déplacement, tremblement du spermatozoïde
2	Déplacement lent, tremblement, mouvements inorganisés, quelques spermatozoïdes se déplacent rapidement
3	Les spermatozoïdes effectuent des déplacements curvilinéaires sans tremblement
4	Déplacement rapide, quelques cellules avec une trajectoire rectiligne, d'autre avec une trajectoire courbée
5	Déplacement rectiligne et rapide des spermatozoïdes

L'acronyme CASA représente, indifféremment dans la littérature, les termes « Computer Aided Sperm Analysis » et « Computer Assisted Sperm Analysis » [156]. Contrairement au comptage manuel, CASA utilise du matériel et des logiciels pour visualiser et évaluer des images consécutives de spermatozoïdes viables afin d'obtenir des informations précises et valides sur la cinématique des spermatozoïdes individuels [157]. Les deux méthodes ont leurs avantages et leurs inconvénients, mais la méthode CASA est la plus prometteuse car, plusieurs paramètres, entre autres la vitesse curviligne [VCL], la vitesse moyenne du trajet [VAP], la vitesse en ligne droite [VSL], l'amplitude du déplacement latérale de la tête [ALH] et la linéarité du trajet curviligne [LIN], peuvent être obtenus à partir d'une seule mesure [156, 157].

L'examen des spermatozoïdes se fait après dilution de la semence dans un dilueur ou dans du sérum physiologique de la même manière citée ci-dessus [133, 156, 158].

2.2.5. Etude de la morphologie spermatique :

C'est le second test qualitatif après la motilité. Ce test est réalisé en recourant aux différentes préparations colorées.

2.2.5.1. Coloration totale: elle a pour objectif de faire mieux apparaître la morphologie générale du spermatozoïde. Elle peut être simple (bleu de méthylène, bleu de toluidine, violet de gentiane et la fuschine) ou double (Williams, Giemsa et Karras).

Les colorations doubles se concentrent beaucoup plus sur la structure de la tête et de la pièce intermédiaire des spermatozoïdes [82, 114].

L'intégrité de l'acrosome peut être évaluée en utilisant la coloration de Giemsa [159] et celle au bleu de coomassie [160]. Pour la première coloration, un frottis de semence diluée est maintenu dans une solution de formaldéhyde à 5% pendant 30 min à 37 °c. Le frottis est rincé à l'eau bidistillée, séché à l'air, trompé dans un récipient contenant le colorant et incubé pendant 4heures à 37°c. Un

nombre de 200 spermatozoïdes par lame est examiné sous haute puissance au microscope à contraste de phase [161].

Pour la seconde coloration, la semence est centrifugée et le culot est remis en suspension par un tampon phosphate salin. Ainsi, un frottis est préparé et séché à l'air, coloré pendant 5 minutes avec 0,22% de Blue de Coomassie et lavé à l'eau. Après séchage à l'air, le statut acrosomal des spermatozoïdes est observé. Les acrosomes intacts prennent une couleur bleu foncée, mais les spermatozoïdes ayant perdu leur intégrité acrosomique sont dépourvus de la coloration de Coomassie sur la région acrosomale [158].

<u>2.2.5.2.</u> Coloration vitale : cette technique permet la détermination du pourcentage des spermatozoïdes morts par rapport aux vivants, et la coloration la plus utilisée est celle de *l'éosine nigrosine*.

Les frottis sont réalisés en mélangeant dans un tube une goutte de colorant maintenu à une température de 30°c avec une goutte de sperme dilué. Puis, une goutte du mélange colorant-sperme dilué est étalée sur une lame maintenue à 30°c à l'aide d'une lame en film aussi fin et régulier que possible. Le frottis est laissé à sécher à température ambiante avant l'évaluation [57, 133, 162].

Pour déterminer le taux de cellules mortes, le frottis est examiné au microscope avec un grossissement 40×, pour au moins 150spz dans différents champs de la même préparation. Tous les spermatozoïdes colorés en totalité ou en partie sont considérés comme morts au moment de la coloration [57, 163].

La détermination du taux des spermatozoïdes avec anomalies structurales se fait en examinant le frottis au microscope sous un grossissement 100× en utilisant de l'huile à immersion. L'examen porte sur environ 200 spermatozoïdes et le taux des anomalies spermatique est, ainsi, déterminé [154].

Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes peuvent intéresser, simultanément ou isolement, leurs divers constituants : la tête, le col, la pièce

intermédiaire et la partie principale de la queue. Elles peuvent être classées en anomalies spermatiques majeures et mineures (figure 2.4).

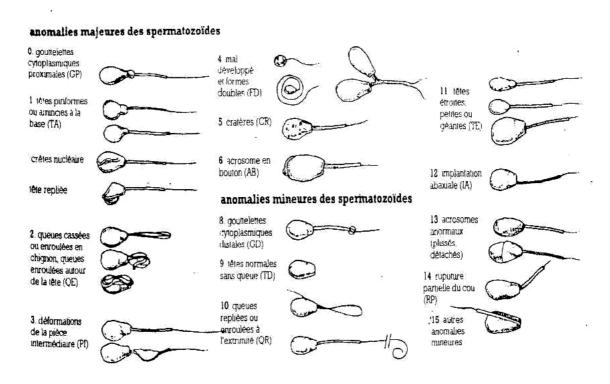


Figure 2.4 : Classification des différentes anomalies spermatiques [147].

D'après CORTEEL, (1981) [52], l'incidence des anomalies morphologiques des spermatozoïdes augmente en dehors de la saison sexuelle ou après exposition des mâles à des températures ambiantes élevées. Habituellement, le pourcentage d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes d'un bouc dont la fertilité est normale devrait être inférieur à 5% pendant la saison de reproduction [77]. Cependant, la fertilité sera affectée, surtout si celui-là dépasse 20% [145].

Indépendamment du logiciel, l'évaluation de la morphologie des spermatozoïdes par CASA ne remplacera pas les examens minutieux effectués par l'homme à l'aide de microscopes optiques et électroniques [156].

La cytométrie, une technologie récente utilisée à la place du comptage manuel, est une technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative de particules en suspension dans un liquide. Elle est définie comme l'étude précise de cellules isolées entraînées par un flux liquide [164].

La cytométrie en flux permet, outre l'analyse de semence de façon globale, d'analyser les cellules une par une, et en fonction des sondes utilisées de vérifier divers paramètres comme l'intégrité membranaire, le stress oxydatif, le fonctionnement mitochondrial, le statut acrosomique et l'évaluation du génome. Il est, ainsi, possible de déterminer à la fois la proportion respective de spermatozoïdes X ou Y, et de les séparer, pour obtenir une semence « unisexe » [165].

2.2.6. L'intégrité membranaire :

L'intégrité de la membrane cytoplasmique est évaluée par l'Hypo-Osmotic-Swelling-Test. Ce test est basé sur le caractère semi-perméable d'une membrane cellulaire intacte. En présence d'un milieu extracellulaire hypo-osmolaire, il se produit un influx d'eau dans la cellule, de manière à rééquilibrer la pression osmotique de part et d'autre de la membrane. Ce phénomène se traduit par un gonflement de la cellule visible en microscopie optique. Une cellule dont la membrane est altérée, perd cette capacité osmo-régulatrice et, par conséquent, ne gonfle pas en milieu hypo-osmolaire [166].

Un volume 10µl de semence est dilué dans 2ml d'une solution hypoosmotique et incubé à 37°c pendant au moins 30 minutes. Une goutte de ce mélange sera examinée sous un microscope à contraste de phase à un grossissement 1000×. Un total de 200 spermatozoïdes est observé dans, au moins, cinq champs microscopiques différents [167].

2.3. Examens biochimiques:

2.3.1. La mesure du pH:

Le sperme du bouc est légèrement acide, son pH varie de 6 à 6,8 avec une moyenne de 6,4 [32]. Ce dernier est mesuré, juste après la récolte, à l'aide d'un papier pH mètre universel. Une goutte de semence est déposée au milieu de ce dernier, la couleur qui en résulte correspond aux couleurs standards [151]. Le pH

de la semence peut être mesuré à l'aide d'un instrument pH mètre équipé d'une sonde de 15µl, par exemple [158].

La valeur du pH spermatique évolue inversement à celle de la concentration, quand celle-ci augmente, le pH diminue. Après la collecte, le rythme de diminution du pH permet l'évaluation de la qualité du sperme [114].

2.3.2. Le test de fructolyse :

Les spermatozoïdes, stockés in vitro en anaérobiose, métabolisent le fructose présent dans le plasma séminal. L'index de fructolyse s'exprime par la quantité en milligramme de fructose assimilée par 10 9 spz en une heure à 37,6°c. Il est significativement corrélé avec la concentration et la motilité spermatique. Ainsi, un sperme de qualité a un index de fructolyse variant entre 1,4 et 2 [114].

2.3.3. La réduction du bleu de méthylène :

cCe test apprécie la déshydrogénase du sperme. Après coloration au bleu de méthylène, un sperme de bonne qualité se décolore en moins de 10 minutes, au contraire, un sperme de qualité médiocre ne l'ai qu'en dépassant les 15 minutes [168].

2.3.4. La thermorésistance :

C'est la détermination de l'aptitude des spermatozoïdes à survivre en conditions thermiques comparables à celles de l'appareil génital femelle. La semence est diluée pour avoir entre 80 et 300 million de spz/ml et placée dans un bain-marie à 37 - 38°c. Le taux des cellules vivantes est déterminé au début du test et 3 heures après [82].

3. La dilution de la semence :

En IA, la semence non diluée peut être utilisée, si les donneurs et l'équipement sont disponibles au sein du centre d'IA. Cependant, il est nécessaire d'agir rapidement pour prévenir l'épuisement et l'assèchement de la semence. C'est pourquoi, dans la plupart des cas, la semence est diluée et conservée, puis utilisée [52].

La dilution de la semence permet de réaliser, à partir d'un seul éjaculat, l'insémination d'un nombre important de femelles et assurer la survie des spermatozoïdes pendant un certain temps [145]. Elle se fait dans des milieux qui doivent, surtout :

- ♦ assurer un apport énergétique pour les spermatozoïdes ;
- ♦ éviter les variations du pH, grâce à des substances tampon [169].

De nombreux dilueurs ont été produits, généralement de façon empirique, pour protéger et maintenir la fertilité des spermatozoïdes durant l'examen et le stockage du sperme [170]. Après des années, les techniques utilisées pour la préservation de la semence bovine étaient le seul modèle disponible utilisé chez les caprins [171].

En général, un milieu de cryoconservation des spermatozoïdes du bouc comprend un cryoprotecteur non pénétrant (lait ou jaune d'œuf), un cryoprotecteur pénétrant (glycérol, éthylène glycol ou diméthylsulfoxyde), un tampon (Tris ou Test), un ou plusieurs sucres (glucose, lactose, le raffinose, le saccharose ou le tréhalose), les sels (citrate de sodium, acide citrique) et les antibiotiques (pénicilline, streptomycine) [81].

3.1. Le cryoprotecteur :

Les cryoprotecteurs sont des substances chimiques qui se dissolvent dans l'eau et abaissent le point de fusion de celle-ci [172]. Ils sont utilisés dans le milieu de cryoconservation pour protéger les spermatozoïdes des contraintes physiques et chimiques provenant de leur refroidissement, congélation et décongélation [173, 174]. Après de courtes périodes, le cryoprotecteur et l'eau s'équilibrent de part et d'autre de la membrane cellulaire [175].

Comme le spermatozoïde a moins d'eau intracellulaire, le point de congélation de la cellule diminue et il se forme moins de glace intracellulaire (figure 2.5), ce qui est bénéfique car, celle-ci entraîne la mort cellulaire et réduit la fertilité de la semence [176].

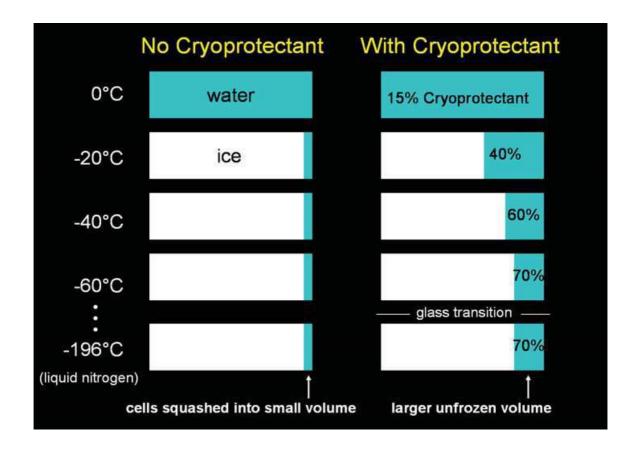


Figure 2.5 : Eau congelée avec ou sans adjonction d'un cryoprotecteur [172].

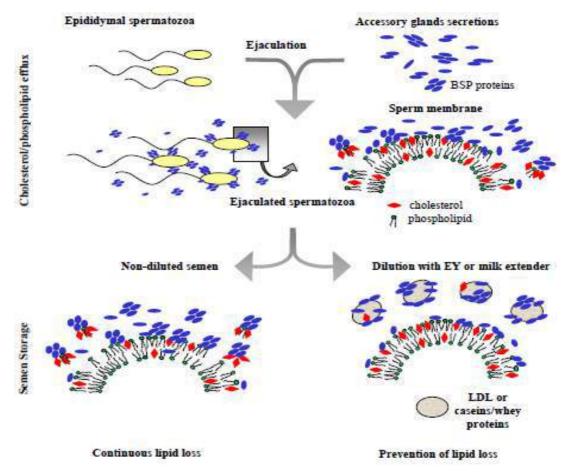
Les cryoprotecteurs sont, généralement, divisés en deux classes :

3.1.1. Cryoprotecteurs non pénétrants :

Appelés, également, cryoprotecteurs extracellulaires, ces molécules sont soit des sucres de faibles poids moléculaire soit des polymères de haut poids moléculaires. Ces molécules, tel que le jaune d'œuf, le lait écrémé, le tréhalose, le dextran, le sucrose certains acides aminés (L-proline, L-alanine, glycine ou L-glutamine) ou même les polymères synthétiques comme la polyvinylpyrrolidine et le méthylcellulose, ne traversent pas la membrane cytoplasmique et agissent, seulement, dans l'espace extracellulaire [176, 177].

Cependant, ces cryoprotecteurs contribuent à la déshydratation cellulaire par osmose et à la stabilisation de la membrane cellulaire (figure 2.6). Ils participeraient, également, à la réparation membranaire après réchauffement et seraient à l'origine de la formation de cristaux de taille réduite et de forme moins

traumatisante dans le milieu extracellulaire par diminution de la quantité d'eau libre [178].



BSP proteins : Binder of SPerm proteins

Figure 2.6 : Mécanisme de protection des spermatozoïdes par le jaune d'œuf et le lait, modifié par MANJUNATH et al., (2002) [179].

Chez les mammifères, le jaune d'œuf ou le lait écrémé sont fréquemment utilisés dans les dilueurs du fait de leur rôle protecteur contre le choc froid des spermatozoïdes, mais, la conservation de la semence du bouc dans ces milieux constitue un problème pour la survie des gamètes [55].

ROY, (1957) [180] et IRITIANI et NISHIKAWA, (1961) [181], ont mis en évidence une enzyme sécrétée par les glandes bulbo-urétrales dans le plasma séminal appelée Egg Yolk Coagulating Enzyme (EYCE).

NUNES, (1982) [182], a montré qu'une protéine (SBU III), sécrétée par ces mêmes glandes, avait un effet négatif sur la survie in vitro des spermatozoïdes en présence de constituants lactés du dilueur.

L'enzyme coagulant le jaune d'œuf (EYCE) possède une activité phospholipase A hydrolysant la lécithine du jaune d'œuf en acides gras et lysolécithine [180, 181] qui sont toxiques pour les spermatozoïdes [183].

La protéine SBU III est un monomère de 55 – 60Kda Nglycosyl, appelée BUSgp60. Elle possède une activité triglycéride lipase [184] en hydrolysant les triglycérides résiduels de ce dernier, la SBU III génère des produits de lipolyse (acides gras) cytotoxiques [185]. Elle sera, donc, à l'origine d'une diminution du taux des spermatozoïdes mobiles et de la motilité, une altération de l'acrosome et la mort des spermatozoïdes épididymaires dilués dans du lait écrémé.

Toutefois, afin d'accroître le taux de survie des spermatozoïdes après décongélation, la cryopréservation de la semence de bouc dans de telles conditions impose l'élimination de la quasi-totalité du plasma séminal : c'est le lavage du sperme [55].

Le lavage du sperme constitue en la séparation des spermatozoïdes du plasma séminal après dilution au 1/10 de celui-là dans une solution de lavage, et centrifugation pendant environ 15 minutes. Le surnageant est éliminé et le lavage et répété une deuxième fois, afin d'éliminer la totalité du plasma séminal [145].

3.1.2. Cryoprotecteurs pénétrants :

Les cryoprotecteurs pénétrants, ou intracellulaires, sont des molécules de faible poids moléculaire (< 100daltons) qui traversent rapidement la membrane cytoplasmique et peuvent, donc, agir de part et d'autre de celle-ci [172, 173, 174].

Plusieurs cryoprotecteur intracellulaire (glycérol, diméthylsulfoxyde, éthylèneglycol, propylèneglycol) seul ou en combinaison, ont été testés avec la semence du bouc, mais le plus fréquemment utilisé est le glycérol [115, 186, 187, 188, 189].

Les cryoprotecteurs pénétrants provoquent un réarrangement lipidique et protéique membranaire, entraînant une augmentation de la fluidité membranaire, une déshydratation plus importante à basse température, une formation de glace intracellulaire réduite et une survie accrue à la cryoconservation [190]. De plus, les cryoprotecteurs pénétrants sont des solvants qui dissolvent les sucres et les sels dans le milieu de cryoconservation [176].

3.2. Le système tampon :

Ce sont des molécules utilisées pour contrôler les variations du pH du dilueur qui peuvent résulter de l'endommagement de la semence au cours de la cryopréservation [176].

Les tampons utilisés sont, généralement, à base de phosphate, de Tris ou de citrate de sodium [191]. Selon MOLINIA et al., (1996) [192] et TULI et HOLTZ (1992) [187], le Tris, en comparaison avec d'autres tampon, semble être la molécule de choix pour une utilisation avec la semence du bouc.

3.3. Les sucres :

Plusieurs sucres, tels que le glucose, le lactose, le fructose, le raffinose, le saccharose ou le tréhalose, peuvent être utilisés dans les dilueurs de semence [173]. Etant donnée que le fructose est le principal substrat de la glycolyse dans le plasma séminal du bouc, PELLICER-RUBIO et al.,(1997) [184] trouvent qu'il soit, donc, logique de l'inclure dans le milieu de dilution.

4. La conservation de la semence :

La conservation de la semence joue un rôle important dans le domaine de la reproduction des animaux de la ferme ; les spermatozoïdes peuvent, ainsi, être utilisés au moment voulu pour l'insémination artificielle. Le sperme dilué est, généralement, stocké en paillettes de chlorure de polyvinyl, de 0,5 ou 0,25ml (figure 2.7).

L'une des extrémités des paillettes est obstruée par deux bouchons, entre lesquels s'interpose de la poudre d'alcool polyvinylique. Les paillettes sont remplies par aspiration, et l'autre extrémité s'obstrue en la trompant dans la

poudre de l'alcool polyvinylique [145] ou bien remplies et scellées d'une manière automatique à l'aide de machine appropriée [193].

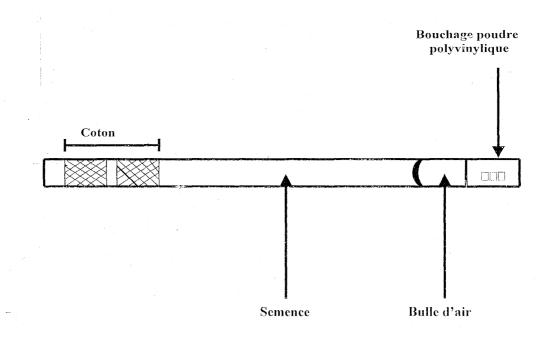


Figure 2.7 : Schéma d'une paillette d'insémination artificielle [114].

Le sperme du bouc peut être conservé à des températures allant de 2 à 15°c, le plus souvent à 4°c pendant quelques heures à quelques jours [55]. De nos jours, la cryoconservation du sperme a de nombreuses applications biotechnologiques [173]. Elle peut être faite à l'aide d'une machine dans laquelle la température est programmée, où en manipulant les paillettes de la manière qui suit :

- Paillette moyennes de 0,5ml : maintenues 5min. à 4cm au dessus du niveau d'azote liquide, puis plongées directement dans celui-ci.
- Paillettes fines de 0,25ml : maintenues 2min à 16cm, puis 3min à 4cm au dessus du niveau d'azote liquide et finalement, plongées directement dans celui-ci [57].

5. Mise en place de la semence ou insémination proprement dite :

Il existe deux techniques de base pour l'IA chez les chèvres, l'insémination par laparoscopie et l'insémination cervicale [194]. En utilisant de la semence fraîche, des techniques d'insémination par voie vaginale (dépôt péricervical de sperme) ou cervicale (dépôt intracervical des spermatozoïdes) entraînent des taux de gestation acceptables. Cependant, en utilisant la semence congelée, les techniques d'insémination intra-utérine par laparoscopie ou transcervical sont les seuls moyens d'obtenir des taux de gestation acceptables.

5.1. L'insémination cervicale :

Le dépôt de sperme dans l'utérus nécessite que les 4 anneaux cervicaux soient franchis au cours de la procédure d'insémination artificielle. La petite taille de l'appareil reproducteur de la chèvre, en particulier pour les nullipares ou les jeunes primipares, en plus de l'étroitesse des anneaux cervicaux et leur manque d'alignement typique peut rendre la tâche difficile. Cependant, plusieurs méthodes d'insémination transcervicale ont été développées [194, 195].

5.1.1. Insémination vaginale ou péricervicale :

Dans cette technique, la semence fraîche ou refroidie est déposée dans le vagin le plus près possible du col. Afin d'y déposer la semence, la chèvre est soulevée par ses membres postérieurs et l'inséminateur utilise un spéculum et une source de lumière pour visualiser l'entrée du col utérin [196].

Le moment idéal de l'insémination artificielle est avant l'ovulation, entre 12 et 18h, après le début de l'œstrus [81], surtout pendant la saison de reproduction. Il est envisagé de réinséminer les chèvres toujours immobiles aux chevauchements 12 – 24h post-insémination [197].

5.1.2. Insémination transcervicale :

Le principal avantage de cette méthode réside dans sa simplicité, sa maîtrise facile et son efficacité raisonnable chez les chèvres âgées multipares. La chèvre est maintenue de façon à ce qu'elle ne repose que sur ses pattes antérieures, les pattes postérieures étant maintenues dans l'air par un aide. Le spéculum, introduit dans le vagin, permet le repérage du col sur le plancher du vagin [198].

L'extrémité du pistolet ou de la pipette d'insémination est guidée vers le col dans lequel elle est introduite par des mouvements de rotation. Le col des chèvres est très difficilement franchissable au cours de l'œstrus, alors, la semence est généralement déposée à son entrée (figure, 2.8). Donc, il est préférable d'effectuer une IA à cet endroit plutôt que d'endommager le cervix, c ar ses hémorragies peuvent être néfastes aux spermatozoïdes [145]. Le taux de conception varie entre 40 et 80% [110] et entre 25 à 60% [170, 199] en utilisant de la semence fraîche ou refroidie et la semence cryoconservée, respectivement.



Figure 2.8: Méthode d'insémination artificielle cervicale [200].

5.1.3. Insémination intra-utérine transcervicale :

En 2005, SOHNREY et HOLTZ [195] ont annoncé le développement d'une nouvelle méthode d'insémination transcervicale des chèvres.

Pour procéder à l'insémination intra-utérine transcervicale, la chèvre est contenue de la même manière que précédemment citée. Une pince de Pozzi est

introduite du côté entre les mâchoires légèrement ouvertes du spéculum afin de saisir le cervix. Le spéculum est, ensuite, retiré et la chèvre est mise sur ses quatre membress.

Un cathéter avec un stylet est introduit. Une fois que la pointe du cathéter avait traversé le col de l'utérus, le stylet est retiré. Le cathéter est guidé vers l'une des cornes utérines par un doigt situé dans le fornix vaginal (figure 2.9). Une tubulure d'insémination de petit diamètre contenant la moitié de la dose d'insémination est passée dans le cathéter. Ce dernier est retiré d'environ 2cm pour que l'extrémité de la tubulure d'insémination soit libre, et la semence est, alors, déposée. La tubulure est retirée du cathéter et chargé avec l'autre moitié de la dose d'insémination. Par la suite, le cathéter est, partiellement, retiré et redirigé vers l'autre corne utérine, et la procédure d'insémination est répétée [195].

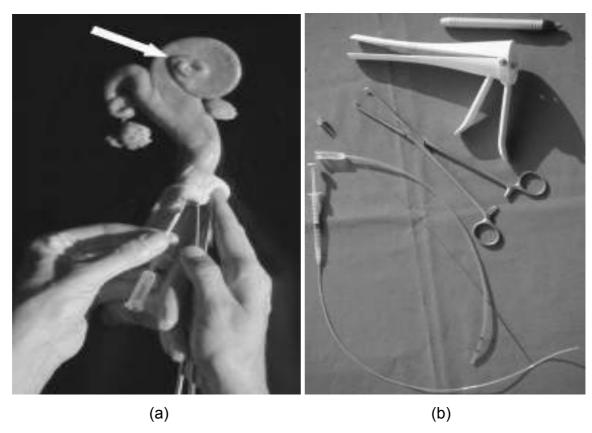


Figure 2.9 : Technique (a) et équipement (b) pour l'insémination artificielle intrautérine transcervicale [195].

Lors de la synchronisation des chaleurs, le moment optimal de l'insémination artificielle avec une semence cryoconservée est d'environ 45 h, et

30 et 48h après le retrait des éponges vaginales pour une seule et une double insémination, respectivement [194].

5.2. L'insémination intra-utérine par laparoscopie:

Cette deuxième méthode nécessite l'utilisation d'un endoscope pour faciliter le dépôt de la semence, fraîche ou congelée, directement dans les cornes utérines [201]. L'inconvénient de cette technique est la nécessité d'un équipement sophistiqué et des compétences particulières.

Après un jeûne d'au moins 12h [196], la chèvre ayant reçue des sédatifs, est posée sur une table en décubitus dorsal et inclinée crânialement selon un angle de 45° (figure 2.10).



Figure 2.10: Contention d'une brebis pour IA par laparoscopie [196].

L'abdomen est insufflé avec de l'air ou de CO₂. De part et d'autre de la ligne blanche dans la paroi abdominale, deux ouvertures de 7 et de 5mm sont pratiquées, au moyen du trocart, permettant le passage de l'endoscope et du transcap, respectivement (figure 2.11). Après la mise en place des instruments et

la localisation du tractus génital, la semence est, ainsi, déposée dans la lumière utérine en perforant la paroi des cornes utérines (figure 2.12), avec l'aspic, à 5cm de la bifurcation [5, 202]. Les trocarts sont, ensuite, retirés ; un antibiotique est appliqué sur chaque point de ponction [203].

- 1 = Trocart et canule recevant les instruments d'optique
- 2 = Trocart et canule recevant les instruments d'iA 3 = Champ opératoire
- 4 = Ligne abdominale médiane

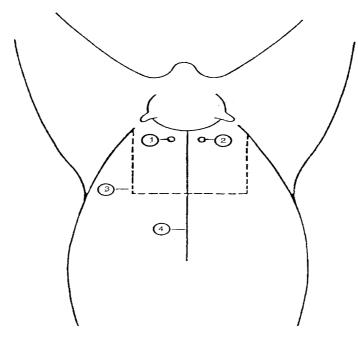


Figure 2.11: Sites d'insertion des trocarts [57].

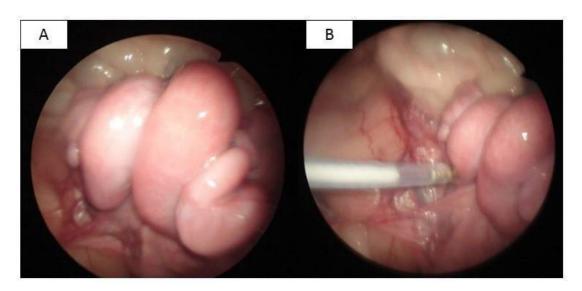


Figure 2.12 : Visualisation des cornes utérines (A) et dépôt de semence dans la grande courbure de la corne utérine (B) [196].

Chez la chèvre, le moment optimal pour l'insémination artificielle est entre 43 et 46h après le retrait des éponges vaginales [194]. En général, avec l'insémination artificielle par laparoscopie, des taux de conception encourageants ont été enregistrés pouvant dépasser 80% [201, 203].

Toutefois, il importe de noter que les horaires précédemment cités ne sont valables qu'aux races pour lesquelles ils ont été testés, sinon, il sera recommandé de tester différents horaires d'insémination, ou bien, de préciser le moment de la décharge ovulante de LH [57].

6. Le diagnostic de gestation :

La présence d'une gestation après insémination est un élément essentiel de la prévision de la reproduction [56]. Chez les petits ruminants, le diagnostic précoce de gestation constitue pour l'éleveur autant d'opportunités pour mieux gérer son troupeau [119]. Il permet de détecter, au plus tôt, les saillies ou les inséminations artificielles infructueuses, de repérer les cas d'infertilité et des pseudogestations, et d'effectuer les réformes aux moments opportuns [204, 205].

Les différentes méthodes de diagnostic de gestation peuvent être classées en deux catégories : les méthodes de laboratoires et les méthodes cliniques [206].

6.1. Les méthodes de laboratoires :

6.1.1. Le dosage de la progestérone :

Il s'agit d'un test précoce qui permet de déterminer l'état de non gestation de la chèvre. La progestérone est mesurée dans le sérum ou le plasma sanguin et dans le lait entier ou écrémé à 21 ou 22j après IA. La concentration de la progestérone plasmatique est plus précise que celle au niveau du lait [207]. Le dosage hormonal s'effectue par radio-immunologie (RIA) ou méthode ELISA avec un seuil de positivité de 1,5ng/ml pour le prélèvement sanguin, et 4,5ng/ml pour le prélèvement du lait [208].

S'il peut être considéré comme indiscutable lors de négativité, permettant d'identifier très tôt les femelles non gestantes, il démontre, seulement, la présence d'un corps jaune fonctionnel lors de la positivité (> 2ng/ml) [206]. Plusieurs

situations telles que l'hydromètre, le pyomètre et la mortalité embryonnaire précoce peuvent prolonger la durée de vie du corps jaune et donner de faux résultats [209].

L'exactitude de ce test peut se détailler comme suit (tableau 2.3):

- (-) négatif : non gestation, fiable à 95%.
- (+) positif: gestation avec mise bas dans 75 à 85% [57].

Tableau 2.3 : Exactitude du diagnostic de gestation par dosage de la progestérone à 21j [145].

Lait UNCEIA 1985	Exactitude (+) Exactitude (-) Douteux (0)	87,3% (982 chèvres) 94,0% (323 chèvres) 5,5% (76 chèvres)
Sang	Exactitude (+)	84,6% (800 chèvres)
SEIA-INRA 1985	Exactitude (-)	95,0% (301 chèvres)

6.1.2. Le dosage du sulfate d'œstrone :

Bien que les follicules préovulatoires sécrètent des œstrogènes, leur quantité reste difficile à détecter dans le plasma sanguin. Chez la chèvre et la brebis, l'existence d'une unité fœto-placentaire fonctionnelle s'accompagne d'une augmentation du taux de sulfate d'œstrone dans la circulation périphérique [57, 206].

Chez la chèvre, le moment optimal de la détection du sulfate d'œstrone dans le plasma est entre les $43^{\text{ème}} - 53^{\text{ème}}$ jours de gestation. Sa concentration moyenne au 60 ème jour de gestation est d'environ 6,1 \pm 3,5ng/ml et 0,6ng/ml, chez les chèvres gestantes et non gestantes, respectivement [210].

Le taux d'exactitude de ce test au niveau plasmatique peut atteindre les 100% au-delà de 50 jour pour les chèvres gestantes et non gestantes. Au niveau du lait, il est de 82 et 83% pour les chèvres gestantes et non gestantes, respectivement [205]. Ce diagnostic de gestation est une méthode d'application

limitée et tardive. Sa négativité peut exprimer un état non gestatif mais elle n'exclut pas une gestation débutante [206].

Chez les caprins, il est possible de mesurer le niveau des œstrogènes, éliminées avec les matières fécales, dans quelques crottes prélevées du rectum [211].

6.1.3. Dosage des protéines de gestation et de l'hormone lactogène placentaire

Chez les caprins, il existe des protéines spécifiques associées à la gestation [212] appelées les glycoprotéines associées à la gestation (PAG), également, connues comme Pregnancy Specific Protein B (PSPB). Elles sont synthétisées par les cellules binucléées du placenta des ruminants [213], détectables dans le sang maternel peu de temps après l'implantation, et, donc, considérées comme un signal potentiel de l'embryon [214].

Chez la chèvre gravide, les concentrations plasmatiques de PAG sont détectables dès les $17^{\text{ème}} - 18^{\text{ème}}$ jours après la conception, pour atteindre des concentrations de 3 à 5 ng/ml aux alentours des $21^{\text{ème}} - 22^{\text{ème}}$ jours. Les concentrations de PAG augmentent jusqu'à la $8^{\text{ème}}$ semaine de gestation (30 à 50ng/ml), pour ensuite décroître entre la $12^{\text{ème}}$ et la $14^{\text{ème}}$ semaine (16 à 32ng/ml) et rester relativement constantes jusqu'à la mise bas [215].

La sensibilité et la spécificité de ce test peuvent atteindre 100% pour les échantillons sanguins prélevés dès le 26^{ème} jour de gestation [216].

L'hormone lactogène placentaire apparait tardivement dans la circulation sanguine maternelle (au-delà de 60j chez la chèvre), ce qui rend ce test utilisable sur le plan expérimental mais n'est pas applicable en routine [57, 217].

6.2. Les méthodes cliniques :

6.2.1. Le retour en chaleur :

C'est la méthode classique la plus simple et la plus facile du diagnostic de gestation. Elle se base sur le retour en chaleur, un cycle après l'insémination artificielle ou la saillie naturelle, des femelles non gestantes [56].

Chez les espèces saisonnières, plusieurs femelles non gestantes ne reviennent pas en chaleur ce qui est à l'origine d'une confusion entre femelles gestantes et femelles en anœstrus saisonnier. [218]. Par conséquent, le non retour en chaleur est une procédure peu fiable pour le diagnostic de gestation chez la plupart des espèces d'animaux domestiques [219].

6.2.2. La palpation abdominale :

Elle ne peut se réaliser que pendant la deuxième moitié de la gestation. Cette méthode consiste à détecter la présence du fœtus en le faisant déplacer dans le liquide amniotique [57], mais elle n'est pas toujours aisée, compte tenu de la tension de la paroi abdominale.

6.2.3. Le diagnostic échographique :

Chez la chèvre, différentes méthodes d'échographie sont utilisées, depuis de nombreuses années, pour le diagnostic de gestation. Les techniques en mode A et Doppler, utilisées dans le passé, ne permettaient pas la visualisation du fœtus (pas d'image), mais le mettaient en évidence indirectement par une courbe d'amplitude caractéristique, ou par une modulation de fréquence perceptible auditivement ou visuellement [220]. Bien que ces deux méthodes permettent un diagnostic de gestation au-delà de 55jours de gestation, elles sont abandonnées au profit de l'échographie bidimensionnelle [206].

L'ultrasonographie bidimensionnelle fait appel à un échographe fonctionnant en Mode-B (Brillance) en temps réel, appelé aussi échotomographe. Développé en Australie, cette technique semble offrir un moyen rapide (vésicule embryonnaire détectée aux $17^{\text{ème}} - 18^{\text{ème}}$ jours de gestation [221]), précis, sûr (sensibilité et spécificité supérieures à 90 % à partir du $25^{\text{ème}}$ jour de gestation [206]) et pratique (méthode non invasive [222]) pour diagnostiquer la gestation et déterminer le nombre de fœtus [209].

Cet appareillage produit une image bidimensionnelle en mouvement de l'utérus, des liquides fœtaux, du fœtus, des battements cardiaques fœtaux et des placentômes [209]. Celle-ci résulte de la juxtaposition de points lumineux, leur brillance est proportionnelle à la variation d'impédance acoustique entre les tissus.

Sur un écran, l'opérateur visualise les différentes couches traversées par les ultrasons [206].

Les ondes sonores dans les appareils à ultrasons sont généralement produites par les vibrations de cristaux spécialisés (cristaux piézoélectriques) logés dans un transducteur à ultrasons, les vibrations des cristaux elles-mêmes étant produites par des impulsions de courant électrique. Une partie des ondes sonores renvoyées vers le transducteur est convertie en courant alternatif et affichée sous forme d'écho sur l'écran de visualisation par ultrasons [223].

Chez la chèvre, le diagnostic échographique précoce de la gestation est réalisé par les voies transabdominale et transrectale [224]. Le choix de la méthode est en fonction du diagnostic à poser, du type de sonde disponible et des conditions de travail, dans le cas de grands troupeaux. Des sondes convexes, linéaires ou sectorielles à 3,5 à 5MHz peuvent être utilisées dans les deux techniques ; en pratique, les sondes sectorielles s'adaptent mieux à l'échographie transcutanée et les sondes linéaires à l'échographie transrectale [220].

6.2.3.1. Echographie transcutanée :

Dans cette technique, la sonde est appliquée entre les cuisses, immédiatement en avant de la mamelle, immédiatement avant le sinus inguinal. A cet endroit, le pelage est si réduit que la tonte ne sera pas nécessaire. Le faisceau d'ultrason est dirigé vers le haut et légèrement vers l'arrière et le milieu (figure 2.13). Une légère pression est appliquée sur la sonde contre le ventre en direction de la vessie [220].

Pour l'obtention d'une bonne image, un gel de contact ou une huile végétale [209] est appliqué, sur la fenêtre de la sonde si l'animal est debout, ou directement sur la peau si l'animal est couché; un jeûne de 12h pourrait être nécessaire [225].

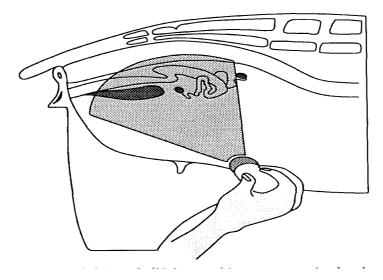


Figure 2. 13 : Echographie transcutanée [220].

6.2.3.2. Echographie transrectale:

Elle se fait à l'aide d'une sonde pouvant s'introduire dans le rectum. Dans cette technique, l'immobilisation de l'animal est nécessaire. Après élimination des matières fécales et lubrification de la sonde, celle-ci est introduite d'environ 15cm le long du plancher rectal jusqu'à apparition de la vessie. Cette dernière découverte, la sonde et oscillée d'environ 45° d'un côté à l'autre, le faisceau d'ultrason étant dirigé vers le bas (figure 2.14). La sonde est poussée lentement vers l'avant jusqu'à l'apparition de l'utérus [220]. Elle peut être fixée à l'extrémité d'une sonde rigide afin de faciliter sa manipulation de l'extérieur [222].

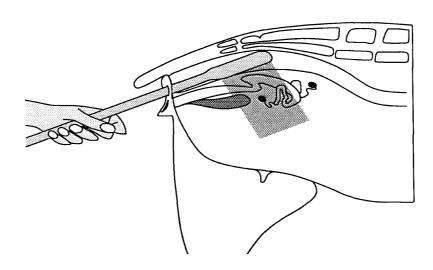


Figure 2.14 : Echographie transrectale [220].

7. Facteurs de variation de la fertilité après insémination :

Autour d'une fertilité moyenne, après insémination artificielle, il existe une variabilité importante selon les lots et les élevages, malgré les précautions prises au niveau du choix des femelles et dans l'application du traitement hormonal. Environ 25% des lots inséminés présentent une fertilité inférieure à 50%, et dans 20% des lots, elle était supérieure à 70% [226]. Cette variabilité peut être imputable à de nombreux facteurs :

7.1. Le moment d'insémination :

La fertilité des chèvres, inséminées à différents moments du début de l'œstrus, indique que l'insémination doit être faite au début des chaleurs, en accord avec le moment d'ovulation et la durée de transport et de survie des spermatozoïdes et des ovules dans les voies génitales femelles [52]. Elle est élevée lorsque les chèvres sont inséminées avant qu'après l'ovulation [186].

Généralement, les caprins ovulent quelques heures après la fin des chaleurs [227]. Le pic préovulatoire de LH permet une bonne estimation du moment de l'ovulation. En chaleurs naturelles, celle-ci se produit environ 20h après le pic de LH qui survient environ 10 à 15h après le début de l'œstrus. Dans le cas de la stimulation hormonale des chèvres, la décharge préovulatoire se produit plus tôt après le début des chaleurs (5,6 vs 15,7 heures) et l'intervalle pic de LH-ovulation est légèrement plus long (4 heures de plus) [228].

Dans le cas de l'IA réalisée à un moment prédéterminé par rapport à la fin du traitement hormonal, une mauvaise synchronisation des moments des ovulations conduit à des intervalles de durées variables entre IA et ovulation. Cela pourrait expliquer la variabilité de la fertilité (tableau 2.4) observée après IA [229].

Cependant, la synchronisation des ovulations peut être une alternative pour améliorer la fertilité des chèvres inséminées [230].

Tableau 2.4 : Fertilité des chèvres inséminées avec de la semence fraîche à différents moments du début de l'œstrus [52].

Heures entre début d'oestrus et insémination	Pourcentage des chèvres mettant bas	Nombre des chèvres
0-12	70	742
12-24	63	646
24	47	248

Le taux de fertilité évolue inversement au nombre de chèvres inséminées. Dans les lots importants, le moment de l'insémination de la dernière chèvre peut être décalé par rapport à celui du pic préovulatoire de LH [231].

7.2. Le traitement hormonal:

Un taux de gestation plus faible a été signalé lorsque l'insémination artificielle est pratiquée chez les chèvres ayant subies un traitement de synchronisation des chaleurs par rapport aux œstrus naturels [232], et également pendant la période de non-reproduction par rapport à la saison de reproduction [233].

Il a été rapporté que des traitements répétés à la progestérone / PMSG pouvaient entrainer la production des anticorps anti-PMSG. L'augmentation de la concentration de ces derniers retarde le pic préovulatoire de LH et l'apparition des chaleurs, affectant, donc, la fertilité [57, 234].

La plupart des œstrus tardifs (plus de 30h après le retrait de l'éponge) sont due à l'action des anticorps anti-PMSG (figure 2.15), apparus après l'administration répétée du traitement au cours de la vie de la chèvre [226]. Par conséquent, l'hCG et la GnRH sont récemment utilisées comme alternative à la PMSG [235].

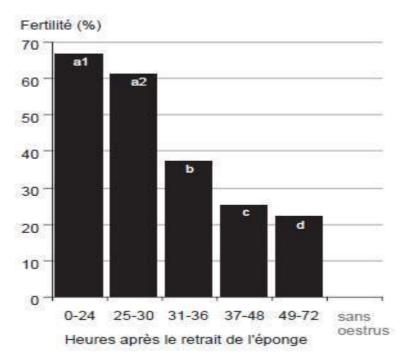


Figure 2.15 : Fertilité (pourcentage de chèvres mettant bas) après IA selon l'intervalle entre le retrait de l'éponge vaginale et le début de l'œstrus. a1 vs b et a2 vs c : P<0,01 ; a2 vs d : P<0,05 [226].

7.3. La qualité des spermatozoïdes :

Dans l'espèce caprine, la motilité individuelle des spermatozoïdes conservés à l'état liquide apparaît lier à la fertilité; l'insémination des femelles avec de la semence de faible motilité (inférieure à 3,5) peut induire une diminution de la fertilité de 20% [57].

KARATZAS et al., (1997) [233] constatent, dans leur étude, que le taux de fécondité était plus faible en utilisant la semence cryoconservée en comparaison avec celle fraîche. Cependant, chez les chèvres Angora, aucune différence n'a été observée entre les types de sperme [236].

CORTEEL et al. (1988) [109] ont montré que les spermatozoïdes collectés et congelés pendant la saison sexuelle présentent une fécondité supérieure à celle des spermatozoïdes frais collectés et utilisés hors saison de reproduction. Ces auteurs ont attribué cette réduction de la capacité fertilisante des

spermatozoïdes dilués et refroidis à 4°c à la diminution périodique de leur motilité en dehors de la saison de reproduction.

7.4. L'endroit du dépôt de la semence :

Plus les spermatozoïdes sont profondément déposés dans le tractus génital de la femelle, plus la dose d'insémination requise est faible, plus les chances de fécondation, et par conséquent le taux de gestation, sont élevées [186, 196, 237]. L'insémination artificielle intra-utérine par voie exocervicale augmente la fertilité de 10% en comparaison avec l'insémination artificielle cervicale [57].

Au contraire, d'autres auteurs rapportent que le taux de gestation n'est pas différent entre l'insémination artificielle vaginale ou cervicale [154, 170].

L'insémination artificielle vaginale est simple, rapide, peu coûteuse et donne des résultats de fertilité encourageants. De ce fait, le dépôt utérin ou post-cervical devrait être recommandé lorsqu'il est facile et rapide [231].

7.5. L'inséminateur :

L'une des causes majeures de la diminution de la fertilité après insémination artificielle est la manipulation de la semence [238]. L'expérience de l'inséminateur apparaît importante pour l'obtention d'un bon niveau de fertilité [170, 237], celle-ci augmente avec le nombre de chèvres inséminées annuellement par inséminateur [145].

Au fil du temps, même les inséminateurs professionnels peuvent développer de mauvaises habitudes et une attitude détendue à l'égard de la manipulation de la semence (niveau d'azote liquide dans les containers et le réchauffement des paillettes) et de la technique d'insémination, ce qui entraîne une baisse de la fertilité [238].

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

PARTIE A

PARTIE A

ETUDE DES VARIATIONS SAISONNIERES DE LA PRODUCTION SPERMATIQUE DES BOUCS DE RACE ARBIA.

La première partie de notre étude s'est déroulée au chef lieu de la wilaya de Tiaret, dans deux structures universitaires, en l'occurrence la ferme des expérimentations et un laboratoire de recherche, séparées d'une distance de trois kilomètres l'une de l'autre. Elle comportait l'investigation d'un important facteur de la fonction de reproduction à savoir, les variations annuelles de la production spermatique du bouc de race Arbia dans la région de Tiaret.

Cette partie d'étude s'est prolongée pendant une période de 14 mois allant du début de janvier 2015 jusqu'à la fin de février 2016. Cette période effective d'étude a été précédée d'une période d'apprentissage de 1 mois, afin de s'habituer aux techniques de l'examen de la semence.

1. La localisation:

La région de Tiaret se trouve sur les hauts plateaux, au centre d'un relief montagneux d'où descendent les premières eaux de l'oued Mina, l'oued Rhiou, le Nahr Ouassel.

Tiaret s'étend sur les pentes du Djebel Guezoul à une altitude de 1086m, une latitude de 35°15' N et une longitude de 1°26' E. Les hauteurs au dessus du col de Guertoufa culminent à 1196m, à 1121m pour Sidi Khaled et à 1221m pour Djebel Guitna, au nord du champ de tir.

Cette situation géographique caractérise la région par un climat semi aride, qui se distingue par un hiver froid et humide et un été chaud et sec.

2. Matériels et méthodes :

2.1. Milieu et animaux :

2.1.1. Animaux:

Le lot expérimental était constitué de trois boucs et une chèvre. L'âge des animaux variait entre 03 et 04 ans au début de l'expérimentation. Les mâles ont été gardés dans des box individuels et sous un éclairage naturel avec aucun contact physique entre mâle et femelles, à l'exception du moment de la collecte de sperme. Ils recevaient une alimentation quotidienne à base de 500g d'orge et un accès libre à la paille et à l'eau. Un supplément de vitamines et de minéraux est incorporé dans la ration sous forme de pierre à lécher. Un calendrier général de gestion pour le déparasitage, la prévention des maladies, et le parage des onglons a été suivi.

2.1.2. Bâtiment:

Le bâtiment était de type semi fermé, composé de trois box d'une superficie d'environ 1,6m² par box, une aire équipée d'une attache pour fixer la femelle boute-en-train et d'une salle séparée des précédents pour la préparation du matériel de récolte.

2.2. Matériels:

Dans cette étude, différents instruments ont été utilisés pour la récolte du sperme et pour l'examen de la semence.

2.2.1. La récolte du sperme :

Deux vagins artificiels conçus pour les petits ruminants ont été utilisés pour la récolte de la semence des boucs. Une plaque chauffante était utilisée pour le réchauffement de l'eau afin de remplir le vagin artificiel (40 à 44°c) d'une part, et le thermos pour le transport de la semence (37°c) d'une autre part. La température de l'eau est vérifiée à chaque étape en utilisant un thermomètre à mercure.

2.2.2. L'examen de la semence:

Au laboratoire, une étuve est utilisée pour garder les éjaculats à une température de 37°c. Des lames porte-objets, des lamelles couvre-objets, une cellule de malassez, des micropipettes, des colorants à base d'éosine-nigrosine et un papier pH mètre ont été utilisés pour les différents examens réalisés sur la semence.

2.3. Méthodes:

2.3.1. La récolte de la semence :

Dans la salle de récolte et après la préparation du vagin artificiel, les boucs sont présentés, un par un, à une chèvre attachée et maintenue en œstrus par des injections hebdomadaires de benzoate d'æstradiol. L'opérateur, à genou à côté de la chèvre, lance le vagin en direction du fourreau à chaque fois où le bouc essaye de chevaucher la femelle. Une fois ce dernier éjacule, le vagin artificiel est mis en position verticale et secoué afin de récupérer la totalité de l'éjaculat. Ensuite, le tube de récolte est détaché du vagin artificiel, fermé, mis dans un bain marie à une température de 37°c et acheminé directement vers le laboratoire dans un délai ne dépassant pas les 10 minutes.

2.3.2. L'examen de la semence :

Une fois au laboratoire, les éjaculats sont mis dans une étuve à 37°c pour subir les examens cités ci-dessous, selon BARIL et al., (1993) [57] et MAXWELL et EVANS (1987) [81]:

- Le volume de l'éjaculat est lit directement sur les graduations du tube de récolte.
- Le pH du sperme est déterminé en déposant une goutte de sperme pur sur un papier pH mètre. Sa valeur est appréciée en comparant le virage de la couleur de ce papier avec une grille de notation fournie par le fabricant.
- La mobilité individuelle des spermatozoïdes : pour réaliser cet examen, une goutte de sperme est diluée dans du sérum physiologique préchauffé à 37°c. A partir de cette suspension, une à deux gouttes sont déposées sur une lame porte-objet et couvertes par une lamelle couvre-objet. La lame et la lamelle sont

maintenues à une température de 37°c en utilisant une plaque chauffante adaptée au microscope. Le taux des spermatozoïdes mobiles a été déterminé en estimant la proportion de cellules mobiles et non mobiles, en comptant un total de 100 spermatozoïdes dans quatre champs différents d'un microscope binoculaire au grossissement ×40 (B-350, OPTIKA MISCROSCOPES, ITALY).

- La viabilité spermatique : pour évaluer le taux de spermatozoïdes vivants, on a utilisé une coloration à base d'éosine-nigrosine (kit vita éosine-nigrosine, RAL DIAGNOSTICS). Les frottis ont été préparés de façon routinière en mélangeant une goutte de sperme dilué avec une goutte d'éosine et deux gouttes de négrosine dans un éppendorf, puis une goutte de ce mélange est déposée sur une lame porte-objet à 37°c et étalée immédiatement avec le bord d'une deuxième lame. Les frottis ont été séchés à l'air et la viabilité a été évaluée en comptant 200 spermatozoïdes dans des champs différents du microscope à un grossissement × 40. Les spermatozoïdes colorés étaient considérés comme morts.
- La concentration spermatique : la concentration des spermatozoïdes dans les éjaculats a été calculée en utilisant la cellule de malassez. Un volume de 10µl de l'éjaculat est dilué dans un volume bien déterminé d'une solution de sérum physiologique formolée à 1%. Quelques gouttes de cette suspension sont mises dans l'hématimètre et examinées au microscope à un grossissement × 40.



PARTIE B

ESSAIS DE CONSERVATION A COURT TERME DE LA SEMENCE DES BOUCS DE RACE ARBIA.

Dans cette deuxième partie de notre travail, nous avons mené un essai de conservation de la semence des boucs de race Arbia à une température de 5°c en contrôlant, après une conservation de 24 et 48h, le taux des spermatozoïdes mobiles et l'influence du lavage de la semence et de la concentration du jaune d'œuf dans les milieux de dilution sur celui-là.

1. Matériels et méthodes :

1.1. Matériels :

En plus du matériel utilisé pour la première partie de l'étude, des paillettes en plastique pour insémination artificielle (0,25ml) et de la poudre d'alcool polyvinyle ont été utilisées.

1.2. Méthodes:

En décembre 2016, les boucs ont subi deux récoltes par semaines afin de choisir des éjaculats pour leur conservation à l'état liquide. Les éjaculats choisis pour subir les essais de conservations sont ceux dont la mobilité individuelle initiale était supérieure à 75%. De ce fait, parmi les 12 éjaculats récoltés, seulement 07 d'entres eux ont été choisis et manipulés de la manière décrite cidessous [57, 77, 239].

Après que la semence subissait les examens décrits dans la première partie de l'étude, elle serait divisée en deux parties égales A et B dans des tubes maintenus à une température de 28°c.

La partie A est manipulée de la manière suivant :

- Diviser équitablement le volume de la partie A dans trois tubes maintenus à une température de 28°c.
- Ajouter le volume nécessaire de diluant à base de Tris et de jaune d'œuf à 2, 10 et 20% de ce dernier en fonction du volume et de la concentration initiaux de l'éjaculat.

Au contraire, la partie B est lavée, avant d'être diluée, de la manière suivant :

- Ajouter au tube contenant la partie B de l'éjaculat une solution à base de Tris à une température de 28°c.
 - Centrifuger à 600g/min pendant 15minutes à une température de 28°c.
 - Retirer le surnageant à l'aide d'une pipette en aspirant doucement.
- Rétablir le volume initial de la partie B de l'éjaculat en ajoutant la solution à base de Tris et dissoudre le pellet de spermatozoïdes sédimentés dans le fond du tube.
- Diviser cette suspension de spermatozoïde en volume égal dans trois tubes maintenus à une température de 28°c.
- Ajouter le volume nécessaire de diluant à base de Tris et de jaune d'œuf à 2, 10 et 20% en fonction du volume et de la concentration initiaux de l'éjaculat.

A partir de ce moment, les tubes obtenus après dilution de la partie A et de la partie B de l'éjaculat subissaient la même procédure :

- Mettre les tubes de la semence diluée dans un bécher contenant environ 200ml d'eau à température ambiante, et mettre ce dernier dans le bas du réfrigérateur à 5°c pendant deux heures.
- Remplir les paillettes d'insémination artificielle par aspiration buccale et les sceller avec de la poudre d'alcool polyvinyle.

- Après 24h de conservation, ouvrir les paillettes et mettre deux gouttes de semence diluée dans un tube contenant du sérum physiologique à 37°c.
- Mettre une à deux gouttes de ce mélange entre lame et lamelle préalablement chauffées à 37°c en utilisant une plaque chauffante fixée au microscope.
- Evaluer au microscope et au grossissement ×40 le pourcentage de spermatozoïdes mobiles en observant la mobilité des spermatozoïdes dans quatre champs différents.
- Le taux des spermatozoïdes mobile est évalué après 48h de conservation de la même manière citée ci-dessus.

Un coopérateur préparait la suspension contenant les spermatozoïdes. L'opérateur évaluait la mobilité de ces derniers sans avoir aucune information sur la partie (A ou B) ou la concentration (2, 10 ou 20%) à laquelle appartenait cet échantillon. Il lançait la valeur obtenue au coopérateur qui la porterait dans un tableau dans la case correspondant à l'échantillon.



PARTIE C

ESSAI DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE DES CHEVRES DE RACE ARBIA AVEC UNE SEMENCE DILUEE ET CONSERVEE A 5°C.

Dans cette troisième et dernière partie de notre travail, nous avons soumis des chèvres de la même race à un traitement de synchronisation des chaleurs en utilisant des éponges vaginales à base de progestagène. Après retrait des ces dernières, celles-là ont été inséminées artificiellement avec de la semence diluée et conservée à une température de 5°c. Le taux de conception est déterminé à 21 et 35j post-insémination.

1. Matériels et méthodes :

1.1. Matériels :

En plus du matériel utilisé pour les deux premières parties de l'étude, nous avons utilisé des éponges vaginales, un spéculum muni d'une source de lumière, un ciseau et un pistolet Cassou pour insémination artificielle.

1.2. Milieu et animaux :

Un lot de 10 chèvres de race Arbia a été utilisé pour la synchronisation des chaleurs. Ces femelles étaient introduites à la ferme expérimentale de l'université dans un box indépendant de celui des boucs en Novembre 2016. A leur introduction dans le bâtiment d'élevage, les chèvres ont subi, systématiquement, un diagnostic de gestation à l'aide d'un échographe (ISCAN, DRAMENSKI) afin de s'assurer qu'elles ne soient ni gestantes ni en pseudo-gestation. Par la suite, ces chèvres étaient identifiées par des boucles d'oreilles, vaccinées contre l'entérotoxémie et traitées contre un éventuel parasitisme. Pendant toute la

période de l'expérimentation, leur alimentation était à base d'orge broyée à raison de 500g/animal/jour ; l'eau et la paille étaient distribuées à volonté.

1.3. Méthodes :

1.3.1. La synchronisation des chaleurs :

Pour la synchronisation des chaleurs, nous avons utilisé les éponges vaginales imprégnées d'un progestagène (FGA) à la dose de 45mg (SYNCRO-PART®, CEVA SANTE ANIMALE). Après désinfection de la région périnéale, l'éponge est placée dans son applicateur approprié, enduite d'un antibiotique afin de minimiser les infections vaginales et introduite dans le vagin de la chèvre. La durée de la pose des éponges était de 11j. Les chèvres ont reçu, 48 heures avant le retrait de celles-là, deux injections intramusculaires : 75µg de cloprosténol, un analogue de la PGF $_2\alpha$, et 400Ul d'eCG, afin de provoquer une lutéolyse d'éventuel corps jaune et de stimuler la croissance d'une vague folliculaire, respectivement.

1.3.2. La détection des chaleurs :

La détection des femelles venues en chaleurs a débuté 12 h après le retrait des éponges vaginales. Deux mâles entiers, munis chacun d'un tablier empêchant la saille naturelle, ont été introduits, alternativement, dans le lot des chèvres afin de détecter celles en œstrus (figure 3.1). Seule la chèvre qui accepte le chevauchement en s'immobilisant était considérée en œstrus et retirée du lot afin de permettre aux mâles de s'intéresser au reste des femelles.



Figure 3.1: Bouc entier muni d'un tablier utilisé pour la détection des chaleurs.

1.3.3. La mise en place de la semence :

Selon les recommandations de BARIL et al., (1993) [57], l'insémination artificielle des chèvres aura lieu 12 et 24h après la première détection des chaleurs. Dans notre étude nous avons effectué une seule insémination artificielle des chèvres à environ 20h après la détection de la première chèvre venue en chaleurs, soit environ 35h du retrait des éponges vaginales. L'insémination artificielle a été réalisée de la manière suivant :

- Un coopérateur soulève la femelle de ses membres postérieurs.
- Le col est visualisé en utilisant un spéculum muni d'une source de lumière.
- La paillette de semence est réchauffée dans de l'eau tiède à 37°c pendant environ 30 secondes puis placée dans le pistolet d'insémination artificielle.
- Le pistolet est, alors, guidé vers l'entrée du col et introduit aussi profondément que possible dans celui-ci sans le traumatiser; la semence est, ainsi, déposée (figure 3.2).



Figure 3.2 : Contention de la chèvre au cours de l'insémination artificielle.

1.3.4. Le diagnostic de gestation :

Le diagnostic de la gestation était réalisé par les examens suivant :

- Une détection des chaleurs a été réalisée entre 18 et 24j postinsémination en utilisant un bouc entier muni d'un tablier car, la durée moyenne du cycle œstral de la chèvre est de 21j mais elle peut varier entre 18 et 22j en fonction de la race, le stade de la saison de reproduction et le stress environnemental [240].
- Le dosage de la progestérone : à partir de la veine jugulaire, un prélèvement sanguin était réalisé dans un tube sec après 21j de la date de l'insémination articicielle. Les tubes ont été acheminés immédiatement vers le laboratoire et centrifugés à 3000gr pendant 15min [241]. A l'aide d'une pipette pasteur, le sérum est, ainsi, récupéré dans des tubes secs et conservé pour le dosage ultérieur de la progestérone. Ce dernier était fait dans un laboratoire d'analyse en utilisant Roche Diagnostics, cobas e411analyzer Automated immunoassay analyzers. La chèvre est présumée gestante si sa progestéronémie est supérieure à 1ng/ml [57, 205, 242].
- L'ultrasonographie : les chèvres ont subi un examen échographique transrectal après 35j de la date d'insémination artificielle en utilisant un échographe Draminski I-SCAN.

RESULTATS ET DISCUSSION

PARTIE A

RESULTATS

Dans cette première partie, les résultats des paramètres spermatiques étudiés sont enregistrés et présentés en fonctions des mois et des saisons, comme suit :

1. Les moyennes mensuelles des paramètres spermatiques :

Les résultats obtenus sont répertoriés dans des tableaux et analysés statistiquement par le logiciel R. L'analyse de la variance (ANOVA) et la comparaison multiple des moyennes par le Tukey HSD test sont les tests utilisés pour déterminer la signification des différences entres les valeurs mensuelles et saisonnières des paramètres spermatiques étudiés.

1.1. L'évolution mensuelle du volume de l'éjaculat :

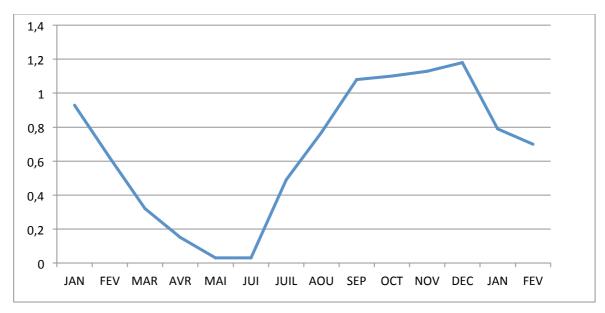
Les valeurs mensuelles moyennes du volume de l'éjaculat des trois boucs sont reportées dans le tableau 3.1. et représentées graphiquement par le graphe 3.1.

Tableau 3.1.: Les moyennes mensuelles du volume spermatique des boucs.

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEV
Volum	0.93	0.62	0,32	0,15	0,03	0,03	0,49	0,77	1,08	1,1	1,13	1,18	0,79	0,7
e (ml)	0,33	0,02	0,02	0,10	0,00	0,00	0,43	0,11	1,00	1,1	1,10	1,10	0,73	0,7
Ecart	0.45	0.33	0.17	0,14	0,08	0,07	0,41	0.58	0,22	0.37	0,47	0,4	0.32	0,23
type	0,40	0,00	0,17	0,14	0,00	0,07	0,41	0,50	0,22	0,07	0,47	0,4	0,02	0,20

La moyenne mensuelle du volume spermatique augmente de manière sensible entre les mois de Juin et de Septembre $(0.03 \pm 0.07 \text{ml})$ et $1.08 \pm 0.22 \text{ml}$, respectivement). Par la suite, son augmentation devient moins importante au

cours des mois d'Octobre et de Novembre jusqu'à atteindre la valeur maximale au mois de Décembre (1,18 ± 0,4ml). Les moyennes mensuelles du volume spermatique commencent à diminuer d'une manière marquée entre les mois de Janvier et de Mars (0,93 ± 0,45ml et 0,32 ± 0,17ml, respectivement) jusqu'à atteindre les valeurs minimales aux mois de Mai et de Juin (0,03 ± 0,08ml et 0,03 ± 0,07ml, respectivement). Il est à signaler que la diminution des moyennes mensuelles du volume spermatique pendant les mois de Janvier et de Février se répète presque de la même manière au cours des mêmes mois de l'année suivante.



Graphe 3.1.: Les moyennes mensuelles du volume spermatique des boucs.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence très hautement significative entre les mois de l'étude (p = 2e-16 ***). La comparaison multiple des moyennes montre qu'il existe une différence significative (p = 0,03) en comparant les moyennes mensuelles du volume spermatique des mois de Mai et de Juin avec celle du mois de juillet.

La différence est très hautement significative surtout entre les mois de Mai et de Juin et les mois de Janvier, Février, Août, Septembre, Octobre, Novembre et Décembre (la valeur la plus élevée de p = 0,0019 en comparant les moyennes mensuelles du volume spermatique des mois de Mai et de Juin avec celle du mois de Février).

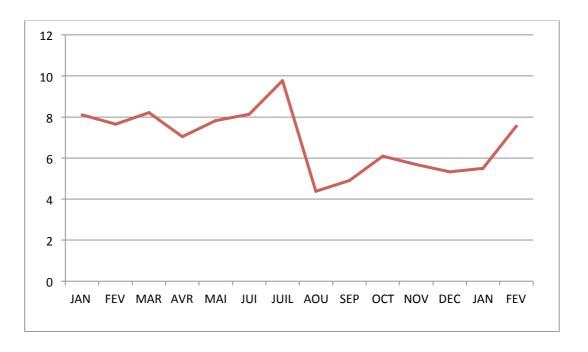
Cependant, il n'existe aucune différence significative entre les moyennes mensuelles du volume spermatique des mois de Mars, Avril, Mai et Juin (la valeur de p la plus faible est de 0.6951).

1.2. L'évolution mensuelle de la concentration de l'éjaculat :

Les valeurs mensuelles moyennes de la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat des trois boucs sont reportées dans le tableau 3.2. et représentées graphiquement par le graphe n° 3.2.

Tableau 3.2. : Les moyennes mensuelles de la concentration spermatique des boucs.

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEV
Concentration (×10 ⁹ spz/ml)	8,1	7,65	8,22	7,04	7,83	8,14	9,77	4,38	4,91	6,09	5,69	5,32	5,5	7,56
Ecart type	5,17	2,44	2,01	1,98	0,81	0,6	4,66	2,41	1,58	2,2	2,12	2,82	2,21	2,82



Graphe 3.2.: Les moyennes mensuelles de la concentration spermatique des boucs.

La moyenne mensuelle de la concentration spermatique diminue de manière sensible entre les mois de Juillet et de Septembre (9,77 \pm 4,66 \times

 10^9 spz/ml et 4,43 ± 2,41 × 10^9 spz/ml, respectivement). Par la suite, elle oscille d'Août à Janvier en atteignant la valeur de 6,09 ± 2,2 × 10^9 spz/lml en Octobre.

Concernant la période s'étalant de Février à Juin, la moyenne mensuelle de la concentration spermatique enregistre une augmentation par rapport aux autres mois avec des valeurs oscillant entre $7,65 \pm 2,44 \times 10^9 \text{spz/lml}$ et $8,14 \pm 0,6 \times 10^9 \text{spz/lml}$, respectivement, avec une valeur minimale de $7,04 \pm 1,98 \times 10^9 \text{spz/lml}$ en Avril.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence significative entre les mois de l'étude (p = 0.000511***). La comparaison multiple des moyennes montre qu'il existe une différence significative entre le mois de Juillet et les mois d'Août, Septembre, Novembre, Décembre et Janvier avec une valeur p de 0,006, 0,007, 0,04, 0,003 et 0,03, respectivement. Il n'existe aucune différence significative entre les valeurs des moyennes mensuelles de la concentration spermatiques pour le reste des mois de l'année.

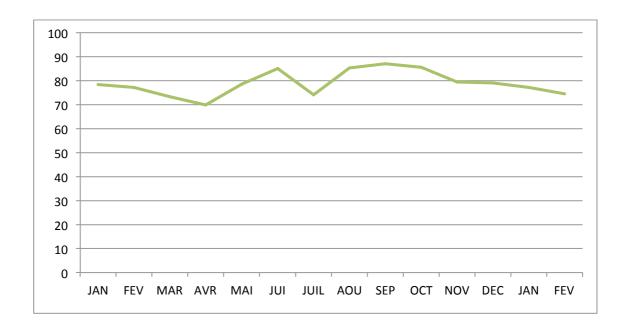
1.3. L'évolution mensuelle de la mobilité des spermatozoïdes

Les valeurs mensuelles moyennes de la mobilité individuelle des spermatozoïdes des trois boucs sont reportées dans le tableau 3.3. et représentées graphiquement par le graphe n° 3.3.

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEV
Mobilité (%)	78,4	77,25	73,36	69,89	78,5	85	74,18	85,29	87,09	85,58	79,5	79,08	77,18	74,5
Ecart type	8,54	4,81	3,78	13,89	0,71	00	17,97	7,27	5,32	7,54	11,84	7,83	9,02	8,4

Tableau 3.3. : Les moyennes mensuelles de la mobilité spermatique des boucs.

La moyenne mensuelle de la mobilité spermatique ne montre pas de grande variation au cours de l'année car, elle varie entre $69,89 \pm 13,89\%$ en Avril et $87,09 \pm 5,32\%$ à Septembre. Mais, il importe de signaler que la moyenne mensuelle de la mobilité spermatique prend des valeurs supérieures à 80% en Août, septembre et Octobre et des valeurs minimales de Mars à Juillet ($73,36 \pm 3,78\%$ et $74,18 \pm 17,97\%$, respectivement).



Graphe 3.3.: Les moyennes mensuelles de la mobilité spermatique des boucs.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence significative entre les mois de l'étude (p = 0.00257 **). La comparaison multiple des moyennes montre qu'il existe une différence significative seulement entre le mois d'Avril et les mois de Septembre et d'Octobre avec une valeur p de 0,007 et 0,01, respectivement.

1.4. L'évolution mensuelle de la viabilité des spermatozoïdes :

Les valeurs mensuelles moyennes de la viabilité des spermatozoïdes des trois boucs sont reportées dans le tableau 3.4. et représentées graphiquement par le graphe n° 3.4.

				,								10.0		
Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEV
Viabilité (%)	64,45	66,3	55,18	63	70	37,65	55,09	66,29	75,73	73,58	72,58	70,36	64,47	66,4
Ecart type	12,38	6,53	17,18	11,31	00	24,5	15,57	17,01	13,56	9,74	9,08	8,34	12,40	6,65

Tableau 3.4. : Les moyennes mensuelles de la viabilité spermatique des boucs.



Graphe 3.4.: Les moyennes mensuelles de la viabilité spermatique des boucs.

L'évolution mensuelle des moyennes du taux de viabilité des spermatozoïdes exprime de légères variations au cours de l'année. Les valeurs obtenues montrent que le taux de viabilité des spermatozoïdes est élevé de Septembre à Décembre ($75,73 \pm 13,56\%$ et $70,36 \pm 8,34\%$, respectivement) avec un maximum en Septembre. Au contraire, le taux de viabilité des spermatozoïdes est faible de Janvier à Juillet.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence significative entre les mois de l'étude (p = 3.78e-05 ***). La comparaison multiple des moyennes montre qu'il existe une différence significative entre le mois de Mars et les mois de Septembre et d'Octobre (p = 0,01 et 0,03, respectivement) d'une part, et entre le mois de Juillet et les mois de Septembre et d'Octobre avec les mêmes valeurs précédentes de p. Il n'existe aucune différence significative en comparant les moyennes mensuelles du taux de viabilité des spermatozoïdes des autres mois.

1.5. L'évolution mensuelle du pH spermatique :

Les valeurs mensuelles moyennes du pH de la semence des trois boucs sont reportées dans le tableau 3.5. et représentées graphiquement par le graphe n° 3.5.

Tableau 3.5.: Les moyennes mensuelles du pH spermatique des boucs.

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEV
рН	6,92	6,73	6,69	6,63	6,65	6,7	6,85	6,8	6,69	6,63	6,79	6,68	6,79	6,72
Ecart	0.10	0.18	0,21	0,15	0,21	0 17	0,19	0,24	0,19	0,17	0,19	0,21	0,20	0.20
type	0,10	0,10	0,21	0,10	0,21	0,17	0,10	0,24	0,10	0,17	0,10	0,21	0,20	0,20



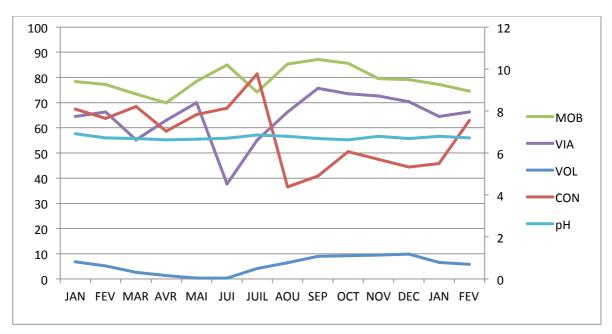
Graphe 3.5: Les moyennes mensuelles du pH spermatique des boucs.

Le pH séminal varie, au cours de l'année, entre 6,5 et 7 avec une évolution différente de celle des autres paramètres. La moyenne mensuelle du pH séminale est de $6,92\pm0,10$ en Janvier, elle diminue jusqu'à atteindre un minimum de $6,63\pm0,15$ en Avril puis augmente de nouveau et atteint la valeur de $6,85\pm0,19$ en Juillet. La même évolution se produit le reste de l'année, autrement dit, il y a une diminution de Juillet à Octobre $(6,63\pm0,17)$ puis une augmentation d'Octobre à Janvier de la deuxième année d'étude $(6,79\pm0,20)$.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence significative entre les mois de l'étude (p = 0.0197*). La comparaison multiple des moyennes montre qu'il existe une différence significative seulement entre le mois de Janvier et d'Octobre (p = 0.020).

1.6. Comparaison entre l'évolution mensuelle des paramètres spermatiques étudiés :

La comparaison entre les paramètres spermatiques étudiés au cours de l'année montre que le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques évoluent d'une manière similaire au cours de l'année. Par contre, la concentration spermatique des éjaculats suit une évolution inverse par rapport aux autres paramètres, autrement dit, elle augmente au moment où ces derniers diminuent, et vice versa (graphe n° 3.6). En ce qui concerne le pH spermatique, il diminue lorsque la concentration, la mobilité et la viabilité spermatiques sont élevées.



Graphe 3.6. : La comparaison entre l'évolution des moyennes mensuelles des paramètres spermatiques étudiés.

Cette comparaison a été démontrée statistiquement (tableau n° 3.6) par l'existence d'une corrélation positive entre le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques et le pH séminal, d'une part, et entre la concentration spermatique et le pH séminal, d'autre part. Cette corrélation est significative, seulement, entre le volume spermatique et le taux des spermatozoïdes vivants (p = 0,007).

Une corrélation négative significative est observée entre la concentration spermatique et le volume séminal et la mobilité et la viabilité spermatiques (p <

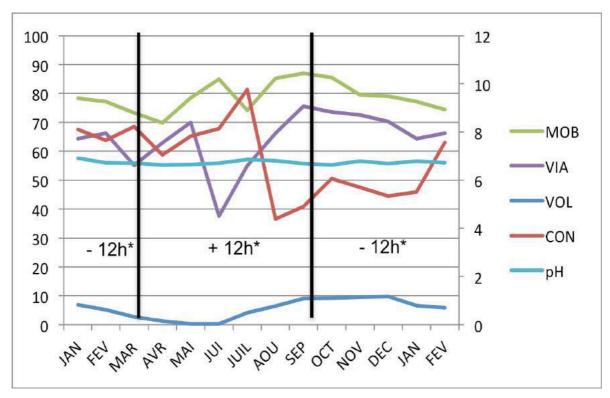
0,05). Egalement, le pH séminal montre une corrélation négative avec la mobilité et la viabilité spermatiques mais, elle n'est, en aucun cas, significative (p > 0,05).

Tableau 3.6 : La corrélation entre les moyennes mensuelles des paramètres spermatiques étudiés.

	Volume	Concentration	Mobilité	Viabilité	рН
Volume	1.0000000	-0.6389458	0.3958211	0.6771982	0.2132307
Volume	1.0000000	p= 0.0139	p = 0.1612	p=0.00780	p=0.4642
Concentration	-0.638945	1.0000000	-0.533933	-0.596550	0.1744583
Concentration	p= 0.0139	1.0000000	p= 0.0492	p= 0.0243	p= 0.5508
Mobilité	0.3958211	-0.5339339	1.0000000	0.1557889	-0.063683
	p= 0.1612	p = 0.0492	1.0000000	p= 0.5948	p=0.8288
Viabilité	0.6771982	-0.5965500	0.1557889	1.0000000	-0.128563
Viabilite	p= 0.0078	p= 0.0243	p= 0.5948	1.0000000	p=0.6614
рН	0.213230	0.17445836	-0.063683	-0.128563	1.00000000
	p=0.4642	p= 0.5508	p=0.8288	p=0.6614	1.0000000

1.7. Comparaison entre l'évolution des paramètres spermatiques et la photopériode :

En comparant l'évolution des paramètres spermatiques étudiés et celle de la durée du jour, on remarque que ceux-ci évoluent inversement à la photopériode, à l'exception de la concentration spermatique qui suive une évolution similaire à celle-ci. Au contraire de la concentration spermatique, le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques prennent des valeurs élevées surtout au moment où la photopériode est inférieure à 12heures et des valeurs faibles au moment où celle-ci est supérieure à 12heures (graphe 3.7).



Graphe 3.7. : La comparaison entre l'évolution des moyennes mensuelles des paramètres spermatiques étudiés et la photopériode.

2. Les moyennes saisonnières des paramètres spermatiques :

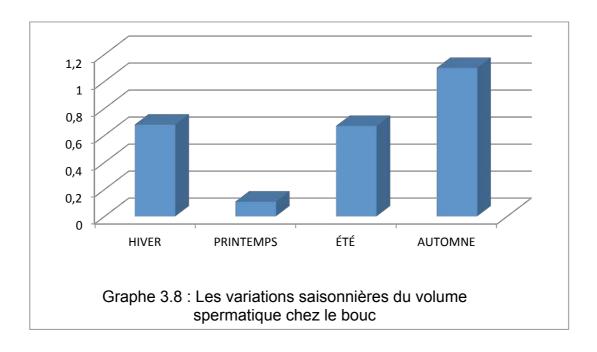
2.1. L'évolution saisonnière du volume spermatique :

Les volumes spermatiques moyens récoltés, exprimés par saison, sont rapportés dans le tableau 3.7 et le graphe 3.8.

Tableau 3.7 : Les moyennes saisonnières du volume spermatique des boucs.

Saison	Hiver	Printemps	Été	Automne
Volume (ml)	0,68	0,11	0,67	1,1
Ecart type	0,47	0,14	0,49	0,39

La production spermatique moyenne par saison est maximale en automne $(1,1\pm0,39\text{ml})$ et minimale au printemps $(0,11\pm0,14\text{ml})$. Les saisons de l'hiver et de l'été sont marquées par des productions intermédiaires $(0,68\pm0,47\text{ml})$ et $0,67\pm0,49\text{ml}$, respectivement).



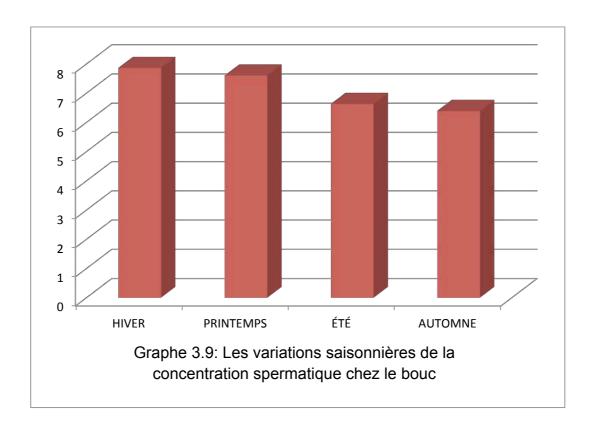
L'analyse statistique de la variance des moyennes saisonnières du volume spermatique montre qu'il existe une différence très hautement significative entre les saisons (p = 2e-16 ***). La comparaison multiple des moyennes montre que le volume spermatique moyen enregistré en automne diffère significativement de celui obtenue en été, en hiver et au printemps (p = 0,0000053, p = 0,0000017, p = 0,0000000, respectivement). Egalement, la différence est très hautement significative entre le volume spermatique moyen du printemps et celui des autres saisons (p = 0,000000). Cependant, il n'existe aucune différence significative entre les moyennes saisonnières du volume spermatique de l'été et de l'hiver (p = 0,9896).

2.2. L'évolution saisonnière de la concentration spermatique :

Les concentrations spermatiques moyennes enregistrées, exprimées par saison, sont rapportées dans le tableau 3.8 et le graphe 3.9.

Tableau 3.8 : Les moyennes saisonnières de la concentration spermatique des boucs.

Saison	Hiver	Printemps	Été	Automne
Concentration	7,87	7,61	6,64	6,4
(×10 ⁹ spz/ml)	7,07	7,01	0,04	0,4
Ecart type	2,38	1,81	4,07	2,62



Les valeurs saisonnières de la concentration spermatique suivent une distribution différente de celle du volume, les valeurs les plus élevées sont enregistrées en Hiver et au Printemps alors que les valeurs minimales s'observent en Été et en Automne.

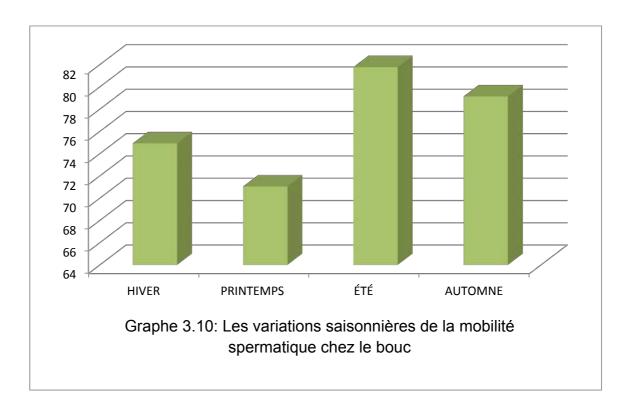
L'analyse statistique de la variance (ANOVA) des données montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les saisons (p = 0.242).

2.3. L'évolution saisonnière de la mobilité spermatique

La mobilité spermatique moyenne enregistrée, exprimée par saison, est rapportée dans le tableau 3.9 et représentée par le graphe 3.10.

Tableau 3.9 : Les moyennes saisonnières de la mobilité spermatique des boucs.

Saison	Hiver	Printemps	Été	Automne
Mobilité (%)	74,94	71,07	81,79	79,16
Ecart type	8,43	11,28	13,42	10,41



Les valeurs moyennes de la mobilité spermatique, exprimées par saison, montrent que la mobilité spermatique est élevée en Été et en Automne (81,79 \pm 13,42% et 79,16 \pm 10,41%, respectivement) et faible en Hiver et surtout au Printemps (74,94 \pm 8,43% et 71,07 \pm 11,28%, respectivement).

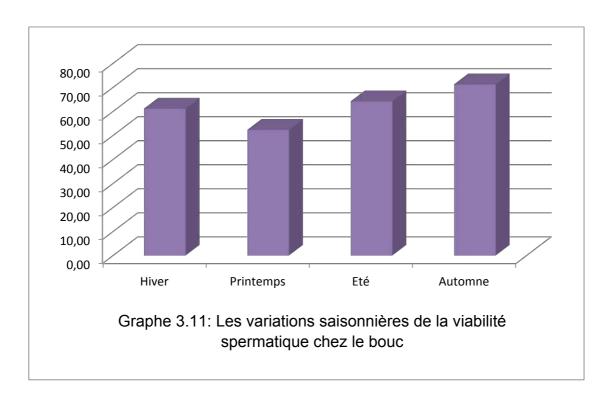
L'analyse statistique de la variance des données montre qu'il existe une différence significative entre saisons (p = 0.00771 **). Cette dernière est particulièrement observée entre l'Été et le Printemps (p = 0,015). Par contre, aucune différence significative n'est à enregistrée entre les autres saisons.

2.4. L'évolution saisonnière de la viabilité spermatique

La viabilité spermatique moyenne enregistrée, exprimée par saison, est rapportée dans le tableau 3.10 et représentée par le graphe 3.11.

Tableau 3.10 : Les moyennes saisonnières de la viabilité spermatique des boucs.

Saison	Hiver	Printemps	Été	Automne
Viabilité (%)	61,21	52,38	64,25	71,31
Ecart type	15,63	20,34	19,10	14,32



Les valeurs moyennes de la viabilité spermatique, exprimées par saison, montrent que la viabilité spermatique est élevée en Automne (71,31 ± 14,32%) et faible au Printemps (52,38 ± 20,34%). L'Hiver et l'Été se caractérisent par des valeurs intermédiaires de celle-ci.

L'analyse statistique de la variance des données montre qu'il existe une différence hautement significative entre les saisons (p = 0.00032 ***). La comparaison des moyennes saisonnières montre que la viabilité spermatique moyenne enregistrée en automne diffère significativement de celles obtenues en Été en Hiver et au Printemps (p < 0.03).

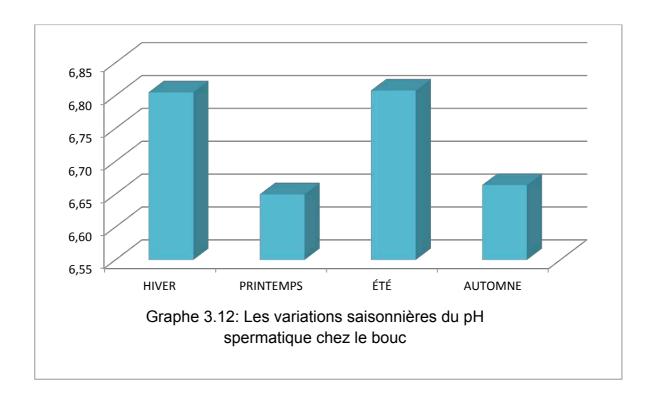
Cependant, il n'existe aucune différence significative entre les moyennes saisonnières de la viabilité spermatique de l'Été, l'Hiver et le Printemps.

2.5. L'évolution saisonnière du pH spermatique :

Le pH spermatique moyen enregistré, exprimé par saison, est rapporté dans le tableau 3.11 et représenté par le graphe 3.12.

Saison	Hiver	Printemps	Été	Automne
Viabilité (%)	6,81	6,65	6,81	6,66
Ecart type	0,20	0,15	0,19	0,19

Tableau 3.11 : Les moyennes saisonnières du pH spermatique des boucs.



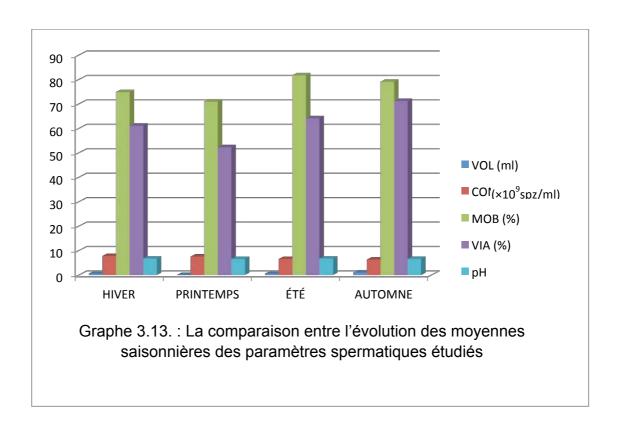
Les moyennes saisonnières du pH de la semence des boucs montrent une variation saisonnière caractérisée par des valeurs élevées en Hiver et en Été (6,81 \pm 0,20 et 6,81 \pm 0,19, respectivement) et des valeurs faibles au Printemps et en Automne (6,65 \pm 0,15 et 6,66 \pm 0,19, respectivement).

L'analyse statistique de la variance des données montre qu'il existe une différence significative entre les saisons (p = 0.00121 **). La comparaison des moyennes saisonnières montre l'existence d'une différence significative entre la moyenne saisonnière du pH séminal enregistrée en Hiver et celle enregistrée au Printemps et particulièrement celle de l'Automne (p=0,03, p=0,009, respectivement), tandis que, la moyenne saisonnière du pH séminal observée en Été ne diffère qu'avec celle de l'Automne (p=0,02). Cependant, il n'existe aucune différence significative en comparant les moyennes saisonnières du pH

spermatique de l'Hiver et l'Été d'une part, et le Printemps et l'Automne d'autre part.

2.6. Comparaison entre l'évolution saisonnière des paramètres spermatiques étudiés :

La comparaison entre les paramètres spermatiques étudiés au cours de l'année exprimés par saison, montre que le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques évoluent d'une manière similaire au cours de l'année. Par contre la concentration spermatique des éjaculats suit une évolution inverse par rapport aux autres paramètres, autrement dit, elle augmente au moment où ces derniers diminuent et vice versa (graphe 3.13).



La comparaison a été démontrée statistiquement par l'existence d'une très forte corrélation positive entre le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques et le pH séminal, et une corrélation négative entre la concentration spermatique et ceux-ci (tableau 3.12). Le pH est corrélé positivement avec tous les paramètres spermatiques étudiés.

Tableau 3.12 : La corrélation entre les moyennes saisonnières des paramètres spermatiques étudiés.

	Volume	Concentration	Mobilité	Viabilité	рН
Volume	1.0000000	- 0.65657	0.73029	0.98520	0.16531
Volume		p = 0.3434	p = 0.2697	p = 0.0148	p = 0.8347
Concentration	- 0.65657	1.0000000	- 0.81522	- 0.77430	0.14535
Concentration	p = 0.3434	1.0000000	p = 0.1848	p = 0.2257	p = 0.8546
Mobilité	0.73029	- 0.81522	1.0000000	0.80958	0.45128
	p = 0.2697	p = 0.1848	1.0000000	p = 0.1904	p = 0.5487
Viabilité	0.98520	- 0.77430	0.80958	1.0000000	0.13261
Viabilito	p = 0.0148	p = 0.2257	p = 0.1904		p = 0.8674
рН	0.16531	0.14535	0.45128	0.13261	1.0000000
ρΠ	p = 0.8347	p = 0.8546	p = 0.5487	p = 0.8674	1.0000000

DISCUSSION

Les résultats de notre travail mettent en évidence que la production spermatique des boucs de race Arbia varie au cours de l'année. Les caractéristiques spermatiques, en l'occurrence, le volume, la mobilité et la viabilité spermatiques sont élevées en automne, moyenne en hiver et en été et trop faible au printemps. Au contraire, la concentration spermatique suit une évolution inverse aux paramètres précédemment cités et le pH spermatique oscille entre les saisons.

Considérons que l'été et l'automne sont des saisons avec des jours décroissants et que l'hiver et le printemps sont des saisons avec des jours croissants, et que durant toute la période de l'expérimentation, les boucs ,ayant reçus une alimentations fixe, ont été soumis aux conditions climatiques naturelles, il convient de dire que la reproduction des boucs de race Arbia est sensible aux variations photopériodiques. Chez ces derniers, les caractéristiques spermatiques sont meilleures entre l'équinoxe de l'automne et le solstice d'hiver (automne), période correspondant à une durée des jours inférieure à 12 heures de lumière par jour. La qualité de la semence diminue ente l'équinoxe du printemps et le solstice d'été (printemps), période correspondant à une durée des jours supérieure à 12 heures de lumière par jour.

Chez les petits ruminants, la photopériode est le principal facteur extrinsèque modulant la physiologie endocrine et le comportement sexuel des reproducteurs saisonniers [243].

L'activité sexuelle se déclenche en automne lorsque la durée du jour diminue, après le solstice d'été, et diminue, ensuite, pour s'arrêter lorsque les jours augmentent au printemps [244]. La mélatonine serait en grande partie responsable de cette caractéristique de saisonnalité puisque sa sécrétion uniquement nocturne augmente durant les jours courts à l'automne [245].

En général, moins de 12 heures d'éclairement quotidien sont considérés comme des jours courts, mais en réalité, la perception d'un jour court est relative : un jour court est un jour plus court que le précédent. Au contraire, plus de 12 heures d'éclairement quotidien sont considérés comme des jours longs. En réalité, la perception, également, d'un jour long, est relative : un jour long est un jour plus long que le jour précédent [246].

En effet, les variations saisonnières de l'activité sexuelle sont entraînées par le rythme de la photopériode constitué d'une alternance de JC et de JL [247, 248]. Cependant, ces JC ne sont pas toujours stimulateurs, puisqu'après 70j d'activité sexuelle, celle-ci s'arrête et les animaux deviennent, alors, «réfractaires» aux JC. C'est l'installation de cet état en hiver qui est responsable, en partie au moins, de l'arrêt saisonnier de l'activité sexuelle aux alentours du mois de février [249].

L'influence de la photopériode sur la capacité de reproduction des caprins, dans les latitudes supérieures à 40°, est marquée [148, 187], avec une augmentation significative de la production de sperme pendant la diminution de la photopériode [51, 99]. Dans les latitudes compris entre 30° et 40°, il y a, également, des variations saisonnières, mais elles ne sont pas aussi notables. Néanmoins, des semences de bonne qualité ont été observées pendant l'été et l'automne [250]. Dans les latitudes inférieures à 30°, les boucs ne montrent aucune variation saisonnière de la production de sperme [117, 251]. Ces constations plaident pour l'influence de la photopériode sur la reproduction des boucs de race Arbia, du moment que la région dans laquelle s'est déroulé notre étude se situe à une latitude 35°15' N.

Chez le mâle, la photopériode affecte, aussi, l'équilibre endocrinien se caractérisant par des réductions des sécrétions des gonadotrophines et de la testostérone ce qui influence le développement testiculaire, la libido et la qualité séminale [252, 253, 254].

Cette influence peut s'expliquer par la mélatonine qui agit sur l'hypothalamus pré-mamillaire au sein duquel elle se lie à des récepteurs spécifiques des cellules à LH-RH qui se trouvent stimulés ou inhibés. Un certain temps après le passage sous une photopériode stimulatrice, l'activité de décharge pulsatile de ces dernières augmente fortement, ce qui entraîne l'accroissement de la fréquence des «pulses» de LH par l'hypohyse, puis la stimulation gonadique et enfin la reprise de l'activité sexuelle. Les ovulations débutent environ 80j chez la chèvre alpine et 50j chez la brebis lle-de-France, après le changement jours longs / jours courts [65, 255].

En Algérie, dans la même région de notre étude et pour les boucs de la même race, les effets de la photopériode sur la testostérone plasmatique ont été étudiés par AIT AMRANE et al. (2013) [8]. Ces auteurs rapportent que les boucs de race Arbia expriment une nette saisonnalité des valeurs de la testostérone plasmatique. Cette dernière commence à augmenter sensiblement à partir de juin pour atteindre un maximum en août $(8,57 \pm 6,72 \text{ng/ml})$, fluctue entre septembre et novembre et diminue remarquablement à partir de décembre jusqu'à atteindre une valeur minimale en mai $(0,52 \pm 0,54 \text{ng/ml})$.

Chez les boucs de race Arbia, la circonférence du scrotum, étant corrélée au poids des testicules qui est, également, lié à la production journalière de sperme [55], suit des variations saisonnières au cours de l'année. Elle atteint des valeurs maximales en automne, alors qu'elle diminue, progressivement, pendant l'hiver pour atteindre les valeurs minimales au printemps et recommence à augmenter en été [7]. Dans cette même étude, le comportement sexuel des boucs étudiés suit, au cours de l'année, une évolution similaire à celle de la circonférence scrotale avec une corrélation positive entre les deux paramètres (r = 0,799).

1. Le volume :

Dans notre étude, le volume spermatique culmine en décembre puis, diminue jusqu'à atteindre son minimum aux mois de mai et de juin. Il commence à augmenter, d'une manière marquée, à partir du mois de juillet. Une même évolution du volume spermatique, chez des boucs de race local, a été rapportée par HAMMOUDI et al., en 2011 [256].

Chez le bouc de race Arbia, le pic du volume spermatique survient après un pic de testostérone plasmatique en août [8], un pic de circonférence scrotal en septembre et un pic de comportement sexuel en novembre [7]. Cette chronologie peut s'expliquer, d'une part, par l'existence d'un temps de latence qui s'écoule toujours entre la mise en route d'un processus testiculaire et sa pleine expression au niveau de la semence [54] et d'autre part, par la durée de la spermatogenèse qui est, chez le bouc, probablement très similaire à celle rapportée pour les béliers, à savoir 47 jours [77].

Une chronologie similaire est rapportée par CHEMINEAU et DELGADILLO (1994) [228]. L'augmentation de l'activité pulsatile de la LH (amplitude en juin – juillet, fréquence en septembre) entraîne le début de la croissance testiculaire (juillet – août) puis la libération de la testostérone (septembre) qui stimule le comportement sexuel (augmentation du nombre des saillies par test de comportement, diminution de la latence à l'éjaculation) et la qualité de la semence (octobre).

Parmi les rares travaux réalisés en Algérie, le bouc de la race Bedouine au sud-ouest algérien montre des variations saisonnières claires de son activité testiculaire avec un maximum en été et en automne (juillet-août-septembre) et un minimum en hiver et au printemps (décembre-avril) [257].

Par contre, dans les autres parties du monde, plusieurs études ont été menées sur la reproduction caprine. Le bouc iranien de race Markhoz (34°18' N, 47°3'E) montre des fluctuations saisonnière de sa qualité spermatique. La semence est supérieure du point de vue qualité et quantité quand elle est récoltée en fin d'été et en automne par contre, les caractéristiques inférieures de la

semence sont observées en hiver et au printemps. Une augmentation du volume spermatique, du nombre total de spermatozoïdes par éjaculat et la concentration sérique de la testostérone est observée durant la saison naturelle de reproduction (été et automne) suivie par une diminution significative de ces paramètres durant la saison de repos sexuel (hiver et printemps) [258].

En Espagne, PEREZ et MATEOS, (1996) [259] rapportent une nette influence de la photopériode sur la production spermatique chez le bouc de race Verata (40° N) avec une augmentation du volume de l'éjaculat durant la photopériode décroissante. Cependant, chez le bouc de race Malagueňa (37° N), celui-ci est élevé en automne et faible au printemps, mais au contraire de nos résultats, cette différence n'est pas significative.

Le volume des éjaculats des boucs des races Alpine et Poitevine suit une évolution presque similaire à celle des boucs de race Arbia. Il est élevé en automne et en hiver, c'est-à-dire pendant la saison sexuelle et diminué au printemps et en été, en période de repos sexuel [148].

Chez les boucs des races Alpine et Saanen dont la semence est collectée deux fois par semaine au vagin artificiel, il existe des variations saisonnières importantes du taux de réussite à la collecte [148], et de la latence à l'éjaculation [260]. Chez six boucs des deux races suivis pendant deux années consécutives (latitude 46° N), le pourcentage d'échecs à la collecte est nul d'octobre à avril, et s'élève jusqu'à 20% de mai à août. Chez les mêmes mâles, le poids testiculaire, qui est étroitement corrélé à l'activité spermatogénétique du testicule, subit aussi des variations saisonnières, avec des valeurs basses de janvier à avril et hautes de septembre à décembre [260]. Ceci a été constaté, dans notre étude, car au printemps, les boucs de race Arbia ne montrent pas ou montrent peu d'intérêt à servir le vagin artificiel.

Chez la race jordanienne Damascus (31,5° N), le mois de la récolte spermatique affecte significativement les caractéristiques spermatiques telles que la motilité massale, la mobilité individuelle, le pourcentage des spermatozoïdes et le volume des éjaculats. Les volumes les plus élevés sont enregistrés en hiver

avec un maximum de 1,3ml en janvier. Durant les mois de mars – mai, le volume des éjaculats diminue jusqu'à un minimum de 0,72ml en mai, puis il augmente de nouveau pendant l'été et l'automne [261].

Dans l'hémisphère sud à une latitude 29°S, les boucs cachemires australiens manifestent une variation saisonnière considérable de leur spermatogenèse. La production spermatique journalière D.S.P (Daily Sperm Production) passe de 2.76 x 10⁹ en septembre à 7.23 x 10⁹ en février [102].

Contrairement à nos résultats, chez les boucs de race Créole de la Guadeloupe à une latitude 16° 15' N, il n'existe pas de variation saisonnière marquée de la production de spermatozoïdes par le testicule (estimée par la mesure du diamètre testiculaire), de comportement sexuel ou de fertilité [262].

2. La concentration:

Dans notre étude, nous avons constaté que la concentration spermatique est corrélée négativement et significativement au volume de l'éjaculat (r = -0,63, p < 0,05). Elle est élevée en hiver et au printemps et faible en été et en automne.

L'évolution inverse de la concentration spermatique par rapport au volume de l'éjaculat constatée, dans notre étude, est rapportée par un bon nombre d'études faites sur plusieurs races caprins. Chez les boucs de races Markhoz [258], Alpine, Saanen, Damascus [233, 263], Poitevine [148], Verata et Malagueňa [259], la concentration des spermatozoïdes dans l'éjaculat suit une tendance inverse au volume de celui-ci. Elle est faible en automne et élevée durant le printemps.

L'augmentation de la concentration spermatique au détriment de la diminution du volume de l'éjaculat peut être expliquée de la manière suivant: quand le volume de l'éjaculat augmente ou diminue, ces changements sont, en grande partie, dues aux changements de la quantité des sécrétions épididymaires et des glandes annexes sensibles aux variations saisonnières. Les glandes annexes sont plus actives lorsque la concentration de testostérone est élevée au

cours de la saison de reproduction et moins actives lorsque celle-là est faible au cours de la saison de repos sexuel [148].

3. La mobilité et la viabilité spermatiques:

La mobilité individuelle et la viabilité des spermatozoïdes des boucs de races Arbia sont corrélées positivement avec le volume de l'éjaculat (r = 0,39 et r = 0,67, respectivement). Cette corrélation est très significative entre le volume de l'éjaculat et la viabilité des spermatozoïdes (p = 0,007). Ces paramètres, en l'occurrence, la mobilité individuelle et la viabilité des spermatozoïdes semblent être influencées par la saison car, le taux des spermatozoïdes mobiles est élevé en été et en automne et faible au printemps, et le pourcentage des spermatozoïdes vivants est élevé en automne et faible au printemps. Les deux paramètres évoluent d'une manière similaire au cours de l'année mais avec des valeurs faibles de la viabilité des spermatozoïdes par rapport à leur mobilité. Cette constatation peut être expliquée, en partie, par une action propre légèrement toxique du colorant et ou le temps de préparation des frottis [120, 264].

La qualité des spermatozoïdes éjaculés des boucs Alpins et Saanens est, elle-même, affectée par la saison d'une façon semblable à celle observée dans notre étude. Ainsi, le taux des spermatozoïdes mobiles est élevé pendant la saison sexuelle et bas en dehors de celle-ci [265]. Une forte baisse de la mobilité individuelle et de la fécondance des spermatozoïdes est, également, observée entre avril et août [148, 252], qui a des conséquences, à la fois, pour les centres d'IA, mais également, pour les éleveurs utilisant les saillies naturelles suite aux inductions hormonales d'œstrus.

KARATZAS et al., (1997) [233] rapportent que le pourcentage des spermatozoïdes mobiles est élevée en saison de reproduction ($60.0 \pm 1.29\%$, $65.8 \pm 1.18\%$ et $67.1 \pm 0.98\%$) et diminué en période d'anœstrus saisonnier ($48.0 \pm 2.71\%$, $59.4 \pm 2.17\%$ et $62.7 \pm 1.59\%$), chez les boucs de race Alpine Saanen et Damascus, respectivement. En accord avec nos résultats, ces auteurs constatent que la différence du taux des spermatozoïdes mobiles entre les deux saisons est hautement significative.

La saisonnalité peut, aussi, modifier la fonction sécrétoire de l'une ou de plusieurs glandes accessoires, et influence la quantité et la composition chimique du plasma séminal [266, 267].

Des études récentes ont montré que, dans les climats tropicaux, la saison de l'année influe sur la composition biochimique du plasma séminal des boucs [268] et d'autres recherches, évaluant les effets de la composition biochimique du plasma séminal (ions: Ca⁺², Mg⁺², PO⁺³ et molécules: protéine totale, l'acide citrique et fructose) sur les caractéristiques spermatiques du boucs, ont rapporté des corrélations significatives entre les paramètres biochimiques du plasma séminal et la motilité des spermatozoïdes [269].

Les changements saisonniers des composants biochimiques du sperme de bouc ont, également, été observés par ROCA et al. (1993) [154] et CATUNDA et al. (2009) [270], ainsi, il est bien connu que les minéraux sont importants pour l'équilibre électrolytique et essentiels pour la conservation de la semence de bouc. Ces composants jouent, également, un large éventail de rôles sur les systèmes de reproduction, tels que la régulation des enzymes intra et extracellulaires, des protéines membranaires, des seconds messagers, les récepteurs et le métabolisme énergétique [271].

AKPA et al., (2013) [272] rapportent qu'une bonne concentration en sodium, potassium et en calcium dans la semence améliore la concentration et la motilité des spermatozoïdes du bouc nigérien de race Red Sokoto.

4. Le pH:

Le pH de la semence des boucs de race Arbia évolue d'une manière différente de celle des autres paramètres étudiés avec des moyennes saisonnières élevées en hiver et en été alternées avec des moyennes saisonnières faibles au printemps et en automne, au cours d'une même année. Ces dernières coïncident avec une augmentation de la concentration spermatique au printemps et une augmentation de la motilité des spermatozoïdes en automne. Cette diminution du pH au cours de ces saisons peut s'expliquer par l'augmentation de la concentration et la diminution de la viabilité des

spermatozoïdes au cours du printemps, d'une part, et par l'augmentation de la mobilité et de la vivacité des spermatozoïdes, d'autre part. Plus un sperme est concentré, plus son pH est acide et peut atteindre 5.9 [114]. Ce phénomène reflète, vraisemblablement, les variations de production d'acide lactique, ellemême fonction du nombre de spermatozoïdes par unité de volume et aussi celles de l'activité glycolytique cellulaire, comme l'a montré MANN (1964) [273]. Ceci a été démontré, chez d'autres espèces telles que le chat. Selon TERRELL et al., (2011) [274], la production de lactate est positivement corrélée à la motilité des spermatozoïdes.

Contrairement à nos résultats, BATTAGLINI (1992) [275] a signalé l'existence d'une corrélation négative (r = - 0,47) entre la concentration spermatique et le pH séminal. Le pH du sperme pur a tendance à s'alcaliniser lorsque la durée d'éclairement augmente et à s'acidifier ensuite. Il suit, donc, une évolution inverse de celle qui a été observée pour la concentration de l'éjaculat par ALBERIO (1976) [276], BARRELL et LAPWOOD (1979) [277], NEVES et al., (1980) [278].

Dans cette présente étude, les valeurs du pH spermatique sont légèrement acides et inférieures à ceux rapportées chez les boucs de races, Alpine, Saanen, Damascus [233] Markhoz [258], Zaraibi [279], et Angora [280]. Ces résultats peuvent s'expliquer par la concentration spermatique des boucs de race Arbia qui est plus élevée par rapport à celle des races citées ci-avant.



RESULTATS

Les moyennes des pourcentages de la mobilité totale des spermatozoïdes des éjaculats ayant subis une conservation à l'état liquide sont représentées dans le tableau 3.13.

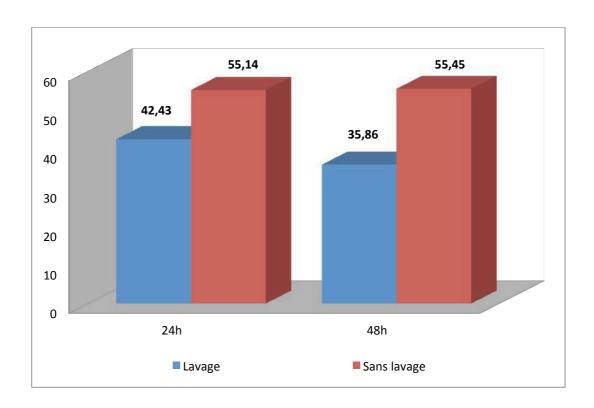
Tableau 3.13 : La moyenne des taux des spermatozoïdes mobiles en fonction du temps, du lavage et de la concentration du jaune d'œuf.

		Moyenne	Ecart type
A la réc	olte	77,71	2,63
2% Lavage	24h	42,43	9,86
2 70 Lavage	48h	35,86	13,95
2% Sans	24h	55,14	38,14
Lavage	48h	55,45	11,65
10% Lavage	24h	52,14	13,01
1070 Lavage	48h	39,57	13,10
10% Sans	24h	58,71	6,60
Lavage	48h	45,71	16,20
20% Lavage	24h	55,14	12,59
20 /0 Lavaye	48h	38,57	15,73
20% Sans	24h	61,29	5,44
Lavage	48h	44,71	19,70

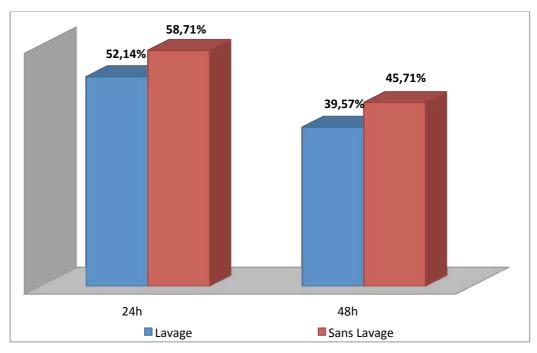
La moyenne du taux des spermatozoïdes mobiles des éjaculats dans les différents milieux après 24h de conservation à une température de 5°c varie entre $42,43 \pm 9,86\%$ pour les éjaculats lavés et dilués dans le diluer à 2% du jaune d'œuf et $61,29 \pm 5,44\%$ pour ceux non lavés et dilués dans un dilueur à 20% du jaune d'œuf.

Après 48h de conservation, la moyenne du taux des spermatozoïdes mobiles diminue d'avantage. Elle varie entre $35,86 \pm 13,95\%$ pour les éjaculats lavés et dilués dans le dilueur à 2% du jaune d'œuf et $55,45 \pm 11,65\%$ pour les éjaculats dilués sans lavage préalable dans le dilueur à 2% du jaune d'œuf.

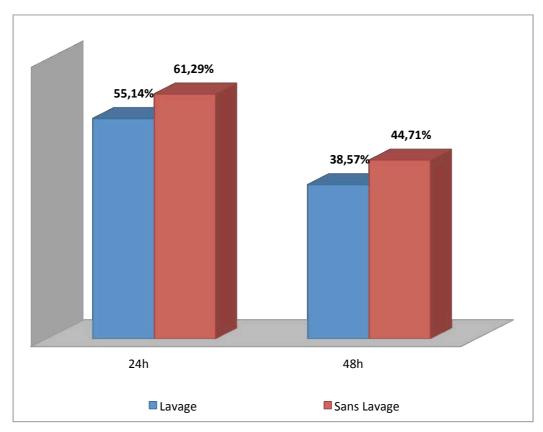
Il importe de signaler que pour les éjaculats non lavés, la moyenne du pourcentage des spermatozoïdes mobiles est plus élevée que celle des éjaculats ayant subis un lavage préalable à leur dilution. Cette constatation est valable pour tous les dilueurs aux différentes concentrations du jaune d'œuf (graphes 3.14; 3.15 et 3.16).



Graphe 3.14: Le taux des spermatozoïdes mobiles dans un milieu à base de jaune d'œuf à 2%.



Graphe 3.15 : Le taux des spermatozoïdes mobiles dans un milieu à base de jaune d'œuf à 10%



Graphe 3.16 : Le taux des spermatozoïdes mobiles dans un milieu à base de jaune d'œuf à 20%

Les analyses statistiques des résultats enregistrés en utilisant l'analyse de la variance par le logiciel R montrent que le temps de conservation et le lavage de la semence ont une influence significative (p<0,05) sur le taux des spermatozoïdes mobiles. Au contraire, la concentration du jaune d'œuf dans le dilueur n'a montré aucune influence significative (p>0,05) sur celui-là (tableau 5.2).

Tableau 3.14 : L'étude statistique des facteurs influençant la conservation de la semence.

Facteur	Valeur p
Temps	2.71e-12 ***
Concentration	0.12059
Lavage	0.00423 **
Temps × Concentration	0.63041
Temps × Lavage	0.18286
Concentration × Lavage	0.65136
Temps × Concentration × Lavage	0.19866

1. Le temps de conservation :

Le taux des spermatozoïdes mobiles diminuent en fonction du temps de conservation. Cette diminution est, pour tous les éjaculats dans les différents dilueurs, significative (p<0,05), même très hautement significative (p<0,0001), entre la récolte et 24 et 48heures de conservation, respectivement.

Bien que la diminution du taux des spermatozoïdes mobiles soit significative entre 24 et 48 heures de conservation (p<0,05), elle ne l'est pas pour les éjaculats dilués dans les milieux à 10% du jaune d'œuf et ceux lavés et dilués dans le milieu à 2% de ce dernier (p>0,05).

2. La concentration du jaune d'œuf :

L'étude statistique de l'influence de la concentration du jaune d'œuf dans les dilueurs n'a montré aucune influence significative de cette dernière sur le taux des spermatozoïdes mobiles (p>0,05).

3. Le lavage de la semence :

On rappelle que le taux des spermatozoïdes mobiles est plus élevé pour les éjaculats dilués sans être préalablement débarrassés de leur plasma séminal que pour ceux ayant subis un lavage spermatique. Cette différence est très hautement significative que ce soit après 24 (p=5.25e⁻⁰⁵) ou 48heures de conservation (p=0.000702).

DISCUSSION

La conservation de la semence à l'état liquide peut être une alternative de la congélation – réchauffement de la semence pour l'insémination artificielle car, la cryoconservation de celle-là est un processus très coûteux [158]. Mais, la courte durée de vie du sperme frais est une contrainte majeure à l'utilisation de l'IA dans les programmes d'amélioration génétique de l'élevage des caprins [151].

De nombreux dilueurs ont été produits, certains de façon empirique, pour protéger et maintenir la fertilité des spermatozoïdes durant l'examen et le stockage du sperme [170].

En général, un milieu de cryoconservation de spermatozoïdes du bouc comprend un cryoprotecteur non pénétrant (lait ou jaune d'œuf), un cryoprotecteur pénétrant (glycérol, éthylène glycol ou diméthylsulfoxyde), un tampon (Tris ou Test), un ou plusieurs sucres (glucose, lactose, le raffinose, le saccharose ou le tréhalose), les sels (citrate de sodium, acide citrique) et les antibiotiques (pénicilline, streptomycine) [81].

Les dilueurs les plus communément utilisés pour la cryoconservation de la semence du bouc sont à base de lait écrémé ou de Tris – glucose [236, 281]. Cependant, la durée de vie de la fertilisation des spermatozoïdes conservés dans un dilueur à base de lait ne dépasse pas 12heures [282].

Afin de protéger le sperme contre les chocs thermiques, le jaune d'œuf est couramment utilisé dans les dilueurs pour la cryoconservation du sperme de mammifères [283, 284].

Dans cette deuxième partie de l'étude, nous avons étudié les effets des diluants à base de Tris-fructose et jaune d'œuf sur la mobilité des spermatozoïdes du bouc de race Arbia conservés à l'état liquide à 5°C. De telles informations constitueront un guide utile pour la collecte et le traitement du sperme pour pratiquer l'insémination artificielle à grande échelle dans cette race.

1. Le temps de conservation :

Les résultats obtenus montrent que la mobilité des spermatozoïdes dilués dans un milieu à base de Tris et du jaune d'œuf diminue en fonction du temps de conservation et que cette diminution est plus marquée pour les éjaculats ayant subis, préalablement à leur dilution, un lavage du plasma séminal.

Chez différentes races caprines, plusieurs auteurs rapportent, semblablement à nos résultats, que le temps de conservation de la semence influe négativement sur la mobilité spermatique. CORTEEL et al. (1988) [109] ont observé une diminution drastique de la motilité des spermatozoïdes lorsque le sperme est conservé à basse température à n'importe quel moment de la saison de repos sexuel des boucs Alpins et Saanens.

Chez les boucs de races Murciano-Granadina [154] et Lubei [158], la mobilité et la viabilité spermatiques, de même que l'intégrité de l'acrosome diminuent en fonction du temps de conservation. Ces derniers auteurs montrent, qu'à la fois, la mobilité des spermatozoïdes et le pH séminal diminuent avec l'allongement du temps de conservation de la semence.

Des résultats similaires ont été rapportés par NGOULA et al., (2012) [151] et PAULENZ et al., (2005) [170], chez les boucs de races West African Dwarf et le bouc norvégien, respectivement.

2. La concentration du jaune d'œuf :

Dans notre étude, la concentration du jaune d'œuf dans le dilueur ne semble pas jouer un rôle, statistiquement, important sur la préservation des spermatozoïdes lors de leur conservation à basse température mais, il importe de signaler que la faible concentration du jaune d'œuf dans le dilueur (2%) semble

insuffisante pour protéger les spermatozoïdes surtout lorsque la semence subira une élimination du plasma séminal préalablement à sa dilution. Au contraire, l'inclusion d'une concentration élevée du jaune d'œuf dans les dilueurs permet aux spermatozoïdes de conserver une mobilité supérieure en particulier lorsque la semence est diluée telle quelle est, c'est-à-dire sans lavage spermatique.

L'incorporation d'une quantité élevée du jaune d'œuf dans le dilueur à base de citrate peut procurer une meilleure cryoprotection des spermatozoïdes, il agit sur la surface cellulaire en réparant les phospholipides perdus au cours du refroidissement ce qui peut empêcher la rupture cellulaire [285].

Les interactions nocives entre le plasma séminal et le jaune d'œuf ont été documentées pour la première fois par ROY (1957) [180]. Indépendamment de leur mécanisme d'action, l'activation de l'EYCE dans le dilueur est nocive pour la qualité des spermatozoïdes durant leur refroidissement et leur cryoconservation [184, 185].

Notre expérimentation montre qu'après 48 heures de conservation de la semence à 5°c, la mobilité spermatique est élevée pour les éjaculats dilués directement dans un dilueur à faible concentration du jaune d'œuf en comparaison avec les autres concentrations. Ceci peut s'expliquer par les interactions possibles entre les constituants de la semence et ceux du dilueur et que ces dernières peuvent être cumulatives.

Chez le bouc chinois de race Lubei blanc, l'adjonction du jaune d'œuf dans le dilueur de la semence augmente d'une manière significative la mobilité des spermatozoïdes bien qu'il ne maintienne pas un pH plus stable que lorsque la semence est diluée sans adjonction de jaune d'œuf [158].

JIMENEZ-RABADAN et al., (2012) [128] trouvent, chez le bouc de race Blanca-Celtibérica, la mobilité spermatique, après réchauffement de la semence diluée et congelée dans un dilueur à base de jaune d'œuf, est plus élevée pour les éjaculats obtenus en saison sexuelle que ceux obtenus en dehors de celle-ci, ce qui corrobore avec nos résultats.

Dans d'autres espèces animales, D'Alessandro et Matemucci (2003) [286] rapportent des résultats similaires à ceux obtenus dans notre expérimentation. Ils constatent que la saison de récolte exerce une influence sur la congélation de la semence du bélier Leccien avec des meilleures performances étant réalisées en été et en automne.

Il convient de noter que les résultats des estimations du pourcentage des spermatozoïdes mobiles après congélation / décongélation obtenus par différents auteurs ne sont pas uniformes, ce qui indique qu'un ensemble de facteurs, entre autres la nature du dilueur, peut affecter les propriétés du sperme des boucs en post-congélation [288].

NGOULA et al., (2012) [151] démontrent que la mobilité spermatique peut être préservée plus longtemps dans un dilueur à base de Tris (36 – 45h) que dans un dilueur à base de lait écrémé (5 – 17h). Des résultats similaires ont été rapportés par GHALSASI (2004) [288], SARIÖZKAN et al., (2010) [289], HAFEZ (1987) [82], BARIL et al. (1993) [57], DERIVAUX et ECTORS (1989) [114] et BALDASSARRE et KARATZAS (2004) [108].

3. Le lavage de la semence :

La méthode conventionnelle de surmonter les interactions nocives du plasma séminal avec le jaune d'œuf est de séparer le plasma séminal des spermatozoïdes par centrifugation. L'élimination du plasma séminal est un processus qui peut prendre du temps et qui peut endommager les cellules s'il est effectué de manière incorrecte. Cependant, si elle est faite correctement, l'élimination du plasma séminal peut être bénéfique [176]. Néanmoins, l'effet positif du lavage peut dépendre de la saison de l'année et du dilueur utilisé [153].

Dans notre étude, le lavage de la semence ne semble pas déterminant dans les résultats obtenus, en l'occurrence l'amélioration de la mobilité spermatique. Ceci peut s'expliquer par la période de l'étude qui correspond, sur le plan de la saisonnalité de reproduction, au début d'une période de transition entre saison sexuelle et saison de baisse de celle-ci, d'une part, et que les constituant

du plasma séminal ne semble pas influencer négativement en ce moment la mobilité spermatique, d'autre part.

Le plasma séminal contient différents facteurs qui interfèrent avec le maintien de la viabilité des spermatozoïdes et modulent leur fonction [290]. Comme la composition moléculaire du plasma séminal est très complexe et variable entre les espèces et les mâles, la structure des protéines séminales et leurs effets spécifiques sur les spermatozoïdes peuvent, également, varier [291].

Certaines protéines, en corrélation avec les paramètres de qualité du sperme, ont montré une variabilité saisonnière significative [292]. Ces changements pourraient être dus aux variations saisonnières des taux de gonadotrophines [293].

La supplémentation de la semence avec des protéines de plasma séminal de bouc obtenues durant la saison de non reproduction conduit à une détérioration de la qualité spermatique [290], tandis que celles collectées en saison sexuelle ont un effet positif sur la qualité spermatique après congélation / décongélation [294]. Les résultats de ces auteurs peuvent justifier les résultats obtenus dans notre étude.

Les sécrétions des glandes bulbo-uréthrales ont un effet très négatif sur la survie des spermatozoïdes épididymaires or que les sécrétions vésiculaires ont une action positive sur la mobilité des spermatozoïdes. NUNES et al., (1982) [182] suggèrent que l'effet négatif des sécrétions bulbo-uréthrales sur la motilité des spermatozoïdes est inhibé, partiellement, pendant la saison sexuelle par l'apport important des sécrétions vésiculaires, ce qui n'est pas le cas en saison de non reproduction.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par CABRERA et al., (2005) [153], qui montrent que la survie post-congélation des spermatozoïdes du bouc de race Canary cryoconservés durant l'hiver est significativement élevée lorsque la semence ne subissait pas un lavage préalable à sa conservation. Ces auteurs indiquent, également, que seulement, les spermatozoïdes dilués dans un dilueur à

1,5% de jaune d'œuf ont une survie post-congélation élevée, quand ceux-là étaient lavés avant leur dilution.

ANAND et al., (2017) [161] trouvent que, chez le bouc de race Barbari la viabilité et la mobilité des spermatozoïdes, de même que l'intégrité acrosomique, étaient significativement élevées après cryoconservation de la semence lorsque celle-ci est diluée dans un dilueur contenant 20% de jaune d'œuf. Ils concluent, aussi, que l'incorporation de 20% du jaune d'œuf en comparaison avec 3% de jaune d'œuf et 20% de jaune d'œuf avec lavage de la semence dans un dilueur à base de Tris confère aux spermatozoïdes une meilleure cryoprotection. Nos résultats sont fortement similaires à ceux rapportés par ces auteurs.

Chez les boucs de race Saanen, AZEREDO et al., (2001) [295] constatent que la moyenne de la mobilité des spermatozoïdes récoltés entre septembre et décembre et dilués dans un milieu contenant le jaune d'œuf est élevés dans les fractions spermatiques contenant le plasma séminal que ce soit à l'état frais ou post-congelé. Mais contrairement à nos résultats, la différence n'est pas significative.

Les effets du lavage spermatique sur l'amélioration de la mobilité spermatique ont été étudiés par différents auteurs. TULI et HOLTZ, (1994) [187] JIMENEZ-RABADAN et al., (2012) [128], FERREIRA et al., (2014) [149] et PETERSON et al., (2007) [296], rapportent des constations similaires à nos résultats. Le lavage de la semence n'améliore pas la qualité celle-ci après dilution et conservation dans un milieu contenant le jaune d'œuf (6,8 à 20%) chez les boucs de races Boer, Blanca-Celtibérica, Saanen et les boucs des centres d'insémination artificielle, respectivement.

Certaines recherches indiquent que l'élimination du plasma séminal est nécessaire pour maximiser la mobilité post-congélation et l'intégrité acrosomique du sperme de bouc.

Contrairement à nos résultats, ISLAM et al., (2006] [239] supposent que l'amélioration de la qualité de la semence lavée des boucs de race croisée (Beetal

× Assam Locale) durant une période de conservation supérieure à 72h peut être due à l'élimination de l'EYCE sécrétée par les glandes bulbo-urétrales.

BISPO et al., (2011) [297] concluent que l'incorporation d'une faible concentration du jaune d'œuf (2,5%) dans un dilueur à base d'EDTA-glucose améliore la cryoconservation de la semence du bouc (Saanen et Alpine) par rapport à une concentration élevée de jaune d'œuf (20%).

Chez les boucs de race Saanen [298] et Alpine [287] l'élimination du plasma séminal améliore la motilité spermatique après congélation de la semence diluée dans un dilueur contenant le jaune d'œuf pendant la saison ou en contre saison sexuelle [287, 298].

Le lavage spermatique a un effet significativement positif sur la motilité des spermatozoïdes des boucs de race Alpine, Saenen, Toggenburg et Nubienne mais, il n'y a aucune différence significative entre un ou deux lavages de la semence [299].

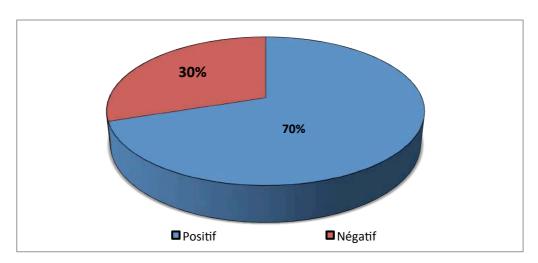


RESULTATS

Les résultats de cette troisième et dernière partie de l'étude sont présentés en deux points importants à savoir :

1. La synchronisation des chaleurs

Les 10 chèvres soumises au traitement d'induction et de synchronisation des chaleurs ont répondu favorablement à ce dernier en extériorisant, avec une intensité variable, les signes primaires et secondaires des chaleurs à savoir, la présence de la glaire cervicale, le frétillement de la queue, les mictions, le flairage du mâle et, essentiellement, l'acceptation du chevauchement par le mâle (graphe 3.17).



Graphe 3.17 : L'immobilisation des chèvres aux chevauchements du bouc après un traitement de synchronisation des chaleurs.

Il importe de signaler que le début de l'apparition des chaleurs, en se basant sur l'acceptation du chevauchement par le mâle, s'est étalé sur une période d'environ 20 heures car, cinq chèvres (N°: 1, 3, 4, 8 et 10) étaient immobiles à ce dernier entre 15 et 23 heures du retrait des éponges vaginales tandis que deux autres chèvres (N°: 6 et 7) ne le sont qu'environ 35 heures après le retrait de celles-là (tableau 3.15). Cependant, 71,4% des chèvres immobiles aux chevauchements du bouc le sont à environ 18h en moyenne du retrait des éponges vaginales.

Les trois chèvres restantes n'étaient, en aucun moment, immobiles aux chevauchements par le bouc. De ce fait, ces dernières et même les chèvres N°: 6 et 7 ont subi un examen vaginal en utilisant un spéculum à 24 heures du retrait des éponges. Cet examen révèle que ces chèvres avaient un col relâché et congestionné contenant une glaire cervicale plus au moins abondantes (Vaginoscopie).

Tableau 3.15 : Apparition des chaleurs et moment d'IA par rapport à celle-ci.

N° de chèvre	Apparition des chaleurs	Moment d'IA par rapport au début de chaleur
1	15h 49min	15h 30min
2	Vaginoscopie +	
2	Immobilisation -	
3	16h 35min	16h
4	16h 44min	16h
5	Vaginoscopie +	
5	Immobilisation -	
6	Vaginoscopie +	
	Immobilisation +	
7	Vaginoscopie +	
,	Immobilisation +	
8	12h 00min	20h 30min
9	Vaginoscopie +	
9	Immobilisation -	
10	13h 50min	18h 10min

2. L'insémination artificielle :

Les résultats de l'insémination artificielle des chèvres ont été suivis en déterminant :

2.1. Le retour en chaleur :

La détermination du taux de fertilité après la première insémination artificielle était réalisée en diagnostiquant un éventuel retour en chaleurs des chèvres inséminées entre le 18ème et le 24ème jour post-insémination. Cet examen a permis de détecter seulement une chèvre (n° 7) revenant en chaleur à 21j post-insémination. Par crainte de chaleur silencieuse, les autres chèvres ont subi, ce jour même, un examen vaginal en vue de rechercher une éventuelle ouverture du col ou une sécrétion de la glaire cervicale mais aucun de ces signes n'a été observé. Ceci nous permet de dire que 10% des chèvres ne sont pas gestantes.

2.2. Le dosage de la progestérone plasmatique :

Le dosage de la progestérone a montré que toutes les chèvres, à l'exception des chèvres n° : 7 et 10, avaient une progestéronémie supérieure à 5ng/ml. Cette dernière a variée entre 5,85 et 23,87ng/ml pour les chèvres n° 8 et 2, respectivement (tableau 3.16). Le dosage de la progestérone plasmatique nous permet de dire que 20% des chèvres sont confirmées non gestantes.

Tableau 3.16: La progestéronémie des chèvres à 21 post-insémination.

N° de la chèvre	Progestéronémie (ng/ml)
01	9,90
02	23,87
03	11,76
04	15,48
05	11,46
06	10,92
07	0,081
08	5,85
09	9,48
10	0,062

2.3. L'examen échographique :

Le diagnostic échographique de la gestation à 35j post-insémination nous a permis de diagnostiquer seulement deux chèvres gestantes (n° : 2 et 4), ce qui correspond à un taux de fertilité après une seule insémination de 20%. Ces deux chèvres avaient une progestéronémie élevée bien que la chèvre n°2 n'a en aucun moment manifestée une acceptation du chevauchement par le mâle le jour de la détection des chaleurs et son insémination était basée sur les signes secondaires de l'œstrus à savoir, l'ouverture et la congestion du col et la présence de la glaire cervicale. Le diagnostic échographique n'a montré aucun cas de pseudogestation.



Figure 3.3 : Gestation chez une chèvre à 35j.

DISCUSSION

Les résultats de la troisième partie de notre étude montrent que les chèvres de race Arbia répondent favorablement au traitement d'induction et de synchronisation des chaleurs, même en exprimant des signes de chaleur d'intensité variable par les chèvres en l'occurrence la présence de la glaire cervicale, le frétillement de la queue, les mictions, le flairage du mâle et, essentiellement, l'acceptation du chevauchement par le mâle. Ces derniers sont des indicateurs importants du début de l'œstrus quoique la chèvre les montre rarement aussi souvent que la vache. Bien qu'il soit possible de détecter des signes d'œstrus chez la chèvre comme décrit ci-dessus, mais une chèvre en chaleur peut ne pas présenter tous les signes en même temps [300].

AIT AMRANE et al., (2018) [301] trouvent, dans leur étude, que toutes les chèvres de la race Arbia (100%) ont répondu au traitement hormonal d'induction des chaleurs au printemps car, elles s'immobilisaient aux chevauchements des mâles. Les premières et les dernières chèvres venues en chaleur ont été détectées à 18 et 29 heures après le retrait des éponges vaginales, respectivement. Ceci s'accorde avec nos résultats en ce qui concerne le début des chaleurs par rapport au retrait des éponges vaginales mais, avec une baisse du taux des chèvres s'immobilisant aux chevauchements des boucs (70%).

Cette différence dans le taux de manifestation des chaleurs peut s'expliquer, d'une part, par la période durant laquelle les protocoles de synchronisation des chaleurs ont été instaurés. Notre étude s'est déroulée au mois de décembre qui se caractérise, dans la région de Tiaret, par une température trop basse. Ainsi, il est connu que le stress thermique évoque une

série de changements drastiques dans les fonctions biologiques des animaux, dont une diminution de l'efficacité et de l'utilisation des aliments, des perturbations du métabolisme de l'eau, des protéines, des équilibres énergétiques et minéraux, des réactions enzymatiques, des sécrétions hormonales et des métabolites sanguins [302, 303]. D'autre part, les chèvres utilisées dans notre expérimentation étaient maintenues dans une étable et recevant une alimentation fixe.

En outre, les différences dans la manifestation de l'œstrus et les taux de gestation suite à un traitement hormonal sont probablement dues, entre autre, aux conditions nutritionnelles des animaux au moment de l'application du traitement hormonal [304].

En saison sexuelle, RIAZ et al., (2012) [305] constatent que 71% des chèvres Beetal et Dwarf ayant subi un protocole Ovsynch ont montré un comportement d'æstrus, ce qui correspond aux résultats obtenus dans notre études.

Chez la race Arbia, la durée moyenne entre le retrait des éponges vaginales et le début des chaleurs semble plus courte par rapport aux résultats rapportés par différents auteurs utilisant différents protocoles de synchronisation des chaleurs.

L'eCG, normalement administré de 250 à 600 UI selon la race, la latitude, la production laitière (<3,5 kg contre ≥ 3,5 kg / jour), la parité de la femelle, la durée du post-partum et la saison, est la clé de l'induction de l'ovulation chez les chèvres anœstrus [306]. En absence d'une dose d'eCG recommandée pour la chèvre Arbia, il se peut que la dose utilisée, dans notre étude, soit à l'origine d'une croissance folliculaire rapide, et par conséquent, un court délai observé entre le retrait des éponges vaginales et l'apparition des chaleurs.

FONSECA et al., (2005) [167] rapportent que l'intervalle moyen entre le retrait des éponges vaginales et le début de l'apparition des chaleurs, chez la chèvre de race Toggenburg, est de $49.7 \pm 15.7h$. Pour les races caprines Beetal et Dwarf, cet intervalle est de $48.0 \pm 2.6h$ et $36.0 \pm 1.2h$ après une synchronisation

des chaleurs en utilisant l'Ovsynch et la double injection de $PGF_2\alpha$, respectivement [305].

MARTEMUCCI et D'ALESSANDRO (2011) [307] montrent qu'après un traitement de synchronisation des chaleurs des chèvres Ionica, en utilisant FGA + $PGF_2\alpha$ + eCG, avance l'apparition des chaleurs de 2h lorsqu'il est appliqué pendant 9j en comparaison avec 11j (26.4 ± 4.0h et 28.2 ± 4.9h, respectivement).

Le début des chaleurs après un traitement à base de MAP et eCG pendant 18j chez chèvres de race Damascus et 14j chez celles de race Boer est de 44.6h et 43.5h, respectivement [308, 309].

La plupart des chèvres perses poilues (Persian Downy Does) débutent leurs chaleurs 36h après un traitement de synchronisation des chaleurs à base de progestérone ou de progestagènes [310].

Chez les races Alpine et Saanen, des intervalles moins de 33h ont été rapportés [57]. Ainsi, il est à considéré que ces différences de réponse des chèvres aux traitements hormonaux sont en fonction des races, l'alimentation, la saison et la dose des gonadotropines utilisée. Ces différences peuvent, par conséquent, entraîner des moments d'insémination artificielle par rapport au retrait des éponges et des taux de conception, également, différents.

Le taux de conception, dans notre étude, est présumé à 80% à 21j de la date d'insémination artificielle (une chèvre est présumée gestante si elle a une progestéronémie supérieure à 1ng/ml après 18 à 22j de la saille naturelle ou de l'insémination artificielle [57, 205, 311]). Cependant, le diagnostic échographique de la gestation réalisé à 35j post-insémination artificielle nous a permis d'enregistrer un taux de conception, seulement, de 20%.

Cette différence du taux de conception peut s'expliquer, en partie, par le dosage de la progestérone positif qui démontre la présence, seulement, d'un corps jaune fonctionnel avec un degré d'exactitude de 85,7% et 100% pour le diagnostic des chèvres gestantes et non gestantes, respectivement [209]. En

outre, VANROOSE et al., (2000) [312] signalent que jusqu'à 10 – 30% des chèvres et brebis retenues comme gestantes ne le sont pas en réalité.

Dans cette présente étude, le taux de fertilité obtenu après synchronisation des chaleurs et insémination artificielle est inférieur à celui rapporté par plusieurs auteurs. Chez des chèvres laitières blanche bulgare, le taux de gestation est de 33,3% et 58,3% après insémination artificielle des chèvres en œstrus naturel et insémination artificielle à temps fixe sur chaleurs induites, respectivement [313].

RIAZ et al., (2012) [305] trouvent un taux de gestation, après saillie naturelle, de 60 et 78%, respectivement, pour les chèvres recevant un traitement Ovsynch et une doubles injection de $PGF_2\alpha$.

Le taux de conception des chèvres Anatoliennes noires [150], Perses poilues [310] et celles de race Florida [314] est supérieur à celui obtenu dans notre expérimentation. Il varie entre 63,2 et 73,7%, 53,3 et 83,3% et 35,3 et 54,8%, respectivement.

ARREBOLA et al., (2012) [314] signalent que le taux de gestation est plus faible en saison froide (automne et hiver) et que le dépôt de la semence au niveau cervical est associé à une faible probabilité de gestation qu'une insémination utérine. Ainsi, CORTEEL et al., (1988) [109] observent un effet significatif du lieu de dépôt de la semence sur le taux de fertilité, en faveur du dépôt de celle-là dans l'utérus (62,6%) par rapport à son dépôt dans le cervix (51,7%). Les résultats de ces auteurs semblent s'accorder avec ceux obtenus dans notre étude.

En présence d'une progestéronémie supérieure à 1ng/ml et une absence de pseudogestation, on peut dire que le faible taux de gestation obtenu dans notre étude peut être, en grande partie, attribué à un taux de mortalité embryonnaire relativement élevé. Cette dernière peut atteindre, parfois, des proportions importantes pouvant expliquer certains mauvais résultats de fertilité constatés après synchronisation des chaleurs et insémination artificielle [315].

Plusieurs facteurs, à la fois maternel et embryonnaire, ont été incriminés dans l'augmentation du risque des mortalités embryonnaires. Les embryons

pourraient être anormaux en raison de défauts héréditaires pendant la fécondation et la méiose ou il pourrait y avoir une relation asynchrone entre l'embryon et l'utérus. Cela pourrait être dû à un environnement maternel défavorable dû à des niveaux hormonaux déséquilibrés [316, 317, 318], à l'alimentation maternelle [319, 320] ou à l'âge [321].

Selon certains auteurs, la concentration en progestérone au cours des jours qui suivent l'insémination est plus élevée chez les animaux qui deviennent gestants que chez les autres [322]. Ceci s'accorde avec nos résultats car, les chèvres diagnostiquées gestantes à 35j avaient une progestéronémie plus élevée à 21j de l'insémination par rapport aux autres chèvres.

Le faible taux de fertilité obtenu dans notre étude peut, également, avoir une relation avec l'état des gamètes mâles car, nous n'avons examiné que la mobilité spermatique durant la durée de conservation des spermatozoïdes, d'une part, et que le taux de dilution de la semence peut ne pas être convenable avec une meilleure conservation des spermatozoïdes.

Après congélation – décongélation de la semence, il existe une diminution de la mobilité, la viabilité et la progression vers l'avant des spermatozoïdes dans l'appareil génital de la femelle [323].

La semence conservée n'a pas toujours une capacité de fertilisation élevée même si elle présente une bonne motilité [324]. En effet, les membranes des spermatozoïdes subissent un changement précoce pendant la conservation, de manière similaire à celui qui se produit pendant la capacitation et la réaction acrosomale [325]. Ces altérations peuvent ne pas affecter la motilité mais réduire la durée de vie, la capacité à interagir avec l'appareil reproducteur de la femelle et la fertilité des spermatozoïdes [326].

En plus, COURTENS et al., (1984) [327] démontrent que l'interaction des sécrétions des glandes bulbo-urétrales avec le dilueur peuvent induire une exocytose acrosomale spontanée de la semence fraîche du bouc.

Pendant la conservation, les spermatozoïdes perdent les enzymes antioxydantes, devenant, ainsi, plus sensibles au processus de peroxydation [328]. La production des espèces réactives oxygénées dans la semence a été associée à une perte de motilité des spermatozoïdes, à une diminution de la capacité de fusion spermatozoïde-ovocyte et à une perte de fertilité [329]. Ces modifications spermatiques peuvent être une explication du faible taux de conception obtenu, dans notre étude.

Chez la chèvre de race Arbia, en absence d'un moment bien précis de l'insémination artificielle par rapport à la fin d'un traitement de synchronisation des chaleurs, nous avons réalisé une seule insémination artificielle des chèvres à environ 20h du moment où la première chèvre s'immobilise au chevauchement du bouc. De ce fait, le moment choisi, dans notre étude pour inséminer les chèvres, peut ne pas être en faveur d'un taux de fertilité satisfaisant car, il peut y avoir un décalage entre insémination – pic de LH – ovulation.

Comme le zygote dérive des gamètes mâle et femelle, des erreurs dans la formation ou les fonctions de l'ovocyte et du spermatozoïde peuvent altérer la survie de l'embryon [330]. Chez la chèvre de race Sarde, l'augmentation de l'intervalle IA-ovulation peut être à l'origine de pertes embryonnaires et/ou d'un taux de fécondation plus faible [331].

BARIL et al., (1993) [57] indiquent que le moment optimal pour une seule insémination est de 45 ± 1h après le retrait des éponges. Lorsque deux inséminations seront programmées, elles auront lieu à 30 et 48h après le retrait des éponges vaginales. Toutefois, ces auteurs recommandent cet horaire, seulement, aux races pour lesquelles il a été testé et que pour les autres races, il est nécessaire de tester différents horaires d'insémination artificielle, afin de trouver le mieux adapté, ou bien de préciser le moment d'apparition de la décharge préovulatoire de LH.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les boucs de race Arbia vivant dans la région de Tiaret à une latitude de 35°15' N et une longitude de 1°26' E manifestent, au cours de l'année, d'importantes variations dans leur production spermatique. Cette dernière semble être influencée par la durée de la photopériode, car elle est élevée au cours des jours décroissants de l'été et de l'automne et faible durant les jours croissants de l'hiver et du printemps.

Les variations saisonnières de la production spermatique des boucs de race Arbia montrent, qu'au contraire du printemps, l'automne est la saison de la production d'une semence de bonne qualité. L'été et l'hiver sont caractérisés par des valeurs moyennes de celle-ci. Cependant, la production du sperme ne s'annule qu'en partie au printemps.

Les tests qualitatifs et quantitatifs de la semence, en l'occurrence, le volume de l'éjaculat, la mobilité et la viabilité des spermatozoïdes évoluent de la même manière au cours de l'année. Leurs valeurs sont élevées durant la fin de l'été et durant l'automne. Cependant, la concentration spermatique des boucs de race Arbia évolue inversement au volume de l'éjaculat et la mobilité et la viabilité spermatiques.

La semence des boucs de race Arbia, collectée en fin d'automne et le début de l'hiver, peut tolérer des concentrations élevées du jaune d'œuf dans les dilueurs à base de Tris – jaune d'œuf – acide citrique. La dilution et la conservation à l'état liquide de la semence des boucs dans ces milieux permettent de maintenir la mobilité des spermatozoïdes pendant 48h. L'élimination du plasma

séminal par lavage spermatique ne semble pas indispensable pour améliorer la conservation de la semence des boucs de race Arbia.

Les chèvres de race Arbia répondent favorablement au traitement de synchronisation des chaleurs en utilisant les éponges vaginales. Les chaleurs apparaissent en moyenne 20h après le retrait de celles-ci. Bien que l'intensité d'expression des signes des chaleurs varie d'une chèvre à l'autre, l'insémination artificielle des chèvres ne s'immobilisant pas aux chevauchements des boucs peut donner suite à une gestation.

L'insémination des chèvres de race Arbia avec une semence diluée dans un milieu à base de Tris – jaune d'œuf – acide citrique et conservée à une température de 5°c donnent des taux de conception encourageant pouvant être améliorés dans l'avenir.

Développer l'élevage caprin, en Algérie, nécessite certaines mesures d'accompagnement indispensables, car organiser son système d'élevage suppose mettre en évidence une politique s'incarnant dans une perspective de durabilité. De ce fait, nous prévoyons les recommandations suivant :

- Intensifier la récolte de la semence des boucs à la fin de l'été et à l'automne.
- Soumettre les boucs aux manipulations photopériodiques afin d'augmenter la production de la semence au printemps,
- Vérifier la qualité de la semence au cours de sa conservation en examinant plusieurs paramètres qualitatifs tels que l'intégrité de la membrane cytoplasmique et de l'acrosome, le sexage des paillettes d'inséminations artificielles en utilisant la cytométrie en flux,
- Conserver la semence récoltée des boucs à cours et à long terme pour son utilisation dans les biotechnologies de la reproduction à savoir, l'IA et la fécondation in vitro,
- Déterminer le moment propice à l'insémination artificielle des chèvres de race Arbia en déterminant le pic préovulatoire de LH,
- Pratiquer la superovulation afin de permettre la réalisation de la récolte des ovocytes,

- Mettre un plan de travail raisonné en matière de valorisation, d'amélioration et de sélection génétique pour la population caprine de race Arbia.

Néanmoins, eu égard aux spécificités de la chèvre Arbia en matière de rusticité et de prolificité, on pourra, certainement, atteindre des résultats encourageants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES

- 1. Kardjadj, M. and Luka, P.D., "Current Situation of Milk and Red Meat Industry in Algeria", J Nutr Food Sci, V. 6, n°4, (2016), 516, 3pages. doi: 10.4172/2155-9600.1000516
- Moula, N., Ait Kaki, A., Touazi. L., Farnir, F., Leroy, P. and Antoine-Moussiaux, N., "Goat breeding in the rural district of Chemini (Algeria)", Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 16, (2016): 40 48.
- Ruiz, F.A., Castel, J.M., Mena, Y., Camúñez, J. and González-Redondo, P., "Application of technico-economic analysis for characterizing, making diagnoses and improving pastoral dairy goat systems in Andalusia (Spain)", Small Ruminant Research, n°77, (2008), 208 – 220.
- Djouza, L. "Caractéristiques phénotypiques de la chèvre «Arbia» élevée dans le Sud-Est Algérien". REDVET Rev. Electrón. vet., N° 5, Vol.19, (2018), 17p.
- 5. Holtz, W., "Recent development in assisted reproduction in goat", Small ruminant research, V. 60, issues 1-2, (2005), 95 110.
- 6. Sahraoui, H., Madani, T. et Kermache, F., "Le développement d'une filière lait caprin en région de montagne : un atout pour un développement régional durable en Algérie", Options Méditerranéennes, A, (2016), 115.

- 7. Hammoudi, S. M., Aït-Amrane, A., Belhamiti, T. B., Khiati, B., Niar, A. and Guetarni D., "Seasonal variations of sexual activity of local bucks in western Algeria", African Journal of Biotechnology V. 9, n° 3, (2010), 362 368.
- Ait Amrane, A., Hammoudi, S. M., Belhamiti, B. T., Selles, S. M. A., Benia, A. R. and Kaidi R., "Seasonal variation of plasma testosterone levels in Algerian male Arabia goats", African Journal of Biotechnology, Vol. 12, n° 48, (2013), 6785 6790.
- Ivanova, M., Gradinarska, D. and Daskalova, D., "Reproductive biotechnology in animal husbandry: Current status and future prospects", Biotechnology in Animal Husbandry, V. 31, n° 4, (2015), 467 – 480.
- 10. Cross, P.C. et Mercer, K.L., "Ultrastructure cellulaire et tissulaire. Approche fonctionnelle", (1993), Traduit à l'anglais par Demef J.F et Hammont S, 1995.
- 11. Thibault, C., Beaumont, A. et Levasseur, M-C, "La reproduction des vertébrés", Edition MASSON, Paris, (1998).
- 12. Nathalie, J. et Rodolfo R., "La cellule de sertoli, une cellule endocrine", Médecine / sciences, 11, (1995), 537 546.
- 13. Dadoune, J-P. et Demoulin, A., 2001. "Structure et fonction du testicule" dans "La reproduction chez mammifères et l'homme" de C. THIBAULT, Levasseur édition marketing, (2001), 256 288.
- 14. Eurell, J.A. and Frappier, B.L., "Textbook of veterinary histology", Sixth edition, <u>Blackwell Publishing</u>, (2006), 416pages, ISBN: 978-0-781-74148-4
- 15. Russell, L.D. and Peterson, R.N., "Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals", J Reprod Fertil, 70, (1984), 635 – 364.

- 16. Albert, L.M. and Jean, F., "Biologie du développement", 5^{éme} édition de l'abrégé, (2001).
- 17. Dadoune, J-P., "Histology", Médecine-Science. Flammarion, (1998). P462.
- 18. Griswold, M.D., 1998. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. Seminars in cell and Developmental Biology, V.9, (1998), 411 416.
- 19. Benahmed, M., Mauduit, C. and Hamamah S., "Spermatogenèse et facteurs de croissance", XVIe Journées de Technologies Avancées, (2000).
- 20. Jegou, B., "The Sertoli cell", Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism, Vol.6,No.2, (April 1992), ISBN: 0-7020-1619-5.
- 21. Jégou, B. and Chemineau, P., "5α-dihydrotestosterone-specific binding proteins in the plasma and reproductive tract of the male goat", Journal of Steroid Biochemistry, V. 9, (1978), Abstract 303, p 874.
- 22. Holmes, S.D., Spotts, G. and Smith, R.G., "Rat Sertoli cells secrete a growth factor that blocks epidermal growth factor (EGF) binding to its receptor", Journal of Biological Chemistry, 261, (1986), 4076 4080.
- 23. Skinner, M.K., Takacs, K. and Coffey, R.J., "Cellular localization of transforming growth factor-alpha gene expression and action in the seminiferous tubule: peritubular cell-Sertoli cell interactions", Endocrinology 124, (1989), 845 854.
- 24. Morera, A.M., Benahmed, M., Cochet, C., Chauvin, M.A., Chambaz, E. and Revol, A., "A TGFβ-like peptide is a possible intratesticular modulator of steroidogenesis", In <u>Orgebin-Crist MC & Danzo BJ (eds) Cell Biology of the</u> Testis and Epididymis, (1987), 494 496, New York: Academic Science.

- 25. Van Dissel-Emiliani, F.M., Grootenhuis, A.J., de Jong, F.H. and de Rooij, D.G., "Inhibin reduces spermatogonial numbers in testes of adult mice and chinese hamsters", Endocrinology, 125, (1989), 1899 1903.
- 26. Courot, M., Hochereau-de-Reviers, M.T. and Ortavant, R., "Spermatogenesis", In: Johnson A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. (Eds), The Testis, V. 1, (1970), Academic Press, New York, London, 339 432.
- 27. Russell, L.D., Ettlin, R.A., Sinha Hikim, A.P. and Clegg, E.D., "Histological and histopathological evaluation of the testis", Cache River Press, Clearwater, (1990), Florida, USA.
- 28. De Krester, D.M., Loveland, K.L., Meinhardt, A., Simorangkir, D. and Wreford, N., "Spermatogenesis", Hum Reprod, 13, (1998), 1 8.
- 29. George, G., "Cours d'histologie", Cours du PCEM, (1996).
- 30. Phillips, B.T., Gassei, K. and Orwig, K.E., "Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis", Phil. Trans. R. Soc. B, 365, (2010), 1663 1678.
- 31. Hess, R.A. and Franca, L.R., "Spermatogenesis and Cycle of the Seminiferous Epithelium", In: Molecular Mechanisms in Spermatogenesis, edited by: Yang Cheng C. Center for Biomedical Research, The Population Council, New York, New York, USA, (2008). ISBN 978-0-387-79990-2
- 32. Vaissaire, J.P., "Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoires", MALOINE S.A. EDITEUR, (1977), 457p.
- 33. Yang Cheng, C. and Mruk, D.D., "The biology of spermatogenesis: the past, present and future", Phil. Trans. R. Soc. B, 365, (2010), 1459 1463.
- 34. Gayrard, V., "Physiologie de la reproduction des mammifères domestiques", Ecole Nationale Vétérinaire, (2015), INP, Toulouse.

- 35. Holdcraft, R.W. and Braun, R.E., "Hormonal regulation of spermatogenesis", international journal of andrology, 27, (2004), 335 342.
- 36. Suresh, R. and Gerhard, F.W., "Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/ testosterone", Spermatogenesis, V.4, n°2, (2014), 15pages.
- 37. Rannikki, A. S., Zhang, F. P. and Huhtaniemi, I.T., "Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in the rat testis and ovary", Molecular and Cellular Endocrinology, 107 (2), (1995), 199 208.
- 38. Eblen, A., Bao, S., Lei, Z.M., Nakajima, S.T. and Rao, C.V., "The presence of functional luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors in human sperm", Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 86 (6), (2001) 2643 2648.
- 39. Lei, Z. M., Mishra, S., Zou, W., Xu, B., Foltz, M., Li, X. and Rao, C.V. "Targeted disruption of luteinizing hormone/ human chorionic gonadotropin receptor gene", Molecular Endocrinology, 15 (1), (2001), 184 200.
- 40. Ousmane, T., "Evaluation de la fonction sexuelle des taureaux Azawaks", GIR et GIRO Taudo au Burkina Faso, (2003), 56p.
- 41. Hassane, O., "Essais de congélation de la semence de zébu Azawak". Production animale. Memoire : Ingenieur des techniques agricoles, Niamey, Faculté d'agronomie, Université Abdou moumouni, (2007), 37p.
- 42. Thibault, C., "La fécondation". Masson, V. 1, (1975), 20.
- 43. Altman, P.L, and Dittmer Katz, D., "Growth including reproduction and morphological development", Biol. Handbooks, Fed. Am. Soc. Exp. Biol. Washington, V. 1, (1962), 608p.

- 44. Drion, P.V., Beckers, J.F. and Ectors, F, "Physiologie de la reproduction". Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire, (1993).
- 45. Barone, R., "Anatomie comparée des mammifères domestiques", Tome 3, splanchnologie, Fascicule 2, appareil urogénital, (1978). 951p.
- 46. Pierre, V., "L'acrosome du spermatozoïde: de sa biogenèse à son rôle physiologique", Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Grenoble, (2013).
- 47.Mc. Donald, M., "Veterinary endocrinology and reproduction", Lea and Febiger, edition 3rd, (1980), 560 p.
- 48. Thimonier, J., "Contrôle photopériodique de l'activité ovulatoire chez la brebis. Existence de rythme endogène" Thèse doctorat, Science de la vie. Université de Tours, (1989), 112p.
- 49. Ortavant, R.,"Photoperiodic regulation of reproduction in the sheep", In: Management of reproduction in sheep and goat. Symposium, Madison, (24 25 july 1977), 58 71.
- 50. Laubser, P.P., Van Niekerk, C.H. and Botha, L.J.J., "Seasonal changes in sexual activity and sperm quality in the Angora ram. 1. Libido and male hormone concentration", S. Afr. J. Anim. Sci., 13, (1982), 131 133.
- 51. Branca, A. and Cappai, P., "Osservacioni sul controllo della riproduzione nelle specie caprina: esperience effectuate in Sardegna", Symp. Intl. La riproduzione nei piccolo ruminate: basi fisiologiche e aspetti applicative, Varese, (1989), 115 129.
- 52. Corteel, J.M., "Collection, processing and artificial insemination of goat semen", In « <u>Goat production</u> » de Gall C., Academic press, (1981).

- 53. Lincoln, G.A., "Photoperiodic control of seasonal breeding in the ram : participation of the cranial sympathetic nervous system", J. Endocr., V. 82, (1979), 135 147.
- 54. Colas, G., Guerin, Y., Claner, V. and Solari, A., "Influence de la durée d'éclairement sur la production et la fécondance des spermatozoïdes chez les béliers adultes Île de France", Reprod. Nutr. Develop. V. 25, n°1, (1985), 101 111.
- 55. Leboeuf, B., Restall, B. et Salamoun, S., "Production et conservation de la semence de bouc pour l'insémination artificielle", INRA Prod. Anim., V.16, n°2, (2003), 91 99.
- 56. Chemineau, P., Cognié, Y. et Thimonier, J., "La maîtrise de la reproduction des mammifère domestiques" dans « <u>La reproduction chez les mammifères</u> et l'homme » Ed : Thibault C, Levaseur M.C, Edition INRA Ellipses, (2001).
- 57. Baril, G., Chemineau, P., Cognié, Y., Guérin, Y., Lebœuf, B., Orgeur, P. et Vallet, J-C., "Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins", Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome, (1993). ISBN 92-5-202808-0
- 58. Arendt, J., "Melatonin and the Mammalian Pineal Gland", Chapman & Hall, London, (1995), 331 p.
- 59. Bartness, T.J., Powers, J.B., Hastings, M.H., Bittman, E.L. and Goldman B.D., "The timed infusion paradigm for melatonin delivery: what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses?", J. Pineal Res. 15, (1993), 161 190.
- 60. Chemineau, P., Malpaux, B., Delgadillo, J.A., Guérin, Y., Ravault, J.P., Thimonier, J. and Pelletier, J., "Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin", Anim. Reprod. Sci., 30, (1992a), 157 184.

- 61. Chemineau, P., "Environment and animal reproduction". World Anim. Rev., 77, (1993), 2 14.
- 62. Chemineau, P., Malpaux, В., Delgadillo, J.A. et Leboeuf, В.. "Photopériodisme et reproduction chez les caprins", INRA. neuroendocrinologie sexuelle, physiologie de la reproduction, 37380 Nouzilly, France, (1998).
- 63. Vasantha, I., "Physiology of Seasonal Breeding: A Review", J Veterinar Sci Techno, V.7, n°3, (2016), 4pages.
- 64. Brice, G., "Le photopériodisme en production caprine", Groupe reproduction caprine, (2003).
- 65. Chemineau, P., Malpaux, B., Guérin, Y., Maurice, F., Daveau, A. et Pelletier, J., "Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins". Ann. Zootech., 41, (1992b), 247 261.
- 66. Chemineau, P., Malpaux, B., Pelletier, J., Leboeuf, B., Delgadillo, J.A., Deletang, F., Pobel, T. et Brice, G., "Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins", INRA Prod. Anim., V. 9, n° 1, (1996), 45 60.
- 67. Smith, J.T., "The role of kisspeptin and gonadotropin inhibitory hormone in the seasonal regulation of reproduction in sheep", Domest Anim Endocrinol., V. 43, n° 2, (2012), 75 84.
- 68. Cameron, J., "Guide de référence sur la photopériode. Paramètres de succès pour l'utilisation des nouveaux programmes lumineux AAC type CC4". Centre d'expertise en production ovine du Québec, (2008).
- 69. Orsini, M.J., Klein, M.A., Beavers, M.P., Connolly, P.J., Middleton, S.A. and Mayo, K.H., "Metastin (KiSS-1) mimetics identified from peptide structure-

- activity relationship-derived pharmacophores and directed small molecule database screening", J Med Chem, 50, (2007), 462 471.
- 70. Gutierrez-Pascual, E., Leprince, J., Martinez-Fuentes, A.J., Segalas-Milazzo, I., Pineda, R., Roa, J., Duran-Prado, M., Guilhaudis, L., Desperrois, E., Lebreton, A., Pinilla, L., Tonon, M.C., Malagon, M.M., Vaudry, H., Tena-Sempere, M. and Castano, J.P., "In vivo and in vitro structureactivity relationships and structural conformation of Kisspeptin-10-related peptides", Mol Pharmacol, V. 76, (2009), 58 67.
- 71. Oakley, A.E., Clifton, D.K. and Steiner, R.A., "Kisspeptin signaling in the brain", Endocr Rev, V. 30, (2009), 713 743.
- 72. Smith, J.T., Coolen, L.M., Kriegsfeld, L.J., Sari, I.P., Jaafarzadehshirazi, M.R., Maltby, M., Bateman, K., Goodman, R.L., Tilbrook, A.J., Ubuka, T., Bentley, G.E., Clarke, I.J. and Lehman, M.N., "Variation in kisspeptin and RFamide-related peptide (RFRP) expression and terminal connections to gonadotropin-releasing hormone neurons in the brain: a novel medium for seasonal breeding in the sheep", Endocrinology, V. 149, (2008), 5770 5782.
- 73. Hashizume, T., Saito, H., Sawada, T., Yaegashi, T., Ezzat, A.A., Sawai, K. and Yamashita, T., "Characteristics of stimulation of gonadotropin secretion by kisspeptin-10 in female goats". Anim Reprod Sci, 118, (2010), 37 41.
- 74. Ubuka, T., Lai, H., Kitani, M., Suzuuchi, A., Pham, V., Cadigan, P.A., Wang, A., Chowdhury, V.S., Tsutsui, K. and Bentley, G.E., "Gonadotropin-inhibitory hormone identification, cDNA cloning, and distribution in rhesus macaque brain", The Journal of Comparative Neurology, 517, (2009), 841 855.
- 75. Delgadillo, J.A., De Santiago-Miramontes, M.A. and Carrillo, E., "Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions", Animal, V. 1, n° 6, (2007), 858 864.

- 76. Pacheco, A., Oliveira, A.F.M., Quirino, C.R. and Landim, A.V., "Características seminais de carneiros da raça Santa Inês na prépuberdade, puberdade e na pós-puberdade", Ars Veterinária, V. 25, n° 2, (2009), 90 99.
- 77. Nuti, L. C., "Goat semen collection and processing". www.ansci.cornell.edu, (2002).3 7.
- 78. Meyer, C., Faye, B., Karembe, H., Poivey, J-P., Deletang, F., Hivorel, P., Benkidane, A., Berrada, J., Mohammedi, D and, Gharzaouani, S. Guide de l'élevage du mouton méditerranéen et tropical. Cirad-emvt. Ceva Santé Animale. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger. (2004). 154P.
- 79. Souza, L.E.B., Cruz, J.F., Neto, M.R.T., Nunes, R.C.S. and Cruz, M.H.C., "Puberty and sexual maturity in Anglo-Nubian male goats raised in semi-intensive System". R. Bras. Zootec., V. 40, n° 7, (2011), 1533 1539.
- 80. Bhakat, M., Mohanty, T.K., Raina, V.S., Gupta, A.K., Khan, H.M., Mahapatra, R.K. and Sarkar, M., "Effect of age and season on semen quality parameters in Sahiwal bulls", Trop Anim Health Prod, 43, (2011), 1161 1168.
- 81. Maxwell, W.M.C. and Evans, G., "Salamon's artificial insemination of sheep and goats", Butterworths, Sydney, Australia, (1987), 102p.
- 82. Hafez, E.S.E., "Reproduction in farm animals" 1vol. Lea-Febiger, 5ème éd., (1987), 633p.
- 83. Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W. and Scaramuzzi, R.J., "The "female effect" in Australian Cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of buck to oestrous does", J. Reprod. Fertil., 100, (1994a), 521 531.

- 84. Nicolino, M. and Forest, M.G., "La puberté », In <u>Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), La reproduction chez les mammifères et l'Homme</u>, Coédition INRA-Ellipses, (2001), 655 679.
- 85. Counis, R., Combarnous, Y., Chabot, V. and Taragnat, C., "Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires". In Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), La reproduction chez les mammifères et l'Homme, Coédition INRA-Ellipses, (2001), 65 84.
- 86. Chemineau, P., Baril, G., Leboeuf, B., Maurel, M.C., Roy, F., Pellicer-Rubio, M., Malpaux, B. and Cognié Y., "Implications des progrès récents en physiologie de la reproduction pour la conduite de la reproduction dans l'espèce caprine", INRA Prod. Anim., V. 12, (1999), 135 146.
- 87. Blache, D., Zhang, S. and Martin, G.B., "Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep", Reprod. Nutr. Dev. V. 46, (2006), 379 390.
- 88. Moschos, S., Chan, J.L. and Mantzoros, C.S., "Leptin and reproduction: a review", Fertil Steril., V. 77, n° 3, (2002), 433 444.
- 89. Caprio, M., Fabbrini, E., Isidori, A.M., Aversa, A. and Fabbri, A., "Leptin in reproduction". TRENDS in Endocrinology & Metabolism, V.12, n° 2, (2001), 65 72.
- 90. Toe, F., Lahlou-Kassi, A. and Mukasa-Mugerwa, E., "Semen characteristics of Ile-de-France rams of different age and physical condition", Theriogenology, V. 42, n° 2, (1994), 321 326.
- 91. Ramos, C.F. and Zamoner, A., "Thyroid hormone and leptin in the testis", Front. Endocrinol., V. 5 (198), (2014), 12p.
- 92. Rouger, Y., "Etude des interactions de l'environnement et des hormones sexuelles dans la régulation du comportement sexuel de bovidae", Thèse de doctorat science Naturelle, Université de Rennes, (1974), 197p

- 93. Ungerfeld, R., Giriboni, J., Freitas-de-Melo, A. and Lacuesta L., "Homosexual behavior in male goats is more frequent during breeding season and in bucks isolated from females", Hormones and Behavior, V. 65, (2014), 516 520.
- 94. Orgueur, P., Mimouni, P. and Signoret J.P, "The influence of rearing conditions on the social relation ship of young male goats", (Capra hircus). Apll. Anim. Behav. Sci., V. 27, (1990), 105 113.
- 95. Chemineau, P. and Xandé A., "Reproductive efficiency of creole meat goats permanently kept with males. Relationship to a tropical environment", Tropical Animal Production, V. 7, (1982), 98 104.
- 96. Smith, J.F, "The effect of temperature on characteristics of semen ram", Austr. J. Agri. Rev., V. 22, (1970), 481 490.
- 97. Dutt, R.H. and Hamm. P.T., "Effect of exposure to high environmental temperature and shearing on semen production of rams in winter", J. Anim. Sci. V. 16, (1975), 329 334.
- 98. Chemineau, P., Malpaux, J., Delgadillo, J.A., Guerin, Y. and Thimonier J., "Effet de la lumière et de la température sur la reproduction des petits ruminants" journée de l'association pour l'étude de la reproduction animale, (1990).
- 99. Colas, G., Guerin, Y., Lemaire, Y., Montassier, Y. and Despierres J., "Variations saisonnières du diamètre testiculaire et de la morphologie des spermatozoïdes chez le bélier Vandéen et chez le bélier Texel", Reprod. Nutr. Develop., V. 26, n° 3, (1986), 863 875.
- 100. Balthazart, J. and Fabre-Nys, C., "Le comportement sexuel", in <u>Thibault C.</u> and Levasseur M.-C. (Eds). La reproduction chez les mammifères et <u>I'Homme</u>. INRA Ellipse, 2 (27), (2001), 611 637.

- 101. Ritar, A.J., "Seasonal changes in LH, androgens and testes in the male Angora goat", Theriogenology, V. 36, (1991), 959 972.
- 102. Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J. and Martin, G.B., "Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats", Journal of Reproduction and Fertility, V. 102, (1994b), 351 – 360.
- 103. Zamiri, M.J. and Heidari, A.H., "Reproductive characteristics of Rayini male goats of Kerman province in Iran", Animal Reproduction Science, V. 96, (2006), 176 – 185.
- 104. Ramadan, T.A., Taha, T.A., Samak, M.A. and Hassan, A., "Effectiveness of exposure to longday followed by melatonin treatment on semen characteristics of Damascus male goats during breeding and non-breeding seasons", Theriogenology, V. 71, (2009), 458 468.
- 105. Chang-yong, C., Jung-Gon, K., Sang-Rae, C., Dong-Soo, S., Young-Keun, K., Balasubramanian, S., Sang-Yong, C. and Gyu-Jin, R., "Influence of season, extenders, slow and rapid freezing on seminal characters in Korean native bucks", Reproduction in Domestic Animals, V. 41, (2006), 55 60.
- 106. Nicholas, F.W., "Genetic improvements through reproductive technology", Anim. Reprod. Sci., V. 42, (1996), 205 214.
- 107. Vivanco-Mackie, H.W., "Transferencia embrionario en ovinos y caprinos" dans <u>Palma, G., (ed)., Biotechnology of reproduction</u>. Edicione INTA, Buenos-Aires, (2001).
- 108. Baldassare, H. and Karatzas, C.N., "Advanced assisted reproduction technology (ART) in goats", Animal reproduction science, V. 82 83, (2004), 255 266.

- 109. Corteel, J.M., Leboeuf, B. and Baril, G., "Artificial breeding of adult goat and kids induced with hormone to ovulate outside the breeding season", Small Rum. Res., V. 1, (1988), 19 35.
- 110. Chemineau, P. and Cognié, Y., "Training manual on artificial insemination in sheep and goat", FAO, Rome, Italy, (1991).
- 111. Guillouet, P., Tribout, T. et coll., "Analyse de facteurs de production spermatique chez les mammifères", Journée scientifique de la physio, production et conservation de la semence pour l'insémination artificielle, (novembre, 2000).
- 112. Djabakou, K., Fimmen, H.O. and Battger, M., "Examination of bull semen at Creat", Trypanotolerance and animal production, Aventonou (Togo), V. 3, (1984), 40 44.
- 113. Meyer, C.Y., "Rapport annuel 1990". Bouaké (Côte d'ivoire), institut des savanes, (1990), 11p.
- 114. Derivaux, F. and Ectors, J., "Reproduction chez les animaux domestiques", 3^{ème} édition cabay louvain-la-neuve, Belgique, (1986).
- 115. Leboeuf, B., Restall, B. and Salamon, S., "Production and storage of goat semen for artificial insemination", Anim. Reprod. Sci., V. 62, (2000), 113 141.
- 116. Wulster-Radcliffe, M.C., Williams, M.A., Stellflug, J.N. and Lewis, G.S., "Technical note: artificial vagina vs. a vaginal collection vial for collecting semen from rams", J. Anim. Sci., V. 79, n° 12, (2001), 2964 2967.
- 117. Greyling, J.P.C. and Gobbelaar, J.A.N., "Seasonal variation in semen quality of Boer and Angora goat rams using different collection techniques", S. Afr. J. Anim. Sci., V. 13, (1983), 250 252.
- 118. Haenlein, G.F.W., Caccese, R., Smith, M.C., Meckley, P.E. and McDowell, R.E., "All about artificial insemination". In national goat handbook,

- COLLECTION: GOAT HANDBOOK, university of Maryland, United States, (1992), DOCN 000000034
- 119. Hanzen, C., "Propédeutique de l'appareil reproducteur mâle et examen du sperme des ruminants, équidés et porc", Cours de reproduction, université de Liège, Belgique, (2006).
- 120. Hanzen, C., "Propédeutique de l'appareil reproducteur mâle et examen du sperme des ruminants", Faculté de médecine vétérinaire Service de Thériogénologie des animaux de production, (2009).
- 121. de Montigny, G., "Insémination artificielle. De réel progrès", <u>La chèvre</u>, <u>SPEOC (éd)</u>, 159, (1987), 16 18.
- 122. Marco-Jiménez, F., Vincente, J.S. and Vludes-De-Castro, M.P., "Seminal Plasma Composition from Ejaculates Collected by Artificial Vagina and Electro-Ejaculation in Guirra Ram", Reproduction in Domestic Animals, V. 43, (2008), 403 408.
- 123. Santiago-Moreno, J., Coloma, M.A., Dorado, J., Pulido-Pastor, A., Gómez-Guillamon, F., Salas-Vega, R., Gómez-Brunet, A. and López-Sebastián, A., "Cryopreservation of Spanish ibex (Capra pyrenaica) sperm obtained by electroejaculation outsider the rutting season", Theriogenology, V. 71, (2009), 1253 1260.
- 124. Goelz, J.L, "L'examen de reproduction du bélier", Sheep latter international, V. 19, n° 5, (1999).
- 125. Stafford, K. J., "Electroejaculation; a welfare issue", Surveillance, V. 22, (1995), 15 17.
- 126. Palmer, C.W., "Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bulls", Theriogenology, V. 64, n° 3, (2005), 469 479.

- 127. Gomes, W.R., "Artificial insemination", Extrait de <u>Cole H.H.</u> «Reproduction in domestic animals». 3^{ème} édition, (1977), 257 261.
- 128. Jiménez-Rabadán, P., Ramón, M., García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., del Olmo, A., Pérez-Guzmán, M.D., Bisbal, A., Fernández-Santos, M.R., Garde, J.J. and Soler, A.J., "Effect of semen collection method (artificial vagina vs. electroejaculation), extender and centrifugation on post-thaw sperm quality of Blanca-Celtibérica buck ejaculates". Animal Reproduction Science, V. 132, (2012), 88 95.
- 129. Cameron, R.D.A., "Semen Collection and Evaluation in The Ram. The Effect of Method of Stimulation on Response to Electroejaculation", Australian Veterinary Journal, Vol. 53, (1977), 380 383.
- 130. Carter, P.D., Hamilton, P.A. and Duffy, J.H. "Electro Ejaculation in Bucks", Australian Veterinary Journal, V. 67, (1990), 91 93.
- 131. Orihuela, A., Aguire, V., Hernandez, C., Flores-Perez, I. and Vazquez, R., "Breaking down the Effect of Electro-Ejaculation on the Serum Cortisol Response, Heart and Respiratory Rate in Hair Sheep (Ovis aries)", Journal of Animal Veterinary Advances, V. 8, (2009), 1969 – 1972.
- 132. http://www.profetura.com/tools/. PROFETURA, Alliance for Wildlife Conservation Breeding.
- 133. Whitlock, B.K., Coffman, E.A., Coetzee, J.F. and Daniel, J.A., "Electroejaculation increased vocalization and plasma concentrations of cortisol and progesterone, but not substance P, in beef bulls", Theriogenology, V. 78, (2012), 737 746.
- 134. Bopape, M.A., Lehloenya, K.C., Chokoe, T.C. and Nedambale, T.L., "Comparison of Electro Ejaculator and Artificial Vagina on Semen Collection from South African Indigenous Goat Following Assessment by Computer Aided Sperm Analysis", Open Journal of Animal Sciences, V. 5, (2015), 210 – 218.

- 135. Akusu, M.O., Agiang, E.A. and Egbunike G.N., "Ejaculate and plasma characteristics of west African Dwarf (WAD) buck", 10th Intl Congr. Anim. Reprod. A.I., Illinois, V. 2, Abstract n° 50, (June, 1984).
- 136. Udeh, I. and Oghenesode, B., "Effect of Extender and Storage Conditions on the Motility of Buck Spermatozoa", International Journal of Animal and Veterinary Advances, V. 5, (2011), 282 286.
- 137. Barrios, B., Fernández-Juan, M., Muiňo-Blanco, T. and Cebrián-Pérez, J.A., "Inmunocytochemical localization and biochemical characterization of two seminal plasma proteins that Project ram spermatozoa", J. Androl., V. 26, (2005), 539 – 549.
- 138. Wat-sum, O., Chen, H. and Chow, P.H., "Male genital tract antioxidant enzymes—their ability to preserve sperm DNA integrity", Mol. Cell. Endocrinol., V. 205, (2006), 80 83.
- 139. Aitken, R.J. and Koppers, A.J., "Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa", Asian J. Androl., V. 13, (2011), 36 42.
- 140. Setchell, B.P., "Male reproductive organs and semen", Extrait de Cole H.H. « reproduction in domestic animals » third edition, (1977), 230 255.
- 141. Taure, O., "Insémination: Capri I.A, récolte et sème", La chèvre, 167, (1988), 36 39.
- 142. Smith, M.C., "Some clinical aspects of caprine reproduction", Cornell Vet., 68 (Suppl. 7), (1978), 200 211.
- 143. Huat, K.S., "Semen characteristics of crossbred goats", (Kambing Kajong Jamnapari) Kajian Vet. (Malaysia Singapore), V. 7, n° 2, (1973), 63 66.
- 144. Ezekwe, A., "Ejaculate characteristic of two breeds of tropical bulls N'dama and Muturu", Joint seminar on animal of African countries, Addis-Ababa, (1988a).

- 145. Marquis, P.H., "Synchronisation de l'œstrus et insémination artificielle dans l'espèce caprine", Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Thèse pour le doctorat vétérinaire, diplôme d'état, (1990), 156p.
- 146. Salamon, S., "Artificial insemination in sheep", Animal husbandary department, university of Sydney, (1976), 139p.
- 147. Dumont, P., "Appréciation de la fonction sexuelle du taureau reproducteur", Le point vétérinaire, V. 28, (1996), 1617 1628.
- 148. Corteel, J.M., "Symposium on management of reproduction in sheep and goat", Madison, Wisc., USA, (July, 1977), 41 57.
- 149. Ferreira, V.S., Mello, M.R.B., da Fonseca C.E.M., Dias, A.C.F., Cardoso, J.M., Silva, R.B. and Martins, W.P.J., "Effect of seminal plasma and egg yolk concentration on freezability of goat semen", R Bras Zootec., V. 43, n° 10, (2014), 513 518.
- 150. Dogan, I., Nur, Z., Gunay, U., Sagirkaya, H., Soylu, M.K. and Sonmez, C., "Estrous synchronization during the natural breeding season in Anatolian black does", Vet. Med. Czech, V. 50, n° 1, (2005), 33 38.
- 151. Ngoula, F., Tebug T.T., Kenfack, A., Defang, F.H., Tendonkeng, F. and Pamo Tendonkeng, E., "Effects of Buck Age, Storage Duration, Storage Temperature and Diluent on Fresh West African Dwarf Buck Semen", Journal of Reproduction and Infertility, V. 3, n° 3, (2012), 58 66.
- 152. Siddiqua, A., Islam, M.N., Rahman, M.M., Khandoker, M.M.A.Y. and Bari, A.S.M., "Abnormalities of semen of Black Bengal Goat in Bangladesh", International Journal of Natural and Social Sciences, V. 3, n° 1, (2016), 05 09.
- 153. Cabrera, F., González, F., Batista, M., Calero, P., Medrano, A. and Gracia, A., "The Effect of Removal of Seminal Plasma, Egg Yolk Level and Season

- on Sperm Freezability of Canary Bucks (Capra hircus)", Reprod. Dom. Anim., V. 40, (2005), 191 195.
- 154. Roca, J., Carrizosa, J.A., Campos, I., Lafuente, A., Vazquez, J.M. and Martinez, E., "Viability and fertility of unwashed Murciano-Granadina goat spermatozoa diluted in Tris-egg yolk extender and stored at 5°C", Small Ruminant Research, V. 25, (1997), 147 153.
- 155. Ahmad, M., Nasrullah, R., Riaz, H., Sattar, A. and Ahmad, N., "Changes in motility, morphology, plasma membrane and acrosome integrity during stages of cryopreservation of buck sperm", J S Afr Vet Assoc., V. 85, n° 1, (2014), 4pages, 972.
- 156. Amann, R.P. and Waberski, D., "Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments", Theriogenology, V. 81, (2014), 5 17.
- 157. Schleh, C. and Leoni, A.L., "How to optimize the benefits of computer assisted sperm analysis in experimental toxicology", Journal of Occupational Medicine and Toxicology, V. 8, n° 6, (2013), 4pages.
- 158. Liu, C.-H, Dong, H-B., Ma, D-L., Li Y-W., Han, D., Luo, M-J., Chang, Z-L. and Tan, J-H., "Effects of pH during liquid storage of goat semen on sperm viability and fertilizing potential", Animal Reproduction Science, V. 164, (2016), 47 56.
- 159. Hafez, E.S.E., "Reproduction in farm animals", Edited by E<u>.S.E. Hafez, Lea and Febiger</u>, Philadelphia, (1993), 330 343.
- 160. Larson, J.L. and Miller D.J., "Simple Histochemical Stain for Acrosomes on Sperm From Several Species". Molecular Reproduction and Development, V. 52, (1999), 445 449.
- 161. Anand, M., Baghel, G. and Yadav, S., "Effect of egg yolk concentration and washing on sperm quality following cryopreservation in Barbari buck

- semen", Journal of Applied Animal Research, V. 45, n° 1, (2017), 560 565.
- 162. Campbell, R.C., Dott, H.M. and Glover, T.D., "Nigrosin eosin as a stain for differentiating live and dead spermatozoa", J Agric Sci, V. 48, (1956), 1 8.
- 163. Chauhan, M.S. and Anand, S.R., "Effect of egg yolk lipids on the freezing goat semen", Theriogenology, V. 34, (1990), 1003 1013.
- 164. Ronot, X., Grunwald, D., Mayol, J.F. and Boutonnant, J., "La cytométrie en Flux", Lavoisier, (2006), 450pages.
- 165. Johnson, L. A., "Sexing mammalian sperm for production of offspring: the State-of-the-art", Animal reproduction science, 60 61, (2000), 93 107.
- 166. Forges, T., Monnier-Barbarino, P. and Foliguet, B., "La vitalité des spermatozoïdes", Andrologie, V. 11, n° 1, (2001), 45 55.
- 167. Fonseca, J.F., Torres, C.A.A., Maffili, V.V., Borges, A.M., Santos, A.D.F., Rodrigues, M. T. and Oliveira, R.F.M., "The hypoosmotic swelling test in fresh goat spermatozoa", Anim Reprod., V. 2, n° 2, (2005), 139 144.
- 168. Milovanov, V., "Techniques de récolte du sperme" dans <u>« la reproduction</u> chez les animaux domestiques » de Derivaux J, Ectors F., V. 2, Academia ed. (1986), 565 614.
- 169. Magistrini, M., Guitton, E., Le vern, Y., Nicolle, J.C., Vidament, M., Kerboeuf, D. and Pakmer, E., "New staining methods for sperm evaluation estimated by microscopy and florocytometry", Theriogenology, V. 48, (1997), 1229 1235.
- 170. Paulenz, H., Soltun, K., Ådnøy, T., AndersenBerg, K. and Söderquist, L., "Effect of different extenders on sperm viability of buck semen stored at room temperature", Small Ruminant Research, V. 59, n° 1, (2005), 89 94.

- 171. Corteel J.M., "Involvement of seminal plasma in goat sperm preservation", In: V International conference on goat, New-Delhi Pre-conference Proceeding invited papers. V. 2, Part II. (1992), p290. Everest press A 791/1, Amar Puri, Nabi Karim, Delhi, India.
- 172. Wowk, B., "How cryoprotectants work", Cryonics/Third Quarter, (2007).
- 173. Barbas, J.P. and Mascarenhas, R.D., "Cryopreservation of domestic animal sperm cells", Cell Tissue Bank, V. 10, (2009), 49 62.
- 174. Saraswat, S., Jindal, S.K. and Kharche, S.D., "Cryopreservation of Sperm in Ruminants-A REVIEW", Wayamba Journal of Animal Science, (2013), ISSN: 2012 578 X; 753 567.
- 175. Amann, R.P., "Cryopreservation of sperm". In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), Encyclopedia of Reproduction. Academic Press, Burlington, MA, (1999), 773 783.
- 176. Purdy, P.H., "A review on goat sperm cryopreservation". Small Ruminant Research, V. 63, (2006), 215 225.
- 177. Aisen, E.G., Alvarez, H.L., Venturino, A. and Garde, J.J., "Effect of trehalose and EDTA on cryoprotective action of ram semen diluents", Theriogenology, V. 53, (2000), 1053 –1061.
- 178. Sailley, F., « Cryoconservation du cortex ovarien chez la chatte. Effets des paramètres physiques et chimiques au cours de la congélation ». Thèse soutenue pour l'obtention du grade de docteur vétérinaire, université de Lyon, (2008).
- 179. Manjunath, P., Chandonnet, I., Leblond, E. and Desnoyer, L., "Major proteins of bovine seminal vesicles bind to spermatozoa", Biol Reprod, V. 50, (1994), 27 37. Erratum in: Biol Reprod, 50 : 977.
- 180. Roy, A., "Egg yolk coagulating enzyme in the semen and cowper's gland of the goat", Nature, 179, (1957), 318 319.

- 181. Iritiani, A. and Nishikawa, Y., "Studies on the egg yolk coagulating factors in goat semen » II properties of the coagulating factor and influential condition for coagulation", Proc. Siver. Jubilee Lab. Anim. Husbandry, Kyoto university, (1961), 97 104.
- 182. Nunes, J.F., Corteel, J.M., Combarnous, Y. et Baril, G., "Rôle du plasma séminal dans la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc", Reprod. Nutr. Dév., V. 22, (1982), 611 620.
- 183. Aamdal, J., Lyngset, O. and Fossum, K., "Toxic effect of lysolecithin on sperm". Nordic vet. Med., V. 17, (1965), 633 634.
- 184. Pellicer-Rubio, M.T., Magallon, T. and Combarnous, Y., "Deterioration of goat sperm viability in milk extenders is due to a bulbourethral 60-kilodalton glycoprotein with triglyceride lipase activity", Biol. Reprod., V. 57, (1997), 1023 – 1031.
- 185. Pellicer-Rubio, M.T. and Combarnous, Y., "Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60", J. Reprod. Fertil., V. 112, (1998), 95 105.
- 186. Ritar, A.J., Ball, P.D. and O'May, P.J., "Artificial insemination of cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females", Reprod. Fertil. Dev., V. 2, (1990a), 377 384.
- 187. Tuli, R.K. and Holtz, W., "Effect of glycerolization procedure and removal of seminal plasma on post-thaw survival and GOT-release from Boer goat spermatozoa", Theriogenology, V. 42, (1994), 547 555.

- 188. Singh, M.P., Sinha, A.K. and Singh, B.K., "Effect of cryoprotectants on certain seminal attributes and on the fertility of buck spermatozoa", Theriogenology, V. 43, (1995), 1047 1053.
- 189. Kundu, C.N., Chakraborty, J., Dutta, P., Bhattacharyya, D., Ghosh, A. and Majumder, G.C., "Development of a simple sperm cryopreservation model using a chemically defined medium and goat cauda epididymal spermatozoa", Cryobiology, V. 40, (2000), 117 125.
- 190. Holt, W.V., "Basic aspects of frozen storage semen", Anim, Reprod, Sci, V. 62, (2000), 3 22.
- 191. Vishwanath, R. and Shannon, P., "Storage of bovine semen in liquid and frozen state", Anim Reprod Sci, V. 62, (2000), 23 53.
- 192. Molinia, F.C., Evans, G. and Maxwell, W.M.C., "Fertility of ram spermatozoa pellet-frozen in zwitterion-buffered diluents", Reprod. Nutr. Dev., V. 36, (1996), 21 29.
- 193. Pickett, B.W. and Berndtson, W.E., "Preservation of Bovine Spermatozoa by Freezing in Straws: A Review", Journal of Dairy Science, V. 57, n° 11, (1974), 1287 1301.
- 194. Cseh, S., Faigl, V. and Amiridis, G. S., "Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants", Animal Reproduction Science, V. 130, (2012), 187 192.
- 195. Sohnery, B. and Holtz, W., "Transcervical deep cornual insemination of goats", J. Anim. Sci., V. 83, (2005), 1543 1548.
- 196. Bergstein-Galan, T.G., Busato, E.M., Claudia, A.de Abreu, M.R. and Weiss, R.R., "Artificial Insemination and Embryo Transfer in Small Ruminants" Chapter 7 in: Reproduction Biotechnology in Farm Animals. Publisher: Avid Science, (2017), ISBN: 978-93-86337-64-1.

- 197. Nuti, I., "Techniques for artificial insemination of goats", In: Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (Eds.), Current Therapy in Large Animal Theriogenology., 2nd ed. Saunders-Elsevier, St. Louis, MO, (2007), 529 534. ISBN: 9780721693231
- 198. Boukhlik, R., "Cours en ligne sur la reproduction ovine", Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Département de reproduction animale, (2002).
- 199. Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., de la Fuente, L.F. and de Paz, P., "Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay", Theriogenology, V. 63, (2005), 1235 1247.
- 200. Geneviève, M., "Les inséminations artificielles chez la chèvre", Journée INPACQ caprin, Coordonnatrice du secteur des petits ruminants, MAPAQ, (2014).
- 201. Amoah, E.A. and Gelaye, S.,"Biotechnological advances in goat reproduction", J. Anim. Sci., V. 75, (1997), 578 585.
- 202. Ritar, A.J. and Ball, P.D., "Fertility of young cashmere goat after laparoscopic insemination", J. Agric. Sci., V. 117, n° 2, (1991), 271 273.
- 203. Vallet, J. C., Baril, G., Leboeuf, B., and Perrin, J., "Insémination artificielle intra-utérine sous contrôle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques", Ann. Zootech., V. 41, (1992), 305 309.
- 204. El Amiri, B., Karen, A., Cognié, Y., Sousa, N.M., Hornick, J.L., Szenci, O. and Beckers, J.F., "Diagnostic et suivie de gestation chez la brebis: réalités et perspectives", INRA Prod. Anim., V. 16, (2003), 79 90.
- 205. Dawson, L.J., "Pregnancy Diagnosis in Goats", In Proc. <u>14th Ann. Goat Field</u> Day, Langston University, Langston, OK., (1999), 97 103.

- 206. Sousa, N.M., Gonzalez, F., Karen, A., EL Amiri, B., Sulon, J., Baril, G., Cognié, Y., Szenci, O. and Beckers, J.F., "Diagnostic et suivi de gestation chez la chèvre et la brebis", Renc. Rech. Ruminants, V. 11, (2004), 377 380.
- 207. Bretzlaff, K.N., Elmore, R.G. and Nuti, L.C., "Use of an enzyme immunoassay to determine concentrations of progesterone in caprine plasma and milk", J. Am. Vet. Med. Ass., V. 194, n° 5, (1989), 664 669.
- 208. Lebon, C., "Etude de la progestérone chez la chèvre et application au diagnostic précoce de gestation", Thèse Nantes, (1985).
- 209. Ishwar, A.K., "Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review", Small Ruminant Research, V. 17, (1995), 37 44.
- 210. Refsal, K. R., Marteniuk, J. V., Williams, C. S. F. and Nachreiner, R. F., "Concentrations of estrone sulfate in peripheral serum of pregnant goats: relationships with gestation length, fetal number and the occurrence of fetal death in utero", Theriogenology, V. 36, n° 3, (1991), 449 461.
- 211. Sindermann, B., Sohnery, B. and Holtz, W., "Pregnancy detection in goat by faecal oestrogen determination", In: R.R Lokeshwar, Editor, Recent advancecs in goat production, Nutan Printers, New-Delhi, (1992), 1400 1403.
- 212. Humblot, P., De Montigny, G., Jeanguyot, N., Tetedoie, F., Payen, B., Thibier, M. and Sasser, R.G., "Pregnancy specific protein B and progesterone concentrations in French Alpine goats throughout gestation", J Reprod Fertil, V. 89, (1990), 205 212.
- 213. Eckblad, W.P., Sasser, R.G., Rude, C.A.R, Panlasigui, P. and Kuczynski, T., "Localization of pregnancy-specific protein B (PSPB) in bovine placental cells using glucose oxidase-anti-glucose oxidase immunohistochemical stain", J.Anim. Sci., V. 61 (suppl), (1985), 149 150.

- 214. Salve, R.R., Ingole, S.D., Nagvekar, A.S., Bharucha, S.V. and Dagli, N.R., "Pregnancy associated protein and progesterone concentrations during early pregnancy in Sirohi goats", Small Ruminant Research, V. 141, (2016), 45 47.
- 215. Gonzalez, F., Sulon, J., Garbayo, J.M., Batista, M., Cabrera, F., Calero, P., Gracia, A. and Beckers, J.F., "Early pregnancy diagnosis in goats by determination of pregnancy-associated glycoprotein concentrations in plasma samples", Theriogenology, V. 52, (1999), 717 725.
- 216. González, F., Cabrera, F., Batista, M., Rodríguez, N., Alamo, D., Sulon, J., Beckers, J.F. and Gracia, A., "A comparison of diagnosis of pregnancy in the goat via transrectal ultrasound scanning, progesterone, and pregnancy-associated glycoprotein assays", Theriogenology, V. 62, n° 6, (2004), 1108 1115.
- 217. Sardajana, I.K.W., Tainturier, D. and Djiane, J., "Etude de l'hormone chorionique somatomammotrophique dans le plasma et le lactosérum au cours de la gestation et du postpartum chez la chèvre (application au diagnostic tardif de gestation)", Rev. Méd. Vét., V. 139, (1988), 1045 1052.
- 218. Monniaux, D., Maudon-pépin, B. and Monget, P., "L'atrésie folliculaire : un gaspillage programmé", Médecine Science, V. 15, n° 2, (1999), 157 166.
- 219. Purohit, G., "Methods Of Pregnancy Diagnosis", In <u>Domestic Animals: The Current Status</u>. Webmed Central REPRODUCTION; 1 (12), WMC001305, (2010), 26pages.
- 220. Woflgang, K., "Atlas de diagnostic échographique Examen gynécologique et reproduction Equin, bovin, ovin, caprin, porcin, chien, chat", Maloine, 75006, Paris, (1994).

- 221. Medan, M., Watanabe, G., Absy, G., Sasaki, K., Sharawy, S. and Taya, K., "Early pregnancy diagnosis by means of ultrasonography as amethod of improving reproductive efficiency in goats", J. Reprod.Dev., V. 50, (2004), 391 – 397.
- 222. Raja-Khalif, R.I.A., Rahman, M.M., Wan-Khadijah, W.E. and Abdullah, R.B., "Pregnancy diagnosis in goats by using tow different ultrasound probes", J. Anim. Plant Sci., V. 24, n) 4, (2014), 1026 1031.
- 223. Medan, M.S. and AbdEl-Aty, A.M., "Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction", Journal of Advanced Research, V. 1, (2010), 123 128.
- 224. Padilla-Rivas, G., Sohnrey, B. and Holtz, W., "Early pregnancy detection by real-time ultrasonography in Boer goats", Small Rumin. Res., V. 58, n° 1, (2005), 87 92.
- 225. Buckrell, B., "Applications of ultrasonography in reproduction in sheep and goats", Theriogenology, V. 29, (1988), 71 84.
- 226. Leboeuf, B., Manfredi, E., Bouè, P., Piacere, A., Brice, G., Baril, G., Broqua, C., Humblot, P. and Terqui, M., "Artificial insemination of dairy goats in France", Livest. Prod. Sci., V. 55, (1998), 193 203.
- 227. Goel, A.K. and Agrawal K.P., "Ovulation in Jakhrana goat native to tropical climates", Small ruminant research, V. 50, Issue 1-2, (2003), 209 212.
- 228. Chemineau, P. and Delgadillo, J.A., "Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins", INRA. Prod. Anim., V. 7, n° 5, (1994), 315 326.
- 229. Maurel, M.C., Leboeuf, B., Baril, G. and Bernelas, D., "Determination of the preovulatory LH peak in dairy goats using an ELISA kit on farm", 8th Scientific Meeting of AETE., Lyon, (11-12 Sept. 1992), In: Marcel Meriux (ed.), Fondation, p 126.

- 230. Bowdridge, E., Knox, W.B., Whisnant, C.S., and Farin, C.E., "NCSynch: A novel, progestagen free protocol for ovulation synchronization and timed artificial insemination in goats", Small Ruminant Research, V. 110, (2013), 42 45.
- 231. Arrebola, F., González, O., Torres, R. and Abecia, J.A., "Artificial insemination in Payoya goats: factors affecting fertility", Animal Production Science, (2013), 7pages.
- 232. Hafez, E.S.E. and Hafez, B., "Transport and survival of gametes", In: Reproduction in farm animals (Hafez B & Hafez ESE, eds.). Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore MD, USA. (2000), 82 95.
- 233. Karatzas, G., Karagiannidis, A., Varsakeli, S. and Brikas, P., "Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season", Theriogenology, V. 48, (1997), 1049 1059.
- 234. Roy, F., Maurel, M.C., Combes, B., Vaiman, D., Cribiu, E.P., Lantier, I., Pobel, T., Delétang, F., Combarnous, Y., and Guillou, F., "The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex", Biology of reproduction, V. 60, (1999), 805 813.
- 235. Alaçam, E., Güven, B., Ayarand, A. and Saban, E., "Effect of Gonadoreline Administration on Blood Progesterone, Oestradiol 17\ beta Concentration and Some Fertility Parameters in Angora Goats", Turkish J. Vet. Anim. Sciences, V. 23, (1999), 77 82.
- 236. Salamon, S., Ritar, A.J., "Deep freezing of Angora goat semen: effects of diluents composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa", Aust. J. Biol. Sci., V. 35, (1982), 295 303.
- 237. Salvador, I., Viudes De Castro, M.P., Bernacer, J., Gómez, E.A. and Silvestre, M.A., "Factors affecting pregnancy rate in artificial insemination

- with frozen semen during nonbreeding season in Murciano-Granadina goats: a field assay", Reprod Dom Anim, V. 40, (2005), 526 529.
- 238. Barth, A.D., "Factors affecting fertility with artificial insemination", Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, V. 9, n°2, (1993), 275 289.
- 239. Islam, R., Ahmed, K. and Deka, B.C., "Effect of holding and washing on the quality of goat semen". Small Ruminant Research, V. 66, (2006), 51 57.
- 240. Jainudeen, M.R., Wahid, H. and Hafez, E.S.E., "Sheep and Goats", In: Reproduction in Farm Animals, Hafez, B. and E.S.E. Hafez (Eds.). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA, (2000), 172 181, ISBN: 0683305778.
- 241. Moura, R.R., Souza-Fabjan, J.M.G., Fonseca, J.F., Melo, C.H.S., Sanchez, D.J.D., Vieira, M.P., Almeida, T.M., Serova, I.A., Serov, O.L., Pereira, A.F., Teixeira, D.I.A., Melo, L.M. and Freitas, V.J.F., "Reproductive parameters and the use of MOET in transgenic founder goat carrying the human granulocyte colony-stimulating factor (hG-CSF) gene", Anim. Reprod., V. 11, n° 1, (2014), 37 43.
- 242. Titi, H.H., Kridli, R.T. and Alnimer, M.A., "Estrus Synchronization in Sheep and Goats Using Combinations of GnRH, Progestagen and Prostaglandin F2α", Reprod Dom Anim, V. 45, (2008), 594 599.
- 243. Folch, J., "The influence of age, photoperiodism and temperature on semen production of rams", In: <u>Courot M (ed), The Male in Farm Animal Reproduction</u>. Amsterdam: Martinus Nijhoff, (1984), 141 160.
- 244. Chanvallon, A., "Le rôle de la photopériode chez la chèvre", Renée de Crémoux (Institut de l'Elevage), (2011).
- 245. Malpaux, B., Viguié, C., Thiéry, J.C. and Chemineau, P., "Contrôle photopériodique de la reproduction", Prod Anim, V. 9, (1996), 9 23.

- 246. Groupe Reproduction Caprine, "Photopériodisme et reproduction caprine", INRA, Institut d'élevage, (1998).
- 247. Malpaux, B., Robinson, J.E., Wayne, N.L. and Karsch, F.J., "Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of longs days and of an endogenous reproductive rhythm", J. Endocr., V. 122, (1989), 269 278.
- 248. Thimonier, J. and Mauléon, P., "Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins", Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., V. 9, (1969), 223 250.
- 249. Robinson, J.E. and Karsch, F.J., "Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe", Biol Reprod, V. 31, (1984), 656 663.
- 250. Roca, J., "Reproductive parameters in male goats of Murciano-Granadina breed", An experimental study. Thesis. Veterinary School, University of Murcia, Spain, (1989).
- 251. Hibbert, L.M., Rodrigues, H.D., Noble, R.C., Vig, N.M. and Goyal, H.O., "Effects of age and season on sperm abnormalities in Nubian goats", Anat Histol Embryol, V. 15, (1986), 173.
- 252. Delgadillo, J.A., Leboeuf, B. and Chemineau, P., "Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by short photoperiodic cycle in he-goat", Small Ruminant Research, V. 9, (1992), 47 59.
- 253. Langford, G.A., Ainsworth, L., Marcus, G.J. and Shreshta, J.N.B., "Photoperiod entrainment of Testosterone, Luteinizing Hormone, Follicule Stimulating Hormone and Prolactin cycle in Rams in Relation to Testis Size and Semen Quality", Biology of Reprod, V. 37, (1987), 489 499.

- 254. Motlomelo, K.C., Greyking, J.P.C. and Schwalbach, L.M.J., "Synchronisation of œstrus in goats: the use of different progestagen treatments", Sm Ruminant Res., V. 45, (2002), 45 49.
- 255. Malpaux, B., "Seasonal regulation of reproduction in mammals", In: <u>Physiology of Reproduction, Knobil and Neill's (Eds)</u>, 3rd edition, Elsevier, Amsterdam, (2006), 2231 – 2281.
- 256. Hammoudi, S.M., Guetarni, D. et Niar, A., "Etude sur la reproduction des caprins de race locale". Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en biologie, option : reproduction animale, Université d'Oran (Sénia), Faculté des sciences, Département de biologie, (2011).
- 257. Charallah, S., Khammar, F., Amirat, Z. et Lakhdari, Y., "Evaluation de l'activité sexuelle male et femelle: caractérisation zootechnique et nutritionnelle chez la chèvre bédouine" In : actes conférence internationales sur caprins, Tours, France, 15-21 Mai 1990, Tome I, (2000), 460.
- 258. Talebi, J., Souri, M., Moghaddam, A. and Mirmahmoodi, M., "Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran", Small Ruminant Research, V. 85, (2009), 18 22.
- 259. Pérez, B. and Mateos, E., "Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Verata and Malagueňa breeds" Small Ruminant Research, V. 23, (1996), 23 28.
- 260. Delgadillo, J.A., Leboeuf, B. and Chemineau, P., "Dercease of seasonality of sexual behaviour and sperm production in bucks by short photoperiodic cycle", Theriogenology, V. 36, n° 5, (1991), 755 770.
- 261. Al-Ghalban, A.M., Tabbaa, M.J. and Kridli, R.T., "Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks", Small Ruminant Research V. 53, (2004), 141 149.

- 262. Chemineau, P., Mahieu, M., Varo, H., Shitalou, E., Jego, Y., Grude, A. and Thimonier, J., "Reproduction des caprins et des ovins Créole de Guadeloupe et de Martinique", Revue Élev. Méd. vét. Pays trop., n° spécial, (1991), 45 50.
- 263. Karragiannidis, A., Varsakeli, S. and Karatzas, G., "Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece", Theriogenology, V. 53, n° 6, (2000), 1285 1293.
- 264. Ortavant, R., Dupont, S., Pauthe, H. et Roussel, G., "Contribution à l'étude de la différenciation des spermatozoïdes morts et des spermatozoïdes vivants dans le sperme de taureau", Annales de zootechnie, V. 1, (1952), 5 12.
- 265. Delgadillo, J.A., "Abolition des variations saisonnières de l'activité sexuelle chez le bouc par des traitements photopériodiques", Thèse Montpellier, France, (1990), 119pages.
- 266. Strzezek, J., Fraser, L., Demianowicz, W., Kordan, W., Wysocki, P. and Holody, D., "Effect of depletion tests (DT) on the composition of boar semen", Theriogenology, V. 54, (2000), 949 963.
- 267. Strzezek, J., "Secretory activity of boar seminal vesicle glands", Reprod Biol, V. 2, (2002), 243 266.
- 268. Catunda, A.G.V., "Composição bioquímica do plasma seminal de caprinos sem padrão racial definido (SPRD) em clima tropical úmido", Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal do Ceará UFC. Fortaleza, (2007), 45p.
- 269. Aguiar, G.V., "Efeito individual e da época do ano sobre a composição do plasma seminal e a qualidade do sêmen caprino resfriado a 4 °C por 48 horas do estado do Ceará", Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, (2008), 114p.

- 270. Catunda, A.G.V., Campos, A.C.N., Pereira, J.F., Lima, Í.C.S., Araújo, A.A. and Martins, G.A., "Monthly variation in the concentrations of macroelements in the goat seminal plasma in humid tropical climate", Cienc. Anim. Bras., V.10, n° 4, (2009), 1177 1185.
- 271. Smith, O.B. and Akinbamijo, O.O., "Micronutrients and reproduction in farm animals", Anim. Reprod. Sci., V. 60-61, (2000), 549 560.
- 272. Akpa, G. N., Ambali, A. L., and Suleiman, I. O., "Relationships between Semen Cation Concentrations, Semen Characteristics, Testicular Measurements and Body Conformation Traits in Red Sokoto Goat", Nature and Science, V. 11, n° 7, (2013), 94 99.
- 273. Mann, T., "The biochemistry of semen and of the male reproductive tract", Methuen Co. Edit., (1964), p.89.
- 274. Terrell, K.A., Wildt, D.E., Anthony, N.M., Bavister, B.D., Leibo, S.P., Penfold, L.M., Marker, L.L. and Crosier, A.E., "Evidence for compromised metabolic function and limited glucose uptake in spermatozoa from the teratospermic domestic cat (Felis catus) and cheetah (Acinonyx jubatus)", Biol. Reprod., V. 83, (2010), 833 841.
- 275. Battaglini, M., "Fecondazione artificiale, attenti el maschio", Riv. Coniglic., V. 5, (1992), 47 51.
- 276. Alberio, R., "Rôle de la photopériode dans le développement de la fonctionde reproduction chez l'agneau "Île de France" de la naissance à 21mois", Thèse doctorat 3^e cycle, INRA de Tours, France, (1976).
- 277. Barrell, G.K. and Lapwood, K.R., "Seasonality of semen production and plasma luteinizing hormone, testosterone and prolactin levels in Romney, Merino and Polled dorset rams", Anim. Reprod. Sci., V. 1, (1979), 213 228.

- 278. Neves, J.P., Günzel, A.R. and Schmidt, H., "Einfluss der Jahreszeit auf die Spermaqualitât von Merino", Fleischschafen. Zuchthg., V. 15, (1980), 118 125.
- 279. Barkawi, A.H., Elsayed, E.H., Ashour, G. and Shehata, E., "Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats", Small Rumin. Res. V. 66, (2006), 209 213.
- 280. Mendoza, G., White, I.G., Chow, P., "Studies of chemical components of Angora goat seminal plasma", Theriogenology, V. 32, (1989), 455 466.
- 281. Corteel, J.M., "Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal : effet du glucose", Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., V. 14, (1974), 741 745.
- 282. Mara, L., Dattena, M., Pilichi, S., Sanna, D., Branca, A. and Cappai, P., "Effect of different diluents on goat semen fertility", Animal Reproduction Science, V. 102, (2007), 152 157.
- 283. Watson, P.F., "Artificial insemination and the preservation of semen". In:

 <u>Lamming GE (ed.), Marshall's Physiology of reproduction</u>. Churchill

 <u>Livingstone</u>, Edinburgh, (1990), 747 869.
- 284. Moussa, M., Martinet, V., Trimeche, A., Tainturier, D. and Anton, M., "Low density lipoproteins extracted from henegg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen", Theriogenology, V. 57, (2002), 1695 1706.
- 285. Bispo, C.A.S., "Avaliação "in vitro" do sêmen caprino resfriado a 5°C em função de curvas de resfriamento e diluidores", Dissertação (M.Sc.). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, (2005).
- 286. D'Alessandro, A.G., Martemucci, G., "Evaluation of seasonal variations of semen freezability in Leccese ram", Anim. Reprod. Sci., V. 79, (2003), 93 102.

- 287. Kozdrowski, R., Dubiel, A., Bielas, W. and Dzięcioł, M., "Two Protocols of Cryopreservation of Goat Semen with the Use of Computer-Assisted Semen Analysis System", ACTA VET. BRNO, V. 76, (2007), 601 604.
- 288. Ghalsasi, P.M., "Technical training manual on artificial insemination in Goats". Maharashtra Goat and Sheep Research and Development Institute, Phlatan. Nimbkar Agricultural Research Institute, Phlatan India, (2004), 41.
- 289. Sariözkan, S., Bucak, M.N., Tuncer, P.B., Tasdemir, U., Kinet, H. and Ulutas, P.A., "Effects of different extenders and centrifugation/ washing on post-thaw microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of Angora buck sperm", Theriogenology, V. 73, (2010), 316 323.
- 290. La Falci, V.S.N., Tortorella, H., Rodrigues, J.L. and Brandelli, A., "Seasonal variation of goat seminal plasma proteins", Theriogenology, V. 57, (2002), 1035 1048.
- 291. Muiño-Blanco, T., Pérez-Pé, R. and Cebrián-Pérez, J.A., "Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress", Reprod Domest Anim., V. 43, n° 4, (2008), 18 31.
- 292. Cardozo, J.A., Fernández-Juan, M., Forcada, F., Abecia, A., Muiño-Blanco, T. and Cebrián-Pérez, J.A., "Monthly variations in ovine seminal plasma proteins analyzed by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis", Theriogenology, V. 66, n° 4, (2006), 841 850.
- 293. Xu, Z.Z., McDonald, M.F., McCutcheon, S.N. and Blair, H.T., "Seasonal variation in testis size, gonadotrophin secretion and pituitary responsiveness to GnRH in rams of two breeds differing in time of onset of the breeding season", Animal Reproduction Science, V. 26, n° 3 4, (1991), 281 292.

- 294. Leahy, T., Marti, J.I., Evans, G. and Maxwell, W.M.C., "Seasonal variation in the protective effect of seminal plasma on frozen-thawed ram spermatozoa", Anim. Reprod. Sci., V. 119, (2010), 147 153.
- 295. Azerêdo, G.A., Esper, C.R. and Resende, K.T., "Evaluation of plasma membrane integrity of frozen-thawed goat spermatozoa with or without seminal plasma", Small Rumin. Res., V.41, (2001), 257 263.
- 296. Peterson, K., Kappen, M.A. P.M., Ursem, P.J.F., Nöthling, J.O., Colenbrander, B and Gadella, B.M., "Microscopic and flow cytometric semen assessment of Dutch Al-bucks: Effect of semen processing procedures and their correlation to fertility", Theriogenology, V. 67, n° 4, (2007), 863 871.
- 297. Bispoa, C.A.S., Pugliesi, G., Galvão, P., Rodrigues, M.T., Ker, P.G., Filgueiras, B. and Carvalho, G.R., "Effect of low and high egg yolk concentrations in the semen extender for goat semen cryopreservation", Small Ruminant Research, V. 100, (2011), 54 58.
- 298. Ustuner, B., Gunay, U. and Nur, Z., Effect of seminal plasma, egg yolk, and season on the freezability of saanen buck semen", Bull Vet Inst Pulawy, V. 53, (2009), 369 374.
- 299. Drobnis, E.Z., Nelson, E.A. and Burrill, M.J., "Effect of several processing variables on motility and glutamic oxalacetic transaminase levels for frozen goat semen. I. Diluent", J. Anim. Sci. Suppl. 51, (1980), 439 (Abstract).
- 300. Rahman, A.N.M.A., Abdullah R.B. and Wan-Khadijah, W.E., "Estrus synchronization and Superovulation in Goats: A Review", Journal of Biological Sciences, V. 8, n° 7, (2008), 1129 1137.
- 301. Ait Amrane, A., Belhamiti, B.T., Selles, S.M.A., Meskini, Z., Kouidri, M., Hammoudi, S.M., Benia, A.R. et Kaidi, R., "Un traitement d'induction et synchronisation des chaleurs chez la chèvre Arbia dans la région de Tiaret,

- Algeria", Livestock Research for Rural Development, V. 30, n° 39, (2018), 9pages.
- 302. Shelton, M., "Reproductive performance of sheep exposed to hot environments". Malik R.C., Razzaque M.A., and Al-Nasser A.Y. (Eds), Published by the Kuwait Institute for Scientific Research. Sheep Production in Hot and Arid Zones, (2000), 155 162.
- 303. Marai, I.F.M., El-Darawany, A.A., Abou-Fandoud, E.I. and Abdel-Hafez, M.A.M., "Serum blood components during pre-oestrus, oestru and pregnancy phases in Egyptian Suffolk as affected by heat stress, under the conditions of Egypt", Egypt Journal of Sheep and Goats Desertic Animal Science, V. 1, n° 1, (2006), 47 62.
- 304. Ozyurtlu, N., Kucukaslan, I. and Cetin, Y., "Characterization of oestrous induction response, oestrus duration, fecundity and fertility in awassi ewes during the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatments", Reprod Domest Anim, V. 45, (2008), 464 467.
- 305. Riaz, H., Sattar, A., Arshad, M.A. and Ahmad, N., "Effect of synchronization protocols and GnRH treatment on the reproductive performance in goats", Small Ruminant Research, V. 104, (2012), 151 155.
- 306. Simões, J., "Recent advances on synchronization of ovulation in goats, out of season, for a more sustainable production". Asian Pacific Journal of Reproduction, n°4, Vol.2, (2015), 157 165.
- 307. Martemucci, G. and D'Alessandro, A.G., "Induction/synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different short term treatments and fixed time intrauterine or exocervical insemination system", Animal Reproduction Science, V. 126, (2011), 187 194.
- 308. Greyling, J.P.C. and Van Niekerk, C.H., "Effect of pregnant mare serum gonatrophin (PMSG) and route of administration after progestagen

- treatment on oestrus and LH secretion in the Boer goat", Small Rumin. Res., V. 3, (1990), 511 516.
- 309. Zarkawi, M., Al-Merestani, M.R. and Wardeh, M.F., "Induction of synchronized oestrus in Damascus goats outside the breeding season", Small Rumin. Res., V. 33, (1999), 193 197.
- 310. Hashemi, M. and Safdarian, M., "Efficiency of different methods of estrus synchronization followed by fixed time artificial insemination in Persian downy does", Anim. Reprod., V. 14, n° 2, (2017), 413 417.
- 311. Robertson, H.A. and Sarda, I.R., "A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, ewe and sow", J Endocrinol., V. 49, n° 3, (1971), 407 419.
- 312. Vanroose, G., de Kruif, A. and Van Soom, A., "Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions", Anim. Reprod. Sci., 60-61, (2000), 131 143.
- 313. Yotov, S.A., Velislavova D.V. and Dimova, L.R., "Pregnancy rate in Bulgarian White milk goats with natural and synchronized estrus after artificial insemination by frozen semen during breeding season". Asian Pacific Journal of Reproduction, V. 5, n° 2, (2016), 144 147.
- 314. Arrebola, F.A., Pardo, B., Sanchez, M., Lopez, D. and Perez-Marin, C.C., "Factors influencing the success of an artificial insemination program in Florida goats", Spanish Journal of Agricultural Research, V. 10, n°2, (2012), 338 344.
- 315. Humblot, P., Brice, G., Chemineau, P. and Broqua, C., "Mortalité embryonnaire chez la chèvre laitière après synchronisation des chaleurs et insémination artificielle à contre saison", Renc. Rech. Ruminants, V. 2, (1995), 387 390.

- 316. Wilmut, I., Sales, D.I. and Ashworth, C.J., "Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals", Journal of Reproduction and Fertility, V. 76, n° 2, (1986), 851 864.
- 317. Ashworth, C.J. and Bazer, F.W., "Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone", Biology of Reproduction, V. 40, n° 2, (1989), 425 433.
- 318. Diskin, M.G. and Niswender, G.D., "Effect of progesterone supplementation on pregnancy and embryo survival in ewes", Journal of Animal Science, V. 67, n° 6, (1989), 1559 1563.
- 319. Parr, R.A., Cumming, I.A. and Clarke, I.J., "Effects of maternal nutrition and plasma progesterone concentrations on survival and growth of the sheep embryo in early gestation", The Journal of Agricultural Science, V. 98, n° 1, (1982), 39 46.
- 320. Viñoles, C., Glover, K.M.M., Paganoni, B.L., Milton, J.T.B. and Martin, G.B., "Embryo losses in sheep during shortterm nutritional supplementation", Reproduction, Fertility and Development, V. 24; n° 8, (2012), 1040 1047.
- 321. Shorten, P.R., O'Connell, A.R., Demmers, K.J., Edwards, S.J., Cullen, N.G. and Juengel, J.L., "Effect of age, weight, and sire on embryo and fetal survival in sheep", Journal of Animal Science, V. 91, n° 10, (2013), 4641 4653.
- 322. Hanzen, C., "L'infertilité bovine : approche individuelle ou de troupeau ?", Le Point Vétérinaire / Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, (2005), 84 88.
- 323. Salamon, S. and Maxwell, W.M., "Storage of ram semen", Anim. Reprod. Sci., V. 62, (2000), 77 111.

- 324. Windsor, D.P., "Mitochondrial Function and Ram Sperm Fertility", Reprod. Fertil. Dev., V. 9, (1997), 279 284.
- 325. Maxwell, W.M.C. and Watson, P.F., "Recent progress in the preservation of ram semen", Anim. Repros. Sci., V. 42, (1997), 55 65.
- 326. Medeiros, C.M., Forell, F., Oliveira, A.T. and Rodrigues, J.L., "Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better?", Theriogenology, V. 57, n° 1, (2002), 327 344.
- 327. Courtens, J.L., Nunes, J.F. and Corteel, J.M., "Induction of the acrosome reaction in the spermatozoa of the goat by secretions of the male accessory glands and milk", Gamete Research, V. 9, (1984), 287 302.
- 328. Li, T.K., "The glutathione and thiol content of mammalian Spermatozoa and seminal plasma". Biol. Reprod, V. 12, (1975), 641 646.
- 329. Griveau, J.F. and Le Lannau, D., "Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology", Int J Androl., V. 20, n° 2, (1997), 61 69.
- 330. Guelou, K., "La mortalité embryonnaire chez la vache et l'incidence de l'alimentation", Thèse pour le doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, (2010).
- 331. Branca, A., Effet de l'état corporel sur différents paramètres reproductifs chez la chèvre Sarde après insémination artificielle. In Ben Salem H. (ed.), Nefzaoui A. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). Nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates, Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 59, (2004), 73 77.



LISTE DES ABREVIATIONS

°c : degré Celsius

 μ : micron

μg : microgramme

μl : microlitre

ABP : Androgen Binding Protein
ABP : Androgen Binding Protein
AMH : Anti Mullerian Hormone

AND : Acide Desoxyribonucléique

ATP : Adénosine Triphosphate

CASA : Computer Assisted Sperm Analysis

cm : centimètre

E : est

eCG : Equine Chorionic Gonadotropin EDTA : ÉthylèneDiamineTétraAcétique

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

EYCE : Egg Yolk Coagulating Enzyme

FGA : Fluorogestone Acetate

FSH : Folliculo Stimulating Hormone

FSH-R : Folliculo Stimulating Hormone Receptor

g : gramme

GnRH : Gonadotrophic Releasing Hormone

h : heure

hCG : Human Chorionic Gonadotropin

IA : Insémination Artificielle

ICSH : Interstitial Cell Stimulating Hormone

j : jour

JC : jour court

JL : jour long

LH : Luteinising Hormone

LH-R : Luteinising Hormone Receptor

LH-RH : Luteinising Hormone Releasing Hormon

m : mètre

m² : mètre carré

MAP : Médroxyprogestérone Acétate

mg : milligramme

Mhz : Mégahertz

min : minute
ml : millilitre
mm : millimètre

N : nord

Nacl : chlorure de sodium

ng : nanogramme

PAG : Pregnancy Associated Glycoprotein

 $PGF_2\alpha$: Prostaglandine $F_2\alpha$

PMSG : Pregnant Mare Serum Gonadotropin

RIA : Radio Immuno Assay

s : seconde

S : sud

spz : spermatozoïde

Test : acide *N*-[tris(hydroxyméthyl)méthyl]-2-aminoéthanesulfonique

TGF : Transforming Growth Factor

Tris : trishydroxyméthylaminométhane

UI : Unité Internationale

v : volt

Bulgarian Journal of Agricultural Science, 24 (No 3) 2018, 460–466 Agricultural Academy

SEMEN PARAMETERS AND THEIR SEASONAL VARIATIONS OF LOCAL ARBIA BREED BUCKS IN WESTERN ALGERIA

BELHAMITI BELKACEM TAHAR*1,2,4, AMAR AIT AMRANE^{1,2}; SI MOHAMMED HAMMOUDI^{1,2}; SIDI MOHAMMED AMMAR SELLES^{1,2}; AHMED RÈDHA BENIA^{1,2}; EL AID MAMMERI; RACHID KAIDI^{3,4}

¹Ibn Khaldoun University, Veterinary Science Institute, Department of Animal Health, Tiaret, Algeria

Abstract

Belhamiti, T.B., A. Ait Amrane, S.M. Hammoudi, S.M.A. Selles, A.R. Benia, E.A. Mammeri and R. Kaidi, 2018. Semen parameters and their seasonal variations of local Arbia breed bucks in Western Algeria. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 24 (3): 460–466

Our study aims to investigate semen parameters of Arbia breed goats living in western Algeria. This experiment was conducted at the University experimental farm in Tiaret on one year. Semen of three bucks were collected once a week using an artificial vagina. Semen parameters seem to be influenced by season: ejaculation volume, sperm motility and sperm viability $(1.1 \pm 0.39 \text{ ml}; 81.79 \pm 13.42\%; 73.73 \pm 9.07\%$, respectively) were high in autumn and summer and low during spring $(0.11 \pm 0.14 \text{ ml}, 71.07 \pm 11.28\%$, and $52.38 \pm 20.34\%$, respectively). This difference between seasons is mainly significant when comparing autumn and spring (p < 0.05). Semen concentration followed an opposite trend to that of other parameters, it is high during winter and spring $(7.87 \pm 2.38 \times 10^9 \text{ spz} \text{ (spermatozoon)}/\text{ ml}, 7.61\pm1.81\times 10^9 \text{ spz}/\text{ ml}$, respectively) and low in autumn $(6.4 \pm 2.62 \times 10^9 \text{ spz}/\text{ ml})$, with no significant difference between seasons (p > 0.05). The seminal pH fluctuates with high values in winter and summer and low in spring and autumn. In conclusion, Arbia breed bucks at latitude of $35^{\circ}15^{\circ}\text{N}$ display seasonal variation in sperm production with a peak in autumn and minimum level in spring.

Key words: bucks; semen characteristics; Arbia breed; season; photoperiod Abreviations: ml: milliliter, spz: spermatozoon, h: hour, min: minute, g: gram, LH: Luteinizing Hormone

Introduction

Sexual behavior and semen quality are the main parameters limiting male reproductive efficiency (Karagiannidis et al., 2000). In goats, the increase in production is achieved by improving their reproduction (Aboul-Ela and Chemineau, 1988). Some goat breeds exhibit significant seasonal variations in sexual activity with a maximum and minimum sexual activity periods (Baril et al., 1993). In temperate areas, photoperiod is the main environmental cue regulating the reproductive activity of goats (Chemineau et

al., 1999). However, several external factors could modify the andrological characteristics of these seasonal breeders (Zarazaga et al., 2005). At intermediate and higher latitudes, the breeding season begins when the duration of daylight becomes shorter (autumn) and ends in winter, when the photoperiod is increasing. Even in breeds reared in subtropical climates photoperiodic cues can entrain the seasonal rhythms of reproductive parameters (Delgadillo et al., 2004). Previous studies have reported significant seasonal variation in the semen characteristics of small ruminants living at higher latitudes (Ritar, 1993). The studies carried by Hammoudi et

²Ibn-Khaldoun University of Tiaret, Laboratory of Research on Local Animal Products, 14000 Tiaret, Algeria

³Saad Dahlab University, Veterinary Science Institute, BP 270 Blida, Algeria

⁴Saad Dahlab University, Laboratory of Animal Reproductive Biotechnologies, BP 270 Blida, Algeria

^{*}Corresponding author: belhamitit@yahoo.fr

al. (2010) on two parameters of the sexual activity of Arabia bucks (scrotal circumference and sexual behavior) and those of Ait Amrane et al. (2013) on plasma testosterone levels show that the intensity of sexual activity varies according to the season of the year with a maximal activity during summer and autumn.

The objective of the present work is to complete researches carried on Algerian Arbia male goat. Therefore, it was undertaken to investigate seasonal variation in semen production of these males in relation to photoperiod during the four seasons of the year.

Materials and Methods

Location and experimental period

The study was conducted for a period of 14 months (from January 2015 to February 2016) on the experimental Animal Farm of Ibn-Khaldoun University of Tiaret. The latter is situated in western Algeria at latitude of 35°15' N and longitude of 1°26' E. Climatologically, this region is a semi-arid area characterized by cold and humid winter and hot and dry summer. The daily photoperiod varies between 9 h 37 min during the winter solstice and 14 h 23 min during the summer solstice.

Animals

Three healthy, mature Arbia bucks were used in the study whose animal's age ranges between 03 and 04 years at the beginning of the experiment. The bucks were kept in individual stalls and subject to a natural lighting with no physical contact with female, except the time of semen collection. They receive a daily diet of 500 g barley, and have free access to straw and water. A vitamin and mineral supplement are incorporated in the ration in the form of a salt lick. A general management schedule for deworming, disease prevention, and hoof trimming was followed.

Semen collection

Semen samples were collected from each buck once a week using an artificial vagina (n=176). Immediately after collection, the ejaculates were placed in a water bath (37°C) and taken to the laboratory for the semen characteristics assessment according to methods described by Evans and Maxwell (1987) and Baril et al. (1993).

Semen evaluation

One time in the laboratory, semen samples undergo the following examinations:

Volume: the volume of ejaculates was recorded from the graduated collection vials.

pH: a drop of undiluted fresh sperm is placed on a pH-meter strips. The semen pH is assessed by comparing the color change of the pH-meter strips with a color scale provided by the manufacturer.

Individual sperm motility: motility evaluation was performed on a sample of the diluted spermatozoa with normal saline by focusing the binocular microscope at the center of the cover slip at $40 \times$ magnification (B – 350, OPTIKA MISCROSCOPES, ITALY). Slide and cover slip temperature was maintained at 37° c by using a heating stage fitted to the microscope. Motility rate was determined by estimating the proportion of motile and non-motile cells.

Concentration: the concentration of spermatozoa in semen sample was estimated by haemocytometer using improved Malassez chamber following dilution of an aliquot of semen with saline added with formalin at 1%.

Sperm viability: to evaluate the live/dead spermatozoa rate (viability), eosin-nigrosin staining was used (Kit Vita-Eosine, RAL Diagnostics) . The smears were prepared routinely by mixing one drop of diluted semen sample with two drops of the stain on a warm slide and immediately spreading the stain with one edge of a second slide. The smears were air-dried and the viability was assessed by counting 200 sperm cells with a bright-field microscopy (40 \times magnification) (B - 350, OPTIKA MISCROSCOPES, ITALY). Stained sperm cells were regarded as dead.

Our work plan was read and approved by the Ethics Committee of the Veterinary Science Institute of Tiaret.

Statistical data analysis

An analysis of variation (ANOVA) was applied to study the homogeneity of semen parameters according to months on one hand, and seasons on the other. For comparison of the mean values of each parameter studied, the Tukey (HSD) test was used at the 5% error threshold. Statistical analyzes were performed using the R software version $3.3.0 \, (2016-05-03)$.

Results

Monthly variations in seminal parameters

The monthly average semen volume increase significantly between June and September (0.03 \pm 0.07 ml and 1.08 \pm 0.22 ml, respectively). Thereafter, its increase becomes less important between October and November until the maximum value in December (1.18 \pm 0.4 ml). The monthly average volume of sperm begins to decrease markedly between January and March (0.93 \pm 0.45 ml and 0.32 \pm 0.17 ml, respectively) until the minimum values in May and June (0.03 \pm 0.08 ml and 0.03 \pm 0.07 ml, respectively).

Sperm concentration follows a reverse trend compared to

the semen volume, it is high from January to July $(8.1 \pm 5.17 \times 10^9 \, \text{spz} \, / \, \text{ml})$ and $9.77 \pm 4.66 \times 10^9 \, \text{spz} \, / \, \text{ml})$ and decreased between July and December $(5.32 \pm 2.82 \times 10^9 \, \text{spz} \, / \, \text{ml})$.

Monthly average sperm motility does not show great variation during the year. But it should be mentioned that the monthly average of sperm motility takes values higher than 80% in August, September and October and minimum values from March to July $(73.36 \pm 3.78\%$ and $74.18 \pm 17.97\%$, respectively).

The study of sperm viability shows that the monthly rate of sperm viability is high from September to December (75.73 \pm 13.56% and 70.36 \pm 8.34%, respectively) with a maximum in September. Instead, the sperm viability rate is low from January to July with a minimum of 63 \pm 11.31% in April.

Seminal pH varies during the year, between 6.5 and 7 with a different trend from that of the other parameters. The monthly average of seminal pH is 6.92 ± 0.10 in January, it decreases to a minimum of 6.63 ± 0.15 in April and then again increases and reaches a value of 6.85 ± 0.19 in July. The same evolution occurs the rest of the year: a decrease from July to October and an increase from October to January (Figure 1).

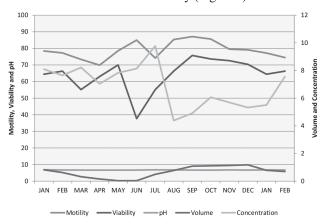


Fig. 1. Monthly variations in semen characteristics of Arbia bucks

Concentration: ×10⁹ ml⁻¹; Motility and Viability: %; Volume: ml

Table 1
Correlation between monthly means of semen parameters

Volume Concentration Motility Viability pΗ -0.6389458 0.395821 0.677198 0.2132307 Volume 1.000000 p = 0.0139p = 0.1612p = 0.0078p = 0.4642-0.63894-0.53393 -0.59655 0.1744583 Concentration 1.0000000 p = 0.0139p = 0.0492p = 0.0243p = 0.55080.395821 -0.5339339 0.155788 -0.063683 Motility 1.000000 p = 0.1612p = 0.04923p = 0.5948p = 0.82880.677198 -0.5965500 0.155788 -0.128563 Viability 1.000000 p = 0.0078p = 0.02433p = 0.5948p = 0.66140.213230 0.17445836 -0.06368 -0.12856 1.0000000 рН p = 0.4642p = 0.5508p = 0.8288p = 0.6614

Comparison between monthly semen parameters

Statistical comparison between sperm parameters studied shows the existence of a positive correlation between the volume, sperm motility and viability and seminal pH, on the one hand, and between sperm concentration and semen pH, on the other share. This correlation is significant only between sperm volume and rate of live sperm (**p < 0.01). A significant negative correlation was observed between sperm concentration and semen volume and sperm motility and viability (*p < 0.05). Also, seminal pH was negatively correlated with motility and sperm viability, but it is, in any case, significant (p > 0.05) (Table 1).

Seasonal variations in seminal parameters

The seasonal average sperm production is highest in autumn (1.1 \pm 0.39 ml) and lowest in spring (0.11 \pm 0.14 ml). The seasons of winter and summer are marked by intermediate productions (0.64 \pm 0.44 ml and 0.67 \pm 0.49 ml, respectively).

Multiple comparison of means using the Tukey (HSD) test shows that the average sperm production recorded in autumn is significantly different from that obtained in summer, winter and spring (*** p < 0.001). Also, the difference was very highly significant between the sperm average production of spring and the other seasons (*** p < 0.001). However, there is no significant difference between the average seasonal sperm volume of summer and winter (p = 0.9896).

Seasonal values of sperm concentration follow a different distribution of that volume; the highest values are recorded in winter and spring while the minimum values are observed in summer and autumn.

The average values of sperm motility expressed by season show that sperm motility is higher in summer and autumn (81.79 \pm 13.42% and 79.16 \pm 10.41%, respectively) and low in winter and especially in spring (74.94 \pm 8.43% and 71.07 \pm 11.28%, respectively).

The average values of sperm viability, expressed by season show that sperm viability is high in autumn (73.73 \pm 9.07%) and lowest in spring (52.38 \pm 20.34%).

Seasonal averages pH of semen goats shows a seasonal variation characterized by high values in Winter and Summer (6.81 ± 0.20 and 6.81 ± 0.19 , respectively) and low values in the Spring and Autumn (6.65 ± 0.15 and 6.66 ± 0.19 , respectively) (Figure 2).

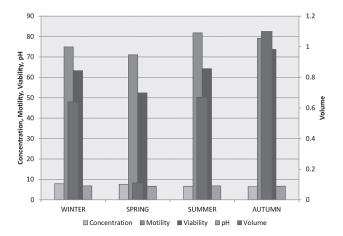


Fig. 2. Seasonal variations in semen characteristics of Arbia buck.

Concentration: ×109 ml⁻¹; Motility and Viability: %; Volume: ml

Comparison between seasonal semen parameters

Statistical comparison between sperm parameters shows the existence of a strong positive correlation between the volume, motility and sperm viability and a negative correlation between sperm concentration and other parameters. The seminal pH is positively correlated with all sperm parameters studied (Table 2).

Table 2
Correlation between seasonal means of semen parameters

Volume Concentration Motility Viability pΗ -0.6565773 0.73029 0.985204 0.1653130 Volume 1.00000 p = 0.8347p = 0.3434p = 0.2697p = 0.0148-0.65657-0.81522-0.774300.145357 Concentration 1.0000000 p = 0.3434p = 0.1848p = 0.2257p = 0.85460.730298 -0.8152228 0.809580 0.451288 Motility 1.000000 p = 0.2697p = 0.1848p = 0.1904p = 0.54870.985204 -0.77430200.809580 0.132614 1.000000 Viability p = 0.2257p = 0.1904p = 0.0148p = 0.86740.165313 0.1453572 0.451288 0.132614 1.000000 рН p = 0.8347p = 0.8546p = 0.5487p = 0.8674

Comparison between sperm parameters evolution and photoperiod

Comparing the studied sperm parameters evolution and the day-length, we see that they move inversely to photoperiod, except for sperm concentration that follows a similar pattern to it. Unlike sperm concentration, ejaculate volume, sperm motility and viability are high values, especially when the photoperiod is less than 12 hours and low values when the photoperiod is greater than 12 hours.

Discussion

The results of our work show that sperm production of Arbia breed goats varies during the year. Sperm characteristics, namely, volume, motility and viability are high in autumn, average in winter and summer and too low in the spring. Instead, the sperm concentration follows an opposite trend to the aforementioned parameters; sperm pH fluctuates between seasons.

Considering that summer and autumn are seasons with decreasing day-length and winter and spring are seasons with increasing day-length, it was agreed that the reproduction of Arbia breed goats is sensitive to photoperiod changes.

In the male, the photoperiod affects, too, endocrine balance characterized by decreases gonadotropins and testosterone secretion which influences testicular development, libido and semen quality (Motlomelo et al., 2002).

Respectively, Hammoudi et al. (2010) and Aït Amrane et al. (2013) reported that in the Arbia male goat the scrotal circumference and sexual behavior on the one hand and testosterone on the other hand are high in autumn and low in spring.

Semen volume

In our study the peak volume spermatic of Arbia breed goats is obtained last with respect to reproductive parameters

of the same breed studied by Hammoudi et al. (2010) and Ait Amrane et al. (2013).

This sequence of physiological processes can be explained by the opinion that suppose a latency which always flows between the testicular initiation process and its full expression at the semen. In addition, the spermatogenic cycle is, in most mammals, about 9 to 12 days, while the total duration of spermatogenesis takes about 40 to 54 days (Yan Cheng., 2008). Chemineau and Delgadillo (1994) reported that increased pulsatile LH activity (amplitude in June-July, frequency in September) results in early testicular growth (July-August) and the testosterone release (September) that stimulates sexual behavior (increased coupling of the sexual behavior test, decreased latency to ejaculation) and semen quality (October).

The seasonal pattern of reproductive activity in the Iranian Markhoz buck is associated with changes in the day length (Farshad et al., 2012). An increase in semen volume, total sperm count per ejaculate was observed during the natural breeding season (summer and autumn) (Talebi et al., 2009).

The average volume values of Baladi and Chami breed goats semen tend to increase significantly from the cold period to the hot period (Abi Saab et al., 2005).

For Spanish Payoya and Verata bucks, there was a clear influence of photoperiod on semen production with an increase in ejaculation volume during the decreasing photoperiod (Perèz, Mateos., 1996; Zarazaga et al., 2009).

Seasonal variations in fresh semen of Serrana breed goat were seen in volume, normal sperm and mid piece abnormalities with better performances in the autumn (Barbas et al., 2006).

In Sudan, the mean semen volume of mature crossbred bucks (Nubian × Saanen) collected during autumn was significantly high compared to those collected during winter and summer (Elsheikh, Elhammali., 2015). Results concerning monthly changes in ejaculate volume of indigenous bucks (Baghdad - Iraq) showed a significant effect of months, which is highest in October being significantly higher than in other months (Hussain et al., 2012).

Instead of our results, the best semen volume and individual motility of local Pakistanian dairy goats were recorded during the spring and the highest concentrations were recorded during the winter (Qureshi et al., 2013). In equatorial area, semen volume of non-defined breed goats in Brazil did not differ between the periods of the year (Aguiar et al., 2013).

Semen concentration

In our study, we found that sperm concentration was negatively correlated strongly and significantly with ejaculate volume. It is high at a time when semen volume is low. This result can be explained by the following points:

The accessory glands are involved in the production of 3 / 4 of ejaculate volume, the remaining 25% being produced by the epididymis. These glands are more active when the testosterone concentration is high during the breeding season and less active when this one is low during the non-breeding season.

Talebi et al. (2009), report in their study that sperm concentration follows an opposite trend to ejaculate volume reflecting seasonal variations in the secretion and release of seminal plasma by the accessory glands.

Sperm concentration was lower during the breeding than the non-breeding season in Alpine, Saanen and Damascus bucks, Payoya, Verata and Malagueňa Spanish male goats (Ritar., 1993; Perèz, Mateos., 1996; Karagiannidis et al., 2000).

During autumn, the sperm concentration of semen Markhoz Iranian bucks remained low and higher concentrations were recorded in spring, winter and summer (Talebi et al., 2009).

In contrast to our study, Abi Saab et al. (2005) and Elsheikh and Elhammali (2015) report that semen concentration of Chami and Baladi breed goats, Nubian and Saanen crossbred, respectively, was higher in autumn than in spring. Similar results were reported by Ahmed et al. (1997) and Hussain et al. (2012).

As well as ejaculate volume, semen concentration in equatorial area (Brazil) did not show seasonal variations during the year (Aguiar et al., 2013).

Sperm motility and viability

Individual motility and spermatozoa viability of Arbia breeds goats are positively correlated with the ejaculate volume. This correlation is very significant between the ejaculate volume and sperm viability. Individual sperm motility and spermatozoa viability appear to be influenced by season, their rate is high in summer and autumn and low in spring. Both parameters change in a similar way during the year, but with low values of sperm viability in relation to their motility. This finding may be explained by a slightly toxic dye owns action and or the time to smear preparation (Hanzen., 2009).

Recent studies have shown that in tropical climates, the season of the year affects the biochemical composition of goat's seminal plasma (Catunda et al., 2009).

Akpa et al. (2013) report that a good concentration of sodium, potassium and calcium in the semen improves sperm concentration and motility of the Nigerian Red Sokoto goat breed.

A similar trend of these semen parameters was found by Karagiannidis et al. (2000), Abi Saab et al. (2005), Talebi et al. (2009) and Elsheikh and Elhammali (2015) who reported that progressive sperm motility and sperm viability rate are high in summer and autumn and low in winter and spring.

A clear influence of photoperiod on the percentage of motile was observed only in Verata bucks that showed an improvement during the decreasing photoperiod (Perèz, Mateos., 1996).

The percentage of motile spermatozoa in semen of non-defined breed goats did not differ between the dry and the rainy period of the year (Aguiar et al., 2013).

Seminal pH

The seminal pH of Arbia breed goats evolves differently from the other parameters studied with a high seasonal average in winter and summer alternating with weak seasonal average in spring and autumn, during the same year. The highest seasonal averages coincide with an increase in sperm concentration and an increase in sperm motility in spring and autumn, respectively. This decrease in pH during these seasons can be explained by its relationship with concentration and sperm vitality. Battaglini (1992) reported the existence of a negative correlation (r = -0.47) between sperm concentration and seminal pH.

The pH of pure semen follows a reverse development of that which was observed for the ejaculate concentration (Barrell, Lapwood., 1979). This reflects, probably, changes in lactic acid production, itself a function of the number of sperm per unit volume and also those of the cellular glycolytic activity (Mann., 1964).

In conclusion, Arbia local breed bucks, at latitude of 35°15'N, display a clear seasonal variation in sperm production. Superior semen quality and quantity were observed in late summer and throughout autumn, while inferior semen characteristics were observed in spring.

Acknowledgements

We wish to thank Mr Benaïchata L., Mr Mâachi M.M., Mr and Mrs Khelil of DNRC, staff of experimental farm of Tiaret Ibn-Khaldoun University, and my nephew Hadj M'hamed for their contribution to the experiments.

References

- **Abi Saab, S., E. Hajj, P. Jammal and R. Yammine,** 2005. Effet de la fréquence de récolte sur la qualité de la semence des boucs Baladi et Chami en anœstrus saisonnier. *Lebanese Science Journal*, **6** (1): 49 58.
- Aboul-Ela M.B. and P. Chemineau, 1988. Seasonality of

- reproductive activity in native sheep and goat breeds and their crosses with introduce breeds. Small Rumin Res and Development in the Near East Proceedings of a Workshop, 2 4 November, 1988, Cairo, Egypt.
- Aguiar, G.V., M.F. Van Tilburg, A.G.V. Catunda, C.K.S. Celes, I.C.S. Lima, A.C.N. Campos, A.A.A. Moura and A.A. Araújo, 2013. Sperm parameters and biochemical components of goat seminal plasma in the rainy and dry seasons in the Brazilian Northeast: the season's influence on the cooling of semen. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 65 (1): 6-12.
- Ahmed, M.M.M., S.A. Makawi and A.A. Gadir, 1997. Reproductive performance of Saanen bucks under tropical climate. Small Rumin Res. 26: 151-155.
- Ait Amrane, A., S.M. Hammoudi, B.T. Belhamiti, S.M.A. Selles, A.R. Benia and A. Kaidi, 2013. Seasonal variation of plasma testosterone levels in Algerian male Arabia goats. *African Jour*nal of Biotechnology, 12 (48): 6785-6790.
- **Akpa, G.N., A.L. Ambali and I.O. Suleiman,** 2013. Relationships between semen cation concentrations, semen characteristics, testicular measurements and body conformation traits in Red Sokoto Goat. *Nature and Science*, **11** (7): 94 99.
- Barbas, J.P., C.C. Marques, M.C. Baptista, M.I. Vasques, R.M. Pereira, S. Cavaco-Gonçalves, R.M. Mascarenhas, N. Poulin, Y. Cognie and A.E.M. Horta, 2006. Reproduction in the goat Serrana breed: seasonal and individual factors affecting fresh and frozen semen performance, in vivo and in vitro fertility. *Animal Products from the Mediterranean Area*, EAAP publication No. 119: 337-342.
- Baril, G., P. Chemineau, Y. Cognié, Y. Guérin, B. Lebœuf, P. Orgeur and J.C. Vallet, 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'Agriculture, FAO, Rome, 231 p.
- Barrell, G.K. and K.R. Lapwood, 1979. Seasonality of semen production and plasma luteinizing hormone, testosterone and prolactin levels in Romney, Merino and Polled dorset rams. *Anim. Reprod. Sci.*, 1: 213-228.
- **Battaglini, M.,** 1992. Fecondazione artificiale, attenti el maschio. *Riv. Coniglic.*, **5:** 47-51.
- Catunda, A.G.V., A.C.N. Campos, J.F. Pereira, I.C.S. Lima, AA. Araújo and G.A. Martins, 2009. Monthly variation in the concentrations of macroelements in the goat seminal plasma in humaid tropical climate. Cienc. Anim. Bras., 10: 1177-1185.
- Chemineau, P., and J.A. Delgadillo, 1994. Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins. *INRA. Prod. Anim*, 7 (5): 315-326.
- Chemineau, P., G. Baril, B. Leboeuf, M.C. Maurel, F. Roy, M. Pellicer-Rubio, B. Malpaux and Y. Cognie, 1999. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 54: 129-142.
- Delgadillo, J.A., M.E. Cortez, G. Duarte, P. Chemineau and B. Malpaux, 2004. Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reprod Nutr Dev*, 44: 183-193.
- Elsheikh, A.S. and N.S. Elhammali, 2015. Semen quality of ma-

- ture crossbred male goats during different seasons. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science, 8 (9): 1-5.
- Evans, G. and W.M.C. Maxwell, 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Sidney: Butterworths, pp. 8-21, 107-141.
- Farshad, A., A. Yousefi, A. Moghaddam and B. Khalili, 2012. Seasonal Changes in Serum Testosterone, LDH Concentration and Semen Characteristics in Markhoz Goats. Asian-Aust. J. Anim. Sci., 25 (2): 189-193.
- Hammoudi, S.M., A. Aït-Amrane, T.B. Belhamiti, B. Khiati, A. Niar and D. Guetarni, 2010. Seasonal variations of sexual activity of local bucks in western Algeria. African Journal of Biotechnology, 9 (3): 362-368.
- Hanzen, C., 2009. Propédeutique de l'appareil reproducteur mâle et examen du sperme des ruminants. Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogénologie des Animaux de Production.
- Hussain, S.O., S.F.A. Al-Zubaidi and S.S. Al-Dujaily, 2012. Study the effect of seasonal months on buck semen using modified Tris solution for sperm motility following cryostorage. Euphrates Journal of Agriculture Science, 4 (4): 13-23.
- Karagiannidis, A., S. Varsakeli, C. Alexopoulos and I. Amarantidid, 2000. Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. Small Rumin. Res. 37: 125-130.
- Mann, T., 1964. The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract. Methuen Co. Edit., p. 89.
- Motlomelo, K.C., J.P.C. Greyking and L.M.J. Schwalbach,

- 2002. Synchronisation of œstrus in goats: the use of different progestagen treatments. Small Rumin. Res, 45: 45-49.
- Perèz, B. and E. Mateos, 1996. Seasonal variations in plasma testosterone levels in Vérata and Malgueňa bucks. Small Rumin Res, 15: 155-162.
- Qureshi, M.S., D. Khan, A. Mushtaq and S.S. Afridi, 2013. Effect of extenders, postdilution intervals, and seasons on semen quality in dairy goats. Turk J Vet Anim Sci., 37: 147-152.
- Ritar, A.J., 1993. Control of ovulation, storage of semen and artificial insemination of fibre-producing goats in Australia: a review. Aust. J. Exp. Agric, 33: 807-820.
- Talebi, J., M. Souri, A. Moghaddam and M. Mirmahmoodi, 2009. Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran. Small Rumin Res, 85: 18-22.
- Yan Cheng, C., 2008. Molecular Mechanisms in Spermatogenesis. Center for Biomedical Research, The Population Council, New York, USA. Advancecs in Experimental Medicine and Biology, volume 636.
- Zarazaga, L.A., J.L. Guzman, C. Dominguez, M.C. Pérez and R. Prieto, 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. Anim. Reprod. Sci, 87: 253-267.
- Zarazaga, L.A., J.L. Guzman, C. Dominguez, M.C. Pérez and R. Prieto, 2009. Effects of season and feeding level on reproductive activity and semen quality in Payoya buck goats. Theriogenology, 71: 1316-1325.

Received October, 3, 2017; accepted for printing May, 18, 2018