



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

L'évaluation de la fonction sexuelle chez l'étalon

Présenté par
Sellali Mohamed Chihab

Devant le jury :

Président(e) :	BELALA R.	MCA	ISV-BLIDA
Examineur :	DJOUDI M.	MCB	ISV-BLIDA
Promoteur :	YAHIMI A.	MCB	ISV-BLIDA

Année : 2019/2020

sommaire

Tableaux & figures 1

DEDICACE 1

Résumé..... 1

Abstracts..... 1

ملخص..... 1

Introduction générale 1

Premier chapitre..... 5

- I. L'appareil génital du mâle : rappels anatomiques 6
 - 1. Les enveloppes des testicules ou bourses testiculaires : 6
 - 2. Les testicules :..... 6
 - 3. L'urètre du mâle (canal uro-génital) :..... 7
 - 4. Glandes annexées à l'urètre :..... 7
 - 5. La verge ou pénis :..... 8
- II. Physiologie de la reproduction chez l'étalon : 9
 - 1. La spermatogénèse et ses spécificités chez l'espèce équine :..... 9
 - a) Etapes de la spermatogénèse 9
 - b) Les cellules de sertoli :..... 10
 - c) Les cellules de Leydig :..... 10
 - 2. La régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez l'étalon :..... 11
 - a) L'axe hypothalamo-hypophysaire :..... 11
 - b) Les hormones testiculaires :..... 12
 - c) la régulation de la fonction de reproduction : 12
 - 3. La puberté chez l'étalon : 13

Deuxième chapitre 14

Introduction: 15

Examen clinique :..... 15

- I. L'examen général : 15
 - 1. Examen de sa condition physique : 15
- II. L'examen spéciale : 16
 - 1. L'appareil reproducteur : 16
 - a) -Les organes externes : 16
 - b) -Les organes internes : 17
 - 2. L'examen du sperme : 18
 - a) Les techniques de récolte : 18
 - b) Examens du sperme proprement dit:..... 20
 - 1. Le spermogramme: 20
 - i. Examen macroscopique : 20
 - ii. Examen microscopique : 22
 - 2. Le spermocytogramme:..... 24

Troisième Chapitre: 26

Introduction 27

- I. Les différents types d'insémination artificielle : 27
- II. Pratiques de l'insémination : 27
 - 1. Préparation de la jument : 27
 - 2. Préparation de la dose : 28
 - 3. Mise en place de la semence : 29

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

Tableaux & figures

Tableaux :

Tableau n 01 : Caractéristiques de la semence d'étalon.

Tableau n 02 : Classification des anomalies morphologiques des Spermatozoïdes.

Figures :

Figure n 01 : Testicule et épiddyme gauches du cheval. Conformation et moyen de fixité

Figure n 01 : Schéma de l'aspect médial de l'urètre droit de l'étalon

Figure n 01 : Etapes de la spermatogénèse.

Figure n 01 : Schéma de la régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez l'étalon

Figure n 01 : Partie libre du pénis et prépuce du Cheval

Figure n 01 : Palpation des anneaux vaginaux par voie transrectale

Figure n 01 : Technique de récolte de semence chez l'étalon à l'aide d'un vagin artificiel

Figure n 01 : Observation d'une goutte spermatique au microscope à contraste de phase

Figure n 01 : Exemples d'anomalies morphologiques de la queue de spermatozoïde

Figure n 01 : Nettoyage de la région périnéale de la jument.

Figure n 01 : L'opération d'insémination.

DEDICACE

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédié mon travail a mes très chers respectueux et magnifique parents qui m'ont soutenus au long de ma vie ainsi a mes sœurs et mon frère , en témoignage de la fraternité, avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès.

A tous mes amis en particulier

O.Abdraouf , O.Med rached, S.Youcef , S.iddir, S.abdrahman, S.hamza , H. Med amine. À qui je souhaite le succès, en les remerciant pour l'amitié qui nous a unis.

A toutes les personnes qui m'ont aidé ou encouragé au long de mes études.

Et en fin a tous mes professeurs de l'institut des sciences vétérinaires Blida.

SELLALI MED CHIHAB

Résumé

Les principales particularités de l'anatomie des organes génitaux mâle chez le cheval sont rappelées puis la physiologie de la reproduction des mâles et les techniques de maîtrise de la reproduction sont envisagées. Les femelles sont mise à la reproduction généralement vers 2 ou 3 ans et les mâles vers 3 ou 4 ans. Des cycles oestriques de 3 semaines environ (sans fécondation) ont lieu pendant la ou les saisons sexuelles. L'oestrus est très long et de durée variable (6 à 8 jours le plus souvent), et l'ovulation spontanée se produit entre 48 et 24 heures avant la fin.

Des différents examens cliniques sont mise en place pour confirmer la bonne sante de l'étalon et sa capacité physique pour cet opération ; d'autres examens para-cliniques sont pratiqués pour tester la bonne qualité de la semence .

Pour pratiquer l'insémination artificielle, le sperme est collecté le plus souvent dans un vagin artificiel. Le volume est important, de l'ordre de 30 à 150 ml en moyenne, une partie étant constituée d'un gel. Le sperme filtré et dilué peut être utilisé soit frais, soit réfrigéré (dans les 10 heures), soit congelé après centrifugation pour éliminer le plasma séminal. En moyenne 200 millions de spermatozoïdes dans 15 à 30 ml sont mis en place par le col utérin dans le corps de l'utérus. Les résultats sont au moins équivalents à ceux de la monte naturelle avec du sperme frais et légèrement inférieurs avec du sperme congelé.

Abstracts

The characteristics of male genital organs anatomy are mentioned, then the male reproduction physiology, and the reproduction control techniques are considered. Females are usually mated at 2 or 3 years of age and males at 3 or 4 years of age. Oestral cycles of about three weeks (without fecundation) occur during sexual seasons. Oestrus is very long and with variable lengths (six to eight days most often), and a spontaneous ovulation occurs 48 to 24 hours before the end.

Various clinical examinations are set up to confirm the good health of the stallion and his physical capacity for this operation; other para-clinical examinations are carried out to test the good quality of the semen.

To perform artificial insemination, sperm is usually collected with an artificial vagina. The volume is high, about 30 to 150 ml on average, some being a gel. The semen, filtrated and diluted, can be used fresh, or refrigerated (up to 10 hours), or frozen after centrifugation to eliminate seminal plasma. On average 200 million spermatozoa in 15 to 30 ml are put in the uterine body through the uterine cervix. Results are at least as good as those from natural mating with fresh semen, and slightly lower with frozen semen

ملخص

منا بالتذكير بالخصائص التشريحية و الفيزيولوجية الخاصة بالجهاز التناسلي للخيل مع ذكر مختلف التقنيات الخاصة بالتكاثر عند هذه الفصيلة تكون الفرس قابلة للتزاوج عند بلوغها سن العامين حتى الثلاث سنوات اما بالنسبة للمهور فمن سن الثلاث حتى اربع سنوات عند موسم التزاوج تصل مدة الدورة الشهرية عند الفرس لثلاث اسابيع اما مدة الشبق فيمكن ان تصل حتى لثمانية ايام تحدث فيها الاباضة قبل نهاية هذه المرحلة ب24 حتى 48 ساعة

تقام العديد من الفحوصات السريرية من اجل معرفة قدرة و قابلية المهر للقيام بهذه العملية كما تقام فحوصات اخرى مخبرية و غيرها لمعرفة جودة السائل المنوي للقيام بعملية التلقيح الاصطناعي يتم الحصول على المني بواسطة مهبل صناعي تكون الكمية المتحصل عليها من 30مل الى 150مل و لسماكة هذا السائل يتم تخفيفه و تصفيته

يمكن استخدامه في عملية التلقيح مباشرة او بعد حفظه في الثلجة حتى 10 ساعات او مجمدا بعد وضعه في جهاز الطرد المركزي و تصفيته من السائل عادة يتم وضع كمية 15مل حتى 30 مل محتوية على حوالي 200 مليون حيوان منوي في رحم الفرس

في عملية التلقيح الاصطناعي باستعمال السائل المنوي مباشرة بعد الاستخراج تكون النتائج مقارنة لتلك الخاصة بالتزاوج الطبيعي

اما عند استعمال السائل المنوي المجمد فتكون النتائج اقل نجاحا.

Introduction générale

Les différentes techniques de reproduction équine :

Les techniques de reproduction sont plus ou moins complexes. Elles varient essentiellement selon la présence ou non de l'étalon dans l'acte de reproduction. Le choix d'une technique dépendra de la disponibilité de la semence de l'étalon choisi, de sa fertilité par cycle attendue, des réglementations et du coût de la technique très variable, qui doit demeurer en rapport avec la valeur économique du poulain à naître. Parmi les techniques utilisées à nos jours on peut citer :

La monte en liberté

La monte en main

L'insémination artificielle

Le transfert d'embryon ou transplantation embryonnaire (TE)

Technique d'Insémination Artificielle:

L'Insémination Artificielle équine consiste à récolter la semence d'un étalon, à la conditionner en doses et à la déposer ensuite dans l'utérus de la jument en chaleur. Cette technique de monte peut être mise en œuvre par des inséminateurs, des chefs de centres d'insémination équine ou des vétérinaires.

Les examens clinique de l'étalon reproducteur :

On fait un examen clinique général qui débute dès le premier regard porté sur l'animal. Il doit être dans la mesure du possible réalisé dans une pièce calme, isolée, éclairée et à température confortable

on passe après vers l'examen clinique spéciale qui concerne les différents systèmes en relation avec cette opération (locomoteur, cardio-vasculaire, nerveux, respiratoire...etc.)

Comme une dernière étape de l'examen clinique c'est celle de la fonction génitale qui a pour but d'évaluer la capacité reproductrice de l'étalon

Cet examen se divise en deux parties : l'examen des organes génitaux externes et L'examen de l'appareil génital interne.

L'examen de la semence :

L'évaluation de la semence est une étape importante pour estimer la fertilité du mâle. L'évaluation de la semence fraîche a pour but d'évaluer le fonctionnement testiculaire et épидидymaire alors que l'évaluation de la semence congelée permet d'évaluer les dommages subis par les spermatozoïdes au cours du processus de congélation

Partie bibliographique

Premier chapitre :

Anatomie-physiologie de l'appareil reproducteur chez le cheval

Introduction :

Les équidés domestiques sont des mammifères supérieurs, chez qui l'appareil génital a pour fonction la reproduction ; il contribue ainsi à la conservation de l'espèce au contraire de tous les autres appareils qui concourent à la sauvegarde de l'individu. A l'inverse également des autres appareils, l'appareil génital est différent chez le mâle et la femelle.

I. L'appareil génital du mâle : rappels anatomiques

L'appareil génital du mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration du sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales femelles. Il se compose de trois grandes parties : les testicules, les voies spermatiques et de l'urètre.

1. Les enveloppes des testicules ou bourses testiculaires :

De la surface vers la profondeur, ces bourses sont constituées de cinq tuniques superposées, elles-mêmes pouvant être subdivisées en plusieurs plans. Il s'agit du scrotum, du dartos, du fascia spermatique externe, du crémaster et de la fibro-séreuse, divisée en fascia spermatique interne et tunique vaginale. (BARONE, 2001).

2. Les testicules :

Les testicules, glandes génitales du mâle, sont logés dans les bourses en région inguinale et ont une double fonction : une fonction gamétogène (production des spermatozoïdes) et une fonction endocrine (production des hormones sexuelles).

Les voies d'excrétion du sperme ou voies spermatiques s'étendent des testicules jusqu'au sinus uro-génital.

Les premiers segments de ces voies sont constitués par les tubes droits, le *retetestis* et les canalicules efférents. Puis ces voies spermatiques se poursuivent par un long conduit qui présente deux segments nettement différenciés : la partie proximale, l'épididyme, et la partie distale, le canal déférent. Ce dernier va jusqu'à l'urètre, qui représente le sinus uro-génital. Dans sa partie terminale, le canal déférent présente des dépendances glandulaires, dont la principale est la glande vésiculaire ou glande séminale. BARONE (2001).

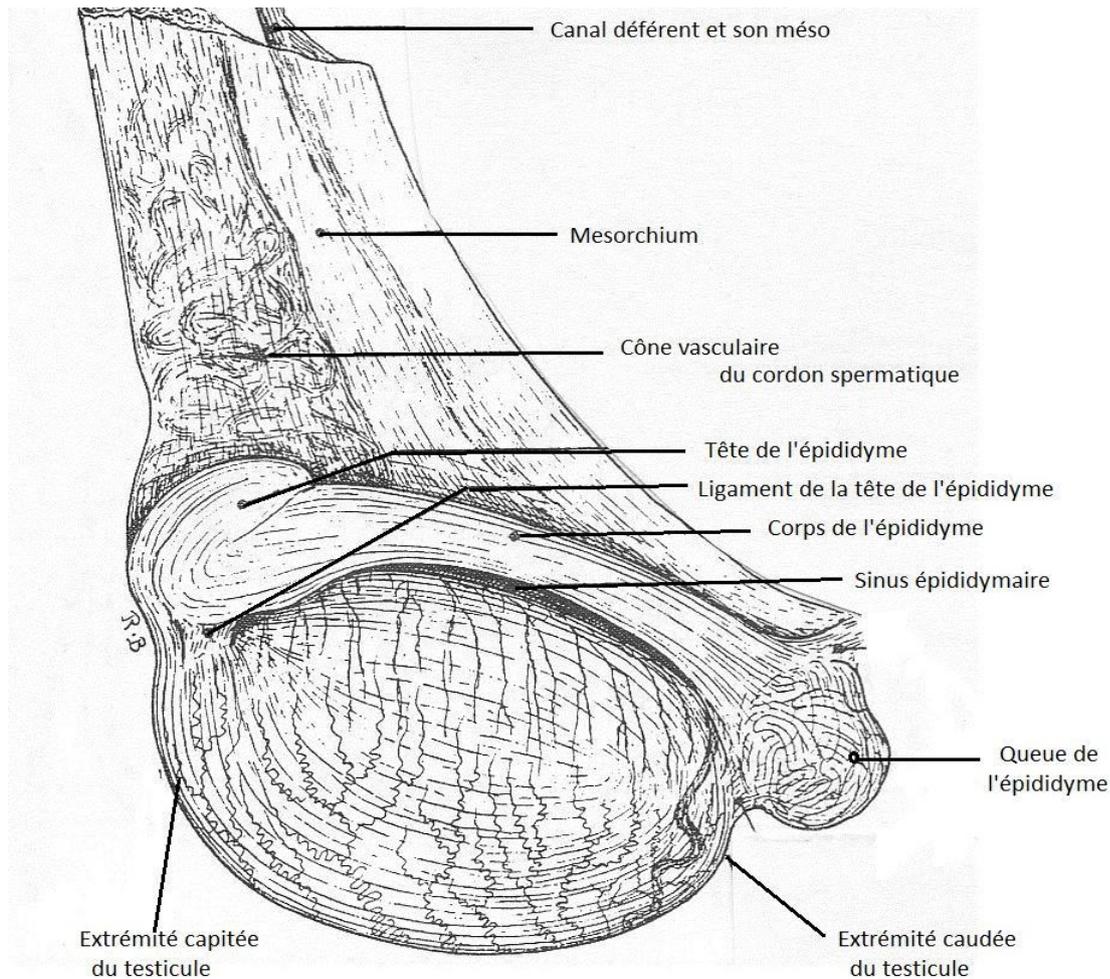


Figure : 01

Testicule et épидидyme gauches du cheval. Conformation et moyen de fixité. (BARONE, 1956)

3. L'urètre du mâle (canal uro-génital) :

L'urètre mâle est un long conduit impair ayant pour fonction l'excrétion de l'urine et aussi celle du sperme. Il fait suite au col de la vessie ; près de son origine, il reçoit le débouché des voies spermatiques. Il longe le plancher pelvien, puis sort du bassin et se poursuit dans le pénis, à l'extrémité duquel il se termine par le méat urinaire. BARONE (2001).

4. Glandes annexées à l'urètre :

A l'urètre sont annexées des glandes dont les sécrétions sont déversées au moment de l'éjaculation et diluent le sperme, lui donnant ainsi sa composition finale. L'une de ces glandes est impaire et volumineuse : il s'agit de la prostate. Les autres, plus petites et paires, constituent les glandes bulbo-urétrales. (BARONE, 2001).

5. La verge ou pénis :

Le pénis est l'organe copulateur du mâle ; il est essentiellement constitué de formations érectiles. Les principaux composants du pénis s'agit du corps caverneux, du corps spongieux de l'urètre et du corps spongieux du gland, qui sont des formations érectiles annexées à la portion pénienne de l'urètre. Ils sont complétés par des fascias, des muscles et un tégument.

Les muscles du pénis sont au nombre de trois. Le muscle bulbo-spongieux est un muscle impair, strié et appartient au corps spongieux de l'urètre. Le muscle ischio-caverneux est aussi un muscle strié mais pair et il couvre la racine du pénis correspondante. Il joue un rôle important lors de l'érection en comprimant les vaisseaux et la racine du pénis. Enfin, le muscle rétracteur du pénis est un muscle pair, formé de fibres musculaires lisses et de fibres élastiques. Ce muscle permet de ramener le pénis dans sa position de repos, après l'érection.

La partie libre de la verge est entièrement revêtue par un tégument mince et généralement pigmenté. (BARONE, 2001).

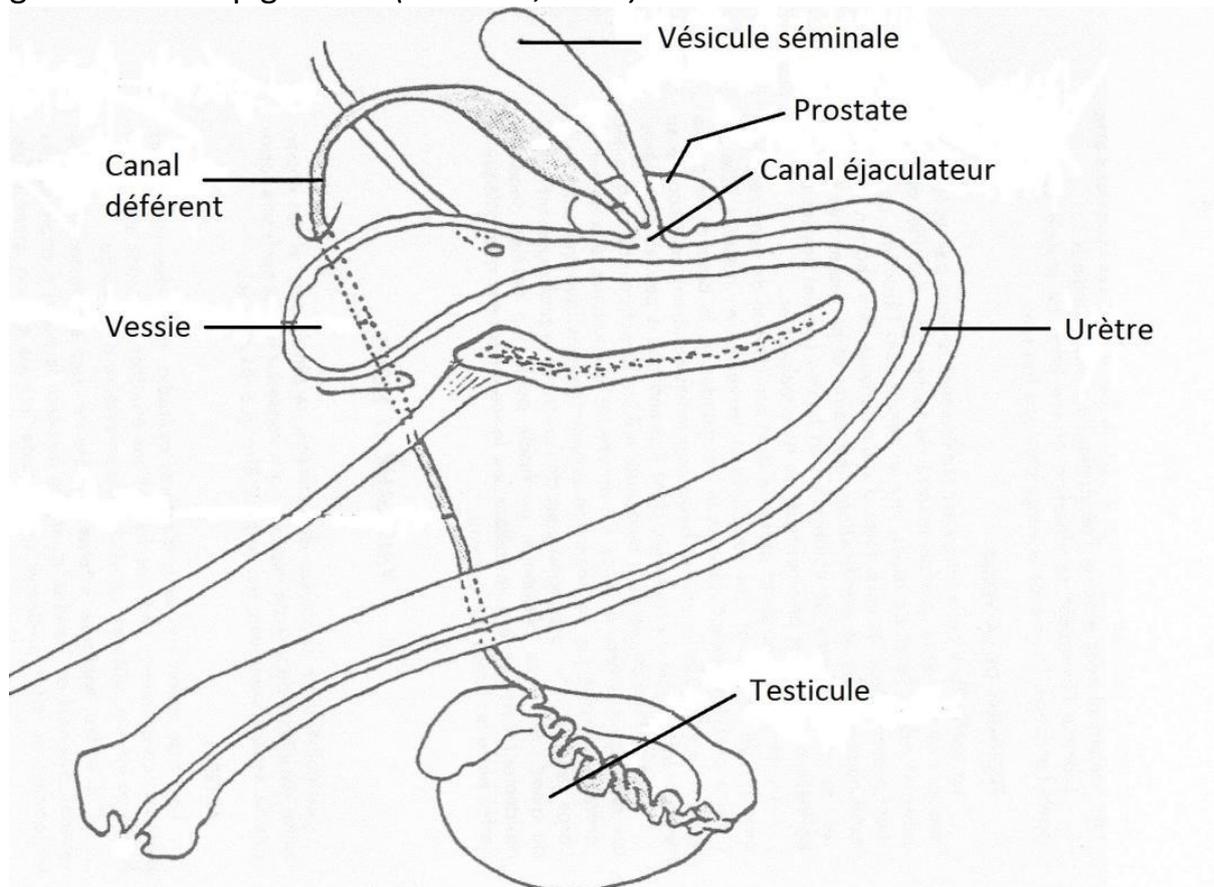


Figure : 02

Schéma de l'aspect médial de l'urètre droit de l'étalon.
(BARONE, 2001)

II. Physiologie de la reproduction chez l'étalon :

1. La spermatogénèse et ses spécificités chez l'espèce équine :

La spermatogénèse débute au moment de la puberté, qui survient entre 15 et 21 mois d'âge chez l'étalon (AMANN, 2011).

L'épithélium spermatogène, situé au niveau des tubules séminifères, est constitué par l'ensemble des cellules dérivées des gamétoctes (cellules à l'origine des spermatogonies) et qui interviennent dans les différentes étapes de la spermatogénèse : spermatogonies, spermatocytes primaires, spermatocytes secondaires et spermatides (AMANN, 1993).

a) Étapes de la spermatogénèse :

La spermatogénèse se déroule au sein des tubules séminifères des testicules. Trois grandes étapes sont nécessaires pour passer d'une spermatogonie à un spermatozoïde : la spermatocytogénèse, la méiose et la spermiogénèse (AMANN, 1993).

La spermatocytogénèse dure 19,4 jours chez l'étalon. Elle est caractérisée par une phase de multiplication (par mitoses) et de différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes. La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (LITTLE et HOLYOAK, 1992)

La deuxième étape, qui fait intervenir le phénomène de méiose, dure également 19,4 jours chez l'étalon. Dans un premier temps, cette étape se caractérise par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires. Ensuite, les deux divisions successives de la méiose produisent les spermatides haploïdes (AMANN, 1993).

La spermiogénèse dure 18,6 jours chez l'étalon. Elle se caractérise par l'acquisition de fonctions : à la fin de cette étape, les spermatides sont complètement différenciées. Elles sont alors nommées spermatozoïdes quand elles quittent l'épithélium spermatogène (AMANN, 1993).

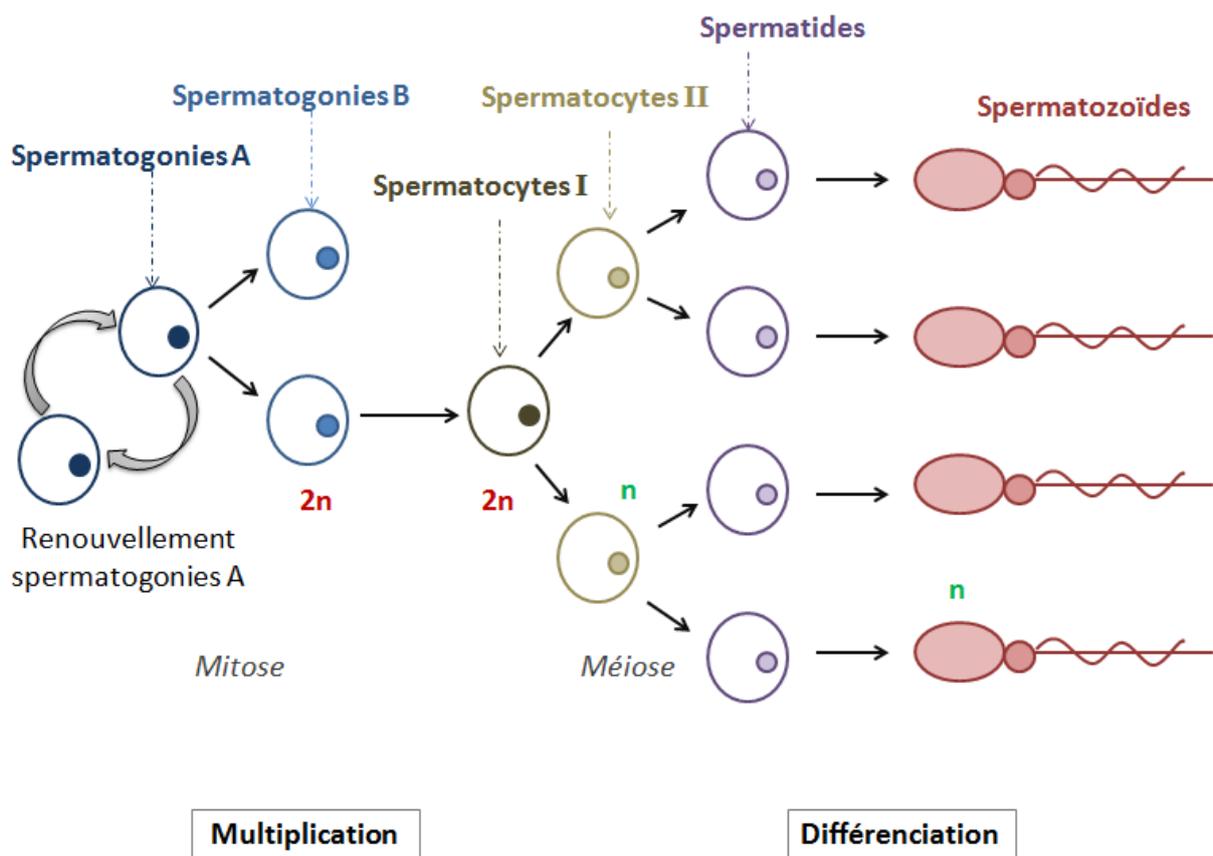


Figure : 03

Etapes de la spermatogénèse. (d'après AMANN, 2011)

b) Les cellules de sertoli :

Les cellules de Sertoli sont des cellules de soutien qui reposent sur la lame basale des tubules séminifères.. L'activité des cellules de Sertoli est sous la dépendance de la FSH (*Follicle-Stimulating Hormone*), hormone hypophysaire et la testostérone, sécrétée par les cellules de Leydig. (AMANN, 2011).

c) Les cellules de Leydig :

Les cellules de Leydig sont localisées dans le tissu interstitiel, en dehors des tubes séminifères, et à proximité des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Leur rôle principal est la synthèse et la sécrétion d'hormones stéroïdiennes (la testostérone...etc.). Ces hormones vont participer à la régulation de l'activité de l'épithélium spermatogène, de l'axe hypothalamo-hypophysaire et des glandes sexuelles accessoires. (AMANN, 1993).

Lors de leur libération dans la lumière des tubules séminifères, les spermatozoïdes ne sont pas fonctionnels, ni fertiles. Ils subissent lors de leur trajet dans les voies génitales mâles toute une série de changements nécessaires à l'acquisition de l'ensemble de leurs fonctions. Lors de cette phase dite de maturation, les spermatozoïdes acquièrent notamment leur mobilité et leur pouvoir fécondant.

2. La régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez l'étalon :

La fonction des organes de l'appareil génital est contrôlée par le système neuroendocrinien. Ce système comprend notamment l'hypothalamus et l'hypophyse. Les testicules ne sont pas des glandes neuroendocrines mais contiennent des cellules neuroendocrines dispersées. Ces cellules sécrètent des hormones en réponse à des signaux chimiques : les cellules de Leydig par exemple assurent la production puis la libération de testostérone en réponse à la sécrétion de LH (*luteinizing hormone*) par l'adénohypophyse.

a) L'axe hypothalamo-hypophysaire :

Sous l'effet de certains stimuli neuronaux, l'hypothalamus synthétise et sécrète des hormones dites releasing hormones, c'est-à-dire qui vont entraîner à leur tour la sécrétion d'hormones par leurs organes/cellules cibles. La GnRH (Gonadotrophine-Releasing Hormone) est l'hormone sécrétée par l'hypothalamus qui est impliquée dans le contrôle de l'activité de reproduction. Elle va agir sur l'adénohypophyse via des récepteurs spécifiques (AMANN, 2011).

L'hypophyse ou glande pituitaire, localisée à la base du crâne, est en relation avec l'hypothalamus via des vaisseaux portes. Cette glande est formée de deux parties : le lobe antérieur correspond à l'adénohypophyse et le lobe postérieur correspond à la neurohypophyse.

Sous l'action de la GnRH, l'adénohypophyse produit deux hormones impliquées dans la fonction de reproduction : la Luteinizing Hormone (LH) et la Follicule-Stimulating Hormone (FSH). Ces hormones sont dites gonadotropes car elles ont une action directe sur les ovaires et les testicules. Chez le mâle par exemple, elles vont stimuler la production d'hormones stéroïdiennes et de spermatozoïdes au niveau des testicules (AMANN, 2011).

La neurohypophyse synthétise différents neuropeptides dont l'ocytocine. L'ocytocine agit notamment sur les muscles lisses en stimulant leurs contractions. Chez le mâle, l'ocytocine stimule la contractilité des voies vectrices des spermatozoïdes : au moment de l'éjaculation, la libération d'ocytocine par la neurohypophyse stimule la contraction des muscles lisses au niveau de la queue de l'épididyme, permettant ainsi leur progression dans les voies génitales mâles (FILIPPI et *al.*, 2002).

b) Les hormones testiculaires :

Les principales hormones testiculaires sont les hormones stéroïdiennes sexuelles. Elles sont synthétisées et sécrétées chez l'étalon par les cellules de Leydig, localisées dans le tissu interstitiel. Elles se divisent en trois familles : les androgènes, les œstrogènes et les progestagènes. Des hormones glycoprotéiques sont également synthétisées au sein du testicule, par les cellules de Sertoli, situées au niveau de l'épithélium séminifère. Il s'agit notamment de l'inhibine et l'activine.

c) la régulation de la fonction de reproduction :

Chez la grande majorité des espèces mammifères, dont les équidés, l'activité sexuelle normale est sous le contrôle du fonctionnement dynamique de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire.

Des stimuli environnementaux tels que la photopériode régulent la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus ; le taux plasmatique de GnRH contrôle la synthèse et la sécrétion de LH et FSH par l'adénohypophyse et les hormones gonadotropes (LH et FSH) régulent la production des androgènes, estrogènes, protéines et autres facteurs locaux sécrétés par les testicules. Finalement, les androgènes, œstrogènes et hormones glycoprotéiques (inhibine, activine) testiculaires exercent des rétrocontrôles négatifs sur l'hypothalamus et l'hypophyse. (ROSER, 2011).

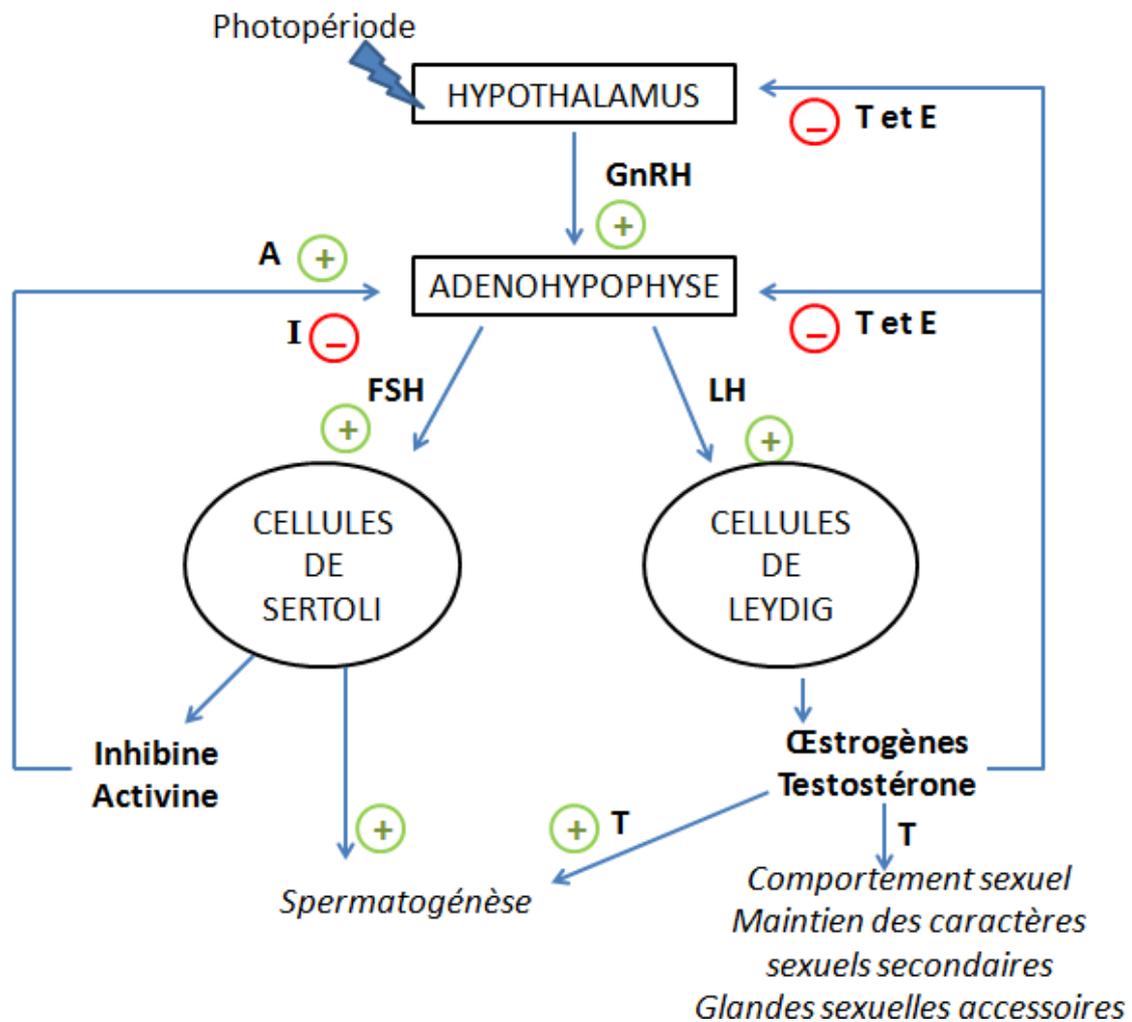


Figure : 04

Schéma de la régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez l'étalon. A : activine ; E : œstrogènes ; I : inhibine ; T : testostérone. (d'après AMANN, 2011)

3. La puberté chez l'étalon :

Chez l'étalon, la puberté se définit comme le moment à partir duquel l'individu est capable de pendre part avec succès dans l'acte de reproduction. Elle a lieu entre 19 et 21 mois dans l'espèce équine (AMANN, 2011)

Suite à la puberté, une période de maturité sexuelle permet à l'étalon d'acquérir sa capacité reproductrice maximale via une augmentation de la taille des testicules, une augmentation de la production journalière de spermatozoïdes et un développement des réserves spermatiques. (AMANN, 2011).

Deuxième chapitre :

Examen général et spécial du système reproducteur chez le cheval

Introduction:

L'évaluation des capacités reproductrices d'un étalon est de tenter de déterminer, si un étalon a les capacités physiques et comportementales Pour saillir des juments en estrus, sans risque de transmission de maladies infectieuses et s'il possède un sperme renfermant un nombre suffisant de Spermatozoïdes vivants pour permettre d'obtenir un taux de gestations satisfaisant parmi un effectif de juments mises à la reproduction avec lui, au cours d'une saison de monte.

Le praticien qui réalise cet examen de l'étalon ne doit pas seulement vérifier la quantité et la qualité des spermatozoïdes contenus dans les éjaculats, mais doit aussi évaluer la libido de l'étalon et son aptitude au chevauchement et à la réalisation des saillies; Il doit essayer de déterminer si l'étalon n'est pas porteur d'anomalies congénitales qu'il risquerait de transmettre à sa descendance ou, qui risqueraient de réduire sa fertilité propre; il doit aussi diagnostiquer les maladies infectieuses qui pourraient être transmises par voie sexuelle ; et en fin il doit rechercher toutes les lésions ou troubles qui risqueraient de réduire la longévité de l'étalon ou la durée de son exploitation comme reproducteur .

Examen clinique :

I. L'examen général :

1. Examen de sa condition physique :

Bien que l'évaluation des capacités reproductrices se focalise beaucoup sur l'état général de l'étalon, il convient de ne pas ignorer d'apprécier sa condition physique. Un examen général est fait en premier lieu.

Une attention particulière doit être portée sur les éléments susceptibles d'affecter les capacités au chevauchement comme, par exemple, une boiterie ou des problèmes de dos ou sur des anomalies qui pourraient être héréditaires comme, par exemple, la cryptorchidie, un bec de perroquet, ou un syndrome de Wobbler. Toute anomalie doit être consignée.

Un examen de tous les appareils (appareil respiratoire, cardio-vasculaire, digestif, nerveux, urinaire, ophtalmique et musculo-squelettique) peut être fait

de manière assez superficielle, bien qu'il faille noter les anomalies et chercher à diagnostiquer celles qui peuvent perturber la fertilité ou les capacités à avoir une activité de reproducteur.

Les tests de laboratoire de routine (test de Coggins, hémogramme, biochimie sanguine, analyse d'urine, coproscopie parasitaire) peuvent être mis en œuvre en parallèle de l'examen clinique afin d'évaluer au mieux l'état de santé de l'étalon.

II. L'examen spéciale :

1. L'appareil reproducteur :

a) -Les organes externes :

L'examen commence naturellement par porter sur les testicules et le pénis qui doivent être rigoureusement normaux

A l'exploration, les testicules doivent se révéler bien développés, ferme, peu<<pendants>> sauf par temps chaud et orageux, non douloureux, sans nodules durs en surface ou en profondeur (orchite), coiffée d'une peau souple non adhérente à la glande elle-même, les bourses étant vides de liquide (hydrocèle). Les cordons qui les surmontent sont de grosseur normale, lisses, réguliers et sans varices (varicocèle).

Le fourreau est bien ouvert pour laisser passer librement le pénis, il évite son emprisonnement en position de repos (phimosi), ou son impossibilité de reprendre sa place après la miction ou l'érection (paraphimosi) ; il ne doit être ni porteur de verrues ou autre tumeur ni paralysé

Le pénis se termine par un orifice bien net qui ne doit pas se trouver en partie supérieure (épispadias) ou inférieure (hypospadias). En dehors d'urine ou de sperme accompagnant les fonctions normales correspondantes, aucun liquide ne doit sourdre à l'extrémité terminale de l'urètre.

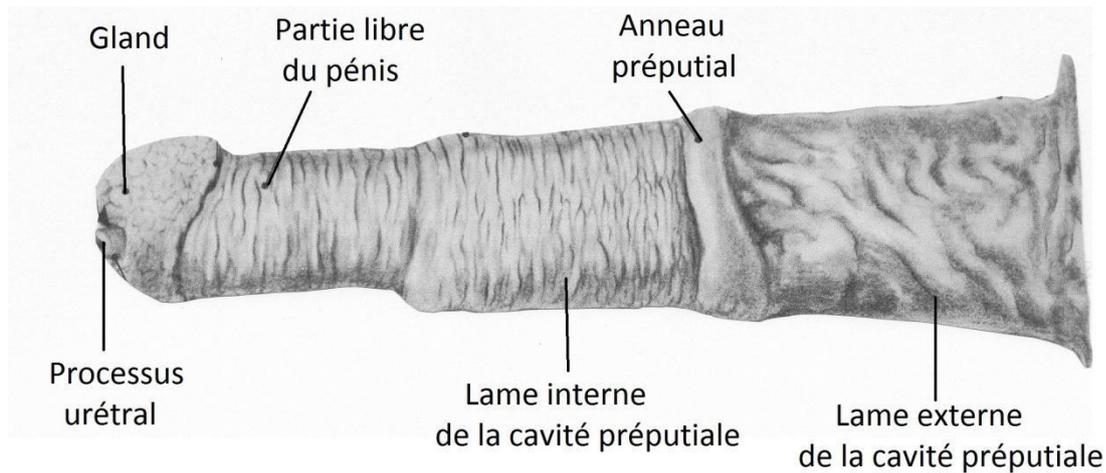


Figure : 05

Partie libre du pénis et prépuce du Cheval. (CONSTANTINESCU, 2010)

De même à l'exception de l'enduit noirâtre qu'on remarque parfois dans le fourreau, la surface de la verge doit être régulière, exempte de suintement ou de sérosités et de mucosités, a fortiori de pus.

b) -Les organes internes :

Les organes génitaux internes sont examinés par palpation transrectal. une contention correcte est de première importance pour réaliser un tel acte.

La main doit être bien lubrifiée, et tous les crottins doivent être éliminés du rectum et du colon afin de pouvoir effectuer un examen correct des structures abdominales et pelviennes.

Les anneaux vaginaux c'est-à-dire les orifices internes des canaux inguinaux sont palpables sous l'aspect de fentes ouvertes en position ventro-latérale par rapport au bord antérieur du bassin .Le canal déférent et le pouls de l'artère testiculaire sont habituellement mis en évidence au niveau de cette ouverture. Il faut évaluer la taille de la fente et juger s'il y a des adhérences ou si des viscères intestinaux sont engagés dans l'ouverture (cas de hernies).le diamètre de cette ouverture inguinale est habituellement de 2 à 3 cm. Une ouverture plus grande peut prédisposer l'étalon aux hernies inguinales et aux hydrocèles scrotaux



Figure : 06

Palpation des anneaux vaginaux par voie transrectale .

(Manuel de reproduction équine)

Certaines glandes annexes sont également identifiables par voie transrectale, il s'agit des ampoules et de la prostate bilobée.

Les glandes sexuelles annexes peuvent également être examinées par échographie transrectale.

Néanmoins les affections des glandes annexes chez l'étalon sont inhabituelles et très exceptionnelles

2. L'examen du sperme :

a) Les techniques de récolte :

Le vagin artificiel :

Cette technique nécessite la présence d'une jument en plein œstrus pour jouer le rôle du boute-en-train (Noakes et al. 2009).

Ces avantages sont un faible coût, l'absence de contraintes physique ou chimique pour l'animal. La collecte au vagin artificiel donne un éjaculat naturel, induit par une libido nécessaire et suffisante, et produit par un comportement physiologiquement proche du coït. C'est pourquoi elle permet d'obtenir le meilleur sperme possible à un moment donné.



Figure : 07

Technique de récolte de semence chez l'étalon à l'aide d'un vagin artificiel. (Clichés E.ROSSET)

L'électro-éjaculation:

La technique d'électro-éjaculation consiste à stimuler de façon électrique les centres nerveux responsables de l'émission et de l'éjaculation. La stimulation électrique est réalisée à travers la muqueuse rectale par le passage d'un courant de façon diffuse dans la sphère génitale. Ce sont le nerf hypogastrique responsable de l'émission et les nerfs honteux interne et pelvien, responsables de l'érection et de l'éjaculation, qui sont stimulés. (Noakes et al. 2009).

L'avantage de cette technique est qu'elle ne nécessite pas la présence d'une femelle en chaleurs et qu'elle convient à tout animal pouvant être anesthésié. De plus, quand l'érection a lieu, elle permet un examen attentif de la verge, ce qui est plus difficilement réalisable lors d'une récolte avec un vagin artificiel.

Le flush ou l'aspiration de l'épididyme :

Le prélèvement de l'épididyme est une technique très intéressante dans le cas d'une blessure grave compromettant la capacité de reproduire de l'animal, ou encore en cas de castration pour des raisons médicales ou de décès. Elle est pratiquée dans l'espèce équine. Cela permet de conserver le sperme d'animaux

de grande valeur génétique après leur décès pour des expérimentations diverses ou une congélation en vue d'insémination artificielle ou de fécondation *in vitro*.

Donc on peut la considérer comme une technique d'urgence.

Le cathétérisme urétral après injection d'alpha-2 agonistes:

L'utilisation d'agents α_2 -agonistes provoque, chez l'étalon, l'éjaculation d'un sperme de bonne qualité, sans nécessité d'accouplement. Cette éjaculation induite pharmacologiquement permet le prélèvement de la semence de chevaux indisposés à la monte naturelle (fracture, blessure débilitante...) et ne nécessite pas d'anesthésie générale, contrairement à l'électro-éjaculation. (Zambelli et al. 2008).

b) Examens du sperme proprement dit:

1. Le spermogramme:

Le spermogramme permet d'évaluer la qualité de la semence au niveau macroscopique et microscopique. Celle-ci est fortement corrélée à sa fertilité, sa survie dans les voies génitales femelles et sa résistance aux différentes techniques de conservation.

Le spermogramme comprend l'étude du sperme au sens strict c'est-à-dire la détermination du volume et de la couleur de l'éjaculat ainsi que de la concentration en spermatozoïdes, du nombre total de spermatozoïdes et du pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat (Pena Martinez 2004).

i. Examen macroscopique :

Le volume :

Le volume de l'éjaculat est évalué par lecture directe sur le tube de collecte gradué juste après la récolte. Celui-ci est très variable en fonction des individus, de leur âge, de leur taille et de la fréquence des récoltes ainsi que de la méthode de récolte. Par exemple, le volume d'un éjaculat obtenu par électro-éjaculation est nettement supérieur à celui obtenu spontanément à l'aide d'un vagin artificiel.

La mesure du volume donne quelques indications, elle est importante pour calculer le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat mais elle n'est pas indicatrice de la qualité de la semence.

La couleur, l'aspect :

L'aspect de l'éjaculat représente un élément important dans l'évaluation de la semence. Par exemple, il est intéressant de noter que l'intensité de l'opacité de la seconde phase est corrélée à la concentration en spermatozoïdes ainsi un échantillon clair est évocateur d'une azoospermie (absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat).

Normalement, la semence présente un aspect blanc laiteux, homogène mais trouble. Elle est également inodore. La présence d'une odeur anormale peut évoquer une contamination de l'éjaculat par de l'urine, du pus ou des bactéries (Johnston et al. 2001).

Certaines modifications de couleur peuvent orienter vers des affections spécifiques : la couleur jaune indique la présence d'urine ou la présence d'un exsudat inflammatoire ; la couleur verte met en évidence la présence de pus ; la couleur rouge ou brune indique la présence de sang respectivement en nature ou digéré (Johnston et al. 2001).

Le pH :

Le pH doit être mesuré, si possible dans l'heure qui suit le prélèvement, à l'aide d'un pH-mètre correctement étalonné.

Le pH physiologique du sperme est légèrement basique, avec des valeurs de l'ordre de 7,2 à 7,7. La saison, la fréquence des éjaculations et la concentration en spermatozoïdes constituent des facteurs à l'origine de variation des valeurs de ce pH du sperme normale des étalons. une valeur anormalement élevée du pH du sperme peut être liée a une contamination de l'éjaculat par de l'urine ou du savon ou à l'existence de lésions inflammatoires internes de l'appareil génital.

L'osmolarité

La mesure de l'osmolarité s'effectue à l'aide d'un osmomètre. La mesure de l'osmolarité peut également fournir de précieux renseignements afin d'utiliser les diluants adaptés pour limiter au maximum le choc osmotique lors des processus de conservation.

ii. Examen microscopique :

Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes :

La mobilité des spermatozoïdes, c'est-à-dire le pourcentage de spermatozoïdes mobiles, doit être évaluée le plus rapidement possible, dans les 10 à 15 minutes après la récolte. Elle peut être évaluée par observation au microscope ou de façon automatisée.

Evaluation au microscope :

Lors d'une évaluation au microscope, on observe une goutte de phase spermatique déposée entre lame et lamelle. Idéalement, l'observation doit se faire sur un microscope à contraste de phase, muni d'une platine chauffante à 37°C pour éviter un ralentissement des spermatozoïdes dû à leur refroidissement. La mobilité est diminuée par les températures extrêmes, les diluants acides, l'urine, le pus, le sang et le lubrifiant. Il faut noter que la mobilité est augmentée à proximité des bulles d'air et est diminuée au niveau des bords de la lamelle.

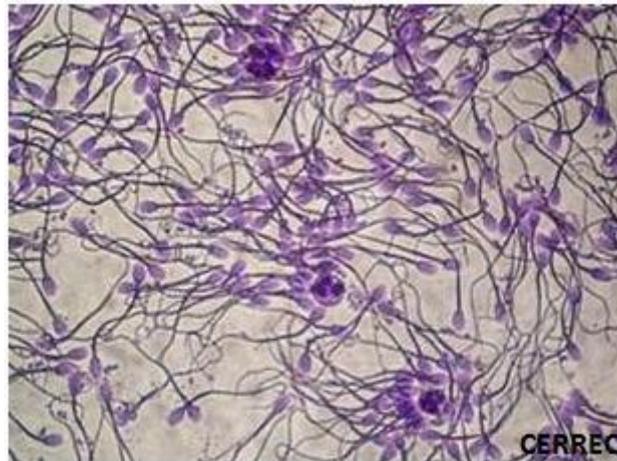


Figure : 08

Observation d'une goutte spermatique au microscope à contraste de phase. (Cliché CERREC)

Evaluation automatisée :

Les importantes variations liées à l'évaluation subjective de la mobilité des spermatozoïdes au microscope ont incité les chercheurs à développer des

systèmes d'évaluation objectifs et standardisés, les systèmes d'analyse de la semence assistée par ordinateur ou systèmes CASA (Computer Assisted Semen Analysis).

Le système CASA est une méthode d'analyse de sperme informatisée qui permet d'obtenir des informations objectives et précises sur la proportion de spermatozoïdes mobiles et leur mouvement. Le système détecte les mouvements des spermatozoïdes et suit chaque spermatozoïde séparément dans le temps et l'espace.

Cette méthode a donc l'avantage d'estimer plus précisément la mobilité d'un grand nombre de spermatozoïdes en un minimum de temps, et cela de façon assez simple, après un paramétrage minutieux. De plus, elle peut être utilisée sur de la semence fraîche mais également de la semence réfrigérée ou encore congelée/décongelée.

Evaluation de la numération en spermatozoïdes dans l'éjaculat :

La numération correspond à la détermination du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat. La concentration en spermatozoïdes est déterminée dans un premier temps et va permettre le calcul du nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat qui représente le nombre d'intérêt.

La détermination de la concentration peut être effectuée par des méthodes manuelles ou par des méthodes automatisées réservées aux centres spécialisés (utilisation d'un système CASA).

Chez l'étalon, la méthode par coloration nucléaire à l'iodure de propidium après lyse membranaire et détermination électronique du nombre de noyaux colorés représente actuellement la méthode la plus rapide et la moins biaisée pour évaluer le nombre de spermatozoïdes total dans un éjaculat

Caractéristiques	valeurs
Volume (ml)	70 (30-250)
Concentration ($\times 10^6/\text{ml}$)	120 (30-600)
Mobilité des spermatozoïdes (%)	>60
Pourcentage de spermatozoïdes normaux (%)	>60

Tableau : 01

Caractéristiques de la semence d'étalon. (d'après: Noakes et al. 2009)

2. Le spermocytogramme:

Le spermocytogramme correspond à l'étude de la morphologie des spermatozoïdes. Les pourcentages de spermatozoïdes normaux et anormaux sont déterminés.

Les anomalies morphologiques peuvent être classées de différentes façons :

- en fonction de leur localisation sur le spermatozoïde : anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire ou de la queue

- en anomalie primaire ou secondaire selon leur origine : les anomalies primaires trouvent leur origine au cours de la spermatogenèse alors que les anomalies secondaires apparaissent lors du stockage des spermatozoïdes dans l'épididyme ou les voies urétrales hautes. On peut citer des anomalies tertiaires survenant lors des maniements de l'animal, lors des chocs osmotiques que l'on fait subir au sperme, ou provoquées par la toxicité des colorants.



Figure : 09

Exemples d'anomalies morphologiques de la queue de spermatozoïde. (Brito, 2007)

- en anomalie mineure ou majeure : les anomalies majeures se trouvent souvent associées à une baisse de la fertilité et les anomalies mineures provoquent une diminution de la fertilité seulement si elles sont suffisamment nombreuses. La présence de gouttelettes proximales constitue une anomalie majeure entraînant une diminution de la fertilité.
(Ponthier et al. 2014; Brito 2007; Pena Martinez 2004)

<u>Anomalies du flagelle</u>	Flagelle replié Flagelle rudimentaire ou cassé Flagelle enroulé Gouttelette cytoplasmique distale
<u>Anomalies de la pièce intermédiaire</u>	Pièce intermédiaire dédoublée Déformations de la pièce intermédiaire Gouttelette cytoplasmique proximale
<u>Anomalies de la tête</u>	Tête piriforme Tête repliée Tête décapitée Tête ronde

Tableau : 02

Classification des anomalies morphologiques des spermatozoïdes. (d'après: Rigal, 2008)

Les anomalies les plus fréquemment observées sont celles citées dans le tableau précédent mais on retrouve également les spermatozoïdes micro et macrocéphales, bicéphales, les anomalies d'acrosome, les doubles flagelles, et les têtes, flagelles ou pièces intermédiaires collés. (Zambelli et Cunto 2008).

Troisième Chapitre: l'insémination artificielle chez le cheval

Introduction

L'insémination artificielle est une technique efficace pour augmenter l'utilisation des étalons dans les programmes de mise à la reproduction. Lorsque les conditions de réalisation du prélèvement de sperme, de la manipulation de la semence au laboratoire, de la préparation des doses et de l'insémination elle-même sont bien maîtrisées, il est possible d'obtenir des taux de gestations optimisés. Lorsque les techniques d'insémination artificielle sont mises en place pour des juments ou des étalons qui ont une fertilité propre faible, les taux de gestation sont parfois supérieurs à ceux obtenus en ayant recours aux saillies et à la monte naturelle.

I. Les différents types d'insémination artificielle :

«Insémination artificielle immédiate » : la mise en place (IA) a lieu sans réfrigération, dans l'heure qui suit la récolte.

«Insémination artificielle 12 heures » : la semence est réfrigérée et utilisée dans la journée.

«Insémination artificielle 24 heures » : la semence est réfrigérée et utilisée le lendemain de la récolte.

«Insémination artificielle congelée » : la semence est congelée. Les paillettes seront décongelées juste avant l'insémination.

II. Pratiques de l'insémination :

Quelle que soit la technique d'insémination utilisée, la préparation de la jument et du matériel sont des étapes primordiales pour le bon déroulement de l'insémination et son succès. La préparation de la jument restera la même quelle que soit le type d'insémination réalisé ; en revanche, les techniques de préparation et de mise en place de la semence diffèrent.

1. Préparation de la jument :

Pour réaliser l'insémination dans les meilleures conditions, il est préférable de placer la jument dans un travail et de lui attacher la queue de façon à ce qu'elle soit relevée. Si cela est impossible, le vétérinaire peut avoir recours à un isolement artisanal (porte de box, ballot de paille) ou à la mise en place d'entraves. Dans tous les cas, pour des raisons de sécurité et de réussite, il est important de réaliser l'insémination dans un lieu calme et de limiter le stress

de la jument. Afin de faciliter la mise en place de la semence, le rectum peut être vidé des crottins. La queue doit ensuite être placée dans un protège-queue en plastique avant le nettoyage de la région périnéale afin de limiter les contaminations du tractus génital lors de l'insémination, et ainsi de préserver le tractus génital de la jument et d'optimiser la réussite de l'insémination .

Le lavage de la région périnéale peut se faire à la douchette ou au seau. Une série de trois lavages à la povidone iodée est recommandée, en respectant un protocole classique :

Savonnage de la vulve, puis ses côtés et sous la vulve, en terminant par l'anus. Lors du troisième savonnage, le passage sur l'anus est supprimé.

Lors du passage sur la vulve, il faut prendre garde à ne pas faire rentrer de produit à l'intérieur de celle-ci afin de ne pas irriter la muqueuse génitale.

Une fois les trois savonnages réalisés, la vulve est soigneusement séchée à l'aide de papier essuie-tout. La jument est alors prête pour la mise en place de la semence.



Figure : 10

Nettoyage de la région périnéale de la jument. (A. Gillot)

2. Préparation de la dose :

Au cours de sa manipulation, la dose d'insémination ne doit entrer en contact qu'avec du matériel stérile. Lorsqu'il s'agit de semence fraîche ou réfrigérée (4°C), le matériel est préparé à température ambiante.

La préparation du cathéter diffère en fonction du conditionnement de la dose lors de sa réception. Si la dose est en tube, le protocole est le suivant :

- découper l'enveloppe du cathéter du côté « embout seringue »
- brancher sur cet embout une seringue de 10 ou 20 ml, préalablement remplie avec 5ml d'air
- enfiler le gant de palpation stérile
- sortir le cathéter de son sachet stérile avec la main non stérile
- relever la gaine sanitaire du cathéter avec la main stérile
- introduire le cathéter dans le tube contenant la dose et l'aspirer, terminer en aspirant un peu d'air pour ne pas perdre de semence lors de la suite des manipulations
- remettre la gaine sanitaire en place sur le cathéter.

Si la dose est déjà conditionnée dans la seringue, il suffit d'y aspirer 5 ml d'air avant de la brancher sur le cathéter d'insémination puis d'en pousser le contenu dans celui-ci en respectant les précautions de stérilité citées ci-dessus. Dans les deux cas, les 5 ml d'air permettent lors de la mise en place de la dose dans la jument de vider totalement le contenu du cathéter afin d'inséminer la totalité de la dose.

Lorsque la semence est congelée, la sonde et les seringues doivent préalablement être placées dans une étuve à 35-40°C et les paillettes plongées 30 secondes dans un bain-marie à 35°C.

En fonction du type de sonde utilisée, l'insémination peut se faire directement avec les paillettes (sonde munie d'un stylet poussoir), ou par l'intermédiaire d'une seringue (sonde doublée d'un cathéter). Une fois les paillettes sorties du bain-marie, leur extrémité scellée est coupée à l'aide de ciseaux propres et désinfectés. Si la sonde utilisée est munie d'un stylet, les paillettes sont prêtes à être utilisées ; sinon, leur contenu est vidé dans un tube à essai (préalablement placé à l'étuve) puis aspiré dans une seringue qui sera branchée au bout de la sonde d'insémination.

Pour les vider, l'extrémité scellée préalablement coupée est placée dans le fond du tube à essai, puis la seconde extrémité est coupée à son tour afin de libérer le contenu des paillettes.

3. Mise en place de la semence :

L'insémination artificielle consiste en la mise en place par une intervention humaine de la semence du mâle dans le tractus génital de la femelle. Il existe actuellement deux techniques de mise en place de la semence : la technique classique, qui consiste à déposer la semence dans le corps utérin à la sortie du col, et la technique d'insémination profonde, qui consiste à déposer la semence dans une corne utérine, le plus proche possible de l'oviducte. Cette deuxième technique peut être utilisée pour la mise en place de la semence congelée, et

requiert un suivi plus rapproché des juments et l'identification du follicule ovulatoire afin de déposer la semence dans la corne utérine.

Le protocole d'insémination est le suivant :

- Protéger l'ensemble [extrémité du cathéter et gaine sanitaire] en le plaçant dans le creux de la main
- Lubrifier le dos de la main à l'aide de gel stérile non spermicide
- Introduire la main jusqu'au fond du vagin
- Repérer l'entrée du col de l'utérus et introduire l'index dans le canal cervical
- Faire progresser le cathéter en dessous de l'index, en l'orientant vers le bas, et en retenant la gaine sanitaire qui reste ainsi dans le vagin
- Pousser le cathéter dans l'utérus sur environ 10 cm
- Mettre la seringue en position verticale, et pousser doucement la dose
- Retirer le matériel de la jument et rincer le périnée et la vulve.



Figure : 11

L'opération d'insémination . (Clichés IFCE)

Lors de l'insémination artificielle profonde, la même technique est utilisée, mais une fois le col passé, la sonde est orientée dans la corne utérine concernée en s'aidant par palpation transrectale à l'aide de l'autre main. Afin de faciliter l'introduction de la sonde dans la corne, une traction latérale sur la corne opposée peut être réalisée, permettant ainsi l'alignement du corps et de la corne concernée. Une fois la jonction utéro-tubaire atteinte, la semence peut être déposée. Le matériel est ensuite retiré et la corne serrée entre les doigts de l'opérateur quelques secondes afin de maintenir en place le contenu déposé.

Dans les deux cas, la technique idéale pour travailler en conditions stériles est d'utiliser un double gant sur la main introduite dans le tractus génital. Avec cette technique, les souillures de l'entrée de l'appareil génital restent sur le gant externe et la main introduite jusqu'au col est alors plus propre.

Le double gant est utilisé de la façon suivante :

- Enfiler un gant stérile
- Prendre le cathéter d'insémination et le protéger dans le creux de sa main comme précédemment
- Enfiler le deuxième gant à moitié
- Couper le bout du deuxième gant et en tenir l'extrémité coupé dans sa main
- Lubrifier le dos de la main à l'aide de gel stérile non spermicide
- Introduire sa main dans l'appareil génital et lâcher le deuxième gant après avoir passé la vulve
- Retenir l'avancée du deuxième gant avec la main libre pendant la progression de la main stérile jusqu'au col.

Toutes ces étapes permettent ainsi de réaliser l'insémination dans les meilleures conditions et d'optimiser le résultat. Cependant, malgré l'ensemble de ses recommandations, il existe encore de nombreuses variations des pratiques sur le terrain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

BARONE R, TAGAND R, (1956), Anatomie des équidés domestiques. Tome second. Splanchnologie et angiologie. Fascicule III. Appareil uro-génital. Péritoine, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

BARONE R, (2001), Anatomie comparée des Mammifères Domestiques. Tome 4. Splanchnologie II. Appareil uro-génital, Foetus et annexes, Péritoine et topographie abdominale. 3ème Edition. Eds Vigot, Paris

AMANN RP, (1993), Physiology and Endocrinology. In: McKINNON AO, VOSS JL (eds), Equine Reproduction, 1ed., Lea & Febiger eds, Philadelphia

AMANN RP, (2011), Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), Equine Reproduction, 2ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell

LITTLE TV, HOLYOAK GR, (1992),
Reproductive anatomy and physiology of the stallion.
Vet Clin North Am Equine Pract, 8 (1),

FILIPPI S, VANNELLI GB, GRANCHI S, LUCONI M, CRESCIOLO C, MANCINA R, et al., (2002), Identification, localization and functional activity of oxytocin receptors in epididymis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 193

ROSER JF, (2011), Endocrine-Paracrine-Autocrine Regulation of Reproductive Function in the Stallion. In: Mc KINNON AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), *Equine Reproduction*, 2ed.

CONSTANTINESCU GM., CONSTANTINESCU IA., (2010), The Pelvis, Pelvic Viscera, Tail and External Genitalia. In: Clinical dissection guide for large animals : Horses and large Ruminants. 2nd eds., Omphaloskepsis books,

T-L.BLANCHARD, D-D.VARNER, J.SHUMACHER, CH-C.LOVE, S-P.BRINSKO, S-L.RIGBY, (2005)
Manuel de reproduction équine .éditeur MALOINE

NOAKES D.E., PARKINSON Timothy J. et ENGLAND G.C. (2009)
Veterinary reproduction and obstetrics. Ninth Edition.
Saunders Elsevier

ZAMBELLI D., PRATI F., CUNTO M., IACONO E. et MERLO B. (2008)
Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration.
Theriogenology. Vol. 69, n° 4

PE A MART NEZ A.I. (2004)
Canine fresh and cryopreserved semen evaluation.
Anim. Reprod. Sci. Vol. 82-83

JOHNSTON SD, ROOT KUSTRITZ MV, OLSON PNS, (2001), Disorders of the Canine Testes and Epididymes. In : JOHNSTON SD, ROOT KUSTRITZ MV, OLSON PNS (eds), Canine and Feline Theriogenology, 1st ed., eds Saunders, Philadelphia

BRITO Leonardo F.C. (2007) Evaluation of Stallion Sperm Morphology. Clinical Techniques in Equine Practice. Vol. 6, n° 4

PONTHIER J., VAN DEN BERGHE F., PARRILLA-HERNANDEZ S., HANZEN C. et DELEUZE S. (2014) Congélation du sperme dans l'espèce équine

RIGAL F.B.G. (2008) Comparaison de la qualité de la semence de taureaux collectés à l'électro-éjaculateur ou au vagin artificiel. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse