

UNIVERSITE DE BLIDA-1
Institut des Sciences Vétérinaires

THESE DE DOCTORAT
en Sciences Vétérinaires
Spécialité : Physiologie de la reproduction

ETUDE DU COMPORTEMENT ET EVALUATION DE LA FONCTION SEXUELLE
CHEZ LE LAPIN LOCAL

Par

Dalila TARZAALI

Devant le Jury composé de :

M. Lafri	Professeur, U. Blida 1	Président
N. Zerrouki Daoudi	Professeur, UMMTO	Examinatrice
D. Khelef	Professeur, ENSV Alger	Examineur
N. Mimoune	MCA, ENSV Alger	Examinatrice
Z. Boumahdi Merad	Professeur, U. Blida 1	Promotrice
R. Kaidi	Professeur, U. Blida 1	Co-promoteur

Blida, septembre 2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir aidé et donné la foi et la force pour achever ce travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury, pour leur compréhension, leur disponibilité et le temps qu'ils ont consacré à la lecture de cette thèse :

Pr Lafri Mohamed, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Avec l'expression de notre plus profond respect, et de nos plus sincères remerciements. Hommages respectueux.

Pr Zerrouki Daoudi Nacera, Professeur à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse, Pour son apport critique sur ce travail, Sincères remerciements.

Pr Djamel Khelef, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire D'Alger, pour avoir accepté de corriger notre travail et de prendre part à ce jury de thèse. Sincères remerciements

Pr Noura Mimoune, Maître de Conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire D'Alger, pour avoir accepté très aimablement de faire partie de ce jury de thèse. Sincères remerciements.

Pr Boumahdi Merad Zoueida, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour m'avoir fait l'honneur de me proposer ce travail et m'avoir guidé tout au long de sa réalisation. Merci pour votre disponibilité sans égal, vos corrections professionnelles, vos révisions particulièrement méticuleuses, votre dévouement extraordinaire, votre enthousiasme quotidien, vos précieux conseils, vos compétences, et vos encouragements. Votre exigence et votre souci du détail m'ont incité à

approfondir ma réflexion. Permettez-moi de vous exprimer toute mon estime et mon admiration pour votre bonté, votre modestie et votre compréhension. Veuillez trouver ici, l'expression de ma gratitude et le témoignage de ma reconnaissance ainsi que mon profond respect le plus sincère. Chaleureux remerciements.

Mes remerciements s'adressent également à mon Co-promoteur **Pr Kaidi Rachid**, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Blida 1, pour avoir guidé ce travail avec beaucoup de disponibilité et de patience, pour le soutien et surtout les judicieux conseils avisés tout au long de sa réalisation. Votre simplicité et votre souci du travail bien fait m'ont beaucoup marqué. Soyez persuadés de ma reconnaissance la plus respectueuse. Sincères remerciements.

Je remercie également **Pr Kebbour Djamila**, directrice de l'institut des sciences vétérinaires de Blida 1, pour son soutien et ses efforts fournis. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de ma profonde considération.

J'exprime encore une fois toute ma reconnaissance à Professeur **Lafri Mohamed**, Directeur du laboratoire de LBRA pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire et m'avoir permis de réaliser une partie de mon étude. Avec une pensée particulière à **Mme Bentoura Cihame** et **Mlle Kabir Wafa**, ingénieurs au laboratoire, pour leur aide et encouragement au cours de la réalisation de ce travail. Sincères remerciements.

Je remercie **Pr Bachir Pacha Mohamed**, pour son écoute et ses conseils pour la réalisation de ce travail. Ainsi que pour la rédaction de l'article. Un hommage très respectueux.

Au **Dr Abdelli Amine**, Maître de conférences A à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira, et **Mme Sid Siheme**, Maître de conférences B à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Blida 1, pour leurs aides précieuses et

leur disponibilité lors des traitements statistiques et l'interprétation des données. Remerciements chaleureux.

Je remercie particulièrement **Dr Nabi Brahim**, Maître de conférences B au département des sciences de la nature et de la vie, Université du Dr Yahia Farès de Médéa, pour ses précieux appuis dans l'apprentissage de l'analyse de la semence notamment par le système CASA et pour tous les conseils constructifs. Hommages respectueux.

Toute ma gratitude à **Mr Kaddour Rachid**, ingénieur au laboratoire d'anatomie pathologique de l'ENSV, pour sa persévérance à mettre au point les coupes histologiques. Sincères remerciements pour ses conseils et sa disponibilité. Hommages respectueux.

A **Dr Djellata Nadia**, Maître de conférences A à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour sa participation à ce travail et son soutien indéfectible durant toutes ces années. Trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Merci infiniment.

Je remercie chaleureusement **Dr Kalem Ammer**, Maître de conférences A à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour son écoute et ses conseils avisés tout au long de la réalisation de ce travail et **Dr Nafa**, pour sa participation à la réalisation du dosage hormonal mais surtout et avant tout pour sa complicité et sa gentillesse. Merci pour votre précieuse aide, portée à mon travail. Sincères remerciements.

Je remercie particulièrement **Pr Hailat Nabil** et **Pr Khalifeh Mohamemd** de l'Université de Jordanie des sciences et technologie (JUST), Faculté de Médecines Vétérinaires, Irbid, Jordanie. Ainsi que **Dr Cherine**, Je vous exprime ma profonde reconnaissance de m'avoir donné la possibilité d'évoluer sur le plan scientifique en apprenant plusieurs méthodes au sein de votre laboratoire, et pour tous les conseils constructifs.

Mes sincères remerciements à toute l'équipe du service de chirurgie de la clinique vétérinaire de l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour la réalisation des ovariectomies : **Dr Adel Djallal et Dr Sellali Sabrina**. Merci infiniment.

Toute ma gratitude au **Dr. Boukenaoui Nouria et Dr Ferrouk Mustapha** Maitres de conférences A, à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour leur aide précieuse et les encouragements. Merci infiniment.

Je remercie particulièrement **Dr Boukert Razika**, Maître de conférences B, à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, **Dr Belabbes Rafik**, Maître de conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger et **Dr Boulbina Ibtissame**, Maitre assistante A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, pour leurs aides précieuses et leurs conseils précieux que je garderai toujours à l'esprit. Sincères remerciements.

Je ne peux pas oublier de remercier **Dr Khaldoun Hassina**, Maître de conférences A, à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de Université Saad Dahleb, Blida 1, pour le temps consacré à m'initier les rudiments de l'analyse Histo-morphométrique, que je n'ai pas exploité dans ce travail, pour son sourire et sa grande disponibilité. Remerciements chaleureux.

A **Mme Tadjine nacera** ma chère amie, pour ton amitié et ta présence permanente à mes cotés, je n'oublierai jamais l'assistance que tu m'apportais lors des moments difficiles durant tout mon parcours. Que dieu nous ouvre les portes de la réussite.

Toute ma gratitude à **Mlle Yabouche Asma**, Maitres de conférences A l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, pour le soutien et les encouragements ainsi que pour l'écoute, la disponibilité et la bonne humeur. Merci infiniment.

J'adresse mes profonds remerciements aux **Dr Meskouri Ibtissem et Dr Kellaci Faiza**, pour leur aide extrême et leur contribution dans les analyses de la semence, ainsi que pour leur bonne humeur et leur enthousiasme. Cette partie n'aurait pu se faire sans vous. Trouvez ici l'expression de ma grande et ma profonde reconnaissance. Un hommage très respectueux.

Mes sincères remerciements vont également à mes très chers étudiants : **Amrouche Mousaab, Oukrid Hania, Ouhab Ryma, Mammeri Amine, Larab Thenina, Maddi Amine, Keddari Djamel, Korichi Abdennour, Ouchenane Abdeldjebar, Marouf Abdelqaddous, Naoum Meroua, Alia Ferial, Terefaoui Abdelmoumin, Zouiche Youcef, Meftouh Hiba, Benaouda Oussama, Titouah Nabil, Ben Kacimi Nawel**, pour leurs précieuses aides et leur participation dans la partie expérimentale. Cette étude n'aurait pu se faire sans vous, trouvez ici l'expression de mon respect et de ma reconnaissance. Je vous souhaite le meilleur à venir.

Je remercie vivement **Mr Abd El Ghani**, responsable de la coopérative agricole Ouchefoune à Khemis El-Khechna Boumérdés, pour sa collaboration et sa serviabilité à nous fournir l'alimentation, ainsi que le personnel de la société notamment Ismail, pour son extrême aide.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans la disponibilité et l'accueil chaleureux que m'ont témoigné **Mr Kharabi Mohamed et Mlle Dahnan Hania** responsables de la station expérimentale de l'Université Saad Dahleb Blida 1, ainsi que le personnel de cette station: **Hakim, Mustapha, Mahmoud, Houari, Ismail, Bounaadja et Rabeh** pour leur aide et pour leur sympathie exceptionnelle.

A mes très chères amies **Dr Abbada Leila, Dr Ben Zaouche Adla, Dr Abdi yasmine, Dr Nemdil Romaissa et Mme Karima**, pour leur soutien et leur extrême aide au cours de la réalisation de cette étude. Soyez assurés de ma reconnaissance.

A tous mes amis : **Pr Sahraoui Naima, Dr Saadaoui Redha, Dr Kebbal Seddik, Dr Ghezal Kheireddine, Dr abdellaoui Lynda, Dr Ghouri Imen, Dr Ait Issad Nassima, Dr Feknous Moufida et Dr Babaammi Dalal**, pour leur précieuse aide bienveillante durant toutes ces années et pour tous les bons moments partagés.

J'ai une infinie liste d'amis (Professeur, enseignants et collègues) à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida et je ne fais pas le pari de les énumérer sans risque d'en omettre certains. Je m'astreigne à un devoir de reconnaissance à l'égard de tous.

J'exprime ma reconnaissance et mon profonds remerciements à mes parents, pour leur soutien inébranlable tout au long de mon parcours, pour mon éducation et les valeurs qu'ils m'ont inculquées. Qu'ils trouvent dans ce travail une totale fierté et satisfaction. Puisse Dieu leur accorde santé et longue vie.

A ma sœur, mes frères et belles sœurs, pour leur présence, leur affection et leur soutien, qui m'ont permis de surmonter les obstacles de la vie.

A **Sara, Yamina, Rym, Ines, Mohamed et Hamza**, mes neveux et nièces préférés, pour vos sourires qui me font oublier tous mes soucis.

A la mémoire de mes grands-parents, qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

Et pour être sûr de n'oublier personne, que tous ceux qui ont contribué, par leurs conseils, leurs encouragements ou leur amitié, à l'aboutissement de ce travail, trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A l'**Algérie** :

À qui je souhaite paix et prospérité.

RESUME

Ce travail de thèse a pour objectif : l'évaluation du comportement sexuel, le profil hormonal de la testostérone, la distance ano-génitale et les changements anatomo-histologique des testicules dans un premier lot expérimental d'une part, et d'autre part l'étude des caractéristiques de la semence et le taux de testostérone dans un deuxième lot expérimental chez des lapins de population locale et de souche synthétique élevés dans les mêmes conditions d'élevage.

Les résultats de la première expérience ont montré que dans les deux lignées de lapins, des deux lots étudiés, aucune relation n'a été observée ($p > 0,05$) entre la DAG (Distance ano-génitale) et le poids, ainsi qu'avec certains paramètres du comportement sexuel, notamment le marquage mentonnier, marquage sur les femelles, marquage avec les urines, chevauchement, saillie et l'agressivité qui n'a été notée que chez les mâles du deuxième lot. La DAG a eu une relation significative ($p < 0,05$) qu'avec le poids et le taux de la testostérone des lapins du deuxième lot. Le taux de testostérone a subi une chute drastique à la fin de la satiété le premier jour mais une hausse lors à la fin de l'exhaustion sexuelle. Le poids absolu et relatif ainsi que le volume des testicules est le même pour tous les lapins des deux lots. Certaines coupes présentent une dégénérescence du parenchyme des tubes séminifères et présence de congestion vasculaire entre les tubes séminifères ont été observés.

Dans nos conditions, les résultats de la deuxième expérience ont montré que la population locale et la lignée synthétique avaient une réponse similaire ($p > 0,05$) à la sollicitation (84,26 vs 86,11 %) et à la libido (13,92 vs 16,85 s). De même, les moyennes globales du volume libre de gel (0,88 vs 0,87 ml), du pH (7,51 vs 7,65) et des spermatozoïdes vivants (56,21 vs 55,88 %) étaient similaires dans les deux groupes. Cependant, la population locale avait une concentration de sperme plus élevée ($398,50 \times 10^6$ /mL vs $328,90 \times 10^6$ /mL) et un pourcentage de spermatozoïdes anormaux (36,54 vs 30,28 %) par rapport à la ligne synthétique. Dans notre étude, les motilités massales et individuelles étaient significativement plus élevées dans la population locale par rapport à la ligne synthétique ($p=0,006$ et $p=0,008$ pour les motilités massale et individuelle respectivement). Concernant

les paramètres de motilité évalués par le système CASA, dans notre expérience, les traits cinétiques pour la population locale, étaient significativement ($P < 0,05$) supérieurs à ceux de la lignée synthétique, à l'exception de VCL, ALH et BCF. Nous avons également constaté que la DAG n'a aucune relation sur les paramètres de la semence et sur le taux de la testostérone ($p > 0,05$) pour tous les lapins des deux lots.

Nous concluons dans cette étude que les lapins mâles de la population locale et la souche synthétique présentent une similarité dans le comportement sexuelle sauf pour le marquage mentonnier où lapins mâles de la population locale marquent plus leur territoire que les lapins de souches synthétiques. Et le profil hormonal présente une reprise de la production de testostérone à la fin de l'exhaustion. En outre, les lapins de la population locale algérienne avaient une supériorité dans l'activité sexuelle, la concentration du sperme et la motilité par rapport à la lignée synthétique, montrant leur bonne capacité d'adaptation pour produire dans un climat chaud.

Mots clés : Lapin, comportement sexuel, semence, testostérone, Distance Anogénitale, système CASA, population locale, souche synthétique.

ABSTRACT

The objective of this thesis is to evaluate the sexual behavior, the hormonal profile of testosterone, the ano-genital distance and the anatomical-histological changes of the testicles in a first experimental batch, and to study the characteristics of the semen and the level of testosterone in a second experimental batch in rabbits of local population and synthetic strain raised under the same conditions of breeding.

The results of the first experiment showed that in both lines of rabbits, from both batches studied, no relationship was observed ($p > 0.05$) between GAD (Ano-genital distance) and weight, as well as with some parameters of sexual behavior, including chin marking, marking on females, marking with urine, overlapping, mating and aggressiveness which was only noted in males of the second batch. GAD had a relationship ($p < 0.05$) only on weight and testosterone level of the rabbits in the second batch. The testosterone level underwent a drastic drop at the end of satiation on the first day but an increase at the end of sexual exhaustion. The absolute and relative weight as well as the volume of the testes was the same for all rabbits of both batches. Some sections present a degeneration of the parenchyma of the seminiferous tubules and presences of vascular congestion between the seminiferous tubules were observed.

Under our conditions, the results of the second experiment showed that the local population and the synthetic line had a similar response ($p > 0.05$) to solicitation (84.26 vs. 86.11%) and libido (13.92 vs. 16.85 s). Similarly, the overall means of gel free volume (0.88 vs. 0.87 ml), pH (7.51 vs. 7.65), and live sperm (56.21 vs. 55.88%) were similar in the two groups. However, the local population had higher semen concentration (398.50×10^6 /mL vs. 328.90×10^6 /mL) and percentage of abnormal sperm (36.54 vs. 30.28%) compared to the synthetic line. In our study, the mass and individual motilities were significantly higher in the local population compared to the synthetic line ($p = 0.006$ and $p = 0.008$ for mass and individual motilities respectively). Regarding the motility parameters assessed by the CASA system, in our experiment, the kinetic traits for the local population, were significantly ($P < 0.05$) higher than those of the synthetic line,

except for VCL, ALH and BCF. We also found that GAD had no relationship on semen parameters and testosterone levels ($p > 0.05$) for all rabbits in both batches.

We conclude in this study that male rabbits from the local population and the synthetic strain show a similarity in sexual behavior except for chin marking where male rabbits from the local population mark their territory more than rabbits from synthetic strains. And the hormonal profile shows a recovery of testosterone production at the end of exhaustion. In addition, the rabbits of the local Algerian population had superiority in sexual activity, sperm concentration and motility compared to the synthetic line, showing their good adaptability to produce in a hot climate.

Key words: Rabbit, sexual behavior, semen, testosterone, Ano-genital Distance, CASA system, local population, synthetic strain.

ملخص

هذه الدراسة تهدف إلى تقييم السلوك الجنسي، الوصف الهرموني لتستوسترون، المسافة الشرجية التناسلية والتغيرات التشريحية والنسجية للخصيتين في الجزء التجريبي الأول من ناحية و من ناحية أخرى، دراسة خصائص السائل المنوي ومستوى التستوسترون في الجزء التجريبي الثاني لمجموعة الأرناب المحلية والاصطناعية التي تمت تربيتها في نفس ظروف التكاثر. أشارت نتائج التجربة الأولى إلى أن للمجموعتين المدروسة لم يلاحظ أي علاقة بين $p > 0,05$ DAG وكذلك مع معايير معينة للسلوك الجنسي بما في ذلك علامات والوزن.

ووضع العلامات على الإناث، علامات البول، التداخل، التزاوج و العدوانية التي لوحظت فقط لها تأثير $(p < 0,05)$ عند الذكور من وزن ومستوى هرمون التستوسترون لأرناب المجموعة من الدفعة الثانية. انخفضت مستويات هرمون التستوسترون بشكل عنيف في نهاية DAG كبير الامتلاء لليوم الأول لكنها زادت مع نهاية الإرهاق الجنسي. الوزن المطلق والنسبي وكذلك حجم الخصيتين هو نفسه لجميع الأرناب في المجموعتين، وقد لوحظ تنكس الحمى الأنبوبية المنوية في معظم الأنابيب المنوية ووجود احتقان الأوعية الدموية بين الأنابيب المنوية. في التجربة الثانية اظهرت نتائج الدراسة إن الأرناب المحليين والسلالة $(0,88 \text{ vs } 0,87 \text{ ml})$ التركيبية كان له استجابة بناء $(p > 0,05)$ $(84,26 \text{ vs } 86,11 \%)$ وبالمثل فإن المتوسطات الإجمالية للحجم الهلامي $(13,92 \text{ vs } 16,85 \text{ s})$.

PH لحيوانات المنوية $(7,51 \text{ vs } 7,65)$ متشابهة في كلا المجموعتين و ذلك كان لدى الأرناب المحليين أكثر تركيز للحيوانات المنوية $(328,90 \times 10^6 / \text{mL} \text{ vs } 398,50 \times 10^6 / \text{mL})$ ونسبة غير طبيعية للحيوانات المنوية دراستنا أن $(30,28 \text{ vs } 36,54 \%)$ بالنسبة لسلالات التركيبية لاحظنا في الحركات الجماعية والفردية أعلى بشكل ملحوظ للأرناب المحليين، مقارنة بالسلالات المركبة. لهذه الحركات الاصطناعية متفوقة $(p = 0.008)$ و $(p = 0.006)$ على التوالي. فيما يتعلق بمعلمات الحركة التي تقيمها بواسطة في تجربتنا السمات الحركية متوافقة بشكل $(P < 0,05)$ على تلك الموجودة في السلالات الاصطناعية باستثناء وجدنا أيضا DAG ليس لها تأثير معنوي على معاملات السائل المنوي وعلى نضام مستويات هرمون CASA التستوسترون لجميع الأرناب من كلا المجموعتين. نستنتج في هذه الدراسة إن ذكور VCL, ALH, BCF. أن الأرناب المحليين والسلالة الاصطناعية يظهر تشابها في السلوك الجنسي باستثناء علامات الذفن حيث تشير أرناب الذكور المحلية في محيطهم أكثر من السلالة الاصطناعية ويظهر المظهر الهرموني استئناف انتح هرمون التستوسترون في نهاية الإرهاق بالإضافة إلى ذلك أبدت الأرناب الجزائرية المحلية نفوقا في النشاط الجنسي وتركيز الحيوانات المنوية وحركتها مقارنة بالخط الاصطناعي مما يدل على قدرتها الحيدة على الإنتاج في المناخ الحار.

الكلمات المفتاحية: أرناب، السلوك الجنسي، السائل المنوي، التستوسترون، المسافة الشرجية التناسلية، السلالة المحلية، السلالة التركيبية.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 4.1. Paramètres de la motilité des spermatozoïdes et valeurs standards	100
Tableau 5.1. Mesures de la distance ano-génitale (DAG) (moyenne \pm écart-type) pour le premier lot	125
Tableau 5.2. Mesures de la distance ano-génitale (DAG) (moyenne \pm écart-type) pour le deuxième lot.	126
Tableau 5.3. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le poids corporel des mâles (Moyenne \pm écart-type).	127
Tableau 5.4. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le marquage mentonnier des mâles (Moyenne \pm écart-type)	127
Tableau 5.5. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le Chevauchement des mâles (Moyenne \pm écart-type).	128
Tableau 5.6. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le nombre de saillies mâles (Moyenne \pm écart-type).	129
Tableau 5.7. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur marquage des mâles sur les femelles (Moyenne \pm écart-type).	129
Tableau 5.8. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'urination des mâles (Moyenne \pm écart-type).	130
Tableau 5.9. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'agressivité des mâles (Moyenne \pm écart-type).	131
Tableau 5.10. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le clapotement des mâles (Moyenne \pm écart-type).	131
Tableau 5.11. Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) du taux plasmatique de la testostérone chez les deux lots de lapin mâle.	132
Tableau 5.12. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le taux de la testostérone des mâles (Moyenne \pm écart-type).	133
Tableau 5.13. Représente l'évolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion.	134

Tableau 5.14. Poids absolus et relatifs des testicules et épидидymes chez Les lapins.	136
Tableau 5.15. Echelle de Petitjean (1965) pour notation de la motilité massale.	166
Tableau 5.16. Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle.	168
Tableau 5. 17. Valeurs moyenne de la température, l'hygrométrie et de THI enregistrées lors de l'expérimentation.	172
Tableau 5.18. Poids corporel et testiculaire et le taux des réponses aux sollicitations, des éjaculats analysés et ceux présentant un gel chez les deux groupes de lapins mâles.	173
Tableau 5. 19. Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) de la libido et de certains paramètres de la semence chez les deux groupes de lapin mâle.	174
Tableau 5.20. Mesures de la distance ano-génitale (DAG) (moyenne \pm écart-type) pour les deux groupes de lapins.	184
Tableau 5.21. Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) de l'effet de la DAG sur la libido et de certains paramètres de la semence chez les deux groupes de lapin mâle.	186
Tableau 5.22. Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) de la relation entre la DAG et la testostérone chez les deux groupes de lapin mâle.	187
Tableau 5.23. Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) du taux plasmatique de la testostérone chez les deux groupes de lapin mâle.	187

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1.	Marquage mentonnier à l'aide de briques en terre cuite au milieu d'une arène utilisée pour quantifier la fréquence de marquage.	37
Figure 1.2.	Mesure du diamètre la glande mentonnière.	39
Figure 1.3.	Glandes inguinales situées sur les côtés des parties génitales.	40
Figure 1.4.	Distance ano-génitale du lapin mâle (à gauche) et d'une lapine (à droite).	41
Figure 1.5.	Chevauchement.	45
Figure 2.1.	Appareil génital du lapin mâle.	49
Figure 2.2.	Scrotum glabre en position crâniale du pénis (Oryctolagus cuniculus).	50
Figure 2.3.	Evolution de la régionalisation épидидymaire murine.	52
Figure 2.4.	Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins	56
Figure 2.5.	Vue d'ensemble du testicule et vue détaillée du tube séminifère.	57
Figure 2.6.	Structure de la cellule de Sertoli.	58
Figure 2.7.	Relation entre les cellules de Sertoli (SC), les cellules germinales à différents stades de leur développement et Le tissu interstitiel.	60
Figure 2.8.	Différents types cellulaires épидидymaire de mammifères.	61
Figure 3.1.	Différentes étapes de la spermatogenèse.	68
Figure 3.2.	Régulation hormonale.	72
Figure 4.1.	Organisation interne du spermatozoïde.	78
Figure 4.2.	Exemple d'anomalies morphologique de la queue de spermatozoïde. Coloration à l'éosine-nigrosine.	96

Figure 4.3.	Caractéristiques du mouvement du spermatozoïde.	99
Figure 5.1.	Bâtiment de l'élevage cunicole.	102
Figure 5.2.	Cages des males reproducteurs au sein du clapier.	103
Figure 5.3.	Mode de distribution de l'eau aux lapins.	104
Figure 5.4.	Lapin de population locale (A) et Souche synthétique (B).	105
Figure 5.5.	Organigramme expérimental 1.	109
Figure 5.6.	Technique de mesure de la DAG.	110
Figure 5.7.	Marquage mentonnier.	111
Figure 5.8.	Différentes formes de comportement du male vis-à-vis de la femelle.	112
Figure 5.9.	Contention à l'aide d'une serviette «burrito».	113
Figure 5.10.	Gonades testicules droit et gauche (TD et TG) et épидидymes droit et gauche (EPD et EPG).	114
Figure 5.11.	Pesée (a), volume (b) et fixation des organes (c).	115
Figure 5.12.	Réalisation des coupes testiculaires fines.	116
Figure 5.13.	Série de bains d'alcool éthylique et le toluène.	117
Figure 5.14.	Inclusion et confection des blocs de paraffine (a, b, c).	118
Figure 5.15.	Réalisation des coupes au microtome	118
Figure 5.16.	Confection et étalement des coupes (a, b, c).	119
Figure 5.17.	Premier bain de toluène 5mn.	119
Figure 5.18.	Deuxième bain de toluène 7 mn.	119
Figure 5.19.	Etapas d'hydratation (a, b, c).	120
Figure 5.20.	Batterie de coloration du Trichrome de Masson.	121
Figure 5.21.	Batterie de coloration d'hématoxyline éosine.	122
Figure 5.22.	Etapas de déshydratation (a, b, c).	122
Figure 5.23.	Etapas d'éclaircissement (a, b, c).	123
Figure 5.24.	Evolution du taux de testostérone (lot 1).	134
Figure 5.25.	Evolution du taux de testostérone (lot 1).	135
Figure 5.26.	Coupe histologique de testicule des lapins montrant l'architecture normale des tubes séminifères chez le lot témoin.	137

Figure 5.27. Coupe histologique montrant une section du tube séminifère des testicules des lapins lot témoin.	137
Figure 5.28. Coupe histologique de testicule des lapins à la fin de l'exhaustion montrant une architecture désorganisée et une distension des tubules séminifères.	139
Figure 5. 29. Coupe histologique de testicule des lapins à la fin de l'exhaustion montrant des tubules rétrécis, séparés les uns des autres par un espace interstitiel élargi et avec des formes différentes.	139
Figure 5. 30. Coupe histologique de testicule des lapins à la fin de l'exhaustion montrant une prolifération du tissu interstitiel (TI) flèche, entre les tubes séminifères.	140
Figure 5.31. Histologie du testicule des lapins après exhaustion montrant une congestion vasculaire (flèche) à la périphérie et entre les tubes séminifères des tubes séminifères.	140
Figure 5.32. Coupe de testicule de lapin après exhaustion. Présence de vacuoles (flèche) dans la lumière du tube séminifère.	141
Figure 5.33. Coupe de testicule de lapin souche synthétique avec une augmentation de la cellularité des cellules de Leydig entre les tubes séminifères.	141
Figure 5.34. Coupe de testicule de lapin après exhaustion montrant les spermatozoïdes desquamés (flèche) dans la lumière du tube séminifères.	142
Figure 5.35. Coupe de testicule de lapin après exhaustion montrant des spermatozoïdes (flèche rouge) et les cellules de Sertoli sont coiffées de touffes de spermatides tardives attachées par leur tête dans la lumière (flèche bleu).	142
Figure 5.36 : Thermo-hygromètre digital.	156
Figure 5.37. Organigramme expérimental 2.	157
Figure 5.38. Préparation du matériel de récolte de la semence.	158
Figure 5.39. Lapine boute en train placée sur la cage du mâle.	159
Figure 5.40. Récolte de la semence (a, b, c et d).	160
Figure 5.41. Volume du sperme avec gel.	161

Figure 5.42. Volume du sperme sans gel.	161
Figure 5.43. Couleur du sperme.	162
Figure 5.44. Mesure du pH.	162
Figure 5.45. Conservation des échantillons dans un bain marie.	163
Figure 5.46. Etapes démontrant le calcul de la concentration.	164
Figure 5.47. Motilité massale.	165
Figure 5.48. Système CASA (Computer Analyser System Assisted).	167
Figure 5.49. Lame Leja.	168
Figure 5.50. Filtre vert.	168
Figure 5.51. Mouvements des spermatozoïdes colorés selon leurs vitesses.	169
Figure 5.52. Viabilité des spermatozoïdes (Spz vivant (a) et Spz mort (b))	170
Figure 6.53. Anomalies des spermatozoïdes :(Spz à double tête (a), Spz Sans queue (b)) (Queue repliée (c) et (Queue enroulée(d)).	170
Figure 5.54. Evolution du THI selon les semaines.	172
Figure 5.55. LSM±SEM du changement de la libido pour les deux groupes de lapins.	175
Figure 5.56. LSM±SEM du changement du volume sans gel pour les deux groupes de lapin.	176
Figure 5.57. LSM±SEM du changement du pH pour les deux groupes de lapins.	176
Figure 5.58. LSM±SEM du changement de concentration de la semence des deux groupes de lapins.	177
Figure 5.59. LSM±SEM du changement de la vitalité des deux groupes de lapins.	178
Figure 5.60. LSM±SEM du changement des anomalies morphologiques pour les deux groupes de lapins.	180
Figure 5.61. MCP±ESM du changement de la motilité massale (A) et individuelle (B) spermatique pour les deux groupes de lapins.	181
Figure 5.62. MCP±ESM du changement des paramètres cinétiques du Sperme pour les deux groupes de lapins.	184

LISTE DES ABREVIATIONS

- ABP : Androgen-Binding Protein.
- ALH : Amplitude of lateral head displacement.
- ATP : Adénosine Triphosphate
- BCF : Beat cross frequency.
- C : Concentration.
- CASA : Computer assiste semen analyse.
- CMV : Complément minéral vitaminé.
- DAG : Distance ano-génitale.
- DAGg : Distance ano-génitale grande.
- DAGm : Distance ano-génitale moyenne.
- DAGp : Distance ano-génitale petite.
- DHEA : Déhydroépiandrosterone.
- DL : Diamètre de la lumière.
- ENSV : Ecole nationale des sciences vétérinaires.
- EPD : Epididyme Droit
- EPG : Epididyme Gauche
- FSH : Follicul Stimulating Hormon.
- GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone
- INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.
- ITELV : Institute Technique d'élevage.
- ITELV : Institut Technique des Elevages de Baba Ali.
- LBRA : Laboratoire De Biotechnologies liées à la Reproduction Animale.
- LH : Lutéinzing Hormone.
- LIN : Linéarités du chemin curviligne.
- MAD : Mean Angular Displacement
- Max : Maximum.
- MI : Motilité individuel.
- Min : Minimum.
- MM : Marquage mentonnier.
- Mm : Motilité massale.
- MMm : Marquage mentonnier moyenne.

MOT : Total Spermatozoal Motility
MUP : Méthylumbelliféryl phosphate.
PI : Pièce Intermédiaire.
PIU : Position Intra Uterine.
PMOT : Progressive Spermatozoal Mobility
SPZ : Spermatozoïde.
SPZ : Spermatozoïdes.
TD : Testicule droit.
TG : Testicule gauche.
TS : Tube séminifère.
V : Volume.
VA : Vagin artificielle.
VAP : Vilocity average pathway.
VCL : Curviliner velocity.
VSL : Straight-line velocity.

TABLES DES MATIERES

RESUME	
ABSTRACT	
ملخص	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION	27
CHAPITRE 1/ ETUDE DU COMPORTEMENT CHEZ LE LAPIN MALE	
1.1. Etude du comportement social chez le lapin (interaction et contact des lapins entre eux).	31
1.1.1. Agressivité et les morsures.	32
1.1.2. Attitudes agonistiques et hiérarchie.	32
1.1.3. Comportement alimentaire.	33
1.1.4. Comportement dipsique.	33
1.1.5. Comportement éliminatoire.	33
1.1.6. Comportement de toilettage.	34
1.1.7. Repos et veille.	34
1.1.8. Comportements affiliatifs.	34
1.1.9. Comportement locomoteur.	34
1.1.10. Perception de l'environnement et communication.	35
1.2. Etude du comportement sexuel chez le lapin mâle.	36
1.2.1. Marquage mentonnier.	36
1.2.2. Marquage du territoire et des autres lapins.	38
1.2.3. Glandes de marquage mentonnier.	39

1.2.4. Distance ano-génital (DAG) comme bio-marqueur.	40
1.3. Etude du comportement sexuel au moment de l'accouplement.	42
1.4. Différents modes du comportement sexuel chez le lapin mâle.	43
1.4.1. Attractivité.	44
1.4.2. Attitude pré-copulatoire.	44
1.4.3. Attitude copulatoire .	44
1.5. Satiété sexuelle.	45
1.6. Caractères sexuels et le contrôle du comportement sexuel.	47

CHAPITRE 2 : GENERALITES ANATOMO-HISTOLOGIQUE DE L'APPAREIL

GENITAL MALE CHEZ LE LAPIN

2.1. Généralités sur l'anatomie de l'appareil reproducteur mâle chez le lapin.	48
2.1.1. Testicules.	49
2.1.2. Epididyme.	51
2.1.3. Canal déférent.	52
2.1.4. Urètre.	53
2.1.5. Organe de copulation.	53
2.1.6. Glandes annexes.	53
2.2. Généralités sur l'histologie de l'appareil reproducteur mâle chez le lapin.	55
2.2.1. Histologie du testicule.	55
2.2.1.1. Scrotum et vaginale.	56
2.2.1.2. Parenchyme testiculaire.	56
2.2.2. Histologie de l'épididyme.	61
2.2.3. Vascularisation et innervation.	63

CHAPITRE 3 : GENERALITES SUR LA PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL

REPRODUCTEUR CHEZ LE LAPIN MALE

3.1. Puberté et maturité sexuelle.	64
3.2. Production du sperme.	65

3.3. Spermatogenèse.	66
3.4. Maturation épидидymaire.	69
3.5. Régulation hormonale.	71
3.5.1. Au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire.	73
3.5.2. Au niveau des testicules.	74
3.5.3. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule	75

CHAPITRE 3 : EVALUATION DE LA FONCTION SEXUELLE ET METHODES DE RECOLTE DE LA SEMENCE CHEZ LE LAPIN MALE

4.1. Caractéristiques de la semence du lapin mâle adulte.	76
4.2. Composition de la semence du lapin mâle adulte.	76
4.2.1. Masse gélatineuse.	76
4.2.2. Spermatozoïde.	77
4.2.3. Plasma séminal.	80
4.2.4. Granules séminales.	82
4.3. Facteurs de variations de la qualité de la semence chez le lapin mâle.	82
4.3.1. Facteurs intrinsèques.	82
4.3.1.1. Individu.	82
4.3.1.2. Race.	83
4.3.1.3. Age.	83
4.3.1.4. Etat sanitaire des mâles.	84
4.3.2. Facteurs extrinsèques.	84
4.3.2.1. Température et l'hygrométrie.	84
4.3.2.2. Alimentation.	84
4.3.2.3. Saison et durée d'éclairement (la photopériode).	85
4.3.2.4. Rythme de récolte.	86
4.3.2.5. Ordre de l'éjaculat.	86
4.2.3. Autres facteurs.	87
4.2.3.1. Effets agissant directement sur la semence.	87
4.2.3.2. Opérateur.	87
4.3. Méthodes de récolte et d'évaluation de la qualité de la semence	

du lapin mâle adulte.	87
4.3.1. Méthodes de la collecte.	87
4.3.1.1. Matériel de collecte.	88
4.3.1.2. Technique de collecte du sperme.	88
4.3.1.3. Entraînement des mâles à la collecte.	89
4.3.2. Méthodes d'évaluation de la qualité de la semence	89
4.3.2.1. Méthodes classiques.	89
4.3.2.1.1. Paramètres macroscopiques.	89
4.3.2.1.2. Paramètres microscopiques.	91
4.3.2.2. Nouvelle méthode d'évaluation de la qualité de la semence : test CASA.	97
4.3.2.2.1. Analyse du sperme assisté par ordinateur ou analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes (computer assisted sperm analysis = CASA).	97
4.3.2.2.2. Analyse CASA - Procédure opérationnelle.	99
CHAPITRE 6 : PARTIE EXPERIMENTALE	
5.1. Présentation générale des conditions expérimentales.	102
5.1.1. Bâtiment d'élevage et logement des animaux.	102
5.1.1.1. Bâtiment d'élevage.	102
5.1.1.2. Logement des animaux.	103
5.1.2. Alimentation et abreuvement.	103
5.1.2.1. Aliment.	103
5.1.2.1. Abreuvement.	104
5.1.3. Animaux.	104
5.1.3.1. Lapins de population locale.	104
5.1.3.1. Lapins de la souche synthétique.	105
5.1.4. Traitement prophylactique et hygiène des lieux.	105
5.1.5. Préparation du cheptel.	106
5.2. EXPERIENCE 1	107
5.2.1. Objectif.	107
5.2.2. Matériel et Méthodes.	107

5.2.2.1.	Lieu et durée de l'expérimentation.	107
5.2.2.2.	Matériels.	107
5.2.2.2.1.	Matériels biologiques.	107
5.2.2.2.2.	Matériels non biologique.	108
5.2.2.3.	Méthode.	108
5.2.2.3.1.	Préparation du cheptel.	108
5.2.2.3.2.	Conduite expérimentale.	108
5.2.3	Résultats.	125
5.2.3.1.	Classification des mâles en fonction de leur DAG	125
5.2.3.2.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le poids Corporel	126
5.2.3.3.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le marquage Mentonnier.	127
5.2.3.4.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le chevauchement.	128
5.2.3.5.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le nombre de saillie.	128
5.2.3.6.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le marquage des mâles sur les femelles	129
5.2.3.7.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'urination des mâles	130
5.2.3.8.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'agressivité des mâles	130
5.2.3.9.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le clapotement des mâles	131
5.2.3.10.	Dosage de la testostérone	132
5.2.3.11.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le taux de la testostérone des mâles	132
5.2.3.12.	Evolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion	133
5.2.3.13.	Etude du volume et le poids absolu et relatif des testicules	135
5.2.3.14.	Histologie du testicule	136

5.2.4.	Discussion	143
5.2.4.1.	Relation entre la DAG et le comportement sexuel et le taux de la testostérone chez le lapin	144
5.2.4.2.	Evolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion	151
5.2.4.3.	Relation entre la lignée et le volume, le poids absolu et relatif des testicules.	152
5.2.4.4.	Histologie du testicule témoin.	153
5.3.	EXPERIENCE 2	154
5.3.1.	Objectif.	154
5.3.2.	Matériel et Méthodes.	154
5.3.2.1.	Lieu et durée de l'expérimentation.	154
5.3.2.2.	Matériel.	154
5.3.2.2.1.	Matériel biologique.	154
5.3.2.2.2.	Matériel de laboratoire et Instrument.	155
5.3.2.3.	Méthode.	155
5.3.2.3.2.	Protocole de la collecte.	155
5.3.2.3.3.	Paramètre d'ambiance.	155
5.3.2.3.4.	Conduite expérimentale.	156
5.3.3.	Résultats	172
5.3.3.1.	Paramètre d'ambiance.	172
5.3.3.2.	Taux de la récolte spermatique utile.	173
5.3.3.3.	Evaluation de la libido et les caractéristiques de la semence.	174
5.3.3.3.1.	Libido (Ardeur sexuelle).	175
5.3.3.3.2.	Caractéristique de la semence.	175
5.3.3.4.	Classification des Mâles en fonction de leur DAG.	184
5.3.3.5.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur la libido et les paramètres de la semence.	185
5.3.3.6.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur la testostérone.	187
5.3.4.	Discussion.	188

5.3.4.1.	Paramètre d'ambiance.	188
5.3.4.2.	Taux de la récolte spermatique utile.	188
5.3.4.3.	Poids des testicules.	190
5.3.4.4.	Evaluation de la libido et les caractéristiques de la semence.	191
5.3.4.4.1.	Libido (Ardeur sexuelle).	191
5.3.4.4.2.	Caractéristique de la semence.	192
5.3.4.5.	Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur la libido et les paramètres de la semence.	196
	CONCLUSION	200
	RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	202
	REFERENCES	204
	APPENDICES	242
	A. Matériel et réactifs utilisés dans la partie expérimentale	242
	B. Techniques de prélèvement de sang	247
	C. Dosage de la testostérone	249
	D. Table des marges d'erreur entre les deux grilles d'hémocytomètre	251
	E. Différents anomalies des spermatozoïdes	252

INTRODUCTION

L'élevage de lapins en Algérie a été marqué par une nouvelle relance ces dernières années. Cette évolution est soutenue par les différents mécanismes de financement du développement des élevages de lapins mis en place par les autorités pour promouvoir la production animale et diversifier l'offre de protéines animales [1], ainsi que l'aide d'État à la création de nouveaux éleveurs de lapins [2]. Cependant, la production de viande de lapin reste très faible par rapport aux autres productions, ne représentant que 5% de la production totale de viande blanche [3]. Selon les données du ministère de l'Agriculture, la population de lapins identifiée dans treize régions du pays a atteint 36667 lapins en 2016 [4]. Avec une production estimée à 8250 tonnes en 2013, l'Algérie est classée dixième dans le monde [5].

En Algérie, une population locale de lapins est utilisée depuis longtemps pour la production familiale [6]. Cette population est bien adaptée aux conditions locales, notamment avec une bonne aptitude à produire par temps chaud, mais son poids adulte et sa productivité moyenne sont trop faibles [7]. Dans le cadre de l'amélioration génétique des reproducteurs en Algérie, un programme de collaboration scientifique avec l'INRA de Toulouse (France) a permis la création d'une nouvelle souche de lapin (souche synthétique), développée pour améliorer le potentiel génétique des lapins destinés à la production de viande en Algérie [8]. Cette souche, issue d'un croisement entre la population locale et la souche INRA 2666, qui était elle-même une souche synthétique expérimentale, issue du croisement entre la souche INRA2066 et la souche V de l'Université polytechnique de Valence, en Espagne [9] est réputée pour sa prolificité et son poids adulte plus conséquent [10]. Avant de diffuser cette souche auprès des éleveurs, il était nécessaire de comparer ses performances avec celles de la population locale, afin de vérifier si les objectifs d'amélioration de la productivité avaient été atteints, et si cette souche synthétique manifestait la même résistance à la chaleur que la population locale.

Il n'en demeure pas moins que des efforts permanents sont entrepris dans le but d'améliorer la maîtrise de l'élevage et les performances de ce dernier. Pour

accroître l'efficacité de ces efforts de développement, aussi bien au niveau mondial qu'en Algérie, il est constamment fait appel à la recherche en vue d'améliorer notamment les performances de l'élevage cunicole (prolificité, poids, vitesse de croissance, indice de consommation). En effet, en plus de l'aspect zootechnique (alimentation, logement, santé), l'amélioration des performances de reproduction a fait l'objet de recherches spécifiques en vue de tirer un avantage maximal des particularités de l'espèce cunicole. Ces performances de reproduction sont influencées par des facteurs qui ont été étudiés par un grand nombre de chercheurs. C'est ainsi qu'en plus du facteur génétique et de facteurs liés à l'environnement, la position intra-utérine (PIU) des fœtus a fait l'objet de nombreux travaux synthétisés par Ryan et Vandenberg [11], afin de montrer son influence sur des paramètres de reproduction (taux d'hormones, développement des organes génitaux externes, comportement sexuel).

Par ailleurs, certains résultats ont également montré un lien entre cette même PIU et la Distance Ano-génitale (DAG) chez plusieurs espèces. C'est ainsi que la DAG peut servir de biomarqueur pour la PIU chez la souris [12] et chez le lapin, la DAG d'un animal adulte reflète sa PIU antérieure [13].

Plusieurs autres travaux ont également tenté d'établir des liens entre la DAG et différents paramètres de reproduction ou autres, chez certaines espèces animales ainsi que chez l'homme. C'est ainsi que divers auteurs ont conclu qu'il semble y avoir une relation entre la DAG et l'agressivité chez la souris [14], l'attrance par rapport au mâle chez la souris [15], la fécondité chez le lapin sauvage [13], le marquage mentonnier chez les lapins [16] et la mortalité embryonnaire spécifique au sexe, étant donné que chez les femelles à grande DAG la taille de la portée diminue mais pas le nombre de mâles de la portée chez le lapin [16]. La distance anogénitale (DAG) est un marqueur de la perturbation endocrinienne dans les études animales dans lesquelles une diminution de la distance a été associée à un dysfonctionnement testiculaire. La mesure de la DAG a également été utilisée comme marqueur du développement génital. Récemment, il a été utilisé pour établir une corrélation avec la production de spermatozoïdes. Dans cette étude Nerli et *al.* [12], ont étudié la relation entre la DAG, les paramètres du sperme, la taille des testicules et les niveaux totaux de testostérone chez les hommes.

Ces travaux et d'autres encore suggèrent qu'il serait donc opportun de confirmer l'existence de telles relations directes entre la DAG, le marquage mentonnier, le comportement sexuelle et la semence, en étendant cette investigation à d'autres conditions d'expérimentation. Ceci constitue en effet l'objet d'une étude comparative sur des lapins d'une population locale algérienne et des lapins de souche synthétique, permettant d'utiliser cette DAG comme prédicteur des paramètres de reproduction ainsi choisis dans ce travail.

Il y a peu de connaissances sur l'association de la distance ano génitale liée avec le comportement du lapin (marquage olfactif, satiété sexuelle), le niveau de testostérone et les caractéristiques de la semence. Cependant, seules des investigations concernant l'association de la DAG et du taux de testostérone ont été menées récemment chez l'homme [18], ainsi que les travaux de Zhou et *al.* [19], qui affirment que la DAG est associée avec les hormones de reproduction et non pas avec la qualité de la semence.

La plupart des recherches menées sur les lapins en Algérie à ce jour ont souvent porté sur la production de carcasses, la fertilité et rendement [8, 20, 21, 22]. Par ailleurs, tous les projets du développement cunicole utilisant le lapin local et le lapin de souche synthétique doivent se baser sur une logique d'ensemble comprenant, en premier lieu, l'identification de la population locale et la souche synthétique existante de point de vue morphologique, et la connaissance de ses aptitudes biologiques et zootechniques, ainsi que son adaptabilité ce qui pourrait aider par la suite le montage des programmes de sélection ou des systèmes de production convenables.

Dans cette étude, nous avons examiné si la distance anogénitale était associée à certains paramètres de reproduction tels que le comportement sexuel, le marquage olfactif, les paramètres spermatiques et le niveau de testostérone chez le lapin, et si la DAG serait un prédicteur des paramètres de reproduction. Dans ce contexte, notre étude vise à déterminer les performances de reproduction du lapin mâle de la population locale et de souche synthétique et l'effet de la distance anogénitale sur ces performances et leur variabilité dans le but de cerner les paramètres susceptibles de faire l'objet d'amélioration génétique en vue de sélectionner et de développer à long termes un lapin plus performant.

Dans ce contexte, dans la partie expérimentale nous avons adopté un plan de travail comprenant deux parties étroitement liées.

➤ ***En premier lieu, nous nous sommes proposés de réaliser une étude : d'une part, dans un premier lot expérimental, sur le comportement sexuel, le profil hormonal de la testostérone et la mesure de la distance anogenitale et d'autre part l'étude dans un deuxième lot expérimental les caractéristiques de la semence, le taux de testostérone et la distance anogenitale chez les lapins élevés dans les mêmes conditions d'élevage. De plus une étude anatomo-histologique des testicules a été additionnée à l'étude dans le deuxième lot expérimental.***

➤ ***En second lieu, d'évaluer l'efficacité de l'utilisation de la DAG comme un facteur limitant dans l'évaluation des performances sexuelles chez le lapin mâle dans le but d'utiliser cette DAG comme biomarqueur dans la sélection des reproducteurs mâles de souche synthétique et de population locale.***

CHAPITRE 1

ETUDE DU COMPORTEMENT CHEZ LE LAPIN MALE

1.1. Etude du comportement social chez le lapin (interaction et contact des lapins entre eux)

Le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus domesticus*) appartient à l'ordre des Lagomorphes. Il s'agit de la seule espèce de Léporidé à vivre en groupes pouvant atteindre plusieurs centaines d'animaux. Les lapins domestiques sont donc des animaux sociaux [23, 24, 25, 26, 27].

Il existe des différences dans le comportement social chez les lapins, et cela est dû à la nature des élevages. En effet, les lapins sauvages vivant en groupes nommées garennes sont soumis à une hiérarchie qui doit être respectée [28]. Quatre-vingt-seize pour cent des mâles et 86 % des femelles vivent dans des groupes [23]. Pour assurer sa position hiérarchique, le lapin dominant peut aller jusqu'à mordre un congénère dominé, lui arracher des poils, le poursuivre et l'immobiliser dans un angle. Le dominant accède en premier à la nourriture et il n'est pas rare de constater qu'un lapin dominé s'écarte du passage d'un dominant. Par contre, les lapins qui vivent en groupes dans leur environnement naturel. Ils apprécient donc également un ou plusieurs compagnons lorsqu'ils sont maintenus en captivité [24, 26, 27]. Cependant, comme chez toutes les espèces sociales, il peut exister une hiérarchie de dominance / subordination au sein de chaque groupe, à priori linéaire chez les lapins maintenus en captivité, d'après quelques auteurs et les rares références disponibles [29, 30]; agonistiques regroupent les agressions, évitements et soumissions échangés entre les individus. Ils sont à l'origine des relations de dominance / subordination. Le mâle possédant le succès reproducteur le plus important (mâle haut placé dans la hiérarchie) effectue de nombreux marquages. Il marque de sa glande mentonnière les objets de son territoire, et le protège contre les individus qui veulent y entrer, montrant parfois une agressivité vis-à-vis de son propriétaire [30]. Sur le plan social, le lapin consacre en moyenne 6 % de son temps à interagir avec ses congénères [31].

1.1.1. Agressivité et les morsures

L'agressivité et les morsures sont des phénomènes dues le plus fréquemment à un trouble du comportement ou bien à un instinct de territorialité (cas des lapins maintenus en permanence dans une cage de petite superficie et mordent quand ils sont approchés). L'agressivité se manifeste en observant le lapin, ce dernier se dresse sur ses membres antérieurs, relève la queue et la tête, et porte les oreilles dressées et orientées vers les côtés ou couchées en arrière. Il frappe le sol d'un coup sec avec un membre postérieur. Ce comportement est également interprété comme un cri d'alerte pour ses semblables en cas de danger ou une manière d'attirer l'attention [28, 32].

1.1.2. Attitudes agonistiques et hiérarchie

Par leur caractère social, les lapins vivent en groupes dans leur environnement nature et tolèrent aussi un ou plusieurs compagnons lorsqu'ils sont maintenus en captivité [24, 26, 27, 29, 33]. Pour maintenir son statut de reproducteur dans la hiérarchie, le lapin mâle dominant accomplit plusieurs marquages. A titre d'exemple : Il marque de sa glande mentonnière les objets de son territoire, et le protège contre les individus qui veulent y entrer. Il peut également adopter une attitude d'intimidation envers les autres lapins et les chevaucher. Le lapin « subordonné ou inférieur » par rapport à un agresseur se place alors en position de soumission, aplati sur le sol, la tête rentrée dans les épaules, les oreilles rabattues en arrière, jusqu'à ce que le lapin agresseur s'en éloigne. Les mâles reproducteurs peuvent se combattre entre eux en période de reproduction, pour accéder aux femelles réceptives. Deux lapins peuvent s'infliger de sévères morsures, des griffures et des coups de patte jusqu'à ce que l'un des deux adversaires prenne la fuite [30]. Les femelles, chez qui les interactions agressives sont généralement plus rares, ne mettent en place une hiérarchie linéaire qu'en cas de forte densité de population [34]. Il existe cependant des individus satellites, généralement des jeunes mâles, qui n'appartiennent à aucun groupe et ne possèdent pas de territoire. Ils vivent en marge d'un groupe, ne montrent aucune territorialité, et n'ont pas accès à la reproduction. Ces individus représentent environ 11 % des jeunes animaux sevrés [34, 35].

1.1.3. Comportement alimentaire

Animal monogastrique herbivore, il se nourrit dans son environnement naturel d'espèces végétales diverses, en sélectionnant les parties les plus nutritives et tendres et en délaissant certaines plantes trop riches ou trop épineuses [36]. Du fait du petit volume de son estomac, qui ne peut stocker que 90 à 120 g d'aliments, le lapin fractionne ses repas et les répartit sur toute sa période d'éveil [37, 38]. Bien qu'il ne soit pas un rongeur, l'action de ronger constitue un comportement important pour cette espèce car elle permet l'usure de ses 28 dents qui sont hysodontes c'est-à-dire que l'ensemble de sa dentition pousse continuellement. La consommation d'aliments riches en fibres a aussi cet effet car elle favorise la mastication continue, d'où l'importance d'un régime alimentaire composé majoritairement de foin [38, 39]. Le lapin possède un comportement alimentaire spécifique par rapport aux autres mammifères, caractérisé par la caecotrophie, c'est-à-dire le fait de réingérer une partie de ses fèces au moment de leur émission. Il leur permet de récupérer des nutriments obtenus par fermentation dans le caecum, comme des vitamines du groupe B ou des acides aminés. Il est donc particulièrement important lors des périodes de gestation, lactation et croissance où les besoins en nutriments et minéraux sont accrus [40].

1.1.4. Comportement dipsique

Le lapin est un animal qui boit en grande quantité, entre 50 et 150 ml d'eau par kilogramme par jour [37, 41,41]. Dans son environnement naturel, c'est un comportement qui n'est que très peu observé, car les plantes ingérées contiennent déjà une grande quantité d'eau. En captivité, le fourrage et les aliments ingérés par le lapin sont majoritairement secs ; il doit donc avoir un accès constant à un point d'eau. Un comportement de polydipsie peut être observé chez des lapins privés de nourriture. Leur consommation hydrique augmente alors significativement, mais retourne à une valeur normale si la nourriture est à nouveau disponible [37, 41].

1.1.5. Comportement éliminatoire

Pour éliminer ces fèces, le lapin adopte une position assise, queue baissée. Du fait de la prise alimentaire fractionnée et répartie dans le temps, ce processus est relativement fréquent tout le long du temps d'éveil du lapin [30, 42]. La majeure

partie des éliminations se fait sous forme de petites sphères fermes d'environ 1 cm de diamètre, qui constituent les fèces dures.

Lors de la miction, le lapin adopte une position accroupie, train arrière abaissé, queue relevée, et émet un jet vertical vers le sol. Cette posture est la même quel que soit le sexe de l'animal. La quantité d'urine émise par un lapin varie entre 10 et 35 ml par kilogramme et par jour [42, 43]. Le marquage territorial et le comportement sexuel du lapin peuvent cependant l'amener à uriner en dehors de l'endroit habituel [30, 42,45].

1.1.6. Comportement de toilette

Il a lieu très fréquemment, et tout au long de la journée. Buijs et *al.* [46], enregistrent jusqu'à plus de 20 toilettes partiels en une heure chez certains lapins. Ils sont cependant plus fréquemment observés à l'aube [38, 46]. Lors du toilettage individuel, le lapin lèche, mordille ou gratte soigneusement une partie ou l'ensemble de son corps, selon les circonstances. Ce comportement lui permet d'étaler les sécrétions produites par ses glandes sébacées [38, 45, 47, 48].

1.1.7. Repos et veille

Le lapin domestique passe une partie importante de son temps à se reposer, à savoir 33 % de sa journée avec 28 % de sommeil [31, 38]. Lorsque le lapin est maintenu en cage, son temps de repos est augmenté jusqu'à représenter 60 % du temps par rapport à un lapin qui aurait la place d'exprimer des comportements locomoteurs et de recherche de nourriture [27, 33, 38].

1.1.8. Comportements affiliatifs

On peut observer dans les groupes des relations sociales affines, liés aux comportements affiliatifs. Les lapins peuvent en effet passer beaucoup de temps à se toiletter mutuellement, ou même simplement à se reposer en contact direct l'un contre l'autre [30, 38, 42, 43, 48, 49]. Ceci témoigne de l'importance des contacts sociaux pour un lapin domestique.

1.1.9. Comportement locomoteur

Le lapin se déplace par bonds. Les antérieurs sont d'abord posés devant lui, puis ses puissants membres postérieurs sont étendus simultanément, propulsant le lapin vers l'avant. Ils viennent se poser au niveau des antérieurs, qui quittent de

nouveau le sol pour se repositionner en avant, soutenant tout l'avant du corps du lapin [30, 43]. Lorsque le lapin domestique a la possibilité de se déplacer librement, il arrive qu'il exécute une course rapide formée de bonds complètement aériens agrémentés de violentes ruades. Il peut également courir en zigzags [42, 48].

1.1.10. Perception de l'environnement et communication

La communication visuelle du lapin regroupe un certain nombre de postures significatives. Le positionnement des oreilles donne de bonnes indications sur l'état émotionnel du lapin. Un lapin au repos garde les oreilles basses ou posées contre son dos. En alerte, il les dresse et les pointe vers la source de mouvement ou de bruit. Pour adopter une posture menaçante, les oreilles sont plaquées sur le dos, avec un corps prêt à bondir. Enfin, en cas de crainte ou de soumission, les oreilles restent également plaquées contre le dos [30, 41, 42, 43, 48]. Bien que les lapins soient souvent considérés comme des animaux silencieux, ils peuvent cependant émettre différents types de bruits, généralement de bas volume (Ronronnement, claquement, grondement, gémissement, vocalisation, tape du pied). La communication acoustique se décompose ainsi en plusieurs vocalises, exprimant le contentement, la peur, la colère ou la douleur.

La communication tactile se fait par l'intermédiaire du toilettage mutuel. Le repos des lapins l'un contre l'autre entre aussi en compte. Ce sont des interactions amicales, signes d'acceptation [30, 42]. Le lapin s'approche rapidement de son congénère et effectue de légères poussées avec son nez, de manière répétée, sur différentes parties du corps. Ce comportement est appelé « nudging » [50].

La fonction de l'odorat est la reconnaissance des congénères est assurée par les bulbes olfactifs et les cornets nasaux qui sont des structures anatomiques très développées, qui lui confèrent un excellent odorat [36]. Cependant, on note la présence d'un organe voméro-nasal, structure olfactive accessoire située sur le plancher de la cavité nasale, comprenant près d'un trentième des récepteurs olfactifs du lapin et permettant la perception des phéromones [51]. La communication olfactive se fait tout d'abord par un phénomène de marquage [43, 45].

1.2. Etude du comportement sexuel chez le lapin mâle

A l'âge de 6 mois, le lapin mâle atteint sa maturité sexuelle. Cependant, les lapins appartenant aux races de petit gabarit sont plus précoces que ceux appartenant aux races de grand gabarit. Ensuite, ces lapins restent fertiles toute leur vie. Avant l'accouplement et pour convoiter la femelle, le lapin mâle accomplit un véritable rituel comprenant les reniflements, léchages, toilettage mutuel, repos l'un contre l'autre, poursuite de sa partenaire durant laquelle les sécrétions des glandes inguinales sont dispersées. Il peut également relever la queue et envoyer des jets d'urine en direction de la femelle [44, 45]. Au moment de l'accouplement, le lapin mâle attrape la femelle en la mordant sur le dos ou la nuque. L'éjaculation suit l'intromission de peu, puis le mâle tombe sur le flanc [30, 42]. A noter également que le lapin mâle dominant peut utiliser des comportements sexuels de monte à l'égard des autres mâles ou des femelles non réceptives [52]. En plus, le lapin mâle sexuellement mature est caractérisé par une forte dominance de territoire. Il peut même se montrer fortement agressif à l'égard des autres mâles qui veulent s'accaparer de son territoire ou bien approcher ses femelles. En effet, les lapins utilisent trois types de glandes afin de marquer leur territoire [30, 41, 42, 43, 45, 48]. Ce marquage se fait de manière vive par la glande mentonnière [41, 42, 53, 54]. Et dans ce cas-là, seule la réalisation d'une castration permettra de mettre fin à ces comportements.

1.2.1. Marquage mentonnier

Par définition, le marquage mentonnier est la principale méthode de communication que les lapins utilisent. Il représente le frottement de la glande mentonnière, située au niveau du menton du lapin, contre des objets spécifiques et le contenu de son excrétion est étalé sur la surface (Figure. 1.1) [55]. L'étude de Mykytowycz [55], a fait ressortir que le frottement de la glande mentonnière chez les mâles sert de marquage territorial. On l'a soutenu par la constatation que chez des mâles la taille et l'activité de la glande mentonnière se sont corrélées avec la dominance de l'animal, reflétant le niveau de testostérone de sang et l'activité sexuelle de l'individu.



Figure 1.1: Marquage mentonnier à l'aide de briques en terre cuite au milieu d'une arène utilisé pour quantifier la fréquence de marquage [56].

Pour l'étude du marquage mentonnier chez la femelle, plusieurs études se sont intéressées. L'étude de Soares et Diamond [57], a révélé que cette activité de marquage chez les femelles est en corrélation avec leur statut sexuel. Quant à l'étude de Gonzalez-Mariscal et *al.* [58], ces derniers ont étudié l'activité de marquage spontané chez les lapines femelles en fonction de leur cycle sexuel. Selon leur méthode, les animaux ont été mis individuellement dans une arène circulaire de 1 mètre de diamètre, dans laquelle ils ont introduit une brique comme support de marquage. Ils ont décrit l'activité de marquage en comptant le nombre de fois les animaux frottent leur glande mentonnière sur la brique pendant une période donnée du test. Ils ont étudié le comportement des animaux quotidiennement pendant une période d'un mois et demi, tous les animaux ont été mis à la reproduction.

Les briques pré-marquées par des femelles ou des mâles augmentent toujours l'activité de marquage, bien que cet effet fût nettement différent selon le sexe des animaux ayant pré- marqué. Il a été suggéré que le marquage pourrait jouer un rôle dans la reconnaissance individuelle. Un autre essai a montré que le nombre de pré-marquages par d'autres individus affecte également l'activité de marquage.

1.2.2. Marquage du territoire et des autres lapins

Dans un groupe de colonie, le mâle dominant marque les autres individus dans son propre groupe. Il le fait à la fois avec l'urine et la sécrétion de la glande mentonnière.

Le marquage du territoire est différent et cela selon l'emplacement du lapin dans la hiérarchie du groupe et selon le sexe. Ainsi, le mâle reproducteur dominant d'un harem de femelles marque un territoire plus étendu que les femelles reproductrices, et de façon plus intense. Il dépose également des sécrétions de ces glandes sur ses congénères pour les reconnaître, et la lapine les dépose sur ses lapereaux. Celle-ci marque elle-même son territoire de façon plus active que les individus subordonnés ou non reproducteurs [52]. Aussi, un marquage urinaire, servant également comme un dépôt de phéromones et d'odeurs sexuelles, peut également avoir lieu, surtout par les individus mâles, que ce soit pendant la parade nuptiale, autour des limites du territoire ou sur ses congénères. L'émission d'un jet d'urine sur les congénères porte le nom d'énurination. En reniflant l'urine fraîche, un lapin peut prendre connaissance du sexe, de l'âge, du statut social et de l'état physiologique de celui qui l'a émise [36]. On constate que les femelles déposent aussi leurs sécrétions sur les petits, au nid, ce qui explique la difficulté de faire adopter des lapereaux d'une autre portée [59]. Chez les deux sexes, le marquage venant de tous les types de glandes est étroitement lié aux taux respectifs de testostérone et d'œstrogènes circulants, ce qui implique que la stérilisation réduit ce comportement de communication olfactive [52, 60]. Ainsi, pendant l'œstrus, lorsque le niveau d'œstradiol est élevé et celui de la progestérone est faible [61] les femelles montrent un score élevé au moment du marquage mentonnier [57, 58] et dans la réceptivité sexuelle [62, 63]. En revanche, un faible score de marquage est observé chez les lapines en anoestrus [64]. Au cours de la gestation lorsque le niveau d'œstradiol est faible et la progestérone élevée le marquage et comportement sexuel sont pratiquement abolis [62].

Les mâles marquent plus leur territoire que les femelles et les dominants des deux sexes le marquent davantage que les dominés, notamment en leur présence. La surface du territoire est plus importante chez les mâles que chez les femelles. Il en est de même chez les dominants vis-à-vis des dominés [65].

1.2.3. Glandes de marquage mentonnier

Les lapins des deux sexes possèdent trois glandes qui servent et participent à marquer leur territoire, appelées aussi glandes odorifantes ou odorantes [51]. Le lapin marque son territoire par les sécrétions des glandes de son menton (glandes mentonnières) qu'il frotte sur les objets ou les animaux, par ses urines et par ses fèces disséminées dans l'environnement [32, 66]. La taille des glandes et le degré de marquage sont sous la dépendance des androgènes et du niveau d'activité sexuelle : les mâles marquent plus que les femelles et les dominants plus que les dominés [59]. On citera essentiellement :

- Glandes sub-mandibulaires ou mentonnières: Définies comme étant des glandes sous-mandibulaires spécialisées, situées sous le menton. Localisée en arrière de la lèvre inférieure (6 mm de long par 3 mm de large) (Figure. 1.2), elle est constituée d'un amas de glandes sébacées et sert comme un marqueur du territoire aux lapins [67]. Le lapin mâle possède des glandes mentonnières plus développées et plus productives que celles chez la femelle [55]. En effet, les lapins domestiques se sont souvent vus se frotter le menton sur des objets. Ce comportement agit pour passer d'un profil de marquage commun aux membres du groupe et des objets dans les limites territoriales et ainsi peut bien agir comme un marqueur territorial.



Figure 1. 2: Mesure du diamètre la glande mentonnière [73].

- Glandes anales : observées dans la partie distale du rectum. Leurs sécrétions sont donc directement mises autour des crottes dures lors de leur formation, et répandues activement lors de la défécation. Le lapin défèque donc souvent

aux marges de son territoire afin d'en marquer les limites. Les crottes dures marqués par les sécrétions anales sont souvent situés sur des terrains plus élevés tels que les taupinières et les troncs d'arbres où ils agissent à la fois comme un marqueur visuel des limites territoriales de l'endroit où l'odeur peut être sentie plus loin.

- Glandes péri-anales ou inguinales : au nombre de deux, les glandes péri-anales sont situées de part et d'autre de l'anus (Figure. 1.3), formant deux replis cutanés au niveau péri-anale sont souvent remplies de sécrétions noirâtres. Leur position permet la répartition passive de leurs sécrétions lorsque le lapin s'assoit [69]. Les sécrétions des glandes inguinales sont stockés avec de l'urine, en particulier lors de la parade nuptiale, et parfois pendant les conflits territoriaux [70].



Figure 1.3: Glandes inguinales situées sur les côtés des parties génitales [71].

1.2.4. Distance ano-génital (DAG) comme bio-marqueur

Chez de nombreuses espèces de mammifères, une certaine différenciation sexuelle dans la morphologie peut être observée même à la naissance au moins à la région génitale. La distance entre l'anus et les organes génitaux, nommée distance ano génitale (DAG), présente le sexe en matière de variation chez certaines espèces de rongeurs (et également chez l'homme) indiquant que la DAG

est un indicateur fiable de l'exposition prénatale aux androgènes pendant la différenciation sexuelle [13].

La plupart des études concernant la distance ano-genitale ont été réalisées sur des souris. Ces études ont montré que la DAG dépend de la position intra utérine (PIU). En effet, elle est supérieure chez les femelles qui ont plus de 2 mâles par rapport à celles qui ont 0 mâles, tandis qu'elle est intermédiaire chez les femelles présentant 1 mâle. Même si la PIU n'a jamais été corrélée avec la DAG chez les souris mâles, les rongeurs mâles ont généralement des DAG plus importantes que celles des souris femelles, avec une courte DAG et sont plus susceptibles de devenir gestante. Par ailleurs, l'étude de Drickamer [72], a démontré que les mâles avec de grandes DAG sont plus agressifs que les mâles avec de petites DAG (Figure. 1.4).

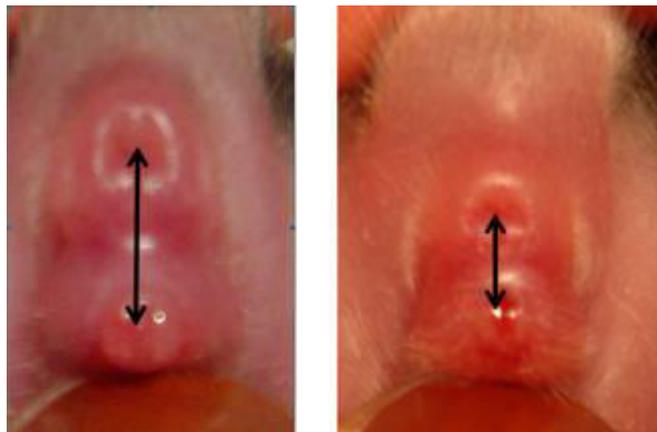


Figure 1.4 : Distance ano-genitale du lapin mâle (à gauche) et d'une lapine (à droite) [73].

Chez les souris et les rats, certaines des variabilités présentes dans la DAG peuvent s'expliquer par le poids de l'animal qui est mesuré. Les animaux lourds ont tendance à avoir une DAG plus longue que les animaux plus légers. Par conséquent, une mesure plus précise peut être obtenue en divisant la DAG sur le poids, ce qui donne un indice de la DAG (IDAG). Le IDAG peut, dans certains cas, servir de marqueur précis pour la PIU de nouveau-nés de souris [74, 75] ainsi que de nouveau-nés de rats [76]. Cependant, un certain nombre d'études, ont trouvé

que les variations de poids ne comptent pas pour une proportion significative dans la variabilité des mesures de la DAG [77, 78].

1.3. Etude du comportement sexuel au moment de l'accouplement

Plusieurs facteurs interviennent dans la réussite ou non de l'accouplement chez les lapins. Certaines normes doivent être respectées pour une réussite de l'acte en lui-même. La femelle est ramenée dans la cage du mâle et non l'inverse, en choisissant des heures et moment les moins chauds de la journée afin d'éviter tous stress et donc de réduire toute agressivité de la femelle. Généralement et en rythme de reproduction intensif, il faut compter, 7 à 8 femelles pour un seul mâle et ne pas le faire saillir plus de 2 ou 3 fois par jour et pas plus de 3 à 4 jours par semaine. Il est préférable de garder des mâles de réserve en cas de défaillance d'un mâle.

L'accouplement est très rapide chez l'espèce canicule ; il est accompagné d'un cri émis par le mâle lequel se retire rapidement et se jette de côté après l'éjaculation. Une nouvelle copulation peut avoir lieu immédiatement. Si la lapine qui est présentée à un mâle est réceptive, la saillie proprement dite commence en général 10 à 15 secondes après l'introduction de la femelle dans la cage. Dans le cas où un prélèvement de semence avec une femelle boute-en-train est souhaité, le délai moyen entre l'introduction de la femelle et l'éjaculation, a été estimé par Theau-Clement et *al.* [79], à une durée variant de 15 à 20 secondes en fonction du mode d'élevage du mâle. La durée de l'accouplement proprement dit, et qui est accompagné de mouvements de va-et-vient du bassin, dure en moyenne $2,6 \pm 1,5$ secondes chez des lapins Néo-Zélandais Blancs. Ces mouvements sont un peu plus rapides dans le cas d'un accouplement se terminant par une éjaculation ($13,5 \pm 1,1$ par seconde) que dans le cas contraire ($12,1 \pm 0,1$). L'intromission proprement dite dure en moyenne $0,72 \pm 0,27$ secondes. L'augmentation de la pression de la vésicule séminale permettant l'éjaculation effective, apparaît $0,23 \pm 0,11$ secondes après le début de l'intromission. On peut en déduire que chez le lapin, l'éjaculation dure une demi-seconde [74].

Il y a des caractères et des comportements qui ne sont exprimés chez les animaux que dans le but de l'accouplement. Ces comportements sont différents

en fonction des espèces. On peut séquencer le comportement sexuel en 3 parties [48, 80, 81, 82, 83] :

- La phase pré-copulatoire : on observera alors une augmentation de l'activité locomotrice qui permet d'investiguer le territoire et de s'orienter vers le partenaire de sexe opposé. On observera alors les comportements de cour ou de parade. Chez les psittacidés, il est fréquent d'avoir des oiseaux qui se frottent contre des objets, qui poussent des petits cris de consentement et qui auront les ailes tombantes, ouvertes. Ils peuvent également régurgiter. Chez le lapin, la parade nuptiale est plutôt brève : le mâle va tourner autour de la femelle, la sentir et frotter son menton sur elle (présence d'une glande au niveau du menton, utilisée pour le comportement de marquage). Il peut également parfois projeter des urines.

- La copulation: En fonction des différentes espèces, il y aura des variations anatomiques et physiologiques. Chez de nombreuses espèces de mammifères, la femelle prend une position de lordose, comme évoquée précédemment, qui se manifeste par une immobilisation, une courbure du dos, une extension des postérieurs et une déviation de la queue.

1.4. Différents modes du comportement sexuel chez le lapin mâle

Le comportement sexuel du mâle comprend un mode complexe de réponses génitales et motrices, suscités, dirigés, et maintenus par des signaux externes et internes. Il comprend l'accouplement ainsi que les comportements précédents la saillie qui permettent au mâle de détecter et de localiser une femelle, afin d'évaluer son potentiel d'accouplement approprié, et stimuler une réponse réceptive.

1.4.1. Attractivité

Elle correspond à la mise en contact entre les deux partenaires de sexe opposé. Il va y avoir des signaux émis par la femelle et/ou par le mâle, sous l'action de stéroïdes. Ces signaux peuvent être de différents types, dont on peut citer par exemple [48, 80, 81, 82, 83, 84]:

- L'olfaction : ce signal est important et met en jeu des phéromones. Les rongeurs sont très sensibles aux phéromones, qui vont être présentes dans des sécrétions corporelles comme l'urine ou des sécrétions vaginales. Les lapins se cherchent mutuellement au niveau des parties ano-génitales.
- Les vocalisations : ce signal est particulièrement présent chez le lapin de compagnie mâle qui émet des vocalises en présence de la femelle. Ils émettent des vocalisations ultrasoniques de 50 kHz.

1.4.2. Attitude pré-copulatoire

On observera alors une augmentation de l'activité locomotrice qui permet d'investiguer le territoire et de s'orienter vers le partenaire de sexe opposé. On observera alors les comportements de cour ou de parade. Chez le lapin, la parade nuptiale est plutôt brève : le mâle va tourner autour de la femelle qu'il désire, la renifle, la lèche, se repose l'un contre l'autre et frotte son menton sur elle (présence d'une glande au niveau du menton, utilisée pour le comportement de marquage) [48, 80, 81, 82, 83]. Il peut poursuivre sa partenaire durant laquelle les sécrétions des glandes inguinales sont dispersées. Les mâles se livrent dans le marquage Il peut également relever la queue et envoyer des jets d'urine en direction de la femelle [44, 45, 85]. Les femelles réceptives solliciteront l'accouplement du mâle par des comportements proceptifs caractéristiques, la femelle prend une position de lordose, comme évoquée précédemment, qui se manifeste par une immobilisation, une courbure du dos, une extension des postérieurs et une déviation de la queue [48, 80, 81, 82, 83] et le mâle les poursuit et les chevauchent.

1.4.3. Attitude copulatoire

Comme chez les rongeurs, les lapins mâles présentent un modèle copulateur très stéréotypée (Le nom de stéréotypie est donné à un comportement effectué par

l'animal de façon répétée et sans but apparent [86]. L'apparition des stéréotypies est due à la captivité et à un environnement trop contraignant, selon les conditions d'élevage, façonné par trois schémas moteurs de comportement distincts: chevauchement, intromission, et éjaculation (Figure 1.5) [44,45]. Lors de la monte, le mâle peut attraper la femelle en la mordant sur le dos ou la nuque. L'éjaculation suit l'intromission de peu, puis le mâle tombe sur le flanc [30, 42] .



Figure 1.5 : Chevauchement [56].

1.5. Satiété sexuelle

La satiété ou satisfaction sexuelle est une apparence commune aux mâles de nombreuses espèces; elle paraît après l'éjaculation répétée et est caractérisée et surtout reconnue par un arrêt à long terme de l'activité sexuelle [87]. Le comportement sexuel du lapin mâle est reconnu par la réalisation d'un seul chevauchement, suivi par une série de poussées pelviennes, au cours de laquelle se produit l'intromission, et se traduit régulièrement par l'éjaculation [88, 89, 90].

Lorsque le lapin mâle est sollicité sexuellement plusieurs fois en l'exposant à une succession de femelles réceptives, ce dernier subira la copulation dite « ad libitum », au cours de cette dernière, le lapin mâle exécute un grand nombre de chevauchements, intromissions et éjaculations jusqu'à ce que cesse l'activité sexuelle. À ce stade, il est prétendu que le lapin mâle a atteint la satiété sexuelle.

Toutefois, peu de travaux ont exploré et étudié les caractéristiques de l'activité sexuelle à travers un test conduisant à la satiété sexuelle, à titre d'exemple, le temps nécessaire pour atteindre cet état, le nombre de chevauchements, intromissions et éjaculations accomplis, l'intervalle entre les chevauchements

successifs [91]. Selon cette dernière étude, un critère a été utilisé pour établir le moment où la satiété sexuelle peut être atteinte chez les mâles ; il s'agit du moment où on constate l'absence de chevauchement vers une nouvelle femelle pour une durée de 4 min après la dernière éjaculation [91]. Dans cette étude, les mâles ont effectué 6 à 8 chevauchements pour atteindre la satiété, mais les auteurs ne signalent pas l'aboutissement ou non à l'éjaculation. Une autre étude a indiqué que les mâles étaient en mesure d'effectuer 6 éjaculations en 30 minutes, le premier survenant dans les 19 secondes après la présentation de la femelle [92]. Cependant, dans une autre étude, celle de Rubin et Azrin [90], ces derniers ont montré que lorsque le nombre total de copulations a été mesuré à une durée de 8 h, l'accouplement a eu lieu dans des groupes ou des « runs » avec une grande variabilité individuelle, allant de 5 à 40 saillies dans les 5 premières heures et se rapprochant à un chiffre zéro saillie après 6 h. Aucune distinction n'a été faite entre les chevauchements seuls et celles qui ont abouti à l'éjaculation.

Dans l'ensemble, les études citées ci-dessus montrent que, si on laisse les lapins mâles copuler librement avec une série de lapines réceptives, les mâles atteignent la satiété sexuelle dans 1 jour. Cependant, on ne sait pas si après des jours successifs d'accouplement à satiété: a) les mâles atteignent l'épuisement sexuel, à savoir, un état pendant la saillie est totalement arrêté pendant au moins 1 jour; et b) les paramètres spécifiques du comportement sexuel des mâles sont modifiés.

Chez les rongeurs, plusieurs mesures ont été développées pour expliquer la façon dont le comportement sexuel du mâle est modifié dans les tests conduisant à la l'épuisement sexuelle. Ces mesures ont pris en compte le modèle caractéristique d'accouplement observé dans ce groupe de mammifères. A titre d'exemple, et chez le rat, le comportement sexuel du rat mâle a été défini comme une série de chevauchements et intromissions, précédents l'éjaculation, appelé une « série de saillies » [93]. A partir de là, plusieurs facteurs de variation du comportement sexuel réalisés dans des conditions expérimentales spécifiques ont pu être déterminés, on citera principalement : L'intervalle entre intromissions, la fréquence de chevauchement et le taux de succès, ce dernier est défini comme étant le nombre de chevauchements avec intromission / (nombre de chevauchement seul+ nombre de chevauchements avec intromission) [94]. Si on lui donne suffisamment

de temps, un rat peut atteindre 8 à 12 éjaculations avant d'être épuisé sexuellement [93, 95]. Pendant cette période, le nombre d'intromissions diminue tandis que l'intervalle à éjaculer, le nombre de chevauchements, et la durée d'augmentation des périodes post éjaculatoires augmentent [95]. Ce sont des signes indiquant que le rat se rapproche à la l'épuisement sexuelle [93]. En effet, lorsqu'ils sont testés 24-48 h plus tard, seulement 29-30% des rats sont capables d'effectuer une seule série éjaculatoire, ce qui indique qu'environ 70% des mâles ont atteint l'épuisement sexuel [96, 97].

1.6. Caractères sexuels et le contrôle du comportement sexuel

Les caractères sexuels sont l'ensemble des caractères physiques ou psychologiques dépendant de l'imprégnation en hormones sexuelles et du sexe génétique d'un individu. Le comportement sexuel est sous le contrôle des stéroïdes sexuels. Une organisation hormonale des réseaux neuronaux se met en place en période péri-natale. Ces réseaux neuronaux contrôleront plus tard l'expression du comportement sexuel dès la maturité sexuelle. Il s'agit d'une sexualisation du cerveau initialement indifférencié, qui s'engagera alors dans une voie de différenciation. En effet, beaucoup de comportements sexuels sont dimorphiques, c'est à dire différents chez le mâle et la femelle. Par la suite, au moment de la maturité sexuelle, ces comportements seront enfin exprimés, souvent sous l'action de la testostérone chez les mâles [81]. Chez certaines espèces, les comportements sexuels déclinent avec l'âge. Ce déclin correspond à une diminution des concentrations sériques de testostérone et de LH et à une diminution des récepteurs nucléaires aux androgènes dans la partie préoptique et dans l'hypothalamus [48, 80].

CHAPITRE 2

GENERALITES ANATOMO-HISTOLOGIQUE DE L'APPAREIL GENITAL MALE CHEZ LE LAPIN

2.1. Généralités sur l'anatomie de l'appareil reproducteur mâle chez le lapin

La maîtrise de la reproduction est l'un des facteurs déterminants de la production du lapin. En ce sens, il nous est apparu nécessaire de faire un rappel des caractéristiques anatomo-histologiques essentielles de cette fonction chez le lapin.

Chez tous les mammifères, l'organisation des appareils reproducteurs est la même, avec des différences liées à la taille, le poids et la structure des organes. L'appareil reproducteur chez le lapin mâle est localisé postérieurement, il s'exprime par l'apparition des bourses testiculaires, ces dernières sont peu marquées par rapport aux autres mammifères. L'appareil reproducteur chez le lapin est composé d'organes internes (testicules et conduits excréteurs tel que l'épididyme, canal déférent, et urètre), d'organe externe copulateur (le pénis) et de glandes annexes (vésicule séminale, glandes vésiculaires, prostate, glandes para prostatiques et glandes de Cowper) [98, 99]. La position relative des différents organes est indiquée sur la figure 2.1.

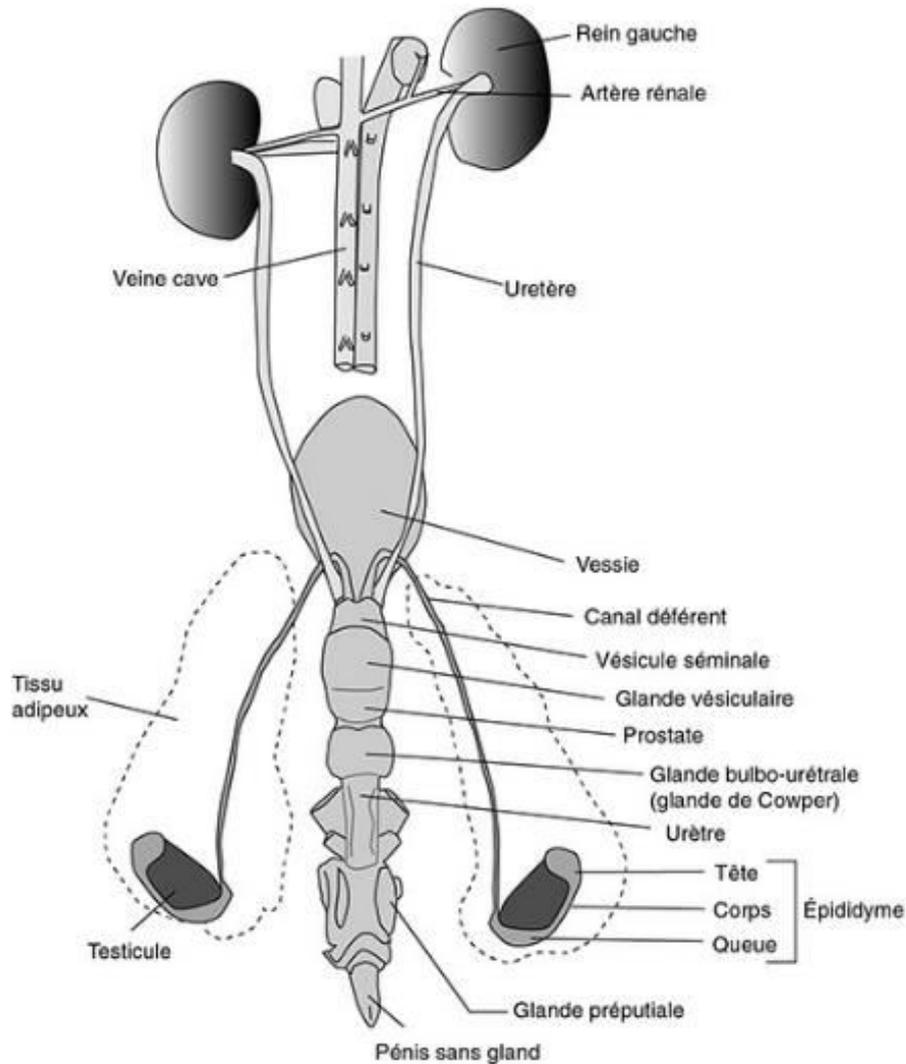


Figure 2.1 : Appareil génital du lapin mâle [67].

2.1.1. Testicules

Les testicules sont des organes pairs, situés de part et d'autre de la ligne médiane inguinale. A la naissance, les testicules sont situés à l'intérieur de la cavité abdominale du lapin et ils sont non visibles. A l'âge de deux mois, ils vont descendre pour se positionner dans les sacs scrotaux. Cette position extra-abdominale conditionne la réussite de la spermatogenèse. A l'âge adulte, les testicules sont volumineux, de forme ovale ou ovoïde et largement allongés. Ils sont amincis aux niveaux des extrémités, comme pour se prêter à la traversée de l'espace inguinal, avec un pôle caudal plus pointu que le pôle crâniale ; avec une

longueur de 3 à 3,5 cm, une épaisseur de 1 à 1,3 cm et pesant 1,5 à 2 g, les deux glandes représentent ensemble environ 1/1000 du poids vif [69, 99, 100, 101, 102, 103, 104]. En descente, les testicules sont presque horizontaux et leur extrémité capitée est craniale [105].

Les testicules présentent une face latérale et une autre médiale lisse et arrondie (chez tous les rongeurs), un bord libre, convexe et lisse et un autre bord épидидymaire moins convexe et un peu plus court sur lequel est annexé l'épididyme et une extrémité capitée en continuité de substance avec la tête de l'épididyme, reçoit médialement à celle-ci les vaisseaux du cordon spermatique et une autre caudée s'unit à la queue de l'épididyme par le ligament propre du testicule [98].

Ils sont enveloppés par un sac (scrotum), ce dernier n'est bien visible que lors des périodes d'activité sexuelle, il est alors double et forme de chaque côté un sac volumineux, très allongé et dirigé caudalement sous le bassin, jusqu'au voisinage du prépuce (Figure 2.2), dont il reste indépendant [101]. Sa peau très fine est presque glabre, composée de deux parois externe et duveteuse [106], elle est constituée de fibres de nature élastique, conjonctive et musculaire lisses. Le rôle du scrotum se résume à la suspension des testicules et surtout le maintien de leurs enveloppes profondes. Par ses lentes contractions, il détermine les mouvements vermiculaires et les rides du scrotum, notamment sous l'influence du froid [101].



Figure 2.2 : Scrotum glabre en position crâniale du pénis (*Oryctolagus cuniculus*) [107].

Lors de l'accouplement, on constate que les testicules sont très tuméfiés [99]. Cette forme leur facilite le passage dans l'espace inguinal et la descente dans les bourses. Par rapport à la position des testicules, le lapin est dit exorchide lorsque les testicules montent dans la cavité abdominale et énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire « le crémaster ». Cette descente est temporaire, les testicules peuvent facilement réintégrer la cavité abdominale. Ils peuvent remonter dans l'abdomen en dehors des périodes de reproduction et sous l'effet de la frayeur ou selon sa volonté propre lors de combats avec d'autres mâles voire lors d'une bagarre avec une femelle. mais ils sont aisément extériorisables en périodes de reproduction et par pression antéro-postérieure sur l'abdomen. Ils ont tendance à descendre par temps chaud et à remonter par temps froid pour garder le sperme à la bonne température [99, 101, 108, 109, 110].

2.1.2. Epididyme

C'est un canal extrêmement replié sur lui-même à l'intérieur d'une tunique conjonctive qui lui confère une forme globale allongée plaqué sur l'arrière du testicule auquel il fait suite. Sa longueur est de 1,5 à 3 cm chez les Lapins, il permet donc le transfert et la maturation des spermatozoïdes. Chaque épидидyme est composé de trois portions : la tête, le corps et la queue. La tête qui est très volumineuse couvre le pôle antérieur du testicule, constituée de par les canaux efférents qui naissent du rete testis et émergent à la sortie du testicule. Quant au corps, ce dernier est également accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure. L'épididyme se termine par la queue, libre légèrement renflée qui représente le lieu de stockage des spermatozoïdes. Au niveau du corps et la queue, les canaux efférent se réunissent en un canal unique, le canal épидидymaire, très long et circonvolutionné [69, 99, 111, 112]. Ces régions sont également subdivisées en plusieurs segments, délimité par des cloisons conjonctives ou septa (Figure 2.3) [113, 114, 115, 116]. L'étude transcriptionnelle globale de ces segments a permis de mettre en évidence qu'ils sont quasiment tous indépendants du point de vue de la synthèse de messagers. En effet, transcriptionnellement, l'épididyme peut être divisé en dix segments, I, II, III, IV-V-VI, VII, VIII-IX-X [116]. Cette subdivision repose sur des analyses ultrastructurales, ainsi que sur l'étude des activités enzymatiques et transcriptionnelles de l'organe [113]. Autour de ce canal, on note

la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses dont les contractions permettent le transit des spermatozoïdes [117, 118].

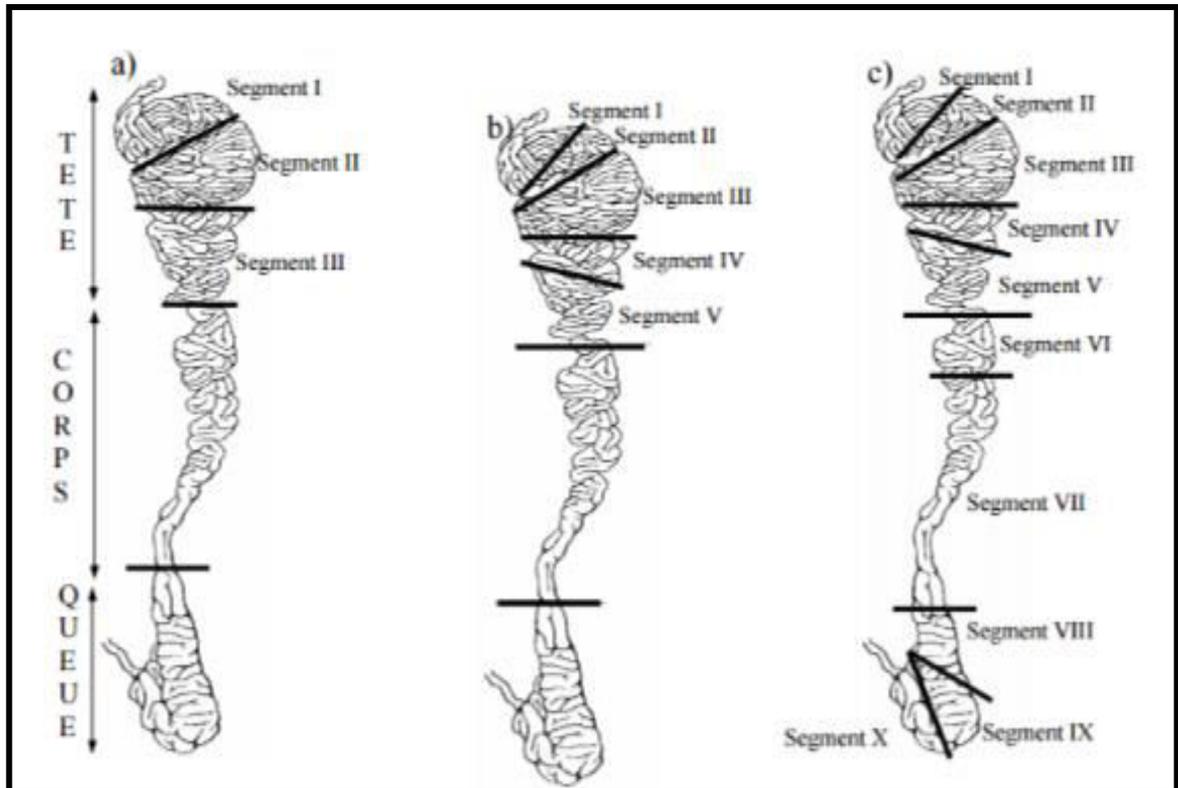


Figure 2.3 : Evolution de la régionalisation épидидymaire murine [114(a), 115(b), 116(c)].

2.1.3. Canal déférent

On le retrouve juste après la queue de l'épididyme. D'abord contourné, il devient droit pour franchir l'anneau inguinal et rejoint la cavité abdominale. Chez les lapins, Il est long de 12 à 15 cm et relativement épais Son principal rôle étant l'acheminement des gamètes males (les spermatozoïdes) vers une structure de forme renflée de 2 cm, fusiforme et située au-dessus de la vessie appelé l'ampoule différentielle qui s'ouvre dans la partie caudale de la vésicule séminale par un orifice assez large et impair porté par le colliculus seminalis [99, 111]. À l'aide d'un péristaltisme basal Il permet le transit jusqu'à l'urètre, additionné d'une motricité brusque lors de l'éjaculation [101, 118].

2.1.4. Urètre

C'est un canal impair qui sert à la fois à l'excrétion de l'urine et du sperme. L'urètre part de la vessie et tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité, L'urètre au niveau de l'appareil génital, est un conduit long de 12 à 13 cm, dont 8 à 9 cm seulement pour la partie pénienne, il forme la partie extra-pelvienne constitue le pénis. Il comporte trois parties : l'urètre pelvien, logé dans le bassin, le bulbe de l'urètre, ou il quitte le bassin en réalisant une courbure bien marquée vers l'avant. C'est à ce niveau qu'apparaissent les formations érectiles : le corps spongieux et le corps caverneux, et l'urètre pénien [101, 111].

2.1.5. Organe de copulation

- Pénis : Le lapin est une espèce à pénis rétrofléchi, ce dernier représente l'organe copulateur, il est enfermé dans un repli tégumentaire nommé le fourreau. C'est un organe court, en forme de tube légèrement en pointe qui mesure environ 8 cm de long. Au repos, le pénis est dirigé obliquement vers l'arrière. Pendant l'érection, le pénis tient une position horizontale vers l'avant et mesure de 3 à 5 cm [99, 119, 120, 121, 122]. Le ligament suspenseur du pénis est doublé par une paire de forts muscles sub-ischiocaverneux, qui sont spécifiques au lapin ayant comme fonction de ramener le pénis vers l'avant pendant l'érection [101].
- Glandes préputiales : au nombre de deux et situées en arrière du pénis, responsables de la sécrétion d'une substance très odorante. Cette dernière est déposée dans des petits réservoirs formés par la dilatation de la portion distale d'un follicule pileux et ont comme rôle le déclenchement de l'ovulation chez la femelle en stimulant le reflexe ovulatoire [99, 110].

2.1.6. Glandes annexes

Dont le rôle est la sécrétion des différents milieux constituant le liquide spermatique lequel mélangé aux spermatozoïdes, constitue le sperme. Les fonctions de ces sécrétions comprennent l'ajout du volume de fluide à l'éjaculat pour faciliter le mouvement de sperme à travers le tractus genital reproducteur mâle et femelle, en fournissant des éléments nutritifs et des tampons pour les spermatozoïdes et un bouchon gélatineux pour obstruer les voies génitales

femelles (afin d'empêcher la sortie du sperme), en fournissant des substances qui stimulent des contractions du vagin et l'utérus de la femelle pour améliorer le mouvement des spermatozoïdes. Parmi les glandes annexes on distingue [69, 99, 101, 122, 123, 124, 125, 126] :

- Vésicule séminale : elle est impaire et bilobée, de forme ovalaire, relativement volumineuse et de teinte grise sombre située entre le rectum et la vessie, et dont la partie terminale est associée aux ampoules différentielles, pour former le canal éjaculateur qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre. Son contenu est un liquide visqueux à gélatineux et presque clair.
- Glande vésiculaire : nommée proprostate ou prostate crâniale. Elle s'ouvre dans l'urètre par deux canaux excréteurs, de forme ovale, partiellement volumineuse, bilobée et dont la couleur blanchâtre est principalement due à l'accumulation des sécrétions granulaires blanches. Elle est à l'origine de la masse gélatineuse de l'éjaculat.
- Prostate : La prostate, située à la face dorso-caudale de la glande vésiculaire, est la principale glande accessoire de l'appareil génital mâle, de forme est un peu plus petit, étirée d'un côté à l'autre, facilement reconnaissable par sa couleur claire (jaune-rosée). Située sous la glande vésiculaire, s'ouvrant par quatre à six conduits dans l'urètre. C'est un agglomérat de glandes possédant chacune son canal excréteur. Ces glandes peuvent former un renflement visible le corps de la prostate. Elles peuvent aussi rester disséminées dans la paroi de l'urètre : c'est la prostate disséminée. Les sécrétions prostatiques représentent une grande part du volume spermatique. Les rôles de ces sécrétions sont multiples: effet tampon contre le pH vaginal, action bactériostatique, participation à la fin de la maturation des spermatozoïdes, propriétés immunosuppressives dirigées contre les éléments du tractus génital femelle.
- Glandes para prostatiques : elles sont nettement plus petites, de forme arrondies situées de part et d'autre de l'urètre et ventralement à la prostate. Elles s'ouvrent dans l'urètre par un nombre variable de petits conduits. Tous les lapins mâles ont au moins une paire de glandes para prostatiques. Cette glande joue un rôle primordial dans l'élaboration du sperme.

- Glande bulbo-urétrale (glande de Cowper) : Ce sont des formations sphériques paires, bilobée et de teinte brun rosée, située postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par deux paires de canaux dans l'urètre caverneux. Elles sont plus volumineuses chez les lapins. Chaque glande est entourée par un corpuscule conjonctif.

Les mâles pubères se reconnaissent facilement grâce aux testicules. Chez les jeunes non pubères (moins de 4 mois), la reconnaissance des sexes est beaucoup plus délicate. Pour quelqu'un d'expérimenté, elle est possible dès quatre semaines d'âge, voire avant. Chez le mâle, on peut extérioriser un pénis, court et dirigé vers l'arrière, alors que chez la femelle on retrouve une vulve assez saillante pouvant mimer un petit pénis, mais elle est fendue alors que l'orifice du fourreau du mâle est circulaire [108, 120, 121].

2.2. Généralités sur l'histologie de l'appareil reproducteur mâle chez le lapin

2.2.1. Histologie du testicule

Le testicule est un organe pair de forme ovoïde se trouve dans une poche entourée d'une peau plissée appelée "scrotum". Il est revêtu d'une enveloppe épaisse et résistante, l'albuginée, qui consiste en une capsule conjonctive fibreuse. Cette dernière s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'invagine à l'intérieure du testicule et délimite plusieurs lobules testiculaires communicants, qui contiennent les tubes séminifères (Figure 2.4), lieu de la spermatogenèse. Entre les tubes séminifères se situe le tissu interstitiel réalisant la fonction endocrine. Les tubes s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le «rete testis», d'où partent une dizaine de canaux efférents qui se prolongent par le canal de l'épididyme, qui devient ultérieurement le canal déférent [106, 127, 128, 129].

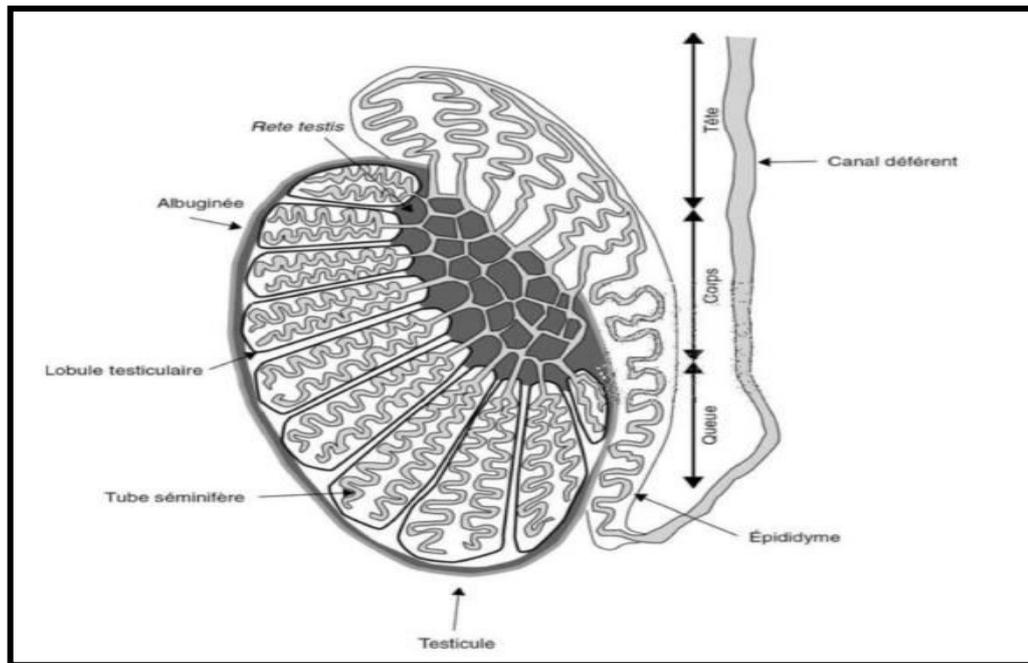


Figure 2.4 : Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins [110].

2.2.1.1. Scrotum et vaginale

Les testicules sont recouverts extérieurement par une peau contenant des follicules pileux obliques et des glandes sudoripares exocrines. Dans sa couche profonde, se disposent des cellules musculaires lisses de façon désordonnée pour former le muscle dartos dont la contraction provoque le plissement de la peau scrotale. Au dessous de ce muscle se trouve un fascia fibreux dont la zone la plus profonde se densifie pour former la couche pariétale dense de la vaginale (albuginée). Cette dernière est bordée intérieurement par un mésothélium, constitue la face interne du sac scrotal, séparée de la surface testiculaire par un espace virtuel contenant un liquide lubrifiant. Une capsule fibreuse épaisse revêtue, d'une couche de cellules mésothéliales, aplaties la couche viscérale de la vaginale, recouvre la surface testiculaire. Une couche étroite de tissu de soutien lâche, contenant des vaisseaux sanguins superficiels, sépare la capsule fibreuse [127].

2.2.1.2. Parenchyme testiculaire

Il est composé par des structures tubulaires exocrines, les tubes séminifères, chargés de l'élaboration, la fabrication et l'excrétion des gamètes mâles, les spermatozoides, des structures glandulaires insulaires endocrines : les cellules

interstitielles (cellule de Leydig) responsable de la sécrétion des hormones mâles, les androgènes [130]. Chez le lapin, on peut compter 200 à 300 lobules chaque lobule contient 2 à 3 tubes séminifères qui sont des conduits très flexueux comportant une partie contournée [106, 128, 129].

a. Tubes séminifères

Le testicule est de type lobulaire, dans lesquels se trouvent des tubes séminifères (formation tubulaires fortement enroulée sur elles-mêmes). Chaque tube est entouré d'une enveloppe. Chez le lapin, la longueur totale des tubes séminifères déroulés et mis bout à bout, atteint en moyenne 70 mètres [106, 128, 129]. L'épithélium séminifère (Figure 2.5) apparaît stratifié constitué par les cellules de la lignée germinale à différents stades de la spermatogenèse (spermatogonies A et B, spermatocytes I et II et spermatides) et par des cellules somatiques (cellules de Sertoli). Les tubes séminifères n'ont pas le même aspect [131].

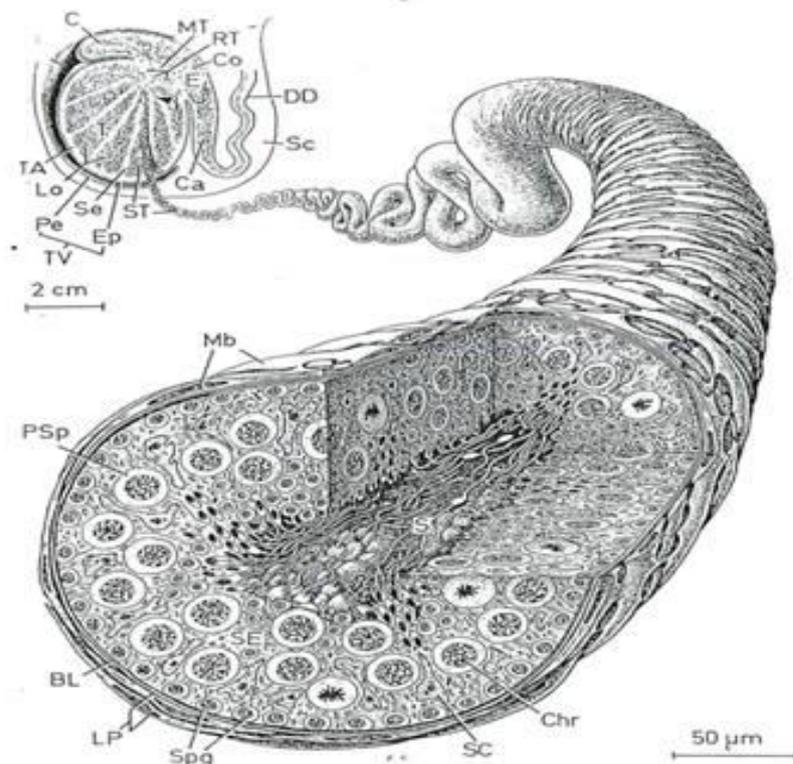


Figure 2.5. Vue d'ensemble du testicule et vue détaillée du tube séminifère [132].

TV :Tunique, vaginale ;TA :Tunique, albuginée ;TS :Tube séminifère ; E :Epididyme ;

BL :Lame basale; Mb : Myofibroblaste pérítubulaire ; Spg :Spermatogonie ;Psp :Spermatocytel ;

SC :Cellule de Sertoli ;S :Spermatozoide

En 1865, Enrico Sertoli a démontré l'existence de cellules ramifiées dans les tubes séminifères du testicule humain et a suggéré que leur fonction était liée à la formation des spermatozoïdes et comme étant des cellules nourricières indispensables pour les cellules germinales et au bon déroulement de la spermatogénèse [133]. Les cellules de Sertoli (Figure 2.6) sont volumineuses qui vont de la membrane basale jusqu'à la lumière et occupent toute la hauteur du tube séminifère. Leurs limites ne sont pas visibles, on peut distinguer un noyau très volumineux, angulaire, avec un grand nucléole [134]. Chaque cellule de Sertoli est connectée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées, disposées au pôle basal. Ainsi que par des jonctions d'ancrage et des jonctions communicantes de type Gap pour former un réseau cytoplasmique. Les zones cytoplasmiques proches des spermatozoïdes contiennent des microfibrilles et des microtubules. Les spermatogonies et les spermatocytes I en stade préleptotène occupent le compartiment basale, tandis que les autres spermatocytes I, les spermatocytes II et les spermatides sont situés dans le compartiment adluminal [127]. Elles ont comme rôle [131, 135] :

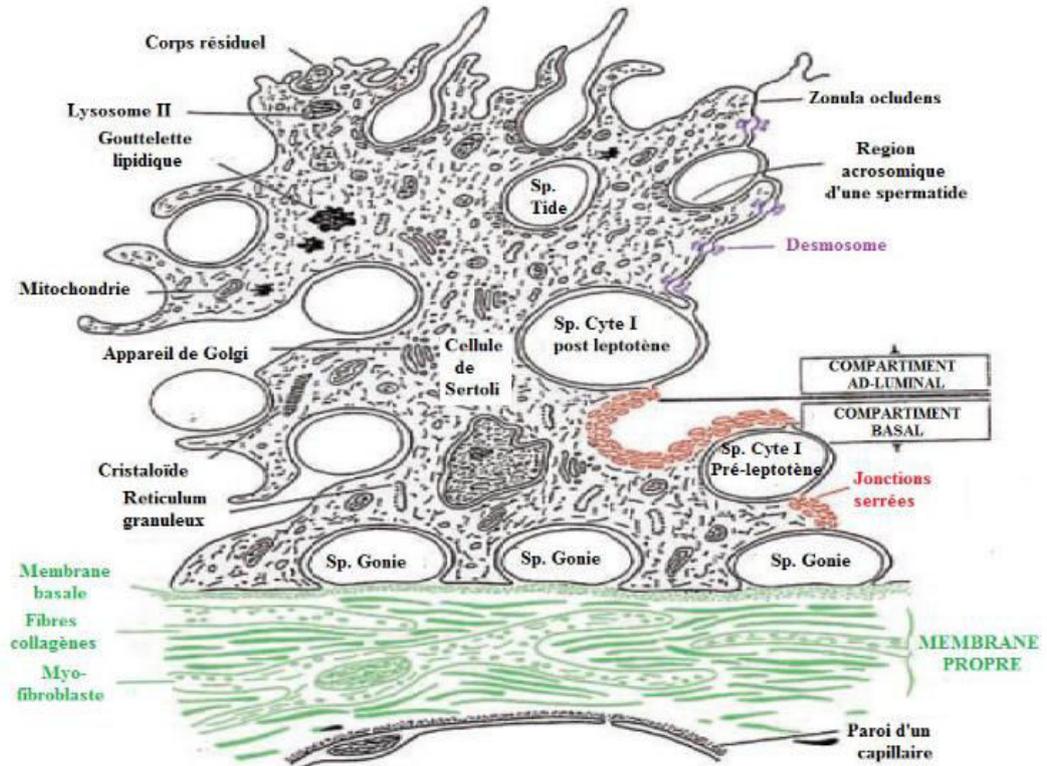


Figure 2.6 : Structure de la cellule de Sertoli [136].

- la protection et le contrôle de la maturation et la migration des cellules germinale
- Assurent la phagocytose des cellules germinales dégénérées ;
- Participent a des sécrétions bidirectionnelles tubulaires et interstitielles ;
- Impliquées dans les synthèses stéroïdiennes et protéiques ;
- Jouent un rôle protecteur contre les réactions immunitaires.

b. Cellules de Leydig

L'espace entre les tubes séminifères est rempli par du tissu conjonctif de nature lâche, très riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs, dans lequel sont repartis diverses cellules libres de type fibroblastes, macrophages ou encore lymphocytes ainsi que des cellules interstitielles en amas appelées cellules de Leydig. De 10 à 15 μm de diamètre, ont un noyau central arrondi. La présence dans le cytoplasme d'un abondant réticulum endoplasmique lisse, de nombreuses mitochondries à crêtes lamellaires ou tubulaires, d'un appareil de Golgi développé et d'inclusions lipidiques sont caractéristiques d'une activité de stéroïdogénèse, Les fonctions endocrines consistent de la production des hormones stéroïdes (95 % de la testostérone plasmatique). L'ensemble des cellules de Leydig forme la glande interstitielle [131, 134, 137, 138].

c. Macrophages : jouent un rôle important dans la régulation de la fonction endocrine des cellules de Leydig [139]. Ces cellules sont capables d'inhiber la synthèse des stéroïdes par le biais de cytokines (IL-1) ou autres facteurs (TNF- α), ainsi que de réguler la prolifération et le développement des cellules de Leydig (via des cytokines et facteurs de croissance). De plus ces cellules sont capables de phagocyter les cellules de Leydig dégénérées.

d. Voies excrétrices

- Tubes droit : Courts canaux de 1 à 2 mm de long, qui font suite aux tubes séminifères. Un tube droit reçoit 5 à 6 tubes séminifères. Tapissés par un épithélium cubique, pauvre en organites.
- Rete testis : est le lieu de convergence des tubes séminifères. Il est formé par un réseau de canalicules bordé par une couche de cellules cubiques,

dont certaines sont dotées d'un flagelle qui aiderait la progression des spermatozoïdes vers les canaux éférents.

Les cellules interstitielles et les tubes séminifères baignent dans le liquide interstitiel (Figure, 2.7) qui participe aux fonctions endocrines et paracrines du testicule [135].

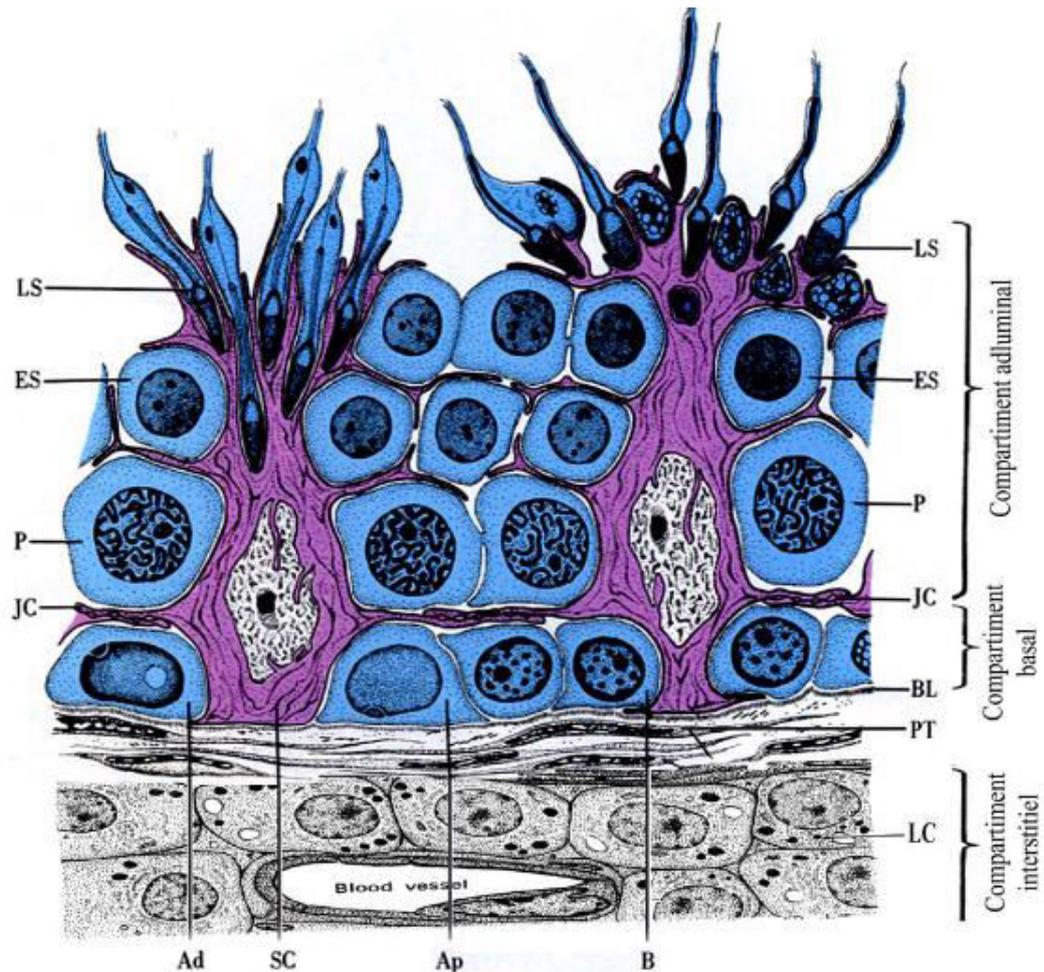


Figure 2.7 : Relation entre les cellules de Sertoli (SC), les cellules germinales à différents stades de leur développement et le tissu interstitiel [140].

Les spermatogonies type A foncés (Ad) et pâles (Ap) et type B sont en deçà de la barrière hémato-testiculaire formée de complexes de jonctions (JC). Les spermatocytes pachytènes (P), les spermatides rondes (ES) et allongées (LS) sont au delà de la barrière hémato-testiculaire. Le tissu interstitiel contient les cellules de Leydig (LC).

2.2.2. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments: un épithélium pseudostratifié, entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses, du tissu conjonctif, contenant des terminaisons nerveuses, des capillaires sanguins et une lumière bordée par cet épithélium [141]. Différents types cellulaires constituent l'épithélium épидидymaire (Figure 2.8), Certaines cellules sont retrouvées sur toute la longueur du canal, alors que d'autres sont plus spécifiques d'une région, présentant des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule [142, 143, 144].

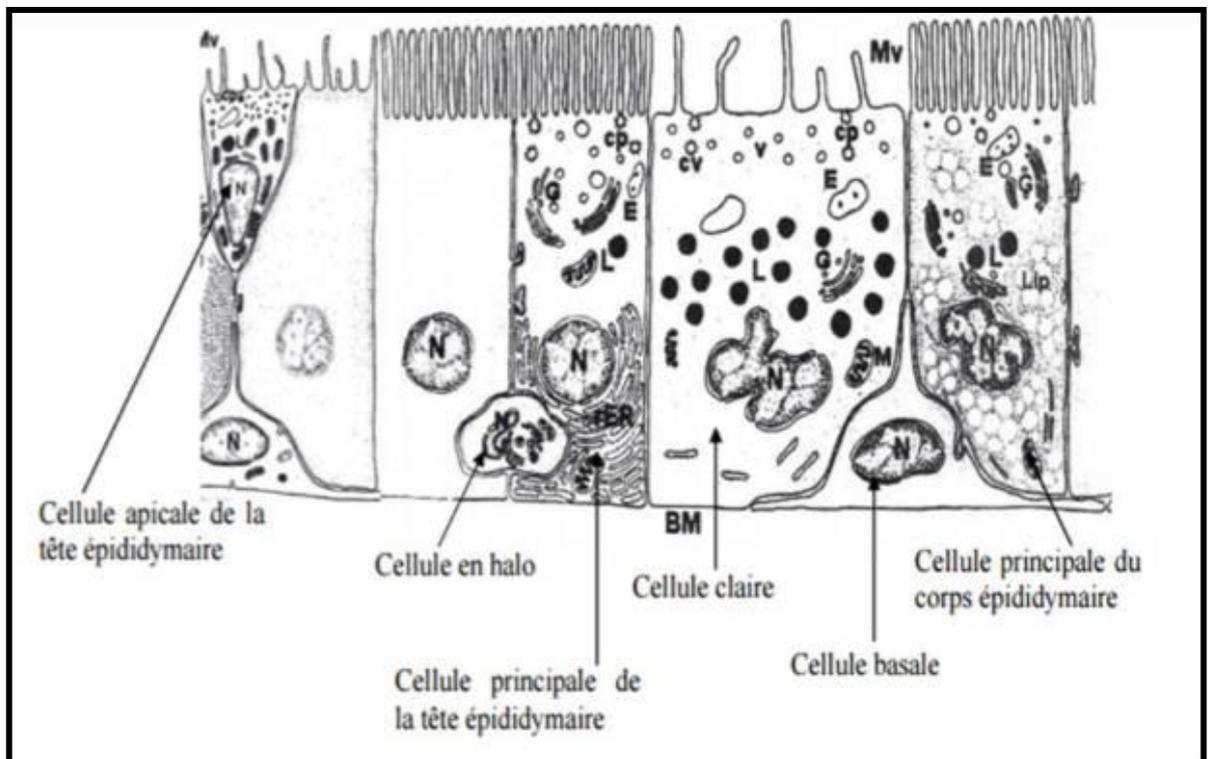


Figure 2.8: Différents types cellulaires épидидymaire de mammifères [145].

Cp : puits recouverts de clathrine, E : endosomes, L : lysosomes, G : appareil de Golgi, rER réticulum endoplasmique rugueux, lip : gouttelettes lipidiques, Mv : microvillosités, BM : membrane basale, N : noyau, V : petites vésicules apicales.

a. Cellules principales

Elles sont les plus nombreuses, présentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre de l'épididyme. Ces cellules sont retrouvées dans

la totalité du canal, mais présentent des variations structurales selon la région épидидymaire [145]. Leur hauteur est plus élevée au niveau de la tête que la queue de l'épididyme. Cette variation concerne aussi la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical [146, 147, 148]. Elles sont reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes.

b. Cellules apicales

Elles sont retrouvées principalement dans la tête épидидymaire. Elles présentent un noyau sphérique dans le tiers apical des cellules, d'où leur qualification, un cytoplasme dense, très riche en mitochondries, contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H⁺ et la réabsorption des bicarbonates (HCO₃⁻). Elles seraient ainsi, responsables de l'acidification du fluide épидидymaire [149] et elles sont capables d'endocyter des substances contenues dans la lumière [145]. Selon leur localisation épидидymaire, leur aspect et leur nom varient. Elles deviendraient les cellules étroites ou "narrow cells".

c. Cellules claires

Ce sont des grandes cellules prismatiques, présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme [150]. Elles contiennent des vésicules de tailles diverses dans leur région apicale, des lysosomes dans leur région médiane, et des gouttelettes lipidiques dans leur partie basale [151]. Ces cellules présentent une forte capacité d'endocytose [151] et jouent un rôle dans l'acidification du fluide épидидymaire [152].

d. Cellules en Halo

Les cellules en Halo sont disséminées tout le long du canal épидидymaire. Elles sont des lymphocytes intra épithéliaux ou des monocytes [153, 154]. Elles pourraient intervenir dans la réponse immune innée de ce tissu qui échappe à la réponse immune adaptative à cause de la barrière hémato-épидидymaire [154].

e. Cellules basales

Les cellules basales sont de petites cellules allongées réparties tout autour du canal épидидymaire [151]. Elles ont une forme hémisphérique, adhèrent à la membrane basale et ne semblent pas avoir d'accès direct à la lumière du tube. Leur noyau est irrégulier et leur cytoplasme pauvre en organites [150]. Leur

fonction est inconnue mais il semblerait qu'elles jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à la barrière hémato-épididymaire [155].

f. Lumière du canal épидидymaire

Dans la lumière de l'épididyme, les spermatozoïdes baignent dans un milieu de nature très complexe (fluide épидидymaire), composé d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules. Cette composition varie tout le long du canal [145].

2.2.3. Vascularisation et innervation

La vascularisation artérielle du testicule et de l'épididyme est assurée par l'artère spermatique naissant de l'aorte abdominale. Cette artère spermatique est-elle même subdivisée en artère testiculaire vascularisant le testicule, artère épидидymaire antérieure vascularisant la tête de l'épididyme et de l'artère épидидymaire postérieure vascularisant le corps et la queue. Des vaisseaux lymphatiques et des filets nerveux sont disposés à la périphérie du complexe vasculaire [98, 156].

CHAPITRE 3

GENERALITES SUR LA PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR CHEZ LE LAPIN MALE

Le système reproducteur a pour fonction principale de veiller à la perpétuation de l'espèce, d'où son importance. Même si ce système n'est pas indispensable à la vie de l'animal, il est parfaitement intégré dans l'ensemble des organes corporels, et son fonctionnement correct nécessite une activité normale de tout l'organisme et plus particulièrement du système endocrinien.

L'activité sexuelle du mâle présente un caractère continu, contrairement à ce qu'on observe chez la femelle. Elle s'installe à la puberté et se maintient tout au long de la vie de l'animal. L'appareil génital mâle a d'une manière générale deux fonctions primordiales, la production des spermatozoïdes dans les tubes séminifères. Associés aux sécrétions des glandes annexes ils constituent le sperme et leur dépôt dans les voies génitales femelle lors de l'éjaculation d'une part, et la sécrétion des hormones sexuelles d'autre part. Cette double fonction est sous le contrôle du complexe hypothalamo-hypophysaire [106, 156, 158].

3.1. Puberté et maturité sexuelle

Les lapins sont bien connus par leurs habilités à se reproduire rapidement [120]. Boussit [99] et Fortun-Lamothe et *al.* [159], ont définie la puberté, comme le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire de façon constante des spermatozoïdes féconds. Elle est atteinte vers le 4^{ème} ou 5^{ème} mois, peu après la descente des testicules dans le scrotum le lapin est dit exorchide. En période de repos, les testicules peuvent remonter en position abdominale. On parle d'une situation enorchide. Selon Harcourt-Brown [120], la puberté se produit entre le 4^{ème} et le 6^{ème} mois, et les petites races se reproduisent plutôt que les grandes races. D'après Macari et Machado (1978) [160], la puberté chez les lapins précède l'apparition du sperme dans l'éjaculat. Skinner [161], affirme qu'au 63^{ème} jour d'âge, les testicules du lapin descendent dans le scrotum. D'autres études ont révélé que malgré les lapins sont pubert au 4^{ème} mois, les testicules ne sont pas encore dans le scrotum. La descente est observée qu'au 6^{ème} mois d'âge [162]. Skinner [161], a indiqué que les lapins sont

pubères quand leurs testicules deviennent androgéniquement actifs et les glandes accessoires commencent à produire le fructose et l'acide citrique et l'animal adopte un comportement sexuel caractéristique du mâle. L'âge à la puberté varie avec la race et les conditions d'élevage, notamment l'alimentation [159].

Généralement, les jeunes mâles sont mis à la reproduction à l'âge de 5 mois, mais la production de sperme n'est maximale que vers 5-7 mois [108, 119, 164]. La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production journalière de sperme n'augmente plus, serait atteinte vers le 7,5^{ème} et le 8^{ème} mois pour la race néo-zélandaise en climat tempéré. Ensuite, la production de sperme récolté reste stable ou décroît légèrement [159, 165, 166]. La production quotidienne, dépendante de nombreux facteurs, est de l'ordre de 2.107 spermatozoïdes [159]. D'autres études ont révélé que chez cette espèce la maturité sexuelle est atteinte à l'âge de 18 semaines [167, 168]. A l'âge de 20 semaines, les mesures testiculaires et le pourcentage des tubes séminifères qui contiennent des spermatozoïdes ne représentent que 70% de leur valeur par rapport à l'âge adulte (33 semaines d'âge). Par contre, il semblerait que le volume, donc à priori la sécrétion de plasma séminal, augmenterait entre la 20^{ème} et la 33^{ème} semaine [108, 119, 164, 169, 170] et peut aller jusqu'à l'âge de 12 mois [99, 171]. Chez les lapins, la maturité sexuelle varie avec l'âge (125-150 jours), la race, lignée, l'alimentation et les facteurs d'environnement tel que la photopériode, la température et la saison [126, 171]. Ainsi, la puberté et la maturité sexuelle sont des phases différentes.

3.2. Production du sperme

Le testicule continue à se développer et la production spermatique augmente jusqu'au 6^{ème} mois d'âge [172]. Le spermatozoïde peut être déjà présent dans la queue de l'épididyme dans les environs de la 15^{ème} ou 16^{ème} semaine d'âge. Il a été noté également que la production journalière des spermatozoïdes augmente entre la 15^{ème} et la 52^{ème} semaine d'âge [167, 172, 173]. Certaines études ont rapportées qu'il y a une corrélation positive entre la réserve gonadique et le poids testiculaire [174] et le poids corporel des lapins [175]. Chez le lapin, on compte une production journalière de spermatozoïdes de l'ordre de 25 à 60 million par

gramme de testicule, soit une production de 100 à 250 millions de spermatozoïdes par animal et par jour [99].

Pour ce qui est du volume de sperme éjaculé, ce dernier est d'environ 0,3 - 1ml. Pour ce qui est de la concentration, cette dernière a été évaluée à 150 à 500 x 10⁶ Spz/ml [176]. Selon les résultats de plusieurs travaux [166, 177, 178], la production quotidienne (par jour) de spermatozoïdes a été respectivement de 148 ± 11 x 10⁶ spz/j ; 187 × 10⁶ spz/j et 210 x 10⁶ spz/j. Cependant, le volume et la concentration sont susceptibles de varier. Par exemple lors de fausses montes, 1 ou 2 minutes avant la copulation, augmentent la concentration de l'éjaculat. Dans 2 coïts successifs, le premier acte comme une préparation pour le second, ce qui est moins volumineux mais plus concentré. Au cours des saillies suivantes, le volume de l'éjaculat baisse, tandis que la concentration augmente entre la première et le second éjaculat puis diminue. Le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat suit la même tendance [118, 179]. Cependant, l'exposition continue à la lumière pendant 14 heures, affecte les réserves gonadiques [174]. Une étude récente a montré que chez le lapin, la réserve des spermatozoïdes est inférieure dans le testicule gauche et l'épididyme gauche que dans ceux à droite [175].

Dans les conditions naturelles, un mâle produit des spermatozoïdes pendant 5 à 6 ans, mais en élevage, sa vie reproductive est souvent plus courte, notamment à cause de problèmes de libido entraînant la réforme du reproducteur [180].

3.3. Spermatogenèse

La spermatogénèse est un processus biologique complexe, qui a lieu au niveau de l'épithélium des tubes séminifères des testicules. Elle consiste en la production des spermatozoïdes où gamètes mâles haploïdes à partir des spermatogonies, cellules souches germinales diploïdes qui était en stock chez l'animal depuis sa naissance [181].

Chez le lapin, 40 à 50 jours après la naissance, la spermatogenèse débute. L'activation des tubes séminifères est faite aux alentours de 12 semaines. Les spermatozoïdes sont formés à partir des spermatogonies ou cellules germinales. Ce développement est organisé selon un ordre spatial et temporel rigoureux passent par 5 stades cellulaires caractéristiques : spermatogonie, spermatocyte I, spermatocyte II, spermatide et spermatozoïdes (Figure 3.1). Les cellules

germinales immatures (spermatogonies, diploïdes) sont localisées à la périphérie du tube et se multiplient par mitoses. Certaines cellules filles cessent de se diviser et se différencient en spermatocytes primaires, qui entrent en méiose. La méiose se déroule sans pause et produit deux spermatocytes secondaires (haploïdes), puis quatre spermatides qui se différencient en spermatozoïdes. Une des particularités physiologiques des cellules germinales mâles est qu'elles ne terminent pas totalement leurs divisions cytoplasmiques, aussi bien lors des mitoses que des méioses, et elles restent ainsi unies en une sorte de syncytium jusqu'aux derniers stades de la spermatogénèse. L'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires permet l'élaboration de spermatozoïde non mature. Les spermatozoïdes immatures produits sont immobiles vont être libérés dans les divers canaux : rete testis, épидидyme, canaux déférents et canal éjaculateur, dans lesquels leur maturation se poursuit, le séjour dans l'épididyme, en particulier, permet aux spermatozoïdes d'acquérir une motilité « fléchante », c'est-à-dire linéaire, alors que plus précocement, les mouvements ont tendance à être circulaires, non orientés. La durée du cycle varie entre 38 et 45 jours, le spermatozoïde différencié arrive dans l'épididyme 5 à 6 jours après la fin de la spermatogénèse. Des spermatozoïdes matures peuvent être présents dans les éjaculats à partir de 16 semaines [99, 171, 173, 182].

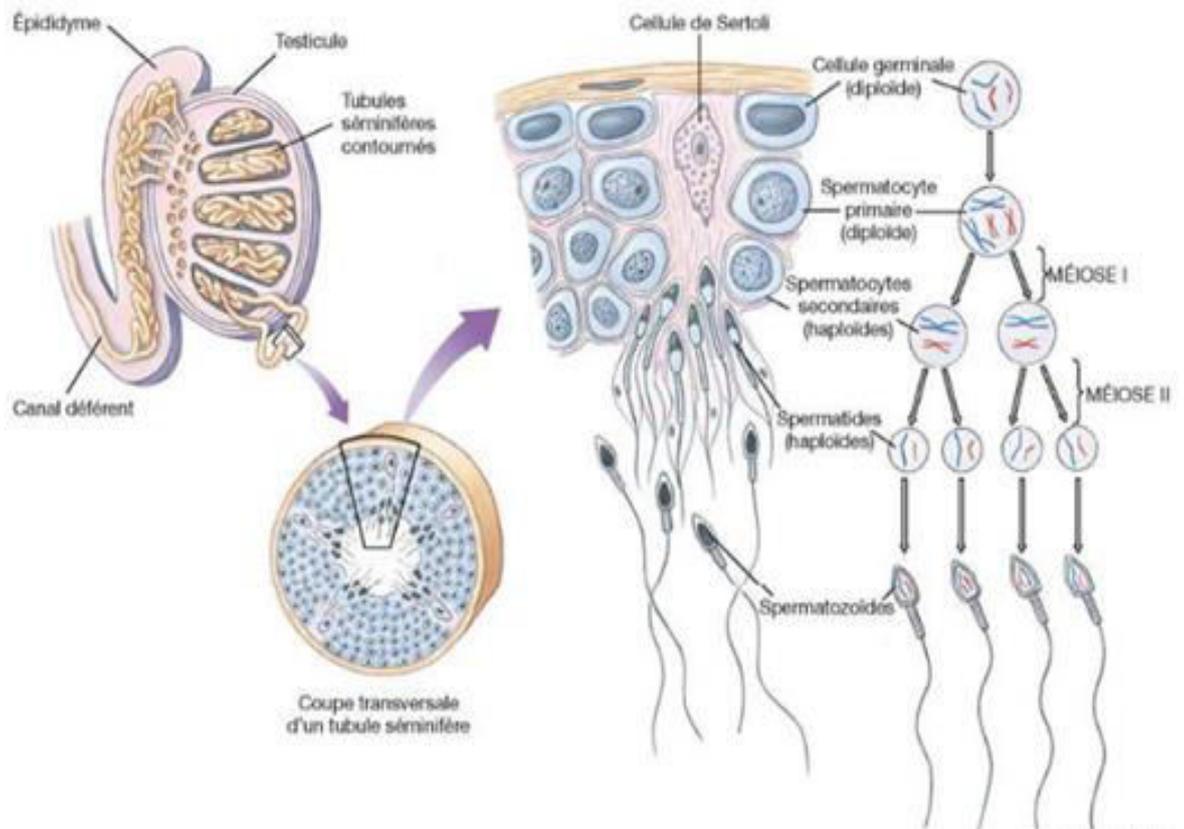


Figure 3.1 : Différentes étapes de la spermatogénèse [183].

Les divers types cellulaires dérivés des spermatoocytes primaires restent fichés dans de profondes dépressions des cellules de Sertoli, cellules géantes en relation avec la membrane basale du tube séminifère, à qui on attribue un rôle nutritionnel [182]. Ce rôle comprend l'apport de nutriments par l'intermédiaire de leur prolongement cytoplasmiques et le transport des déchets métaboliques vers les systèmes vasculaires sanguins et lymphatiques entourant les tubes séminifères [127]. L'intégrité de la lignée germinale est assurée par la testostérone, hormone stéroïdienne élaborée par les cellules de Leydig localisées dans le tissu interstitiel. Cependant, le taux de testostérone plasmatique en dessus du seuil n'influence pas sur le bon fonctionnement de la spermatogénèse [184].

La production spermatique des lapins est influencée par divers facteurs parmi lesquels il convient de mentionner la race, le régime alimentaire et les conditions d'ambiance (lumière et température principalement) [99]. Il a été constaté depuis longtemps que la qualité et la quantité de la semence produite par les mâles, varie

en fonction de leur origine génétique [185]. Zhang et *al.* [186], suggèrent que l'âge de l'animal et la saison contribuent à la spermatogenèse. Chez le lapin, les spermatides multinucléaires sont souvent trouvées, mais leur taux baisse par le stress ou les facteurs d'environnement [172]. La gamétogenèse mâle est particulièrement sensible à la température intratesticulaire chez presque tous les mammifères, la position dans le scrotum leur assure une température de plusieurs degrés inférieure à celle de l'abdomen, situation favorable à la spermatogenèse. Ainsi, les températures élevées de celle du scrotum (température abdominale) peuvent bloquer la spermatogenèse. Cet effet de la température semble être lié à une grande sensibilité thermique des lysosomes des spermatocytes et des spermatides, qui libèrent alors leurs enzymes et provoquent la régression des cellules germinales [182, 187]. Par rapport à la cinétique de la production des spermatozoïdes, cette dernière est continuée et non affectée par le rythme ou la fréquence d'utilisation du mâle lors des accouplements [99, 188, 189].

3.4. Maturation épидидymaire

Les spermatozoïdes qui sont dans la lumière des tubes séminifères sont ensuite acheminés au travers du rete testis vers l'épididyme qui recouvre le testicule. Les spermatozoïdes prélevés directement au niveau des tubes séminifères, bien que dotés d'un flagelle et morphologiquement bien formés, sont pratiquement immobiles et immatures [117, 159]. Leur parcours à travers l'épididyme dure moyennement 9 à 10 jours, dont 3 j dans la tête de l'épididyme, 1 j dans le corps et 5 à 6 j dans la queue [190]. Selon Fortun-Lamothe et *al.* [159], la durée de la maturation épидидymaire chez le lapin varie de 8 à 11 jours. Bedford [190, 191]; Briz et *al.* [191], Yeung et *al.* [192]; Jones [193]; Dedoune et Demoulin [194]; Cooper [195], répertorient de nombreux changements morphologiques et fonctionnels qui vont s'opérer au cours de ce processus graduel de maturation : activation de la motilité (l'acquisition de la motilité fléchante), grâce aux changements de concentration de différentes composantes telles les ions, l'AMPc et les protéines avec lesquelles ils vont interagir lors de leur transit dans l'épididyme changement de voie métabolique, réarrangement du noyau et des structures du flagelle, perte de la gouttelette cytoplasmique et remaniement de la membrane plasmique. Les spermatozoïdes acquièrent graduellement l'aptitude à féconder un ovocyte et à se maintenir en vie lors de leur stockage dans la queue

épididymaire, avant l'éjaculat. En effet, des travaux anciens montrent que seuls les spermatozoïdes présents dans la queue de l'épididyme sont susceptibles d'être féconds (fertilité ~ 90 %). À ce stade, bien que les spermatozoïdes aient acquis la capacité de se mouvoir, ils sont maintenus dans un état de motilité réduite, notamment grâce à l'immobiline, le pH et le faible niveau d'ATP, afin de préserver leurs ressources énergétiques [193]. Le stock des spermatozoïdes qui se trouve dans la queue de l'épididyme peut se trouver affectés par la fréquence de saillies ou de collectes. Cependant s'ils sont entreposés trop longtemps, ils perdront leur pouvoir fécondant et seront éliminés par les cellules épithéliales [196]. En résumé, le transit épididymaire permet le transport (contractions), le stockage (queue de l'épididyme) et l'acquisition de la motilité des spermatozoïdes.

Plusieurs auteurs soutiennent que les étapes de maturation post-testiculaire dépendent en majorité des interactions séquentielles du sperme avec le fluide épididymaire [195, 197, 198, 199]. Ce dernier a été créé par les activités d'absorption et de sécrétion des cellules épididymaires. Grâce à sa composition très diverse, qui est riche en protéines, en ions divers, en inositol, en L-carnitine et en acide sialique [200], les spermatozoïdes subissent de nombreuses modifications morphologiques et biochimiques lors de leur transit au sein de la lumière épididymaire. Permettant la survie et le maintien de l'intégrité des spermatozoïdes [201].

Tout au long de son passage dans l'épididyme, les spermatozoïdes vont subir des modifications morphologiques. Ainsi, dans la partie proximale de la tête de l'épididyme, l'acrosome des spermatozoïdes est long et large et présente une gouttelette cytoplasmique sur la pièce intermédiaire, près de la tête. Au cours du transit, l'acrosome se raccourcit, la gouttelette cytoplasmique glisse le long des pièces intermédiaires et la densité des spermatozoïdes s'accroît [202, 203].

- Apparition du pouvoir fécondant : D'après les travaux de Boussit [99], le revêtement glycoprotéique est modifié au cours du transfert par la perte de la gouttelette cytoplasmique et par l'adhésion de protéines provenant des sécrétions de l'épithélium épididymaire. Ces modifications interviendraient dans les propriétés d'agglutination du sperme et dans le développement de la capacité fertilisante qui est acquise dans la moitié inférieure du corps de

l'épididyme, bien que la proportion des spermatozoïdes fertiles dans cette zone reste encore moindre que celle dans la queue de l'épididyme ou dans les canaux déférents [176].

- Acquisition de la mobilité : Les spermatozoïdes de la tête de l'épididyme n'ont que des mouvements vibratoires de la queue et ne présentent aucun déplacement [99, 204]. C'est au niveau du corps qu'apparaissent les mouvements transitoires, caractérisés par une grande courbure ce qui va entraîner des mouvements circulaires et erratiques. Dans la région caudale, les cellules présentent un mouvement mature caractérisé par une distribution symétrique des ondes de part et d'autre des flagelles, permettant une trajectoire rectiligne [198, 204]. Cependant, Les facteurs responsables du déclenchement de la mobilité ne sont pas encore connus, mais la phosphorylation des protéines dépendantes de l'AMPc pourrait y intervenir [105, 206].
- Stockage des spermatozoïdes : L'épididyme est le lieu de stockage des spermatozoïdes. Ainsi, le stock total est de 1000×10^6 spermatozoïdes qui est distribué comme suit : 275×10^6 dans la tête et le corps, 650×10^6 dans la queue de l'épididyme et 50×10^6 dans le canal déférent. Néanmoins, le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue épидидymite, varie selon l'activité sexuelle et de la durée de la photopériode [106].

3.5. Régulation hormonale

Sur le plan hormonal, La fonction sexuelle du lapin mâle est contrôlée par une régulation de type neuroendocrinienne. Les hormones participantes proviennent du complexe hypothalamo-hypophysaire et des testicules (Figure 3.2) [118].

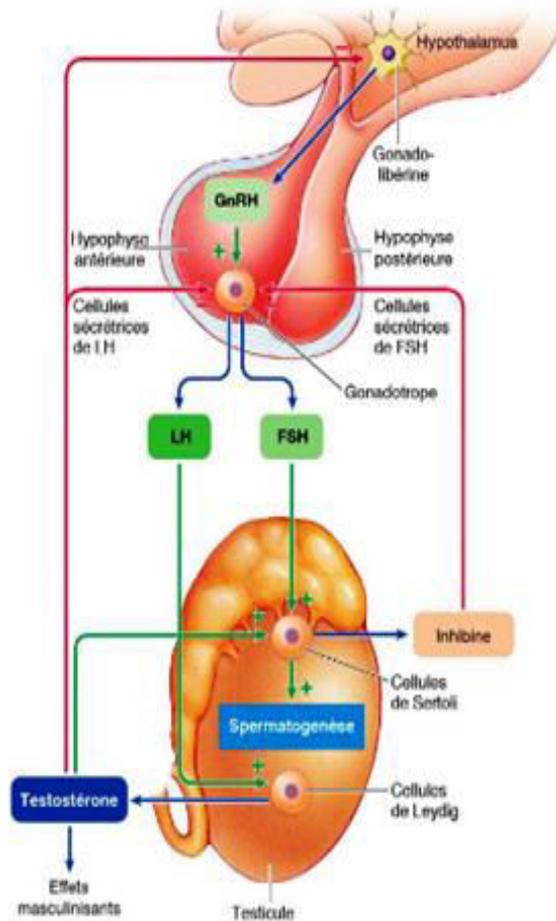


Figure 3.2 : Régulation hormonale [207].

Chez le mâle, le système nerveux central, par l'intermédiaire de la GnRH, commande l'antéhypophyse qui, à son tour, sécrète les hormones gonadotropes LH (Lutéinizing Hormone) et FSH (Follicule Stimulating Hormone), qui exercent en permanence leurs effets sur le testicule et lui permettent d'assurer ses fonctions exocrine et endocrine de manière continue. Toute modification des paramètres centraux est susceptible d'entraîner des répercussions sur la production de testostérone et de spermatozoïdes [118, 208].

La fonction gonadotrope hypophysaire est activée dès la naissance. Les concentrations de LH, élevées à la naissance, chutent jusqu'au 20^{ème} jour puis s'élèvent lentement de 40 à 70 jours. Les concentrations de FSH, relativement

faibles de 0 à 40 jours, augmentent à partir de ce stade et atteignent dès 60 jours des valeurs élevées caractéristiques de l'adulte [209].

3.5.1. Au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire

La reproduction est régulée par un système hormonal complexe dans lequel l'hypothalamus et l'hypophyse ont un rôle essentiel [159]. L'axe hypothalamo-hypophysaire, situé à la base du cerveau [210], est l'interrupteur général de fonctionnement testiculaire, il joue un rôle majeur dans le fonctionnement hormonal en relation avec les facteurs internes et les stimuli du milieu extérieur [211].

Le contrôle de l'activité des gonades fait intervenir les hormones gonadotropes : LH (Luteinizing Hormone) et FSH (Follicule Stimulating Hormone). Ces dernières sont synthétisées par les cellules de l'hypophyse antérieure. La LH est libérée dans le sang sous forme de pulses. Ces derniers sont caractérisés par leur amplitude et leur fréquence. Entre deux pulses successifs, une sécrétion basale est enregistrée. L'action de la LH est indirecte sur le processus de la spermatogenèse puisqu'elle stimule la sécrétion de la testostérone par les cellules de Leydig. La FSH est aussi sécrétée de façon pulsatile, mais avec un profil plus complexe. Elle assure le bon déroulement de la spermatogenèse en stimulant, d'une part, la production de la testostérone et, d'autre part, la synthèse de l'ABP par l'intermédiaire des cellules de Sertoli [212, 213].

La sécrétion de ces deux hormones est régulée par une neuro-hormone : GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone, appelée aussi gonadolibérine) produite par des neurones embryologiquement issus de la placode olfactive, dont les corps cellulaires sont situés dans l'hypothalamus [211]. Cette dernière est libérée dans les vaisseaux sanguins du système porte irriguant l'hypophyse et se fixe sur des récepteurs localisés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. La gonadolibérine agit, ainsi, de façon immédiate sur la sécrétion de la LH. Toutefois, l'action de la GnRH sur la libération de FSH est moins marquée [118, 211]. Enfin, la sécrétion de GnRH serait régulée par d'autres facteurs comme des stimuli externes (photopériode, température) ou internes (stress, sécrétion de cortisol, jeûne, sécrétion d'hormones thyroïdiennes etc.) [214].

3.5.2. Au niveau des testicules

Les gonadotrophines hypophysaires agissent sur des récepteurs membranaires spécifiques, topographiquement séparés. Dans un premier temps, la LH présente et active dès les premières semaines de la vie fœtale, agit en se stabilisant sur des récepteurs situés au niveau des cellules de Leydig. La LH stimule la synthèse de la testostérone car elle favorise le clivage de la chaîne latérale du cholestérol et amorce la synthèse des androgènes. Ces brusques changements de la concentration plasmatique de LH entraînent une stimulation rapide des cellules de Leydig du testicule qui répondent en libérant la testostérone dans le sang ; chaque pulse de LH est donc, suivie d'un pulse de testostérone dont l'amplitude varie selon la situation physiologique du mâle [210, 211, 215, 216]. La testostérone est maintenue à une concentration élevée dans le parenchyme testiculaire grâce à, sa liaison avec l'ABP, est capable d'induire la spermatogenèse par action directe sur le tube séminifère et la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme, la stimulation des cellules de Sertoli et la sécrétion des glandes annexes (ex : fructose par la vésicule séminale), la croissance en favorisant l'anabolisme protéique, la croissance des tissus osseux et le développement des muscles, la différenciation et la maturation des organes reproducteurs masculins, la stimulation des caractères sexuels secondaires pour aboutir à un phénotype masculin normal et d'entraîner les modifications comportementales nécessaires au rôle du mâle dans la reproduction (libido) [211, 217]. Par la suite et dans un second temps, la FSH qui possède uniquement des récepteurs que sur la cellule de Sertoli, agit indirectement sur la spermatogenèse en stimulant l'ensemble des sécrétions, notamment l'ABP (Androgen-Binding Protein) par les cellules de Sertoli (cellules nourricières de la lignée séminale), et elle agit directement sur les cellules germinales, dont elle active la multiplication [118, 211]. Chez le mâle, la prolactine a également un rôle direct dans la synthèse de testostérone et un rôle indirect en augmentant le nombre de récepteurs à la LH, en agissant sur le testicule [218].

Les Profils de GnRH, de LH et de FSH sont influencés par de nombreuses stimulations qui peuvent être d'origines nerveuse (stimuli visuel, olfactif, auditif) ou hormonales (rétrocontrôles, stress par les corticoïdes).

3.5.3. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule.

Pour ce qui est de la régulation de la fonction gonadotrope, cette dernière est caractérisée par un rétrocontrôle négatif exercé à la fois au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse, par la sécrétion testiculaire. La testostérone, au-delà d'une certaine valeur dans le sang a une action inhibitrice sur la sécrétion de la LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus. L'inhibine exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des sous unités β de la FSH, par les cellules gonadotropes. Si on détruit les cellules de Sertoli, le taux sérique de LH n'est pas modifié alors que celui de FSH s'élève. Si l'on détruit ensuite les cellules de Leydig, le taux de testostérone chute, la LH s'élève au niveau des taux du castré, la FSH également. Donc, le rétrocontrôle de la LH est exclusivement du à la présence des stéroïdes leydigiens alors que celui de la FSH résulte pour une part des stéroïdes sexuels et, pour l'autre de l'inhibine [219, 220].

CHAPITRE 4

EVALUATION DE LA FONCTION SEXUELLE ET METHODES DE RECOLTE DE LA SEMENCE CHEZ LE LAPIN MALE

Par définition, le potentiel reproducteur des animaux d'élevage est une caractérisation des performances de reproduction. Chez le lapin mâle, ces dernières rassemblent à la fois les deux aspects qualitatifs (la fertilité) et quantitatif (la prolificité). Ces deux aspects sont sous l'influence de facteurs liés à la fois à l'animal (génétique, âge) et au milieu (saison, température) dans lequel l'animal évolue.

4.1. Caractéristiques de la semence du lapin mâle adulte

La semence est un liquide clair, plus ou moins visqueux, de couleur blanchâtre. Elle est homogène mais trouble. Elle peut être de couleur anormale, signe d'une contamination par de l'urine (jaune), du sang (rouge ou brun), ou encore du pus (vert) [125]. Le volume (0,3 à 6 ml) et la concentration (150 à 500 x 10⁶ Spz/ml) varient entre mâles et entre collectes successives pour un même mâle. Le pH de la semence lors de la récolte est un bon estimateur de la qualité de la semence (8 à 6,9) [106, 171, 221].

Communément, la semence du lapin est constituée d'une partie fluide et d'une portion gélatineuse [222]. La partie fluide est formée par la fusion de deux matières séparables par centrifugation: les spermatozoïdes produits par les testicules et le plasma séminal sécrété par l'épididyme et les glandes annexes qui sont fusionnés pendant l'éjaculation [99, 223, 224].

4.2. Composition de la semence du lapin mâle adulte

4.2.1. Masse gélatineuse

La masse gélatineuse de la semence du lapin est produite dans la glande vésiculaire [225]. Elle est composée d'une quantité importante d'une substance oestrogénique, de l'acide citrique et une petite quantité de fructose. Lorsque l'animal est soumis à deux collectes de la semence quotidiennement, la masse gélatineuse peut être présente à 75,4% dans le premier éjaculat, et seulement à

4,8% dans le second éjaculat [226]. Bien qu'elle soit commune à la semence du lapin, aucune fonction n'a été trouvée du gel à part la prévention de la perte de spermatozoïdes rétrogradé chez les rongeurs en fermant l'humen vaginal [222, 227]. Cependant, il est recommandé d'enlever le gel après le prélèvement et avant l'évaluation de la semence.

4.2.2. Spermatozoïde

Le spermatozoïde correspond au gamète mâle, il transporte l'information génétique dans le tractus génital femelle et la délivre à l'intérieur de l'ovocyte. Afin d'accomplir cette mission, le spermatozoïde est hautement différencié. Il s'agit d'une cellule de petite taille mais longuement flagellée et mobile [101, 223, 228]. Morphologiquement, le spermatozoïde des mammifères peut se diviser en deux parties (Figure 4.1), la tête qui comprend l'acrosome, le chapeau nucléaire ou « coiffe » et le noyau cellulaire et la queue appelée flagelle qui comprend la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale et constitue la partie la plus longue du spermatozoïde. La tête et la queue sont unies par un col, ou pièce connective, très bref [101, 229]. Chez le lapin, il mesure entre 55 et 57 μm ; dont la tête 6,5 à 9 μm , la pièce intermédiaire 9 μm . La tête à une forme ovoïde, piriforme et rétrécie caudalement (5 x 4 x 0,5 μm). Quant à la queue du spermatozoïde du lapin, elle mesure 45 μm [101, 230].

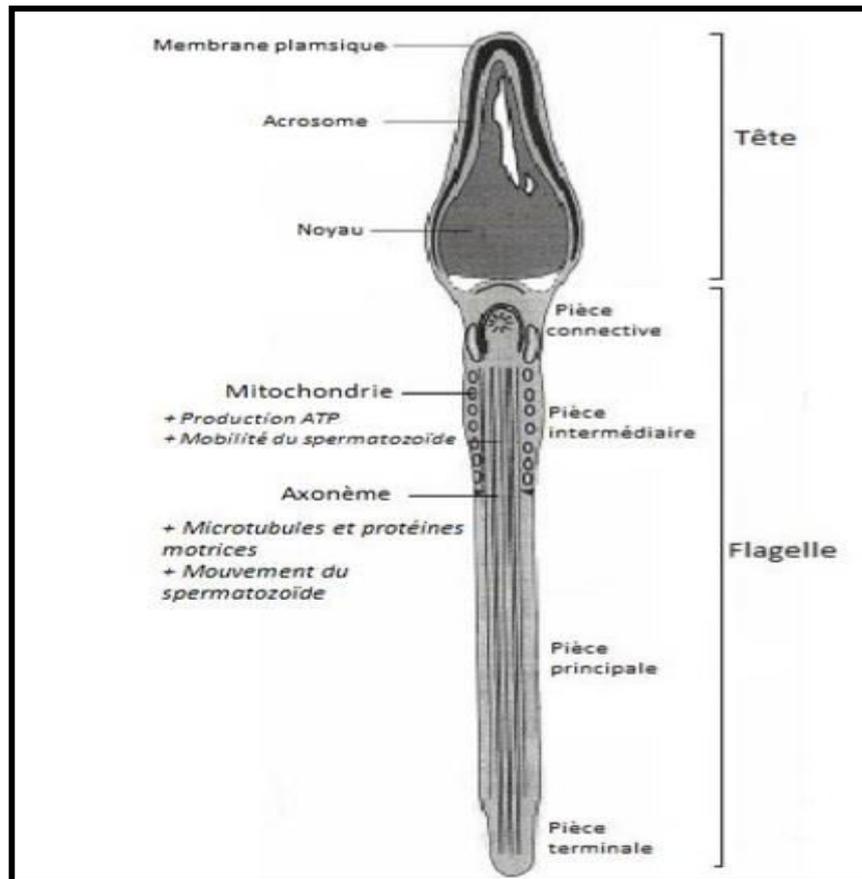


Figure 4.1 : Organisation interne du spermatozoïde [194].

a. Membrane plasmique

La membrane plasmique constitue la barrière avec le milieu extérieur. Contrairement aux membranes cytoplasmiques des cellules somatiques, cette membrane est hautement spécialisée. Elle est divisée en micro-domaines où des protéines et des lipides spécifiques y sont fixés et dont le rôle est de réguler la physiologie et les fonctions du spermatozoïde. Au niveau de la pièce intermédiaire du flagelle, la membrane plasmique contient des protéines nécessaires à la production de l'ATP mitochondriale et nécessaires à la modulation du glissement des microtubules. Au niveau de la tête des spermatozoïdes, la membrane plasmique renferme des protéines intervenant dans la reconnaissance cellulaire entre le spermatozoïde et l'ovocyte et dans la fusion des membranes au cours de la fécondation [228, 231].

b. Tête

La tête constitue la partie essentielle du spermatozoïde, car elle est presque entièrement composée du noyau et renferme donc la chromatine. Elle est ovoïde lorsqu'elle est vue de face et aplatie en vue de profil. La tête est composée de l'acrosome et du noyau. L'acrosome est une vacuole spécialisée, composée d'une double membrane, située à l'avant du noyau et formée lors de la spermatogenèse pendant la phase de Golgi. Les enzymes hydrolytiques présentes dans l'acrosome sont responsables de la lyse de la zone pellucide ovocytaire essentielle à la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte lors de la fécondation. Le noyau occupe la plus grande partie de la tête du spermatozoïde et contient le matériel génétique mâle sous forme d'ADN hautement condensé. Il est haploïde et ne contient donc qu'un seul exemplaire de chromosomes [228, 232]. La surface de la membrane de la tête est structurée en une mosaïque de territoires exposant des protéines nécessaires à la capacitation.

c. Flagelle

Le flagelle constitue l'élément moteur du spermatozoïde, il lui permet d'atteindre l'ovocyte dans les voies génitales femelles et de pénétrer ce dernier. Il comprend trois parties successives [101, 228, 232].

La pièce intermédiaire fait directement suite au col et constitue la partie la plus épaisse de la queue. Elle est formée de l'axonème entouré d'une couche de fibres denses et d'une gaine de mitochondries disposées en hélice et produisant l'ATP. Cette gaine mitochondriale est indispensable à la production d'énergie nécessaire au mouvement du flagelle.

- Pièce principale, de loin la plus longue, comporte simplement l'axonème et les fibres denses qui s'amincissent en allant vers la pièce terminale.
- Pièce terminale, la gaine et les fibres denses font défaut et seul le filament axial est présent.

L'axonème est un filament qui parcourt toute la longueur de la queue et est constitué d'un assemblage de fibrilles longitudinales creuses ou microtubules : une paire de microtubules centrale entourée de neuf paires de microtubules. Les

microtubules sont constitués de sous-unités de α - et β - tubulines associées à des protéines motrices dont la kinésine.

4.2.3. Plasma séminal

Le rôle majeur du liquide séminal est l'apport de substrats énergétiques aux spermatozoïdes qui en étaient largement dépourvus lors de leur stockage dans l'épididyme. De plus, la dilution des gamètes dans le plasma séminal permet l'activation de leur motilité progressive ainsi qu'un transfert facilité des spermatozoïdes dans le tractus génital femelle lors de l'éjaculation [117]. Le plasma séminal joue également le rôle de substance tampon pour les spermatozoïdes. Son pH est légèrement alcalin, entre 7,2 et 7,8, et permet de neutraliser l'environnement acide du vagin [233]. Les sécrétions des glandes annexes (prostate, glandes de Cowper) constituent la majeure partie de la fraction liquide de l'éjaculat, de 50 à 95% du volume total du liquide séminal. Certains éléments du liquide séminal proviennent de la filtration du plasma sanguin tandis que d'autres sont produits par les glandes sexuelles [117]. En effet, et selon les travaux de Castellini et *al.* [234], les spermatozoïdes placés dans un milieu pauvre en plasma séminal perdent de leur motilité en 1 à 3 heures, et ils la conservent pendant 6h dans une dilution au 10^{ème}. Ces effets sont liés essentiellement aux divers éléments le composant, tel que les substrats énergétiques et les substances protectrices, assurant ainsi le mouvement des spermatozoïdes [99]. Le liquide séminal est composé à 90% d'eau et il contient également différents composants tel que [226, 233, 235, 236, 237, 238, 239]:

- Glucides : Le fructose et le glucose sont les glucides présents à la plus forte concentration dans le liquide séminal et ils constituent le principal substrat énergétique pour les spermatozoïdes qui peuvent rapidement le métaboliser. On retrouve également du sorbitol de l'inositol et du lactate en petite quantité.
- Lipides : Ils sont d'origine prostatique. On retrouve des phospholipides, du cholestérol et des prostaglandines. Ces dernières aideraient à la contraction des fibres musculaires lisses lors du transport des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles.

- Protéines: Une partie des protéines est issue du plasma sanguin (albumine, globuline, transferrine, immunoglobulines) et l'autre partie est sécrétée par le tractus génital mâle (enzymes protéolytiques, glycoprotéines, phosphatases, glucuronidases). Les albumines et les globulines ont pour rôle le maintien de l'équilibre osmotique, essentiel à la survie des spermatozoïdes. Les glycoprotéines fibrinogène-like sont sécrétées par les vésicules séminales et jouent un rôle dans la coagulation de la semence après l'éjaculation. De nombreuses enzymes, dont les enzymes protéolytiques, sont présentes et sont responsables de la liquéfaction de la semence coagulée.
- Ions et électrolytes : Ils permettent le maintien de l'isotonie de la solution. Le plasma séminal du lapin contient du Na, K, Ca, Mg, Se et le Zn, et quelques traces de Cu, Fe, Mn, Cd, Pb et le Ni. Le calcium, essentiel au fonctionnement des spermatozoïdes, et le zinc, possèdent des propriétés bactéricides. Des ions chlorures présentent une activité spermicide. Ils sont libérés au moment de l'éjaculation et contenus dans les glandes annexes.
- Molécules de faible poids moléculaire : L'acide citrique, sécrété par la prostate, est retrouvé en forte concentration dans la semence. Il agirait comme chélateur du calcium. On retrouve des polyamines telles que la spermine, à l'origine de l'odeur du sperme suite à son oxydation. De nombreux acides aminés libres (glycine, acide glutamique, arginine, alanine, acide aspartique) sont présents dans la semence et agissent comme chélateurs, agents tampon ou encore stimulants de la mobilité des spermatozoïdes.
- Hormones : La testostérone est retrouvée majoritairement sous forme liée à la protéine ABP. D'autres hormones stéroïdes sont présentes comme la DHEA (Déhydroépiandrostérone) ou encore des œstrogènes qui stimuleraient la mobilité des spermatozoïdes et augmenteraient leur longévité. On retrouve également quelques hormones protéiques telles que la prolactine, la LH, ou encore la FSH.

On peut également trouver dans le liquide séminal des éléments figurés, rares et dégénérés mais également des cellules épithéliales provenant de la vessie ou de l'urètre, des lymphocytes, ou encore des globules rouges provenant de

l'éclatement de petits vaisseaux du pénis. La semence n'étant pas stérile, on peut également y retrouver des microorganismes provenant de la flore résidente des muqueuses péniennes et préputiale [125].

4.2.4. Granules séminales

Par définition, les granules séminaux sont des particules sécrétées par la prostate. Observer au microscope électronique, ces derniers montrent une forme ronde et présentent des protubérances cytoplasmiques, avec de petites vésicules détachées. Elles sont de taille différentes allant de 0,5 à 6 μm de diamètre et largement présentes dans le sperme du lapin (450×10^6 /ml). Les granules séminaux ou séminales ont plusieurs rôles, on citera essentiellement la modulation du processus de capacitation et la réaction acrosomique des spermatozoïdes. Elles interviennent aussi dans la cinétique, la réponse immunitaire de l'appareil génital femelle, ainsi que le transit des spermatozoïdes dans le tractus génital de la femelle [240].

4.3. Facteurs de variations de la qualité de la semence chez le lapin mâle

De nombreux facteurs peuvent faire varier les caractéristiques quantitatives et qualitatives d'un éjaculat chez le lapin [240]. Cette variation est due à une multitude de facteurs intrinsèques (L'individu, la race et l'âge) ; extrinsèques (La saison, la température, l'alimentation, le rythme de la récolte et l'ordre de l'éjaculat) et d'autres facteurs (l'effet de l'opérateur et les effets agissant directement sur la semence).

4.3.1. Facteurs intrinsèques

4.3.1.1. Individu

Une variation individuelle peut être observée au sein d'une même population, chez les lapins de même âge et soumis aux mêmes conditions de production. Cette dernière peut être observée soit sur une échelle inter mâle, soit sur une échelle inter lot de mâles, et pourrait être due à la fois aux facteurs génétiques et/ou environnementaux [79, 189, 240, 241]. Cette importante variabilité entraîne une diminution de la répétabilité et de l'héritabilité des caractéristiques de la semence et rend l'amélioration génétique de ces derniers, difficile à réaliser [241, 242].

4.3.1.2. Race

Selon la race des lapins, on note une variation tant dans la qualité que dans la quantité de la semence produite par le lapin mâle [171, 176, 179]. Plusieurs études se sont intéressées à l'effet de la race sur les différents paramètres spermatiques chez le lapin mâle. Selon les résultats des travaux de Crimella et *al.* [243], une faible différence a été retenue quant à l'effet de la race sur les caractères spermatiques tel que le pH, le volume et la motilité ($p < 0,05$) entre quatre races de lapins (Néo-zélandaise, Californian, Burgandy et Carmagnola). Par contre, l'étude de Virage et *al.* [244] et Hassanien et Baiomy [245], à rapporter une supériorité des mâles californiens, par rapport aux néozélandais pour certains caractères.

Le volume de l'éjaculat et la concentration spermatique chez le lapin varient entre les différentes races : Rex ($0,54 \pm 0,03$ ml, $415,10 \pm 10,11 \times 10^6$ sptz/ml), New Zealand White ($0,54 \pm 0,04$ ml; $416,72 \pm 9,16 \times 10^6$ sptz/ml), California ($0,62 \pm 0,03$ ml, $454,11 \pm 11,40 \times 10^6$ sptz/ml) and Baladi Red ($0,56 \pm 0,04$ ml, $423,23 \pm 12,11 \times 10^6$ sptz/ml) [245]. D'après Brun et *al.* [246], les mâles croisés présentent des valeurs significativement plus élevées en termes de concentration, de taux de spermatozoïdes par éjaculat (TSE), et de taux de spermatozoïdes motiles (MSE).

4.3.1.3. Age

L'âge de l'animal a également une influence, la qualité de la semence semble augmenter après la puberté et commence à diminuer à partir d'un âge avancé. L'effet de l'âge est à relier à l'inefficacité de la spermatogenèse chez le jeune à peine mature et à la dégénérescence testiculaire qui peut être observée chez l'animal âgé [232]. En effet, l'âge des lapins mâles influence de manière très significative le pH, la concentration et le nombre des spermatozoïdes totaux ainsi que la mobilité obtenus dans l'éjaculat. Selon les résultats des travaux d'Alvarino [176], le volume, la concentration, le nombre de spermatozoïdes totaux et motiles ou mobiles sont plus élevés dans le sperme des lapins mâles adultes par rapport aux lapins dont l'âge est de 8 mois. Quant à Castellini [241], ce dernier rapporte que les lapins mâles dont l'âge est inférieur à 5 mois et supérieur à 20 mois, ont un pourcentage plus élevé de spermatozoïdes à chromatine endommagée.

4.3.1.4. Etat sanitaire des mâles

Il est largement connu que l'inflammation de l'appareil génital du mâle dégrade les différentes fonctions des testicules et aussi les caractéristiques de la semence en affectant la stéroïdogenèse et le processus spermatogénique [247]. Une concentration élevée de cytokines causée par une inflammation ou bien une infection a une forte chance de réduire l'intégrité de l'acrosome en augmentant la production de radicaux libres. La santé des mâles reproducteurs doit être régulièrement contrôlée surtout pour les mâles âgés [241].

4.3.2. Facteurs extrinsèques

4.3.2.1. Température et l'hygrométrie

Les variations des températures ont un effet prouvé sur la fonction sexuelle chez le lapin male ; l'influence de la température est attribuée plus à un effet d'hyperthermie qu'à un effet d'hypothermie, qui ne semble pas perturber le comportement sexuel des lapins [41, 99, 173]. Ainsi, des températures supérieures à 25°C, vont avoir un effet négatif sur la libido et la qualité du sperme en les abaissant. L'exposition des lapins mâles à des températures élevées (34°C pendant 8h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts [99, 248, 250]. Il est noté que le volume de la semence est plus affecté par la température que la concentration [250, 249]. Cependant, bien que les mâles semblent capables de s'adapter en quelques semaines à un stress thermique, la quantité et la qualité de la semence produite sont extrêmement sensibles à de fortes chaleurs couplées à une forte hygrométrie (85% pendant 6 semaines) [251]. L'hygrométrie optimale conseillée pour le lapin est de l'ordre de 60 à 70%. Cette espèce n'est pas sensible à une humidité trop élevée [252].

4.3.2.2. Alimentation

L'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. De là, la stratégie alimentaire en terme de quantités ou d'éléments constitutifs est un facteur important à maîtriser dans l'élevage des lapins [253]. Par rapport à la composition des aliments destinés à

l'élevage des lapins, plusieurs études se sont intéressées à l'effet de la teneur protéinique de l'aliment sur les caractéristiques de la semence recommandent un taux optimal de 14,5% [254, 255]. L'accroissement de la teneur en acide alpha-linolénique (5% graines de lin extrudées) et en vitamine E (+200 mg/kg) dans l'alimentation des mâles [237], ainsi qu'une supplémentation en zinc [256] est susceptible d'améliorer la qualité de la semence. Sur le plan quantitatif, il a été constaté qu'une ration limitée réduit le poids vif et affecte les performances du mâle, en comparaison avec une ration ad-libitum [254].

4.3.2.3. Saison et durée d'éclairement (la photopériode)

En entend par les effets de la saison : les variations de durée d'éclairement, la température et la pluviométrie. Certains auteurs ont mis en évidence une influence saisonnière sur le nombre total de spermatozoïdes, la concentration en spermatozoïdes et sur le nombre de formes anormales présentes dans l'éjaculat. La reproduction peut être réalisée tout au long de l'année chez certaines espèces, mais pour la plupart, une période de reproduction plus favorable est définie notamment suivant le rythme nycthéral. En effet, il semblerait que la photopériode ait une influence sur le fonctionnement testiculaire [125]. De manière générale, l'activité de la spermatogenèse chez les lapins est maximale au printemps du mois de mars à juin et minimale au début d'automne et varie selon le climat de la région [176].

De manière générale, la saison influence plusieurs paramètres spermatiques tel que le volume, la concentration, la mobilité et le pourcentage de cellules mobiles [189, 257, 258, 259, 260].

Pour ce qui est de la motilité des spermatozoïdes, cette dernière est faible en été, et augmente progressivement pour atteindre son pic au printemps [189, 258, 259, 260]. Par contre, Les plus faibles concentrations en spermatozoïdes sont enregistrées en automne et en été [189, 244]. Pour ce qui est de l'effet de la saison sur le Ph du sperme, plusieurs études rapportent une grande variabilité des données en contradiction. Pour certains aucun effet de la saison sur ce paramètre [189, 261]. Tandis que pour d'autre, l'effet est bien présent. Ainsi, Alvarino [106], indique que l'augmentation du pH du sperme du lapin élevé en été (>27°C) est à l'origine de la stérilité temporaire rencontrée durant cette période. Les anomalies

spermatiques et le pourcentage de spermatozoïdes morts par éjaculat augmente en été [260]. Par ailleurs, le nombre total de spermatozoïdes vivant, normaux et motiles par éjaculat est plus important au printemps par rapport à l'hiver [259]. Cependant, Nizza et *al.* [261] et Virag et *al.* [244], n'ont pas trouvé d'effet saison ni sur le pourcentage des anomalies ni sur le pourcentage des cellules vivantes.

4.3.2.4. Rythme de récolte

Par définition, le rythme de la collecte correspond à l'aptitude de l'animal à épuiser sa réserve épидidymaire (soit 1 à 2 milliard) face aux sollicitations imposées par l'opérateur, qui peut aller de 1 à 4 prélèvements par jour pendant 1 à 7 jours [240, 262, 263, 264, 265, 266]. Dans ce cas de figure, plus le rythme de collecte augmente et plus le volume et la concentration spermatique sont altérés. Tandis que le nombre de spermatozoïdes prélevés par semaine est plus élevé dans les rythmes les plus intensifs [240, 261].

Généralement et à partir du troisième prélèvement, le volume, la concentration et le nombre de doses pour l'insémination diminuent [267]. Les travaux de Lebas [124], montrent que la production par semaine augmente avec l'accentuation du rythme, mais avec une atteinte de la qualité de la semence et un épuisement du lapin.

4.3.2.5. Ordre de l'éjaculat

Les auteurs sont partagés quant à l'effet de l'ordre de l'éjaculat sur les différents paramètres spermatiques, certains sont pour un non effet ou ils ont constaté l'absence de différence de volume du sperme collecté lors de deux prélèvements successifs [255, 266]. Par contre, pour d'autres auteurs, l'effet est bien présent. Ainsi, et selon les résultats de plusieurs travaux, le volume de l'éjaculat collecté lors du premier prélèvement est significativement plus élevé que dans celui recueilli lors du deuxième prélèvement [241, 259]. Par ailleurs l'effet inverse est observé et cela pour la concentration en spermatozoïdes [241]; la mobilité des spermatozoïdes [241, 259, 268]; le nombre de spermatozoïdes normaux et l'intégrité de l'acrosome qui ne sont pas influencés par l'ordre de collecte [259, 266].

4.2.3. Autres facteurs

4.2.3.1. Effets agissant directement sur la semence

Le sperme est un milieu biologique vivant, auquel tout risque de choc doit être évité ce quel que soit sa nature (mécanique, thermique, chimique ou de radiation) [99].

4.2.3.2. Opérateur

Plusieurs études ont rapporté la présence d'un effet du préleveur ou opérateur de sperme sur les caractéristiques quantitatives et qualitatives de ce dernier. Selon les résultats de l'étude de Theau-Clement et *al.* [189] ; la motilité massale, le pourcentage de cellules motiles et la concentration en spermatozoïdes sont plus élevés dans les semences collectées par le même préleveur comparativement à un autre. Pour la bonne réussite de la collecte, l'opérateur doit être calme, attentif et patient. Il doit prendre ces bonnes habitudes et pratiques dès le départ et les conserver par la suite, afin d'installer une bonne relation entre le préleveur et l'animale. La collecte doit être également réalisée dans des conditions non stressant pour l'animal [99].

4.3. Méthodes de récolte et d'évaluation de la qualité de la semence du lapin male adulte

4.3.1. Méthodes de la collecte

La récolte de sperme peut avoir comme objectifs, la réalisation d'une insémination artificielle, la conservation du sperme (cryoconservation ou réfrigération), l'évaluation de la qualité de la semence dans différents cas (des animaux vieux ou qui n'ont pas reproduit depuis longtemps, des mâles pour lesquels plusieurs essais de saillies/inséminations n'ont pas abouti à une gestation ou qui ont engendré de petites portées ou enfin simplement avant une saillie afin d'évaluer la qualité de la semence), l'objectivation d'une affection (cas d'hématospermie ou d'hématurie [269]). Les techniques disponibles pour la récolte de semence permettent d'obtenir une semence de qualité tout en infligeant un stress minimum à l'animal.

4.3.1.1. Matériel de collecte

Habituellement, la collecte du sperme chez le lapin se fait à l'aide d'un vagin artificiel qui n'est autre qu'une dérive des modèles utilisés chez d'autres espèces. Il a la forme d'un réceptacle qui fournit à l'organe copulateur des stimuli thermiques et mécaniques et de l'élasticité nécessaire pour l'éjaculation [106, 176]. Plusieurs modèles (Commercial ou artisanal) ont été créés avec de l'aluminium, le plastique ou même le verre [237]. Le choix du vagin artificiel et sa préparation conditionnent l'efficacité de la collecte et la qualité de la semence récoltée.

4.3.1.2. Technique de collecte du sperme

La méthode de récolte présente l'avantage de se rapprocher le plus possible des conditions de l'accouplement naturel. Chez le lapin, la collecte se fait dans la cage du mâle et doit être effectuée dans un endroit calme, pendant quelques secondes, la femelle (boute-en-train) est positionnée sur la cage du mâle afin de déclencher le processus d'accouplement. Dès que le mâle tente de chevaucher la femelle, l'opérateur attrape celle-ci par la peau des épaules en serrant les oreilles afin de l'immobiliser. La main libre tenant le vagin artificiel, préchauffé au voisinage de 42°C (40 - 45) (la température du vagin artificiel constitue un des principaux stimuli pour l'éjaculation) et muni d'un tube collecteur fixé dans l'un de ces orifices, passe sous l'abdomen de la femelle et relève le train arrière. Le vagin artificiel, tenu au creux de la main, se trouve juste sous la zone uro-génitale légèrement en retrait sous l'abdomen. On peut déposer un gel lubrifiant (non spermicide) comme la vaseline sur le latex afin de limiter les risques d'inflammation du pénis. Ces opérations doivent s'effectuer rapidement pour profiter de la libido exacerbée du mâle. Le comportement du mâle est strictement identique à celui qu'on observe lors de la saillie naturelle. L'opérateur peut néanmoins orienter le vagin artificiel afin de faciliter l'intromission du pénis [99, 230, 270]. Les avantages de cette technique sont un faible coût, l'absence de contraintes physique ou chimique pour l'animal, la possibilité qu'une seule personne puisse réaliser la récolte et permet d'obtenir le meilleur sperme possible à un moment donné.

4.3.1.3. Entraînement des mâles à la collecte

Les lapins mâles peuvent subir un entraînement à la récolte avec le vagin artificiel et cela dès l'âge de 5 mois [189, 271, 272]. Lorsque la femelle boute-en-train est introduite dans la cage du mâle comme il a été décrit précédemment, le jeune mâle se rapproche généralement de la femelle avec prudence et la renifle. Quelques minutes après, il tente de monter et de démarrer le chevauchement. Une fois que le pénis pénètre dans le vagin artificiel, l'éjaculation se produit de suite. Lors de la prochaine session d'entraînement, le mâle associe l'introduction de la femelle dans sa cage avec l'éjaculation et monte donc facilement. Il est donc important que l'intervalle entre les sessions d'entraînement des mâles ne soit pas trop long afin que cette association reste en mémoire. Concernant la fréquence des entraînements, cette notion est différente selon les auteurs. Ainsi, Morrell [273], préconise des entraînements tous les jours ou tous les deux jours lors de la première semaine. Par contre, Theau–Clément et *al.* [189] et Garcia-Thomas et *al.* [249], estiment que durant la phase d'entraînement une collecte d'une fois par semaine pendant deux semaines à un mois peut suffire.

4.3.2. Méthodes d'évaluation de la qualité de la semence

4.3.2.1. Méthodes classiques

Ce sont des méthodes basiques et simples, permettant l'évaluation de la semence fraîche, afin d'apprécier le fonctionnement testiculaire et épидидymaire et l'estimation de la fertilité du mâle. L'évaluation standardisée de la qualité du sperme repose essentiellement sur l'appréciation de différents paramètres, tant sur le plan macroscopique et microscopique.

4.3.2.1.1. Paramètres macroscopiques

L'appréciation à l'échelle macroscopique est pratiquée immédiatement après la récolte, et cela par un examen visuel du sperme dans le tube de récolte afin d'apprécier :

Naturellement, le sperme possède une coloration blanchâtre. Pour ce qui est de l'opacité, cette dernière dépend spécialement de la concentration spermatique

[274]. Selon Matavelli [275], l'éjaculat est souvent blanc laiteux, cependant, la meilleure qualité est trouvée dans la semence blanche crémeuse. Cependant, les éjaculats de faible concentration sont clairs, d'aspect aqueux voire légèrement jaunâtre. Ils contiennent parfois un gel muco-gélatineux plus ou moins consistant et transparent [99]. En présence d'éléments anormaux, la couleur du sperme peut être modifiée et significative :

- La couleur « jaune » indique la présence de pus ou d'urine ;
 - La coloration « rougeâtre », voire « rosée », indique la présence du sang frais et pour cause une lésion ou une irritation du pénis ou de l'urètre ;
 - La couleur « grisâtre » indique la présence d'un tissu génitale mort.
 - La couleur « marron » témoigne de la présence d'éléments sanguins dégénérés ou des matières fécales ;
 - La coloration « blanchâtre » ou « transparente » indique une faible concentration en spermatozoïdes.
- Aspect : L'aspect de l'éjaculat représente un élément important dans l'évaluation de la semence. Quand la semence a un aspect opaque, cela indique la présence d'une dégénérescence testiculaire avec passage des cellules géantes dans l'épididyme ou une inflammation des vésicules séminales [176].
- Volume : La quantité totale de liquide (volume de l'éjaculat) est un indicateur du fonctionnement des glandes accessoires. Le volume de l'éjaculat chez le lapin peut varier entre 0,3 et 0,6 ml [165]. 90 % du volume de l'éjaculat provient principalement des sécrétions de la prostate, des vésicules séminales, des glandes bulbo-urétrales (Cowper) et de l'épididyme [279]. Plusieurs facteurs modifient le volume ou la quantité du sperme recueilli dans le tube collecteur gradué. Ainsi, le volume de la semence peut varier en fonction de l'âge, la race, l'alimentation et pour un même lapin, des facteurs psychiques et environnementaux. Malgré qu'un éjaculat de volume normal soit un indice favorable, le volume de la semence total collecté n'est qu'un facteur secondaire d'appréciation. Il est néanmoins noté comme une caractéristique du mâle [99, 230].
- pH : Normalement, le sperme du lapin possède un pH situé entre 6 et 7,3 et peut atteindre parfois 7,5. Cependant, lorsque le pH dépasse la valeur de

7,2 ; on note une diminution de la concentration, la motilité et la viabilité spermatique [99]. En effet, toute variation de pH par rapport au pH optimum indique une mauvaise qualité de la semence. Pour la mesure du pH du sperme, on utilise un pH-mètre ou bien un papier indicateur. A noter que la mesure du pH doit être réalisée immédiatement car le sperme s'acidifie rapidement suite à la formation d'acide lactique, résultant de l'utilisation des sucres par les spermatozoïdes [176, 270]. Cette acidité peut évoquer également une atteinte des vésicules séminales et/ou des anses épидидymo-déférentielles il est important d'effectuer cette analyse lors d'asthénozoospermie car une inflammation partielle des testicules, de l'épididyme ou de la prostate ou encore une affection de l'urètre ou de la vessie représentent des causes potentielles d'alcalinisation du pH [277].

4.3.2.1.2. Paramètres microscopiques

➤ Motilité

L'emploi du terme motilité signifie que les spermatozoïdes se meuvent par eux-mêmes et ne se déplacent pas. La motilité est la traduction littérale de l'anglais motility [203]. La motilité est importante pour le transport des spermatozoïdes dans le tractus génital dans la pénétration dans l'oocyte [278]. On entend dire Par la motilité l'appréciation de la motilité massale, de la motilité individuelle et du pourcentage de spermatozoïdes mobiles.

• Motilité massale

Sur le plan microscopique, il s'agit de l'observation de l'impulsion en masse des spermatozoïdes en mouvements, représentée sous forme de vagues, c'est-à-dire les mouvements de réunion et de dispersion des spermatozoïdes. La technique est simple, par examen microscopique de la semence du lapin dès la récolte. Cette observation simple mais peu précise est révélatrice à la fois de la vitesse de progression et de la concentration des spermatozoïdes [269]. On dépose une goutte de sperme pur sur une lame et placée sur la platine chauffante du microscope (37 à 38°C). Le sperme est regardé au faible grossissement (x100). L'observation doit être faite très rapidement car la motilité massale du sperme pur, à cette température, diminue rapidement au bout de 15 à 20 secondes. La motilité

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. Le mouvement global des spermatozoïdes est apprécié en fonction de l'intensité des vagues observables. Plusieurs auteurs ont proposé pour un échantillon observé lors de cet examen une échelle allant de 0 (immobilité totale) à 5 (Tourbillons rapides) ou bien de 0 (pas de spermatozoïdes) à 9 (aspects de tourbillons) [99, 229]. Cependant, d'autres échelles plus simples de 0 à 5 et de 1 à 5 sont employées, respectivement par Garcia Thomas et *al.* [271] et Roca et *al.* [279].

- Motilité individuelle

L'appréciation de la motilité individuelle consiste en un examen dont le but est de noter la vitesse de déplacement des spermatozoïdes, de la rectitude de celui-ci et de ses mouvements latéraux. Pour cela, l'examen consiste en un dépôt d'une goutte de semence, diluée dans une solution de NaCl isotonique tiédie à 37°C, entre lame et lamelle et observée sous microscope avec un fort grossissement de x400 sur une platine chauffante à 37-38°C. La vitesse de progression ou la mobilité progressive est appréciée subjectivement par l'opérateur dans le champ de vision du microscope. A partir de là, les spermatozoïdes dotés d'une motilité dite « fléchante » sont ceux présentant une trajectoire quasi rectiligne et capable de traverser le champ en 2 à 3 secondes. Par contre, les spermatozoïdes présentant des mouvements rotatoires circulaires ou des mouvements d'amplitude très réduite ne sont donc pas comptabilisés dans les spermatozoïdes mobiles. La mesure est réalisée en utilisant une échelle allant de 0 à 5 ou de 0 à 4 [99, 229,280].

- Pourcentage de spermatozoïdes mobiles

C'est un examen qui est réalisé en même moment que l'appréciation de la motilité individuelle. L'opérateur décide, après l'examen successif de cinq champs d'une même préparation du pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles est augmenté dans les éjaculats collectés après quelques jours de repos sexuel comparé à ceux récoltés après un jour de repos sexuel seulement. Pour un opérateur entraîné, La corrélation entre le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et le pourcentage de spermatozoïdes vivants est

généralement élevée ($r \geq 0.90$). De même il a été observé une corrélation positive entre le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux [125, 229, 270].

L'évaluation de la mobilité ne permet cependant pas de connaître la fertilité du mâle avec certitude car des spermatozoïdes qui sont mobiles peuvent tout de même présenter des altérations de la membrane plasmique ou de l'acrosome qui auront des répercussions sur la fertilité mais pas sur la mobilité.

➤ Concentration

La concentration désigne le nombre de spermatozoïdes, exprimé en millions, dans un millilitre (nbre $\times 10^6/\text{ml}$) d'éjaculat. La concentration est un bon indicateur des chances de conception [276]. La mesure de la concentration des spermatozoïdes dans un volume bien défini est réalisée par la numération directe après une dilution du sperme dans une solution susceptible de disperser et de tuer les spermatozoïdes (solution de chlorure de sodium à 3% ou solution de formaldéhyde à 1%), en utilisant des lames spécialisées pour la numération cellulaire : hémocytomètre (cellule de Thoma, Neubauer, Burker-Turk et Makler). Ce sont des lames spéciales composées d'un quadrillage très fin de compartiments d'un volume donné dans lesquels on compte simplement le nombre de spermatozoïdes présents. Les spermatozoïdes sont dénombrés en fonction de la technique relative à chaque type de cellule. Par convention, les spermatozoïdes situés sur le bas ou sur le côté droit du carré sont pris en compte et on ignore ceux situés en haut et à gauche. On peut également ne prendre en compte que les spermatozoïdes dont la tête se trouve dans le carré en question [125, 203, 229, 230]. Les méthodes modernes comprennent la spectrophotométrie qui est rapide et effective, qui se heurte aux problèmes des particules réfringentes, qui perturbent la détermination de la densité optique et la concentration chez le lapin, et le système Nucleo Counter qui évite cet aspect réfringent des particules séminales, par comptage indirecte des noyaux des cellules spermatiques, mais qui reste couteux [238]. Le nombre total de spermatozoïdes varie entre 200 millions et plusieurs milliards en fonction de la race, de l'âge et de l'activité sexuelle de l'animal [281, 282].

➤ Viabilité

Les termes vitalité et viabilité sont quasi synonymes et renvoient au pourcentage de spermatozoïdes vivants dans le sperme [283], ils sont également liés à l'intégrité membranaire de cette cellule. L'estimation de l'intégrité membranaire peut être élaborée par plusieurs méthodes [284]. Différentes colorations, telle que l'Eosine/Nigrosine [285], permettent d'estimer l'intégrité membranaire par un principe où les dommages de la membrane laissent pénétrer la coloration à l'intérieur de la cellule. Le spermatozoïde non viable prend la coloration de l'éosine (rose), le Nigrosine (bleu-violet) constitue le fond, les cellules vivantes restent incolores [286, 271]. La présence d'une proportion importante de spermatozoïdes morts dans le sperme éjaculé (nécrospermie) est le plus souvent idiopathique. Ainsi, la classification est faite selon les résultats obtenus [230, 270] :

- Plus de 70-80% : semence très bonne,
- 70% : semence bonne,
- De 60- 69% : semence moyenne,
- Moins de 60% : semence de mauvaise qualité.

➤ Morphologie (Spermocytogramme) : Le spermocytogramme évalue la morphologie des spermatozoïdes permet de disséquer des anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle.

L'examen morphologique du spermatozoïde est difficile à standardiser puisque l'évaluation est subjective et dépend de la perception de l'observateur [276]. Plusieurs niveaux d'analyse morphométriques ont été élaborés, du degré essentiel effectué par différentes techniques de coloration, à d'autres aspects liés à l'ultrastructure, comme la réaction acrosmique et l'intégrité d'hélice mitochondriale et membranaire [230]. L'analyse classique de la morphologie utilise plusieurs types de coloration comme l'Eosine/Nigrosine, Trypan Bleu, Giemsa, Papanicolaou et Diff-Quick, qui font apparaître les différentes structures et permettent d'identifier les diverses anomalies (Figure 4.2) [287]. L'OMS recommande d'évaluer au moins 200 spermatozoïdes par échantillon, dans 2 échantillons distincts prélevés sur l'éjaculat [276]. Les anomalies morphologiques peuvent être classées de différentes façons [232]:

- 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 managements de l'animal, lors des chocs osmotiques que l'on fait subir au sperme, ou provoquées par la toxicité des colorants.
- 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.

Les anomalies associées à une infertilité sont majoritairement situées au niveau de la pièce intermédiaire et de ses attaches. Les éjaculats contenant un pourcentage élevé de spermatozoïdes avec des gouttelettes cytoplasmiques proximales, des queues pliées ou enroulées, ou des pièces intermédiaires anormales peuvent être utilisés en semence fraîche mais ne doivent pas être congelés [125]. Les spermatozoïdes du lapin sont très sensibles à des températures ambiantes très élevés et les anomalies des spermatozoïdes indiquant la souffrance de l'animal au stress thermique sont reflétées par l'augmentation de l'aspect bouclé de la queue des spermatozoïdes qui représente 80 % des anomalies morphologiques dans ces conditions [288].



Figure 4.2 : Exemple d'anomalies morphologique de la queue de spermatozoïde. Coloration à l'éosine-nigrosine [232].

Courbure dans la région distale de la pièce intermédiaire associée le plus souvent à une gouttelette cytoplasmique distal (a, b), Courbure ou enroulement de la pièce intermédiaire (c à e). courbure/enroulement de la pièce intermédiaire ou de la queue associée à une rupture des fibres de l'axonème (f à j).

L'observation des spermatozoïdes au microscope électronique, à transmission ou à balayage, est parfois nécessaire pour caractériser une anomalie à un plus fort grossissement que celui apporté par la microscopie optique. Cette technique offre un fort pouvoir de résolution pour l'observation des détails morphologiques et permet ainsi un examen structural approfondi. Elle a été utilisée pour décrire avec précisions les anomalies ultrastructurales au niveau de l'acrosome, de la jonction entre la tête et la pièce intermédiaire et au niveau des microtubules de l'axonème [289].

- Evaluation de l'intégrité membranaire : Le test hypo-osmotique ou HOST permet d'évaluer l'intégrité membranaire des cellules. En effet, les cellules présentant une membrane plasmique intacte ont la capacité de se déformer et d'évacuer l'eau. Lorsque la cellule est exposée à des conditions hypo-osmotiques, l'eau va pénétrer dans le milieu intracellulaire jusqu'à ce que l'équilibre osmotique soit atteint de part et d'autre de la membrane. La cellule va donc gonfler. Ce phénomène est particulièrement visible au niveau des spermatozoïdes qui vont montrer une incurvation de leur flagelle

ou un gonflement de celui-ci. En revanche, si la membrane plasmique est endommagée, les spermatozoïdes vont conserver leur morphologie [290] . La semence est diluée dans une solution hypotonique puis le mélange est incubé au bain- marie à 37°C pendant une période de 30 à 60 minutes. Une goutte de semence est ensuite placée entre lame et lamelle et 100 à 200 spermatozoïdes sont observés au microscope à contraste de phase au grossissement x 40.

4.3.2.2. Nouvelle méthode d'évaluation de la qualité de la semence : test CASA

4.3.2.2.1. Analyse du sperme assisté par ordinateur ou analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes (computer assisted sperm analysis = CASA)

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 principe de l'analyse CASA est simple, il s'agit d'une analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes qui est réalisée au moyen d'un système automatisé composé d'un microscope de contraste de phase inversé à platine chauffante généralement tri oculaire couplé à une caméra CDD et à un système informatique. Cet appareillage permet de filmer les spermatozoïdes déposés sur la platine chauffante via différents systèmes (lame, chambre de Mackler) et de mesurer un grand nombre de paramètres à savoir le nombre de spermatozoïdes analysés (totaux, mobiles, progressifs), les concentrations de spermatozoïdes (totaux mobiles, progressifs), Cette méthode a également 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 [230, 289]. En effet, l'intérêt réel de cette technique est de permettre de mesurer de manière objective diverses caractéristiques spermatiques, jusque-là soumises à une grande variabilité intra et interindividuelle.

Chez le lapin, plusieurs paramètres cinétiques sont évalués par le système CASA, avec toutefois une organisation spécifique définie pour la semence de lapin [230]. Ainsi une forte concentration de cellule par ml et la présence des particules de différentes tailles comme dans la semence de lapin peuvent influencer l'estimation de CASA [291]. La motilité des spermatozoïdes a été le premier, et continue d'être l'indicateur le plus largement utilisé de la fonction des spermatozoïdes [292].

Ce système de motilité, caractérise le mouvement des spermatozoïdes individuels. Ces mouvements, comprennent la mesure de [230, 293] (Figure 4. 3) :

- Pourcentage de spermatozoïdes mobiles (MOT : Total Spermatozoal Motility).
- Pourcentage de mobilité progressive (PMOT : Progressive Spermatozoal Mobility).
- Pourcentage de spermatozoïdes fléchants (dont la trajectoire a des caractéristiques supérieures à une vitesse et une linéarité de mouvement prédéfinie (LIN %)), et est calculé comme $VSL / VCL \times 100$.
- Amplitude de mouvements latéraux de la tête des spermatozoïdes pendant leur déplacement (ALH, μm : Amplitude of Lateral Head Displacement).
- Vitesse moyenne de déplacement linéaire (VSL, $\mu\text{m} / \text{s}$: Straight-Line Velocity). La distance entre premier et dernier points de la tête, divisée par le temps d'acquisition.
- Vitesse curviligne (VCL, $\mu\text{m} / \text{s}$: Curvilinear Velocity) c'est-à-dire la vitesse mesurée sur la distance entre chaque point d'un spermatozoïde donné au cours de la période d'acquisition de la tête.
- Vitesse de trajet moyenne (VAP, $\mu\text{m} / \text{s}$) est un chemin lissé construit par la moyenne de plusieurs positions sur la piste de sperme.
- Fréquence des rythmes de croisements des trajectoires (BCF : Beat Cross Frequency).
- Moyenne des déplacements angulaires (MAD : Mean Angular Displacement).

Ainsi, les spermatozoïdes ayant déjà effectué leur capacitation sont reconnus car ils présentent une vitesse curvilinéaire et une amplitude du déplacement latéral de la tête augmentées ainsi qu'une linéarité diminuée.

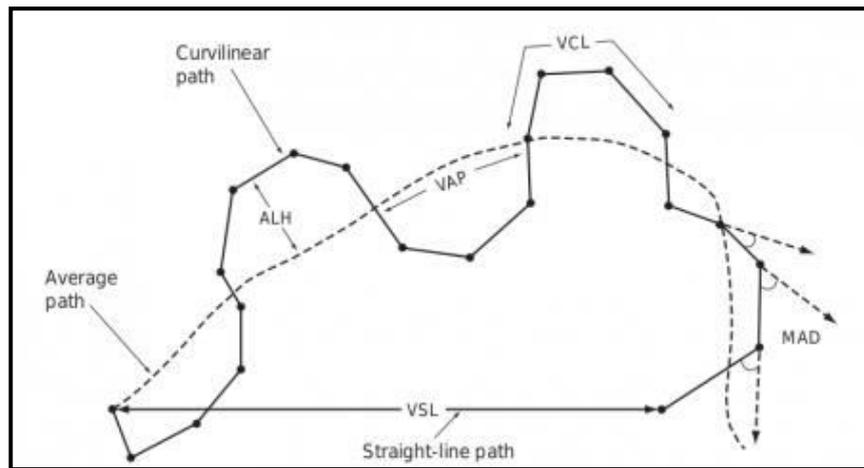


Figure 4.3: Caractéristiques du mouvement du spermatozoïde [293].

VCL = Vitesse de la tête des spermatozoïdes le long de sa trajectoire curviligne réelle ou 78 IRRG vitesse curviligne ($\mu\text{m/s}$). VSL = Vitesse de la tête des spermatozoïdes le long d'une ligne droite ou la vitesse en ligne droite ($\mu\text{m/s}$). VAP = Vitesse de la tête du spermatozoïde le long de son parcours moyen ou de la vitesse de trajet moyenne ($\mu\text{m/s}$). LIN = La linéarité de la voie curviligne (VSL/VCL). ALH = Amplitude du déplacement de la tête latérale autour de son parcours moyen (μm).

4.3.2.2.2. Analyse CASA - Procédure opérationnelle

Avant de commencer l'analyse « CASA » et peu importe les conditions de stockage avant analyse, une étape essentielle et primordiale doit être réalisée, il s'agit de mettre les échantillons à analyser dans un bain d'eau pendant 10 min à une température égale à 37°C . A noter que la motilité des spermatozoïdes peut être évaluée dans le sperme non dilué, à condition d'avoir une concentration supérieure à 50×10^6 spermatozoïdes/ml, comme cela est le cas dans le sperme de lapin (Tableau 4.1). Par rapport à la concentration cellulaire initiale, une dilution supplémentaire est exécutée, pour éviter un important "effet de dilution", la concentration finale de l'échantillon doit être supérieure à 10-15 millions de cellules/ ml. Pour une analyse fiable CASA 40-50 cellules par champ sont traitées. Un milieu de Tris pourrait être utilisé pour la dilution des échantillons frais et congelés et décongelés, respectivement [291].

Tableau 4.1: Paramètres de la motilité des spermatozoïdes et valeurs standards [291, 294].

Caractères	Valeur standard
Volume (ml)	0.3-0.9
pH	7.1
Spermatozoïde/ml (nx10 ⁶)	250-600
Progressive motilité %	30-90
VCL	80-100
VSL	30-50
VAP	50-70
LIN	35-80
STR	40-80
ALH	2.0-6.0

Juste avant d'entamer la partie pratique, nous pouvons tirer comme conclusion dans cette partie bibliographique les points suivants :

Le lapin mâle ayant les meilleures performances montre un bon instinct de territorialité. Pour maintenir son statut de reproducteur dans la hiérarchie, le lapin mâle dominant accomplit plusieurs marquages. Son activité de marquage est liée à la présence de glandes mentonnières et anales aussi les sécrétions des glandes inguinales sont stockés avec de l'urine, en particulier lors de la parade nuptiale, et parfois pendant les conflits territoriaux. Les mâles reproducteurs peuvent être agressifs et dominants en période de reproduction, afin d'accéder aux femelles réceptives. Les lapins peuvent s'infliger de sévères morsures, des griffures pour défendre leur territoire. L'olfaction ce signal est important chez le lapin et met en jeu des phéromones. Chez le lapin, la parade nuptiale est brève: le mâle va tourner autour de la femelle, la sentir et frotter son menton sur elle (présence de la glande au niveau du menton, utilisée pour le comportement de marquage). Il peut également parfois projeter des urines. Les vocalisations, ce signal est particulièrement présent chez le lapin mâle qui émet des vocalises en présence de la femelle. La distance ano-génitale est aussi un excellent bio marqueur de

l'environnement utérin. Les mâles avec de grandes DAG sont plus agressifs que les mâles avec de petites DAG.

Les lapins sont connus pour leur capacité à se reproduire rapidement. Les races les plus petites entrant en puberté plus tôt que les races les plus grandes, le poids a donc une grande importance. Chez le lapin, les testicules sont le siège de la spermatogénèse, mobiles et peuvent se retrouver dans la cavité abdominale, laissant les bourses vides. Leur mobilité est due à un tissu musculaire: le crémaster. Le pénis est dépourvu de gland chez le lapin, il est enfermé dans le fourreau et mesure entre 3 et 5 cm. Deux glandes préputiales sont situées en arrière du pénis, elles sécrètent une substance très odorante qui joue un rôle dans l'ovulation de la lapine en stimulant le réflexe ovulatoire.

Chez le lapin mâle, les premières manifestations de comportement sexuel peuvent apparaître vers 60-70 jours. La puberté chez le lapin s'accompagne d'un marquage du territoire, de l'apparition d'agressivité et de bruits équivalents à une parade nuptiale. L'agressivité est un caractère qui se retrouve chez la plupart des petits mammifères. Le lapin commence alors des tentatives de chevauchement. La puberté, définie comme le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire de façon constante des spermatozoïdes féconds, est atteinte vers 4 ou 5 mois, peu après la descente des testicules dans le *scrotum*. La vie sexuelle du lapin peut durer 5 à 6 ans. La spermatogénèse dure 42 à 48 jours et est continue à partir de la puberté. Chez le lapin, la durée de la maturation épидидymaire varie de 8 à 11 jours. Chez le lapin, l'intervalle entre le début de la spermatogénèse et la fin de la maturation épидидymaire varie de 50 à 60 jours.

La production spermatique des lapins est influencée par divers facteurs parmi lesquels il convient de mentionner la race, le régime alimentaire et les conditions d'ambiance (lumière et température principalement). La méthode de récolte présente l'avantage de se rapprocher le plus possible des conditions de l'accouplement naturel. Chez le lapin, plusieurs paramètres cinétiques de la semence sont évalués par le système CASA.

CHAPITRE 5

PARTIE EXPERIMENTALE

5.1. Présentation générale des conditions expérimentales

La partie expérimentale étant commune aux essais menés dans ce travail a été réalisée au niveau du bâtiment cunicole de la station expérimentale de l'Université Saad Dahlab Blida. Nous allons décrire tout le matériel et les méthodes utilisées tout au long des différentes expériences, la présentation des deux populations de lapins étudiées et la préparation du cheptel expérimental.

5.1.1. Bâtiment d'élevage et logement des animaux

5.1.1.1. Bâtiment d'élevage

Notre partie expérimentale a été réalisée au niveau du clapier de la Station Expérimentale de l'Université Saad Dahleb, Blida 1. C'est un bâtiment en dur (Figure 5. 1), d'une superficie de 184 m², possédant une charpente de type métallique, d'une toiture en plaque de tertiaire assurant une ventilation naturelle des lieux. A l'entrée principale un couloir donne à droite à deux salles de maternité et au fond une grande salle d'engraissement. Toutes les salles sont équipées de batteries à un seul étage ayant une capacité et des dimensions différentes. Tout le bâtiment dispose de dix fenêtres de type vasistas qui permettent une aération, de type statique et un éclairage naturel, ce dernier est assuré également par un système électrique (néons), procurent un éclairage artificiel durant toute la période d'étude, l'éclairage est de durée d'environ 16h / jour.



Figure 5.1: Bâtiment de l'élevage (cunicole).

5.1.1.2. Logement des animaux

Les mâles reproducteurs sont placés dans la salle d'engraissement, équipée de six batteries ayant une capacité variant entre 20 et 32 cages individuelles conçues en grillage métallique, équipées de mangeoires individuelles et d'un système d'abreuvement automatique à tétines. Mesurant 70 cm de longueur sur 40 cm de largeur et 30 cm de hauteur Les femelles reproductrices sont logées dans des cages grillagées individuelle munies de boîtes à nid et réparties dans deux salles de maternités (Figure 5.2). Les déjections sont réceptionnées sur le sol et sous les cages d'élevage sur une légère pente permettant l'écoulement des urines. Leur évacuation qui se fait trois à quatre fois par semaine.



Figure 5.2 : Cages des mâles reproducteurs au sein du clapier.

5.1.2. Alimentation et abreuvement

5.1.2.1. Aliment

A la première semaine d'introduction des animaux au niveau du clapier, nous avons effectué une transition alimentaire. Par la suite, les animaux étaient nourris ad libitum à la base de l'aliment granulé dans des trémies métalliques qui équipent chacune des cages d'élevage. Le granulé spécial pour lapins utilisé, de

type mixte (reproduction, engraissement), provenait de l'unité de fabrication de l'aliment de bétail de Khemis El Khechna (Boumerdes). Cet aliment est composé de maïs, de tourteaux de soja, de luzerne, de son de blé, de calcaire, de phosphate bicalcique et de complément minéral vitaminé (CMV) spécial lapin.

5.1.2.1. Abreuvement

L'eau de boisson distribuée aux animaux provient du réseau local d'eau potable. Elle est disponible en permanence grâce à un système de conduits en PVC munis de tétines automatiques, montées sur un tuyau rigide installé en haut des cages (Figure 5.3). Le système est relié à des bacs en plastiques munis de flotteurs de 6 litres et sont remplis 2 fois par jour d'eau fraîche.



Figure 5.3 : Mode de distribution de l'eau aux lapins.

5.1.3. Animaux

Les expériences ont été réalisées sur des lapins de population locale algérienne et de souche synthétique (souche ITELV 2006).

5.1.3.1. Lapins de population locale

Les lapins de la population locale ont été issus d'animaux nés à la station expérimentale de l'université Blida 1. Provenant d'un lot composé de 10 femelles reproductrices et deux mâles reproducteurs, fournis par l'école nationale des sciences vétérinaires (ENSV), Alger ; dans le cadre d'une convention entre cette dernière et le Laboratoire de Recherche De Biotechnologies liées à la Reproduction Animale (LBRA), de l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université de Blida 1. Ces animaux étaient introduits dans le clapier en décembre 2015 et ont été mis en reproduction pendant une année.

5.1.3.2. Lapins de la souche synthétique

La souche synthétique (souche ITELV 2006) utilisée dans cette étude (Figure 5.4 (A)) est issue d'animaux, nés à la station expérimentale de l'université de Blida 1. Provenant d'un lot composé de 09 femelles reproductrices et de 11 mâles reproducteur provient de l'Institut Technique des Elevages de Baba Ali (ITELV), Alger, dans le cadre d'une convention entre ce dernier et le Laboratoire de Recherche de Biotechnologies liées à la Reproduction Animale (LBRA) de l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université de Blida 1. Ils ont été introduits au niveau du clapier au mois de décembre 2015 et mise en reproduction afin d'avoir notre cheptel expérimentale (Figure 5.4(B)).

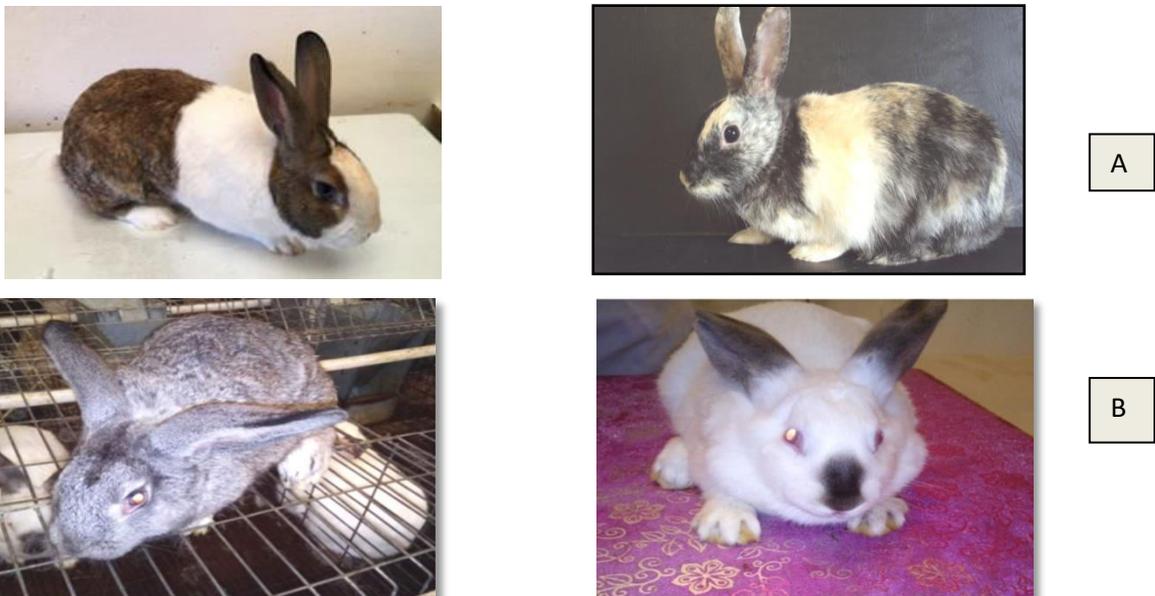


Figure 5.4: Lapins de population locale (A) et Souche synthétique (B).

5.1.4. Traitement prophylactique et hygiène des lieux

Suite à l'introduction des animaux dans le clapier, un anticoccidien a été additionné à l'eau de boisson afin de prévenir l'apparition de la coccidiose. De plus un traitement a été réalisée par des injections d'ivermectine en sous cutanée en raison de 0,1 ml/ 5Kg de poids vif, afin de prévenir les maladies parasitaires notamment la gale. L'apparition d'enterotoxémie a été évitée en traitant les animaux par une injection sous cutanée de 1ml/animal de Coglavax. Une

vitaminothérapie a été effectuée pendant une semaine afin d'écartier tout stress lié aux changements du régime alimentaire et aux déplacements des animaux.

Les déjections des lapins sont évacuées trois fois par semaines et le sol lavé. Le nettoyage des cages est réalisé à l'aide d'un chalumeau, puis d'une eau savonneuse et javellisée. Par mesure de sécurité et afin d'éviter toute introduction de maladie contagieuse ou à déclaration obligatoire, un pédiluve contenant un désinfectant (eau de javel et crésyl) a été mis en place à l'entrée du clapier.

5.1.5. Préparation du cheptel

Notre partie expérimentale est réalisée sur deux volets. Les lots expérimentaux établis lors de cette étude sont composés de lapins mâles de population locale et de souche synthétique.

Afin de constituer les lots expérimentaux, une sélection des mâles âgés de 35 jours (après sevrage) a été réalisée. Cette sélection repose sur les conditions de choix de meilleur reproducteur ayant un poids supérieur à 500 g au moment du sevrage. Les lapereaux dont le poids est faible sont écartés. Ainsi, les lapereaux mâles répondant au critère pondéral choisi ont été placés dans des cages individuelles au sein du clapier de la station pour leur croissance jusqu'à l'âge adulte. Tous les mâles étaient en bon état sanitaire. Ils ont été placés dans des cages individuelles pour leur permettre une nouvelle adaptation.

5.2. EXPERIENCE 1: ETUDE COMPARATIVE DU COMPORTEMENT SEXUEL, ANATOMO-HISTOLOGIQUE DES STRUCTURES GONADIQUES ET DU PROFIL ENDOCRINIEN DE LA TESTOSTERONE CHEZ LE LAPIN MALE DE LA POPULATION LOCALE ET DE LA SOUCHE SYNTHETIQUE.

5.2.1. Objectif

Cette partie expérimentale a pour objectif de faire une étude comparative sur des paramètres gonado-anatomo-histologiques (testicule) et endocrinien (testostérone) en relation avec le comportement sexuel et la distance ano-génitale chez les lapins de population locale et de souche synthétiques. En ce sens, notre étude a pour objectif de rechercher la relation entre la distance Ano-génitale et certains paramètres comportementaux de reproduction, le marquage mentonnier et la satiété sexuelle d'une part et le taux de testostérone plasmatique ainsi mesuré au cours de l'expérimentation.

5.2.2. Matériel et Méthodes

5.2.2.1. Lieu et durée de l'expérimentation

Cette partie expérimentale a été réalisée durant la période allant du mois d'Avril 2017 jusqu'au mois de décembre 2018. Elle s'est déroulée au niveau du clapier de la station expérimentale de l'Université de Blida 1, le Laboratoire de Biotechnologie liée à la reproduction animale (LBRA) de l'université de Blida 1, ainsi que le laboratoire Histo-Anapath de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Daira d'El Harrache.

5.2.2.2. Matériel

5.2.2.2.1. Matériel biologique

Afin d'étudier le comportement sexuel des lapins, 40 lapins mâles ont été sélectionnés (20 lapins de population locale et 20 lapins de souche synthétique). Ces derniers ont été décrits dans les conditions expérimentales communes aux essais et ont été répartis en deux lots:

- Premier lot est composé de 10 lapins de population locale et 10 lapins de souche synthétique, âgés de 9 mois et ayant un poids moyen d'environ

3,460 ± 0,273 Kg pour la population locale et de 3,399 ± 0,152 Kg pour la souche synthétique. Pour apprécier le comportement sexuel de ces mâles, 20 lapines ovariectomisées (10 de la population locale et 10 de la souche synthétique) ont été utilisées. Auxquelles 0,01 ml de Benzoate d'œstradiol a été injectée à chaque femelle afin de stimuler les chaleurs.

- Deuxième lot est composé de 10 lapins de population locale et 10 lapins de souche synthétique, âgés de 9 mois et ayant un poids moyen d'environ 3,315 ± 0,281Kg pour la population locale et de 3,237 ± 0,169 Kg pour la souche synthétique. Pour apprécier le comportement sexuel de ces mâles, 60 lapines réceptives (40 de la population locale et 20 de la souche synthétique) ont été utilisées.

5.2.2.1. Matériel non biologique

Le matériel de laboratoire et les instruments utilisés dans cette partie est présentée dans l'Appendice A.

5.2.2.3. Méthodes

5.2.2.3.1. Préparation du cheptel

Au sein du clapier expérimental, les lapins sélectionnés ont été placés dans des cages métalliques individuelles 15 jours avant l'expérimentation, pour leur permettre une bonne adaptation. Chaque matin les animaux étaient abreuvés et nourris ad libitum avec un aliment standard et équilibré à base d'aliment granulé spécial lapin. Tous les lapins étaient en bon état sanitaire. Avant chaque expérience, les lapins sont pesés au moyen d'une balance de précision.

5.2.2.3.2. Conduite expérimentale

Les différentes étapes de l'expérimentation ont été groupées selon l'organigramme (Figure 5.5):

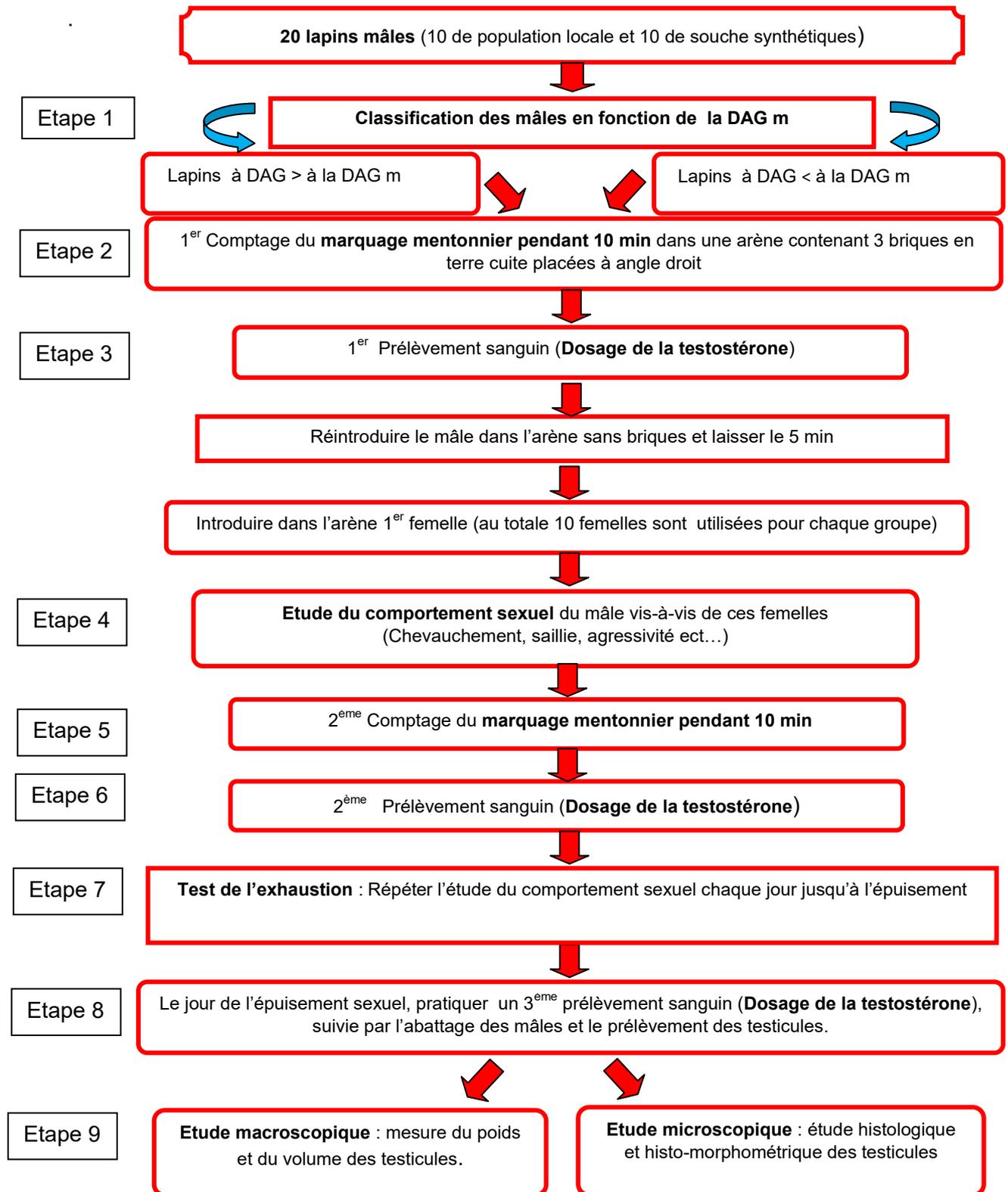


Figure 5.5 : Organigramme expérimental 1

❖ Mesure de la DAG

La DAG a été estimée selon la méthode décrite par Banzegi *et al.* [16]. Cette distance a été mesurée entre le centre de l'anus et l'extrémité distale de la verge par un pied à coulisse (Figure 5.6). Pour chaque mâle, cette distance a été mesurée trois fois par trois opérateurs différents et la moyenne des trois observations a été calculée. Les mâles ont été classés selon leur DAG moyenne en deux classes [295]. La première classe concerne les mâles avec une petite DAG (ce dont la DAG est égale ou inférieure à la DAG moyenne). En revanche, la deuxième classe comprend les mâles avec une DAG supérieure à la moyenne.



Figure 5.6 : Technique de mesure de la DAG.

❖ Etude du marquage mentonnier et préparation de l'arène

Le marquage mentonnier a été évalué selon la méthode décrite par González-Mariscal *et al.* [121] et Hudson *et al.* [141].

Trois briques en terre cuite sont placées au centre d'une tour arène (1 mètre carré de surface et 43cm de hauteur). Le mâle est alors introduit. La fréquence de marquage a été déterminée en comptant le nombre de fois que le mâle frotte activement la glande du menton contre les tuiles et de cette manière l'excrétion est étalée sur la surface de la brique (Figure 5.7). La durée de cette opération est de 10 min.



Figure 5.7: Marquage mentonnier.

❖ Etude du comportement sexuelle

A la fin du 1^{er} test de marquage mentonnier, les briques sont retirées de l'arène, et une première femelle réceptive est introduite dans l'arène. Le comportement sexuel du mâle est noté pendant une durée de 30 min (chevauchement, saillie, agressivité, urination) (Figure 5.8). Par la suite d'autres femelles ont été introduites dans l'arène pour subir le même essai jusqu'à épuisement sexuel du mâle. Après le 2^{ème} test du marquage mentonnier, les briques sont retirées de l'arène et lavées en vue de les préparer pour refaire les mêmes étapes pour tous les mâles. Cet essai est refait chaque jour pour chaque mâle jusqu'à épuisement sexuel du mâle (Exhaustion) selon la technique de Jimenez [87].

- Chevauchement et éjaculation (saillie)

Le nombre de chevauchement avec ou sans éjaculation ainsi que l'intervalle de temps entre les chevauchements ont été appréciés.

- Agressivité

Le mâle montre son agressivité envers la femelle non réceptive (en la griffant, la mordant et lui arrache des poils).

- Urination

C'est une réaction du lapin mâle vis-à-vis de la femelle considérée comme une réaction de peur ou de dominance.

- Marquage sur la lapine

Le lapin frotte son menton sur le dos et la vulve de la femelle. C'est une marque de connaissance



Figure 5.8 : Différentes formes de comportement du male vis-à-vis de la femelle.

a : Chevauchement, b : Arrachement des poils, c : Reniflement de l'odeur,
 d : Miction d'urine, e : Repos, c : Animaux désintéressés.

❖ Prélèvement sanguin

Pour faciliter le prélèvement, il est possible d'enrouler l'animal dans une serviette, façon « burrito » (Figures 5.9).



Figure 5.9 : Contention à l'aide d'une serviette «burrito».

La réalisation de prélèvement sanguin est effectuée selon la technique décrite par Sanroma, [296] (APPENDICE B):

Au cours de la période d'essai, le 1^{er} prélèvement a été réalisé à j1 après le 1^{er} marquage mentonnier du mâle, le 2^{ème} prélèvement est effectué après le 2^{ème} marquage mentonnier et un 3^{ème} prélèvement le jour de l'épuisement sexuel (exhaustion). Le plasma obtenu est congelé jusqu'au jour du dosage de la testostérone.

❖ Dosage de la testostérone

➤ Analyses de laboratoire :

Les dosages ont été faits au niveau du laboratoire privé Chouggar et Boudjebla (Tizi-Ouzou).

Nous avons utilisé le ST AIA-PACK Testostérone, dont l'usage est exclusivement réservé au diagnostic in vitro, servant à mesurer la quantité de la testostérone présente dans le sérum humain ou le plasma hépariné sur le système analyseur AIA DE TOSCH (APPENDICE C).

❖ Etude anatomo-histologique de la structure des organes gonadiques du lapin mâle

➤ Préparation des échantillons

A la fin de l'expérimentation décrite dans les différentes étapes du protocole (exhaustion) pour les deux lots et pour une éventuelle étude macroscopique et microscopique du système reproducteur mâle, l'abattage des animaux a été effectué par saignée. Ainsi, les organes reproducteurs (testicules et épидидyme) ont été prélevés (Figure 5.10).

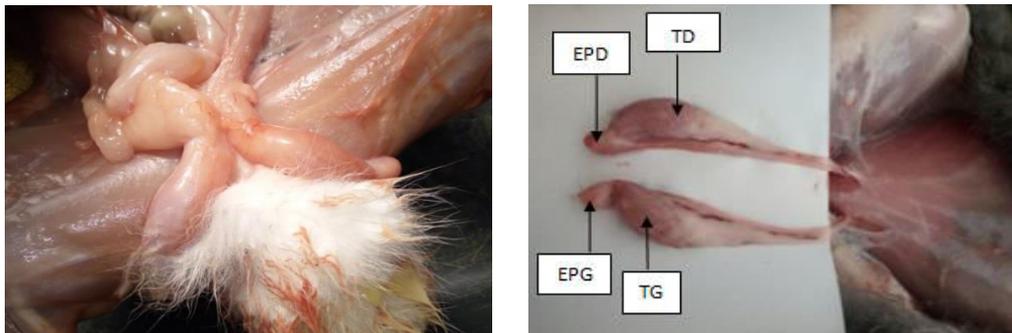


Figure 5.10 : Gonades testicules droit et gauche (TD et TG) et épидидymes droit et gauche (EPD et EPG).

➤ Etude macroscopique

Les testicules et les épидидymes prélevés ont été dégraissés puis pesés individuellement en utilisant une balance de précision (0,01 g) (Figure 5.11). Leur volume a été mesuré dans des tubes gradués (Figure 5.12) selon les techniques décrites par Iczkowski et *al.* [297] et Theau-Clement et *al.* [298]. Le tube gradué étant rempli d'eau à un niveau initial connu, la différence avec le volume obtenu à l'immersion de l'organe correspond au volume de l'organe. Par la suite, les organes sont immédiatement fixés dans une solution suffisante de formol à 10% (Figure 5.13) pour s'assurer de sa bonne pénétration dans le tissu et maintenir les constituants tissulaires et cellulaires les plus proches possibles de l'état vivant.

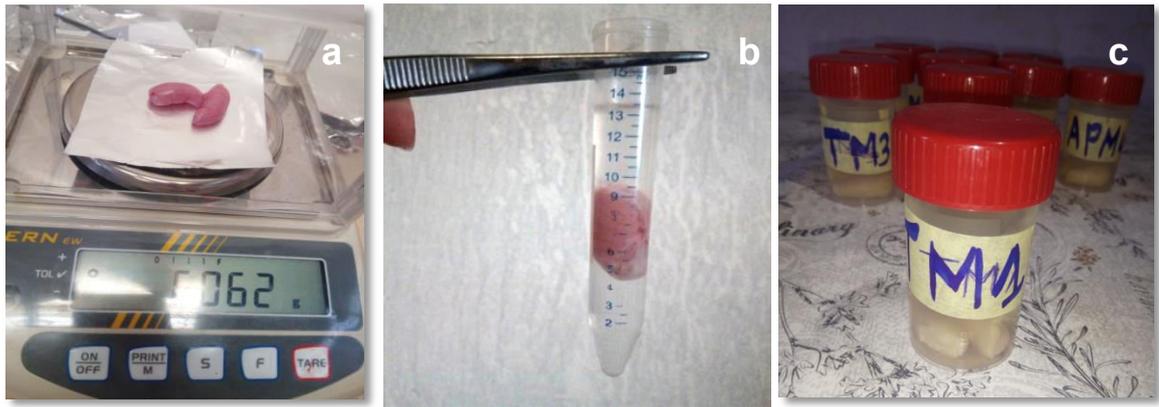


Figure 5.11: Pesée (a), volume (b) et fixation des organes (c).

➤ Etude microscopique

Dans cette partie, nous avons utilisés seulement les testicules droits.

• Etude Histologique

La préparation des coupes histologiques pour l'observation microscopique est la procédure la plus couramment utilisée. Parce que les tissus et les organes sont trop épais pour permettre le passage d'un faisceau lumineux, ils doivent être coupés pour fournir des sections d'épaisseur réduite. Ainsi, dans la plupart des cas, les tissus et les organes sont coupés en fines tranches de tissu et placés sur des lames de verre prêtes à recevoir la coloration topographique et spécifique.

La procédure utilisée dans notre expérimentation est inspirée de celle mise au point par Martoja et Martoja [299].

Le protocole expérimental comprend les étapes suivantes :

a. Confection des blocs de paraffine

A l'aide d'un bistouri sur des coupes transversales en petits fragments qui ne dépasse pas 5 mm ont été réalisées, chaque coupe est enfermée dans une cassette histologique identifié, les cassettes sont mises au fur et à mesure de leur préparation dans un récipient contenant du formol à 10% (Figure 5.12).



Figure 5.12: Réalisation des coupes testiculaires fines.

a : coupe transversale du testicule, b : dépôt du testicule dans la cassette, c : dépôt de la cassette dans le fixateur.

- Rinçage

Les cassettes histologiques sont ensuite lavées pendant 5 min à l'eau, afin d'éliminer l'excès de liquide fixateur.

- Déshydratation et éclaircissement

Cette étape consiste à débarrasser le tissu de l'eau, afin de les préparer à une inclusion dans un milieu hydrophobe (la paraffine). Pour réaliser la déshydratation de l'organe contenu dans des cassettes, nous avons utilisé une série de bains d'alcool éthylique (Ethanol) de degrés croissant (70°, 90°, 100°) (Figure 5.13), pendant 2 heures pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures de l'organe. L'étape d'éclaircissement des pièces, parfois appelée clarification se fait par un passage des cassettes dans 2 bains de toluène pendant 1 heure pour chacun, ce qui permettra l'élimination totale de traces d'alcool et la préparation à l'imprégnation de l'organe à la paraffine, car l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine.



Figure 5.13 : Série de bains d'alcool éthylique et le toluène.

- Imprégnation

Les cassettes avec échantillon sont placées dans un bain remplie de 50% de toluène et 50% de paraffine préalablement fondue, généralement à 58-60 C° pour l'évaporation du solvant, pendant une heure afin d'initier l'infiltration de la paraffine. Puis les échantillons récupérés sont plongés dans deux bains successifs de paraffine fondue le premier bain pendant 1 heure et le second pendant 11 heures. À la fin, les tissus inclus dans la paraffine deviennent rigides après avoir été retirés du poêle.

- Inclusion et confection des blocs de paraffine

Une nuit après, Les échantillons sont placées à l'aide d'une pince souple puis placés au centre de la surface des moules en inox de taille adaptée. De la paraffine préchauffée est coulée dans ces moules jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante de l'appareil (-10 à -15°C) jusqu'à solidification du bloc. Ce dernier, a été démoulé afin d'obtenir une masse ferme et facile à découper (Figure 5.14).



Figure 5.14 : Inclusion et confection des blocs de paraffine (a, b, c).

- Réalisation des coupes au microtome

Cette opération a été réalisée à l'aide d'un microtome de type Leica RM 2125 RT (Figure 5.15), qui consiste à débiter en tranches fines de quelques microns (4-5 μm), les fragments d'organes inclus dans la paraffine par une lame en acier.



Figure 5.15: Réalisation des coupes au microtome.

- Confection et étalement des coupes

Après avoir été sectionné, les tranches de ruban de la coupe sont étalé dans un bain marie à 45°C (eau albumineuse), récupéré sur des lames ordinaires, afin d'éliminer les pliés et de permettre un bon étalement et une adhérence des tranches sur la lame en verre mince porte-objet propres, cette dernière est mise sur une plaque chauffante maintenant une température de 50 °C, pendant 15 min puis mis dans une étuve à 60 C° pendant 1 heure pour sécher et faire adhérer la paraffine à la lame (Figure 5.16).

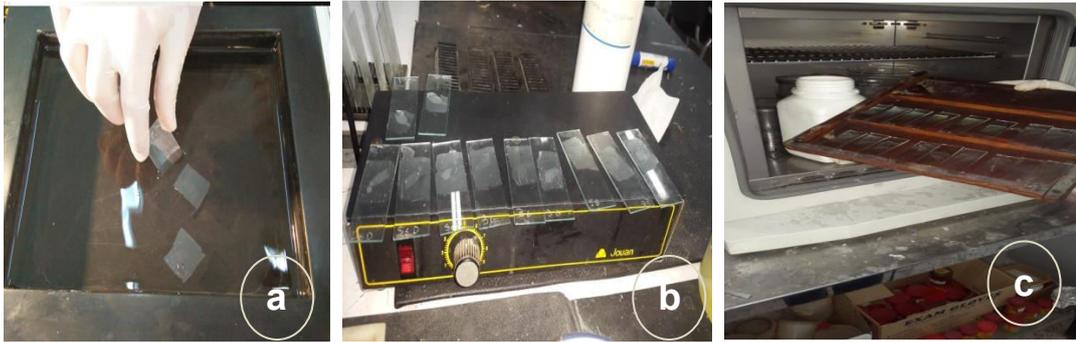


Figure 5.16: Confection et étalement des coupes (a, b, c).

- Coloration

La coloration permet l'analyse de l'architecture du tissu, des cellules, de leur noyau, de leur cytoplasme et des constituants extracellulaires. Les coupes ne seront pas prêtes à recevoir les colorants qu'après les deux étapes suivantes : le déparaffinage et l'hydratation, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux.

- Déparaffinage

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants hydrophiles puissent pénétrer. Les coupes sont passées par un bain de toluène pendant 5 minutes (Figure 5.17) et un deuxième bain pendant 7 mn (Figure 5.18).

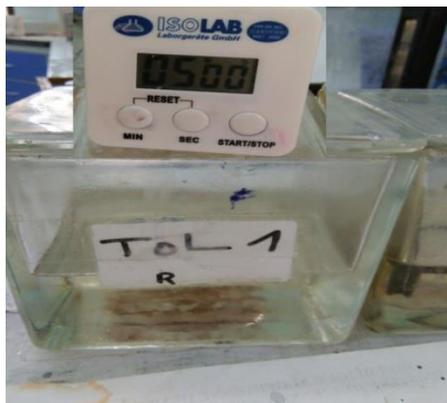


Figure 5.17: Premier bain de toluène 5mn

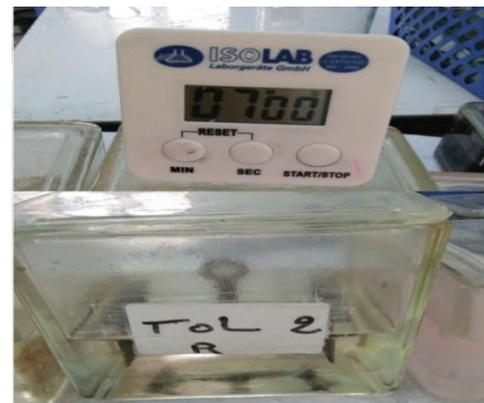


Figure 5.18: Deuxième bain de toluène 7 mn

- Hydratation

L'hydratation permet l'apport de l'eau aux tissus, les coupes sont passées dans des bains d'alcool à concentration décroissante (100°, 90°, 70°), 1 minutes pour chacun puis rincées à l'eau distillée dans 2 bains pendant 3 min (Figure 5.19).

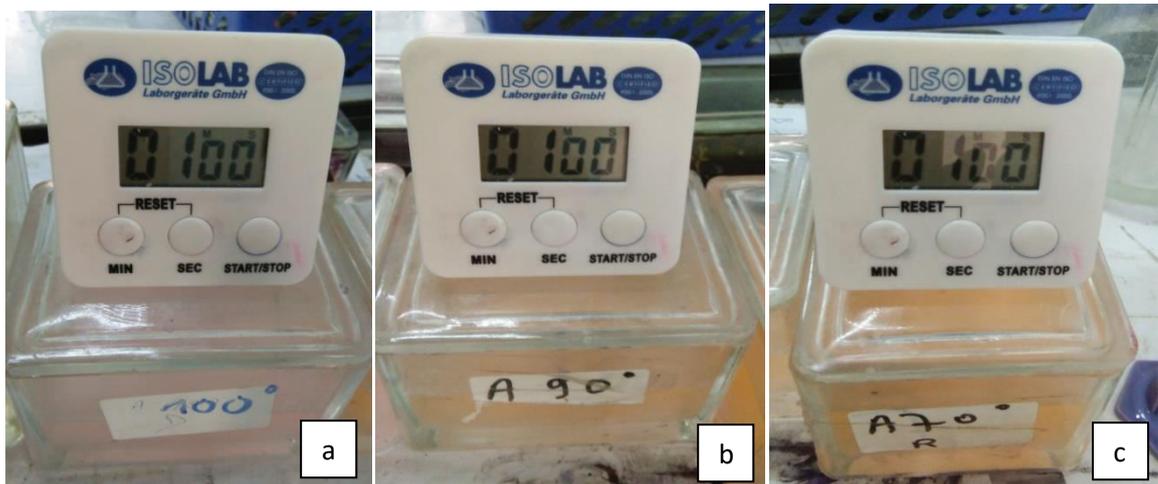


Figure 5.19: Etapes d'hydratation (a, b, c).

- Coloration des coupes

Pour la coloration de nos échantillons nous avons choisi deux colorations topographiques : La coloration de «Hématoxyline éosine » et la coloration de « Trichome de Masson ».

- ✓ Trichrome de Masson

C'est un traitement tricolore des coupes où coloration histologique trichromique associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline, une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Hemalun, Ponceau et l'orangé G) et une autre du collagène par le vert lumière ou le bleu d'aniline. Ce qui permet la coloration du noyau en noire, le cytoplasme en rose ou brun suivant leur basophile, les Fibres de collagène et le mucus en bleu, les grains de sécrétions et la Kératine en rose et les hématies en orange.

Le protocole est le suivant (Figure 5.20) :

l'hémalum (12 min), lavage à l'eau courante (3 min), ponçon (5 min), eau acétifiée (3 min), Orange – Acide phosphomolybdique (5 min), eau acétifiée (3 min), bleu d'aniline (1 min 15 s), eau courante (20 s).

- Coloration des coupes avec de l'hématoxyline (hemalum) pendant (12 min), puis rinçage à l'eau courante dans deux bains :
 - 1^{er} bain pendant (1 min).
 - 2^{ème} bain pendant (2 min).
- Coloration à l'éosine (ponçon) pendant (5 min) suivie par rinçage à l'eau acétifiée pendant 3 (min).
- Coloration à Orange-Acide phosphomolybdique pendant (5 min), poursuivie par rinçage à l'eau acétifiée pendant 3 (min).
- Coloration au bleu d'aniline pendant (1 min 15 s), finalisé par un rinçage à l'eau courante pendant 20 s.



Figure 5.20: Batterie de coloration du Trichrome de Masson.

✓ Hématoxyline éosine

Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules, noyau et cytoplasme. C'est la plus simple des colorations combinées qui s'effectue avec deux colorants, un colorant nucléaire basique, hématoxyline qui contient de l'hématéine (substance basique) et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer) et un colorant d'éosine, c'est une substance plutôt acide qui colore les protéines cytoplasmiques et les fibres en rose, dans une gamme d'intensité plus ou moins vive, selon l'acidophilie des

différents éléments. Ce qui permet de colorer le noyau en violet et le fond en rose.

Le protocole est le suivant (Figure 5.21) :

- Coloration des coupes avec l'hématine pendant (12 min), suivie par un rinçage avec l'eau courante pendant (3min),
- Finalisé par une coloration avec l'éosine pendant (5 min).

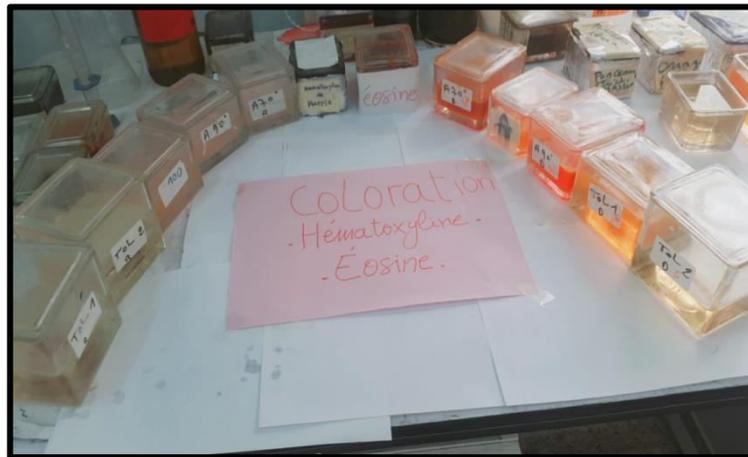


Figure 5.21: Batterie de coloration d'hématoxyline éosine.

- Déshydratation

La déshydratation s'effectue par passage des lames dans 3 bains d'alcool (Ethanol) de teneur croissant (70°, 90°, 100°). Les deux premiers pendant 30 s et le dernier pendant 1 min (Figure 5.22).

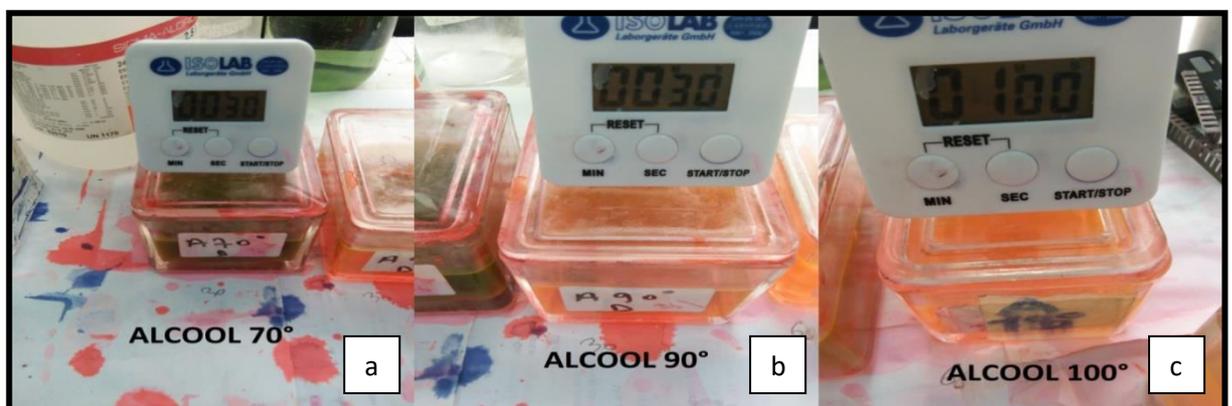


Figure 5.22: Etapes de déshydratation (a, b, c).

- Eclaircissement

Éclaircissement s'effectue par passage des lames dans 2 bains de toluène pendant 5 min de chacun (Figure 5.23).

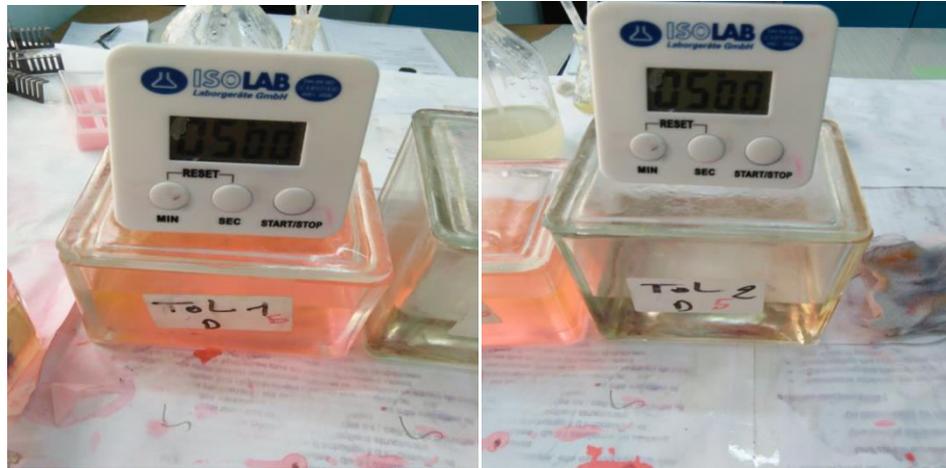


Figure 5.23: Etapes d'éclaircissement (a, b, c).

- Montage des lames

La protection des coupes colorées est réalisée grâce aux lamelles. Les coupes colorées ne supportent pas le dessèchement. Il est nécessaire d'interposer entre la lame et la lamelle un milieu répondant à certaines rigueurs. Nous utilisons comme milieu de montage la résine (EuKitt). Une goutte de la résine est déposée sur une lamelle puis appliquée sur une lame sans laisser sécher. Afin de ne pas écraser les coupes, il faut appuyer légèrement. La quantité de résine sera réduite au minimum et compatible avec un montage correct et sans bulles d'air. Les lames à plat sont séchées et prêtes à l'observation et peuvent être conservées indéfiniment.

- ❖ Observation microscopique

Après montage de la lamelle sur la lame avec de la résine, l'observation a été faite à l'aide d'un microscope optique de type MOTIC à G x 400 équipé d'un appareil photos, ce qui nous a permis de réaliser des photos à partir de nos échantillons, ceci nous a facilité l'étude histologique.

❖ Analyse statistique

Les moyennes, les écarts types et les comparaisons entre moyennes sont traitées par le logiciel Statistique SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Version 20). Le test ANOVA à 2 facteurs (Model linéaire général univarié) est utilisé dans cet essai pour étudier la relation de la DAG et la lignée sur le comportement sexuel et le taux de la testostérone.

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité "p", lue en fonction du nombre de degrés de liberté ($df = n_1 + n_2 - 2$) est égale ou inférieure à 5%.

Si $p > 0,05$: la différence n'est pas significative (NS)

Si $0,01 < p < 0,05$: elle est significative (*)

Si $0,001 < p < 0,01$: elle est très significative (**)

Si $p < 0,001$: elle est hautement significative (***)

5.2.3. Résultats

Dans cette partie d'étude, nous déterminerons d'abord la distance ano-génitale (DAG) des lapins mâles mis en œuvre pour la réalisation de cette partie expérimentale, représentés par deux lots de lapins de la population locale et la souche synthétique, âgés d'environ 10 mois et ayant un poids respectif de $3,460 \pm 0,273$ Kg : population locale et $3,399 \pm 0,152$ Kg : souche synthétique pour le premier lot et $3,315 \pm 0,281$ Kg : population locale, $3,237 \pm 0,169$ Kg : souche synthétique pour le deuxième lot. S'ensuit après, l'étude du comportement sexuel de ces derniers, le dosage sérologique de la testostérone et finalement, la pesée et l'étude histologique des testicules après abattage.

5.2.3.1. Classification des mâles en fonction de leur DAG

La classification des mâles des deux lots (populations locale et souche synthétique) en fonction de leur DAG moyenne est rapportée dans les tableaux 5.1. et 5.2.

- Lot 1 : Les mâles de population locale et de souche synthétique avec les lapines ovariectomisées, induite en chaleur avec une injection de Benzoate d'œstradiol.

Tableau 5.1: Mesures de la distance ano-génitale (DAG) (moyenne \pm écart-type) pour le premier lot.

Nbre des lapins	DAG (mm)					
	DAG 1 (mm)	DAG 2 (mm)	DAG 3 (mm)	DAGM (mm)	DAGP (mm)	DAGG (mm)
Lot 1 (Ov)						
Locale (10) (p : 4, g: 6)	$14,59 \pm 1,8$	$14,76 \pm 2,0$	$14,60 \pm 2,0$	$14,65 \pm 1,9$	$12,79 \pm 1,5$	$15,8 \pm 0,6$
Synthétique (10) (p : 6, g : 4)	$13,9 \pm 1,2$	$14,0 \pm 1,1$	$13,8 \pm 1,2$	$13,9 \pm 1,1$	$13,1 \pm 0,7$	$15,13 \pm 1,0$

Nbre des lapins : nombre des lapins ; DAGM : DAG moyenne ; DAGP : DAG petite ; DAGG : DAG grande ; p : petite ; g : grande ; Ov : Femelles ovariectomisées.

La DAG moyenne chez les mâles utilisés dans le cas du premier lot de notre expérimentation était de $14,65 \pm 1,9$ mm pour la population locale et de

13,9±1,1mm pour la souche synthétique. 04 mâles de la population locale ont présenté une DAG inférieure à la DAG moyenne et 06 autres une DAG supérieure à la DAG moyenne. Contrairement à la souche synthétique, 06 mâles ont présenté une DAG inférieure à la DAG moyenne et 04 ont une DAG supérieure à la moyenne.

- Lot 2 : Les mâles de population locale et de souche synthétique avec les lapines naturellement réceptives.

Tableau 5.2 : Mesures de la distance ano-génitale (DAG) (moyenne ± écart-type) pour le deuxième lot.

Nbre des lapins	DAG (mm)					
	DAG 1 (mm)	DAG 2 (mm)	DAG 3 (mm)	DAGM (mm)	DAGP (mm)	DAGG (mm)
Lot 2 (R+)						
Locale (10) (p : 5, g : 5)	12,92 ± 0,9	13,04 ± 0,9	12,97 ± 0,9	12,97 ± 0,6	12,44 ± 0,4	13,5 ± 0,4
Synthétique (10) (p :6, g :4)	11,5 ± 1,7	11,1 ± 2,0	11,5 ± 1,9	11,4 ± 1,8	10,04 ± 1,0	13,26 ± 1,3

nbre des lapins : nombre des lapins ; DAGM : DAG moyenne ; DAGP : DAG petite ; DAGG : DAG grande ; p : petite ; g : grande ; R+ : Femelles réceptives.

La DAG moyenne chez les mâles utilisés dans le cas du deuxième lot de notre expérimentation était de 12,97±0,6 mm pour la population locale et de 11,4±1,8 mm pour la souche synthétique. 05 lapins de la population locale ont présenté une DAG inférieure et les 05 autres une DAG supérieure à la moyenne. Cependant chez la souche synthétique, 06 mâles ont présenté une DAG inférieure à la DAG moyenne et 04 autres supérieures à la DAG moyenne.

5.2.3.2. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le poids corporel

La relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le poids corporel des mâles est représenté dans le Tableau 5.3.

Tableau 5.3: Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le poids corporel des mâles (Moyenne \pm écart-type).

Poids corporel (Pc) (kg)	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1:	3,258 \pm 0,4	3,28 \pm 0,1	3,126 \pm 0,1	3,328 \pm 0,1	0,691	0,291	0,397
Lot 2:	3,328 \pm 0,1	3,589 \pm 0,2	3,223 \pm 0,1	3,432 \pm 1,1	0,206	0,031	0,797

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Nos résultats montrent que dans le premier lot, la DAG et la lignée n'ont aucun effet d'interaction sur le poids des lapins mâles utilisés ($p > 0,05$). De même, il a été constaté que l'interaction entre la lignée et la DAG n'a aucune réaction sur le poids corporel. A l'exception des lapins du deuxième lot où nous avons constaté que la DAG qui a un effet significatif sur le poids ($p < 0,05$) ou nous avons constaté que les lapins avec une DAG grande ont un poids plus élevé par rapport à ceux ayant une DAG petite.

5.2.3.3. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le marquage mentonnier

La relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le marquage mentonnier des mâles est représenté dans le Tableau 5.4.

Tableau 5.4: Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le marquage mentonnier des mâles (Moyenne \pm écart-type)

Marquage mentonnier	Population locale		Souche Synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	30,5 \pm 23,6	31,2 \pm 18,2	10,5 \pm 16,6	14,4 \pm 12,5	0,04	0,781	0,847
Lot 2	30,7 \pm 13,2	35,3 \pm 11,1	18,6 \pm 16,7	13,8 \pm 17,9	<0,0001	0,577	0,777

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Nous avons constaté que la lignée a un effet significatif ($p < 0.05$) sur le marquage mentonnier. Les lapins de la population locale marquent plus le territoire que ceux de la souche synthétique. Par contre, la DAG n'a pas de relation avec le marquage mentonnier ($p > 0,05$) dans les deux lots. Nous avons également constaté que la relation entre la lignée et la DAG est non significative dans le cas du marquage mentonnier ($p > 0,05$) pour les deux lots.

5.2.3.4. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le chevauchement

La relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le chevauchement des mâles est représenté dans le Tableau 5.5.

Tableau 5.5: Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le chevauchement des mâles (Moyenne \pm écart-type).

Chevauchement	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	27,9 \pm 23,6	14,5 \pm 7,5	10,1 \pm 9,6	15,6 \pm 7,6	0,167	0,508	0,123
Lot 2	63,6 \pm 66,75	14,1 \pm 4,5	17,3 \pm 7,92	9,6 \pm 6,6	0,156	0,113	0,238

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Les résultats de cette étude montrent que le chevauchement n'est pas influencé par la lignée et la DAG pour les deux lots de lapins ($p > 0,05$).

5.2.3.5. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le nombre de saillie

La Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le nombre de saillie des mâles est représenté dans le Tableau 5.6.

Tableau 5.6: Relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur le nombre de saillies mâles (Moyenne \pm écart-type).

Nombre de saillie	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	6,5 \pm 8,0	2,3 \pm 1,5	1,2 \pm 1,3	1,6 \pm 0,7	0,093	0,293	0,188
Lot 2	16,4 \pm 20,9	4,3 \pm 1,9	4,9 \pm 3,2	3,5 \pm 2,6	0,276	0,23	0,334

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Nos résultats montrent que dans les deux lots la lignée et la DAG n'ont aucun effet d'interaction sur le nombre de saillie des lapins mâles utilisés ($p > 0,05$). De même, il a été signalé que l'interaction entre la lignée et la DAG est non significative dans le cas du nombre de saillie ($p > 0,05$).

5.2.3.6. Relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur le marquage des mâles sur les femelles

La relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur le marquage des mâles sur les femelles est représenté dans le Tableau 5.7.

Tableau 5.7: Relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur marquage des mâles sur les femelles (Moyenne \pm écart-type).

Marquage sur les femelles	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	2,2 \pm 2,6	1,3 \pm 0,7	0,5 \pm 0,8	0,3 \pm 0,25	0,031	0,362	0,549
Lot 2	1,5 \pm 1,7	0,1 \pm 0,2	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,096	0,106	0,140

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Nos résultats montrent que les mâles de la population locale du premier lot marquent plus les femelles comparées aux mâles de la souche synthétique

($p < 0,05$). Cependant, il n'y a aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les deux lignées des mâles ayant marqués les femelles dans le deuxième lot.

Nous avons constaté que la DAG n'a pas d'effet significatif sur le marquage des mâles sur les femelles et sur les deux lignées de lapins ($p > 0,05$) pour les deux lots.

5.2.3.7. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'urination des mâles

La relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'urination des mâles est représenté dans le Tableau 5.8.

Tableau 5.8: Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'urination des mâles (Moyenne \pm écart-type).

Urination	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	0,9 \pm 0,9	0,4 \pm 0,5	0,2 \pm 0,4	0,3 \pm 0,3	0,176	0,458	0,267
Lot 2	1,6 \pm 2,24	0,5 \pm 0,5	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,106	0,355	0,402

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Les deux lots de lapins utilisés dans notre expérimentation n'ont montré aucune relation entre la lignée et la DAG sur l'urination des mâles ($p > 0,05$). Nous avons remarqué que l'interaction entre la lignée et la DAG est non significative dans le cas de l'urination des mâles ($p > 0,05$).

5.2.3.8. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'agressivité des mâles

La relation entre la DAG et la lignée des lapins sur l'agressivité des mâles est représenté dans le Tableau 5.9.

Tableau 5.9: Relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur l'agressivité des mâles (Moyenne \pm écart-type)

Agressivité	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	-	-	-
Lot 2	0,1 \pm 0,2	0,1 \pm 0,2	0,1 \pm 0,04	0,1 \pm 0,03	0,274	0,874	0,998

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

L'analyse des résultats ont montré que les lapins des deux lignées du premier lot n'ont pas présenté d'agressivité. Alors que les lapins du deuxième lot ont été peu agressifs. La DAG et lignée n'ont pas eu de relation ($p > 0,05$) sur cette agressivité. Nous avons remarqué que l'interaction entre la lignée et la DAG est non significative dans le cas de l'agressivité des mâles ($p > 0,05$).

5.2.3.9. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le clapotement des mâles

La relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur le clapotement des mâles est représenté dans le Tableau 5.10.

Tableau 5.10: Relation entre la DAG et la lignée des lapins_sur le clapotement des mâles (Moyenne \pm écart-type)

Clapotement	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	3,4 \pm 5,7	1,0 \pm 1,1	0,2 \pm 0,6	0,6 \pm 0,4	0,149	0,402	0,246
Lot 2	9,3 \pm 12	1,4 \pm 1,4	1,1 \pm 1,1	0,2 \pm 0,2	0,134	0,160	0,259

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Nos résultats montrent que dans les deux lots la lignée et la DAG n'ont aucun effet d'interaction sur le clapotement des lapins mâles utilisés ($p > 0,05$). De même, il a

été signalé que l'interaction entre la lignée et la DAG est non significative dans le cas du clapotement ($p > 0,05$).

5.2.3.10. Dosage de la testostérone

Les valeurs moyennes du taux plasmatique de la testostérone chez le lapin de la population locale et la souche synthétique des deux lots enregistrées durant cette partie expérimentale sont rapportées dans le tableau 5.11.

Tableau 5.11: Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) du taux plasmatique de la testostérone chez les deux lots de lapin mâle.

Taux de testostérone (ng/ml)	Population locale	Souche synthétique	P value
Lot 1	2,16 ±1,4	1,19 ± 1,4	0,134
Lot 2	1,55±1,06	2,26±1,5	0,235

Les profils hormonaux de la testostérone du plasma sanguin de nos lapins soumis à une période de reproduction jusqu'à l'exhaustion sexuelle n'ont montré aucun effet significatif ($P > 0,05$) de la ligné sur la testostérone du plasma sanguin, où la valeur moyenne globale était (2,16 ng / ml) chez la population locale et (1,19 ng / ml) chez la souche synthétique pour le premier lot et (1,55 ng / ml) chez la population locale et (2,26 ng / ml) chez la souche synthétique pour le deuxième lot.

5.2.3.11. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le taux de la testostérone des mâles

La relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le taux de la testostérone des mâles est représenté dans le Tableau 5.12.

Tableau 5.12: Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur le taux de la testostérone des mâles (Moyenne \pm écart-type)

Testostérone (ng/ml)	Population locale		Souche synthétique		P value		
	DAGP	DAGG	DAGP	DAGG	Lignée	DAG	Lignée*DAG
Lot 1	2,6 \pm 1,8	1,9 \pm 1,2	0,8 \pm 0,7	1,8 \pm 1,9	0,155	0,806	0,167
Lot 2	1,9 \pm 1,1	1,2 \pm 0,6	3,1 \pm 1,3	1,1 \pm 0,4	0,314	0,010	0,204

DAGP : Distance ano-génitale petite ; DAGG : Distance ano-génitale grande

Nous avons constaté que la lignée a un effet non significatif ($p > 0.05$) sur le taux de la testostérone dans les deux lots. Il en est de même pour la DAG chez les lapins du premier lot. Par contre, la DAG a un effet significatif sur le taux de la testostérone ($p < 0,05$) chez les lapins du deuxième lot. Nous avons noté que l'interaction entre la lignée et la DAG est non significative dans le cas du taux de la testostérone ($p > 0,05$) pour les deux lots.

5.2.3.12. Evolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion

Le tableau 5.13 et les figures 5.24 et 5.25 représentent l'évolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion

Tableau 5. 13: Représente l'évolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion

Ligné	Lot 1		Lot 2		P Value	
	Population locale	Souche synthétique	Population locale	Souche synthétique	Lot 1	Lot 2
Taux de la testostérone (ng/ml)(j1avant comportement)	1,82±2,5	2,88±2,3	2,31±2,2	1,82±2,2	0,098	0,094
Taux de la testostérone (ng/ml)(j1après comportement)	0,66±0,7	1,54±1,8	0,94±0,8	0,6±0,8	0,275	0,315
Taux de la testostérone (ng/ml)(jour de l'exhaustion)	2,17±2,6	2,35±2,6	3,25±3,0	1,56±2,1	0,984	0,051

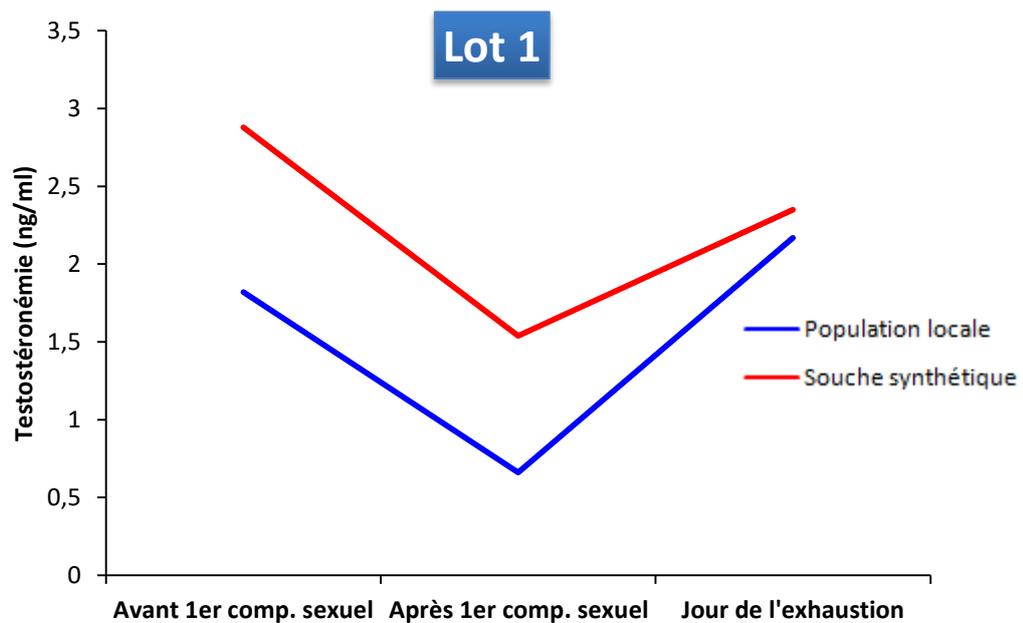


Figure 5.24: Evolution du taux de testostérone (lot 1).

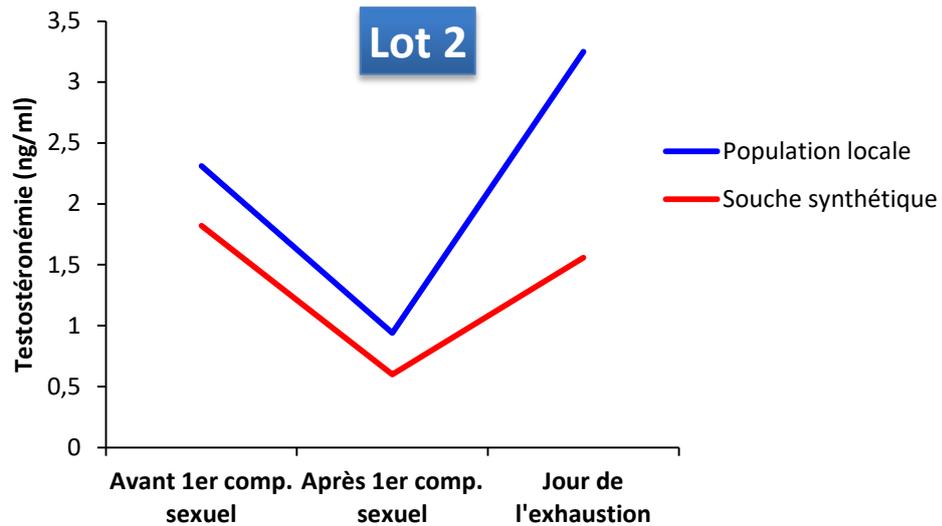


Figure 5.25: Evolution du taux de testostérone (lot 2).

Nos résultats ont montré qu'au cours du premier jour de l'expérimentation, le taux de la testostérone plasmatique a présenté une diminution après deux heures d'effort sexuel du mâle avec les femelles. Cependant, cette chute a été suivie par une augmentation du taux de la testostérone plasmatique le jour de l'exhaustion.

Par rapport aux lignées des deux lots, nous n'avons constaté aucune différence significative du taux de la testostérone entre la population locale et la souche synthétique.

5.2.3.13. Etude du volume et le poids absolu et relatif des testicules

Les résultats des poids absolus et relatifs des testicules sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 5. 14: Poids absolus et relatifs des testicules et épидидymes chez les lapins.

Ligné		Lot 1		Lot 2	
		Population locale	Souche synthétique	Population locale	Souche synthétique
Poids testiculaire absolu (g)	Total	7,48±1,72	7,06±1,5	6,73±0,8	7,57±1,1
	Droit	3,72±0,8	3,58±0,8	3,37±0,4	3,71±0,9
	Gauche	3,75±0,9	3,48±0,7	3,36±0,5	3,86±0,4
Poids testiculaire relatif à 100g de poids vifs		0,23±0,05	0,22±0,04	0,21±0,04	0,23±0,04
Volume testiculaire (ml)		7,08±1,4	6,92±1,6	6,94±0,9	7,15±1,1

La pesée des testicules a montré que les valeurs moyennes des poids des testicules gauches et droits sont les mêmes pour les deux lignées (population locale et souche synthétique) et pour les deux lots. Il en est de même pour les valeurs moyennes des poids totales absolus des testicules et le poids relatif des organes (poids de l'organe x 100/poids de l'animal) qui renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à l'organisme en entier. Après l'exhaustion sexuelle des lapins, le volume des testicules de ces derniers est le même chez la population locale et la souche synthétique des deux lots.

5.2.3.14. Histologie du testicule

❖ Histologie du testicule témoin

L'observation des coupes histologiques des testicules des lapins témoins au faible (Gr X 100) et au fort grossissement (Gr X 400) révèle la présence d'une architecture normale où tous les stages de maturation sont présents. On note les spermatozoïdes matures dans la lumière des tubes séminifères (H&E, 400x) (Figure 5.26).

Les résultats histologiques dans le groupe témoin ont décrit une cytoarchitecture normale des testicules chez les lapins montrant une forme et une disposition normale des tubes séminifères avec une membrane basale intacte et une prolifération progressive des cellules de la spermatogène pour produire des spermatozoïdes mûrs. Le tissu interstitiel était intact avec les cellules de Leydig (Figure 5.27).

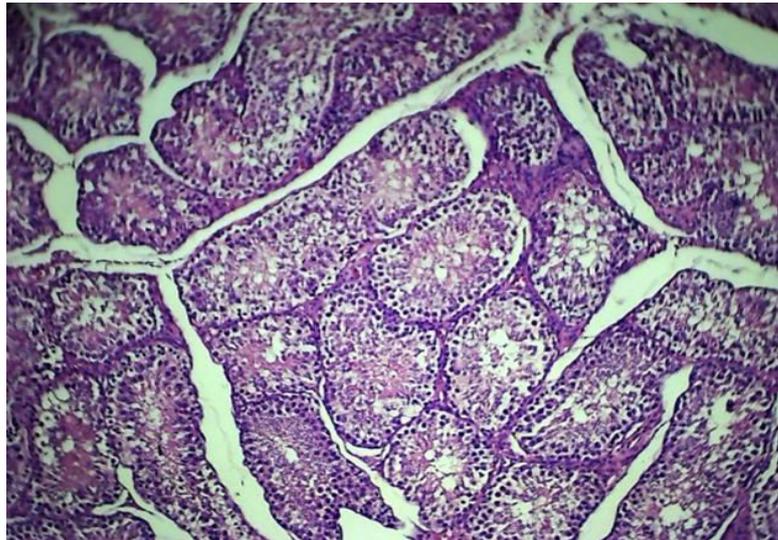


Figure 5.26 : Coupe histologique de testicule des lapins montrant l'architecture normale des tubes séminifères chez le lot témoin. Tubes Séminifères, CL : Cellules de Leydig, Lm : Lumière du tube séminifère. Gr x (100) Coloration (H&E).

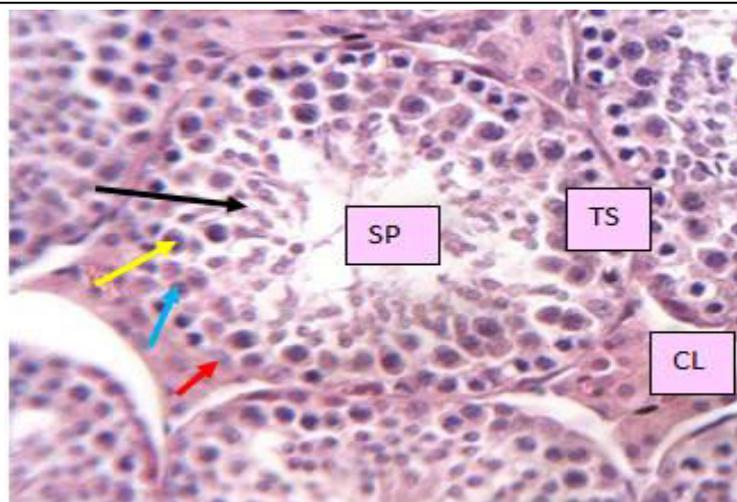


Figure 5.27 : Coupe histologique montrant une section du tube séminifère des testicules des lapins lot témoin: les spermatogonies (flèche rouge), Sc I :les spermatocytes I (flèche bleu), Sc II : spermatocytes II (flèche jaune), Sd :les spermatides (flèche noire), Sp : les spermatozoïdes, EP : Epithélium Séminifère. (Gr : X400) coloration (H&E).

Les coupes de testicules des lapins mâles de population locale et de souche synthétique à la fin de l'exhaustion montrent une dégénérescence étendue des tubes séminifères avec une altération multicentrique au sein du parenchyme testiculaire. Une spermatogenèse altérée en raison de la dégénérescence des cellules spermatogénèse, de la nécrose des cellules de Leydig dans l'interstitium. Un petit nombre de spermatozoïdes ont été observés. D'autres tubes ont montré une absence totale de spermatozoïdes dans la lumière.

Certains tubes montrent une lumière large contenant des débris cellulaires (Figure 5.28). Aussi nous notons l'apparition de certains tubules rétrécis, séparés les uns des autres par espace interstitiel élargi et avait des formes différentes aux contours irréguliers (Figure 5.29) et une prolifération du tissu interstitiel (Figure 5.30). Ainsi qu'une congestion vasculaire à la périphérie et entre les tubes séminifères ont été fréquemment observées (Figure 5.31). Plusieurs vacuoles ont été observées dans la lumière des tubes (Figure 5.32). Un détachement des spermatides et une augmentation remarquable des cellules de Leydig en comparaison avec le testicule témoin (Figure 5.33). Accumulation des spermatocytes desquamés ensemble dans la lumière sont observés sur la figure 5.34. Divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère (vacuolisation, l'épuisement des cellules germinales). Une distension des tubules séminifères (taille inégale). Néanmoins, certaines lumières comprennent des spermatozoïdes et les cellules de Sertoli sont coiffées de touffes de spermatides tardives attachées par leur tête dans la lumière. Chez certains lapins nous avons noté que les caractéristiques histologiques étaient presque similaires à ceux du groupe témoins normal. Les coupes testiculaires ont montré des tubes séminifères avec une couche de population de cellules germinale normale et ordonnée jusqu'aux spermatides matures et des cellules de Sertoli (Figure 5.35).

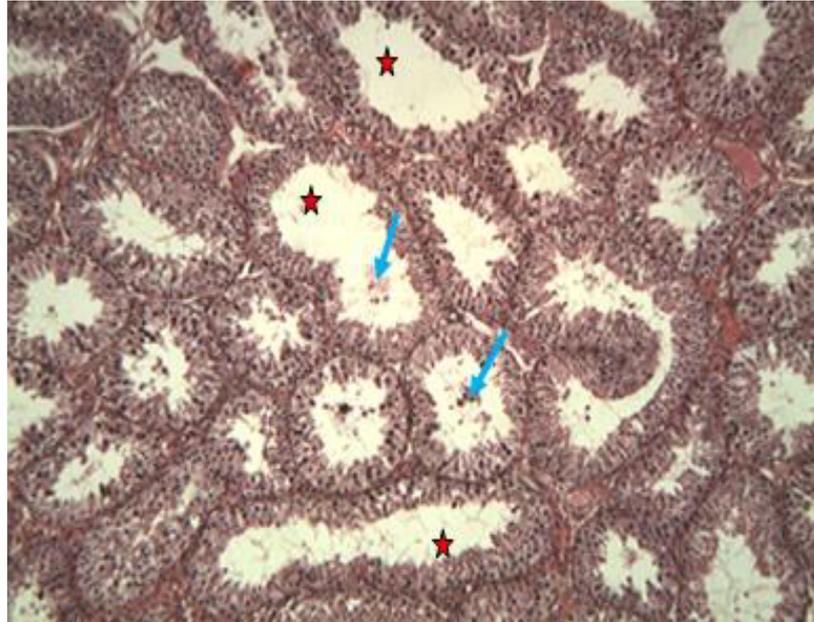


Figure 5. 28: Coupe histologique de testicule des lapins à la fin de l'exhaustion montrant une architecture désorganisée et une distension des tubules séminifères (taille inégale) asterix et plus de lumière on note la présence de débris cellulaire (flèche) dans la lumière. (G : X100) Coloration (H &E).

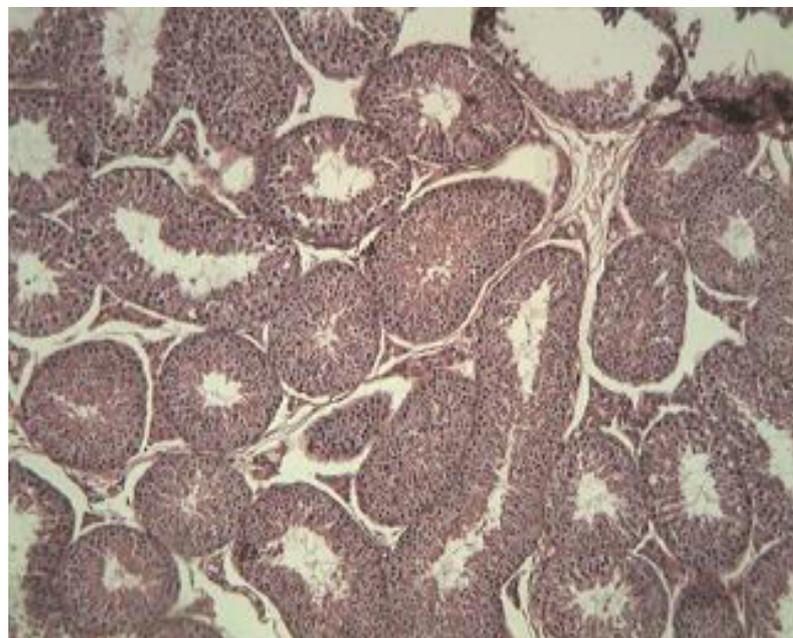


Figure 5. 29: Coupe histologique de testicule des lapins à la fin de l'exhaustion montrant des tubules rétrécis, séparés les uns des autres par un espace interstitiel élargi et avec des formes différentes (G : X 100) Coloration (H&E).

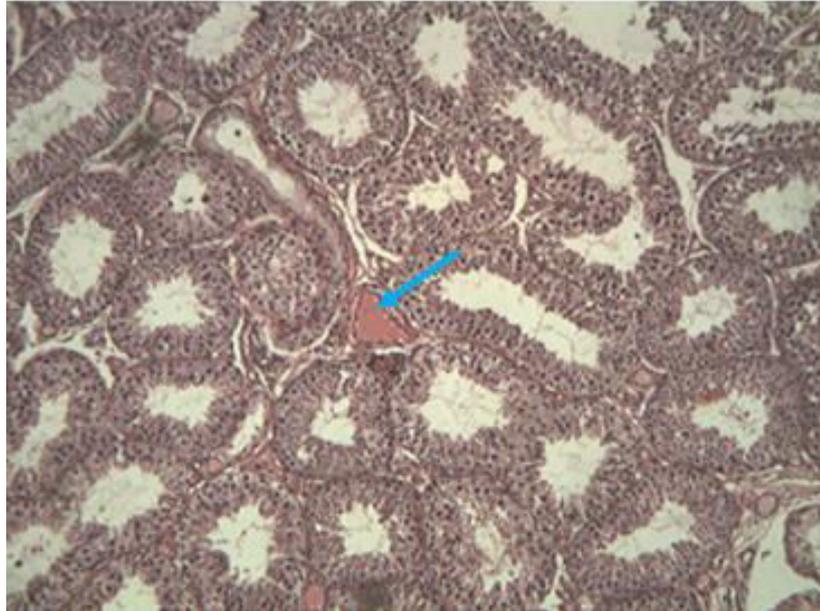


Figure 5.30 : Coupe histologique de testicule des lapins à la fin de l'exhaustion montrant une prolifération du tissu interstitiel (TI) flèche, entre les tubes séminifères. (G :X 100) Coloration (H&E).



Figure 5.31 : Histologie du testicule des lapins après exhaustion montrant une congestion vasculaire (flèche) à la périphérie et entre les tubes séminifères des tubes séminifères : Gx (400). Coloration (H&E).

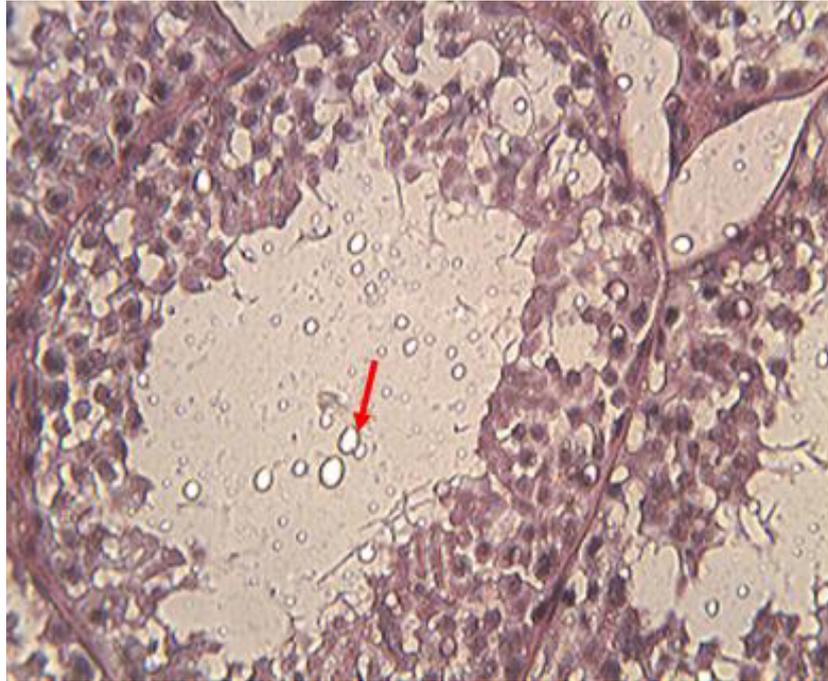


Figure 5.32 : Coupe de testicule de lapin après exhaustion. Présence de vacuoles (flèche) dans la lumière du tube séminifère. GX400. Coloration (H & E).

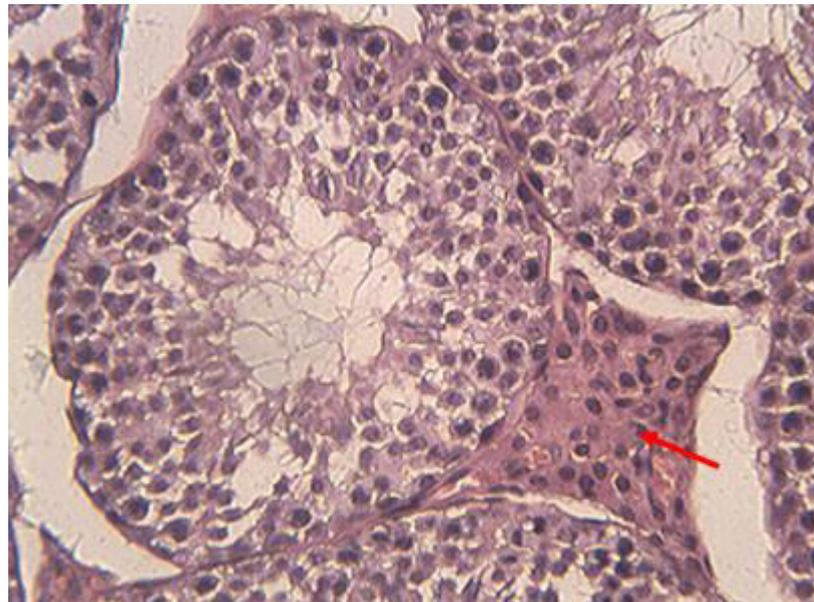


Figure 5.33 : Coupe de testicule de lapin souche synthétique avec une augmentation de la cellularité des cellules de Leydig entre les tubes séminifères (flèche). G X400 coloration (H&E).

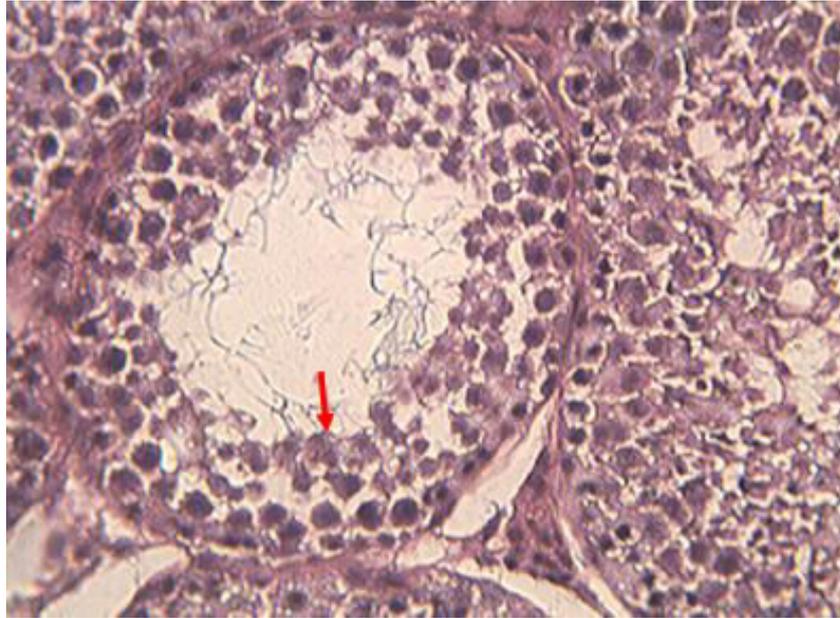


Figure 5.34 : Coupe de testicule de lapin après exhaustion montrant les spermatocytes desquamés (flèche) dans la lumière du tube séminifères. GX400 coloration (H&E).

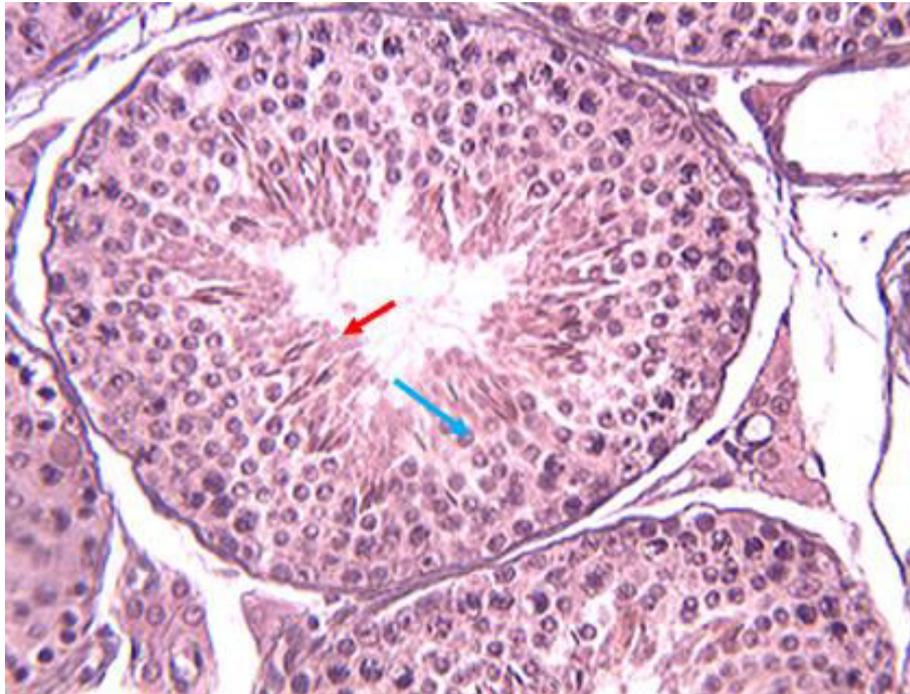


Figure 5.35 : Coupe de testicule de lapin après exhaustion montrant des spermatozoïdes (flèche rouge) et les cellules de Sertoli sont coiffées de touffes de spermatides tardives attachées par leur tête dans la lumière (flèche bleu).GX400 Coloration (H&E).

5.2.4. DISCUSSION

Les résultats présentés montrent le fonctionnement de mécanismes de régulation intrinsèques dans l'expression du comportement sexuel des lapins mâles. La plupart des mâles se sont engagés dans une activité sexuelle juste après l'introduction d'une 2^{ème} femelle, ce qui correspond à "l'effet Coolidge" décrit chez les rats [300, 301]. Une grande variabilité interindividuelle a été observée dans le comportement sexuel des lapins mâles et cela concernent aussi le nombre de jours nécessaires pour atteindre l'épuisement sexuel (exhaustion). Les lapins ont pu présenter plusieurs chevauchements et éjaculations lors d'un test avant d'être sexuellement rassasiés, et lorsqu'ils ont été testés le jour suivant, tous se sont engagés dans une activité sexuelle présentant plusieurs éjaculations avant d'être sexuellement épuisé. Des études sur le comportement sexuel des rats ont montré que 24 à 48 heures après l'exhaustion, seul 29 à 30 % des mâles peuvent réaliser une éjaculation [93], et la récupération complète de l'activité sexuelle se produit 15-21 jours plus tard [96, 302, 303]. Les cobayes mâles sont quelque peu différents car, une fois qu'un mâle a éjaculé, il ne recommence généralement pas la copulation dans l'heure qui suit [304] mais, comme chez les rats ou les lapins, les cobayes mâles peuvent s'engager dans une 2^{ème} copulation si une nouvelle femelle se présente [305, 306]. Dans notre partie expérimentale le véritable épuisement sexuel (exhaustion) ne s'est produit qu'après 1 à 10 jours de copulation avec de nombreuses femelles pour les mâles exposés aux femelles réceptives (population locale : 2-10 j et souche synthétique : 1 à 5 j) ; et après 3 à 35 jours de copulation avec des femelles ovariectomisées auxquelles nous avons injecté par voie sous-cutanée du benzoate d'œstradiol afin d'induire les chaleurs (population locale : 7 à 35 j et souche synthétique : 3 à 29 j). Nous avons constaté que chez les lapins exposés aux femelles, induites en chaleur avec les œstrogènes les rendant très réceptives, présentent une exhaustion plus prolongée par rapport aux mâles qui ont été exposé aux femelles naturellement réceptives, car ces dernières n'étaient pas totalement en position de lordose le long de la durée du contact avec le mâle, ce qui permet au mâle de fournir plus d'effort pour saillir les femelles et donc il s'épuise plus rapidement qu'avec des femelles complètement soumises. Jimenez et *al.* [87] et Jimenez et *al.* [307], ont rapporté dans une étude similaire chez des jeunes lapins exposés aux femelles de race

blanches de Nouvelle-Zélande ovariectomisées, subissant un traitement à base d'œstrogène, que l'exhaustion a été atteinte qu'après 2 à 15 jours de copulation. Alors que les lapins âgés ont été véritablement épuisés sexuellement qu'après 5 à 15 jours d'activité quotidienne. De plus, aucun changement majeur dans l'activité générale des animaux n'a été noté à la suite des tests d'épuisement sexuel, un résultat qui soutient l'idée que la diminution de l'éjaculation et de l'activité sexuelle sont dues à l'activation de mécanismes inhibiteurs spécifiques, plutôt qu'à une fatigue physique générale. Le même constat a été rapporté par Jimenez et *al.* [87].

Bien que nous ne sachions rien des mécanismes neurohormonaux qui régulent l'épuisement sexuel, certaines études ont montré qu'il existe un grand nombre d'études sur l'épuisement sexuel et sa régulation, réalisées principalement chez le rat [308]. Ces études ont fourni des preuves de la participation de plusieurs systèmes de neurotransmetteurs (c'est-à-dire la sérotonine, la noradrénaline, les opiacés, le GABA) dans la régulation de la satiété sexuelle [309, 310, 311, 312]. En revanche, chez le lapin, une seule étude est rapportée à cet égard [91], où l'administration de naloxone a augmenté le comportement sexuel chez des jeunes mâles et des mâles adultes sexuellement rassasiés.

Des études similaires doivent être réalisées chez le lapin pour déterminer si les mêmes systèmes de neurotransmetteurs fonctionnent chez tous les mammifères pour réguler l'expression de l'épuisement sexuel. Comme chez le rat, le déclin de l'activité sexuelle des souris est corrélé à de faibles niveaux de testostérone et il est restauré par l'administration de polypeptides qui augmentent la synthèse des androgènes [313].

5.2.4.1. Relation entre la DAG et le comportement sexuel et le taux de la testostérone chez le lapin

Chez le mâle, parmi les facteurs affectant les performances de reproduction, nous pouvons citer : la distance ano-génitale (DAG), et le marquage mentonnier. Cette dernière a fait l'objet de plusieurs synthèses bibliographiques [314]. De plus, Il existe une relation entre le marquage mentonnier et notamment la distance ano-génitale (DAG) du mâle. Cependant, il est à signaler que la majorité des travaux de recherche sur la DAG ont été réalisés sur les souris [315, 316, 317] les rats

[76] et chez l'homme [318]. Chez le lapin, la plupart des travaux sur la DAG et le marquage mentonnier ont été réalisées sur des femelles, démontrés récemment par Eisenberg et *al.* [319], chez la lapine locale [320]. Chez les mâles et les femelles, une DAG plus longue est corrélée avec une physiologie, une morphologie et un comportement masculinisé, tandis qu'une DAG plus courte est associée à un phénotype féminin [321]. De plus, Hsieh et *al.* [322], ont montré que les enfants présentant des anomalies génitales plus sévères (c'est-à-dire hypospadias et cryptorchidie) avaient des longueurs ano-génitales significativement plus courtes par rapport aux enfants sans anomalies génitales.

A notre connaissance jusqu'à ce jour, peu de résultats ont concerné des travaux sur le lapin mâle traitant la relation entre les mensurations de la DAG et le comportement sexuel des lapins de la population locale et de la souche synthétique dans une étude de suivi. Cette partie expérimentale a inclu un total de 40 lapins mâle, répartie dans deux lots. Dans le premier nous avons introduis des femelles ovariectomisées induite en chaleur avec les œstrogènes et dans le second, des lapines naturellement réceptives ont été utilisées.

Relation entre la DAG et la lignée sur le poids corporel....

...présence de relation entre la DAG et le poids corporel pour les mâles du 2^{ème} lot.

Chez plusieurs espèces de mammifères comme le lapin, sous les conditions naturelles, Archer [323] et VonHolst et *al.* [324], ont montré que le poids corporel est corrélé avec la dominance sociale. Nos résultats ont montré que la relation de la DAG n'a été remarquée que sur le poids corporel des lapins exposés aux femelles naturellement réceptives où nous avons constaté que les lapins avec une DAG grande ont un poids plus élevé par rapport à ceux ayant une DAG petite.

Chez les souris et les rats, VomSaal et Dhar [78], rapportent que certaines des variabilités présentes dans la DAG peuvent s'expliquer par le poids corporel de l'animal mesuré. Les animaux lourds ont tendance à avoir une DAG plus longue que les animaux plus légers. En revanche, un certain nombre d'études, ont trouvé que les variations de poids corporel ne comptent pas pour une proportion significative dans la variabilité des mesures de la DAG (Entre les animaux, les communications par les substances chimiques sont aidées par la présence de

plusieurs glandes (glandes anales, inguinales et mandibulaires ou mentonnières) [325].

Relation entre la DAG et la lignée sur le marquage mentonnier....

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur le marquage mentonnier.

Chez les lapins mâles le marquage mentonnier est à la fois une forme de marquage de territoire et un attachement de comportement sexuel [326]. Conformément aux observations rapportées par Verberne et Blom [327] et Martínez-Gómez et al. [328], tous les animaux commencent généralement à marquer dès qu'ils ont été placés dans l'arène pendant un test de 10 minutes. Les mêmes observations ont été décrites par González-Mariscal et al. [329] qui ont signalé que le marquage mentonnier est étroitement lié à la volonté des mâles de copuler. Nos lapins ont été tous motivés pour s'engager dans une activité sexuelle au début des tests, même s'ils ne sont pas en mesure d'atteindre l'éjaculation.

Notre étude a permis de montrer que la DA n'a aucune relation avec le marquage mentonnier ($p > 0,05$) pour les deux lots. Cependant, nous avons remarqué qu'il ya un effet significatif de la lignée des lapins sur le marquage mentonnier ($p < 0,05$). Les lapins de la population locale marquent plus leur territoire par les glandes mentonnières que les lapins de souches synthétiques. Nos résultats ne sont pas en accord avec les constatations rapportées par Boumahdi et al. [330], ayant travaillé sur le lapin de souche synthétique, qui ont montré que les lapins mâles de souche synthétique avec une grande DAG marquent davantage leur territoire par rapport aux mâles avec une petite DAG, ainsi qu'avec celle rapportées sur les femelles par Arteaga et al. [52] et Hudson et al. [331], qui ont montré que les lapines ayant une DAG grande marquent plus leur territoire que les femelles avec une petite DAG. Cela peut être du à une variabilité individuelle.

Par ailleurs, l'augmentation du nombre de marquage mentonnier coïncide avec une brusque augmentation du taux plasmatique de testostérone [52, 326, 332]. Il a été constaté que la castration réduit le comportement sexuel et le marquage mentonnier tandis que l'administration d'androgène (testostérone) les restaure. [326, 333, 334].

González-Mariscal et *al.* [326], ont montré que plus la longueur de la distance ano-génitale est réduite, les rongeurs exposés à certains phtalates, qui sont connus pour supprimer les niveaux d'androgènes fœtaux, présentaient une altération de la taille des testicules et de la fonction des cellules de Sertoli.

Les souris mâles avec des DAG plus courtes sont souvent moins compétitives dans le comportement sexuel que les mâles avec des DAG plus longues, en particulier dans le marquage du territoire [335].

Dans l'ensemble, les présents résultats sont cohérents avec les rapports selon lesquels, chez les lapins mâles, le marquage mentonnier est associé à la territorialité et à la dominance sociale [336] et étroitement lié à la volonté du mâle à copuler [329].

Relation entre la DAG et la lignée sur le chevauchement....

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur le chevauchement

Nos résultats indiquent qu'il n'existe pas une différence significative dans les variations du chevauchement des mâles en fonction de leurs DAG ($p > 0,05$) pour la population locale et la souche synthétique dans les deux lots de lapins. Nos résultats ne sont pas similaires à ceux rapportés par Boumahdi et *al.* [330], qui ont constaté que les lapins mâles de souche synthétiques avec un grande DAG ont une plus grande tendance à chevaucher les femelles, contrairement aux mâles avec une petite DAG. Cette différence de comportement peut être reliée à une variation individuelle. D'autres mammifères montrent des changements profonds dans le comportement sexuel pendant la vieillesse où les jeunes rats montrent une série de montées, avec ou sans intromission, qui culmine avec l'éjaculation. Cependant les vieux rats montrent des latences plus longues pour s'engager dans l'activité sexuelle (presque le double par rapport aux jeunes animaux) et moins de montages et d'intromissions précèdent l'éjaculation [93].

Relation entre la DAG et la lignée sur la saillie....

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur la saillie

Nous avons constaté que la DAG et la lignée n'ont aucune influence sur le nombre de saillie chez tous les lapins utilisés dans cette partie expérimentale. Contrairement aux résultats rapportés par Boumahdi et *al.* [330], qui ont constaté que les mâles synthétiques avec une grande DAG ont une plus forte tendance à saillir les femelles contrairement aux mâles avec une petite DAG qui ont une faible activité sexuelle. La même étude a indiqué que le niveau de testostérone plasmatique a un effet très important lors de la saillie des mâles. Les mâles ayant effectué un grand nombre d'éjaculations avaient un niveau plasmatique de testostérone très élevé, par rapport aux mâles qui étaient moins actifs. Chez les vieux rats, seuls 36 % des montages sont suivis d'intromissions [337]. Dans l'étude de Jimenez et *al.* [307], alors que certains mâles présentaient un comportement en tous points similaire à celui des jeunes mâles, d'autres présentaient une perte spécifique dans le nombre de montages, d'intromissions ou d'éjaculations effectuées lors du test. D'autres individus âgés ont affiché la séquence copulatoire complète, mais avec une fréquence moindre que les jeunes animaux [338].

Relation entre la DAG et la lignée sur le marquage des femelles

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur le marquage des femelles

La marque mentonnière est parfois réalisée par le lapin sur d'autres animaux. Mykytowycz [333], a enregistré que le lapin mâle marque une femelle et, moins fréquemment, la femelle marque le mâle et aussi les jeunes. Mykytowycz [333], suggère que ce comportement sert à identifier les individus par une odeur de groupe. A notre connaissance, il n'existe aucune étude sur le marquage des femelles par les mâles chez le lapin. La description de ce type de comportement nous a permis d'avoir une idée sur le comportement affiliatif des lapins vis-à-vis des femelles au cours de la reproduction [48]. De plus, nous avons déterminé si l'accouplement jusqu'à la satiété réduisait la fréquence de la copulation chaque jour de test. Nos résultats ont montré que la DAG n'a pas d'effet significatif sur le

marquage des femelles par les mâles ($p > 0,05$). Cependant les mâles de la population locale du premier lot marquent les femelles plus que les lapins de la souche synthétique.

Relation entre la DAG et la lignée sur l'urination des mâles

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur l'urination des mâles

La fonction de l'urine dans le marquage olfactif chez le lapin n'a pas été étudiée en détail auparavant, bien que plusieurs auteurs aient mentionné l'énurination de la femelle par le mâle dans le comportement sexuel. Mykytowycz [339], a indiqué que l'urine est un moyen utilisé par les animaux pour marquer le territoire. L'aspersion d'un congénère avec de l'urine (énurination) semble être assez courante chez les rongeurs et les lagomorphes, il s'agit d'une forme de réassurance [340]. La fréquence de la miction en général et la pulvérisation d'urine dans l'arène d'observation dépendent de certains facteurs tels que le stress qui est exclus de nos conditions.

Les lapins ont commencé à uriner quelques minutes après leur entrée dans l'arène. Nous avons remarqué qu'il n'y a aucune relation significative entre la DAG, la lignée et l'urination pour tous les lapins des deux lots ($p > 0,05$). Tous les mâles avaient une tendance à uriner autant de fois chez les lapins de population locale et de souche synthétique. Les résultats de Boumahdi et *al.* [330], ont rapporté que les mictions pendant les périodes d'observation étaient assez élevées chez les lapins ayant une DAG petite par rapport aux lapins avec une DAG grande.

Relation entre la DAG et la lignée sur l'agressivité....

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur l'agressivité

L'agressivité est un phénomène du le plus fréquemment à un trouble du comportement ou bien à un instinct de territorialité. Tous les lapins mâles utilisés dans cette étude avec les femelles ovarioctomisées n'ont présenté aucune agressivité vis-à-vis des femelles. Alors que les lapins utilisés avec les lapines

réceptives sont peu agressifs. Cette dernière n'est pas en relation avec la DAG et la lignée ($p > 0,05$). Néanmoins, certains auteurs, rapportent que les lapines avec une DAG grande sont plus agressives et moins attractives aux mâles que les femelles avec une DAG petite [341]. Arteaga et *al.* [52], ont apporté que la castration réduit l'agressivité chez les mâles. Alors que l'administration de la testostérone restaure le comportement sexuel et l'agressivité [326].

Relation entre la DAG et la lignée sur le clapotement...

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur le clapotement

Lors du clapotement, le lapin frappe le sol d'un coup sec avec un membre postérieur. Ce comportement est interprété comme un cri d'alerte pour ses semblables en cas de danger [32].

Aucun effet significatif n'a été constaté entre la DAG de tous les lapins utilisés et le clapotement ($p > 0,05$). Ainsi, Tous les mâles des deux lignées clapotent autant de fois chez les lapins de la population locale que chez la souche synthétiques dans les deux lots. Cependant, à notre connaissance aucune étude n'a évalué l'effet de la DAG sur le clapotement des mâles.

Relation entre la DAG et la lignée sur le taux de la testostérone....

... absence de relation entre la DAG et la lignée sur la testostérone

Eisenberg et *al.* [18], ont été les premiers à signaler une association entre la longueur du périnée et les niveaux d'androgènes chez les hommes. Ils pensent que la DAG peut prédire le développement normal des organes génitaux chez l'homme et, par conséquent, pourrait fournir une nouvelle mesure pour évaluer la fonction testiculaire.

Dans cette partie expérimentale, il a été constaté que la DAG des lapins exposés aux femelles naturellement réceptives a un effet significatif sur le taux de la testostéronémie ($p < 0,01$). Nos résultats ne sont pas cohérents avec ceux rapportés par Boumahdi et *al.* [330], qui ont montré l'établissement d'une éventuelle corrélation positive entre la DAG et la testostérone et qui ont rapportés

que les lapins mâles de souche synthétique avec une DAG plus large ont un taux de testostérone plus élevé par rapport aux mâles avec une DAG petite qui ont présenté un taux de testostérone bas. Il en est de même pour les résultats rapportés par Clemens [342]; Richmond et Sachs [343], Houtsmuller et al. [344], qui ont montré que la testostérone a un effet dépendant de la dose sur la distance ano-génitale chez des souris femelles soumises à des niveaux élevés de testostérone, ont une DAG plus masculine. Nerli et al. 2018, ont clairement montré une association entre la DAG et les niveaux de testostérone du sérum chez l'humain. Foster et al. [346], ont signalé que l'exposition de rats en développement au phtalate de di-n-butyle (DBP), qui est un antiandrogène, a entraîné des anomalies de l'appareil reproducteur, une réduction de la distance ano-génitale et une altération de la production de testostérone. En outre, Swan et al. [347], ont démontré que les nourrissons mâles de mères exposées à des niveaux croissants de perturbateurs endocriniens connus présentaient des longueurs ano-génitales plus courtes, ce qui suggère une altération du développement génital masculin in utero. Il a été également constaté que chez les rongeurs exposés in utero à des agents qui interfèrent avec l'action des androgènes avaient présenté des troubles du développement génital, impliquant, chez l'adulte, des taux de testostérone plus faibles et une DAG plus courte [348].

5.2.3.2. Evolution du taux de la testostérone chez les lapins des deux lots avant et après exhaustion

Après une baisse du taux de la testostérone, à la fin du premier jour et chez tous les lapins utilisés dans cette partie expérimentale, une hausse du taux de la testostérone a été remarquée le jour de l'exhaustion.

Lorsque le lapin est épuisé il y a une décharge bien sûr de catécholamines (adrénaline et noradrénaline) et de cortisol, de plus il y a un effort musculaire.

Alors que le cortisol augmente pendant l'exercice, la plupart des changements et peut-être des effets de cette hormone se produisent après l'exercice au début de la récupération [349 ; 350, 351]. La libération de cortisol affecte le métabolisme en essayant d'aider à maintenir la glycémie pendant l'exercice physique ; il le fait en partie en agissant sur le muscle squelettique et le tissu adipeux pour augmenter la mobilisation des acides aminés et des lipides (352, 353]. Le cortisol aide

également ce processus en stimulant le foie à produire des enzymes impliquées dans les voies gluconéogéniques et glycogénétiques permettant la conversion des acides aminés et du glycérol en glucose et glycogène [352, 353]. La testostérone est considérée comme une hormone anabolique clé avec de multiples fonctions physiologiques dans le corps. La testostérone est principalement produite et sécrétée par les cellules de Leydig des testicules. En ce qui concerne l'exercice, la testostérone est particulièrement importante dans la croissance et le maintien des muscles squelettiques, des os et des globules rouges [354]. Un peu semblable au cortisol, la testostérone augmente linéairement en réponse à l'exercice une fois qu'un seuil d'intensité spécifique est atteint, les concentrations maximales se produisant généralement à la fin de l'exercice [355]. Ça devrait être noté; cependant, même un exercice de faible intensité s'il est suffisamment prolongé peut entraîner des élévations significatives de la testostérone [356]; il en est de même pour le cortisol [357].

Les valeurs moyennes de testostérone diminuent avec des concentrations très élevées de cortisol. Avec les répétitions des tentatives des stimulations s'ensuit une période d'adaptations qui favorisera la néoglucogénèse et nous parlons dans ce cas de SGA ou syndrome général d'adaptation à l'origine des élévations enregistrées au niveau des valeurs de testostérones sûrement.

5.2.3.3. Effet de la lignée sur le volume et le poids absolu et relatif des testicules

Les variables macroscopiques des testicules comme le poids et le volume ont été considérées comme des biomarqueurs de la maturité sexuelle chez divers mammifères [358, 359]. Cependant, il existe peu de travaux sur la mise en évidence de ces variables macroscopiques des testicules. Chez le lapin mâle, Tous les testicules obtenus après abatage des lapins à la fin de l'exhaustion n'ont présenté aucun effet significatif de la lignée par rapport au volume et le poids absolu et relatif des testicules. Les augmentations de volumes testiculaires. Les différences de volumes testiculaires entre les lignées indiquent la possibilité d'une production de semence plus importante [360]. Comme cela a été décrit chez les bovins [361]. Il a été également constaté des différences de tailles des testicules ont été observées chez le verrat [362] et le taureau [363]. Selon Gray et *al.* [364],

un raccourcissement de la DAG chez le rat est associé à diverses anomalies de l'appareil reproducteur, notamment une diminution du volume des testicules.

5.2.3.4. Histologie des testicules

Nos résultats d'observation de la présente étude ont montré que l'exhaustion sexuelle a provoqué progressivement, des lésions tubulaires et interstitielles testiculaires avec arrêt de la spermatogénèse. Cette altération nucléaire a été associée avec dégénérescence des cellules tubulaires testiculaires, nécrose tubulaire et desquamation de l'épithélium germinal. Ces altérations pourraient indiquer des conséquences possibles sur les jonctions intercellulaires entre les couches des cellules de la lignée spermatogénétique. Le détachement des cellules germinales des cellules de Sertoli et étant desquamées dans la lumière des tubules séminifères comme vu dans le présent travail pourrait être le résultat de la perte de l'adhésion entre les cellules spermatogénèse empêchant leur maturation. Le cytosquelette des spermatocytes/cellules de Sertoli est testostérone dépendant où la jonction entre spermatogénèse les cellules sont dispersées en l'absence de testostérone [365]. Les résultats de la présente étude peuvent indiquer que l'exhaustion altère la différenciation des spermatocytes en raison d'une lésion cellulaire ou d'une suppression de la testostérone qui joue un rôle important dans la régulation de la différenciation des spermatogonies. Un faible taux de testostérone pourrait être dû aux cellules de Leydig endommagées [366].

5.3. EXPERIENCE 2 : ETUDE COMPARATIVE DES CARACTERISTIQUES DE LA SEMENCE ET DU TAUX DE TESTOSTERONE CHEZ LE LAPIN MALE DE LA POPULATION LOCALE ET DE LA SOUCHE SYNTHETIQUE

5.3.1. Objectif

L'objectif de notre travail est basé sur l'étude comparative des caractéristiques de la semence, le taux de testostérone plasmatique et l'effet de la DAG sur ces deux paramètres du lapin male de population locale et de la souche synthétique.

5.3.2. Matériel et Méthodes

5.3.2.1. Lieu et durée de l'expérimentation

L'expérimentation s'est déroulée au sein du clapier de la station expérimentale de l'Université de Blida 1, ainsi qu'au niveau du laboratoire de recherche lié à la reproduction animale (LBRA) de l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1. Notre expérimentation s'est étalée dans la période de la première semaine de juin à la dernière semaine du mois de juillet 2017.

5.3.2.2. Matériel

5.3.2.2.1. Matériel biologique

Les lapins utilisés dans cette expérimentation sont issus de deux populations différentes :

- La population locale :

Les lapins utilisés dans cette étude appartiennent à la population locale algérienne de robes variées. Ils sont au nombre de 12, âgés en moyenne de 10 mois et ayant un poids moyen d'environ $3,075 \pm 0,35$ Kg.

- La souche synthétique :

Les Lapins de souche synthétique (n=12) utilisés sont âgés en moyenne de 10 mois et ayant un poids moyen d'environ $3,119 \pm 0,32$ Kg.

Au cours de l'expérimentation, six lapines « boute-en-train » sont utilisées pour la récolte de la semence (population locale : n = 3 et souche synthétique : n = 3). Les lapins sont placés dans des cages métalliques, ils sont abreuvés et nourris ad libitum avec un aliment standard et équilibré à base d'aliment granulé spécial lapin.

5.3.2.2.2. Matériel de laboratoire et Instruments

Le matériel de collecte et de laboratoire est présenté dans l'APPENDICE A.

5.3.2.3. Méthode

5.3.2.3.2. Protocol de la collecte

Deux éjaculats par mâle ont été collecté chaque semaine au moyen d'un vagin artificiel, avec un intervalle de 15 à 30 mn entre les éjaculats successifs, selon Mocé et *al.* [266], pendant neuf semaines. La moyenne des deux éjaculats est prise en considération dans l'interprétation des résultats. Les prélèvements sont effectués par le même opérateur pour éliminer l'effet du préleveur [189].

5.3.2.3.3. Paramètre d'ambiance

Au cours de cette étude, la température et l'hygrométrie ont été mesurées quotidiennement à l'aide de thermo-hygromètres digitaux placés dans chaque salle (Figure 5.36). L'indice reliant la température à l'hygrométrie (THI : Température humidity index) a été estimé à partir de l'équation mise au point pour les lapins [258] :

$$THI = db^{\circ}C - [(0,31 - 0,31(RH / 100))(db^{\circ}C - 14,4)]$$

db°C : la température ambiante en °C.

RH : l'hygrométrie en %.

Ce paramètre a été modifié par Marai et *al.* [367], pour les petits animaux notamment les lapins.

Les valeurs obtenues sont classées comme suit :

- < 27,85 : absence de stress thermique,
- 27,8–28,95: stress thermique modéré,
- 28,9–30,05: stress thermique sévère,
- 30,0 et plus: stress thermique très sévère.



Figure 5.36 : Thermo-hygromètre digital.

5.3.2.3.4. Conduite expérimentale

Les différentes étapes de l'expérimentation sont regroupées selon l'organigramme (Figure 5.37).

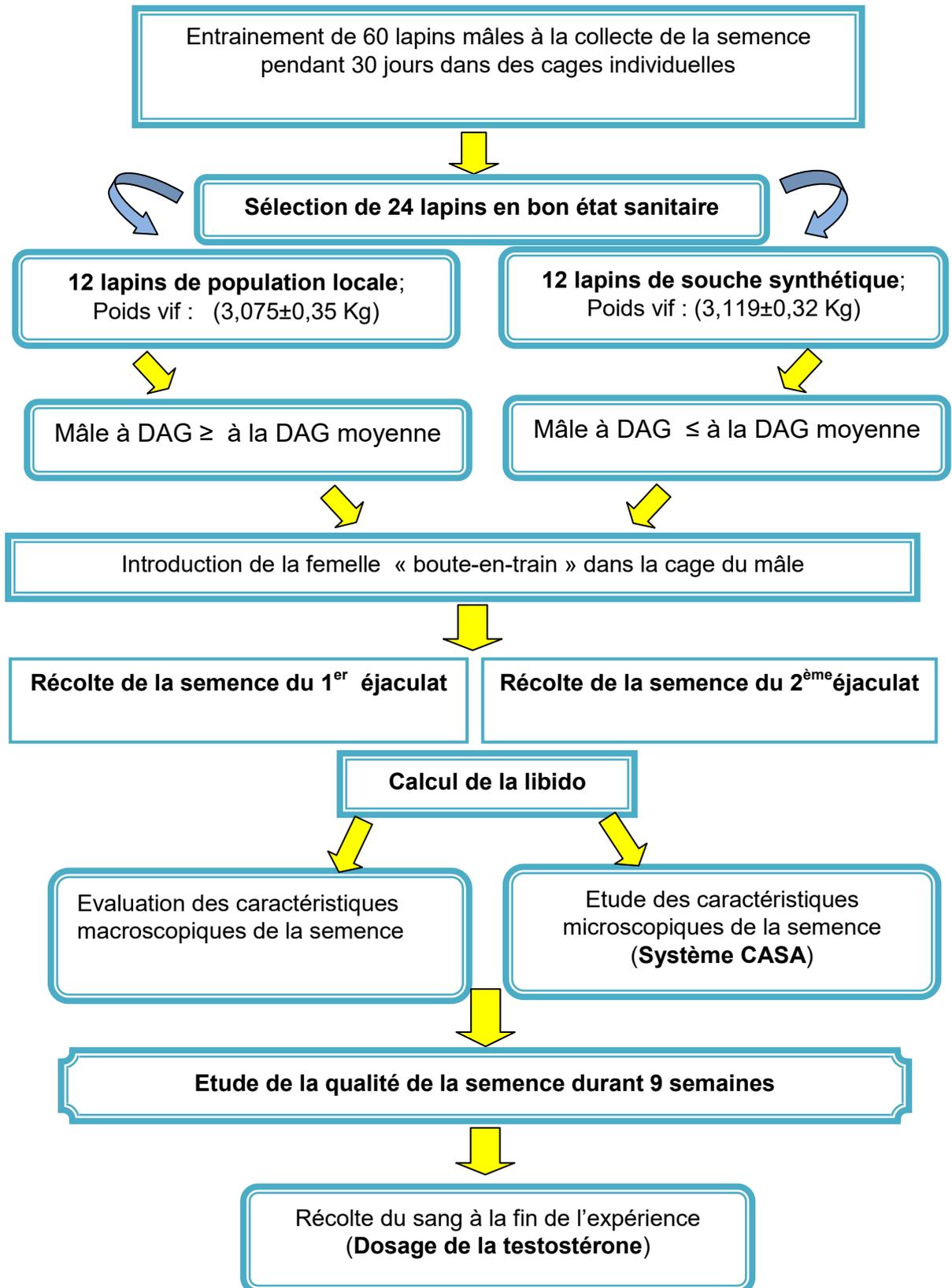


Figure 5.37: Organigramme expérimental 2

➤ Préparation des mâles à la récolte de la semence

A l'âge de 09 mois, les animaux ont débuté une phase d'entraînement au prélèvement au vagin artificiel durant quatre semaines à l'issue de laquelle 24 mâles (12 population locale et 12 souche synthétique) ont été sélectionnés sur leur aptitudes à donner de la semence, pour la phase expérimentale. Les mâles ont été par la suite transférés dans des cages plus spacieuses pour une nouvelle et bonne adaptation et afin de pouvoir introduire la femelle « Boute-en-train » et exécuter aisément la récolte de la semence.

➤ Préparation du matériel de récolte de la semence

La semence est collectée au moyen d'un vagin artificiel en silicone de structure élastique, ce dernier est bien nettoyé avec l'eau chaude javellisée puis rincés à l'eau courante et réchauffé avant chaque usage à l'aide d'un bain marie maintenu selon Arencibia et Rosario [368], à température entre 55 et 60°C grâce à une résistance (Figure 5.38 a et b), afin de reconstituer les conditions naturelles de température du vagin chez la lapine. Avant son utilisation le vagin artificiel est bien séché avec du papier essuies tout. Un tube de collecte gradué stérile est placé à l'extrémité du vagin artificiel pour pouvoir récolter la semence. Selon Morrel [273], le vagin artificiel n'est utilisé que lorsque sa température se situe entre 40° et 45° C.

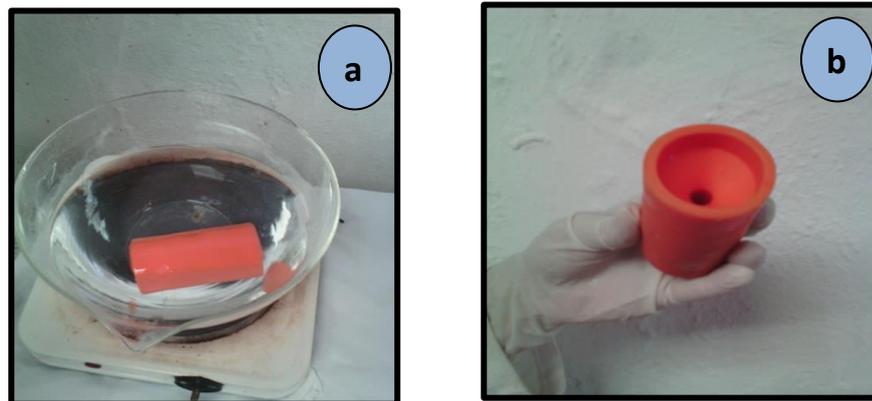


Figure 5.38: Préparation du matériel de récolte de la semence.

➤ Mesure de la DAG

La mesure de la DAG a été décrite précédemment dans l'expérience 1.

Technique de récolte de la semence

Au moment de la préparation du vagin artificiel, la femelle « boute-en-train » est laissée sur la cage des mâles pendant 5 à 10 mn pour les stimuler [230] (Figure 5.39).



Figure 5.39 : Lapine boute en train placée sur la cage du mâle.

Une fois que le vagin artificiel est prêt à être utilisé, la femelle «boute-en-train» est introduite dans la cage du mâle, lorsque le mâle exprime son comportement sexuel et tend à chevaucher la femelle, le corps de celle-ci est immobilisé rapidement avec la main gauche placée sur le dos, et la main droite tenant le vagin artificiel passe sous l'abdomen entre les deux membres postérieurs de la femelle, et oriente le vagin artificiel vers le pénis afin de faciliter l'intromission de ce dernier. Après l'éjaculation, le mâle tombe en arrière ou à côté en émettant parfois un cri caractéristique. Les mâles qui ne répondent pas aux sollicitations ne sont pas pris en considération dans l'effectif des prélèvements. Les éjaculats de faible volume (< 0,2 ml), de même que ceux contenant des urines, du sang ou des dépôts de carbonate de calcium sont écartés de l'analyse (Figure 5.40 a, b, c et d).



Figure 5.40 : Récolte de la semence (a, b, c et d).

➤ Calcul de la libido

Une semence de très bonne qualité n'est intéressante que dans la mesure où elle est accompagnée d'une bonne libido et d'une aptitude à chevaucher la femelle. Le comportement sexuel du lapin mâle est jugé en le mettant en présence d'une femelle en œstrus : un mâle avec une bonne libido manifeste immédiatement une attirance intense pour la femelle, caractérisée par de l'agitation, des vocalisations, une activité pré copulatrice intense avec flairage, léchage, mordillements de la lapine, et l'entrée en érection. L'aptitude d'un male d'avoir un comportement sexuel normal (érection, chevauchement, intromission, mouvements copulatoires et éjaculation) doit être déterminée lors de l'évaluation du statut reproducteur d'un lapin mâle. C'est l'intervalle de temps calculé entre l'introduction de la femelle dans la cage du mâle et la première éjaculation à l'aide d'un chronomètre [369].

Un mâle qui refuse le chevauchement après 10 min de contact avec une première femelle ainsi qu'une deuxième, est considéré comme un mâle qui répond négativement à cette sollicitation et ce dernier n'est pas pris en considération dans l'effectif de la période de prélèvement [189].

❖ Méthode d'analyse du sperme

➤ Examen macroscopique du sperme avant la dilution

Après la récolte du sperme et afin de le protéger de la lumière et de la diminution brutale de la température, le tube de collecte est maintenu dans le creux de la main fermée. La première étape d'analyse macroscopique se déroule au niveau du clapier et doit se faire immédiatement après la récolte du sperme.

L'évaluation macroscopique de la semence est effectuée comme suit:

- Volume

Le volume total de l'éjaculat recueilli est mesuré par lecture directe sur le tube gradué stérile à usage unique servant à la collecte. Si le sperme recueilli contient du gel, ce dernier est retiré, en le faisant glisser le long de la paroi du tube à l'aide d'une pipette pasteur ou une pince préalablement chauffée à la vapeur d'eau à 37°C et refroidi à la température corporelle afin d'éviter tout choc thermique pouvant altérer la semence. Nous avons procédé à un contrôle de volume de la semence avec le gel (Figure 5.41) et le volume sans gel (Figure 5.42).



Figure 5.41 : Volume du sperme avec gel.



Figure 5.42 : Volume du sperme sans gel.

- Couleur

La couleur est déterminée par observation directe à l'œil nue de l'éjaculat dans le tube de collecte stérile et transparent et usage unique. Le degré de la couleur (Figure 5.43) est noté selon les recommandations de Boussit [99].

- **BC** : Blanc crémeux
- **BN** : Blanc nacré
- **BJ** : Blanc jaunâtre
- **U** : Ejaculat contenant de l'urine
- **G** : Grisâtre
- **R** : Rosâtre ou Rougeâtre.



Figure 5.43 : Couleur du sperme.

- pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un papier pH (papier indicateur) et une pipette (Figure 5.44). Il permet de noter un ph entre 0 et 14, refléter par le changement de la couleur observée et enregistrée sur le papier.



Figure 5.44 : Mesure du pH.

➤ Examen Microscopique du sperme

Après la première étape d'analyse macroscopique, le tube contenant la semence est mis dans un thermos rempli d'eau maintenue à une température entre 36.5 et 37.5°C, puis transporté immédiatement au laboratoire de recherche (LBRA), ainsi pour être placé en position verticale dans un bain marie maintenu à 37°C (Figures 5.45). Sur place, la partie microscopique est réalisée dans un délai très court ne dépassant pas les 15 minutes. L'évaluation macroscopique de la semence est effectuée comme suit:



Figure 5.45 : Conservation des échantillons dans un bain marie.

- Concentration

La détermination de la concentration consiste à apprécier le nombre de spermatozoïdes par millilitre de semence pure par numération directe après avoir diluer et tuer les spermatozoïdes contenus dans un échantillon de semence. Cette mesure est réalisée en utilisant un hématimètre de type cellule de Thoma, présentant deux grilles, divisée chacune en 16 grands carreaux, eux même divisés en 16 petits carreaux d'une surface de $1/400 \text{ mm}^2$ ($1/20 \times 1/20 \text{ mm}$).

Pour l'estimation de concentration, plusieurs étapes sont à suivre :

- Préparation de la solution de fixation du sperme (Formol à 10%), qui consiste à mélanger 10 ml de formol 35% avec 1 L de solution NaCl 0,9%.
- Dilution de la semence à 1:200 : Prendre 10 microlitres de sperme à l'aide d'une micropipette auquel ajouter 990 microlitres de formol dilué à 10%, suivie par l'homogénéisation de la semence diluée à l'aide d'un agitateur type vortex.
- Préparer la cellule de Thomas en pressant la lamelle sur les côtés de la grille humidifiée (Pour adhérer la lamelle à l'hématimètre).
- Déposer une goutte de semence diluée sans bulles d'air avec une micropipette en bordure de lamelle pour la 1^{er} chambre, jusqu'au remplissage (la gouttelette par capillarité sera diffusée entre lame et lamelle). Refaire la même opération pour la 2^{ème} chambre. Laisser reposer

10 minutes pour que les spermatozoïdes se déposent sur le fond de la lame.

- L'observation se fait au microscope optique à contraste de phase (Grossissement x 400) (Figure 5.46).

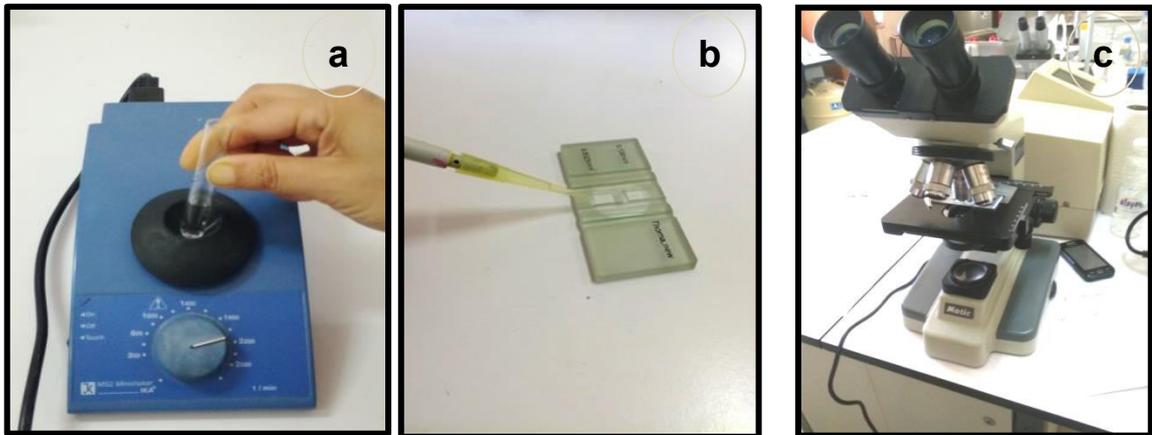


Figure 5.46 : Etapes démontrant le calcul de la concentration.

a : homogénéisation, b : préparation de la cellule de thoma, c : observation au microscope

- Prendre en considération les spermatozoïdes normaux ou malformés ainsi que ceux de face ou de profile, se trouvant dans les carrés ainsi que leurs cotés inférieurs et droits.
 - Selon Theau-Clément et Falières [370], le comptage se fera sur les deux colonnes centrales de chaque chambre et le calcul se fait comme suit :
- ❖ Les deux colonnes centrales d'une grille contiennent de haut vers le bas 8 x 16 soit 128 petits carrés, sachant que le volume d'un petit carré est de 1/4000 mm³, le volume de 8 grands carrés est de 0,032 mm³. La concentration en spermatozoïdes par ml de diluant, sera comme suit:

$$C_n = \frac{X * D * 1000}{\text{Volume compté} * 2}$$

$$\text{Soit : } C_n = \frac{X * 200 \text{ million}}{64}$$

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

D = Dilution du sperme.

Cn = Concentration.

- Calculer la somme des spermatozoïdes comptés de chaque chambre, et vérifier la différence entre comptage des deux chambres, qui doit être inférieure ou égale au « value » (APPENDICE B).

- Motilité massale

La motilité massale est estimée par l'observation d'une microgoutte de sperme (10 μ l) posée sur une lame sous microscope optique (CASA), muni d'une plaque chauffante réglée à 37°C, et avec un grossissement x100 (Figure 5.47).



Figure 5.47 : Motilité massale.

Le mouvement global des spermatozoïdes est apprécié en fonction de l'intensité des vagues observée. La grille de notation «Grille de Petitjean» (1965) (cité par Boussit [99], ce qui permet d'estimer l'intensité des vagues, une note allant de 0 (pas de spermatozoïdes) à 9 (aspect de tourbillon) est attribuée à chaque échantillon (Tableau 5.15). L'estimation de la motilité doit se faire dans les 5 à 10 minutes qui suivent la collecte.

Tableau 5.15 : Echelle de Petitjean (1965) pour notation de la motilité massal [99].

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

➤ Manipulation du système CASA

Le système CASA (Computer Analyser System Assisted) est constitué d'un microscope (Nikon Eclipse E 200), muni d'une plaque chauffante (Figure 5.48) avec des objectifs à contraste de phase négatif (x100, x 200, x400, x600), une caméra (Nikon), et un moniteur (hp) qui permet de voir en même temps l'image du microscope et l'image digitalisé par la fiche de l'ordinateur. Le logiciel utilisé pour l'analyse de la mobilité est le SCA ver (SCA, version 5.1, Microptic, Barcelona, Spain), qui permet de quantifier le nombre de spermatozoïdes (spz) ayant un déplacement lent, moyen, rapide et progressif, les paramètres de vitesse, l'angle et la rectitude des trajectoires. Ce système nous permet aussi l'appréciation de la vitalité et la morphologie des spermatozoïdes.

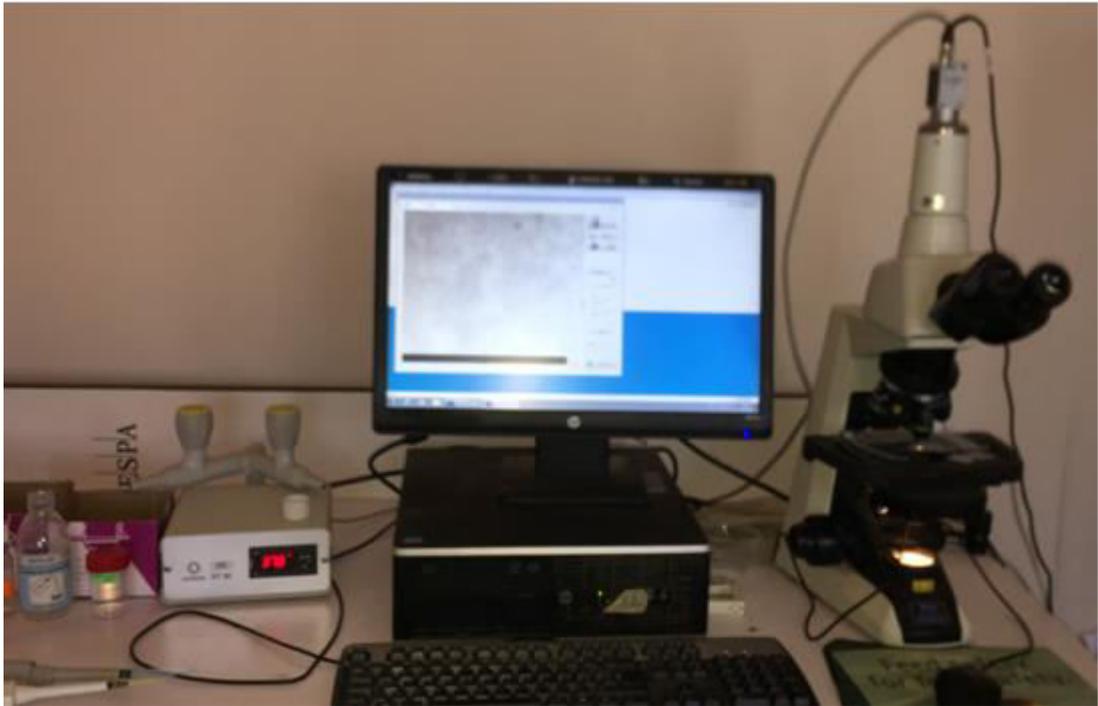


Figure 5.48 : Système CASA (Computer Analyser System Assisted)

➤ Motilité individuelle

La motilité individuelle est appréciée selon les étapes suivantes :

- Conserver la solution de dilution du sperme (solution de Galape (IMV, France)) dans le bain marie à 37 °C, afin d'éviter le choc thermique au sperme lors de la dilution.
- Dilution de la semence à 1:30 : Avec une micropipette réglable, prélever 10 microlitres de la semence pure (dans les premières minutes qui suivent l'arrivée de l'échantillon au laboratoire) et les diluer dans 290 microlitres de solution Galape conservée à 37 °C. Par la suite, homogénéiser manuellement la solution de dilution du sperme.
- Avec une micro pipette déposer 3 μ l de la solution diluée dans l'un des puits de la lame Leja à 20-micron (Leja Products BV, NieuwVennep, The Netherlands) (Figure 5.49).
- L'observation se fait par le système CASA avec un contraste de phase négatif, un grossissement x100 et un filtre vert (Figure 5.50). Cette

observation nous permet dans un premier lieu d'évaluer le type de mouvements des spermatozoïdes et de les noter en utilisant l'échelle d'Andrieu (1974) (Tableau 5.16) qui va de 0 à 4 [99, 229].

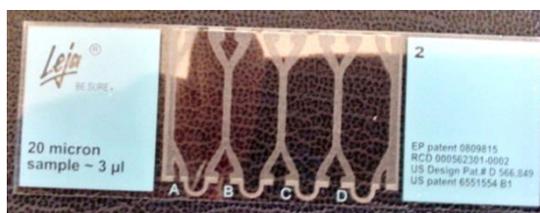


Figure 5.49 : Lame Leja.



Figure 50 : Filtre vert.

Tableau 5.16 : Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle [99].

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

Le pourcentage des spermatozoïdes mobiles est effectué au même moment que l'appréciation de la motilité individuelle dans les mêmes conditions [229]. Ce système nous a permis également l'estimation des paramètres cinétiques des spermatozoïdes de chaque échantillon analysé qui sont : la mesure de la distance entre chaque point d'un spermatozoïde donné au cours de la période d'acquisition de la tête (vitesse curviligne, VCL, $\mu\text{m} / \text{s}$), la distance entre premier et dernier points de la tête, divisé par le temps d'acquisition (vitesse en ligne droite, VSL, $\mu\text{m} / \text{s}$), et la mesure de la tête des spermatozoïdes oscillation (amplitude latérale déplacement de la tête, ALH, μm), la linéarité (LIN, %) qui mesure le départ de la

progression linéaire et est calculé comme $VSL / VCL \times 100$, tandis que la vitesse de trajet moyenne (VAP, $\mu\text{m} / \text{s}$) est un chemin lissé construit par la moyenne de plusieurs positions sur la piste de sperme, (STR, %; la valeur moyenne du ratio VSL/VAP), et (BCF) Fréquence des rythmes de croisements des trajectoires). Le mouvement des spermatozoïdes est représenté distinctement sur l'écran par différentes couleurs (Figure 5.51).

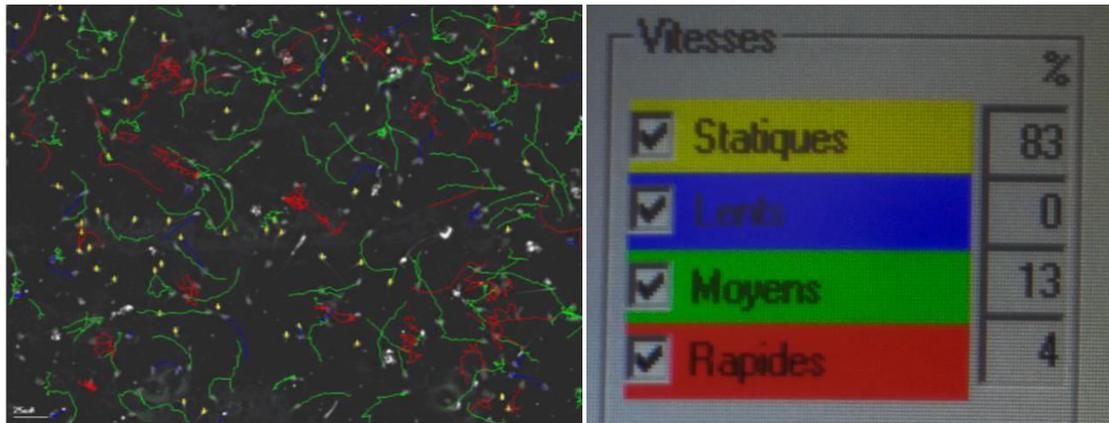


Figure 5.51 : Mouvements des spermatozoïdes colorés selon leurs vitesses.

➤ Vitalité

L'évaluation de ce paramètre a été réalisée en utilisant la technique de coloration éosine-nigrosine [371]. Il faut suivre les étapes suivantes :

- Tout d'abord, réaliser un frotti en déposant sur une lame 10 microlitres de sperme pur à l'aide d'une micropipette au quel rajouter 10 microlitres de nigrosine et 10 microlitres d'éosine, qu'il faut homogénéiser avec l'embout de la micropipette puis étaler à l'aide d'une autre lame.
- Laisser la lame séché pendant quelques minutes à l'obscurité.
- Dès que cette dernière est complètement sèche, procéder à l'observation par le système CASA (Grossissement x 200), compter 200 spermatozoïdes. Les spermatozoïdes vivants apparaissent d'une couleur claire et les morts dont la membrane est perméable au colorant, apparaissent avec couleur rose (Figure 5.52).

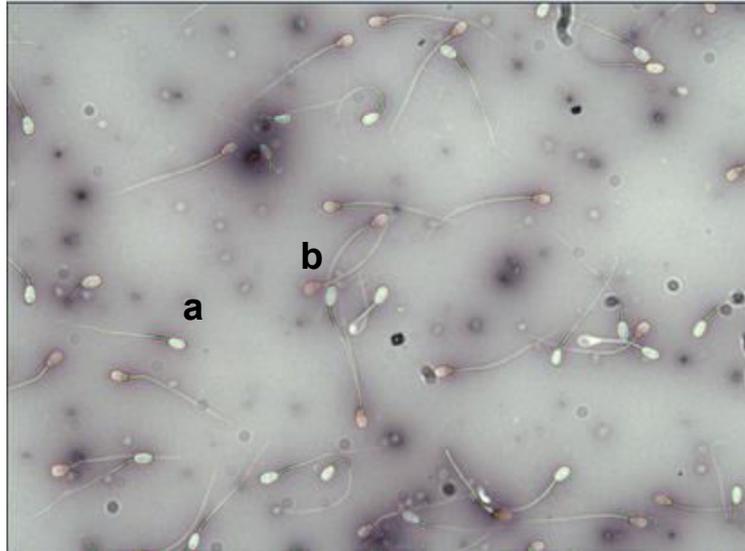


Figure 5.52 : Viabilité des spermatozoïdes (Spz vivant (a) et Spz mort (b))

➤ Morphologie

La même lame ayant été utilisée pour l'appréciation de la vitalité des spermatozoïdes est utilisée pour déceler les anomalies de ces derniers sur 200 spermatozoïdes, en utilisant toujours le système CASA à grossissement x 20 (Figure 5.53). Plusieurs types d'anomalies peuvent être distingués, liés soit à la tête, la pièce intermédiaire, gouttelette cytoplasmique ou bien à la queue ou flagelle du spermatozoïde (APPENDICE C).

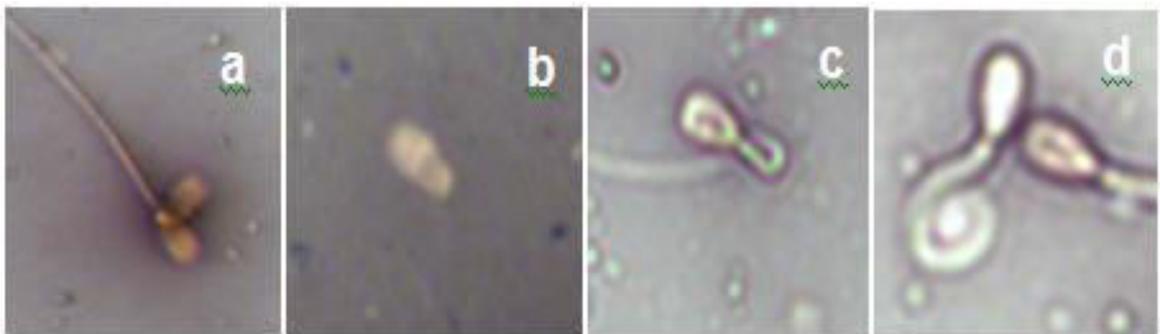


Figure 5. 53 : Anomalies des spermatozoïdes.

:(Spz à double tête (a), Spz sans queue (b)) (Queue repliée (c) et (Queue enroulée(d)).

❖ Dosage hormonal de la testostérone

Le prélèvement sanguin a été pratiqué la dernière semaine de l'analyse de la semence. Le dosage de la testostérone a été pratiqué comme rapporté dans la partie expérimentale 1 de la présente étude.

❖ Mesure des testicules

A la fin de la collecte du sperme, les animaux de l'expérimentation ont été pesés avant d'être sacrifiés. Les sacs scrotaux ont été incisés pour extérioriser les testicules. Ces derniers ont été séparés de l'épididyme et autres tissus adhérents. Le poids du testicule droit, gauche et total a été mesuré en utilisant une balance de précision (0,01 g), comme il a été pratiqué dans l'expérimentation 1. Les rapports du poids des testicules au poids corporel ont également été calculés. Les organes prélevés sont plongés directement dans le fixateur contenu dans des flacons soigneusement étiquetés pour une étude histologique ultérieure.

❖ Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de R (version 3.5.1; R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche) via RStudio (version 1.1.383, RStudio Inc., Boston, MA). Une analyse par mesures répétées de la variance (ANOVA) dans R a été réalisée pour toutes les variables mesurées en utilisant la structure de symétrie composée (CS). Des graphiques de diagnostic pour évaluer la normalité des résidus et des effets dans l'ajustement des modèles ont été obtenus en utilisant la fonction «qqnorm» de R. Si le modèle n'est pas considéré comme normalement distribué; par conséquent, une transformation logarithmique de la variable indépendante a été utilisée. Les comparaisons a Post-hoc ont été calculées à l'aide de la fonction «1smeans» du package 1smeans de R [372]. Les résultats ont été représentés par la moyenne de carré pondéré (MCP) \pm erreur standard de la moyenne (ESM). Les graphes des courbes ont été générés par Prism 6.07 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA états unies).

5.3.3. Résultats

Dans cette partie d'étude, nous déterminerons d'abord le taux de récolte de la semence utile des lapins mis en œuvre pour la réalisation de cette partie expérimentale, représentés par les lapins de la population locale et la souche synthétique, âgés d'environ 10 mois et ayant un poids respectif de $3,075 \pm 0,35$ et $3,119 \pm 0,32$ Kg. S'ensuit après, l'analyse de la qualité spermatique de ces derniers. Puis, le dosage sérologique de la testostérone et finalement, la pesé des testicules après abattage.

5.3.3.1. Paramètre d'ambiance

Les valeurs moyennes de température et d'hygrométrie ambiante diurnes notées durant cette partie expérimentale ainsi que celles de l'indice reliant la température à l'hygrométrie (THI) calculées sont rapportées dans le tableau 5.17 et présentées dans la figure 5.54.

Tableau 5. 17: Valeurs moyenne de la température, l'hygrométrie et de THI enregistrées lors de l'expérimentation.

Température (°C)			Hygrométrie (%)			THI		
1 ^{er}	2 ^{ème}	Moy	1 ^{er}	2 ^{ème}	Moy	1 ^{er}	2 ^{ème}	Moy
29,8	32,8	31,3	60,5	50,3	55,4	27,9	30,0	29,0
$\pm 1,8$	$\pm 1,9$	$\pm 1,7$	$\pm 5,9$	$\pm 6,0$	$\pm 5,4$	$\pm 1,5$	$\pm 1,6$	$\pm 1,5$

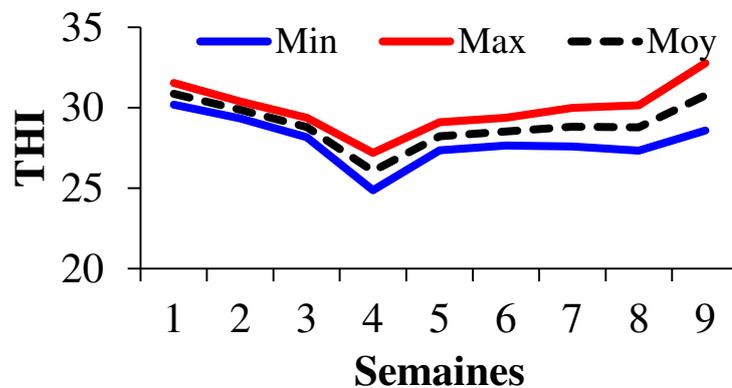


Figure 5.54 : Evolution du THI selon les semaines.

5.3.3.2. Taux de la récolte spermatique utile

Les valeurs moyennes du poids corporel et des organes reproductifs ainsi que le taux de la réponse positive aux sollicitations, des éjaculats analysés et celui des éjaculats avec gel chez les deux groupes de lapins mâles sont rapportées dans le tableau 5.18.

Tableau 5.18. : Poids corporel et testiculaire et le taux des réponses aux sollicitations, des éjaculats analysés et ceux présentant un gel chez les deux groupes de lapins mâles.

	Population locale	Souche synthétique	P value
Nombre d'animaux étudiés	12	12	-
Nombre de sollicitations	216	216	-
Nombre d'éjaculats collectés	184	187	-
Nombre d'éjaculats observés	176	186	-
Nombre d'éjaculats éliminés	8	1	-
Causes d'élimination			
Présence de sang	6	0	-
Présence d'urine	0	1	-
Volume < 0,2 ml	2	0	-
Réponses aux sollicitations			
Réponse aux sollicitations (%)	85,2 ±0,9	86,57 ±1	0,32
Réponse aux ejaculations (%)	95,65 ±1,3	99,46 ±1,2	0,71
Nombre des éjaculats avec gel	58	34	-
Taux des éjaculats avec gel (%)	32,95±0,7	18,28±1,13	-
Poids corporel et poids de l'appareil reproducteur			
Poids à l'abattage (kg)	3.06±0.23	3.11±0.22	0.567
Poids testiculaire totale (g)	5.86 ±1.37	6.20± 0.64	0.443
Ratio Poids testicules/PC	1.92 ± 0.46	2.00± 0.31	0.614

5.3.3.3. Evaluation de la libido et les caractéristiques de la semence

Les résultats de la libido et les paramètres de la semence chez les deux groupes de lapins mâles sont présentés dans le tableau 5.19.

Tableau 5. 19: Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) de la libido et de certains paramètres de la semence chez les deux groupes de lapin mâle.

Variable		(Moyenne \pm SD)		P values		
		Population locale	Souche Synthétique	Lignée	Semaine	Lignée* Semaine
Libido (sec)		13,92 \pm 1,82	16,85 \pm 1.53	0,103	<0,0001	0,726
Volume sans gel (ml)		0,88 \pm 0,03	0,87 \pm 0,04	0,920	0,0004	0,245
pH		7,51 \pm 0,08	7,65 \pm 0,04	0,440	0,286	0,649
Concentration ($\times 10^6$ /ml)		398,50 \pm 25,1	328,90 \pm 24,2	0,016	<0,0001	0,371
Vitalité (%)		56,21 \pm 1,73	55,88 \pm 2,29	0,743	0,001	0,779
Anomalie morphologique (%)	Totale	36,54 \pm 36,54	30,28 \pm 30,28	0,003	0,001	0,968
	Tête	11,58 \pm 11,58	11,91 \pm 11,91	0,717	<0,0001	0,612
	Piece intermédiaire	0,21 \pm 0,21	0,11 \pm 0,11	0,303	0,280	0,973
	Queue	24,99 \pm 24,99	18,16 \pm 18,16	0,0001	<0,0001	0,862
Motilité	Motilité Massale	6,82 \pm 6,82	5,96 \pm 5,96	0,006	0,147	0,901
	Motilité Individuelle (%)	40,41 \pm 18,64	34,16 \pm 20,63	0,016	0,034	0,943
Paramètres cinétiques du sperme	VCL (μ m/s)	62,44 \pm 62,44	59,23 \pm 59,23	0,179	0,129	0,826
	VAP (μ m/s)	46,62 \pm 46,62	39,88 \pm 39,88	0,0002	0,278	0,957
	VSL (μ m/s)	37,87 \pm 1,04	31,26 \pm 1,33	0,0001	0,459	0,977
	STR (%)	60,70 \pm 1,79	45,47 \pm 2,73	<0,0001	0,897	0,405
	LIN (%)	74,72 \pm 1,78	59,66 \pm 3,18	<0,0001	0,794	0,315
	WOB (%)	73,67 \pm 1,86	56,84 \pm 3,07	<0,0001	0,822	0,252
	ALH (μ m)	2,51 \pm 0,08	5,43 \pm 2,88	0,321	0,85	0,558
	BCF (Hz)	5,27 \pm 0,14	5,68 \pm 0,22	0,140	0,793	0,732

5.3.3.3.1. Libido (Ardeur sexuelle)

Les mesures répétées d'ANOVA n'ont démontré aucun effet significatif des interactions ligne et ligne par temps qui ont été trouvés pour le temps de réaction (libido). Cependant, le temps d'échantillonnage a eu un effet significatif ($p < 0,0001$) (Figure 5.55).

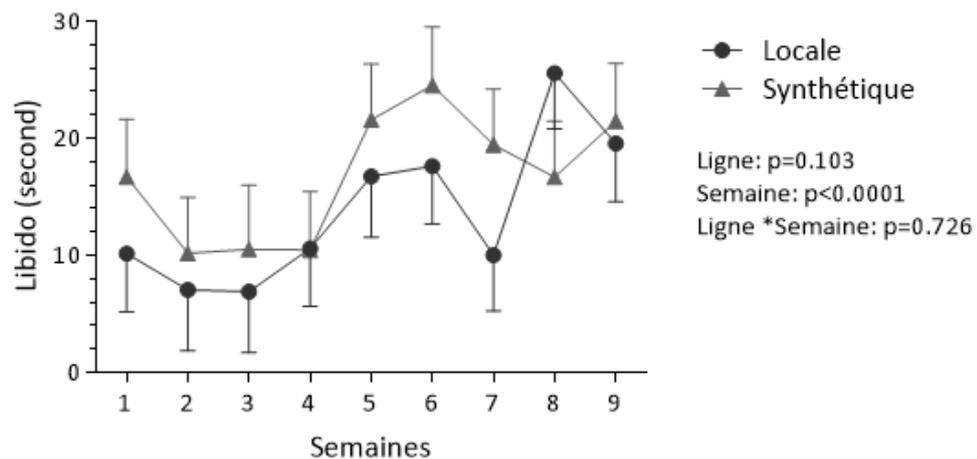


Figure 5.55 : MCR±ESM du changement de la libido pour les deux groupes de lapins.

5.3.3.3.2. Caractéristique de la semence

❖ Evaluation macroscopique de la semence

• Volume sans gel

Aucun effet significatif des interactions ligne et ligne par temps n'a été trouvé pour le volume de l'éjaculat sans gel. Le temps d'échantillonnage a néanmoins eu un effet significatif ($p < 0,0001$) (Figure 5.56).

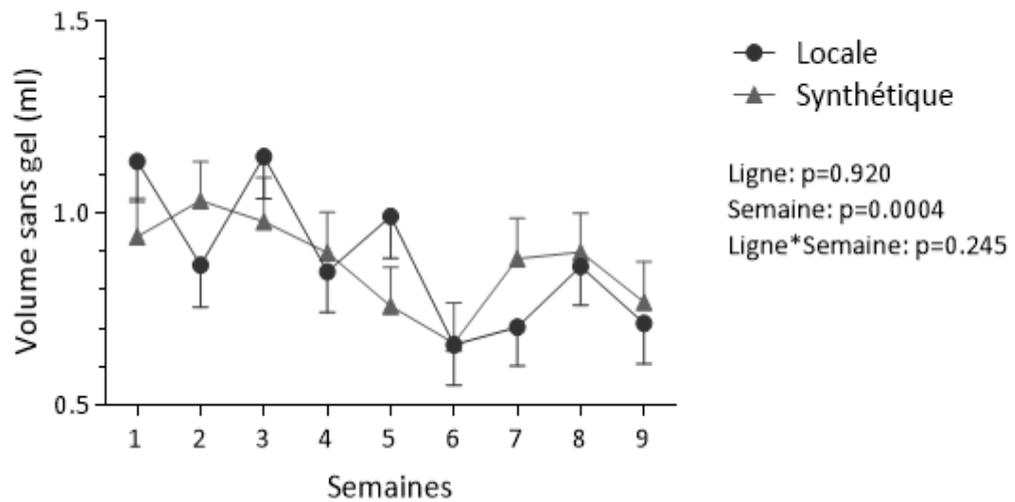


Figure 5.56 : MCR±ESM du changement du volume sans gel pour les deux groupes

- pH

Il n'y a pas eu de différence significative du pH spermatique pour les deux groupes de lapins, que ce soit à travers la lignée, le temps ou dans une interaction lignée par temps (Figure 5.57).

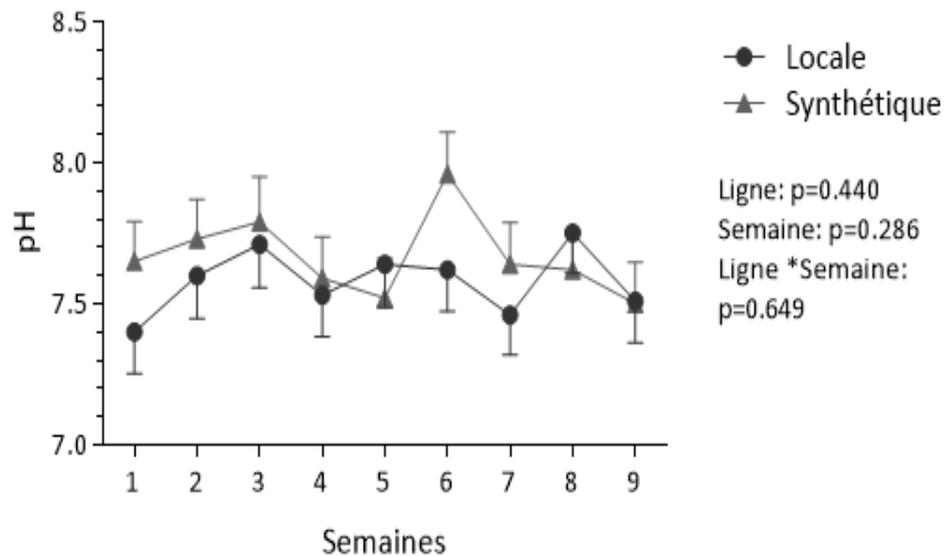


Figure 5. 57: MCR±ESM du changement du pH pour les deux groupes

Les mesures du pH du sperme sont d'une grande importance car tout diluant de sperme utilisé doit avoir une valeur de pH approximativement similaire, car le sperme doit agir comme un tampon contre une acidité ou une alcalinité excessive.

- Couleur

Durant notre expérimentation nous avons noté une couleur blanche pour la majorité des prélèvements pour la population locale avec quelques exceptions où la couleur a viré à un blanc crème. De même, pour la souche synthétique où la couleur de la semence n'a pas varié du blanc, sauf pour quelques exceptions où la couleur était plus foncée.

- Concentration

Le nombre total de spermatozoïdes par ml était significativement différent ($p = 0,016$) à la 5^{ème} et 8^{ème} semaine chez la population locale par rapport à la souche synthétique. Le temps d'échantillonnage avait un effet significatif sur la concentration de sperme. L'interaction lignée par temps n'était pas significative (Figure 5. 58).

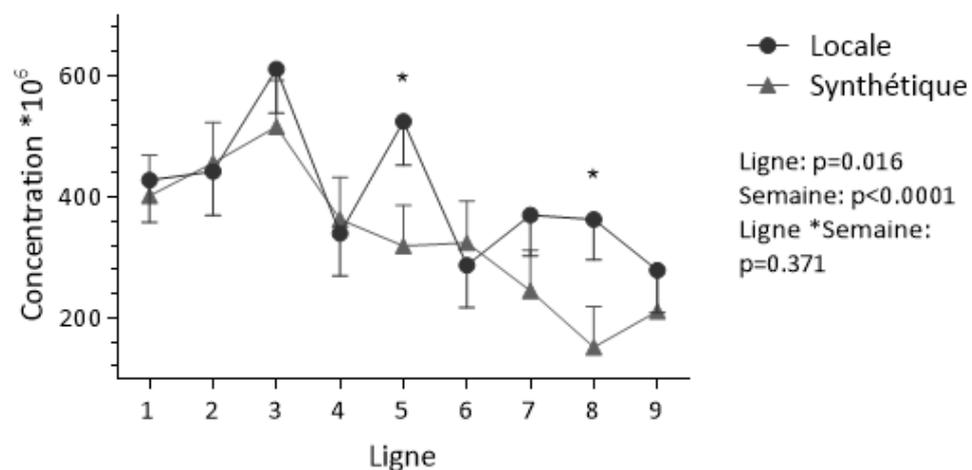


Figure 5.58 : MCR±ESM du changement de concentration de la semence des deux groupes de lapins

Les moyennes de concentration de spermatozoïdes étaient de $398,50 \times 10^6$ / ml contre $328,90 \times 10^6$ / ml pour la population locale et la lignée synthétique respectivement.

- Vitalité

Il n'y a pas eu de différence significative de la vitalité spermatique entre la population locale et la souche synthétique. Le temps d'échantillonnage avait un effet significatif sur la vitalité du sperme. L'interaction lignée par temps n'était pas significative (Figure 5. 59).

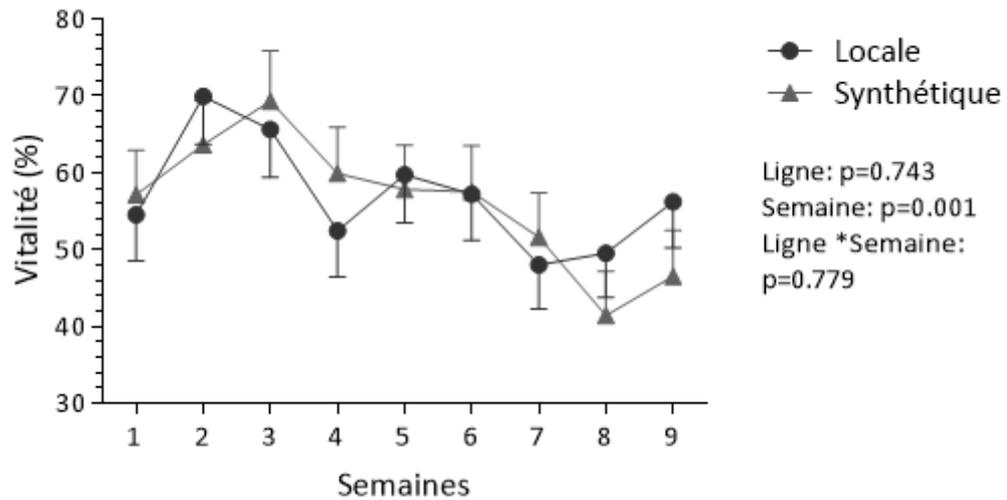


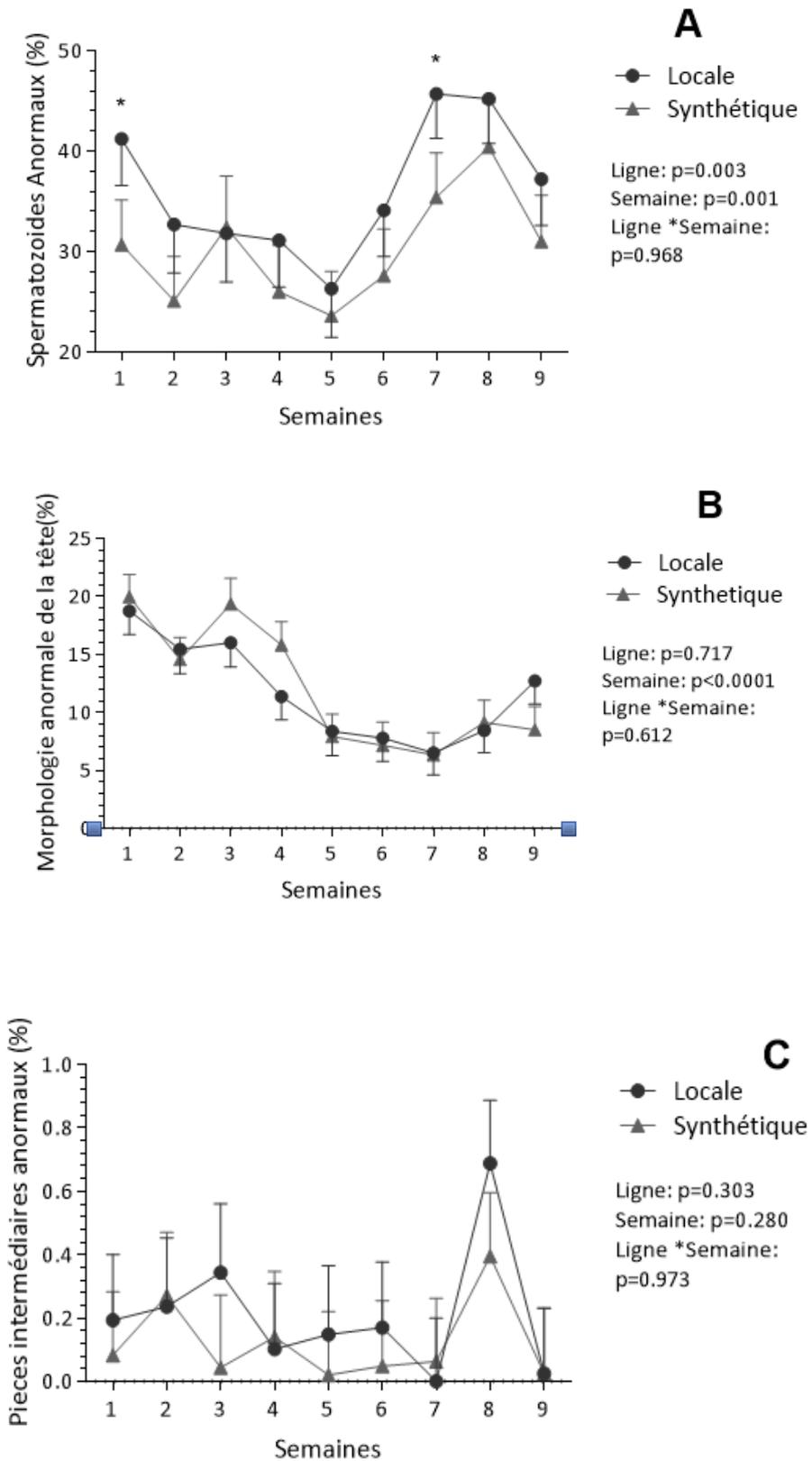
Figure 5. 59: MCR±ESM du changement de la vitalité des deux groupes de lapins

Dans notre étude, il a été constaté que les moyennes de spermatozoïdes vivants par éjaculat étaient de 56,21 contre 55,88% pour la population locale et la souche synthétique, respectivement.

- Anomalies morphologiques

Dans notre étude, le lapin de la population locale avait un pourcentage significativement élevé ($p = 0,003$) de spermatozoïdes anormaux par rapport à la souche synthétique, avec des moyennes totales de 36,54 et 30,28% respectivement pour la population locale et la souche synthétique. Cette différence était principalement enregistrée dans la queue ($p = 0,0001$). Cependant, il n'y avait pas d'effet significatif de la lignée sur le pourcentage d'anomalies de la tête et de la pièce médiane. La semaine de prélèvement a eu un effet significatif ($p < 0,0001$) sur le pourcentage d'anomalies de la tête et de la queue. Cependant, il n'y avait aucun effet significatif de la semaine de prélèvement sur le pourcentage

d'anomalies de la pièce médiane. De même, il n'y avait aucun effet significatif de l'interaction ligne par temps sur les trois catégories d'anomalies (Figure 5.60).



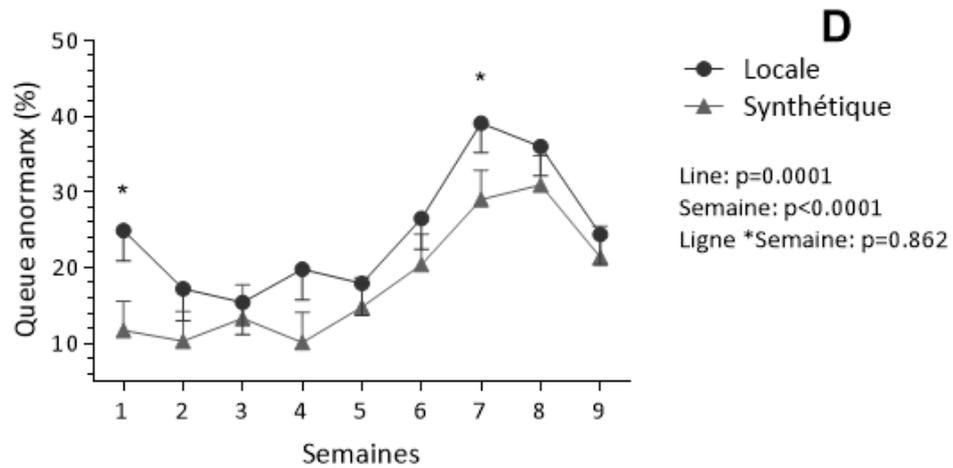
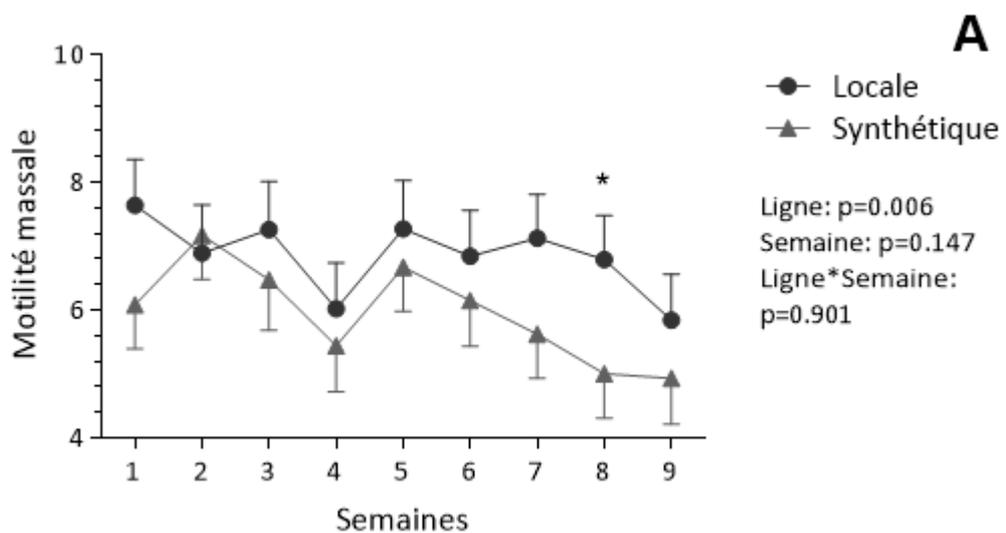


Figure 5.60 : MCR \pm ESM du changement des anomalies morphologiques pour les deux groupes de lapins, **A**: anomalies totale, **B**: anomalies de la tête, **C**: anomalies de la pièce intermédiaire, **D**: anomalies de la queue.

- Motilité massale et individuelle

Le score de motilité massale était de 6,82 contre 5,96 pour la population locale et la souche synthétique respectivement. La motilité individuelle était de 40,41% contre 34,16% pour la population locale et la souche synthétique respectivement. Dans notre étude, la motilité massale et individuelle était significativement augmentée dans la population locale par rapport à la souche synthétique ($p = 0,006$ et $p = 0,016$ pour la motilité massale et individuelle respectivement) (Figure : 5.61).



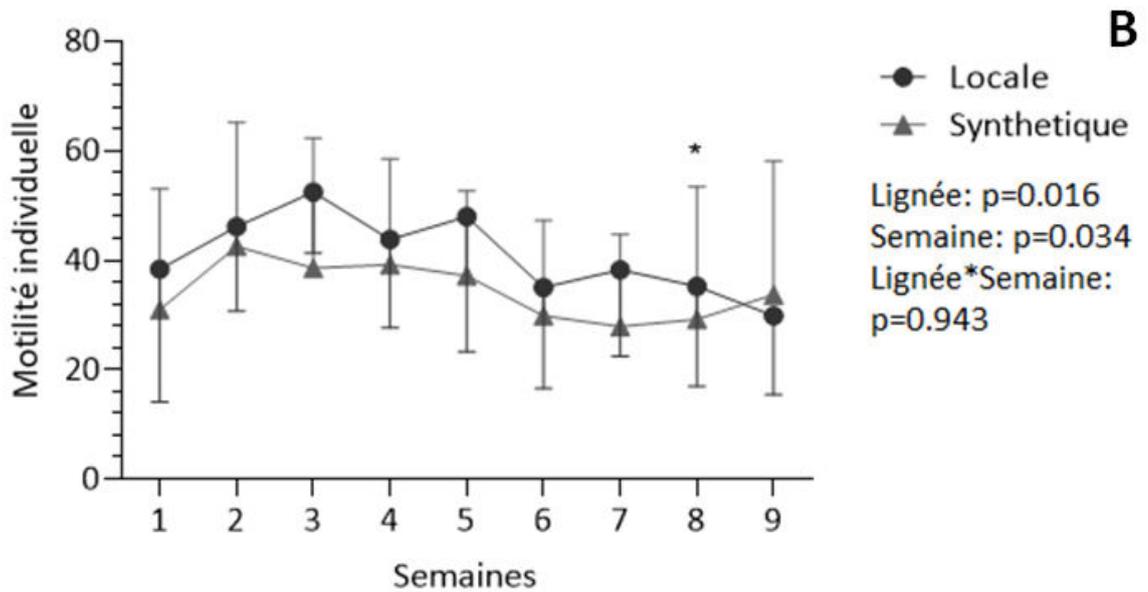
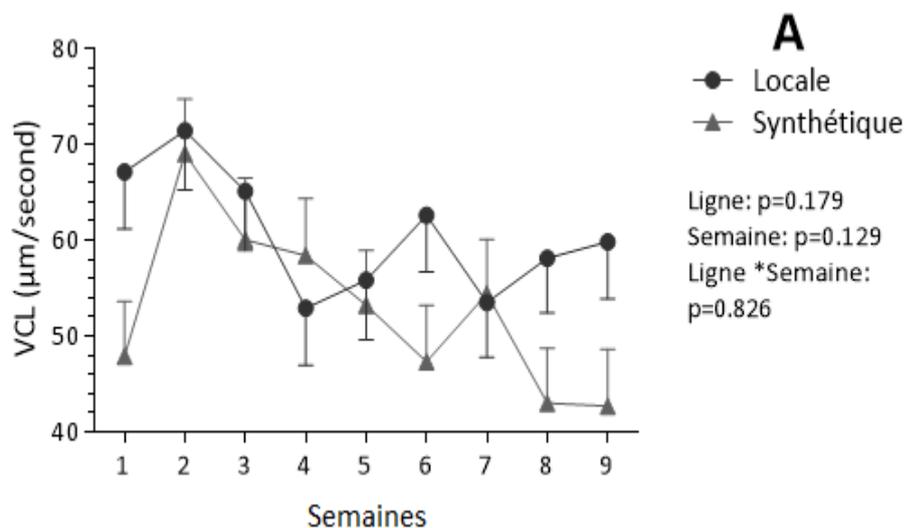
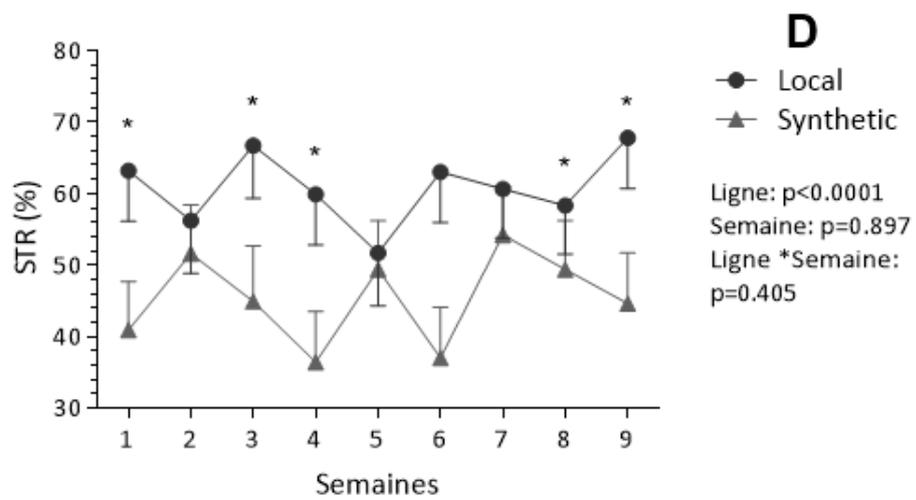
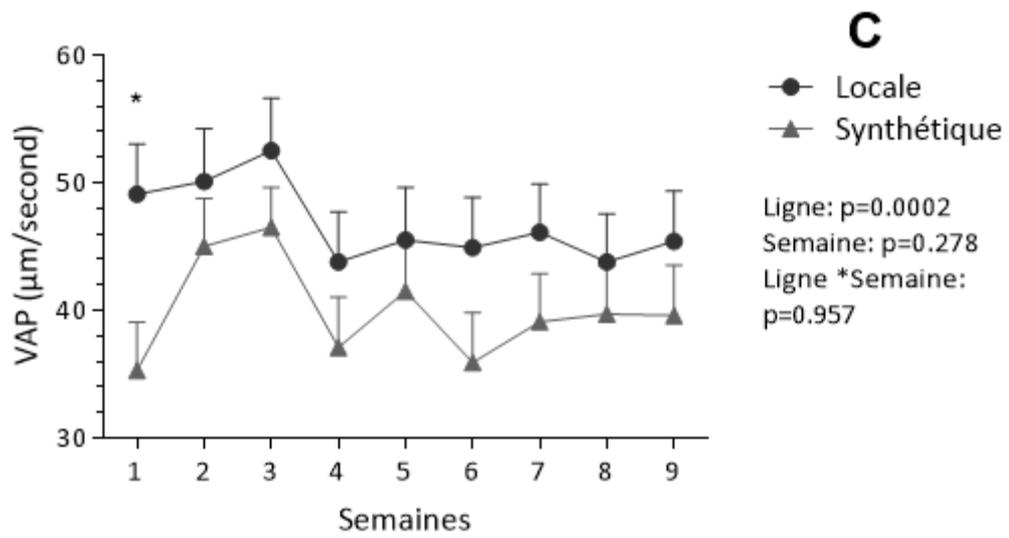
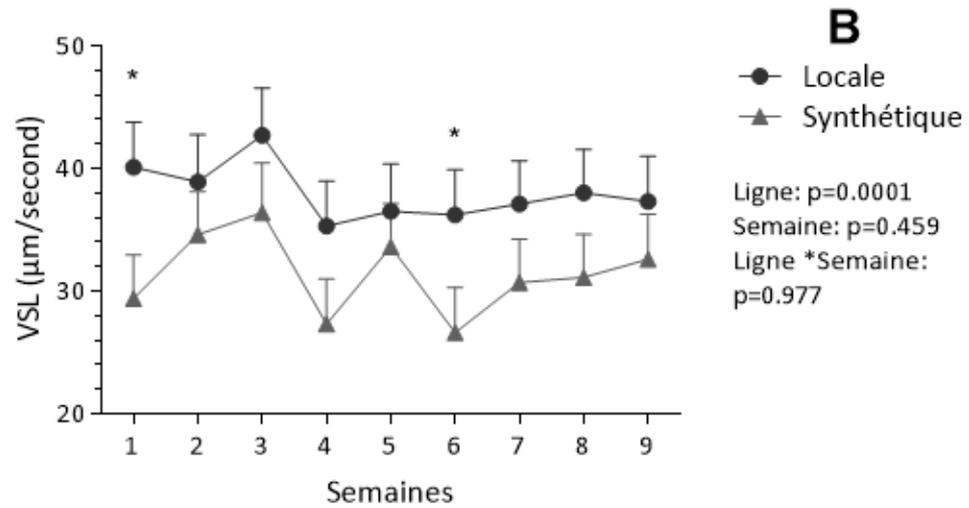


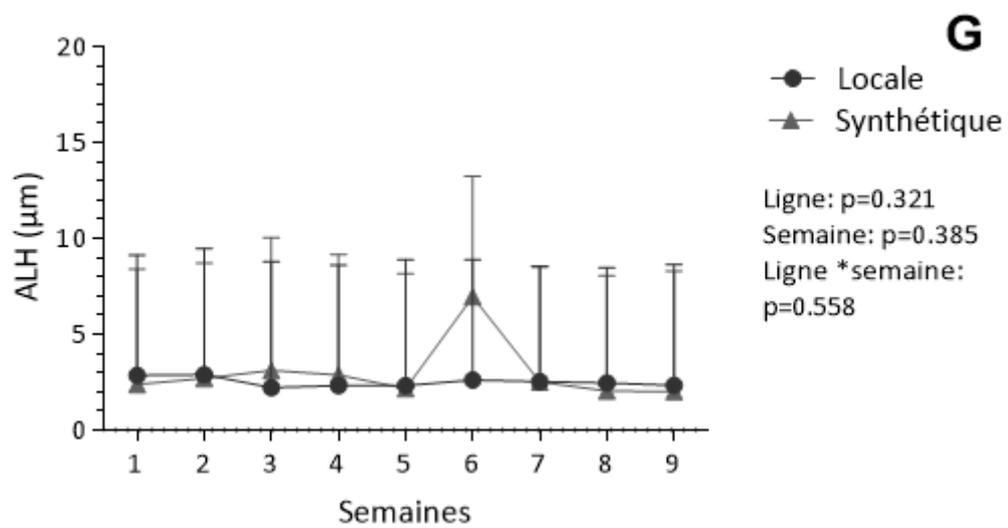
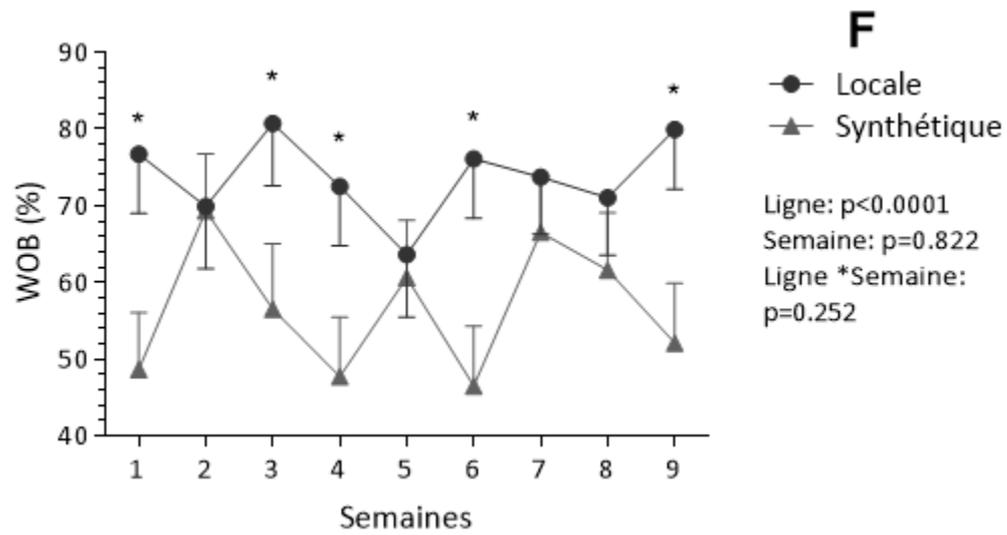
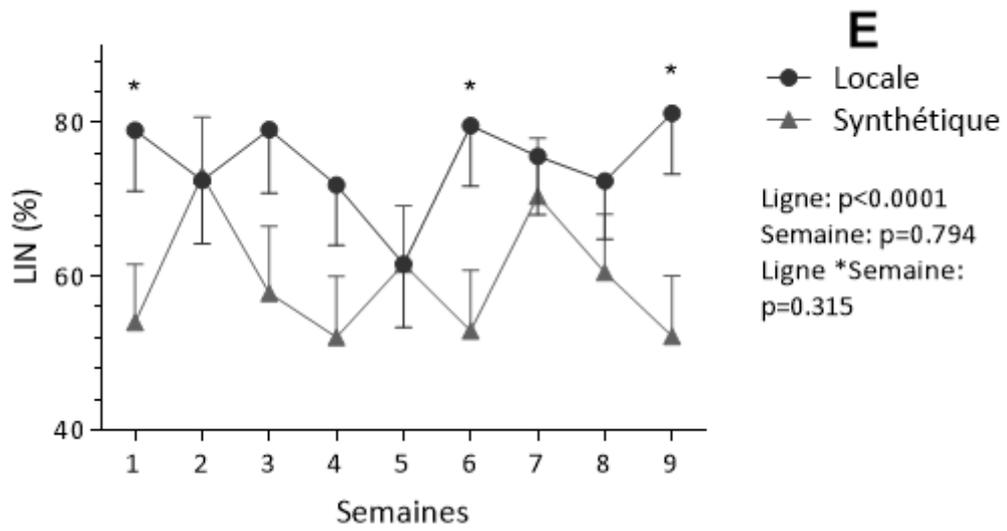
Figure 5.61 : MCR \pm ESM du changement de la motilité massale (A) et individuelle (B) spermatique pour les deux groupes de lapins

- Paramètres cinétiques spermatiques

Concernant les paramètres de motilité évalués par le système CASA, dans nos traits cinétiques expérimentaux pour la population locale, ils étaient ($P < 0,05$) significativement supérieurs à ceux de la souche synthétique, à l'exception de VCL, ALH et BCF. Cependant, il n'y avait pas de différence significative dans tous les traits cinétiques, que ce soit dans les semaines ou dans une interaction ligne par semaine (Figure 5.62).







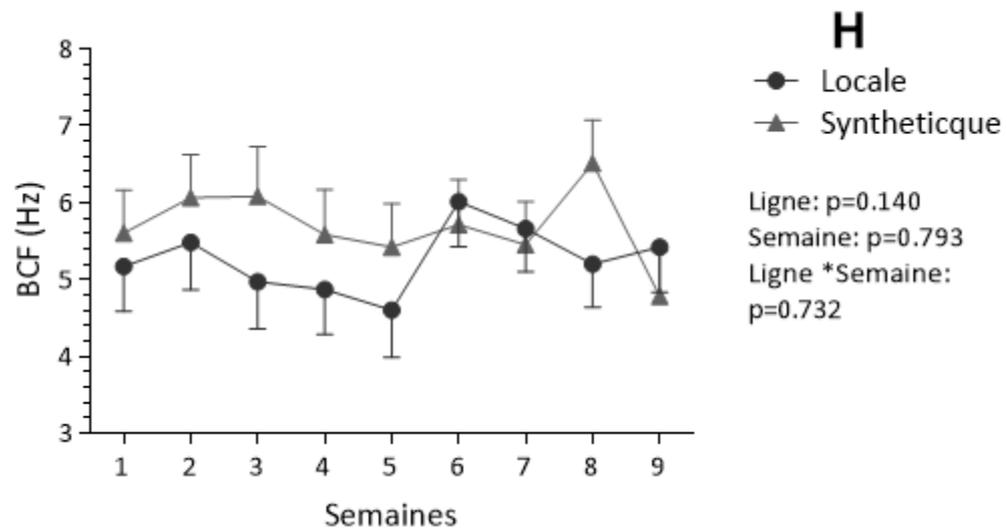


Figure 5.62 : MCR±ESM du changement des paramètres cinétiques du sperme pour les deux groupes de lapins.

5.3.3.4. Classification des Mâles en fonction de leur DAG

La classification des mâles des deux groupes (populations locale et souche synthétique) en fonction de leur DAG moyenne est rapportée dans les tableaux 5.20.

Tableau 5.20 : Mesures de la distance ano-génitale (DAG) (moyenne ± écart-type) pour les deux groupes de lapins

Nbre des lapins	DAG (mm)					
	DAG 1 (mm)	DAG 2 (mm)	DAG 3 (mm)	DAGM (mm)	DAGP (mm)	DAGG (mm)
Locale (n=12) p : 6 (50 %) g: 6 (50 %)	12,19 ± 1,3	12,49 ± 1,5	12,35 ± 1,5	12,34 ± 1,5	11,33 ± 1,4	13,36 ± 0,7
Synthétique (n=12) p : 5 (41,66 %) g : 7 (58,33 %)	10,54 ± 1,1	11,57 ± 1,3	11,38 ± 0,9	11,16 ± 0,9	10,42 ± 0,8	11,69 ± 0,5

Nbre des lapins : nombre des lapins ; DAGM : DAG moyenne ; DAGP : DAG petite ; DAGG : DAG grande ; p : petite ; g : grande.

La DAG moyenne chez les mâles utilisés dans cette partie expérimentale était de $12,34 \pm 1,5$ mm pour la population locale et de $11,16 \pm 0,9$ mm pour la souche synthétique. 50 % des mâles de la population locale ont présenté une DAG inférieure à la DAG moyenne et 50 % une DAG supérieure à la DAG moyenne. Cependant chez la souche synthétique, 41,66 % des mâles ont présenté une DAG inférieure à la DAG moyenne et 58,33 % supérieure à la DAG moyenne.

5.3.3.5. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur la libido et les paramètres de la semence

Les résultats de la relation entre la DAG et lignée des lapins sur la libido et les paramètres de la semence chez les deux groupes de lapins males sont présentés dans le tableau 5.21.

Tableau 5.21 : Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) de la relation entre la DAG et la libido et de certains paramètres de la semence chez les deux groupes de lapin mâle.

	Population locale			Souche synthétique		
	DAGP	DAGG	P value	DAGP	DAGG	P value
Libido (sec)	13,4±8,9	14,3±21,9	0,805	13,9±9,2	18,7±18,3	0,130
Volume sans gel (ml)	0,8±0,3	0,9±0,3	0,112	0,8±0,4	0,8±0,4	0,769
pH	7,6±0,5	7,4±0,9	0,202	7,6±0,5	7,7±0,5	0,591
Concentration (x10⁶/ml)	439±289,0	372±218,2	0,197	307±289,9	342±210,6	0,480
Vitalité (%)	58,8±16,3	54,5±17,5	0,229	48,9±28,1	60,3±18,0	0,015
Spz normaux (%)	63,6±14,2	60,1±18,1	0,308	55,9±28,7	64,2±18,6	0,079
Spz anormaux %	33,8±11,1	38,3±17,1	0,150	26,6±17,3	32,6±15,5	0,073
Anomalie de la tête	10,3±6,0	12,3±7,2	0,149	10,4±9,5	12,9±8,1	0,154
Anomalie de la pièce intermédiaire	0,3±1,3	0,1±0,3	0,258	0,1±0,1	0,1±0,6	0,523
Anomalie de la queue	24,1±11,3	25,5±17,7	0,654	15,9±12,6	19,7±15,9	0,232
Motilité massale	6,9±2,0	6,8±1,9	0,867	5,3±3,2	6,4±2,3	0,053
Motilité Individuelle	2,4±0,8	2,4±0,7	0,710	1,9±1,2	2,2±0,7	0,167
VCL (µm/s)	59,1±13,6	64,5±15,1	0,075	51,1±25,5	64,5±19,1	0,003
VAP (µm/s)	46,2±11,4	46,9±10,1	0,770	38,6±19,4	40,7±11,1	0,496
VSL (µm/s)	38,3±9,8	37,6±10,6	0,754	32,1±17,3	30,7±10,3	0,635
STR (%)	62,7±18,6	59,4±17,2	0,375	48,1±32,7	43,8±23,9	0,442
LIN (%)	75,9±20,1	73,9±15,9	0,592	59,6±36,5	59,7±29,2	0,994
WOB (%)	74,6±20,7	73,1±17,0	0,677	58,2±36,0	55,9±27,6	0,730
ALH (µm)	2,3±0,6	2,6±0,9	0,100	9,3±46,5	2,9±1,0	0,284
BCF (Hz)	5,333±1,3	5,237±1,4	0,742	5,304±2,7	5,925±1,9	0,185

5.3.3.7. Relation entre la DAG et la lignée des lapins sur la testostérone

Les résultats de la relation de la DAG et la lignée des lapins sur testostérone chez les deux groupes de lapins males sont présentés dans le tableau 5.22.

Tableau 5.22 : Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) de l'effet de la DAG sur la testostérone chez les deux groupes de lapin mâle.

	Population locale		P Value	Souche synthétique		P Value
	DAGP	DAGG		DAGP	DAGG	
Testosterone (ng/ml)	2,62±3,2	2,71±2,2	0,959	2,40±3,6	5,16±4,31	0,271

- Dosage de la testostérone

Les valeurs moyennes du taux plasmatique de la testostérone chez la population locale et la souche synthétique enregistrées durant cette partie expérimentale sont rapportées dans le tableau 5. 23.

Tableau 5.23: Valeurs moyennes globale et la déviation standard (SD) du taux plasmatique de la testostérone chez les deux groupes de lapin mâle.

	Population locale	Souche synthétique	P value
Taux de testostérone (ng/ml)	2,66 2,65 ± ng/ml	4,00 ± 4,09 ng/ml	0,351

Les profils hormonaux de la testostérone du plasma sanguin de nos lapins soumis à une période chronique de climat chaud ont montré qu'il y avait pas d'effet significatif ($P > 0,05$) de la lignée sur la testostérone du plasma sanguin, où la valeur moyenne globale était (2,66 ng / dl) chez la population locale et (4,00 ng / dl) chez la souche synthétique.

5.3.4 Discussion

5.3.4.1. Paramètre d'ambiance

Au cours de cette partie expérimentale, allant du début du mois de juin jusqu' à la fin du mois de juillet, nous avons enregistré une température et une hygrométrie diurnes moyenne de $31,3 \pm 1,7$ °C et $55,4 \pm 5,4$ % respectivement, mettant ainsi nos lapins au-dessus de leur zone du confort thermique située entre 15 et 20°C selon Finzi [373] et Moussa-Balabel [374]. Ces données nous ont permis de calculer la valeur moyenne de l'indice reliant la température à l'hygrométrie THI durant cette saison estivale, qui était égale à $29,0 \pm 1,5$. Ces données enregistrées en cette saison estivale avec un THI entre 28,9 à 30,05 exposent nos lapins à un stress thermique sévère [258]. Nous notons que les valeurs de THI ont subi une chute à partir de la 2^{ème} jusqu'à la 4^{ème} semaine liée à une baisse de la température, suivies par une augmentation marquée par un pic au cours de la 9^{ème} semaine (Figure 6.36), liée à un pic de température avec un maximum de 36,9 °C et une moyenne de 33,7°C. Les effets de la température sur la fonction de la reproduction des lapins ont été étudiés quasi exclusivement pour la température élevée. Cependant, la température faible ne semble nullement perturber les lapins dans leurs activités sexuelles [171]. La qualité de la semence produite est extrêmement sensible à de fortes chaleurs couplées à une forte hygrométrie (85% pendant 6 semaines) [251].

5.3.4.2. Taux de la récolte spermatique utile

Nos résultats dévoilent une similarité de réponse aux sollicitations pour les deux groupes de lapins soumis à une période chronique de climat chaud, nous avons constaté que le nombre d'éjaculats collectés sur les mâles de la population locale et la souche synthétique est de 184 et 187 respectivement sur 216 sollicitations. Le taux de réponse positive aux sollicitations est de 85,2 % pour les lapins de la population locale et de 86,57 % pour la souche synthétique, avec un écart de 1,37% entre les deux groupes de lapins. Cependant, il n'ya pas de différence significative concernant la réponse des mâles aux sollicitations sexuelles. Bencheikh [262], a également trouvé un taux élevé de réponse aux sollicitations chez les différents groupes de lapins et sous différents rythmes de la collecte de la

semence, la même observation a été notée par Brun et *al.* [375], chez les lapins de la line L (90,1%) et de la line H (86,9%), ainsi que par Boulbina [376] chez les lapins de la population locale (96,7%) étudiés en été. Le taux moyen de réponse positive des mâles de population locale dans notre étude est similaire à celui présenté par Nizza et *al.* [261] chez la souche Hyla (85,1%). Ces derniers ont montré l'effet négatif de la saison estivale sur le taux des éjaculats obtenus. Par ailleurs, Garcia-Tomas et *al.* [271], ont estimé ce même taux à 93,9% chez des lignées dénommées C et R.

Le taux des éjaculats récoltés et analysés en été est plus important chez la souche synthétique (99,46%) que chez la population locale (95,65%) avec un écart moyen de + 3,81%. De même, l'étude réalisée par Boulbina [376], sur les lapins de population locale a montré que le taux des éjaculats utiles obtenues en été était de 92,6%.

Nous avons noté que la présence de sang dans la semence récoltée est la principale cause d'élimination des éjaculats chez la population locale, suivie par un volume inférieur à 0,2 ml de la semence récolté. Alors que chez le lapin de souche synthétique, un seul éjaculat a été éliminé suite à une contamination par les urine.

Cependant, Boulbina [376], rapporte que la cause d'élimination des éjaculats en été est la présence d'urine dans la semence et elle a constaté l'absence de la souillure de cette dernière par le sang.

Selon Bencheikh [240], la souillure par l'urine serait liée à l'utilisation du vagin artificiel et éventuellement à des troubles nerveux.

En revanche, la proportion d'éjaculats présentant un gel, mesuré dans nos conditions expérimentales, est plus élevée chez la population locale (32,95%) par rapport à celle de la souche synthétique (18, 28%) avec un écart moyen de + 14,67%.

L'étude réalisée par Boulbina [376], montre que chez la population locale la proportion des éjaculats présentant un gel est très importante en été (40,4%). Par contre, Garcia-Tomas et *al.* [249], ont montré qu'il existe une corrélation négative entre le taux des éjaculats avec gel et la température ambiante.

Lorsque les animaux sont sollicités deux fois par jours pour la collecte de la semence, la masse gélatineuse peut être trouvée à 75% dans le première éjaculat et seulement à 4, 8% dans le second [166, 226, 377]. Bien que le gel soit commun à la semence du lapin, aucune fonction n'a été trouvée du gel à part la prévention de la perte de spermatozoïdes rétrogradé chez les rongeurs en fermant l'humen vaginal lors de la saillie [222].

5.3.4.3. Poids des testicules

Il est généralement connu que la maturation sexuelle des lapins mâles commence à 4–5 mois et diminue après 24 mois, selon la race des lapins [239]. Notre étude portait sur des lapins de population locale et de souche synthétiques d'environ 3 kg de poids corporel.

Dans nos conditions expérimentales et dans chaque groupe, les testicules droits et gauches avaient des poids similaires. Le poids des testicules individuels variait de 2,6 à 4,1 g et de 2,69 à 3,84 g; les poids combinés des testicules étaient de 5,86 g et 6,20 g pour la population locale et la souche synthétique respectivement. Les mêmes observations ont été rapportées par Brun et *al.* [375] (7,9 et 8,1 g). Isidahomen et Oguntade [378], ont enregistré un poids testiculaire (2,29, 4,45 et 4,31 g) respectivement chez Chinchilla, New Zealand White, New Zealand Red dans la période prépubère des animaux. Ils ont mentionné dans leur observation que la maturation des testicules de mammifères dépend de la prolifération et de la différenciation normales de l'épithélium germinale et des cellules de Sertoli et du nombre de cellules de Sertoli qui s'est établie pendant la période prépubère qui détermine la taille finale du testicule et le nombre de spermatozoïdes produits chez les animaux sexuellement matures. Les auteurs ont lié l'augmentation du poids des testicules à la race ou au génotype. De plus, le poids testiculaire peut avoir une forte corrélation avec la production de spermatozoïdes testiculaires [379].

Le rapport (ratio) du poids des testicules était similaire entre les lapins mâles; il était de 1,92 chez la population locale contre 2,00 chez la souche synthétique. Cependant, Brun et *al.* (2006), ont rapporté que la lignée affectait ce paramètre.

5.3.4.4. Evaluation de la libido et les caractéristiques de la semence

5.3.4.4.1. Libido (Ardeur sexuelle)

Dans nos conditions expérimentales, les animaux exposés à des conditions d'ambiance très élevées avaient une ardeur sexuelle (libido) mesuré à terme. Nos résultats en libido étaient similaires ($p > 0.05$) pour la population locale et la souche synthétique (13,92 vs 16,85 s respectivement). La courbe d'évolution hebdomadaire de la libido indique une chute du temps de réponse des mâles pour les deux groupes de lapins au cours des quatre premières semaines.

La courbe d'évolution hebdomadaire de la libido indique une chute du temps de réponse des mâles pour les deux groupes de lapins au cours des quatre premières semaines à cause de la baisse de la température. Entre la 4^{ème} et la 6^{ème} semaine, nous notons une augmentation de la libido liée à l'élévation de la température, suivie par une deuxième baisse de la libido, tout en assaillant de s'adapté au condition climatique chaude. Cet effet de saison a été confirmé sur plusieurs types de lapin sous une variété de conditions d'ambiance estivale [261, 260, 380] sur le lapin commercial Hyla, baladi noire et le lapin blanc de new zealand et la population locale algérienne, respectivement.

Nos résultats étaient similaires à ceux de Rodriguez – De Lara [381], (13,2 s) chez le lapin blanc de Nouvelle-Zélande, et de ceux de Marai et *al.* [258], chez le même lapin (14,2 s) mais inférieurs à la valeur moyenne de 27,9 s obtenue par Brun et *al.* [375] et de 20,6 s rapportée chez les lapins blancs de Nouvelle-Zélande et baladi par Safaa, et *al.* [260], pendant la saison estivale, reflétant un comportement sexuel meilleur de nos lapins par rapport à ces derniers. De plus, nos valeurs de libido étaient bien supérieures à celles rapportées par El-Tohamy et *al.* [382] : (11,49 s), ainsi que celle de Ogbuewu et *al.* [379], (4,2 s) chez le lapin blanc de Nouvelle-Zélande et le lapin chinchilla. De même, Isidahomen et Oguntade [378], ont rapportés des valeurs inférieures par rapport à nos résultats (4,45, 4,31 et 4,25 s chez le lapin rouge de Nouvelle-Zélande, suivis respectivement par le blanc de Nouvelle-Zélande et le chinchilla).

Selon Cross et Roselli [383], cela peut être dû à la testostérone et à l'estradiol, qui agissent en synergie pour stimuler le comportement sexuel du mâle. Cependant, l'estradiol peut être stimulé par la fréquence des chevauchements et l'intervalle

réduit des chevauchements. Tandis que la testostérone agit en partie par la transformation in situ en estradiol par l'aromatase dans la zone préoptique, stimulant le chevauchement, améliorant finalement le comportement copulatoire [384]. Cet effet de dépression de la concentration de la testostérone observé lors des températures ambiantes élevées a été également rapporté par Boiti et *al.* [385] et El masry et *al.* [386]. Dans la présente étude, les lapins mâles utilisés dans l'expérience étaient du même âge, par conséquent, Rodriguez De-Lara et *al.* [381], ont supposé que ce facteur n'était pas une source importante de variation affectant la libido.

5.3.4.4.2. Caractéristique de la semence

❖ Evaluation macroscopique de la semence

• Volume sans gel

Les moyennes globales de nos résultats en volume sans gel (0,88 vs 0,87 ml pour la population locale et la souche synthétique, respectivement) sont similaires aux normes (0,3-0,9 ml). Cependant, elles étaient plus élevées par rapport au volume d'éjaculat (0,52 ml) rapportées par Safaa et *al.* [260], chez le Baladi noire et le lapin New Zealand Blanc, ainsi que chez la population locale (0,67 ml) rapportées par Ain-Baziz et *al.* [380] pendant l'été. De plus, El-Tohamy et *al.* [382], ont rapporté des valeurs plus faibles dans la ligne R et la ligne L sélectionnées sur le poids corporel à 63 jours (60,1 et 46,2 ml, respectivement). Les moyennes du volume d'éjaculat enregistré chez les lapins Gabali, V-line et M-line par Iraqi et *al.* [387], étaient de 0,60, 0,66 et 0,72 ml respectivement. De même, Isidahomen et Oguntade [378], ont montré que le volume de sperme pour New Zealand White, Chinchilla et New Zealand Red était de 0,72, 0,59 et 0,52 ml, respectivement. Les études de Marai et *al.* [388] et Okab, [389]. sur des lapins ont montré que le volume de l'éjaculats spermatique diminuait avec l'élévation de la température. La variation du volume d'éjaculat entre les races sous l'influence de la température ambiante estivale peut être due à des variations de d'activité des glandes sexuelles accessoires en réponse à l'hormone testostérone [386, 390].

- pH

Les mesures du pH du sperme sont d'une grande importance car tout diluant de sperme utilisé doit avoir une valeur de pH approximativement similaire, car le sperme doit agir comme un tampon contre une acidité ou une alcalinité excessive. En outre, il agit comme un indicateur de la sécrétion normale des glandes accessoires et de l'habitabilité des spermatozoïdes [391]. En effet, le pH est considéré comme un bon indicateur de la qualité du sperme. Dans nos conditions expérimentales, nous avons trouvé un effet non significatif sur le pH du mâle de sperme par rapport à la ligné. Nos résultats sont proches de la norme (7,1). Des résultats similaires ont été rapportés par Ain-Baaziz et *al.* [380], chez la population locale (pH: 7,2), par Iraqi et *al.* [387], chez Gabali, V-line et M-line (7,76, 7,72 et 7,75, respectivement) et par Isidahomen et Oguntade (378] chez la New Zealand blanche, New Zealand Rouge et Chinchilla (respectivement 7,49, 7,47 et 7,13). Le génotype et la saison estivale n'ont pas influencé sur le pH spermatique mesuré chez le lapin.

- Concentration

Les moyennes de concentration de spermatozoïdes étaient de 398×10^6 / ml contre 328×10^6 / ml pour la population locale et la lignée synthétique respectivement qui sont similaires à la norme ($250-600 \times 10^6$ /ml). Nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Brun et *al.* [375], dans la lignée L (634×10^6 / ml) et la lignée H (738×10^6 / ml) et celles rapportées par Safaa et *al.* [260], dans les mâles Black Baladi ($703,1 \times 10^6$ / ml) et blancs de Nouvelle-Zélande ($596,7 \times 10^6$ / ml). Cependant, les concentrations de sperme de la population locale étaient étroitement similaires à celles d'Iraki et *al.* [387], pour la lignée gabali (405×10^6 / ml) et celles rapportées par Lankri et *al.* [392] pour souche synthétique (415×10^6 / ml). De plus, nos valeurs de concentrations de spermatozoïdes étaient plus élevées que celles rapportées par Safaa et *al.* [260], dans la ligne A (232×10^6 / ml) et la ligne R (220×10^6 / ml). D'autres études ont montré des effets néfastes sur la concentration de spermatozoïdes chez le lapin pendant la saison estivale [380, 388, 389, 393]. Ayyat et El-Aasar [394], ont déclaré que la concentration de spermatozoïdes associée au climat chaud de la saison estivale, pourrait être attribuée à la baisse des niveaux de testostérone et de gonadotrophines

essentiels pour maintenir le potentiel de production de spermatozoïdes testiculaires.

- Vitalité

Dans notre étude, il a été constaté que les moyennes de spermatozoïdes vivants par éjaculat étaient de 56,21 contre 55,88% pour la population locale et la souche synthétique, respectivement. Dans nos conditions, cela ne reflétait pas une différence dans ces groupes; le génotype n'a pas affecté la vitalité spermatique. Des données similaires pour la viabilité ont été enregistrées précédemment par Safaa et *al.* [395]. Alors que Iraqi et *al.* [387], ont trouvé une valeur plus élevée de 80,63, 82,38, 81,99% pour Gabali, V-line et M-line, respectivement, Okab [389], a constaté qu'il y avait une augmentation des spermatozoïdes vivants pendant la saison estivale et Khalil [396], a rapporté que le pourcentage de spermatozoïdes morts était inférieur chez Gabali (21%) qu'à celui des lapins blancs de Nouvelle-Zélande (24%). Alors que Ain-Baziz et *al.* [380], et Ahmed et *al.* [393], ont trouvé un effet significatif négatif de la température ambiante élevée sur les spermatozoïdes normaux vivants.

- Anomalies morphologiques

La morphologie des spermatozoïdes est un paramètre important dans le processus de fécondation. Il est important de noter que la présence d'un grand nombre de spermatozoïdes anormaux dans le sperme semble diminuer sa fertilité [387]. De plus, Ain-Baziz et *al.* [380], ont trouvé un effet très significatif de la température ambiante estivale sur le taux de spermatozoïdes anormaux chez les lapins de la population locale. D'un autre côté, Iraqi et *al.* [387], ont observé des anomalies dans le sperme avec des moyennes de 11,79, 12,92 et 12,09% pour Gabali, V-line et M-line, respectivement et Błaszczuk et *al.* [397], ont montré que le nombre total de spermatozoïdes anormaux chez les lapins adultes blancs de Nouvelle-Zélande était de 14,2%. Parmi tous les spermatozoïdes anormaux évalués, le plus grand nombre était des anomalies de la queue (12,31%). Généralement, Marai et *al.* [388], ont attribué l'augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux dans les conditions ambiantes estivales à des défauts de la spermatogenèse, en particulier au dernier stade de différenciation des spermatides.

- Motilité massale et individuelle

Cependant, il n'y avait aucun effet significatif de la semaine de prélèvement et de l'interaction ligne par semaine (Figure 6.44). Alors que Ain-Baziz et *al.* [380], Iraqi et *al.* [387] et Ahmed et *al.* [393], ont trouvé un effet significatif négatif de la température ambiante élevée sur la motilité des spermatozoïdes. En revanche, Isidahomen et Oguntade [378], ont montré que la motilité était plus élevée pour le lapin blanc néo-zélandais, suivi du lapin rouge néo-zélandais et du chinchilla (87,27%, 86,24% et 85,08% respectivement). De même, Błaszczyk et *al.* [397], ont rapporté des valeurs plus élevées de motilité des spermatozoïdes chez le lapin Blanc de néo-zélandais (81,17%). Ces différences de motilité des spermatozoïdes peuvent être dues aux variations de l'activité de la glande pituitaire qui peuvent affecter la sécrétion de l'hormone lutéinisante (LH) qui affecte la sécrétion de testostérone à partir du tissu interstitiel (cellules de Leydig) des testicules [398].

- Paramètres cinétiques spermatiques

L'évaluation visuelle de la motilité par un opérateur est plutôt subjective; par conséquent, l'utilisation du système CASA est nécessaire. Les paramètres de motilité, déterminés par cette méthode, peuvent fournir des informations plus précises sur le potentiel fertilisant des spermatozoïdes de lapin [399]. Nos résultats sont proches de la norme [294]. Safaa et *al.* [395], ont obtenu des résultats similaires et n'ont détecté aucune différence entre les lignées A et L, à l'exception du BCF. D'autre part, Lukac et *al.* [239], ont rapporté des valeurs plus faibles sur les lapins transgéniques et non transgéniques pour une analyse détaillée du mouvement des spermatozoïdes que celles observées dans la recherche actuelle. Cependant, Błaszczyk et *al.* [397], ont rapporté des valeurs plus élevées chez les lapins blancs de neo-Zélande pour une analyse détaillée du mouvement des spermatozoïdes (VCL: 120,99 $\mu\text{m} / \text{s}$, ALH: 4,09 $\mu\text{m} / \text{s}$, BCF: 33,41 Hz).

5.3.4.5. Relation entre la DAG des lapins et la libido et les paramètres de la semence

À notre connaissance, il s'agit de la première étude à mesurer la DAG chez le lapin mâle de la population locale et la souche synthétique en Algérie et à examiner la relation entre les mesures de la DAG et la libido, les paramètres du sperme et le taux de la testostérone dans une étude de suivi.

Nous avons étudié la relation entre la DAG et la qualité du sperme et les taux plasmatique de testostérones dans cette étude de cohorte, en cherchant à explorer pleinement la valeur prévisible des mesures de la DAG sur la fonction reproductive adulte. Cette étude a inclus un total de 24 lapins mâles de deux lignés différentes (12 : population locale et 12 : souche synthétique) avec au moins dix échantillons de sperme dans l'analyse par individu.

Relation entre la DAG et la libido et la semence

.....Absence de relation entre la DAG et la libido et la semence

Au cours de cette étude, nous n'avons observé aucun effet significatif ($p > 0,05$) entre la DAG et la libido ainsi qu'avec les différents paramètres de la semence (macroscopique : volume, pH et microscopique : concentration, la vitalité, la morphologie, la motilité massale et individuelle, les paramètres cinétiques de la motilité). Le même constat a été noté pour l'effet de la DAG sur le taux de la testostérone. Cette observation a été signalée dans les deux groupes de lapins.

Les mesures de la DAG, ont été bien tolérées par tous les sujets et rapides à réaliser, avec une fiabilité acceptable entre les examinateurs, contrairement aux paramètres du sperme et aux hormones stéroïdiennes. Les mesures de la DAG ne sont probablement pas sensibles aux facteurs de l'environnement externes (climat, saison, photopériode et le stress). La DAG pourrait constituer un complément utile pour l'évaluation de fonction reproductive chez le mâle.

Selon nos connaissances, aucune étude n'a été réalisée sur l'effet de la DAG sur la libido. Cependant, Plusieurs autres travaux ont également tenté d'établir des liens entre la DAG et les différents paramètres de reproduction ou autres, chez certaines espèces animales ainsi que chez l'homme. C'est ainsi que divers

auteurs ont conclu qu'il semble y avoir une relation entre la DAG. Cependant, Nos résultats sont cohérents avec ceux de certains d'auteurs. Des études transversales ont montré une relation entre les paramètres du sperme et la DAG [400, 401], alors que d'autres études n'ont pas trouvé de relations significatives (Parra et al. [402]; Zhou et al. [403]; López-Espína et al. [404], ont montré que chez les hommes l'effet de la DAG était statistiquement significatif pour tous les paramètres du sperme (valeur $p \leq 0,01$). Cette étude a montré que les hommes ayant un DAG plus long auront systématiquement un pourcentage plus élevé de spermatozoïdes morphologiquement normaux par rapport à ceux ayant une DAG plus court. Cette analyse montre que les paramètres de base du sperme (volume, concentration, nombre total, motilité et morphologie des spermatozoïdes) dépendent de la DAG d'un individu dans tous les cas. Ainsi, la valeur de la DAG a une influence fixe dans chacun des paramètres séminaux chez les hommes. De même, Nerli et al. [345], ont noté que la DAG significativement plus court chez les hommes présentant des paramètres spermatiques anormaux par rapport aux hommes présentant des paramètres spermatiques normaux. Mendiola et al. [405], ont rapporté qu'il y avait une forte corrélation entre la DAG et tous les paramètres du sperme chez les hommes adultes.

Cependant, Eisenberg [400]; Jain et Signal [401]; Dean et Sharpe [406], n'ont trouvé de différences statistiquement significatives qu'en ce qui concerne la motilité des spermatozoïdes. Eisenberg et al. [400], ont constaté que la DAG petite a été relié à des caractéristiques de la semence très pauvres.

La raison de ces résultats contradictoires peut être due à des différences de race, d'âge. Il a été également suggéré que la diminution des niveaux d'exposition aux androgènes in utero pouvait entraîner un raccourcissement de la DAG [405].

Par conséquent, de nombreux auteurs considèrent la DAG comme un bon prédicteur des paramètres du sperme [400, 401, 406]. Cependant, les paramètres du sperme ne sont pas constants dans le temps [407, 407, 409, 410, 411] et une grande variabilité des paramètres du sperme pourrait conduire à un diagnostic erroné du potentiel de fertilité du mâle sur la base d'une seule analyse du sperme [411].

Bien que les résultats de notre étude ont montré une similitude entre les lapins ayant une DAG petite et ceux ayant une DAG grande pour les lapins de la population locale et ceux de la souche synthétique, la DAG en tant que biomarqueur d'un développement normal de l'appareil reproducteur in utéro pourraient avoir des paramètres de sperme systématiquement meilleurs au fil du temps.

Relation entre la DAG et le taux de la testostéronémie.....

.....Absence de relation entre la DAG et le taux de la testostéronémie

Parmi les hormones (testostérone, œstrogène, hormone lutéinisante) qui sont systématiquement évaluées chez les mâles infertiles, seule la testostérone est synthétisée dans le testicule. Ainsi, il n'est peut-être pas surprenant qu'une relation avec la distance ano-génitale n'ait été trouvée que pour la testostérone.

Notre étude a montré que le taux de la testostérone était similaires pour les lapins à DAG petite et ceux à DAG grande pour les lapins de la population locale et la souche synthétique. Plusieurs études ont rapporté que les mesures de la DAG étaient associées aux hormones reproductives sériques [345, 403, 412, 413, 414, 415]. Cette relation entre la DAG et la testostérone chez les hommes confirmerait directement ce qui est déjà connu de l'expérience sur les rats [405, 406]. Cependant, Parra et *al.* [402], ont constaté que la DAG n'était pas associé à aucun niveau d'hormones reproductives. La raison de ces résultats peut être due à des différences raciales ou géographiques.

Cependant, Eisenberg et *al.* [400], ont été les premiers à signaler une association entre la longueur du périnée et les niveaux d'androgènes chez les hommes. Ils ont jugé que l'AGD peut prédire le développement génital normal chez l'homme et, par conséquent, pourrait fournir une nouvelle métrique pour évaluer la fonction testiculaire. Et que si l'AGD à la naissance prédisait l'AGD à l'âge adulte, alors les niveaux de testostérone sérique à l'âge adulte dépendraient de facteurs opérant pendant la période foetale.

Il est démontré qu'une DAG plus grande est un indicateur d'une plus grande exposition aux androgènes, ce qui peut nuire à la prolifération des cellules de Leydig et entraîner des taux d'androgènes plus élevés à l'âge adulte [416].

Dans une étude sur des rats, Mitchell et *al.* [417], ont démontré qu'il existe un certain degré de plasticité de la DAG à l'âge adulte. Ils ont traité des rats mâles adultes avec de l'œstrogène diéthylstilbestrol (DES) pendant 5 semaines et ont constaté que le DES non seulement supprimait la testostérone circulante et réduisait le poids des vésicules séminales, mais qu'il induisait également une nette réduction de l'AGD.

- Dosage de la testostérone

Nos résultats chez la population locale sont similaires à la valeur moyenne globale (2,79 ng/ml) rapporté par Okab [389], chez le lapin Blanc de Nouvelle Zélande, et proche de celle (1,96 ng/ml) rapporté par Chiericato et *al.* [418], durant l'été. Cette tendance a coïncidé avec l'augmentation de la température ambiante et de la photopériode pendant la saison estivale [419].

CONCLUSION

Au terme de ce travail, qui reste le premier à être mené en Algérie sur l'étude du comportement sexuel des lapins adulte de la population locale et de la souche synthétique et sur l'existence d'une éventuelle relation entre la Distance Ano-Génitale et le comportement sexuel, ainsi qu'avec le taux de testostérone et les modifications structurales gonadiques de ces lapins enregistrés au moment de l'exhaustion de la première partie expérimentale. Il en est de même pour la relation entre la DAG et les caractéristiques de la semence de lapins adultes et le taux de la testostérone pour la deuxième partie expérimentale.

La distance ano-génitale (AGD) est fréquemment utilisée comme biomarqueur de la variation naturelle de l'androgénisation prénatale. Certaines caractéristiques morphologiques, physiologiques et comportementales des animaux sexuellement matures peuvent être prédites de manière fiable par ce paramètre. Les résultats obtenus suite à l'étude de la relation entre la DAG et le comportement sexuel et le taux de la testostérone peuvent nous permettre de conclure que l'effet significatif n'a été enregistré que sur le poids et le taux de la testostérone des lapins du deuxième lot. Nos résultats ne sont pas cohérents avec ceux rapportés par d'autres auteurs ayant travaillé sur les rats, l'homme. Le taux de la testostérone enregistré au cours de cette partie expérimentale, à montré une phase d'adaptation des lapins mâles malgré l'épuisement sexuel au moment de l'exhaustion. L'étude anatomo-histologique des testicules après exhaustion nous a permis de constater que le poids absolu et relatif ainsi que le volume des testicules est le même pour tous les lapins des deux lots. Cependant, leur structure histologique avait présenté une dégénérescence et une altération du parenchyme des tubes séminifères pour certain testicules et la présence d'une structure histologique normale dans d'autres, expliquant ainsi la capacité de ces lapins de s'adapter à un effort fournie jusqu'à l'exhaustion sexuelle.

L'évaluation de la qualité et de la quantité de sperme est très importante et utile surtout pour les éleveurs dans le diagnostic des problèmes de fertilité. Dans nos conditions expérimentales, où les mâles étaient exposés à un stress thermique sévère ($THI = 29,0 \pm 1,5$), les résultats obtenus dans la présente étude ont permis

de conclure que la population locale avait un poids des testicules, une réponse à la sollicitation et une libido similaires à ceux de la lignée synthétique. De même, aucune différence dans le volume du sperme, dans le pH et dans le sperme vivant n'a été observée entre les deux groupes de lapins. Cependant, le pourcentage de concentration de sperme en spermatozoïdes anormaux était plus élevé dans la population locale. Les paramètres de motilité évalués dans notre expérience ont montré que les analyses de motilité massale, individuelle et cinétique des spermatozoïdes étaient significativement plus élevées dans la population locale par rapport à la lignée synthétique. La plus part de nos résultats sont proches ou similaires à la norme et ceux rapportés chez les mêmes lignées et dans les mêmes conditions climatiques.

Notre étude a permis également d'établir une relation entre la DAG et la fonction testiculaire chez le lapin adulte. Nous avons également constaté que les paramètres spermatiques ainsi que le taux de la testostérone n'ont présenté aucune relation avec la Distance Ano-Génitale qui est un paramètre important et utile pour prédire les résultats reproductifs des mâles adultes. D'autre part, d'autres études pourraient être envisagées pour se concentrer sur les relations entre les caractéristiques du sperme et la DAG dans des populations plus diverses ainsi que leurs capacités de fécondation sous l'influence de différents facteurs.

RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Les conclusions obtenues suite à cette étude nous amènent à proposer d'autres travaux de recherche concernant la reproduction du lapin mâle:

Une étude complémentaire, sur un grand effectif, serait intéressante à mettre en place pour connaître la relation de la DAG avec les différents paramètres étudiés notamment la fertilité.

L'approfondissement et l'extension de l'étude de la relation de la DAG à d'autres paramètres que ceux considérés ici, en particulier les anomalies de la prostate.

.L'étude de la relation des variations annuelles de THI et de la saison sur les paramètres spermatiques des mêmes lapins mâles, afin de vérifier l'effet négatif du stress thermique lié à la température et l'hygrométrie ambiante.

L'étude de l'impact de la photopériode sur les performances de reproduction du lapin mâle dans des conditions où la longueur de la photopériode sera le seul facteur de variation et tous les autres facteurs fixés.

L'étude de la relation entre le rythme de collecte de la semence et le nombre des spermatozoïdes recueillis par éjaculat et par unité de temps.

L'étude de la relation entre les caractéristiques spermatiques et la fertilité des mâles en saillie naturelle et en insémination artificielle.

La recherche de nouvelles méthodes plus objectives et moins coûteuses pour une meilleure évaluation de la qualité de la semence.

L'application des méthodes de cryoconservation sur la semence et les embryons de lapins dans le but de conserver la diversité biologique.

D'autre part, Il serait également intéressant d'élargir cette étude et de comparer le comportement sexuel et la qualité spermatique de ces deux lignées avec ceux d'autres races et de différents âges.

Il est intéressant de s'intéresser à la sélection génomique, ce qui nous permet d'avoir une carte génétique des principaux caractères de sélection des différents lignées (population locale et souche synthétique).

Ces résultats pourraient être intégrés aussi dans le travail des éleveurs et des améliorateurs afin de sélectionner les bons reproducteurs, des formations dans ce sens sont nécessaires pour les éleveurs (renouvellement des mâles reproducteurs de l'élevage, programmes d'amélioration génétique). Au niveau des producteurs, il est constaté un manque d'encadrement aux techniques de la cuniculture moderne nécessaires à une meilleure rentabilité de leurs exploitations. Par ailleurs, bien qu'il existe des élevages traditionnels cunicole disséminés un peu partout en Algérie, la production du lapin est faible. De ce fait, il apparaît nécessaire d'identifier les principales contraintes et surtout à cause de l'absence d'informations fiables sur sa production dans le pays.

REFERENCES

1. Mouhous, A., Guermah, H., Djellal, F. and Kadi., S.A., "Sustainability and profitability of commercial rabbitries in Tizi-Ouzou", Algeria. 12th world rabbit congress, Nantes, France, (July 1-3), (2020).
2. Mouhous, A., Benabdelaziz, T., Limani, C., Kadi, S.A., Djellal, F., Guermah, H. and Berchiche, M. "L'efficacité des aides de l'Etat en relation avec les performances de production : cas des élevages cunicoles la région de Tizi-Ouzou. Algérie", 18^{ème} Journées de la Recherche Cunicole, Nantes, France, 27 – 28 mai, (2019).
3. DSA. "Directory of agricultural statistics of the Wilaya of Tizi-Ouzou". Economic Statistics and Surveys Service. Department of Agricultural Services (2017).
4. MADR. "Recherche agronomique. Ministère de l'agriculture et de développement rural", (2017), Available at <http://madrp.gov.dz/> Accessed April 2020.
5. FAOSTAT. "Données statistiques de la FAO, domaine de la production agricole : Division de la statistique, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture", (2013). Site web : <http://faostat3.fao.org/download/Q/QL/E> Consulté le 24/11/2016.
6. Gacem, M. and Lebas, F., "Rabbit husbandry in Algeria. Technical structure and evaluation of performances". 7th World Rabbit Congress, Valencia, Spain, (4-7 July), (2000), B: 75-80.
7. Zerrouki, N., Kadi, S.A., Berchiche, M. and Bolet, G., "Evaluation de la productivité des lapines d'une population locale algérienne, en station expérimentale et dans des élevages". 11^{ème} Journées de la Recherche Cunicole, Paris, (29-30 novembre), (2005), 11-14.
8. Zerrouki, N., Lebas, F., Gacem, M., Meftah, I. and Bolet, G., "Reproduction performances of a synthetic rabbit line and rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations", World Rabbit Sci, 22, (2014), 269-278.
9. Brun, J.M. and Baselga, M. "Analysis of reproductive performance during the formation of a synthetic rabbit strain". World Rabbit Science, (2005) 13 :239-252.

10. Gacem, M., Zerrouki, N., Lebas, F. And Bolet, G., Comparaison des performances d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie. In Proc, 13^{ème} Journée de la Recherche Cunicole, 17-18 Novembre, (2009). Le Mans, France, 149-152.
11. Ryan, B.C. and Vandenberg, J.G., "Intrauterine position effects", *Neurosci Biobehav Rev*, (2002). 26: 665–678.
12. Vandenberg, J.G. and Huggett, C.L., "The anogenital distance index, a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice". *Laboratory Animal Science*, (1995), 45: 567–573.
13. Bánszegi, O., Altbäcker, V. and Bilkó, Á. "Intrauterine position influences anatomy and behavior in domestic rabbits". *Physiol Behav*, (2009), 98, 258–262.
14. Vom Saal, F.S. "Sexual-differentiation in litter-bearing mammals – Influence of sex of adjacent fetuses in utero". *Journal of Animal Science*, (1989), 67: 1824–1840.
15. Rohde-Parfet, K.A., Ganjam, V.K., Lamberson, W.R., Rieke, A.R., Saal, F.S.V. and Day, B.N., "Intrauterine position effects in female swine: subsequent reproductive performance, social and sexual-behavior". *Appl Anim Behav Sci*, (1990). 26: 349–362.
16. Bánszegi, O., Szenczi, P., Dombay, K., Bilkó, A., Altbäcker V. "Anogenital distance as a predictor of attractiveness, litter size and sex ratio of rabbit does". *Physiol Behav.*, (2012), 105(5): 1226–1230.
17. Nerli, R.B., Shridhar Ghagane, C., Murigendra Hiremath, B., Neeraj Dixit, S. and Shivayogeeswar Neelagund., "Anogenital distance in males attending assisted reproduction center", (2021) <http://www.jscisociety.com> on (March 18), IP: 41.109.24.228 ;
18. Eisenberg, M.L., Larry, I. and Lipshultz, L.I., "Anogenital distance as a measure of human male fertility". *J Assist Reprod Genet*, (2015). 32(3): 479–484.
19. Zhou, N., Sun, L., Yang, H., Chen, Q., Wang, X., Yang, H., Tan, L., Chen, H., Zhang, G., Ling, X., Huang, L., Zou, P., Peng, K., Liu, T., Liu, J., Ao, L., Zhou, Z., Cui, Z. and Cao, J., "Anogenital distance is associated with serum reproductive hormones, but not with semen quality in young men". *Human Reproduction*, (2016), Vol.31, N°5, 958–967.

20. Belabbas, R., García, M.L., Ainbaziz, H., Berbar, A., Zitouni, G., Lafri, M., Bouzouan, M., Merrouche, R., Ismail, D., Boumahdi, Z., Benali, N. and Argente, M., "Ovulation rate and early embryonic survival rate in female rabbits of a synthetic line and a local Algerian population". *World Rabbit Sci.*, 24, (2016), 275- 282.
21. Kadi, S.A., Ouendi, M., Bannelier, C., Berchiche, M. and Gidenne, T., "Nutritive value of sun-dried common reed (*Phragmites australis*) leaves and its effect on performance and carcass characteristics of the growing rabbit". *World Rabbit Sci.*, 26, (2018), 113-121.
22. Belabbas, R., Luz García, M.L., Ainbaziz, H., Benali, N., Berbar, A., Boumahdi, Z. and Argente, M.J., "Growth performances, carcass traits, meat quality, and blood metabolic parameters in rabbits of local Algerian population and synthetic line", *Vet. World*, 12, (2019), 55-62.
23. Cowan, D., "Group living in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): mutual benefit or resource localization?", (1987) *J Anim Ecol*, 56 (3), 779-795.
24. Chu, L., Garner, J. and Mench, J., "A behavioral comparison of New Zealand White rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) housed individually or in pairs in conventional laboratory cages". *Appl. Anim. Behav. Sci.*, (2003) 85 (1-2), 121-139.
25. Mayer, J., "Natural history of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)". (2004).
26. Trocino, A. and Xiccato, G., "Animal welfare in reared rabbits: a review with emphasis on housing systems", *World Rabbit Sci.*, (2006), 14(2), 77-93.
27. Dixon, L., Hardiman, J., Cooper, J., "The effect of spatial restriction on the behavior of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)" *J Vet Behav. Clin. Appl Res.*, (2010), 5(6), 302- 308.
28. Bulliot, C., "Un lapin à la maison". *Rustica*, Paris (2006), 128p.
29. Mykytowycz, R., "Territoriality in rabbit populations"; *Aust. Nat. Hist.* (1964) 14, 326-329.
30. Marsaudon, H., "Le lapin, *Oryctolagus cuniculus*, synthèse des données éthologiques : application au lapin à usage de compagnie. Mémoire". *École Nationale Vétérinaire d'Alfort* (2004), 38 p.
31. Gibb, J., "Sociality, time and space in a sparse population of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)". *J. Zool.*, 229, (1993) pp. 581-607.

32. Mc Bride, A., "Why does my rabbit". Rev edition, (2000) 208p.
33. Verga, M., Zingarelli, I., Heinzl, E., Ferrente, V., Martino, P.A., Luzi, F., "Effect of housing and environmental enrichment on performance and behavior in fattening rabbits". In: Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Pueblo, CAB, (2004) pp. 1283-1288, 1300 p.
34. David, P., "Le comportement du lapin. Etude bibliographique. Application expérimentale au cas particulier du Lapin Sauter d'Alfort". Thèse Med. Vét. École Nationale Vétérinaire de Nantes, (1999) pp 1-137, 137 p.
35. Künkele, J., & Von Holst, D., "Natal dispersal in the European wild rabbit". *Anim Behav.*, 51(5), (1996) pp. 1047-1059.
36. Montagne, F., *Le comportement du lapin familial*. Thèse Med Vét, École Nationale Vétérinaire de Toulouse (1993), 193.
37. Gidenne, T., et Lebas, F., "Le comportement alimentaire du lapin". Paris (2005), 11èmes journées de la Recherche Cunicole,
38. Jordan, D., Gorjanc, G., Kermauner, A., et Stuhec, I., "The Behavior of Individually Housed Growing Rabbits and the Influence of Gnawing Sticks as Environmental Enrichment on Daily Rhythm of Behavioural Patterns Duration". *Acta agri Slov*, 98(1), (2011) pp. 51-61.
39. Reiter A. 2008. "Pathology of Dental Disease in the Rabbit", *Guinea Pig, and Chinchilla. J Exot Pet Med*, 17(2), (2008) pp. 70-77.
40. Küpfer, D., "Kofffressen bei Hasentieren". *Degupedia Magazin* (2011).
41. Quinton, J.F., "Les lapins". In: *Nouveaux Animaux de Compagnie : petits mammifères*". Masson, Issy-les-Moulineaux, (2003) pp. 57-73, 222 p.
42. Bays, T.B., Lightfoot, T., Mayer, J., "Comportement des lapins". In: Bobu D, (editor). "Comprendre le comportement des NAC". Elsevier Masson SAS, Issy-les-Moulineaux, (2008) pp. 1-58, 407 p.
43. Crowell-Davis, S., "Rabbits. In: Tynes V" (editors). *Behavior of exotic pets*. Blackwell Publishing, Oxford, (2010) pp. 69-77, 248p
44. Fuentes, V., Villagram C., Navarro J., "Sexual behavior of male New Zealand white rabbits in an intensive production unit. *AnimReprodSci*, 80(1-2), (2004) pp. 157-162.
45. Quesenberry, K., Carpenter J., "Rabbits. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents, Clinical medicine and surgery*", 3rd edition. Saunders Elsevier, St Louis, (2011) pp. 157-171, 608p.

46. Buijs, S., Keeling, L., & Tuytens, F., "Behavior and use of space in fattening rabbits as influenced by cage size and enrichment". *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 134(3-4), (2011) pp. 229-238.
47. Hansen, L., et Berthelsen, H., "The effects of environmental enrichment on the behavior of caged rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Appl Anim Behav Sci.*, 68(2), (2000) pp. 163-178.
48. Bulliot, C., "Un lapin à la maison : le choisir, le comprendre, le soigner", Editions Rustica (2007).
49. Rödel, H., Mondus, R., & Von Holst, D., "Behavioral styles in European rabbits: Social interactions and responses to experimental stressors". *Physiol Behav*, 89(2), (2006) pp. 180- 188.
50. Mykytowycz, R., et Dudzinski, M., "Aggressive and Protective Behaviour of Adult Rabbits *Oryctolagus Cuniculus* toward Juveniles. *Behaviour*, 43(1), (1972) pp. 97-120.
51. Hudson, R., Distel, H., "Pheromonal release of suckling in rabbits does not depend on the vomeronasal organ". *PhysiolBehav.* 37(1), (1986) pp. 123-128.
52. Arteaga, L., Bautista, A., Martinez-Gomez, M., Nicolas, L., Hudson, R., "Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits". *Physiolbehav*, 94(3), (2008) pp. 510-515.
53. Stein, S., Walshaw, S., "Rabbits". In: Laber-Laid K, Swindle M & Flecknell P (editors). *Handbook of rodent and rabbit medicine*. Pergamon, (1996) 278 p.
54. Mitchell, M., Tully, T., "Rabbits". In: *Manual of Exotic Pet Practice*". Saunders Elsevier, St Louis, (2008) pp. 375-378, 546 p.
55. Mykytowycz, R., "Further observations on the territorial function and histology of the submandibular cutaneous (chin) glands in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*" (L.). *Anim. Behav.* (1965) 13:400–412.
56. Melo, A. I., Gonzalez-Mariscal, I., "Communication by olfactory signals in rabbits: its role in reproduction". *VitamHorm.* (2010); 83:351-71.
57. Soares, M. J., and Diamond, M., "Pregnancy and chin marking in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*". *Anim. Behav.* (1982) 30, 941–943.
58. González-Mariscal, G., Melo AI., Zavala, A., Beyer, C., "Variations in chin-marking behavior of New-Zealand female rabbits throughout the whole reproductive-cycle". *Physiology and Behavior*, (1990) 48:361–365.

59. Hillyer, E.V., Quesenberry K.E., "Ferrets, Rabbits and Rodents", Clinical medicine and surgery, Philadelphia, W.B Saunders Company,(1997) 432 p.
60. Melo, A. I., Chirino, R. J., Jiménez, A., Cuamatzi, E., Beyer, C., and Gonzalez-Mariscal, G., "Effect of forebrain implants of testosterone or oestradiol on scent-marking and sexual behavior in male and female rabbits". *Horm Behav.*, 54(5), (2008) pp. 676-683.
61. Ramírez, V.D., Beyer, C., "The ovarian cycle of the rabbit: its neuroendocrine control". In: Knobil, E., Neill J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven (1988).
62. Beyer, C., et Rivaud, N., "Sexual behavior in pregnant and lactating domestic rabbits". *Physiol. Behav.* (1969) 4, 753–757.
63. Stoufflet, I., and Caillol., "Relation between circulating sex steroid concentrations and sexual behavior during pregnancy and post partum in the domestic rabbit. *J. Reprod. Fert.* (1988) 82, 209–218.
64. Hudson, R., González-Mariscal, G., Beyer, C., "Chin marking behavior, sexual receptivity, and pheromone emission in steroid-treated, ovariectomized rabbits". *Hormone and Behavior* (1990) 24:1–13.
65. Bradley Bays, T., "Rabbits: understanding normal behavior". *Exotic DVM* 2 (2000), (1): 19– 24.
66. Walshaw, S.O., "Behaviour problems. In *BSAVA manual of rabbit medicine and surgery*, (2006) pp. 137 – 143. BSAVA, Gloucester, GB.
67. Barone, R., Pavoux, C., Blin, P.C., Cuq, P., "Atlas d'anatomie du lapin. Masson éditeur , Paris (1973), 220pp.
68. Altbäcker. I., et Bilkó ., Á., "Study of chin marking behaviour in european rabbit. *Ethology practical* (2013).
69. Hegelen, M.,et Thiriet, A., "Atlas photographique de l'anatomie clinique des NAC petits mammifères à l'exception du furet". *Doctorat vétérinaire. faculté de médecine de créteil* (2012).
70. Mc Bride, A., Magnus, E., Hearne, G., "Behaviour Problems in the Domestic Rabbit" eprints.soton.ac.uk (2004).
71. Anonyme, "Comportements sexuels du lapin de compagnie" (2011) <http://comportementdulapin.com>

72. Drickamer, L.C., "Intra-uterine position and anogenital distance in house mice: consequences under field conditions". *AnimBehav* (1996) 51: 925–934.
73. Altbäcker, V., Bánszegi, O., "How intrauterine development affects later rank and anogenital; distance in rabbit. *Ethology practical*. Alvarino M.R., 1993. *Control de la reproduction en el conejo*". 1^{er} éd., IRYDA, Mundi-Prensa, (2013) 137 p.
74. Vandenberg, J.g., Huggett, C.I., "Mother's prior intrauterine position affects the sex-ratio of her offspring in House mice". *P Natl Acad Sci USA* (1994) 91: 11055– 11059.
75. Vandenberg, J.g., Huggett, C.I., "The anogenital distance index, a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice". *Lab AnimSci* (1995) 45: 567–573.
76. Meise, I.R.I., Ward, I.I., "Fetal female rats are masculinized by male littermates located caudally in the uterus". *Science* (1981) 213: 239–242.
77. Palanza, P., Gioiosa, L., Paramigiani, S., "Social stress in mice: Gender differences and effects of estrous cycle and social dominance. *Physiologie et Behavior*. (2001) 73. P411-420.;
78. Vom Saal, F.S., Dhar, M.G., "Blood-flow in the uterine loop artery and loop vein is bidirectional in the mouse — implications for transport of steroids between fetuses". *Physiol Behav*;(1992) 52(1): 163–71.
79. Theau-Clément, M., Michel, N., Pujardieu, B., Bolet, G., Esparbié, J., "Influence de la photopériode sur l'ardeur sexuelle et la production de semence chez le lapin". 6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle (France), 6-7 Décembre 1994, vol. 1, 179-186.
80. Roselli, C.E., Thornton, J.E, Chambers, K.C., "Age-Related Deficits in Brain Estrogen Receptors and Sexual Behavior of Male Rats". *Behavioral Neuroscience* (1993) 107 (1): pp202-9.
81. Keller, M., "Comportements sexuels" Saint-Dizier M, Chastand (2014).
82. Quinton, J.F, "Atlas des nouveaux animaux de compagnie - petits mammifères" 2^{ème} édition. Elsevier/Masson. (2015) 273p.
83. Longo, L., "Guide du perroquet de compagnie". Artémis (2016) 144p.
84. Geyer, L.A., Barfield, R.J., "Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic". *Psychol*. 92 (1978); (438–446).

85. Meisel, R.L., Sachs, B.D., "The physiology of male sexual" behavior. In: Knobil E, Neill JD, editors. *Physiology of Reproduction*. 2. Raven Press; New York (1994) pp. 3–106.
86. Odberg, F., "Abnormal behaviours: (stereotypies)". In: *Proceedings of the 1st Worm Congress on Ethology Applied to Zootechnics (Editorial Garsi)*, Madrid: Industrias Graficas, Espana, (1978). pp. 475-480.
87. Jiménez, P., Serrano-Meneses, M. A., Cuamatzi, E., González-Mariscal, G., "Analysis of sexual behaviour in male rabbits across successive tests leading to sexual exhaustion". *World Rabbit Sci.* (2012) 20: 13 – 23.
88. Beyer, C., Velazquez, J., Larsson, K., et Contreras, J. L., "Androgen regulation of the motor copulatory pattern in the male New Zealand White rabbit. *Horm. Behav.* (1980) 14, 179–190.
89. Contreras, J.L., Beyer, C., "A polygraphic analysis of mounting and ejaculation in the New Zealand white rabbit". *Physiol. Behav.* (1979) 23: 939-943.
90. Rubin, H.B., Azrin, N.H., "Temporal patterns of sexual behavior in rabbits as determined by an automatic recording technique". *J Exp Anal Behav.* (1967) Mar;10(2):219-31
91. Fuentes, V.O., Villagrán, C., Navarro, J., Fuentes, P.I., "Effect of small doses of naloxone on sexual exhaustion in White New Zealand male rabbits". *Anim. Reprod. Sci.*, 90: 341-346.
92. Melin, P., Kihlström, J.E., "Influence of oxytocin on sexual behavior in male rabbits". *Endocrinology* (1963), 73: 433-435.
93. Larsson, K., "Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual" behavior. In: Beyer, C. (Ed.) *Endocrine control of sexual behavior*. Raven Press, New York (1979), 77-163.
94. Sachs, B. D., et Meisel, R. L., "The physiology of male sexual behavior". In E. Knobil & J. D. Neill (Eds.), *the physiology of reproduction* (pp. 1393-1486). New York (1988): Raven.
95. Larsson, K., "Conditioning and sexual behavior". *Acta Psychologica Gothoburgensia I.* (1956). P 269.
96. Beach, F.A., Jordan, L., "Sexual exhaustion and recovery in the male rat". *Q. J. Exp. Psychol* (1956), 49: 121-133.

97. Rodríguez-Manzo, G., Fernández-Guasti, A., "Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents". *Behav. Brain Res.* (1994), 62: 127-134.
98. Barone, R., "Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie 1 : Appareils digestif et respiratoire » paris (1984), vigot, 896.
99. Boussit D., "Reproduction et insémination artificielle en Cuniculture. Association Française de Cuniculture", Ed. Lemp des France (1989), 234 p.
100. Muller, Y., et Clos J., "La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation)". Edition Nathan, Paris (1997): 9-31.
101. Barone, R., "Anatomie comparée des mammifères domestiques". Tome 4: Splanchnologie II, Ed. Vigot, (2001) 920 p.
102. Castro, A.C.S., Berndtson, W.E., Cardoso, F.M., "Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits". (2002) *Br. J. Med. Biol. Res.* 35: 493-498.
103. Van Praag, E., "Appareil reproducteur mâle du lapin et Orchidectomie (castration chirurgicale)"; (2002) Accès internet : http://www.medirabbit.com/FR/Skin.../Fusobacterium_fr.pdf (page consultée le 20.5.2016).
104. Cerolini, S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli, I., Schiavone A., Zaniboni, L., "Le Point-Avicoltura Coniglicoltura". Cap: Apparato riproduttore Vétérinaire Italie. Milano, Italy (2008). pp. 412-439.
105. Barone, R., "Anatomie comparée des mammifères domestiques". 2^{ème} édition. Vigot. (1990), tome 4, p: 317, 335, 337, 339, 363, 369 ; 951.
106. Alvarino, M.R., 1993. "Control de la reproduccion en el conejo". 1er éd., IRYDA, mundi-prensa, (1993)137p.
107. Rosenbaum, M.D., "Détermination du sexe chez les petits mammifères". Lafeber Vet (2010).
108. Solau Poissonet, C., "Principales maladies du lapin, du cobaye, du chinchilla, du hamster et du rat de compagnie". Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Créteil. (2004) 128p.
109. Quinton, J.F., "Atlas des Nouveaux Animaux de Compagnie". Issy-les-Moulineaux. Elsevier-Masson, Chapitre Contention, (2009) 82-87.

110. Garreau, H., Theau-Clement, M., "Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication. in: Le lapin : de la biologie à l'élevage" (Gidenne T., ed.), Quae. (2015), 13-32.
111. Barone, R., "Anatomie comparée des Mammifères domestiques" : Tome 3 : Splanchnologie 2 : Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. Paris (1978): Vigot.-896p.
112. Hamilton, D. W., "Anatomy of mammalian male accessory reproductive organs". In Marshall's Physiology of Reproduction, reproductive in the Male. Ed GE Lammi, Church. Livingst ., Edinburgh (1990). 2: 691-746.
113. Takano, H., "Qualitative and quantitative histology and histogenesis of the mouse epididymis, with special emphasis on the regional difference (author's transl)". Kaibogaku Zasshi (1980) 55, 573-587.
114. Abe, K., Takano, H., And Ito, T., "Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells". Arch Histol Jpn (1983) 46, 51-68.
115. Abou-Haila, A., And Fain-Maurel, M.A., "Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: morphological and histochemical characterization". Anat Rec 209, 197-208. Academic/ Plenum Publishers), (1984) pp. 81-102.
116. Johnston, D.S., Jelinsky, S.A., Bang, H.J., Dicanelore, P., Wilson E., Kopf, G.S, et Turner, T.T., "The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis". Biol. Reprod. (2005). 73:404-410.
117. Dacheux F., And Dacheux J.L., "L'épididyme et les glandes annexes. In La reproduction chez les mammifères et l'homme", I. Editions, ed. (Paris, EditionsEllipses), (2001). pp 290- 315.
118. Bonnes, G., Desclaude, J., Desclaude, J., Drogoul, C., Gadoud, R., Jussiau, R., Le Loc'h, A., Montémas, L., et Robin G., "Reproduction des animaux d'élevage". 2 éme Ed. Educagri : (2005). 407p.
119. Richardson, V., "Rabbits health, husbandry and disease". Blackwell science, Oxford. (2000). 178p.

120. Harcourt-Brown, F., "Biological characteristics of the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculi*)". In: Textbook of Rabbit Medicine. Elsevier Science. (2002). 410p.
121. Meredith, A., Redrobe S., "Manual of exotics pets". 4ème ed. Bsava, Quedgeley. (2002). 304p.
122. Roger, T., "Anatomie comparée des Animaux de Laboratoire". Lyon (2002): ENV.- p 20.
123. Holtz, W., et Foote, R.H., "The anatomy of the reproductive system in male dutch rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with special emphasis on the accessory sex glands". Journal of Morphology, (1978). 158: 1-20.
124. Lebas F., "Document Cuniculture: Biologie des lapins. Recherche INRA (1996) [En ligne]. Accès internet: www.cuniculture.info/Docs/.../biologie-01.htm (page consulté le 1^{er} janvier 2017).
125. Johnstons, D., Rootkustritzm, V., Olsonp., N.S., "Canine and Feline Theriogenology". Saunders Company. Philadelphia (2001). 592p.
126. Campos, A.C.N., Gadelha, C.R.F., Guerreiro, M.E.F., Pereira, E.S., Lima, I.C.S., Linard, M.A.B., Meneses, H.M., Castelo-Branco, K.F., and Estevam, F.N.L., "Male Rabbit Reproductive. Physiology". Standard Research Journal of Agricultural Sciences Vol 2(8), (2014).120-128,
127. Stevens, A. et Lowe, J., "Histologie humaine". Traduction de la deuxième édition anglaise par Pierre Validire. Boeck Supérieur. (1997). p 309.
128. Vacheret, N., "Histologie fonctionnelle des organes" (en ligne). Faculté de Médecine. Laennec. Université Claude Bernard, Lyon 1, France (1999) : 1-4.
129. Siffori, J.P., "L'appareil génital masculin" (en ligne). Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hopital Teno : (2001) 1-45.
130. Bourgrès-Abella, N., "Module Sciences morphologiques Histologie"- Ecole Nationale Vétérinaires de Toulouse. (2008).
131. Wrobel, K.H., "Male reproduction system". In: Textbook of Veterinary Histology, 2ème Ed: (1990). 226-243.

132. Boukhzer, E.B. "Caractérisation d'un récepteur membranaire de la transcobalamine II au niveau des cellules de la ligne germinale male du lapin", Thèse présentée à Université de Nancy 1 pour obtention du grade de docteur de universite de Nancy 1 Option" Biochimie, (1995), 106p.
133. Colecchia, M., and Clerici, C.A. "Enrico Sertoli and the supporting cells of the testis. (Morphology is function) ". *Pathologica*, (2019), 111:375-81.
134. Abraham, I., et Kierszerbaum, "Histologie et biologie cellulaire" (2006).
135. Hazard, J., et Perlemuter, L., "Endocrinologie", Abrégé. Edition Masson, Paris (2000) : 363-375.
136. Russel, L.D., and Griswold, M.D. "Sertoli cell. In: The Sertoli cell' edition Cache River Press, Clearwater, FL, États-Unis, (1993), 1-747.
137. Tran, N., Servos, G., and Haider,S.G., "Ultrastructure of cell contacts of fetal and adult Leydig cells in the rat: a systematic study from birth to senium". *Anat Embryol (Berl)*, 211(4), (2006), p. 273-82.
138. Haider, S.G., "Leydig cell steroidogenesis: unmasking the functional importance of mitochondria". *Endocrinology*. (2007) 148(6): p. 2581-2. 15.
139. Hales, D.B., "Leyding cell-macrophages interactions: an overview". *The Leydig cell*. A. H. Payne, M.P. Hardy and L.D. Russell. Vienna, IL, Cache river press: (1996), pp 451-466.
140. Akpovi, C.D., "Les transporteurs sélectifs de cholestérol SR-BI, SR-BII, CD36 et ABCA1 contribuent au maintien de l'homéostasie du cholestérol intratesticulaire" *Pathologie et Biologie Cellulaire Médecine*. Thèse présentée à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de Ph. D. en Pathologie et Biologie Cellulaire option Biologie Cellulaire, Montréal, (2008), 231p.
141. Robaire, B., et Hermo, L., "Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In *The physiology of Reproduction*": 999-1080 Eds Knobil E. et Neill J. Rav. Pres. New-York (1988).
142. Robaire, B., Hinton, B.T., et Orgebin-Crist, M.C., "The epididymis". In Neill J.D. (ed.) *Physiol. Of Reprod*. Third. Edition. Elsevier: New-York (2006), 1071-1148.

143. Cornwall, G.A., "New insights into epididymal biology and function". *Hum. Reprod. Upd.* 15 : 213-227.
144. Shum, W.W., Ruan, Y.C., Da Silva, N., et al., "Establishment of cell-cell cross talk in the epididymis": control of luminal acidification. *J. Androl.* (2011) 32: 576-586.
145. Hermos, L., et Robaire, B., "Epididymal cell types and their functions. In Robaire B., Hinton B.T. *The epididymis: From Molecules to Clinical Practice*". Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2002): 81-102.
146. Ramos, A.S., JR., et Dym, M., "Fine structure of the monkey epididymis. *Am. J. Anat.* (1977)149: 501-531.
147. Flickinger, C.J., Howards, S.S., et English, H.F., "Ultrastructural differences in efferent ducts and several regions of the epididymis of the hamster. *Am. J. Anat.* (1978) 152: 557-585.
148. Jones R., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. 1979. "Morphology of the epithelium of the extratesticular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adulte male rabbit". *Am. J. Anat.* (1979), 56 : 373-400.
149. Martinez-Garcia, F., Regadera, J., Cobo, P., Palacios, J., Paniagua, R., And Nistal, M., "The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis". *Andrologia* 27, (1995)195-206.
150. Soranzo, L., Dadoune, J.P., and Fain-Maurel, M.A., "Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study". *Reprodu Nutr Dev* 22, (1982), 999-1012.
151. Robaire, B., and Viger, R.S., "Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol Reprod* 52, (1995), 226-236.
152. Hermo L., Adamali H.I., And Andonian S., "Immunolocalization of CA II and H⁺ VATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl* 21,(2000) 376-391.
153. Hoffer, A.P., Hamiton, D.W., et Fawcett, D.W., "The ultrastructure of the principal cells and interaepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis". *Anat. Rec.* 175(1973) : 169-201.
154. Serre V., and Robaire B., "Dictribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content". *Biol Reprod* 61, (1999), 705- 714.

155. Seiler P., Cooper T.G., and Nieschlag E., "Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis". *Int J Androl* 23, (2000), 65-76.
156. Welsch, U., "Précis D'histologie. Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique".- Tournai (Belgique):éd Médicales internationales. (2002), 260p.
157. Robel, P., "la stéroïdogénèse : les enzymes et la régulation de leur expression génomique" (2001).
158. Parapanov, R., et Vargas, J., "Spermatogénèse et perturbateurs endocriniens : étude sur la qualité du sperme en suisse", Fondation andrologie. Biologie. Endocrinologie, reproduction Faber, Suisse (2009).
159. Fortun-Lamothe, L ; Theau-Clément, M ; Combes, S ; Allain, D ; Lebas, F., Le Normand, B., Gidenne, T., "Physiologie, In Gidenn, T : Le lapin de la biologie à l'élevage". Edition quae. (2015) P 33-76.
160. Macari, M., Machado, C.R., "Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of the semen". *Laboratory Animals*. (1978), 12: 37-39.
161. Skinner, J.D., "Puberty in the male rabbit". *Journal of Reproduction and Fertility*". (1967) 14: 151-154.
162. Fraser, K.W., "Reproductive biology of rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in Central Otago, New Zealand". *New Zealand J. Ecology*. (1988), 11: 79-88.
163. Richardson, V., "Rabbits health, husbandry and disease". Blackwell science, Oxford. (2000), 178p.
164. Boussarie, D., "Consultation des petits mammifères de compagnie". Edition du point vétérinaire. (2003), 210p.
165. Lebas, F., Coudert, P., Rochambeau, H., Thébault, R.G., Rouvier, R., "Reproduction", 45-10, In: *The Rabbit: Husbandry, Health and Production*, FAO (1997).
166. Amann, R.P., Lambiase, J.R., J.T. "The Male Rabbit: I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age". *J. Reproduction and Fertility*. (1967), 14: 329-332.

167. Chubb, C., Ewing, L., Irby, D., Desjardins, C., "Testicular maturation in the rabbit: secretion of testosterone, dihydrotestosterone, 5α -androstane- $3\alpha,17\beta$ -diol and 5α -androstane- $\beta,17\beta$ -diol by perfused rabbit testes-epididymides and spermatogenesis". *Biology of Reproduction* 18, (1978), 212-218.
168. Frame, S.R., Hurtt, M.E., Green, J.W., "Testicular maturation in prepubertal New Zealand white rabbits". *Veterinary Pathology*. (1994) 31: 541- 545.
169. Garcia-Tomas, M., Sanchez, J., et Piles, M., "Post-natal sexual development of testis and epididymis in the rabbit: variability and relationships among macroscopic and microscopic markers". *Animal Reproduction*, (2009), 110: 347-355.
170. Lebas, F., "Cuniculture, biologie du lapin". (2011) www.cuniculture.info (accès le 27/12/2011).
171. Lebas F., "Quel génotype pour la production du lapin « bio ». *cuniculture magazine*", (2009), 36,5-8.
172. Morton, D., "The use of rabbits in male reproductive toxicology". *Environmental Health Perspectives*. (1988), 77: 5-9.
173. Bousseau, S., "Technique, récolte et conservation du sperme" In : Journée de l'AERA, Ecole nationale vétérinaire,. Edition : Association pour l'étude de la reproduction animale, Maisons-Alfort. 20 janvier (1994). 94p
174. Orgebin-Crist, M.C., "Gonadal and epididymal sperm reserves in the rabbit: estimation of the daily sperm production". *Journal of Reproduction and Fertility*. (1968), 15: 15-25.
175. Ewuola, E., Egbunike, G.N., "Gonadal and extra-gonadal sperm reserves and sperm production of pubertal rabbits fed dietary fumonisin" *B. Animal Reproduction Science*. (2010), 119: 282–286.
176. Alvariño, J.M.R., "Reproductive performance of male rabbits". 7th world rabbit congress, world rabbit sci., Valencia (Spain) 4-7 juillet, (2000), 8 supplement N°1 a, 13-35p.
177. Amann, R.P., Lambiase Jr JT., "The Male Rabbit. III. Determination of daily sperm production by means of testicular homogenates". *J. Animal Sci*. (1996), 28: 369-374.

178. Holtz, W., Foote, H., "Sperm production, output and urinary loss in the rabbit. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine". (1972), 141: 958-962.
179. Theau-Clément, M., Brun, J.M., Sabbion, E., Castellini, C., Renieri, T., Besenfelder, U., Falières, J., Esparbié, J., Saleil, G., "Comparaison de la production spermaturique de trois souches de lapins : moyennes et variabilités". 10èmes Journées de la Recherche Cunicole, INRA 6 ITAVI 19-20 novembre 2003, Paris (France), p. 81-88.
180. Parez, V., "Reproduction chez la lapine, éléments de synthèse". Bulletin des groupements techniques vétérinaires. (94-4-AV-065), (1994), 43-46.
181. Tulsiani, D. R., Abou-Haila, A., Loeser, C.R., and Pereira, B.M. "The biological and functional significance of the sperm acrosome and acrosomal enzymes in mammalian fertilization". Exp: Cell Res, (1998), 240(2), 151-164.
182. Rieutort, M., "Physiologie animale, les grandes fonctions". Edition Masson, Paris (1986), p 281.
183. Luangpraseuth-prosper, A. "Topaz1, un gène indispensable à la spermatogenèse". THESE pour obtenir le grade de docteur de l'Université d'Evry-Val-d'Essonne Spécialité Reproduction et Développement. (2015), 144p.
184. Castro, A.C.S., Berndtson, W.E., et Cardoso, M., "Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits". Braz. J.Med. Biol. Res. (2002), 35:493-498.
185. Lebas, F., "Le jeune : de la conception au sevrage. la sélection des qualités maternelle pour la croissance du lapereau". Cuniculture magazine volume 31, (2002), 3-10.
186. Zhang, R.D., Wen, X.H., Kong, L.S., Deng, X.Z., Peng, B., Huang, A.P., Wan, Y., Yang, Z.W., "A quantitative (stereological) study of the effects of experimental unilateral cryptorchidism and subsequent orchiopexy on spermatogenesis in adult rabbit testis". Reproduction (2002), 124: 95-105.
187. Hua, K.W., Zheng, G.U., Ning, J., Land, Tso K.J., "Temperature dependent expression of cdc2 and cyclin B1 in spermatogenic cells during spermatogenesis". Cell Research. (2000), 10, 289-302.

188. Amann, R.P., "Sperm production rates". In Johanson A.D., Gomes W.R., VanDemark N.L., (Ed.) *the Testis*, Acade. Pres., New York (1970), 1: 433.
189. Theau-Clement, M., Sanchez, A., Duzert, R., Saleil G., Brun, JM., "Etude de facteurs de variation de production spermatique chez le lapin". 13ème journée de la recherche cunicole, 17-18 novembre (2009), Le mans, France.
190. Bedford, J.M., "Effects of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbit". *J. of Exp. Zoo.* (1967), 163: 271-281.
191. Briz, M. D., Bonet,S., Pinart,B., Egozcue, J., and Camps, R., "Comparative study of boar sperm coming from the caput, corpus, and cauda regions of the epididymis". *Journal of Andrology* (1995), 16:175-188.
192. Yeung, C.H., Perez-Sanchez, F., Soler, C., Poser, D., Kliesch, S., Cooper, T.G., 1997. "Maturation of human spermatozoa (from selected epididymides of prostatic carcinoma patients) with respect to their morphology and ability to undergo the acrosome reaction". *Hum Reprod Update* (1997), 3: 205-13.
193. Jones, R.C., "To store or mature spermatozoa? The primary role of the epididymis". *Int. J. Androl.* (1997), 22:57-67.
194. Dadoune, J.P., et Demoulin, A., "Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. *La reproduction chez les mammifères et chez l'homme*". Edition INRA, Paris (2001), 256-289.
195. Cooper, T.G., "Sperm maturation in the epididymis: a new look at an old problem". *Asian J Androl;* (2007), 9:533-9.
196. Sutovsky, P., Moreno, R., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Thompson, W.E., et Schatten, G., "A putative, ubiquitin- dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis". *J. Cell. Sci.* (2001), 114:1665-1675.
197. Bedford, J. M., Calvin,H., and Cooper, G. W., "The maturation of spermatozoa in the human epididymis". *Journal of Reproduction and Fertility*" Supplements (1973), 18: 199-213.
198. Yanagimachi, R., "Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity". *Zygote*. 2nd Ed. Raven Press, New York (1994), NY, USA.2: 371-372.

199. Dacheux, J. L., Gatti, J.L. and Dacheux. F. "Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation". *Microscopy Research Technique* (2003), 61:7-17.
200. Riar, S.S., Setty, B.S., et Kar, A.B., "Studies on the physiology and biochemistry of mammalian epididymis: Biochemical composition of epididymis. A comparative study. *Fertility and Sterility*",(1973), 24: 355-363
201. Britan, A., "Développement, optimisation et utilisation d'un système cellulaire de l'épithélium épидидymaire murin: Approches moléculaire". Thèse Doctorat, Ecole des Sciences de la vie et de la sant. Université Blaise Pascal d'Auvergne (2006), 83p.
202. Bedford, J.M., "Morphological changes in rabbit spermatozoa during passage through the epididymis". *Journal of Reproduction and Fertility*, (1963) 5: 169-177.
203. Hanzen, Ch., "La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants". Année : (2008-2009), 21 p.
204. Gaddum, P., "Sperm maturation in male reproductive tract. Development of mortality". *Anatom. Rec*, (1968), 161 (4), 471-482.
205. Tash, J.S., et Bracho G.E., "Identification of phosphoproteins coupled to initiation of motility in live epididymal mouse sperm". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1998), 251: 557- 563.
206. Eddy, E.M., Toshimori, K., et O'Brien, D.A., "Fibrous sheath of mammalian spermatozoa *Microsc*". *Res. Tech.* (2003), 61, 103-115.
207. Ectors, F., « *Physiologie humaine* », 3^{ème} édition, (2015).
208. Buttle, H.L., "Seasonal variation of prolactin in plasma of male goat". *J. Repro. Fert*, (1974) 37, 95-99.
209. Berger, M., Jean-Faucher, C.H., De Turckheim M., Veyssiere G., et Jean C.I., "La maturation sexuelle du lapin mâle". 3^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 8 et 9 décembre 1982, Paris, 1-11.
210. Chemineau, P.J.A., et Delgadillo, "Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins". *INRA. Prod.Anim.* (1994), 7(5). 315-326.
211. Thibault, C., et Levasseur, M.C., "La reproduction chez les mammifères et l'homme". *INRA. Ellipses Edition Marketing S. A.* (2001), p 928.
212. Vaissaire, J.P, "Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoires". *Maloine S.A Editeur.* (1977), p 457.

213. Cohen-Tannoudji, J., Combarous, Y., Counis, R., "La sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires et sa régulation". Saint-Dizier M, Chastand- Maillard S (dir). In La reproduction animale et humaine, Quae (2014), pp185-204.
214. Pak, T., Chung, W., "Neuroendocrine control of gonadotropins in mammals ». Norris D, Lopez K(dir). In Hormones and reproduction of vertebrates - Mammals, 5: Elsevier. (2011), pp25-44.
215. Muduuil, D.S., Stanford, L.M., Pamer, W.M., Howland, B.E., "Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the pygmy goat". J. Anim. Sci. (1979), 49, 543-553.
216. Lacombe, A., Lelievre, V., Roselli, C.E., "Delayed testicular aging in pituitary adenylatecyclase activating peptide (PACAP)" nullmice. Proc Natl AcadSci USA (2006), 103: 3793-8.
217. Mc Donald, M.E., "Veterinary endocrinology and reproduction". Lea et Febiger edition 3rd (1980), 560p.
218. Counis, R., Combarous, Y., Chabot, V., Taragnat, C., "Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires". In Thibault C, Levasseur M-C. La reproduction chez l'homme et les mammifères. Quae (2001), pp 63-84.
219. Brinsko, S.P., "Reproductive physiology of the male. In Textbook of Veterinary Physiology". Saunders (2007), p 517-525.
220. Clarisse M.L., "Etude des mécanismes d'action mis en jeu par la testostérone dans la régulation du comportement sexuel mâle". Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI (2012).
221. Quiles, A., et Hevia, M.L., "Bases fisiozootécnicas de la reproducción en cunicultura". Agricultura : Revista agropecuaria. N° 814, (2000), p 270-273.
222. Mukherjee, D.P., Johari, M.P., Bhattacharya, P., "The gelatinous mass in rabbit semen". Nature (1951), 168: 422 – 423.
223. Vaissaire, J.P., "Lapin et rongeurs : normes physiologiques, hématologiques et biochimiques, alimentation, In : Pathologie du lapin et des rongeurs domestiques", 2ème Ed, Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, Maison Alfort (1995), 21 : 35.

224. El-Azim, A.A., El-kamash, E.M., "Evaluation of semen quality and its relation to mating system for some breeds of rabbits under environmental conditions in the middle of egypt". *Egyptian Poultry Sci. J.* (2011), 31: 467-480.
225. Del Niño Jesus, A., Muñoz, L., Josa, A., Espinosa, E., Gracia, M., Martinez, G., Leuza, M.P., "Modifications of some parameters of the rabbit ejaculate after ablation of the vesicular gland". *World Rabbit Science* (1997), 5: 3 – 5.
226. Holtz, W., Foote, H., "Composition of rabbit semen and the origin of several constituents". *Biology of Reproduction* (1978), 18: 286 -292.
227. Quesenberry, K.E., Donnelly, T.M., Hillyer, E.V., "Biology, Husbandry, and Clinical Techniques of Guinea Pigs and Chinchillas". In: K.E. Quesenberry, J.W. Carpenter (eds). *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*, 2nd ed., Philadelphia, PA:Elsevier (2004), 232 - 244.
228. Ponthier, J., Van Den Berghe, F., Parrilla-Hernandez, S., Hanzen, C., et Deleuze, S., "Congélation du sperme dans l'espèce équine: état des lieux et perspectives" (2014).
229. Baril, G., Chemineau, P., Cognie, Y., Guérin, Y., Leboeuf, B., Orgeur, P., et Vallet, J.C., "Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins". *FAO, Rome Italie* (1993), 231 p.
230. Boiti C., Castellini C., Theau-Clément M., Besenfelder U., Liguori L., Renieri T., et Pizzi F., "Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen". *World Rabbit Science*, (2005), 13: 71-91.
231. Millette, C.F., "Spermatozoa". In: *Encyclopedia of reproduction*. Volume 4. Knobil E., Neill J.D. Academic Press (1998).
232. Brito, L. F.C., "Evaluation of Stallion Sperm Morphology". *Clinical Techniques in Equine Practice*. (2007), Vol. 6, n° 4, p 249-264.
233. Prins, G., "Semen". In : *Encyclopedia of reproduction*. Volume 4. Knobil E., Neill J.D. Academic Press (1998).
234. Castellini, C., Lattaioili, P., Minelli, A., et Moroni. M., "Effect of plasma on the characteristics and fertility of rabbit spermatozoa". *Anim, Repro. Sci.* (2000), 63:275-282.

235. Arruda-Alencar, J.M., "Parâmetros seminais e composição bioquímica do plasma seminal de coelhos criados no nordeste do Brasil. (Unpublished Master These, Federal University Ceara (2011).
236. Zaniboni, L., Gliozzi, T., Maldjia, A., Luzi, F., Cerolini, S., "Fatty acid and tocopherol composition of semen components in the rabbit". Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla. (2004), 365-370.
237. Castellini, C., Cardinali, R., Dal Bosco, A., "Lipid composition of the main fractions of rabbit semen". Theriogenology. (2006), 703-712.
238. Castellini, C., Mourvaki, E., Dal Bosco, A., Galli, F., "Vitamin E biochemistry and function: A case study in male rabbit. Reproduction in Domestic Animals J. (2007), 42: 248–256.
239. Lukáč, N., Massányi, P., Kročková, J., Nad', P., Slamečka, J., Ondruška, L., Formicki, G., Trandžík, J., "Relationship between trace element concentrations and spermatozoa quality in rabbit semen". Slovak Journal of Animal Science. (2009), 42: 46-50.
240. Bencheick, N., "Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin" ; Ann.Zootech (1995), 44, 263-279p.
241. Castellini, C., "Semen production and management of rabbit bucks". 9 th World Rabbit Congress, Verona (Italy), 10-13 June (2008), 265-277.
242. Castellini, C., "Recent advances in rabbit artificial insemination". 6th World Rabbit Congress, Toulouse France (1996), 2: 13-26.
243. Crimella, C., Luxi, F., et Grilli, G., "The reproductive efficiency of the bucks in different genotypes". J. App. Rabbit. Res. (1992), 15: 480-488.
244. Virage, G.Y., Mézes, M., et Bersény, A., "Effect of independent factors on semen characteristics in rabbit". J. App. Rabbit. Res. (1992), 15: 499-504.
245. Hassanien, H.H.M., Baiomy, A.A., "Effect of breed and parity on growth performance, litter size, litter weight, conception rate and semen characteristics of medium size rabbits in hot climates". Egyptian Poultry Science Journal. (2011), 31: 90-113.
246. Brun, J.M., Theau-Clément, M., et Bolet, G., "The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insémination". Animal Reproduction Science, (2002), 70: 139-149.

247. O'Bryan, M.K., Schlatt, S., Phillips, D.J., De Kretser, D.M., Hedger, M.P., "Bacterial lipopolysaccharide-induced inflammation composes testicular function at multiple levels in vivo". *Endocrinol* (2001), 141, 238-246.
248. Kasa I.W., et Thwaites C.J., "Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8 hours or either 1 or 5 days". *J. Appl. Rabbit. Res.* (1992), 15: 560-586.
249. García-Tomás, M., Tusell, L.I., López-Béjar, M., Ramon, O.J., Rafel, M., Piles., "Influence of environmental temperature and relative humidity on quantitative and qualitative semen traits of rabbits" In: G. Xiccato, A. Trocino and S.D. Lukefahr (eds), *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona.* (2008), 359 – 363.
250. Roca, J., Martínez, S., Orengo, J., Parrilla, I., Vazquez, J.M., Martinez, E.A., "Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area". *Livest. Production Science.* (2005), 94: 169-177.
251. Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A., Askara A. "Influence of chronic high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks". *7thWorld Rabbit Congress, 4-7 juillet, Valencia Spain* (2000), 8 p.
252. Bouguerra, A., "Contribution à l'évaluation des performances zootechniques du lapin de population locale élevé en semi plein air". *Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en science agronomique*, (2012), 90p.
253. Joly, T., Theau-Clément, M., "Reproduction et physiologie de la reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture". *A.S.F.C. Journée du 5 décembre 2000, Valencia 2000 "ombres et lumières", thème "reproduction", p.19-24.*
254. Luzi, F., Maertens, L., Mijten, P., Pizzi F., "Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks". *6 th World Rabbit Congress, Toulouse France* (1996), 2: 87-92.
255. Nizza, A., Di Meo, C., Taranto, S., "Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics bucks. *7thWorld Rabbit Congress, 4-7 juillet, Valencia Spain* (2000), 7 p.
256. Oliveira, C.E.A., Badu, C.A., Ferreira, W.M., Kamwa, E.B., Lana, A.M.Q., "Effect of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of rabbit breeders". *8th World Rabbit Congress, Puebla Mexico*, (2004), p.7-10.

257. Panella, F., et Castellini, C., "Fattori ambientali e genetici che influiscono sulle caratteristiche del seme di coniglio". Riv. Coniglic, (1990), 8 : 39-41.
258. Marai I.F.M., Habeeb, A.A.M., et Gad A.E., "Rabbits productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress": a review. Livestock Production Science (2002a), 78: 71-90.
259. Rodriguez-De Lara, R., Fallas-López, M., Rangel-Santos, R., Mariscal-Aguayo, V., Martmez Hernández, P.A., et Garcia Muñiz, J.G., "Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits". 8 th World Rabbit Congress, 10-13 June, Verona- Italy (2008), p. 443-448.
260. Safaa, H.M., Emarah, M.E., et Saleh, N.F.A., "Seasonal effects on semen quality in Black Baladi and White New Zealand rabbit bucks" .World Rabbit Science (2008), 16 : 13-20.
261. Nizza, A., Di Meo, C., et Taranto, S., "Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production". Reproduction of Domestic Animals, (2003), 38: 436.
262. Bencheikh, N., " Production de sperme et fertilité du mâle *Oryctolagus cuniculus*. Effets de la fréquence de récolte et du type génétique". Thèse Doctorat Institut National Polytechnique de Toulouse, (1993), 142 p.
263. Bodnar, K., Torok, I., Hejel, P., et Bodnar, E., "Preliminary study on the effect of ejaculation frequency on some characteristics of rabbit semen". 6 th World Rabbit Congress, Toulouse France (1996), 2: 41-44.
264. Bunaciu, P., Cimpeanu, I., Bunaciu, M., "Mating frequency effect on spermatogenesis and performance of breeding rabbits". 6 th World Rabbit Congress, Toulouse France (1996), 2: 51-54.
265. Arroita, Z., Falceto, M.V., Martin Rillo, S., De Alba, C., Moreno, C., Ciudad, M.J., et Rafel, O., "Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen". 7 th World Rabbit Congress, 4-7 Juillet, Valencia Spain (2000), 6 p.
266. Mocé, E., Lavara, R., Lavara, F., et Vicente, J.S., "Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate". 7 th World Rabbit Congress, 4-7 Juillet, Valencia Spain (2000), 6 p.

267. Lôpez, J., Alvarino, J.M.R., Del Arco, J.A., Bueno, A., et Sanz, C., "Effect of male rabbit management on semen production". 6th World rabbit congress, Toulouse France (1996), 2: 83-86.
268. Abdel-Ghaffar A.E., El-Azab A.I., et El-Dawy K.H., "Rabbit semen metabolism". Options Méditerranéennes, série A "Séminaires méditerranéens", (1994), N° 8, 305-312.
269. Fontbonne, A., et Dumon, C., " Prélèvement et examen de la semence chez le chien". In : Les indispensables de l'animal de compagnie. Reproduction du chien et du chat. P.M.C.A.C. Editions (1992).
270. Arencibia Arrebola, D.F., et Rosario Fernandez, L.A., " Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de Conejos aplicado en estuiduos de toxicologia de la fertilidad". Redvet Revista Electronica Veterinaria , (2009), 8 (10) : 1-18.
271. Garcia-Thomas, M., Sànchez, J., Rafel, O., Ramon, J., Piles, M., "Reproductive performance of crossbred and pubered male rabbits". Livestock Science (2006), 104: 233-243.
272. Lavara, R., Vicente, J.S., Marco-Jiménez, F., Baselga, M., "Correlation between CASA and ASMA parameters in rabbit semen". 9th World Rabbit Congress, Verona (Italy), juin (2008), p. 10-13.
273. Morrell, J.M., "Artificial insemination in rabbits". British Veterinary Journal, (1995), 151(5): 477-488.
274. Alvarez, C.A., Moraes, G.V., Scapinello, C., Martins, EN., Cardozo, R.M., Mataveli, M., Kioshima, R.S., "Efeito da suplementação de selenometionina e vitamina C sobre as características quantitativas e qualitativas do sêmen de coelho". Acta Scientiarum: Animal Sciences (2006), 28: 177-185.
275. Mataveli, M., "Níveis de selênio na dieta de coelhos e a influência na qualidade e nos métodos de conservação do sêmen", (unpublished Thesis of Master, State University of Maringá), (2008).
276. WHO (World Health Organisation)., "Laboratory manual for the examination and processing of human semen", Fifth Edition, Genève, WHO, (2010), 271 p.
277. Soufir, J.C., "Azoospermia, asthenozoospermia and seminal biochemistry". Ann Biol Clin Paris (1985), 43(1): p. 67-70.

278. Holt, W.V., and Van Look, K.J.W., "Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory tests of semen quality". *Reproduction*. (2004), 127: 527–535.
279. Roca, J., Martínez, S., Vázquez, JM., Lucas, X., Parrilla, I., Martínez, E.A., "Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15°C". *Animal Reproduction Science*. (2000), 64: 103–112.
280. Cabannes, C.R., "Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine". Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, (2008), 107.
281. Simpson, G., England, G.C., et Harvey, M., "Manual of small animal reproduction and neonatology". British Small Animal Veterinary Association. Gloucester (United Kingdom). (1998), 246p.
282. Freshman, J.L., "Semen collection and evaluation". *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.* Vol. 17, n° 3, (2002), p 104-107.
283. Mortimer, D., Practical, "Laboratory Andrology", New York, Oxford University Press Inc., (1994), 393 p.
284. Mocé, E., et Graham, J.K., "In vitro evaluation of sperm quality". *Anim. Reorod. Sci.* (2008), 105: 104-118.
285. Bamba, K., "Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin-nigrosin stain". *Theriogenology*, (1988), 29: 1245-1251.
286. Ducci, M., Gazzano, A., Villani, C., Cela, V., Artini, P.G., Matelli, F., et Genazzani, R., "Membrane integrity evaluation in rabbit spermatozoa". *Eur. J Obst and Gynecol. Reprod. Biol.* (2002), 102: 53-56.
287. Foxcroft, G.R., Dyck, M.K., Ruiz-Sanshez, A., Novak, S., et Dixon, W.T., "Identifying usable semen". *Theriogenology*, (2008), 70, 1324-1336.
288. Finzi, A., Morera, P., Kuzminsky, G., "Sperm abnormalities as possible indicators of rabbit chronic heat stress". *World Rabbit Science*. (1995), 3: 157-161.
289. Allimant, M., "Actualités sur les méthodes d'évaluation de la qualité de la semence de l'étalon". Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard, Lyon (2010), 138p.

290. Pena Martinez, A.I., "Canine fresh and cryopreserved semen evaluation". *Anim. Reprod. Sci.* Vol. 82-83, (2004), p. 209-224.
291. Theau-Clement, M., Lattaioli, P., Routan, A., Castellin, C., "Reliability and accuracy of a computerized semen image analyses to evaluate various biological parameters in rabbit semen". In proc: 6th world rabbit congress, Toulouse, France 9-19 July, (1996), vol.2, pp.139-146.
292. Partyka, A., Nizański, W., Ochota, M., "Methods of assessment of cryopreserved semen". In: Katkov II (ed) *Current Frontiers in Cryobiology*. In Tech Open Access Publisher, Rijeka, Croatia, (2012), pp 547-574.
293. Verstegen, J., Iguer-ouada, M., Onclin, K., "Computer assisted semen analysers" in *andrology research and veterinary practice. Theriogenology*, (2002), 57, 149-179 p.
294. Di Lorio, M., "Cryopreservation of rabbit semen: effectiveness of different permeable and non-permeable cryoprotectants on post-thaw sperm quality and reproductive performances". Doctorate Thesis. International Ph.D. in "Welfare, Biotechnologie and Quality of Animal Production". (2014), p: 132.
295. Drickamer, L.C., Robinson, A.C. and Mossman, C.A., "Differential responses to same and opposite sex odors by adult house mice are associated with anogenital distance". *Ethology*, (2001), 107.
296. Sanroma, E., "Guide pratique de médecine des principaux nouveaux animaux de compagnie présents en consultation: lapin, furet, cochon, d'inde et rat". Thèse. (2012).
297. Iczkowski, K.A., Sun, E.L. and Gondos, B. "Morphometric study of the prepubertal rabbit testis: germ cell numbers and seminiferous tubule dimensions". *Am. J. Anat.* (1991), 190: 266-72.
298. Theau-Clement, M., Michel, N., Esparbie, J. et Bolet, G. "Effects of artificial photoperiods on sexual behaviour and sperm output in the rabbit". *Anim. Sci.* (1995), 60: 1431-9.
299. Martoja, R. et Martoja, M., "Initiation au technique de l'histologie animale", eds Masson et sci, Paris, (1967), 343.
300. Wilson, J.R., Kuehn, R.E., Beach, F.A., "Modification in the sexual behavior of male rats produced by changing the stimulus female". *J. Comp. Physiol. Psych.* (1963), 56: 636-644. doi:10.1037/h0042469

301. Rodríguez-Manzo, G., "Blockade of the establishment of the sexual inhibition resulting from sexual exhaustion by the Coolidge effect". *Behav. Brain Res.* (1999), 100: 245-254. doi:10.1016/S0166-4328(98)00137-5
302. Rodríguez-Manzo, G. and Fernández Guasti, A., "Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents". *Behav. Brain Res.*, (1994), 62: 127-134.
303. Romano-Torres, M., Phillips-Farfan, B.V., Chavira, R., Rodríguez-Manzo, G. et Fernández-Guasti, A., "Relationship between sexual satiety and brain androgen receptors". *Neuroendocrinology*, (2007), 85: 16-26.
304. Young, W.C. and Grunt, J.A., "The pattern and measurement of sexual behavior in the male guinea pig". *J. Comp. Physiol. Psych* (1951), 44:492-500.
305. Grunt, J.A. and Young, W.C., "Psychological modification of fatigue following orgasm (ejaculation) in the male guinea pig". *J. Comp. Physiol. Psych.* (1952), 45: 508-510.
306. Hull, E.M. and Domínguez, J.M., "Sexual behavior in male rodents". *Horm. Behav.* (2007), 52: 45-55. doi:10.1016/j.yhbeh.2007.03.030
307. Jiménez, P., Cuamatzi, E., et González-Mariscal, G. "Study of copulatory behaviour in old male rabbits". *World Rabbit Sci.* (2021), 29: 41-50.
308. Hull, E.M. and Rodríguez-Manzo, G., "Male sexual behaviour". In: D. Pfaff, M. Joëlls., "Hormones, Brain, and Behavior", 3d Ed. (2019), 1-58.
309. Miller, R.L. and Baum, M.J., "Naloxone inhibits mating and conditioned place preference for an estrous female in male rats soon after castration". *Pharmacol. Biochem. Behav.* (1987), 26: 781-789.
310. Fernández-Guasti, A. and Rodríguez-Manzo, G. "8-OH- DPAT and male rat sexual behavior: partial blockade by noradrenergic lesion and sexual exhaustion". *Pharmacol. Biochem. Be.* (1997), 56: 111-116.
311. Pfaus, J.G. and Gorzalka, B.B. "Opioids and sexual behaviour". *Neurosci. Biobehav. Rev.*, (1987), 11: 1-34.
312. Rodríguez-Manzo, G., Lopez-Rubalcava, C., Hen, R. Fernández-Guasti, A. "Participation of 5-HT_{1B} receptors in the inhibitory actions of serotonin on masculine sexual behaviour of mice: pharmacological analysis in 5-HT_{1B} receptor knockout mice". *Brit. J. Pharmacol.* (2002), 136:1127- 1134.

313. Zang, Z.J., Tang, H.F., Tuo, Y., Xing, W.J., Ji, S.Y., Gao, Y. et Deng, C.H. "Effects of velvet antler polypeptide on sexual behavior and testosterone synthesis in aging male mice". *Asian J. Androl.*, (2016), 18: 613-619.
314. Palanza, P., Gioiosa, L. and Paramigiani, S. "Social stress in mice: Gender differences and effects of estrous cycle and social dominance". *Physiologie et Behavior.* (2001), 73. P411-420.
315. Vom Saal, F.S., Bronson, F.H., "In utero proximity of female mouse fetuses to males: effect on reproductive performance during later life". *Biol Reprod* (1978), 19: 842–853.
316. Hurd, P.L., Bailey, A.A., Gongal, P.A., Yan, R.H., Greer, J.J. and Pagliardini, S., "Intrauterine position effects on anogenital distance and digit ratio in male and female mice". *Arch Sex Behav.* (2008), 37:9–18
317. Szenczi, P., Bánszegi, O., Groó, Z. and Altbäcker, V., "Anogenital Distance and Condition as Predictors of Litter Sex Ratio in Two Mouse Species: A Study of the House Mouse (*Mus musculus*) and Mound-Building Mouse (*Mus spicilegus*)". (2013), PLOS ONE.WWW.Plosone.Org.
318. Eisenberg, M.L., Hsieh, T. C. et Lipshultz, L. I., "The relationship between anogenital distance and age". *Andrology*, (2013), 1, 90–93.
319. Eisenberg, M.L., Shy, M., Chanc, Walters, R. et Lipshultz, L.I., "The relationship between anogenital distance and azoospermia in adult men". *Int J Androl* (2012).
320. Kerkouche, T.N., Zitouni, G.H., Boumahdi, Z., Berbar, A., Kerkouche, R., Benali, N., Titouh, F. et Belabbas, R., "Etude des relations entre distance ano-génitale, parité et quelques caractéristiques de la reproduction de la lapine". *Livestock Research for Rural Development.* (2014), 26 (2).
321. Phoenix, C.H. and Chambers, K.C., "Old age and sexual exhaustion in male rhesus macaques". *Physiol. Behav.*, (1988), 44: 157-163.
322. Hsieh, M.H., Breyer, B.N., Eisenberg, M.L. et Baskin, L.S., "Associations among hypospadias, cryptorchidism, anogenital distance, and endocrine disruption". *Curr Urol Rep.* (2008), 9: 137–142.
323. Archer, J., "The behavioural biology of aggression". Cambridge: Cambridge University, (1988).

324. Von Holst, D., Hutzelmeyer, H., Kaetzke, P., Khaschei, M. and Schönheiter, R., "Social rank, stress, fitness, and life expectancy in wild rabbits". *Naturwissenschaften*. (1999), V:86. 388–393.
325. Goodrich, B. S. and Mykytowycz R., "Individual and sex differences in the chemical composition of pheromone-like substances from the skin glands of the rabbits *Oryctolagus cuniculus* (L.)". *J. Mammal.* (1972), 53, 540–548.
326. Gonzalez-Mariscal, G., Melo, A.I., Zavala, A., Chirino, R. et Beyer, C. "Sex steroid regulation of chin-marking behavior in male New Zealand rabbit". *Physiol. Behav.* (1993), 54, 1035-1040.
327. Verberne, G. and Blom, F., "Scentmarking dominance and territorial behaviour in male domestic rabbits". In: Meyers K. & McInnes C.D. editors. *Proc World Lagomorph Conf.* Guelph: University of Ontario (1981), pp. 280–290.
328. Martínez-Gómez, M., Guarneros, M., Zempoalteca, R. and Hudson, R.A., "Comparison of spontaneous and odor-induced chin marking in male and female domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus domesticus*)". *Ethology*. (1997), 103: 893–901.
329. González-Mariscal, G., Melo, A.I., Zavala, A. and Beyer, C., "Chinmarking behavior in male and female New Zealand rabbits: onset, development, and activation by steroids". *Physiol. Behav.*, (1992), 52: 889-893.
330. Boumahdi Merad, Z., Tarzaali, D., Rais, R., Bachir Pacha, M., Belabbas, R., Kaidi, R., "Anogenital distance, sexual behavior and plasma levels of testosterone in synthetic rabbit buck. *Agricultura*, (2019), no. 3 –4, (111-112), 342-353.
331. Hudson, R. and Distel, H., "Pheromonal release of suckling in rabbits does not depend on the vomeronasal organ". *Physiol Behav.* (1986), 37(1), pp. 123-128.
332. Chirion, R., et Gonzalez-Mariscal, G., carrillo, P. and pacheco, P. « effect of removing the chin-marking behavior in male rabbit of the New Zealand race.Z". *Saugertierkunde*. (1993), 58, 116-121.
333. Mykytowycz, R., "Further observations on the territorial function and histology of the submandibular cutaneous (chin) glands in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* L". *Anim. Behav.* (1965), 13: 400-412.

334. Beyer, C., Velazquez, J., Larsson, K., et Contreras, J. L., "Androgen regulation of the motor copulatory pattern in the male New Zealand White rabbit". *Horm. Behav.* (1980), 14, 179–190.
335. Godsall, B, Coulson, T. and Malo, A.F., "From physiology to space use: Energy reserves and androgenization explain home-range size variation in a woodland rodent". *Journal of Animal Ecology*, (2014), 83(1).
336. Hayes, R.A., Richardson, B.J. and Wyllie, S.G., "Semiochemicals and social signaling in the wild European rabbit in Australia: I. Scent profiles of chin gland secretion from the field". *J Chem Ecol.*, (2002), 28: 363–84.
337. Spruijt, B.M., Meyerson, B.J. and Hoglund, U. "Aging and sociosexual behavior in the male rat". *Behav. Brain Res.* (1989), 32: 51-61.
338. Huber, M.H., Bronson, F.H. and Desjardins, C., "Sexual activity of aged male mice: correlation with level of arousal, physical endurance, pathological status, and ejaculatory capacity". *Biol. Reprod.*, (1980), 23: 305-316.
339. Mykytowycz, R., "The role of skin glands in mammalian communication. In : *Advances in Chemoreception Vol. 1. Communication by Chemical Signals*". Eds. J. W. Johnston, D. G. Moulton, and A. Turk. (Appleton-Century-Crofts, New York), (1970), pp. 327–360.
340. Kleiman, D.G., "The courtship and copulatory behaviour of the green acouchi, *Myoprocta pratti*. Z". *Tierpsychol.*, (1971), 29, 259-278.
341. Vom Saal, F.S., "Sexual-differentiation in litter-bearing mammals – Influence of sex of adjacent fetuses in utero". *Journal of Animal Science*, (1989), 67: 1824–1840.
342. Clemens, L.G., Gladue, B.A., and Coniglio, L.P., "Prenatal endogenous androgenic influences on masculine sexual behavior and genital morphology in male and female rats". *Harm Behav.* (1978), 10: 40–53.
343. Richmond, G. and Sachs, B.D., Further evidence for masculinization of female rats by males located caudally in utero. *Horm Behav.* (1984), 18 (4):484-90.
344. Houtsmuller, E.J., Thornton, J.A., Rowland, D.L., "Using a regression approach to study the influence of male fetuses on the genital morphology of neonatal female rats". *Multivar Behav Res* (1997), 32: 77-94.

345. Nerli, R.B., Ghagane, S.C., Hiremath, M.B., Dixit, N.S., Neelagund, S. "Anogenital distance in males attending assisted reproduction center". *J Sci Soc.*, (2018), 45:72–75.
346. Foster, P.M., Mylchreest, E., Gaido, K.W. and Sar, M. "Effects of phthalate esters on the developing reproductive tract of male rats". *Hum Reprod Update.* (2001), 7(3):231–235.
347. Swan, S.H., Main, K.M., Liu, F., Stewart, S.L, Kruse, R.L., Calafat, A.M., Mao, C.S., Redmon, J.B., Ternand, C.L., Sullivan, S. *et al.* "Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure". *Environ Health Perspect*, (2005);113:1056–1061.
348. Macleod, D.J., Sharpe, R.M, Welsh, M., Fiskin, M., Scott, H.M., Hutchison, G.R., Drake, A.J. and van den Driesche, S., "Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs". *Int J Androl.* (2010), 33, 279–287.
349. Hackney, A.C. and Viru, A., "Twenty-four-hour cortisol response to multiple daily exercise sessions of moderate and high intensity". *Clinical Physiology* (1999), 19, 178-182.
350. McMurray, R.G. and Hackney, A.C., "Endocrine responses to exercise and training". In: *Exercise and Sport Science*. Eds: Garrett, W.E. and Kirkendall, D.T., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. (2000), 135-156.
351. Daly, W., Seegers, C., Rubin, D.A., Dobridge, J.D. and Hackney, A.C., "Relationship between stress hormones and testosterone with prolonged endurance exercise". *European Journal of Applied Physiology.* (2005), 93, 375-380.
352. Galbo, H. "Influence of aging and exercise on endocrine function". *International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism suppl.* (2001), 11, S49- 57.
353. Wolfe, R.R., "Control of muscle protein breakdown: effects of activity and nutritional states". *International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism Suppl.* (2001), 11, S164-169.
354. Zitzmann, M. and Nieschlag, E., "Testosterone levels in healthy men in relation to behavioral and physical characteristics: facts and constructs". *European Journal of Endocrinology.* (2001), 144, 183-197.

355. Wilkerson, J.E., Horvath, S.M. and Gutin, B. "Plasma testosterone during treadmill exercise". *Journal of Applied Physiology*. (1980), 49, 249-253.
356. Galbo, H., Hummer, L., Peterson, I.B., Christensen, N.J. and Bie, N., "Thyroid and testicular hormonal responses to graded and prolonged exercise in men". *European Journal of Applied Physiology*. (1977), 36, 101-106.
357. Väänänen, I., Vasankari, T., Mäntysaari, M. and Vihko, V., "Hormonal responses to daily strenuous walking during 4 successive days". *European Journal of Applied Physiology*. (2002), 88, 122-127.
358. Lunstre, D.D. et Cundiff, L.V., "Growth and pubertal development in Brahman-, Boran-, Tuli-, Belgian Blue-, Hereford- and Angus-Sred F1 bulls". *J. Anim. Sci.* (2003), 81 (6): 1414-1426.
359. Mandal, D.K, Singh, K. and Tyagi, S., "Age related changes in body size and gonadal development of growing Frieswal bulls". *Indian J Anim Sci* (2004), 74: 31-34.
360. García-Tomás, M., Sánchez, J., Rafel, O., Ramon, J. and Piles, M., « Développement sexuel post-natal chez le lapin : profils de croissance et de développement du testicule et l'épididyme dans deux lignées » 12^{ème} Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France, (2007), pp : 49-52.
361. Pant, H.C., Sharma, R.K., Patel, S.H., Shukla, H.R, Mittal, A.K. et al. "Testicular development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls". *Theriogenology*. (2003), 60: 27-34.
362. Schinckel, A., Johnson. R.K., Pumfrey. R.A. and Zimmerman, D.R., "Testicular growth in boars of genetic lines and its relationship to reproductive-performance". *J. Anim. Sci.* (1983), 56(5): 1065-76.
363. Lunstra, D. D., J. J. Ford, and S. E. Echtenkamp., "Puberty in beef bulls: Hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds". *J. Anim. Sci.* (1978), 46:1054–1062.
364. Gray, L.E., Furr, J., Wolf, C.J., Lambrigh, C. and Parks, L., "Effects of environmental antiandrogen on reproductive in experimental animals". *Hum Reprod*. (2001), 7: 248-264.
365. Lee, J, Rhichburg, J.H., Shipper Meistrich, M.L. and Boekeheide, K., "The fas system, a regular of testicular germ cell apoptosis, is differentially

- up regulated in Sertoli cell versus germ cell injury of the testis”. *Endocrinology*, (1999), 140(2), 852-858.
366. Bashir, M. and Jarrar., “Histological Alterations in the Testicular Tissue Induced by Sildenafil Overdoses”. *Drug Metabolism Letters*, (2011), 5.
367. Marai, I.F.M., Bahgat, L.B., Shalaby, T.H. and Abdel-Hafez, M.A., “Fattening performance, some behavioural traits and physiological reactions of male lambs fed concentrates mixture alone with or without natural clay, under hot summer of Egypt”. *Ann. Arid Zone*. (2000), 93 (4), 449–460.
368. Arencibia Arrebola, D.F et Rosario Fernandez, L.A., « Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de conejos aplicado en estudios de toxicologia de la fertilidad ». *REDVET Revista Electronica Veterinaria*, (2009), 8 (10): 1-18.
369. Daader, A.H., Gabr, H.A., Seleem, T.S.T. “Productive and reproductive performance of New-Zealand White and Californian rabbit bucks as affected by supplementing natural clay to the diet, during summer and winter seasons”. The 7th Science Conference on Animal Nutrition, El-Arish, North Sinai. Egypt, (1999), 565-579.
370. Theau-Clément, M. et Falières, J., « Evaluation de la concentration de semence de lapins selon 2 méthodes : hématimètre et NucleoCounter S100 ». 11^{ème} Journées de la recherche cynicole. Paris, (2005), 29-30 novembre, 95-98.
371. Bamba, K., “Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin-nigrosin stain”. *Theriogenology*. (1988), 29: 1245-1251.
372. Lenth, R.V., “Least-Squares Means: The R Package I^s means”. *Journal of Statistical Software*. (2016), 69: Issue 1.
373. Finzi, A., « Recherches pour la selection de souches de lapins thermotolérants ». *Options méditerranéennes, série A “seminaries Mediterranean”*. (1990), N° 8, p. 333-336.
374. Moussa-Balabel, T.M., “Effect of heat stress on New Zealand White rabbits'behaviour and performance”. *MINUFIA VET.J.* (2004), Vol 3 N°. 1 125-134.

375. Brun, J.M., Theau-Clément, M., Esparbié, J., Falières, J., Saleil, G., Larzul, C., "Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63d body weight". *Theriogenology*, (2006), 66 : 2165-2172.
376. Boulbina, I., « Caractérisation de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*) ». Thèse de magistère, Ecole Supérieure Vétérinaire d'Alger (2011).
377. Amann, R.P., "Effect of frequency of ejaculation and breed on semen characteristics and sperm output of rabbits". *J. Reprod.Fert.*(1966), 11, 291.
378. Isidahomen, C.E. And Oguntade, D.O., "Genotype Variation In Semen, Libido and Testicular Traits of Adult Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)". *Annual Research & Review in Biology* (2018), 26 (3): 1-5.
379. Ogbuewu, I.P, Okoli, I.C, Iloeje, M., "Semen quality characteristics, reaction time, testis weight and seminiferous tubule diameter of buck rabbits fed neem (*Azadiractitaindica* A juss) leaf meal based diet". *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. (2009), 7(1):23-28.
380. Ain-Baziz, H., Boulbina, I., Ilès, I., Belabbas, R., Zenia, S. and Temim, S., "Influence of environmental temperature and relative humidity on semen characteristics in male rabbit (*oryctolagus cuniculus*) of local Algerian population". *World Rabbit Science Association Proceedings. The 10th World Rabbit Congress, Sharm El- Sheikh. Egypt, (2012), 347- 350.*
381. Rodriguez-De Lara, R., Estrada-Noguez, J., Santos-Rangel, R., Muniz-Garcia, J.G., Hernandez-Martinez, P.A., Lopez-Fallaz, M., Siman-Maldonado, E., « Controlled doe exposure as biostimulation of buck rabbits ». *Animal Reproduction Science*. (2010), 122: 270-275.
382. El-Tohamy, M.M., Kotp, M.S.Z., El-Nattat, W.S., Amira, H.M. and Soliman, S.I., "An attempt at alleviating heat stress infertility in male rabbits with some antioxidants, Cairo: Department of Animal Reproduction". *National Research Centre*. (2012), 1-7.
383. Cross, E. et Roselli, C.E., "17 beta-estradiol rapidly facilitates chemo investigation and mounting in castrated male rats". *Amer. J. Physiol.*, (1999), 226: 497-509.
384. Gado, H., Mellado, M., Salem, A.Z.M., Zaragoza, A. and Seleem, T.S.T. "Semen characteristics, sexual hormones and libido of hy-plus rabbit

- bucks influenced by a dietary multi-enzyme additive". *World rabbit sci.*, (2015), 23: 111-120.
385. Boiti, C., Chiericato G.M., Filotto U., Canali C., "Effets of high environment temperature on plasma testosterone, cortisol, T3 and T4 levels in the growing rabbit". *J. Appl. Rabbit. Res.*, (1992), 15: 447-455.
386. El-Masry, K.A., Nasr, A.S., et Kamal, T.H., "Influences of season and dietary supplementation with sélénium and vitamin E or Zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males". *World Rabbit Science*, (1994), 2 (3): 79- 86.
387. Iraqi, M.M., Radwan, A.A., Gado, M.S., El-Sayed, A.I. and Elokil, A.A., "Evaluation of semen characteristics in a project of synthesizing new line of rabbits in Egypt". *The 1st International Conference On Biotechnology Applications In Agriculture*, Benha University, Moshtohor and Hurghada, Egypt, *Animal Biotechnology*. (2012), 1-8.
388. Marai, I.F.M., Abdel-Samee, A.M., Gaafary, M.N., "Criteria of response and adaptation to high temperature for reproductive and growth trials in rabbits". *Options Mediterreneennes*. (1991), 17: 127-134.
389. Okab, A.B., "Semen characteristics and plasma testosterone of new-zealand male rabbits as affected by environmental temperatures". *Slovak J Anim Sci.*, (2007), 40 (4):161-167.
390. El-Kamash, H.A., Gabr, H.A., Bahgat, L.B., Zeidan, A.E.B. and Seleem, T.S.T., "Effects of intramuscular injection of gonadotropin-releasing hormone on semen characteristics of buck rabbits, under different seasons of the year". *Inter. Conf. on Anim. Prod. and Health*, 2-4 Sept., Giza, Egypt, (2000), 587-592.
391. Abd El-Ghaffar, A.E., "Some studies on the artificial insemination in rabbits". Ph.D. Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University, Benha Branch, Egypt. (1992).
392. Lankri, E, Boudour, K, Aichouni, A. et Rechachou, F., « Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006 ». *Livestock research for rural development*. (2019), 31.
393. Ahmed, .NA., Barkawi, A.H., Azamel, A.A., Morsy, A.S., "Semen characteristics of rabbit bucks as affected by vitamin c injection under

- different ambient temperatures in Egypt". *Egyptian Journal of Rabbit Science.*, (2006), 16 (1): 47- 59.
394. Ayyat, M.S., El-Aasar, T.A., "Effect of season of the year and dietary zinc supplementation on doe and buck performance of New Zealand white rabbits under Egyptian conditions". *Egyptian Journal of Rabbit Science.* (2008), 18 (1): 1-14.
395. Safaa, H.M., Vicente, J.S., Lavara, R. and Viudes de Castro, M.P. "Semen evaluation of two selected lines of rabbit bucks". *World Rabbit Sci.*, (2008b), 16: 141-148.
396. Khalil, M.H., "Technical report on the project entitled "production of purebred and crossbred parental stock of rabbits to be distributed to small scale breeders in Qalyoubia Governorate". Faculty of Agriculture at Moshtohor and Regional Council for Research and Extension, Ministry of Agriculture. Egypt, (1996). 9.
397. Błaszczuk, M., Lanina, T., Massanyi, P. and Stawarz, R., "Semen quality assessment of new zealand white rabbit bucks". *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, (2013), 2 (Special issue 1): 1365-1376.
398. Seleem, T.S.T., "Some reproductive productive and physiological aspects of purebred and crossbred flander and New Zealand White rabbits under Egyptian environmental condition", the 4th Inter. Cong. On Rabbit Prod. In hot climate, Sharm El Sheikh. Egypt, (2005), 161-168.
399. Lavara, R., Mocé, E., Lavara, F., Viudes de Castro M.P. and Vicente J.S., "Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits?" *Theriogenology*, (2005), 64, 1130-1141.
400. Eisenberg, M.L., Hsieh, M.H., Walters, R.C., Krasnow, R. and Lipshultz, L.I., "The relationship between anogenital distance, fatherhood, and fertility in adult men". (2011) *PloS ONE* 6(5):e18973.
401. Jain, V.G. and Singal, A.K. "Shorter anogenital distance correlates with undescended testis: detailed genital anthropometric analysis in human newborns". *Hum Reprod.* (2013), 28 (9):2343–2349.
402. Parra, M.D., Mendiola, J., Jørgensen, N., Swan, SH. and Torres-Cantero, A.M., "Anogenital distance and reproductive parameters in young men". *Andrologia.* (2016), 48(1):3–10.

403. Zhou, N., Sun, L., Yang, H., Chen, Q., Wang, X., Yang, H., Tan, L., Chen, H., Zhang, G., Ling, X., Huang, L., Zou, P., Peng, K., Liu, T., Liu J., Ao, L., Zhou, Z., Cui, Z. and Cao, J., "Anogenital distance is associated with serum reproductive hormones, but not with semen quality in young men". *Human Reproduction*, (2016), Vol.31, No.5 pp. 958–967.
404. López-Espína, J., Pérez-Palazónb, C., Ana, B., Maldonado-Cárcelesc,D., José, D., Román-Ariasb, Jaime Mendiola, C,E., Alberto, M. And Torres-Canteroc, D.E., "Anogenital distance and variability in semen parameters systems biology in reproductive medicine". (2018), V. 64, N°. 1, 71–79.
405. Mendiola, J., Stahlhut, R.W., Jørgensen, N., Liu, F. and Swan, S.H., "Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester", New York. *Environ Health Perspect.* (2011), 119(7):958–963.
406. Dean, A. and Sharpe, R.M., "Clinical review: Anogenital distance or digit length ratio as measures of fetal androgen exposure: relationship to male reproductive development and its disorders". *J Clin Endocrinol Metab.* (2013), 98(6):2230-2238.
407. Alvarez, C., Castilla, J.A., Martinez, L., Ramirez, J.P., Vergara, F. and Gaforio, J.J., "Biological variation of seminal parameters in healthy subjects". *Hum Reprod* (2003), 18:2082-2088.
408. Keel, B.A., "Within- and between-subject variation in semen parameters in infertile men and normal semen donors". *Fertil Steril* (2006), 85:128–134.
409. Francavilla, F., Barbonetti, A., Necozone, S., Santucci, R., Cordeschi, G. Macerola, B., et al., « Within-subject variation of seminal parameters in men with infertile marriages". *Int J Androl.* (2007), 30(3):174-181.
410. Leushuis, E., Van der Steeg, J.W., Steures, P., Repping, S., Bossuyt, P.M., Blankenstein, et al. "Reproducibility and reliability of repeated semen analysis in male partners of subfertile couples". *Fertil Steril.* (2010), 94(7):2631–2635.
411. Pérez-Palazón, C., López-Espín, J.J., Mendiola, J., Román-Arias, J.D. and Torres-Cantero, A.M., "Factors associated with the variability of semen quality: A follow-up study". *Rev Int Androl.* (2016), 14:1-7.

412. Eisenberg, M.L., Jensen, T.K., Walters, R.C., Skakkebaek, N.E. and Lipshultz, L.I., "The relationship between ano-genital distance and reproductive hormone levels in adult men". *J Urol.* (2012), 187(2):594–598.
413. Mira-Escolano, M.P, Mendiola, J., Minguez Alarcon, L., Melgarejo, M., Cutillas-Tolin, A, Roca, M., Lopez-Espin, J.J., Noguera-Velasco, J.A. and Torres-Cantero, A.M., "Longer anogenital distance is associated with higher testosterone levels in Women: a cross-sectional. *BJOG* (2014), 121: 1359-1364.
414. Eisenberg, M.L., Larry, I. and Lipshultz L.I., "Anogenital distance as a measure of human male fertility". *J Assist Reprod Genet.*, (2015), 32(3): 479–484.
415. Mendiola, J., Melgarejo, M., Monino-Garcia, M., Cutillas-Tolin, A., Noguera-Velasco, J.A., Torres-Cantero, A.M., "Is anogenital distance associated with semen quality in male partners of subfertile couples?". *Andrology.* (2015), 3:672–676.
416. Wilson, J.D., "Role of androgens in prostate development". *Endocrinol Metab Clin North Am.*, (2011), 40: 577-590.
417. Mitchell, R.T., Mungall, W.M., cKinnell, C., Sharpe, R.M., Cruickshanks, L., Milne, L. And Smith, LB., "Anogenital distance plasticity in adulthood: Implications for its use as a biomarker of fetal androgen action". *Endocrinology.* (2015), 156:24–31.
418. Chiericato, G.M., Boiti, C., Canali, C., Rizzi, C. et Rostellato V., « Effets de l'âge et de la température ambiante sur les concentrations circulantes hormonales chez le lapin », VIème journées de la recherche cynicole -La Rochelle- 6 & 8 Décembre (1994), Vol 1. 137-144.
419. Taha, T. A., Abdel-Gawad, E. I. et Ayoub, M. A., "Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical condition. I. Semen characteristics and hormonal levels". *Anim. Sci.* (2000), vol. 71, p. 317-324.
420. Cabannes C.R.A., « Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovines, canine et humaine ». Thèse : 03 – TOU 3 – 4108 à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse. (2008), p37-44.

APPENDICE A

Matériel et réactifs utilisés dans la partie expérimentale

1.1. Récolte de la semence

1.1.1. Matériel de collecte de la semence

- Plaque chauffante et le Cristallisoir (Figure 1) pour chauffer le vagin artificiel.
- Vagin artificiel et les Tubes gradués stériles (Figure 2), d'un volume de 15 ml au max, pour le prélèvement de la semence.
- Thermomètre pour contrôler la température l'eau du thermos qui servira à transporter l'échantillon.
- Chronomètre.



Figure 1 : Plaque chauffante et le cristallisoir



Figure 2: Vagin artificiel et le tube de collecte

1.1.2. Matériel de laboratoire et instruments pour l'analyse de la semence

- Microscope photonique de type Optika (Figure 3), qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions.
- Le système CASA (Computer Analyser System Assisted) (Figure 4), le logiciel utilisé permet de quantifier plusieurs paramètres de motilité, vitalité et morphologie.
- Cellule de Thomas (Figure 5), qui est un hématimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution.

- Thermos et bain marie, pour la conservation de la semence à 37 °C.
- Pipettes pasteurs et micropipettes avec embouts à usage unique (embouts jaunes et bleus) pour les différents prélèvements.
- Tubes stériles en verre (5 ml) et tubes eppendorf (1.5ml) pour préparer les différents solutions.
- Lames, lamelles et Cellules de Leja (Figure 6) pour les différentes observations microscopiques.
- Vortex pour l'homogénéisation des solutions.



Figure 3 : Microscope photonique

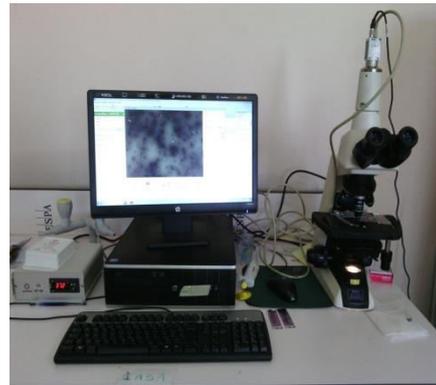


Figure 4: Système CASA



Figure 5 : Cellule de Thomas



Figure 6 : Cellule de leja

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

- Papier pH.
- Solution de galape.
- Eosine et nigrosine pour la vitalité et la morphologie.
- Formole 35% et sérum physiologique pour la concentration.

1.2. Récolte du sang

1.2.1. Matériel de prélèvement du sang

Le matériel utilisé pour le prélèvement est le suivant (Figure 7):

- Serviette pour la contention du lapin.
- Alcool et coton pour désinfecter l'oreille.
- Cathénaire G22.
- Tubes stériles héparines pour récolter le sang et les tubes eppendorf pour récolter le plasma.
- Centrifugeuse de type nuve NF 200 (Figure 8) pour récupérer le plasma.
- Glacière pour transporter le plasma à 4 °C.
- Congélateur pour conserver le plasma à -20°C.



Figure 7: Matériel de prélèvement



Figure 8: Centrifugeuse (type nuve NF 200)

1.3. Matériel utilisé pour la manipulation du dosage de la testostérone

- Gants non talqués à usage unique
- Micropipettes réglable à embout jetable permettant la distribution du plasma.
- Portoir.
- Système analyseur TOSOH AIA (Figure 9).
- 5 cartouches composées de 20 puits contenant douze billes magnétiques lyophilisées recouverte de 45µl d'anticorps monoclonaux de souris anti-testostérone conjugués avec la phosphatase alcaline d'origine bovine, ainsi que l'azide de sodium en guise de conservateur.



Figure 9: Système analyseur TOSOH AIA

1.4. Matériel utilisé pour l'étude du comportement sexuel des lapins mâles

Le matériel utilisé dans cette partie est le suivant :

- Balance électronique.
- Trois briques en terre cuite.
- Pied à coulisse digitale.
- Chronomètre.
- Benzoate d'oestradiol

1.5. Matériel utilisé pour l'étude histologique

Le matériel utilisé est le suivant :

1.5.1. Matériels de laboratoire

- Balance de précision (0,01 g).
- Tube gradué.
- Bécher.
- Entonnoir.
- Bistouri.
- Pince.
- Cassette d'enrobage.
- Cuve.
- Microtome.
- Lame.
- Lamelle.
- Microscope.

1.5.2. Substances utilisées

- Formol à 10%.
- Ethanol.
- Alcool 50, 70, 80, 90, 100.
- Toluène.
- Hématine.
- Eosine.
- Résine(Eukitt).
- Lithium de carbonate.
- Ponceau.
- Eau acétifié.
- Orange G acide phosphomolybdique.
- Bleu d'aniline.

APPENDICE B

Techniques de prélèvement de sang

- Aptitudes personnelles

La contrainte subie par l'animal lors du prélèvement de sang ne dépend pas seulement de la technique et du volume sanguin prélevé mais essentiellement de l'habileté de la personne qui l'exécute, nécessitant une familiarisation avec la technique choisie et une manipulation des animaux avec ménagement et calme. Donc, il est important de réduire au maximum le stress et de limiter le risque de blessure lors du transport des lapins pour le prélèvement sanguin.

- Contention du lapin avant le prélèvement

Les lapins sont rapidement effrayés et peuvent griffer la personne qui les manipule ou sauter de la table d'examen en réponse à une venipuncture (prise de sang veineux). En conséquence, pour faciliter le prélèvement, il est possible d'enrouler l'animal dans une serviette, façon « burrito »

Chez le lapin, la ponction de la veine marginale ou l'artère centrale de l'oreille a été la méthode choisie dans notre travail. Le volume de sang obtenu varie de 1 à 5ml. La réalisation de prélèvement sanguin est effectuée comme suit:

- L'identification de l'animal doit être vérifiée.
- Placer le lapin contentonné par la serviette en décubitus sternal et étirer la tête vers le haut.
- Raser et désinfecter avec l'alcool le site de prélèvement.
- Réaliser un massage de l'oreille, en approchant une source de chaleur (lampe), afin d'obtenir la dilatation de la veine.
- Préparer les cathéters et les tubes héparines.
- Effectuer une pression (garrot) avec le pouce et l'index sur le vaisseau choisi, pour faire gonfler la veine tout au long du prélèvement.
- Après occlusion de la veine, l'aiguille est prudemment insérée et le sang est collecté, tout en évitant l'hémolyse et la formation de caillots sanguins.

- Retirer le garrot et l'aiguille, puis appliquer fermement un gaz de coton sur le site de venipuncture pendant au moins une minute, afin d'arrêter le saignement et de prévenir la formation d'hématomes. Il faut éviter d'utiliser une gaze imprégnée d'alcool ; en effet, l'alcool favorise une vasodilatation et empêche l'hémostase.
- Il faut s'assurer de l'arrêt du saignement avant de retourner l'animal dans sa cage et vérifier l'état des animaux avant de quitter la pièce.

Le sang recueilli dans des tubes héparinés codifiés pour chaque lapin (numéro de l'animal, race et le jour) est centrifugé à 3000 tours pendant 15 min dans une centrifugeuse de paillasse de type nuve NF 200 et le plasma obtenu est mis dans des tubes eppendorfs et transporté dans une glacière à 4 C° vers le laboratoire pour être congeler à -20 C° jusqu'au jour du dosage de la testostérone.

APPENDICE C

Dosage de la testostérone

- Principe du dosage

Le ST AIA PACK Testostérone est un test immuno-enzymatique. Ce dosage est entièrement réalisé dans des cupules de ST AIA-PACK Testostérone. La testostérone présente dans l'échantillon en compétition la testostérone marquée par une enzyme pour un nombre limité de sites de liaison sur l'anticorps monoclonal spécifique de la testostérone immobilisé sur une phase solide magnétique. Les billes magnétiques sont lavées afin d'éliminer les anticorps monoclonaux marqués non liés, puis sont incubées avec un substrat fluorogénique, le 4-méthylumbelliféryl phosphate (4MUP). La quantité de la testostérone marquée par une enzyme qui se lie aux billes est proportionnelle à la concentration de la testostérone dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée.

- Méthodologie

- ✓ Mode opératoire

1. Première incubation

L'échantillon est déposée dans une cuvette associée à l'anticorps antitestostérone monoclonal marqué à la biotine avec un pH=7,0.

2. Deuxième incubation

Un complexe immunologique est fixé à la phase solide pour une liaison avec la biotine.

3. Comptage

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure. Les micro-particules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

4. Résultats

Courbe standard (courbe de calibration) : Une courbe de référence est mémorisée dans le code barre du réactif et est réajustée pour l'analyseur utilisé par une calibration en deux points : l'analyseur calcule automatiquement la concentration en testostérone (en nmol/ml).

Facteur de conversion

ng/ml x 0,03467 = nmol/l

APPENDICE D

Table des marges d'erreur entre les deux grilles d'hémocytomètre« WHO semen manual, 1999 »

SUM	VALUE	SUM	VALUE	SUM	V
969-1000	61	376-395	38	59-66	15
938-968	60	357-375	37	52-58	14
907-937	59	338-356	36	44-51	13
876-906	58	319-337	35	38-43	12
846-875	57	301-318	34	32-37	11
817-845	56	284-300	33	27-31	10
788-816	55	267-283	32	22-26	9
760-787	54	251-266	31	17-21	8
732-759	53	235-250	30	13-16	7
704-731	52	219-234	29	10-12	6
678-703	51	206-218	28	7-9	5
651-677	50	190-205	27	5-6	4
625-650	49	176-189	26	3-4	3
600-624	48	163-175	25	2	2
576-599	47	150-162	24	1	1
551-575	46	138-149	23	0	0
528-550	45	126-137	22		
504-527	44	115-125	21		
482-503	43	105-114	20		
460-481	42	94-104	19		
438-459	41	85-93	18		
417-437	40	76-84	17		
396-416	39	67-75	16		

APPENDICE E

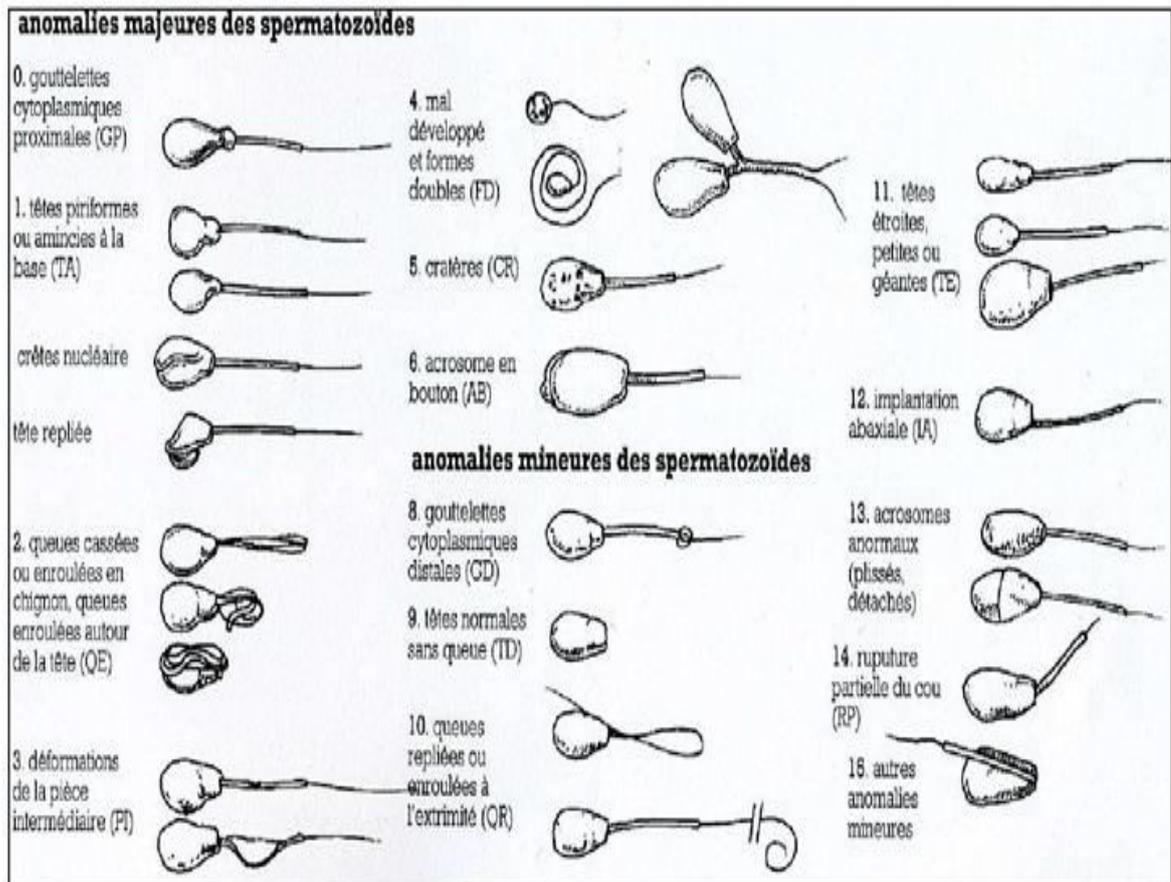
Différents anomalies des spermatozoïdes

Figure 1: Anomalies majeurs et mineurs des spermatozoïdes [420].