



République Algérienne Démocratique et  
Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de  
la Recherche Scientifique

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie

### **Mémoire de fin d'étude**

En vue de l'obtention du Diplôme  
de Master

### **Option**

Production et Nutrition Animale

### **Thème**

**Cryoconservation de la semence du bouc : Etat des lieux  
et perspective**

#### **Présenté par :**

- ABDELLAH Fathia
- FAID AICHAOUI Yasmine

#### **Devant le Jury compose de**

Dr MEFTI H	Professeur USD-Blida.1	Président de jury
Dr SID S	MAA. USD-Blida.1	Examinatrice
Dr CHEKIKENE A.H	MAA. USD-Blida.1	Promotrice

**Année universitaire 2020 - 2021**



## Remerciements

Avant tout, nous remercions dieu de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour achever ce travail.

Nous vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent respectivement à notre promotrice.

**Mme chekikene A.H** qui a accepté de nous encadrer. Nous le remercions infiniment pour son aide, ses orientations et sa patience.

Comme nous tenons à remercier **Mme Mefti H** d'avoir accepté de précéder ce jury et l'examinatrice **Mme Sid S.**

Nous remercions tous les enseignants chacun par son nom qui ont travaillé avec nous tout au long de notre période d'étude.

Nous remercions enfin tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.



## Dédicace

Je dédie ce travail à...

Ma trésor **mère**, tu m'as donné la vie, la tendresse et courage pour réussir. En témoignage de mon profonde cœur, je t'offre ce modeste travail pour tes sacrifices.

Mon très cher **père**, l'épaule solide. Rien au monde ne vaut les efforts

fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Mes chers **frères** et ma chère **jumelle Nassima**.

Tous la famille **Faid Aichaoui** et la famille **Chikhi** chacun par son nom. Particulièrement, mon oncle **Farouk** qui est mon deuxième père en conseils.

Mes très chères amies **Fathia** et **Hayet**. Et ma promotion de master 2021.

**Yasmine**

## Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A **l'homme**, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Abdelkader**.

A **la femme**, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Aicha Iffouzar**.

A mes chères **sœurs** et mes chers **frères** qui n'ont pas cessé de me conseils, encouragements et soutenir tout au long mes études, que dieu les protèges et leurs offre la chance et le bonheur.

Aux **filles** et **enfants** de mes sœurs et frères, que dieu les protèges et les fasse réussir dans leurs études.

Merci pour votre amour et vos encouragements.

Sans oublier ma binôme **Yasmine** pour sa soutien moral, sa patience et sa compréhension tous au long de la période de travail afin d'atteindre ce jour.

**Fathia**



## **Résumé**

L'insémination artificielle est le principal outil de diffusion rapide de matériel génétique de valeur chez les animaux d'élevage. Cependant, l'absence d'un protocole de cryoconservation optimale pour le sperme caprin est un défi majeur pour la promotion de l'IA au sein de cette espèce.

Les diluants utilisés pour la cryoconservation du sperme des animaux domestiques contiennent des ingrédients similaires souvent d'origine animale. Dans le cas des chèvres, les interactions entre le plasma séminal et le jaune d'œuf sont délétères pour les spermatozoïdes. Par conséquent, une compréhension approfondie de la congélation du sperme chez la chèvre permettra de préserver la fertilité du sperme. Dans cette revue, les différentes méthodes de traitement, de congélation et de décongélation du sperme de bouc et leurs effets sur la fertilité des spermatozoïdes lors des tests de fertilité ou de l'insémination artificielle ont été abordées.

Les caractéristiques biochimiques du sperme, le taux de dilution, les différents diluants, l'osmolarité, le pouvoir tampon et le pH du diluant ainsi que le rôle des cryoprotecteurs ont été rapportés. Suivi d'une comparaison de la qualité du sperme après décongélation dans un dilueurs à base de jaune d'œuf ou de lait avec ou sans plasma séminale.

Mots clés : Cryoconservation, Diluant, Fertilité, Chèvre, Sperme.

## **Abstract**

Artificial insemination is the main tool for the rapid dissemination of valuable genetic material in farm animals. However, the lack of an optimal cryopreservation protocol for goat semen is a major challenge for the promotion of AI in this species.

Diluents used for cryopreservation of pet semen contain similar ingredients, often of animal origin. In the case of goats, the interactions between the seminal plasma and the egg yolk are deleterious for the sperm. Therefore, a thorough understanding of semen freezing in goats will help preserve sperm fertility. In this review, the different methods of processing, freezing and thawing goat

Semen and their effects on sperm fertility during fertility testing or artificial insemination have been discussed.

The biochemical characteristics of the sperm, the dilution rate, the different diluents, the osmolality, the buffering capacity and the pH of the diluent as well as the role of cryoprotectants have been reported. Follow-up of a comparison of the quality of the sperm after thawing in a diluter based on egg yolk or milk with or without seminal plasma.

**Keywords :** Cryopreservation, Diluent, Fertility, Goat, Sperm.

## ملخص

التلقيح الاصطناعي هو الأداة الرئيسية للنشر السريع للمواد الوراثية القيمة في حيوانات المزرعة. ومع ذلك فإن عدم وجود بروتوكول حفظ مثالي للسائل المنوي للماعز يعد تحديا كبيرا لتعزيز الذكاء الاصطناعي في هذا النوع.

تحتوي المخففات المستخدمة في حفظ السائل المنوي للحيوانات الأليفة على مكونات مماثلة غالبا من أصل حيواني. في حالة الماعز تكون التفاعلات بين البلازما المنوية وصفار البيض ضارة بالحيوانات المنوية. لذلك فإن الفهم الشامل لتجميد السائل المنوي في الماعز سيساعد في الحفاظ على خصوبة الحيوانات المنوية. في هذا الاستعراض تمت مناقشة الطرق المختلفة لمعالجة وتجميد وذوبان السائل المنوي للماعز وتأثيرها على خصوبة الحيوانات المنوية أثناء اختبار أو التلقيح الاصطناعي.

تم الإبلاغ عن الخصائص البيوكيميائية للحيوانات المنوية ومعدل التخفيف والمخففات المختلفة والتسولية وقدرة التخزين المؤقت ودرجة الحموضة للمادة المخففة وكذلك دور المواد الواقية من التجمد. متابعة مقارنة جودة الحيوانات المنوية بعد الذوبان في مخفف يعتمد على صفار البيض أو الحليب مع أو بدون بلازما المنوية.

**الكلمات المفتاحية:** الحفظ بالتجمد، مخفف، الخصوبة، الماعز، الحيوانات المنوية.

## Sommaire

Introduction ..... 2

### Partie bibliographie

Chapitre1 : Anatomie de l'appareil génital .....6

Chapitre2 : Physiologie de la reproduction du bouc..... 14

Chapitre3 : Collecte et conservation de la semence du bouc .....23

### Partie expérimental

Chapitre1 : Matériel et méthodes... 42

Chapitre2 : résultats et discussion...54

Conclusion... 60

Références bibliographiques

## **Liste des figures :**

Figure 1 : Appareil génital du bouc .....	6
Figure 2 : Les enveloppes testiculaires .....	7
Figure3 : structure histologique du tube séminifère .....	8
Figure 4 : schéma représentatif des différentes fonctions des cellules de Sertoli.....	8
Figure 5 : Anatomie du spermatozoïde .....	10
Figure 6 : Etape de la spermatogenèse .....	14
Figure 7 : Spermatogénèse dans la paroi de tubes séminifère .....	15
Figure 8 : Etape de méiose de la spermatogenèse .....	16
Figure 9 : Etape de la spermiogenèse .....	19
Figure 10 : Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse .....	20
Figure 11 : Vagins artificiel .....	23
Figure 12 : Electroejaculateur .....	25

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Concentration moyenne des principales composantes du plasmaséminal chez le bouc.....	27
<b>Tableau 02</b> : résumé de différentes étapes de lavage et de traitement de la semence de bouc pour utilisation sous forme liquide ou congelée.....	31
<b>Tableau 03</b> : préparation de la solution de lavage pour le sperme de bouc (solution Krebs-Ringer-Phosphate-glucose à préparer la veille de la collecte). .....	32
<b>Tableau 04</b> : préparation des dilueurs pour la semence de bouc (à préparer la veille de la collecte).....	36
<b>Tableau 05</b> : Composition du dilueur et mode opératoire.....	42
<b>Tableau 06</b> : Résultats des principaux paramètres de la semence après dilution .....	54
<b>Tableau 07</b> : dilution de semence du bouc à base de lait écrémé.....	56

## Liste des abréviations

**ABP** : Androgen Binding Protein

**BUSpg 60** : Bulbo-Urétrale sécrétrice d'un glycoprotéine de 50-60 kilo daltons

**CASA** : Computer Assisted Sperm Analysis

**DSP** : Daily Sperm Production

**EYCE** : Egg Yolk Coagulating Enzyme

**FSH** : Follicle Stimulating Hormone

**GnRH** : Gonadotrophin Releasing Hormone

**HAP** : protéine d'affinité à l'héparine

**JC** : Jours Courts

**JL** : Jours Longs

**JO** : Jaune d'œuf

**KRPG** : Krebs-Ringer-Phosphate-Glucose

**LDL** : Low Density Lipoproteins

**LH** : Luteinizing Hormone

**LS** : Lécithine de soja

**MORPH** : Pourcentage de spermatozoïdes morphologiques normaux

**MS** : Pourcentages des spermatozoïdes mobiles

**PLA2** : Phospholipase A2

**PLRP2** : Pancréatine Lipase Related Proteins 2

**PPCN** : Phosphocasinat natif

**RPL** : Hormone Prolactine

**TCG** : Tri-AC-Citrique-Glucose

**TJO** : Tris-Jaune d'œuf

**TTG** : Tes-Tri-Glucose

**VIAB** : pourcentage des spermatozoïdes viables

# **Introduction**

## Introduction

---

### Introduction

En Algérie, l'élevage caprin compte parmi les activités agricoles les plus traditionnelles associées à l'élevage ovin, cette population reste marginale et ne représente que 13% du cheptel national (**Meskini Z, 2017**).

Dans le système intensif de production, l'insémination artificielle joue un rôle important dans le contrôle de la reproduction et l'amélioration génétique des races. Cette technique permet une application efficace des programmes de productions orientés vers l'intensification de la production laitière, bouchère ou de cuir (**Hero M et al., 2019**). En effet, l'utilisation de l'insémination artificielle (IA) depuis près de 70 ans et le développement des biotechnologies de l'embryon à partir des années 1980 ont conduit, en association avec la cryoconservation des gamètes et des embryons, à améliorer le potentiel génétique des animaux domestiques d'une part (**Ponsart C et al., 2014**), la préservation des races locales et la propagation de leur matériel génétique (**Roof D.J et al., 2012 ; Tibary A et al., 2018**) d'autre part.

La reproduction des chèvres par IA offre des avantages sanitaires, génétiques et économiques pour les élevages. Développer son utilisation nécessite d'améliorer la quantité et la qualité de la semence à court et long terme est un essentielle pour répondre à la diversité des situations rencontrées dans les élevages caprins (**Leboeuf B et al., 2003**).

L'utilisation de la semence conservée congelée offre une plus grande souplesse d'utilisation que la semence fraîche. La conservation à basse température et la congélation des spermatozoïdes sont des méthodes privilégiées pour la diffusion du progrès génétique. La congélation permet en outre la conservation *ex situ* de la diversité génétique des espèces de mammifères (**Labbé C et al., 2003**). Elle permet de constituer un stock important de semences par géniteur pendant les opérations d'évaluation génétique sur descendance, pour une large diffusion ultérieure de boucs d'un haut potentiel génétique (**Leboeuf et al., 2008**).

Aujourd'hui, les ressources biologiques reproductives (embryon, sperme, ovocyte) sont conservées dans des milieux contenant des produits d'origine animale telle que le jaune d'œuf et le lait (**Lucie Gavin-Plagne., 2018**).

## Introduction

---

Dans l'espèce caprine, les jeunes mâles destinés à produire de la semence pour l'insémination artificielle sont classiquement élevés en cases individuelles. C'est dans ces conditions que leur comportement en collecte au vagin artificielle et leur production spermatique est la plus satisfaisante (**Orgueur P et al., 1998**). La maîtrise des techniques de production et de conservation de la semence des boucs est essentielle pour la conduite des schémas de sélection des races (**Manfredi E et al., 1998**).

Dans ce contexte, l'objectif global de ce travail est de rappeler l'intérêt de la cryoconservation de la semence chez les petits ruminants richesse potentielle du pays avec environ 20M de têtes ovines et 5M de têtes caprines. Néanmoins, notre choix a porté sur les caprins qui représentent un réel défi pour palier aux problèmes de pénurie du lait du pays.

Pour ce faire, nous avons réalisé une revue systématique d'articles relatifs à la cryoconservation de la semence chez le bouc afin d'apporter une synthèse des résultats obtenus par les différentes techniques de collecte et les différents milieux de conservation.

Suivi d'une comparaison entre les résultats d'IA de différents travaux de recherche. Le mémoire décrivant ce travail est entamé par cette introduction générale qui donne une idée sur l'importance du thème abordé tout en exposant clairement l'objectif visé.

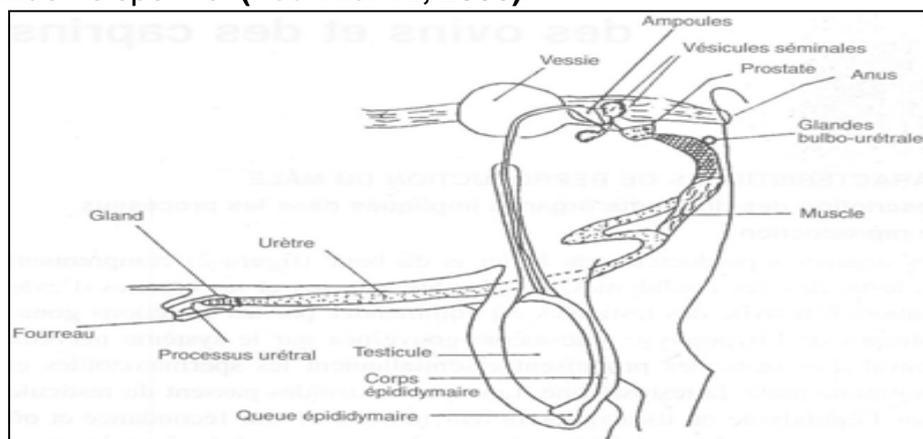
Sur la base de ce qui a été dit, nous avons formulé la question suivante qui représente le centre de notre problématique : -Peut-on évaluer la qualité d'une semence cryoconservés sur la base des résultats en I.A? Et quel est, donc la meilleure composition du milieu de conservation pour une semence caprine ?

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Chapitre1 :**  
**Anatomie de l'appareil**  
**génital**

## I ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL

l'appareil génital de bouc se compose des testicules, des glandes annexes et des voies spermatiques responsables du transport du sperme et de son dépôt dans les voies génitales femelles (**Boukhliq R et al., 2018**). Ces glandes accessoires mêlent leur produit de sécrétion au fluide testiculaire pour constituer le sperme. (**Fournier A., 2006**).



**Figure 01 :** Appareil génital du bouc

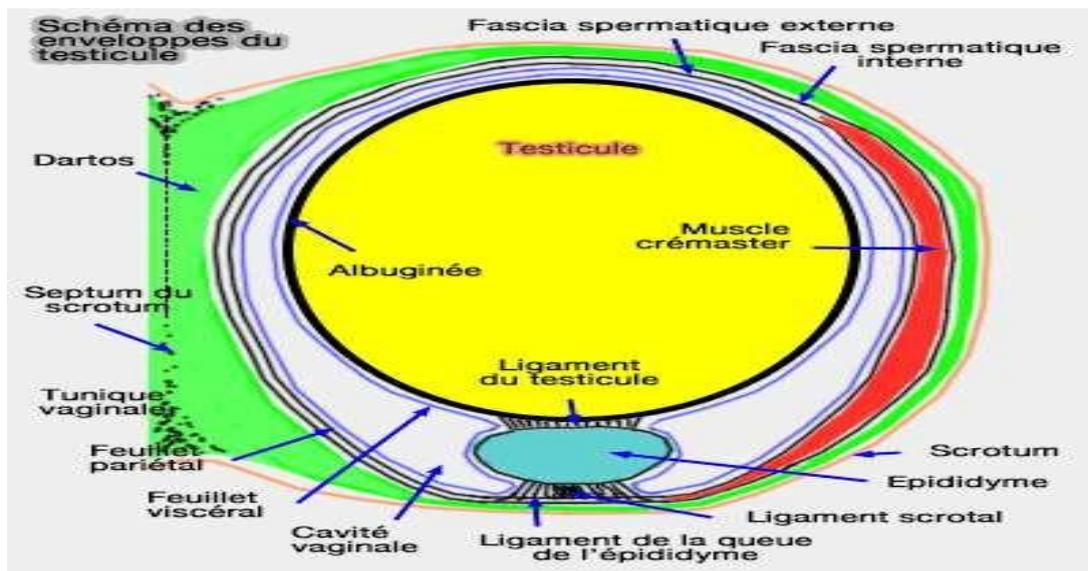
### I. Les testicules

Il est orienté verticalement dans le scrotum des ruminants. La taille du testicule varie selon la saison dans les espèces dites saisonnières telles le bélier, l'étalon ou le chameau. Le poids moyen des deux testicules est de 500 g chez les petits ruminants. Le poids testiculaire est étroitement corrélé ( $r = 0.91$  à  $0.98$ ) avec le périmètre scrotal. Cette mesure permet de bien estimé la capacité de production en spermatozoïdes. Cette relation est d'autant plus intéressante que la taille du testicule est hautement héritable ( $h^2 : 0.5$ ). Le tissu parenchymateux est pulpeux et de couleur jaunâtre, plus ou moins foncée.

Les testicules sont les gonades mâle qui assurent la production des spermatozoïdes (spermatogenèse) et synthétisent la testostérone, principale hormone sexuelle chez le mâle (**Boukhlik R et al., 2012**). Le testicule assure deux fonctions importantes : l'une assimilée à une fonction exocrine : c'est la production des gamètes mâles ou spermatozoïdes qui sont assumées par les tubes séminifères, et l'autre endocrine : c'est la sécrétion d'hormones

Testiculaires assurée par le tissu interstitiel.

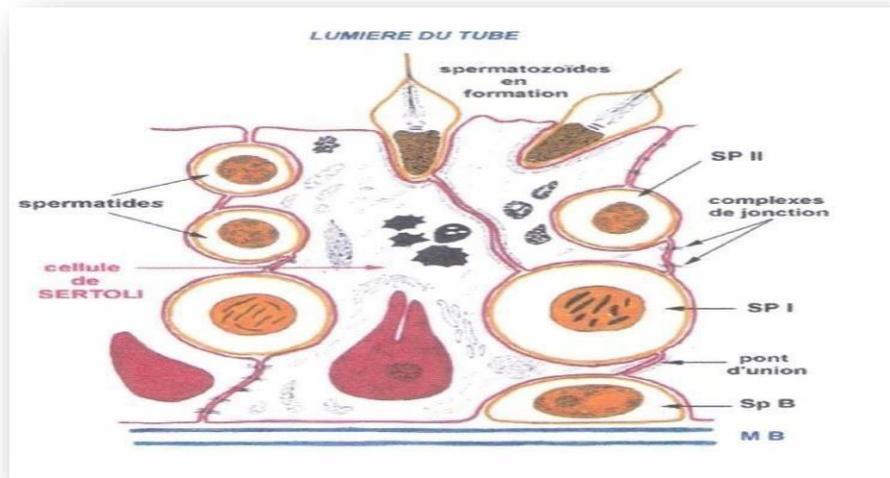
Le taux de testostérone (hormone mâle produite par les testicules) détermine la production de sperme : s'il y a peu d'hormone mâle, la production de testostérone diminue et entraîne donc une diminution de la qualité de sperme (Charlotte Tourmente., 2014).



**Figure 02 :** les enveloppes testiculaires

#### IV. Les tubes séminifères :

Chaque tube est entouré d'une enveloppe. L'épithélium séminifère apparaît stratifié constitué par les cellules de la lignée germinale et par des cellules somatiques : cellules de Sertoli. Cet épithélium assure la spermatogenèse (Leborgne M.C et al., 2014). Ces tubes sont entourés de tissu conjonctif et de tissus interstitiels formés de cellules de Leydig qui sont des cellules endocrines sécrètent essentiellement de la testostérone.

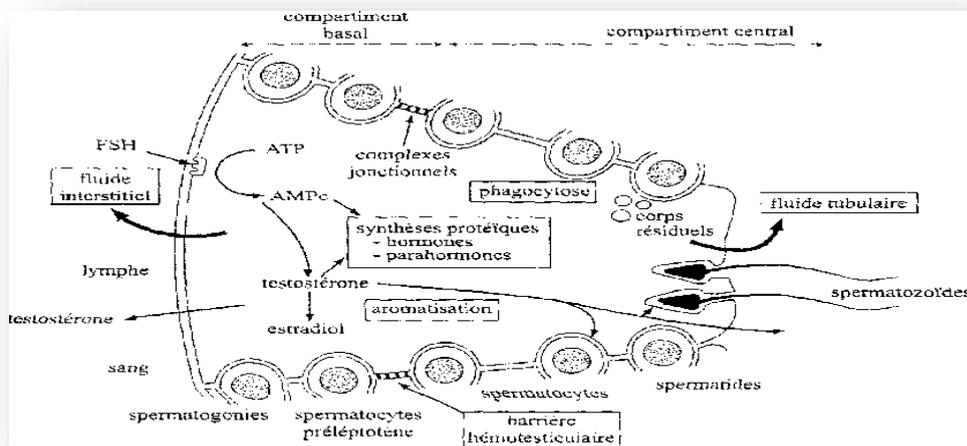


**Figure 03:** Structure histologique du tube séminifère (Albert et Jean, 2001)

**V. Les cellules de Sertoli**

Ils Constituent le support des cellules de la lignée spermatogénèse. Elles se multiplient jusqu'au début de la période de spermatogénèse où leur nombre ne s'accroît plus. Leur base, polygonale, est appliquée contre la lame basale (Meskini Z, 2017).

Le rôle de cette cellules est soutien l'activité métabolique importante : la nutrition des cellules germinales et une fonction endocrine (Leborgne M.C et al., 2014).



**Figure 04 :** Schéma représentatif des différentes fonctions des cellules de Sertoli (Noakes et al., 2001)

## VI. Les cellules de la lignée germinale

Ce sont les spermatogonies, les spermatocytes, les spermatides et les spermatozoïdes dérivant toutes des gonocytes.

### I. **Spermatogonies**

Situées près de la membrane basale, ces cellules ont un noyau arrondi, foncé à chromatine finement dispersée, et désignées par Ad (Dark, type A). Par mitose, elles donnent une spermatogonie Ad et une spermatogonie Ap (pâle, type A) appelée aussi « poussiéreuse » ayant une chromatine plus claire toujours finement dispersée. La division de celle-ci aboutit aux spermatogonies B ou « croûteuses ». Les spermatogonies croûteuses se divisent une à trois fois pour donner des « spermatocytes du premier ordre » ou « spermatocytes I » (**George, 1996**).

### II. Spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule hautement spécialisée qui assure la transmission du génome haploïde mâle (ADN) à l'œuf de la femelle (**Thibault, 1975**). C'est la seule cellule programmé pour vivre hors de l'organisme (**Abad Taous., 2019**).

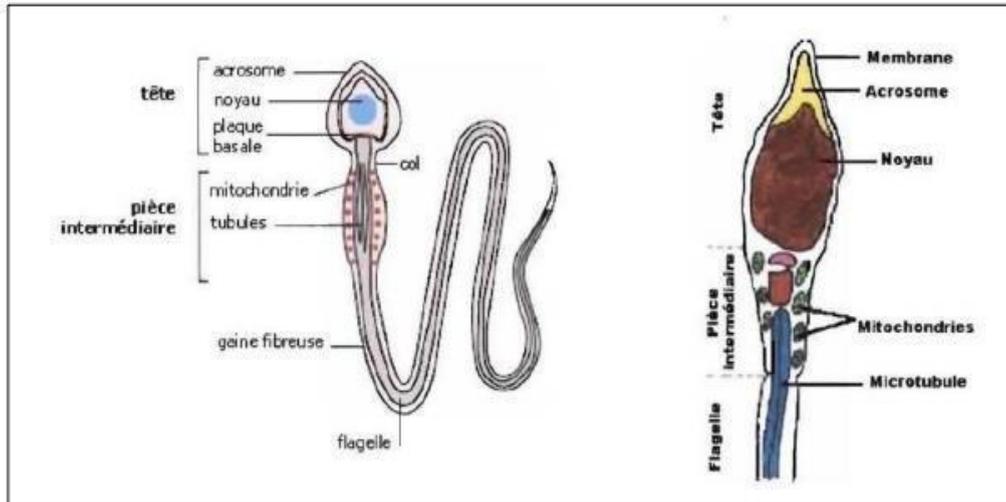
C'est une petite cellule allongée, très mobile, de longueur variable selon les espèces (60 à 65 $\mu$  chez le bouc) (**Altman, 1962**). Elle se constitue d'une tête et d'un flagelle réunis par un col très bref.

**La tête** : c'est le premier partie (4.5 à 5 $\mu$ ), l'acrosome qui recouvre sa partie antérieure est riche en enzymes protéolytiques qui jouent un rôle fondamental lors de la fécondation (**Hireche S**)

**Le flagelle** : Le flagelle est l'élément moteur du spermatozoïde présent, lui-même, trois parties successives :

- La pièce intermédiaire débute au niveau du centriole distal et se termine par un épaississement de la membrane cytoplasmique en partie caudale.
- La pièce principale: c'est la partie la plus longue de la queue. A son niveau, la gaine mitochondriale est substituée par une gaine fibreuse.

- La pièce terminale : ne contient que le filament axial avec une mince membrane remplaçant la gaine fibreuse.



**Figure 05 :** Anatomie du spermatozoïde (YAYE et al., 2009)

### Le sperme

Le produit de l'éjaculation est appelé sperme, il est constitué de deux fractions :

- ♦ Une fraction cellulaire constituée par les spermatozoïdes produits par les testicules.
- ♦ Une fraction liquide appelée plasma séminale, faite de sécrétions testiculaires et des sécrétions des glandes annexes, Chez le bouc, le sperme apparaît comme un liquide épais, crémeux et inodore avec une viscosité plus élevée que celle du taureau (MILOUDI., 2019).

Le volume spermatique varie selon les espèces et même dans l'espèce selon l'état physiologique du mâle, l'individu, la race, le développement corporel, le nombre de saillies ou de récolte et la méthode de récolte.

### **VII. Les cellules du tissu interstitiel**

Isolées ou groupées en amas, les cellules de Leydig occupent les espaces inter tubulaires en rapport étroit avec les capillaires sanguins et lymphatiques (Poirier et Chevreau, 1970). Elles ont une forme polyédrique avec cytoplasme dense et noyau arrondi. Leur ultra structure montre une capacité de stéroïdogénèse. Elles secrètent les androgènes sous forme de testostérone et de dihydrotestostérone (Dadoune, 1998).

## **II. Les voies spermatiques**

Après leur élaboration dans les tubes séminifères, les spermatozoïdes seront évacués grâce à un ensemble de canaux : ce sont les voies excrétrices du sperme. Ces voies comprennent une partie intra-testiculaire (tubes séminifères droits et rete-testis) et une partie extra-testiculaire (**Girod et Czyba, 1977**).

## **IV. Les voies extra-testiculaires**

### **I. L'épididyme**

C'est un organe allongé, logeant le bord postérieur du testicule et coiffant ses deux extrémités. Il est fait d'un canal étroitement pelotonné et se divise en trois segments :

- Une tête dans laquelle pénètrent les canaux efférents
- Un corps étroit et allongé et
- Une queue de laquelle part le canal déférent (**Vaissaire, 1977**).

### **II. Le conduit déférent**

Il fait suite à la queue de l'épididyme et s'étend jusqu'à l'urètre. D'une longueur d'environ 40cm, il traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, puis il se fléchit vers la face dorsale de la vessie (**Girod et Czyba., 1977**).

Chez le bouc, le canal déférent se termine par une dilatation de 6 à 8cm de longueur appelée ampoule différentielle (**Nickel et al., 1973**).

### **III. Le conduit éjaculateur**

C'est un conduit très bref qui résulte de l'union entre le conduit déférent et celui de la vésicule séminale. Il débouche dans la partie initiale de l'urètre (**Barone, 1978**).

### **IV. L'urètre**

C'est un long conduit impair qui sert à l'excrétion, à la fois, de l'urine et du sperme. Il se divise en deux portions :

-La portion intra-pelvienne : part de la vessie, reçoit le débouché des canaux déférents et sort du bassin. Elle est dépourvue de formations érectiles ;

-La portion extra-pelvienne ou pénienne : est faite de tige érectile (corps caverneux) accolée à une gaine de tissu érectile (corps spongieux) et dépourvue de glandes (**Vaissaire, 1977**).

#### V. La verge (Ou Pénis)

Le pénis du bouc mesure 40 à 55cm, il est mince, cylindrique, moins érectile et se termine en **pointe** à son extrémité libre (**Altman, 1962 ; Hafez, 1968**).

- Une partie fixe formant une double inflexion en forme d'un S : c'est le S pénien ou inflexion sigmoïde.

- Une partie libre terminée par un renflement recourbé en croché nettement asymétrique : c'est le gland. Le tube urétral se prolonge, sous la face inférieure du gland, d'un appendice vermiforme (**Vaissaire, 1977**).

**CHAPITRE II :**  
**PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION**  
**DE BOUC**

## CHAPITRE II : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE BOUC

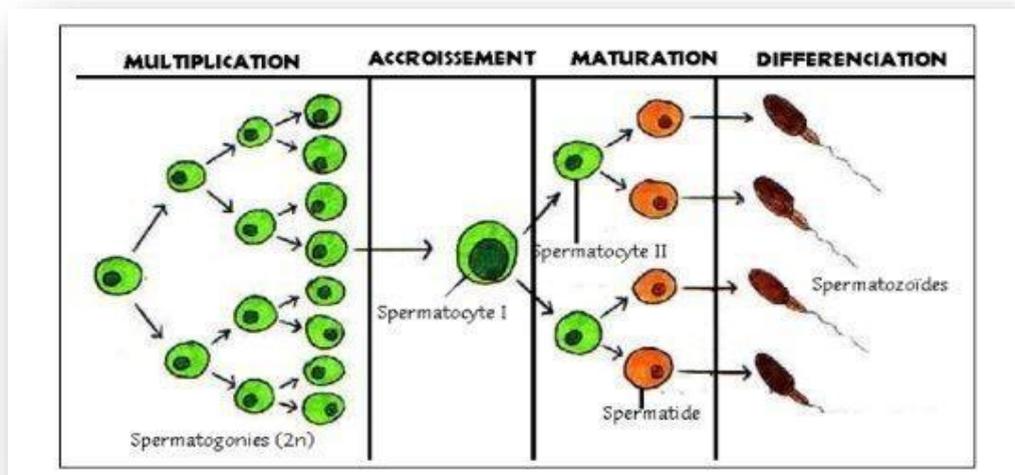
### 1. La spermatogenèse

La spermatogenèse est un mécanisme extrêmement complexe et est un phénomène continu débutant à la puberté qui assure deux fonctions essentielles :

- La multiplication perpétuelle : les divisions et les différenciations des spermatogonies souches qui aboutissent à la production des spermatozoïdes.
- Le renouvellement permanent de ces spermatogonies qui vont constituer le stock de futurs.

A l'âge de 4 à 6 mois, le jeune male devient apte à produire des spermatozoïdes et donc de pouvoir assurer des saillies. Néanmoins, il faudra s'assurer auparavant de la descente totale des testicules (**Zarouk et al., 2001**)

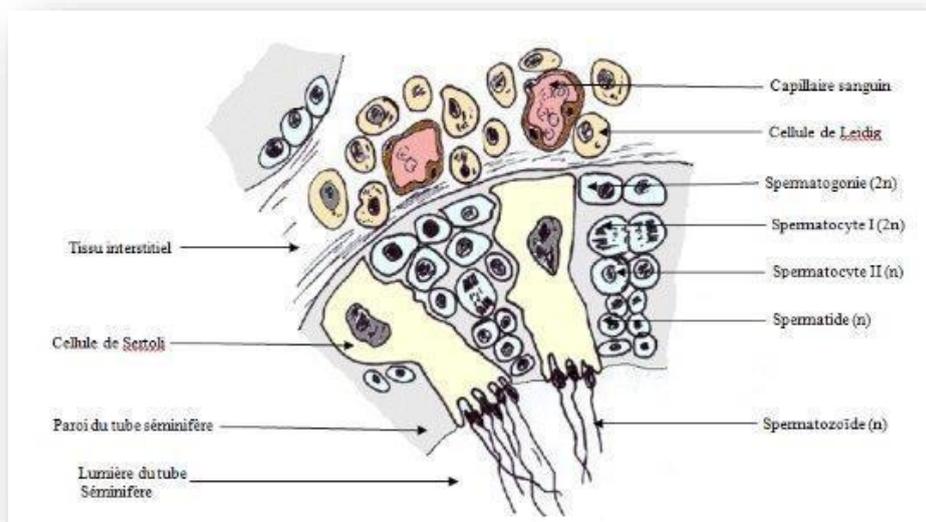
L'activité spermato-génique est sous la dépendance de la LH et de la FSH. Celles-ci participent non seulement à la différenciation et à la multiplication des cellules germinales mais également à la synthèse et à la sécrétion de la testostérone par les cellules de Leydig du testicule.



**Figure 06:** Etape de la spermatogenèse

### Le lieu de la spermatogénèse

Les tubes séminifères sont le lieu de fabrication des gamètes, où les cellules de la lignée spermato-génique sont associées à des cellules de soutien appelées cellule de Sertoli (**Meskini Z, 2017**).



**Figure 07:** Spermatogénèse dans la paroi du tube séminifère

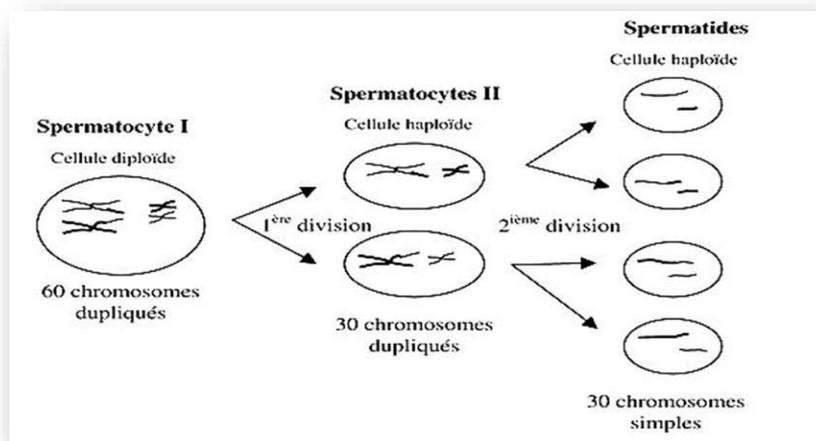
### Les différentes phases de la spermatogénèse

La spermatogénèse proprement dite est l'étape de prolifération des cellules souches (spermatogonies) par mitose pour conserver un stock constant de cellules, jusqu'à leur différenciation en spermatoïdes. Les spermatogonies sont disposées en périphérie de l'épithélium séminal et entre les cellules de Sertoli avec lesquelles elles ont un contact étroit. Régulièrement, des spermatogonies rentrent en phase de différenciation pour donner des spermatocytes de premier ordre (spermatocytes I) (**Zarouk A et al., 2001**).

- Phase 1 : Les cellules souches germinales

Toute la lignée germinale dérive d'un seul type cellulaire, les cellules souches germinales également nommées spermatogonies. De fait, ce sont elles qui vont transmettre les informations génétiques pour les générations futures. Ces cellules sont des cellules souches adultes multipotentes. Leur nombre est extrêmement faible puisqu'elles ne représentent que 0,02 à 0,04% des cellules totales de la spermatogénèse. Leur auto-renouvellement par mitose assure une production de spermatozoïdes de l'adolescence jusqu'à un âge très avancé (**Fontaine E, 2018**).

Elles sont localisées sur la face externe du tubule séminifère nichées entre les cellules de Sertoli. Les jonctions serrées situées entre les cellules de Sertoli ont un rôle à la fois protecteur mais permettent aussi aux spermatogonies d'évoluer dans un micro environnement particulier propice à leur auto-renouveaulement et leur différenciation. Notamment, les cellules de Sertoli fournissent le facteur principal nécessaire au maintien et à l'auto-renouveaulement des spermatogonies : Le GDNF (Glial Cell Derived Neurotrophic Factor) (**Fontaine E, 2018**).



**Figure 08:** Etape de méiose de la spermatogenèse (**Dadoune et al., 2001**)

- Phase 2 : Méiose et brassage génétique

La méiose est un mécanisme remarquablement conservé puisque les étapes principales des divisions méiotiques sont similaires chez toutes les espèces lesquelles la méiose a été observée. En effet, chaque cellule diploïde entrant en méiose a reçu un lot de chromosomes provenant de son géniteur femelle et de son géniteur male (**Marie S.D et al., 2014**).

Pour obtenir des cellules haploïdes (1N) compétentes pour la fécondation, les cellules germinales vont devoir subir deux divisions méiotiques successives. Ce processus est tout d'abord précédé d'une répllication de la totalité de l'ADN.

Les cellules germinales ainsi formées sont constituées de 2 chromatides d'origine maternelle et deux chromatides d'origine paternelle (4N). La première division méiotique dite « réductionnelle » mène à la séparation des chromosomes homologues d'origines maternel et paternel. Les deux cellules ainsi formées (2N) subissent une seconde division méiotique dite « équationnelle » où les chromatides sœurs se séparent pour donner naissance à la formation de deux cellules haploïdes (1N) : les spermatides rondes **(Fontaine E, 2018)**.

Chacune de ces divisions cellulaires se divisent en quatre grandes phases chronologiquement : prophase, métaphase, anaphase et télophase. Chacune de ces phases dure un temps bien défini qui peut être très rapide comme la méiose II ou très lente comme la phase pachytène de la méiose I **(Fontaine E, 2018)**.

- Phase 3: La spermiogenèse

La spermiogenèse est l'étape de différenciation cytoplasme : les spermatides se transforment en spermatozoïdes avec de nombreuses modifications structurales et chimiques. On distingue quatre phases : la phase de golgi, du capuchon, de l'acrosome et de maturation. Les vésicules golgiennes fusionnent et se concentrent sur la partie antérieurs du noyau pour donner l'acrosome. Les centrioles s'orientent à l'opposé de l'acrosome pour donner naissance au flagelle. Les mitochondries se déposent en anneau autour des filaments du flagelle tandis que le cytoplasme résiduel est phagocyté par les cellules de Sertoli sous forme d'une gouttelette cytoplasmique **(Fontaine E, 2018)**.

La spermiogenèse est définie comme la somme des changements nucléaires et cytoplasmiques intervenant entre les spermatides et les spermatozoïdes. C'est une étape essentielle dont dépend, dans une large mesure, la qualité finale des gamètes **(Fontaine E, 2018)**.

- Réorganisation du noyau

Il s'aplatit latéralement, se dirige vers le pôle acrosomique et sa condensation se poursuit.

- Développement du système acrosomique

Sur le pôle antérieur du noyau, s'étalent des vésicules provenant du système golgien pour former l'acrosome.

- Assemblage des structures du flagelle

Les formations flagellaires apparaissent à partir du col marqué par le centriole distal

- La spermiation

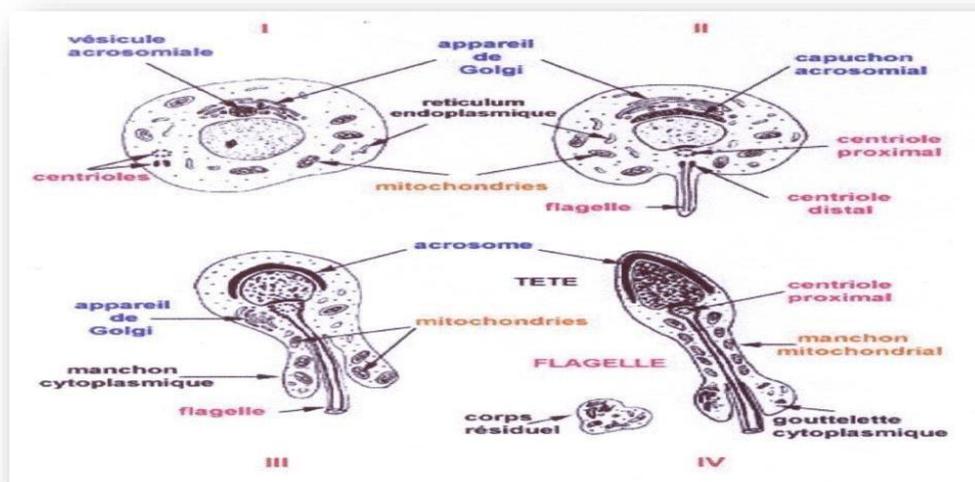
Elle est l'étape finale de la spermatogenèse : c'est la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère.

### **1.3. La durée de la productivité de la spermatogenèse**

La durée de la spermatogenèse est constante pour une espèce au cours de la vie. Chez le bouc, il faut 52 jours pour obtenir des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Ensuite, il faut prendre en compte une dizaine de jours supplémentaires pour l'acquisition de pouvoir fécondant. Ainsi, on retiendra que 2 mois sont nécessaires pour la formation des spermatozoïdes féconds (Gahery C., 2012).

La production journalière de spermatozoïdes ou DSP (Daily Sperm Production) est de l'ordre de  $2.8 \text{ à } 7.3 \times 10^9$  spermatozoïdes par jour et par testicule chez le bouc Alpin (Leboeuf B et al., 2003).

Le DSP est fonction du rendement des divisions cellulaires, et de la période des divisions des spermatogonies souches qui elle est fixe. Le rendement des divisions des cellules souches varie notamment avec la saison (Delgadillo et al., 1995).



**Figure 09 :** Etapes de la spermiogenèse (Albert et Jean, 2001)

#### 1.4 .Le contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse

La fonction de reproduction est sous le contrôle du système nerveux central par l'intermédiaire de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Plusieurs facteurs environnementaux dont la photopériode agissent sur le système nerveux central (Meskini Z., 2017).

Le déclenchement et le maintien de la spermatogenèse sont sous la dépendance des hormones hypophysaires gonadotropes. Cependant, tandis que la FSH exerce ses effets directement sur l'épithélium des tubes séminifères, la LH exerce son effet stimulateur indirectement, via la testostérone produite par les cellules de Leydig. Mais il est admis que la prolactine intervient également (Meskini Z., 2017).

La GnRH est sécrétée de manière pulsatile par des neurones hypothalamique, stimule la sécrétion hypophysaire, elle-même pulsatile, de deux autres hormones FSH et LH .

La LH est libérée sous forme de pulses séparés par des périodes de repos au cours desquelles une sécrétion basale est enregistrée. Ces brusques changements de la concentration plasmatique de la LH entraînent une stimulation rapide des cellules de Leydig qui répondent en libérant la testostérone dans le sang. Chaque pulse de LH est suivi d'un pulse de testostérone dont l'amplitude varie selon la situation physiologique du mâle.

La FSH est sécrétée d'une manière complexe et semble être continue plutôt qu'épisodique. La FSH assure le bon déroulement de la spermatogénèse en stimulant d'une part la production de testostérone et d'autre part la synthèse de l'ABP par l'intermédiaire des cellules de Sertoli.

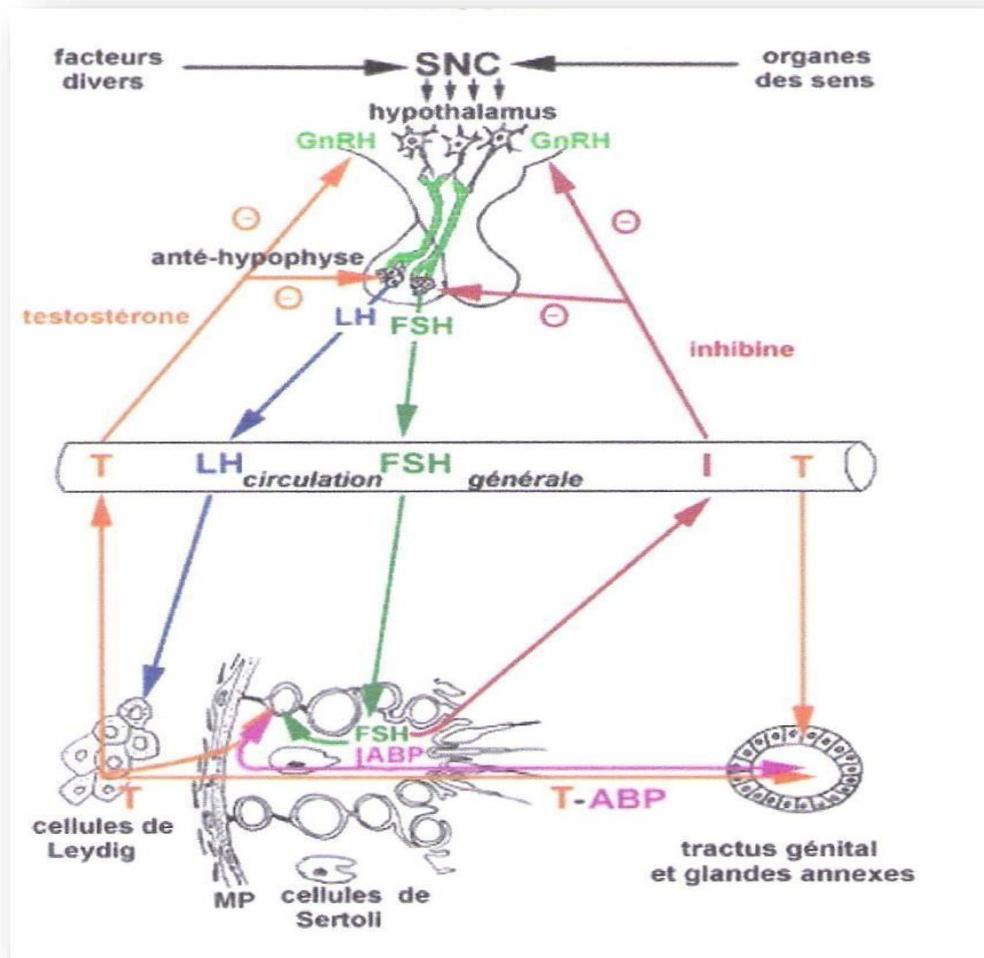


Figure 10: Contrôle neuroendocrinien de la spermatogénèse (Albert et Jean, 2001).

## 1. Aspects spécifique de la reproduction chez le bouc

### Puberté

La puberté est associée à une augmentation de la sécrétion de testostérone, à la spermatogénèse et au comportement sexuel. La copulation et l'éjaculation de spermatozoïdes viables se produisent à l'âge de 4 à 6 mois période à laquelle le poids du jeune bouc représente 40 à 60% du poids vif de l'adulte. L'activité sexuelle du bouc est influencée par la longueur du jour. Le pic

d'activité sexuelle coïncide avec l'augmentation de la testostérone plasmatique se produisant au cours de l'automne (**Zarouk A et al., 2001**).

Entre 4 à 6 mois, **Guillot J (2002)**, a observé une augmentation rapide de la qualité et de la quantité du sperme de chevreaux alpins et poitevins. Cette étape marque le passage de l'état pubertaire (éjaculation des premiers spermatozoïdes) à la maturité sexuelle (production des premiers éjaculats de bonne qualité) permettant l'utilisation des animaux pour la reproduction.

L'âge de la puberté varie en fonction de la saison de mises-bas. Les chevreaux nés au printemps ont une puberté plus précoce que ceux nés en automne, en relation avec la saison sexuelle (**Guillot J, 2002**).

### **Saisonnalité**

La majorité des boucs originaires des latitudes tempérées (> 40°) sont des animaux saisonniers dont les fonctions sexuelles sont influencées par les cycles circadiens (**Zarouk A et al., 2001**). La période de reproduction débute en été (juin), se poursuit en automne et jusqu'au d'hiver.

Chez le bouc de race européennes, le comportement sexuel, le volume testiculaire et la production de semence (volume et concentration) varient au cours de l'année sous l'influence de la photopériode (**Guillot J, 2002**). La qualité des éjaculats est aussi affectée par la saison : le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et la motilité des spermatozoïdes sont plus d'élevés durant la saison sexuelle. Le nombre d'anomalies morphologiques varient également de 5-8% durant la saison sexuelle à 10-18% en centre saison (**Guillot J, 2002**).

La variation saisonnière de l'activité sexuelle est contrôlée par la durée de sécrétion de la mélatonine superposable à la durée de la nuit. Elle agit sur la sécrétion de GnRH et donc sur la fonction de reproduction. Un traitement photopériodique, avec une alternance de deux mois de jours courts « JC » (8 heures de lumière) et deux mois de jours longs « JL » (16 heures de lumière) permet de supprimer les variations saisonnières de l'activité sexuelle chez le male, bélier ou bouc (**Guillot J, 2002**).

**CHAPITRE III :**  
**COLLECTE ET CONSERVATION DE LA**  
**SEMENCE DU BOUC**

## CHAPITRE III : COLLECTE ET CONSERVATION DE LA SEMENCE DU BOUC

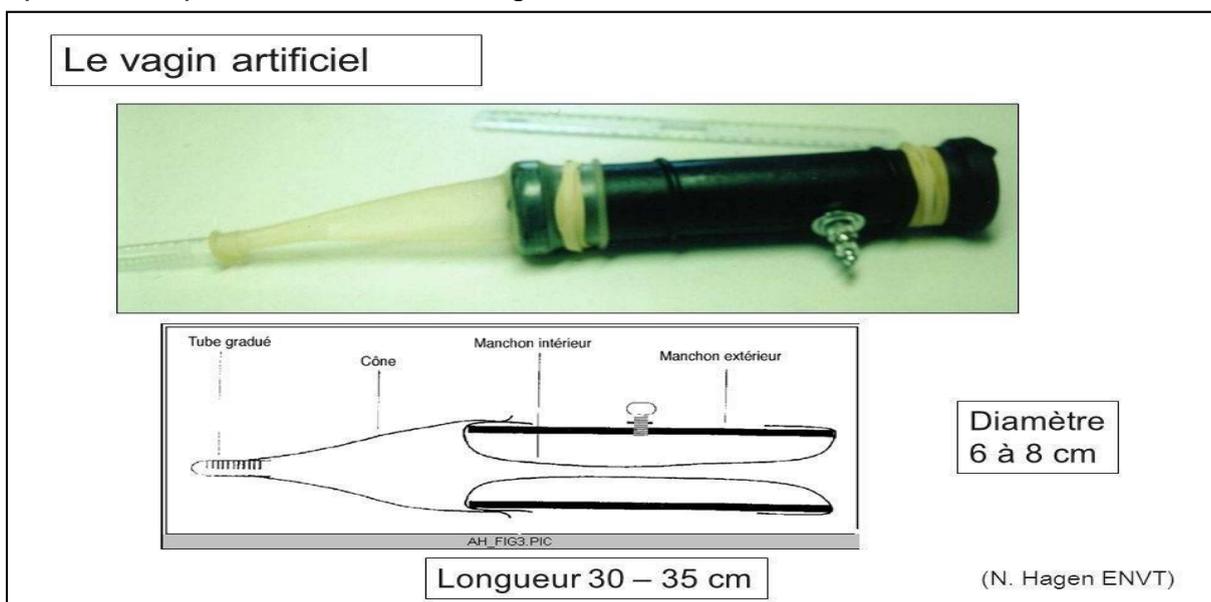
### 1. Collecte de la semence

Le sperme des animaux domestiques est recueilli soit par prélèvement dans le vagin de la femelle, soit à l'aide d'un vagin artificiel ou bien à l'aide d'une electroejaculation :

#### Technique de récolte à l'aide d'un vagin artificiel

La récolte à l'aide d'un vagin artificiel est le procédé le plus utilisé, c'est un appareil simple et pratique, le vagin artificiel comporte deux parties :

- Un cylindre extérieur en matériel rigide le plus souvent en caoutchouc dur et épais ou en plastique muni d'une ouverture fermée par un bouchon.
- La chemise intérieure en latex ou en caoutchouc artificiel est introduite dans le cylindre externe et ses extrémités rabattues et maintenues par un élastique aux extrémités de celui-là. La cavité, ainsi, formée par le cylindre externe et la chemise interne est remplie d'eau en quantité suffisante pour obtenir une pression équivalente à celle du vagin de la femelle.



**Figure11** : vagin artificiel.

- **Préparation du vagin artificiel**

Chez les caprins, au moment de la récolte du sperme, la chambre circulaire du vagin artificiel est remplie d'eau à 44-45°C en quantité suffisante de manière à créer une pression rappelant celle du vagin naturel.

L'extrémité servant à la pénétration du pénis est enduite lubrifiée, facilitant ainsi l'intromission de l'organe copulateur. Cependant, en excès, celui — la peut s'accumuler dans le tube collecteur et contaminer le sperme rendant les examens de la semence difficiles.

Du fait de leur élevage en case individuel, chaque bouc, dont sa partie abdominale et son fourreau sont nettoyés, est conduit directement de son box jusqu'à la salle de collecte, ou une femelle bout en train est alors immobilisée. Les males peuvent également être collectés dans leur box. **(ABED ., 2019).**

L'opérateur s'agenouille à côté du mâle. Lors du chevauchement, celui-là dévie le pénis du bouc, en le manipulant tant au niveau du fourreau, vers l'ouverture du vagin artificiel dirigé de bas en haut selon un angle de 45° et légèrement vers l'extérieur. **(ABED TAOUS, 2019).**

### **Technique de récolte à l'aide d'un électro-éjaculateur**

L'électro-éjaculateur est un appareil constitué d'une sonde rectale (longueur 26 cm, diamètre 2.5cm) et d'un système électronique, permettant d'envoyer des impulsions électriques cycliques via la sonde. Ces impulsions stimulent la sphère génitale, excitent la zone lombo-sacrée médullaire et donc les zones déterminant l'érection et l'éjaculation. Bien que la fertilité de la semence recueillie soit similaire à celle obtenue avec le vagin artificiel, quelques preuves récentes suggèrent que la semence du bélier obtenue par induction électrique est plus susceptible aux chocs du froid et possède une moins bonne résistance spermatique à la réfrigération et à la congélation **(KAMLI et SAIDANI., 2016).**



**Figure12** : Electro-éjaculateurs.

## **2. Sélection des mâles sur l'aptitude à la production de semence**

Une méthode de tri des jeunes mâles des races Alpine et Saanen sur leur aptitude à la production de semence destinée à l'IA a été proposée par **(Leboeuf .B et al., 2003)**.

Les mâles sont sélectionnés à partir des résultats des 15 premières sollicitations à la collecte, sur leur comportement sexuel, le nombre de spermatozoïdes obtenus par éjaculat et le taux de survie des spermatozoïdes après congélation/ décongélation.

Avec cette méthode, les performances de production de semence de boucs adultes de races Alpine et Saanen, préalablement sélectionnés dans leur jeune âge, sont supérieures aux performances de mâles non sélectionnés **(Leboeuf B et al., 2003)**.

## **3. Analyses du sperme**

Les analyses réalisées sur la semence sont macroscopiques et microscopiques :

- L'examen macroscopique permet d'évaluer l'aspect de la semence, sa couleur, le pH, l'odeur et le volume.
- L'examen microscopique permet de déterminer la concentration, la motilité, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes.

Le volume de la semence est mesuré par tube gradué et son poids est pris à l'aide d'un peson. Le pH est déterminé par un pH-mètre et l'analyse microscopique se réalise au moyen d'un microscope simple ou assisté par un ordinateur.

Il existe plusieurs méthodes de mesure de la concentration du sperme dont les Hémocytomètres, les photomètres, les spectrophotomètres et les systèmes CASA.

Le CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) est un système performant pour la détermination de la concentration, de la mobilité et de la morphologie et les cytomètres de flux pour l'évaluation de la qualité du sperme par la détermination du niveau de fragmentation de l'ADN, le potentiel mitochondrial membranaire, l'intégrité de l'acrosome et la viabilité des spermatozoïdes **(Dotché et al, 2019)**.

L'examen manuel de la semence par microscope simple permet de réaliser les mêmes analyses que les méthodes avancées, le problème avec cet examen est la fiabilité des résultats parce qu'il y a risque de maximiser les erreurs dues aux manipulateurs **(Dotché et al, 2019)**.

#### **4. Conservation de la semence de bouc**

La conservation de la semence, particulièrement à l'état congelé, provoque des dommages aux spermatozoïdes qui concernent à la fois leurs structures (membranes, flagelles) et leur état fonctionnel. Ces altérations influencent leur motilité et leur viabilité. Malgré de nombreux travaux consacrés à ces problèmes, la fertilité de la semence congelée demeure généralement plus faible que celle de la semence conservée pendant quelques heures à température positive **(Leboeuf et al, 2003)**.

#### **Plasma séminal et lavage du sperme**

Les méthodes de congélation les plus efficaces incluent le lavage de la semence pour éliminer le plasma séminal dès la collecte. Le lavage de la semence de bouc consiste en une dilution, dès la collecte des éjaculats, avec une solution saline sur la base du volume (1 :5-1 :10) ou du nombre de spermatozoïdes (400 millions de spermatozoïdes totaux par ml de solution de lavage), puis une centrifugation de lavage sont utilisées, telles que le tampons Krebs-Ringer-Phosphate (avec ou sans glucose), ou des milieux de congélation (lait écrémé, tris ou autre milieux) sans glycérol **(Leboeuf et al., 2003)**.

Plasma séminal

Le plasma séminal est composé des sécrétions de l'épididyme ainsi que de celles des glandes annexes, produites lors de l'éjaculation. Les sécrétions des glandes annexes représentent de 50 à 95 % du plasma séminal (**Maher G, 2012**).

Composition du plasma séminal

La composition du plasma séminal chez les mammifères varie d'une espèce à l'autre. **Maher et al (2012)**, ont démontré que certains composés issus de la fraction non épидидymaire de la semence de boucs ont des effets négatifs sur la survie et la motilité des spermatozoïdes.

Les principales composantes du plasma séminal de la semence de boucs sont caractérisées dans le tableau suivant :

**Tableau 01** : Concentration moyenne des principales composantes du plasma séminal chez le bouc.

Composantes	concentration moyenne
Riboflavine	Jaune : 5,38 ul / mL
(Varie selon la coloration de la semence)	Jaune pâle : 3,09 ul /mL Blanc: 1,72 ul / 100 mL
Fructose	857 mg / 100 MI
Acide acétique	331 mg / 10 mL
Acide lactique	73 mg / 100 mL
Glucose	6,7 mg / 100 mL
Glycérylphosphorylcholine	191 mg / 100 mL
L-alpha-glycérophosphate	3,3 mg / mL
Glycérol	1,76 mg / 100 mL

Adapté de **Maher G et al (2012)**

a. Enzyme EYCE

Le plasma séminal de la semence de boucs est caractérisé par la présence de l'EYCE « *Egg Yolk Coagulating Enzyme* ». Cette enzyme a été identifiée comme une phospholipase A2 (PLA2), sécrétée par les glandes bulbo-urétrales sous influences saisonnières (**Maher G et al 2012**). Le jaune d'œuf est fréquemment utilisé comme base de diluant de la semence de boucs lors des

procédés de cryoconservation. En contact avec le jaune d'œuf, l'EYCE du plasma séminal hydrolyse des phospholipides de l'œuf et de la membrane phospholipidique des spermatozoïdes, libérant un acide gras insaturé et un lysophospholipide, la lysolécithine. Ce dernier composé a différentes répercussions sur l'intégrité des spermatozoïdes selon sa concentration dans le plasma séminal, mais également selon le pH du plasma séminal, la température et la saison de production de la semence. Par conséquent, la concentration en lysolécithine aura différents impacts sur l'intégrité des spermatozoïdes. Une faible concentration en lysolécithine permet l'activation de la motilité (**Maher G, 2012**).

b. BUSpg60

Les protocoles de cryoconservation de la semence de boucs utilisent également le lait comme base de diluant. L'interaction entre le lait et le plasma séminal produit, de façon similaire au jaune d'œuf, une diminution de la survie des spermatozoïdes (**Maher G, 2012**). La BUSpg60, une glycoprotéine de 55-60 kilo daltons, est issue des sécrétions bulbo-urétrales et présente des activités de lipase triglycéride. Démontrant une grande affinité pour l'héparine, cette protéine est responsable des effets délétères sur la semence lorsque celle-ci est diluée dans le lait. On rapporte notamment la détérioration de la motilité, de la qualité des mouvements, de l'intégrité de l'acrosome ainsi que la mort cellulaire des spermatozoïdes (**Maher G, 2012**).

La BUSpg60 a été caractérisée comme une lipase pancréatique hypothétiquement membre de la famille PLRP2 (*Pancreatic Lipase Related Proteins 2*). Elle hydrolyse les triglycérides du lait libérant des acides gras, dont l'acide oléique, un composé toxique pour les spermatozoïdes

c. Protéines d'affinité à l'héparine

Plusieurs protéines du liquide séminal sont impliquées dans la régulation de la réaction de l'acrosome, la régulation du calcium et dans la capacitation des spermatozoïdes. Chez le bouc, on retrouve, en faible quantité, des protéines d'affinité à l'héparine (HAP pour « *affinity binding proteins* »). Selon certaines hypothèses de recherches, les HAP agiraient de la même manière que les protéines de liaison à l'héparine présentes dans le plasma séminal de bovin (**Maher G, 2012**). Les protéines de liaison à l'héparine sont responsables de

l'enlèvement des phospholipides et du cholestérol de la membrane plasmique des spermatozoïdes. Ces mêmes phénomènes seraient causés chez le bouc par les HAP et leurs sécrétions varient selon les cycles de photopériode naturels (**Maher G, 2012**).

### **Lavage du sperme**

Le lavage de la semence de bouc consiste en une dilution, dès la collecte des éjaculats, avec une solution saline sur la base du volume (1:5-1:10) ou du nombre de spermatozoïdes ( $400 \times 10^6$  spermatozoïdes totaux par ml de solution de lavage), puis une centrifugation à 600-1000 g pendant 10 à 15 minutes. Selon les auteurs, différentes solutions de lavage sont utilisées, telles que le tampon Krebs-Ringer-Phosphate (avec ou sans glucose), ou des milieux de congélation (lait écrémé, tris ou d'autres milieux) sans glycérol.

L'élimination du plasma séminal par lavage des spermatozoïdes de bouc dans un milieu physiologique, immédiatement après la collecte, augmente le pourcentage de spermatozoïde mobiles et leur motilité durant la conservation à 37 °C ou après congélation/décongélation et incubation à 37 °C, dans de milieux à base de lait écrémé ou dans des milieux contenant du jaune d'œuf. Mais l'élimination du plasma séminal n'est pas nécessaire à la survie des spermatozoïdes conservés à 4 °C (**Leboeuf et al., 2003**).

Le plasma séminal diminue la résistance des spermatozoïdes de bouc à la congélation. Cependant, le processus technologique mis en œuvre pour la congélation est lent et les spermatozoïdes se trouvent ainsi soumis aux effets du plasma séminal à des températures relativement élevées, +37 °C à 0 °C, pendant plusieurs heures (**Nunes J.F et al., 1982**).

C'est pourquoi, le plasma séminal doit être éliminé le plus rapidement possible après la collecte. Pour cela, le sperme est lavé avec une solution de Krebs-Ringer-Phosphate-Glucose (KRP-G). Les spermatozoïdes sont séparés du plasma séminal par centrifugation, en éliminant le surnageant. Cette opération est répétée deux fois. Dans une étude sur la viabilité des spermatozoïdes de bouc au cours de la congélation. **Guillot J (2008)**, a montré que les paramètres sémiologiques (pourcentage des spermatozoïdes mobiles et motilité), mesurés sur de la semence lavée sont supérieures à ceux évalués sur de la semence non lavée.

La procédure est décrite au tableau 02 ; les différentes étapes sont les suivants :

- Préparation de la solution de lavage (voir la composition de tableau 03), la veille de la collecte
- Dilution et centrifugation. Au moment de la collecte, l'éjaculat est dilué avec la solution de lavage de façon à obtenir une concentration de  $400 \cdot 10^6$  spermatozoïdes/ml de la suspension à centrifuger. Le tube de collecte est alors placé dans une centrifugeuse pendant 15 minutes, à une accélération de 500-600 g. après quoi, le surnageant est éliminé avec une pipette et un nouveau volume, identique, de solution de lavage est ajouté ; le tube est centrifugé une seconde fois durant 15 minutes. Le surnageant est à nouveau éliminé et les spermatozoïdes sont alors dilués dans le volume nécessaire de dilueur de conservation au lait de vache écrémé. La semence diluée est alors prête à être traitée pour l'utilisation sous forme liquide ou pour la congélation.
- Diminution de température. Après la collecte, le tube de collecte est placé dans le bain-marie à 28-30 °C. la solution de lavage, à la même température, est ajoutée ; la première et la seconde centrifugation ainsi que le second ajout de solution de lavage sont effectués à température ambiante (20 °C), à la de la seconde centrifugation, après élimination du surnageant, le dilueur est ajouté à température ambiante.

**Tableau 02 :** résumé de différentes étapes de lavage et de traitement de la semence de bouc pour utilisation sous forme liquide ou congelée

Jour -1		Préparation de la solution de lavage et du dilueur	
Jour 0	0 min	Collecte du sperme (32°C) mesure de volume + identification du tube de collecte + motilité massale + concentration	
	30 secondes	Première addition de solution de lavage (28-30 °C) première centrifugation dans les mêmes conditions	
	15 min	Elimination du surnageant, deuxième addition de solution de lavage et centrifugation dans les mêmes conditions	
<b>forme liquide</b>		<b>forme congelée</b>	
35 min	dilution finale (20 °C), homogénéisé. Placer le tube dans un verre plein d'eau (20 °C) avec un thermomètre, dans le réfrigérateur (+6 °C).	35 min	moitié de la dilution finale (20 °C), homogénéiser. Placer le tube dans un verre plein d'eau (20 °C) avec un thermomètre, dans le réfrigérateur (+6 °C)
65 min	conditionnement en paillettes et conservation en bouteille thermos avec une ampoule d'acide acétique dégelée (13-15 °C).	2h 2 h 10 min 2 h 20 min	première de dilueur glycérolé (+4 °C) deuxième partie de dilueur glycérolé (+4°C) troisième partie de dilueur glycérolé (+4 °C)
8 h	limite d'utilisation en IA	3 h 20 min	Conditionner en paillettes de 0,25 ml congeler dans les vapeurs d'azote; conserver dans l'azote liquide (-196 °C)

Adapté par *Baril. G et al, aout 1993*

**Tableau 03** : préparation de la solution de lavage pour le sperme de bouc (solution Krebs-Ringer-Phosphate-glucose à préparer la veille de la collecte).

<b>Solution mères (concentrations finales dans le l'eau bi-distillée)</b>	<b>Volume de solution mère dans la solution finale</b>
0,9 pour cent NaCl	100
1,15 pour cent KCl	4
1,22 pour cent CaCl <sub>2</sub>	3
2,11 pour cent KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4
3,82 pour cent MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	1
Tampon phosphate pH 7,4	12
5,34 pour cent glucose anhydre ces solutions doivent être mélangées dans cet ordre	4,5

Adapté par **Baril. G et al, aout 1993**

### **5. Conservation des spermatozoïdes**

Les techniques de production et de conservation de la semence ont été mises au points chez le bouc, avec l'objectif de dissocier dans le temps la période de production (saison sexuelle) et d'utilisation de la semence (principalement en dehors de la saison sexuelle), grâce à cryoconservation des spermatozoïdes (**Leboeuf B et al., 1998**).

Dans ces conditions, la fécondance des spermatozoïdes produits et congelés en saisons sexuelle pour être utilisés, par IA au cours de l'œstrus induit par traitement hormonal, en dehors de la saison sexuelle, est supérieure à celle obtenue avec du sperme frais collecté et utilisé à la même période (**Leboeuf B et al., 1998**).

Une des particularités de la conservation de la semence dans l'espèce caprine réside dans la nécessité de séparer le plasma séminal des spermatozoïdes dès la récolte de la semence. En effet, des enzymes du plasma séminal agissent sur certains composants du dilueur à base de lait, tels que les caséines, les lactoglobulines et les triglycérides.

**Conservation de semence à l'état liquide**

La semence de bouc est conservée à des températures allant de 2 à 15 °C, le plus souvent à 4 °C. Une conservation à 4 °C est préférable à 15 °C dans les milieux à base de lait ou de phosphocaséine natif (PPCN) (**Leboeuf et al, 2003**). De nombreux dilueurs ont été utilisés en routine. Les milieux à base de lait écrémé sont les plus utilisés actuellement pour la conservation de la semence à l'état liquide à 4 °C.

Peu d'études ont été conduites sur les causes de diminution de la fertilité après IA intra-cervicale en relation avec la durée de conservation de la semence à l'état liquide. **Leboeuf et al (1998)**, a démontré que les spermatozoïdes de boucs déposés par IA intra-utérine demeuraient encore féconds après 8 jours de conservation à 5 °C dans un milieu à base de Tri-fructose-acide citrique-jaune d'œuf. Les mêmes auteurs rapportent une amélioration de la survie durant 12 jours de conservation à 4 °C, lorsqu'on incorpore de la glutathion peroxydase (1 unité / ml) dans le milieu de conservation à base de tris.

L'incorporation d'autres antioxydants dans le milieu à base de tris, tels que la catalase, superoxydismutase. Le cytochrome c, en plus de la glutathion peroxydase, améliorent la survie des spermatozoïdes pendant 6 jours de conservation à 5 °C, mais qui ne s'accompagne pas d'un meilleur taux de fécondations in vitro (**Leboeuf B et al., 1998**). Enfin, l'incorporation de vitamine E (8 ug / ml) dans le milieu à base de lait écrémé réduit la peroxydation des lipides membranaires.

**Conservation de semence à l'état congelée**

Depuis que la semence de bouc a été congelée (-78 °C) pour la première fois par Smith et Polge (1950), puis par Barker (1957), mais avec des résultats de fertilité trop faible pour être d'un intérêt économique, de nombreuses études ont été engagées sur le sujet.

La cryoconservation est la méthode la plus efficace pour la conservation à long terme du sperme de mammifères. Cependant, les procédures de congélation-décongélation peuvent fortement altérer la fonction et la survie des

spermatozoïdes et ainsi diminuer les performances de reproduction (**Yeste M, 2016**).

Le succès de la cryopréservation dépend d'interactions complexes S entre la qualité de la semence, le dilueur, la vitesse de congélation et décongélation, la taille et la nature de conditionnement. La combinaison de facteurs clés comme la composition chimique du dilueur, la concentration et la nature de cryoprotecteur, la composition de plasma séminal, la présence de radicaux libres, les courbes de refroidissement et de congélation et la température de conservation affecte la durée de vie de spermatozoïdes. Les délais et les chocs de température lors de la décongélation ont aussi un impact sur la qualité de la semence après la décongélation ont aussi un impactsur la qualité de la semence après décongélation (**Leboeuf B et al., 2003**).

La congélation de la semence est un stress pour les spermatozoïdes. Pour optimiser la conservation d'un maximum de spermatozoïdes de qualité, plusieurs paramètres doivent être respectés. La saison de reproduction a un impact sur la qualité éjaculée. Ainsi, les chercheurs ont démontré qu'une semence congelée en saison de reproduction se conserve mieux qu'une autre congelée en contre saison (**Leboeuf et al, 2003**). La préparation de la semence de boucs congelée est encore plus contraignante. Elle nécessite l'élimination du plasma séminal et plusieurs « lavages » des spermatozoïdes.

## **6. Dilueurs et cryoprotecteurs**

De nombreux dilueurs ont été testés pour la congélation de la semence de bouc. Les dilueurs les plus largement utilisés sont soit à base de lait écrémé déshydraté reconstitué et de glucose (0.5 M), soit à base de tris-glucose-acide citrique-jaune d'œuf (**Leboeuf B et al., 1998**).

L'éthylène glycol et le propylène glycol sont de moins bons cryoprotecteurs pour les spermatozoïdes que le glycérol qui est le plus utilisé pour la congélation de la semence de bouc. En pratique, la conservation de glycérol préconisée par les différents auteurs varie de 3% à 9% avec un optimum de 4 à 7%. Avec la méthode de **Leboeuf et al (1998)** après une double centrifugation pour éliminer le plasma séminal, la semence est pré-diluée à  $1 \cdot 10^9$  spermatozoïdes /ml avec le dilueur lacté sans glycérol puis refroidie de

20 °C à 4 °C en 1 heure. Le dilueur lacté contenant le glycérol (14%) est ajouté à la semence à 4 °C, en 3 étapes à 10 minutes d'intervalle, afin d'obtenir une concentration finale de 7% de glycérol et de  $500 \times 10^6$  spermatozoïdes /ml.

Dans la méthode de **Ritar et Salamon (1982)**, le dilueur au jaune d'œuf (2 %) glycérol (4 %) est ajouté en une seule fois à la semence non lavée à 30 °C. l'addition du glycérol à 5 °C n'aurait pas d'avantage par rapport à l'addition à 30 °C (**Leboeuf B et al., 1998**).

### Composition de dilueur

Un dilueur est une solution aqueuse servant à augmenter le volume de l'éjaculat pour l'emmener à la concentration requise tout en préservant la fonctionnalité des spermatozoïdes pour maintenir la fertilité (**Leboeuf B et al., 1998**).

En plus d'augmenter le volume, les dilueurs sont non seulement une source d'énergie pour les spermatozoïdes, mais ils protègent également contre la variation de la température tout en maintenant un environnement propice à la survie temporaire des spermatozoïdes. Les composants des dilueurs ont été étudiés séparément et en combinaison avec l'accent mis sur la maximisation de la longévité, de la viabilité et de la capacité de fertilisation des spermatozoïdes.

La dilution du sperme se fait soit à base de dilueurs produits localement ou importés. Cette dilution permet non seulement de prolonger la durée de vie des spermatozoïdes, mais aussi à augmenter le volume pour permettre le fractionnement de l'éjaculat en plusieurs doses. Les dilueurs standards contiennent du sucre, du sel, des antibiotiques et des tampons acides base (**Leboeuf B et al., 1998**).

L'emploi de courbes de congélation présentant des pentes rapides (15-60 °C/min) permet les meilleurs taux de survie après décongélation. Les travaux récents portent sur la substitution du jaune d'œuf par des phospholipides végétaux, des liposomes et des LDL (Low Density Lipoproteins) afin de s'affranchir des risques sanitaires liés aux produits d'origine animale

**Préparation de dilueurs**

Les produits utilisés dans ces dilueurs sont le citrate de sodium, le jaune d'œuf, du sucre, du lait de vache, lait de coco et des antibiotiques. À la température ambiante de 28°C, ces dilueurs assurent une conservation de 24 heures avec 75% de spermatozoïdes mobiles et motiles. Lorsqu'on ramène la température à +5°C. Ces dilueurs assurent une conservation de plus de 48 heures avec une motilité d'au moins 3 et un pourcentage de spermatozoïdes vivants de plus de 60% (Baril. G et al., 1993).

**Tableau 04** : Préparation des dilueurs pour la semence de bouc (à préparer la veille de la collecte).

<b><i>Dilueur au lait de vache écrémé</i></b>	
	Dissoudre 194 mg de glucose anhydre dans 100 ml d'eau bi-Distillée
	Dissoudre, dans cette solution, 10 g de poudre de lait de vache écrémé (contenant moins de 1 pour cent de matière grasse)
	Faire bouillir au bain-marie pendant au moins 15 minutes
	Refroidir à température ambiante
	Ajouter 50 mg de streptomycine et 50 000 UI de pénicilline
	Conserver à +4 °C 2 à 3 jours au maximum
<b><i>Dilueur citrate-jaune d'œuf</i></b>	
	Dissoudre 194 mg de glucose anhydre dans 100 ml d'eau bi-Distillée
	Dissoudre 3,52 g de citrate de sodium et compléter à 100 ml
	Ajouter 20 ml de jaune d'œuf à 80 ml de la solution précédente
	Ajouter 50 mg de streptomycine et 50 000 UI de pénicilline
	Conserver à +4 °C 2 à 3 jours au maximum

*Dilueur glycérolé: ajouter 14 pour cent de glycérol (concentration finale) aux solutions précédentes, afin que la concentration finale de glycérol, dans la solution à congeler, soit de 7 pour cent*

*Adapté par Baril. G et al., 1993*

### **Agents cryoprotecteurs**

Des agents cryoprotecteurs sont ajoutés dans les diluants afin de protéger les spermatozoïdes durant la congélation. L'agent cryoprotecteur le plus efficace et le plus utilisé est le glycérol, il peut donc pénétrer et diffuser à l'intérieur des cellules (**Lusignan M.F, 2011**). La concentration de glycérol ajouté aux diluants varie d'une espèce à une autre. D'autres agents cryoprotecteurs perméants sont utilisés pour la cryoconservation des spermatozoïdes, comme le diméthylsulfoxyde, le 1,2-propanediol ou l'éthylène glycol (**Lusignan M.F, 2011**).

### **7. Entreposage (durée de vie dans l'azote liquide)**

À -196°C, température de l'azote liquide, les réactions métaboliques sont suspendues. La conservation des cellules à ces températures cryogéniques est théoriquement efficace pour des centaines d'années. D'ailleurs, la principale cause de dommages cellulaires est davantage attribuée aux variations de température lors des processus de congélation et de décongélation qu'à leur entreposage dans l'azote liquide.

**Maher G (2012)**, n'a pas observé de différence de motilité progressive, de réaction acrosomales ou d'anomalie entre les spermatozoïdes congelés dans le jaune d'œuf et conservés dans l'azote liquide pendant 1, 30, 90 ou 365 jours. Il a également été démontré que la conservation de la semence dans l'azote liquide ne nuit pas à sa fertilité. En 1977, Waide a mis à l'essai le pouvoir fécondant de semence non lavée, diluée dans le jaune d'œuf et congelée pendant 0-30, 31-102 et 210-1022 jours. Il a démontré que la durée de conservation de la semence dans l'azote liquide n'influence pas son pouvoir fécondant.

### **8. Comparaison entre les méthodes de conservation**

La comparaison des méthodes de congélation / décongélation de la semence est difficile en raison des nombreux paramètres impliqués et du manque d'uniformité des méthodologies utilisées. Les procédures peuvent différer sur les points suivants :

- l'utilisation ou non de mâles sélectionnés sur la congélabilité de leur semence
- l'élimination ou non du plasma séminal ;
- les méthodes de lavage, la composition des solutions de lavage, l'intensité du lavage ;
- la composition des dilueurs de congélation ;
- la concentration de glycérol et son mode d'adjonction ;
- la durée du temps d'équilibration avant congélation ;
- le conditionnement de la semence en paillettes (0,25 ml ou 0,50 ml) ou en pellets ;
- les conditions de refroidissement de la semence.

### **9. Sécurisation des races par la cryoconservation de semence**

Pour les races à petits effectifs la collecte et la congélation de semence dans l'azote liquide (à -180 °C) répond à deux objectifs (**Coralie D.-C et al., 2009**):

- Faciliter la reproduction en race pure des animaux existants. Une partie des stocks collectés (appelés stocks actifs) sont réservés aux éleveurs. Ils peuvent ainsi avoir accès à des boucs de pure race en cas de perte accidentelle de leur mâle par exemple, ou avoir recours à l'insémination pour renouveler leurs lignées : cette méthode est particulièrement utile pour les éleveurs situés hors berceau et qui ont des difficultés à s'approvisionner en animaux de race pure.
- Sécuriser la race à très long terme. La semence conservée dans l'azote liquide garderait toutes ses propriétés pour des périodes supérieures à la centaine d'année
- Les critères de sélection des boucs pour l'insémination dans les races à petits effectifs sont très différents de ceux des races en sélection. Il s'agit de retenir en priorité des mâles (**Coralie et al., 2009**):

La collecte n'est malheureusement pas toujours synonyme de succès. De nombreux facteurs influent sur le niveau de production de semence comme l'âge des animaux et l'aptitude de la race au le déraisonnement.

Pour les races à petits effectifs, il semble que les boucs âgés d'au moins dix-huit mois et ayant déjà fait de la monte naturelle sont plus aptes à produire de la semence de qualité que les jeunes boucs. Il semble aussi que pour ces races les boucs sont très saisonnés, ils produisent donc de la semence principalement en période de pleine activité sexuelle, soit de fin aout à novembre environ.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

# **Matériel et méthode**

## I. Matériel et méthode

### L'objectif de l'étude

Nous avons réalisé notre étude de manière théorique sous forme d'une analyse systématique de 19 articles pour comparer entre deux méthodes les plus utilisés en cryoconservation de la semence chez le bouc. L'évaluation de chaque protocole a

Porté sur les critères suivants : la mobilité, motilité, viabilité et taux de gestation.

### I. Critères d'inclusion et d'exclusion des articles étudiés

<b>Les Moteurs de recherches utilisées</b>	Google, NCBI pubmed, Google Scholar, sndl
<b>Nombre d'articles</b>	19 articles
<b>Critères de choix</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Selon l'espèce de l'animal (caprin).</li> <li>• Selon les résultats en IA</li> <li>• Selon les dilueurs utilisés pour conservation de semence de bouc (lait et jaune d'œufs)</li> <li>• selon la date de publication d'article</li> </ul>
<b>Les mots clés</b>	Collecte, conservation, semence, dilueurs, l'éjaculat, motilité, viabilité, mobilité, vagin artificiel, bouc, electroejaculation, jaune d'œuf, le lait écrémé.

### 1. Mode opératoire établi par les différents articles analysés

Le tableau suivant synthétise l'ensemble des méthodes utilisées par les différents auteurs ayant fait l'objet de cette étude

**Tableau 05 :** Composition du dilueur et mode opératoire

N° d'article	Auteurs	Les dilueurs utilisés	Mode d'opérateur
01	Goffaux M et <i>al.</i> , 1967	Le lait écrémé et le citrate de jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 7 boucs des races Alpine, Poitevine et Saanen</li> <li>• 4 éjaculats par semaine</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 100ml H<sub>2</sub>O+10g de poudre de lait de vache Pénicilline : 50000UI et streptomycine : 0.05g pour 80 de dilueurs</li> <li>✓ Jaune d'œuf : 20ml, solution de citrate de sodium (2H<sub>2</sub>O) à 0.9%</li> </ul>
02	Cabrera F et <i>al.</i> , 2005	Jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 mâles de race Canarie âgés 18 mois.</li> <li>• Le sperme a été recueilli en utilisant un vagin artificiel, 2 fois par semaine pendant un an.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de sperme</b></p> <p>18 éjaculats recueillis de chaque mâle au printemps.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 9 des 18 éjaculats ont été lavés et dilués dans un milieu à base de JO (3 éjaculats ont été dilués par 1.5, 6 et 12 % de JO)</li> <li>• 9 des 18 éjaculats ont été dilués dans un milieu à base de JO (3 éjaculats ont été dilués par 1.5, 6 et 12 % de JO)</li> </ul>
03	Darado J et <i>al.</i> , 2007	le lait écrémé et le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 boucs de race Floride matures de 20-21 mois.</li> <li>• 110 échantillons de sperme frais de chaque animal (61 du 1<sup>er</sup> bouc et 49 de 2<sup>ème</sup> bouc) ont été prélevés 3 fois par semaine en utilisant un vagin artificiel</li> <li>• La collecte a été réalisée sur une période d'un an</li> </ul>

			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les chèvres en œstrus.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>La dilution de semence</b></p> <p>La cryoconservation a été réalisée à l'aide de 2 diluants commerciaux différents</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ L'extenseur 01 : 20 % de JO + 6 % de glycérol</li> <li>✓ L'extenseur 02 : le lait écrémé + Tris-citrate sans glycérol.</li> </ul>
04	Santiago-Moleno J et <i>al.</i> , 2009	Jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 boucs espagnols âgés de 3-6 ans.</li> <li>• La semence a été collectée par électro-jaculation.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Deux milieux contenaient un Tampon Tris-acide citrique composé de 4.8% de Tris, 2.2% d'acide citrique, 0.6% de glucose, 5% de glycérol plus JO à 6% ou 12% (TCG-6-10% de JO). Autre milieu contient un Tampon Tes-Tris composé de 4.8% de Tes, 1.2% de tris, 0.2% de glucose, 5% de glycérol plus de JO à 6 ou 12% (TTG-6-12% de JO).</li> </ul>
05	Darado J et <i>al.</i> , 2010	TriS-Acide citrique et le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 boucs de race Floride matures âgés 2 ans.</li> <li>• La semence a été collectée sur chaque animal 2 fois par semaine, en utilisant un vagin artificiel</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution du sperme</b></p> <p>Les échantillons de sperme ont été dilués avec du tris-acide citrique sans glycérol + autres échantillons ont été dilués à base de lait écrémé.</p>
06	Janicel. Bailey, 2010	Le lait écrémé et le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 boucs de race Alpine</li> </ul>

			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soumis une photopériode de six semaines de jours courts et six jours long.</li> <li>• Sont récolté une à trois fois semaine.</li> <li>• Chaque éjaculat récolté est divisé et congelé selon les</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <p>Deux protocoles de cryoconservation :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <b>1<sup>er</sup> protocole</b> : un dilueurs à la base du lait et implique des centrifugations pour éliminer le fluide séminal, tel qu'effectué en France.</li> <li>✓ <b>2<sup>ème</sup> protocole</b> : est moins complété et utilisé un dilueurs basé sur le jaune d'œuf + la semence est analysée avant est après congélation.</li> </ul>
07	Baily J., 2011	Jaune d'œuf et le lait écrémé	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 boucs adultes de race alpine</li> <li>• 10 chèvres.</li> <li>• La récolte effectuée 2-3 fois par semaine pour chaque bouc.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les éjaculats ont été récoltés et cryoconservés dans le lait et le jaune d'œuf.</li> </ul>
08	Maher G, agr., 2011	Le lait écrémé et le JO	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 boucs Alpines</li> <li>• -2-3 récoltes / semaine</li> <li>• photopériode 6 semaine</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <p>Les éjaculats ont été dilués avec le lait et le jaune d'œuf</p>
09	Maher G et <i>al.</i> , 2011	Jaune d'ouf et le lait écrémé	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 boucs de race alpine.</li> <li>• Les mâles sont collectés 1-3 fois / semaine avec un vagin artificiel.</li> <li>• 37 chèvres alpines.</li> </ul>

			<p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les éjaculats ont été divisés en 2 aliquotes qui ont été cryoconservés selon la technique du lait écrémé ou de jaune d'œuf.             <ul style="list-style-type: none"> <li>A. <u>Technique du lait</u></li> <li>✓ Centrifugation dans un tampon PBS pour éliminer le plasma séminal.</li> <li>✓ Dilution progressive dans des diluants de lait écrémé avec 7 % de glycérol comme cryoprotecteur.</li> <li>B. <u>Technique de jaune d'œuf</u></li> <li>✓ Solution semi-directe de jaune d'œuf 1.5 % avec 2 % de glycérol comme cryoprotecteur.</li> <li>✓ En théorie, aucune élimination de plasma séminal n'est requise car la faible concentration de jaune d'œuf minimise l'incidence de la lysolécitine sur le sperme.</li> </ul> </li> </ul>
10	Jiménez-Rabadán P et al., 2012	Le lait écrémé et le jaune d'œuf :(clarifié) (allongeur à base de soja)	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sept mâles de race caprine Blanca-Celtibérica âges (&gt; 1,5 ans) ont été utilisés.</li> <li>• Pour chaque mâle, le recueil des éjaculats a été effectué d'abord en utilisant le vagin artificiel (VA) et plus tard en electroejaculation (EE), les deux le même jour.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Une aliquote a été lavée avec PBS (1:9) à 1200× g pendant 10 min à température ambiante et le plasma séminal a été prélevé.</li> <li>• Après cela, lavage et non lavage les échantillons de sperme ont été divisés en trois aliquotes et dilués avec trois diluants différents : deux commerciaux diluants             <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 20 % de jaune d'œuf, utilisant du jaune d'œuf clarifié, et 7 % de glycérol.</li> <li>✓ Allongeur à base de soja avec 7 % de glycérol</li> <li>✓ Un diluant à base de lait écrémé (7 % glycérol).</li> </ul> </li> </ul>

11	Roof DJ et <i>al.</i> , 2012	Le jaune d'œuf et lécithine de soja	<p style="text-align: center;"><b>Collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 7 boucs âgés de 2-6 ans.</li> <li>• Le sperme a été collecté avec un vagin artificiel.</li> <li>• Un maximum de 2 éjaculats a été collecté par animal par jour.</li> <li>• 6 éjaculats de chacun des 6 boucs SC</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Un extenseur contient de lécithine de soja + 6.4 % de glycérol.</li> <li>• Un autre extenseur contient 20 % de jaune d'œuf + 6 % de glycérol.</li> </ul>
12	Küçük N et <i>al.</i> , 2014	Le lait et le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 boucs de race Saanen âgés de 1.5-4 ans.</li> <li>• Le sperme a été collecté à l'aide d'un électro-éjaculateur.</li> <li>• 12 éjaculats (2 éjaculats / bouc).</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Chaque éjaculat a été divisé en 2 groupes : protocole 1 (P1) et protocole 2 (P2)</li> <li>✓ <b>P1</b> : le sperme dilué directement dans l'extérieur composé de 15 % de JO, 300mM de tris, 28 mM de glucose, 95 mM d'acide acétique et 5 % de glycérol à une concentration de <math>200 \times 10^6</math> sperme / ml</li> <li>✓ <b>P2</b> : retiré le PS par centrifugation (300g pendant 5 minutes) dans une solution d'acide tris-citrique-glucose. Ensuite, le sperme été dilué avec l'extenseur de lait (100 mg / ml de lait écrémé en</li> </ul>

			poudre et de 27.75 mM de glucose sans glycérol) à une concentration de $400 \times 10^6$ sperme / ml
13	Salmon V et al., 2014	Le lait écrémé et le cholestérol	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les semences de boucs de race Alpine (n=4) ont été traitées avec différentes doses de CLC et soumises à des simulations de congélation pour déterminer la concentration optimale de CLC (3 mg/ml).</li> <li>• Les semences de boucs ont donc été traitées avec <math>\pm</math> 3 mg/ml de CLC dans un dilueurs à base de lait écrémé puis la qualité spermatique (paramètres de motilité / intégrité des membranes spermatiques) et la quantité de cholestérol spermatique ont été évaluées avant et après décongélation.</li> <li>• L'efficacité du traitement CLC à préserver les fonctions spermatiques post-dégel a été déterminée in vitro par induction de la capacitation et in vivo par insémination artificielle sur 40 chèvres préalablement synchronisées.</li> </ul>
14	Salmani H et al., 2014	Le jaune d'œuf et lécithine de soja	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 4 boucs de race Maha-badi matures.</li> <li>• Le sperme éjaculé a été obtenu 2 fois par semaine par vagin artificiel.</li> <li>• Chaque bouc donne 2 éjaculats</li> <li>• au total, 40 éjaculats ont été collectés 5 répétitions.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Préparation de l'extenseur</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 diluants différents ont été préparés en ajoutant 0.5 % ; 1 % ; 1.5% ; 2 % ; 2.5% de lécithine de soja et un diluant contenant 15 % de jaune d'œuf.</li> </ul>

15	ÇEBİ ŞEN et <i>al.</i> , 2015	jeune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cinq boucs matures (âgés de 3 à 4 ans) avec une fertilité prouvée ont été utilisés</li> <li>• un nombre total de 30 éjaculats ont été collectés avec un vagin artificiel, deux fois par semaine.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Chaque échantillon était dilué dans la solution de lavage pour éliminer les liquides séminaux par centrifugation et deux ont été conservés comme contrôle.</li> <li>• Les échantillons ont été dilués avec du lait écrémé (10 g de lait écrémé en poudre et 0,9 g de glucose dans 100 ml eau distillée, chauffée à 95 °C pendant 10 min), qui contenait 5 % de jaune d'œuf et 10 % de jaune d'œuf avec une concentration finale de sperme d'environ <math>2 \times 10^8</math> sperme/ml.</li> </ul>
16	Baghel G et <i>al.</i> , 2016	le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cinq mâles de race Barbari adultes normaux et en bonne santé âgés de 2 à 4 ans, pesant 25-35 kg élevés</li> <li>• Le sperme a été collecté deux fois par semaine à l'aide de vagin artificiel.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <p>plus tard dilué dans le prolongateur de sperme (TRIS) selon les traitements :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ T1 : 3 % jaune d'œuf ou</li> <li>✓ T2 : 20% jaune d'œuf.</li> <li>✓ T3 : le sperme a également été lavé avant cryoconservation et dilué avec un diluant contenant 20 % de jaune d'œuf et cryoconservés.</li> </ul>

17	Mutlak N.K., 2019	Le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 boucs fertiles de race Caprine Anglo Nubaindairy âgés entre 1 - 5 ans.</li> <li>• La collecte a été effectuée une fois / semaine par l'électro-éjaculation.</li> <li>• Au total, 12 éjaculats ont été obtenus sur une période de 2 semaines à partir de 6 boucs en dehors de la saison de reproduction.</li> <li>• le plasma séminal a été retiré.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les échantillons de sperme ont été initialement dilués après la collecte sur le terrain jusqu'à 10 ml avec une solution d'extension de Tris composée de 2.42 g Tris aminométhane, 1g de fructose, 1.48g d'acides citrique, 25 mg de gentamycine, 30mg de spectinomycine, 15mg de lincomycine, 5mg de tylosine dans 100 ml d'eau distillée (10)</li> <li>• Les 3 sous-échantillons de sperme ont été dilués dans un prolongateur de congélation Tris-acide citrique-fructose avec 0 % de JO, 10 % de JO et 20 % de JO.</li> </ul>
18	Ahjuningsih w et al., 2019	(Le lait écrémé + le JO) d'extrait de trèfle d'eau	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Le sperme a été prélevé sur un bouc en bonne santé, âgé de 2,5 à 3 ans</li> <li>• La collecte a été effectuée deux fois par semaine pendant 5 semaines à l'aide d'un vagin artificiel.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution de semence</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La semence fraîche a été diluée dans du lait écrémé de jaune d'œuf comme diluant de base avec un rapport de 1 :10 (v/v).</li> <li>• L'échantillon de sperme a été divisé en quatre traitements, comme suit : T0 (Jaune d'œuf Lait écrémé + 0% WCE), T 1 (Jaune d'œuf Lait écrémé + 1%</li> </ul>

			WCE), T 2 (Jaune d'œuf Lait écrémé + 3% WCE) , et T 3 (jaune d'œuf lait écrémé + 5% WCE).
19	Sharma A et <i>al.</i> , 2020	Le jaune d'œuf	<p style="text-align: center;"><b>Animaux et collecte du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 11 boucs de race Gaddi bucks apparemment en bonne santé âgés 1.1 - 4.5 ans.</li> <li>• Les éjaculats (180) ont été recueillis 2 fois / semaines par vagin artificiel maintenu à 42-43 °C en femelle œstrus comme Teaser.</li> <li>• La PS a été retiré.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Dilution du sperme</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Le culot de sperme ainsi obtenu après élimination de la solution de Ringer à été étendu avec 2 fractions égales de Tris citrate jaune d'œuf, TJO (Tris 1.21 g, acide citrique 0.685 g, D-fructose 0.5 g, benzylpénicilline 1000 UI / ml, sulfate de streptomycine 1 (mg/ml) ainsi que de concentration variables de JO (20, 15, 10 et 5 %) et 6 % de glycérol.</li> </ul>



## **Résultats et discussions**

## II. Résultats et discussions

L'analyse des résultats obtenus par les 20 auteurs révisés (reviewed) est rapportée sur le tableau suivant, elle rassemble les paramètres du sperme, essentiellement la mobilité, motilité, motilité ainsi que le taux de gestation.

### Dilution à base de jaune d'œuf

Le tableau 2 rassemble les résultats obtenus pour une dilution à base de jaune d'œuf.

**Tableau 06 :** Résultats des principaux paramètres de la semence après dilution

N° d'article	Dilution à base de JO avec lavage				Dilution à base de JO sans lavage			
	Mobilité (%)	Viabilité (%)	Fertilité (%)	Motilité (%)	Mobilité (%)	Viabilité (%)	Fertilité (%)	Motilité (%)
01	40.7	-	4	-	-	-	-	-
02	-	-	-	28.5	-	-	-	24.3
04	-	-	-	-	20.85	56.72	-	34.2
05	-	-	-	56.3	-	-	-	-
06	-	-	7	-	-	-	-	-
07	-	-	-	-	9	-	07	10
08	-	37.49	35.43	35	-	-	-	-
09	-	-	-	-	-	18	40	-
10	-	60	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	19.69
12	-	-	-	-	85	-	-	48
14	-	-	-	-	45.2	67.2	-	59.8
15	-	-	-	-	-	-	-	51.1
16	-	85	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	27.33	-	-	-	-
18	-	78.12	-	66	-	-	-	-
19	-	51.35	-	58.12	-	-	-	-

Le tableau représente le taux de mobilité, de viabilité, de gestation et de motilité des spermatozoïdes de bouc ayant été dilués à base de jaune d'œuf avec et sans plasma séminal.

Nous observons des résultats comparables pour la majorité des paramètres avec ou sans plasma séminale excepté pour la motilité qui présentent des résultats en faveur du sperme lavé. En effet, le Jaune d'œuf est le cryoprotecteur non pénétrant le plus couramment utilisé, il protège la

membrane plasmique des spermatozoïdes contre le choc thermique et interagit avec la membrane plasmique des spermatozoïdes et améliorer la survie des spermatozoïdes (**Sharma A et al., 2020 ; Çebi Şen Ç et al., 2015**). D'après ces résultats, la procédure de lavage n'a montré aucune amélioration sur qualité du sperme après décongélation et n'a pas améliorer les résultats de la motilité pour l'extenseur de Jaune d'oeuf (**Jiménez Rabadána et al., 2012 ; Roof D.J et al., 2012**). Le jaune d'oeuf a été signalé comme ayant une mobilité décroissante en raison de la présence d'EYCE dans le liquide. Pour cette raison, **Çebi Şen Ç et al (2015)**, montrés que le processus de centrifugation est appliqué pour séparer les spermatozoïdes du liquide séminal avant congélation afin de surmonter les interactions négatives du liquide séminal après congélation et décongélation.

La quantité de JO joue un rôle très important sur la semence. Pour cela, **Mutlak N.K (2019)**, ont montré que l'utilisation d'un faible taux de JO (1.5 %) n'offrait pas aux spermatozoïdes une protection adéquate pendant le processus de congélation et de décongélation. En revanche, l'extenseur contenant 10 % de JO était le meilleur en ce qui concerne la motilité progressive et la viabilité pour la cryoconservation du sperme (**Sharma A et al., 2020**). De plus, **Cabrera F et al (2005)**, ont montré que le JO jusqu'à 12 % améliorant la survie des spermatozoïdes du sperme lavé (sans plasma séminal). Par contre, l'ajout d'un niveau élevé de JO dans l'extenseur de congélation peut arrêter l'activité des enzymes plasmatique séminales, ce qui exclut la nécessité de laver les échantillons de sperme avant dilution (**Mutlak N.K., 2019**).

Après différentes études, **Salmani H et al (2014)**, montrés que la Lécithine de Soja peut remplacer avec succès le JO comme complément au milieu de cryoconservation, sans effets néfastes sur la motilité et la viabilité des spermatozoïdes après décongélation. Ainsi, **Roof D.J et al (2012)**, ont montré que l'extenseur de LS a été efficace pour préserver le sperme motile dans la semence des chèvres congelée sans enlever le semi-plasma séminal.

La distribution des vitesses des spermatozoïdes a été améliorée par le milieu 1 % et 1.5 % de LS par rapport au JO (**Salmani H et al., 2014**).

**Dilution à base de lait**

Le tableau suivant rassemble les résultats relatifs à la dilution de la semence avec ou sans plasma séminal à base de lait.

**Tableau 07** : dilution de semence du bouc à base de lait écrémé

N° d'article	Dilution à base de lait écrémé avec lavage				Dilution à base de lait écrémé sans lavage			
	Mobilité (%)	Viabilité (%)	Fertilité (%)	Motilité (%)	Mobilité (%)	Viabilité (%)	Fertilité (%)	Motilité (%)
01	44.4	-	14.88	-	-	-	-	-
03	-	-	-	-	32.18	52.43	52.38	-
06	-	-	-	34	-	-	-	-
07	-	-	-	-	15	-	37	40
08	-	43.94	70.2	53	-	-	-	-
09	-	38.5	70.59	-	-	-	-	-
10	-	82	-	-	-	-	-	-
12	68.4	-	-	57.9	-	-	-	-
13	-	48	-	45	-	-	-	-
18	-	77.7	-	58.5	-	-	-	-

Ce tableau représente le taux de mobilité, de viabilité, de gestation et de motilité des spermatozoïdes de bouc ont été dilués à base de lait écrémé avec et sans plasma séminal.

Nous observons, de meilleurs résultats, notamment mobilité et taux de gestation dans les études ayant dilué dans le lait, une semence lavée donc sans plasma séminal.

D'après les résultats de **Bailey J (2011)**, les techniques de cryoconservation de la semence de bouc devraient privilégier autant que possible l'utilisation de protocole à base de lait pour maximiser la qualité de la semence et la fertilité. Ainsi, le protocole de lait démontre une tendance à avoir une meilleure rapidité de motilité progressive à 5 heures après décongélation. De plus, **Goffaux M et al (1967)**, ont montrés qu'après dilution du sperme dans le milieu au lait écrémé, la congélation très lente permet une meilleure survie des spermatozoïdes.

L'extenseur Tris (dilueur contenant une substance tampon) a permis la préservation des paramètres de motilité totale et de vitesse après congélation

par rapport à celui contenant seulement du lait. Les taux de gestation légèrement plus élevés ont été observés dans les échantillons congelés d'extenseurs de lait selon **(Dorado J et al., 2007 ; Dorado J et al., 2010)**. Selon le même auteur, l'extenseur Tris offre une plus grande protection de l'intégrité des spermatozoïdes. Ces résultats indiquent que la motilité des spermatozoïdes dilués Tris était plus progressive que ceux transformés en extenseur de lait, on conclut que l'extenseur à base de Tris permet d'obtenir de meilleures performances in vitro par rapport à celui à base de lait seul.

### III. Discussion générale

En choisissant ce sujet, nous nous sommes rendu compte de l'attention apportée à la cryoconservation de la semence et l'intérêt d'améliorer les dilueurs afin d'optimiser les résultats en IA. Pour ce faire, obtenir un bon résultat à l'insémination artificielle en dehors de la saison sexuelle, il est primordial de conserver les spermatozoïdes à basse température. La semence devra être collectée à l'aide d'un vagin artificielle ou par electroejaculation.

D'après **Jiménez Rabadána et al.(2012)**, la qualité du sperme après cryoconservation est plus grande lorsque les éjaculats sont collectés pendant la saison de reproduction. De plus, l'electroejaculation est une méthode utile pour obtenir du sperme à congeler à partir de boucs en dehors de la saison de rut **(Santiago-Moreno J et al., 2009)**.

Après la collecte, vient le lavage, une étape controversée par les chercheurs. En effet, le lavage élimine certaines composées du Plasma séminal importants à la protection des membranes de spermatozoïdes contre le gel et le dégel **(Cabrera F et al., 2005)**. D'ailleurs, avant la congélation des spermatozoïdes, il faut impérativement ajouter des cryoprotecteurs non pénétrants comme le JO et le lait écrémé **(Küçük N et al., 2014)**.

D'après les études menées concernant les dilueurs à base de lait écrémé et le jaune d'œuf, les chercheurs sont arrivés aux constats suivants :

- L'utilisation de jaune d'œuf comme dilueur pour conservation de semence de bouc permet de réduire les risques possibles de contamination par rapport au lait **(Vianney Salmon et al., 2014)**.

- 
- La technique du lait favorise la fertilité, la viabilité et la fertilité par rapport à la technique de jaune d'œuf (**Maier G et al., 2011**).
  - la semence congelée sous le protocole de lait avait une motilité significativement plus élevée (37.1%) que le JO (23.4%), comme il favorise un taux de gestation plus élevé (34 %) que le JO (7 %) (**Bailey J et al., 2011; Bailey J et al., 2010**).
  - Lors de congélation de semence à la ferme, l'utilisation du protocole à base de jaune d'œuf serait plus facilement applicable, mais l'utilisation du protocole à base de lait bien qu'un peu plus complexe, serait plus profitable (**Bailey J et al., 2011**).
  - Néanmoins, le lait reste le meilleur dilueur par rapport au jaune d'œuf.

# **Conclusion**

## Conclusion

---

### Conclusion

Les principales méthodes et techniques (relevées des 20 articles révisés) nous ont permis de dégager les acquis suivants :

- L'utilisation de traitements photopériodiques permettant de collecter des éjaculats de qualité toute l'année.
- L'identification des sécrétions des glandes bulbo-urétérales et de leurs interactions avec les composants des dilueurs impliqués dans l'altération des spermatozoïdes.
- Le choix de la méthode de conservation de la semence est un point clé à prendre en compte, en relation avec le plasma séminal qui altère la viabilité *in vitro* de la semence, spécialement lorsqu'elle est soumise à la congélation.

Suite à la comparaison de la qualité de la semence décongelée et son pouvoir fécondant selon les deux protocoles de congélation (à base de Jaune d'œuf ou de lait) est délicate, puisque chaque protocole utilise des ingrédients et des procédés différents.

Les résultats confirment que le protocole à base de jaune d'œuf donne de moins bons résultats, il a été montré que le plasma séminal de l'espèce caprine contient une phospholipase qui hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf en lysolécithine et acide gras, lesquels ont un effet spermicide.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le dilueurs à base de lait et qui est actuellement utilisé classiquement pour des durées de conservation, sans qu'il y ait chute de la prolificité ou de la fertilité.

La cryoconservation provoque des changements biologiques et fonctionnels qui affectent la viabilité, la fertilité et la mobilité des spermatozoïdes. L'avantage de cette technologie est l'introduction dans un troupeau ou un troupeau d'une nouvelle génétique sans enfreindre les mesures de biosécurité.

L'IA est une méthode essentielle de reproduction pour des objectifs génétiques incluant la création, la diffusion du progrès génétique et la conservation des ressources génétique. De plus, l'IA restera la méthode de reproduction de choix des futurs programmes génétiques incluant les informations de génétique moléculaire.

## **Conclusion**

---

Ce travail consiste en un recueil de documents récents avec de nouvelles perspectives de recherche pour l'amélioration de la conservation de semence du bouc.

A la fin, nous pouvons dire qu'il est préférable d'utiliser le lait comme dilueurs d'origine animale afin de cryoconservé la semence et d'obtenir de meilleurs résultats en insémination artificiel en dehors de la saison de la reproduction.

# **Les références**

## Références

---

### Les références

**Abad Taous., 2019.** Evaluation de la qualité spermatique chez l'espèce caprine et fertilité des Saanen et alpine dans la région de Akbou (Bejaia) [en ligne]. Thèse de doctorat en Science Vétérinaire. Blida : université Saad Dahleb-Blida 01, 82p.

Disponible sur : <http://di.univ-blida.dz:8080/xmlui/handle/123456789/662>.

**Baghel G, Anend M, Yadav S., 2016.** Evaluate the effect of egg yolk and seminal plasma on spermatozoa AB normality using diff. International journal of science, Environment and technology, 2016, vol. 5, n° 5, pp. 666-671.

**Bailey J., 2011.** Développer une expertise en cryoconservation de la semence adaptée aux besoins de l'industrie caprine québécoise [en ligne]. Rapport final. Québec : université Laval, 48 p.

**Bailey J, PHD., 2010.** Formation : 9 avril-journée Bébé Expositions et concours de boucs. Société des éleveurs de chèvres laitières de race de Québec, 2010, pp. 1-32.

**Baril G, Chemineaux P, Copnie Y, Guérin Y, Leboeuf B, orgueur P, Vallet J.-C., 1993.** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins [en ligne]. No 83. Nouzilly, Monnaie. France : Food & Agriculture org, 231p.

Disponible sur : [www.fao.org](http://www.fao.org) ISBN : 92-5-202808-0.

**Bertrand. A., 2014.** Tout connaître de la technique insémination !

Disponible sur : <http://www.eliacoop.fr>.

**Boukhliq A, El Allali K, Tibary A., 2018.** Anatomie et examen échographique des organes génitaux chez le bélier et le bouc. Rev. Mar. Sci. Agron.Vét, 2018, Vol. 6, n°2. Pp 226-240.

**Cabrera F, Gonzalz F, Batitsa M, Caleao P, Medrano A, Gracia A., 2005.** The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season of sperm freezability of canary buck (*Capra hircus*). Rrprod. Dom Anim, 2005. Vol, 40, pp. 191-195. ISSN 0936-6768.

## Références

---

**Çebişeni C, Tekin K, Akçay E., 2015.** Effect of egg yolk and removal of seminal fluid on semen cryopreservation in norduz goat. Departement of reproduction and artificial insemination, 2015, vol. 4, n° 2, pp. 64-67.

**Charlotte Tourmente., 2014.** Le sperme : son odeur, sa couleur, sa composition [en ligne].

Disponible sur : <https://mobile.allodocteurs.fr/sexo/homme/sperme/le-sperme-son-odeur-sa-couleur-sa-composition-12543.html>. (Rédiger le 10 Février 2014). (Mise à jour le 25 juin 2021).

**Clement V, Oget C, Larroque H, Fabre S, Charton C, Pathiere I, Tosser-Klopp G, Rupp R., 2018.** Etude des caractères de production de semence pour une prise en compte dans le schéma de sélection caprin. Institut de l'élevage, 2018, vol. 24, pp 102-105.

**Coralie D.-B, Delphine D., 2009.** Situation et perspectives d'avenir des races caprines à petits effectifs. Instituts l'élevage / INRA-Agro Paris Tech UMR GABI, 2009, pp 1-15.

**Corteel J.M., 1980.** Effet de plasma séminal sur la survie et la fertilité des spermatozoïdes conservés *in vitro*. *Reprod. Nutr. Dévelop*, 1980, vol. 20, n° 4, pp. 1111-1123. ISSN 0926-5287.

**Darado J, Rodriguez I, Hidalgo M., 2007.** Cryopreservation of goat spermatozoa : comparison of two freezing extenders based on post thaw sperm quality and fertility rate efter artificial insémination. *Theriogenology*, 2007, vol. 68, n° 2, pp. 168-177.

**Darado J, Muñoz-Serrano A, Hidalgo M., 2010.** The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. *Animal Reproduction Science*, 2010, vol. 121, pp. 115-123.

**Delgadillo J.A, Hochereau-de Reviers M.T, Daveau A, Chemineau P., 1995.** Effet of short photoperiodic cycles on male génitale tract and testicular parameters in mâle goats (*capra hircus*). *Reproduction, nutrition, Development*, 1995, vol. 35, pp. 549-558.

**Dotché I.O, Kiki P, Govoeyi B, Dahouda M, Antoine-Moussiaux N, Youssao Abdou Karim I, Koutinhouin B., 2019.** Etat des lieux sur l'IA animale dans les pays de l'Afrique de l'ouest. *Journal of Applied Biosciences*, vol. 143, pp 14712-14730. ISSN 1997-5902.

## Références

---

**El Kadili Sara., 2019.** Maitrise de la reproduction de la race caprine Béni Arouss au Nord de Maroc [en ligne]. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. Maroc : Université de Namur, faculté des sciences, 146p.

Disponible sur : <https://core.ac.uk/download/pdf/326317558.pdf>

**Fatet A., 2008.** L'insémination dans les filières ovines et caprines. Capgènes, Agropole-2135 route de Chauvigny-86550 Mignaloux-Beauvoir, 2008, pp 335.

**Fantaine E., 2018.** Le variant d'histone H3-3 dans la spermatogenèse : inactivation des chromosomes sexuels et régulation des piARN [en ligne]. Thèse de doctorat en Biologie du développement-Oncogenèse. Paris : université Grenoble Alpes, 221 p.

Disponible sur : <https://www.thèse.fr/2018GREAV045>

**Fournier A., 2006.** L'élevage des chèvres [en ligne]. Amazon, France : Editions Artemis, 94 p.

Disponible sur : <https://halldulivre.com>. ISBN 2-84416-457-9.

**Gahery C., 2012.** La reproduction des caprins : maitrise et mise en œuvre dans les élevages[en ligne]. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes. Oniris : Ecole nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes Atlantique, 246 p.

**Gavin-Plagne L., 2018.** Cryoconservation de cellules spermatiques de mammifères dans un milieu synthétique et chimiquement défini [en ligne]. Thèse de doctorat en biotechnologie de la reproduction. Lyon : université Claude Bernard Lyon 1, 314 p.

Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02107702>.

**Goffaux M, Corteel J.M., 1967.** Essais de congélation de sperme de bouc. Station de Recherches sur la Physiologie de la Reproduction ; centre de recherches vétérinaires et zootechniques. Nouzilly. Institut national de la recherche agronomique, 1967, vol. 16, n° 2, pp. 213-216.

**Guillot J., 2002.** La calcification testiculaire chez les boucs de centres d'IA : étude clinique et répercussion sur la reproduction de semence [en ligne]. Thèse de doctorat en science vétérinaire. Paris : université Paul-Sabatier de Toulouse, 116 p.

## Références

---

**Hammoudi Si Mohamed., 2001.** Etude sur la reproduction des caprins de race locale [en ligne]. Thèse de doctorat en Reproduction Animale. Oran : université Senia, 189 p.

Disponible sur : <http://thèses-univ-oran1.dz/document/13201167.pdf>.

**Hero M, Zango M, Soudre A, Pitala W, Sanou D.-S., 2019.** Caractéristiques du sperme du bouc sahélien au Burkina Faso. Tropicultura, 2019, vol. 37, n°2, pp. 157-159. ISSN 0771-3312.

**Jiménez-Rabadán P, Ramón M, García-Álvarez O, Maroto-morales A, Del Olmo E, Pénez-Guzmán M.D, Bisbal A, Fernández-Santos M.R, Garde J.J, Soler A.J., 2012.** Effect of semenc collection method (artificial vagina VS, electroejaculation), extender and centrifugation on post-thaw sperm quality of Blanca-celtibérica buck ejaculates. Animal Reproduction Science, 2012, vol. 132, pp. 88-95.

**Joëlle C.-T, Yves C, Raymond C., 2014.** La sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires et sa régulation. In : Marie S.-D, Sylvie C.-M. La reproduction animale et humaine. Quae. France, pp 222-750. ISBN 978-2-7592-2208-7.

**Kamli Naima, Saidani Imane., 2016.** Caractérisation de l'activité reproductive du bélier de race blanche : mensuration morphométriques et suivi histologiques testiculaires [en ligne]. Mémoire de master en Gestion et amélioration de ressource biologique. Tlemcen : université de Tlemcen, 112 p.

Disponible sur : <http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac-css/doc-nom.php?explnum-id=2179>.

**Küçük N, Aksoy M, Uçan U, Ahmad E, Naseer Z, CeylanA, Serin I., 2014.** Comparison of two different cryopreservation protocols for freezing goat semen. Cryobiology, 2014, vol. 68, n° 3, pp. 327-331.

**Labbé C, Blesbois E, Leboeuf B, Martoriali A, Guillouet P, Stradaioli G, Magistrini M., 2003.** Technologie de la conservation du sperme chez plusieurs vertébrés domestiques : protection des lipides membranaires, intégrité du

## Références

---

noyau et élargissement des méthodes. Les actes du BRG, 2003, n°4, pp 143-157.

**Leboeuf B, Manfredi E, Boue P, Piacère A, Brice G, Baril G, Broqua C, Humblot P, Terquie M., 1998.** L'insémination artificielle et l'amélioration génétique chez les chèvres laitières en France. INRA Prod. Anim, 1998, vol. 3, n°3, pp. 171-181.

**Leboeuf B, Restall B, Salamon S., 2003.** Production et conservation de la semence de bouc pour l'insémination artificielle. INRA Prod. Anim, 2003, vol. 16, n° 2, pp. 91-99.

**Leboeuf B, Delgadillo J.-A, Manfredi E, Placere A, Clement V, Mantin P, Pellicer-Rubio M.-T, Boue P, De Cremoux R., 2008.** Place de la maîtrise de la reproduction dans les schémas de sélection en chèvres laitières. INRA Prod. Anim, 2008, vol. 21, n° 5, pp. 391-402.

**Leborgne M.C, Tangury J.M., 2014.** Reproduction des animaux d'élevage [en ligne]. 3 nd Ed. Amazon, France : Educagri éditions, 467 p.

Disponible sur : [www.editionseducagri.fr](http://www.editionseducagri.fr). ISBN 978-2-84444-928-3.

**Lusignan M.-F., 2001.** Etude du mécanisme de protection des spermatozoïdes de mammifère par le lait [en ligne]. Thèse de doctorat en biochimie. France : université de Montréal, 203 p.

Disponible sur : <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/5265>

**Maher G, 2011.** Lord de la congélation, que préfèrent les spermatozoïdes de boucs : le jaune d'œuf ou le lait ? Nordic Veterinary Medicine, 2011, vol. 17, pp. 633-639.

**Maher G., 2012.** Comparaison des techniques de cryoconservation de la semence chez le bouc et l'insémination artificielle chez la chèvre [en ligne]. Mémoire de master en sciences animales. Québec : université Laval, 115 p.

Disponible sur : <http://handle.net/20.500.11794/23001>.

## Références

---

**Maher G, Maurice C, Lessard C, Thériault M, Castonguay F, Cinq Mars D, Bernier J, Baily J., 2011.** Egg yolk or milk ? Which is preferred by buck spermatozoa ? Centre de recherche en biologie de la reproduction, 1 p.

**Manfredi E, Leboeuf B, Bodin L, Boue P, Humblot P., 1998.** Source de variation génétique et non génétique des caractéristiques de production de semence chez le bouc. Renc. Rech. Ruminants, 1998, n° 5, pp. 37-39.

**Manman M, Hamani M., 2021.** Spermogramme du bouc du Sahel au Niger. IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry (IOSR-JBB), 2021, vol. 7, n° 1, pp. 25-31.

**Meyer C., 2008.** La reproduction des ovins, des caprins, et des chameaux cas de la zone tropicale : cours de Master 2 e année BGAE-EPSED. Campus de baillarguet, 8 nd Ed, 42 p.

**Meskini Zakaria., 2017.** L'insémination artificielle chez les caprins de la race Arbia dans la région de Tiaret [en ligne]. Mémoire de master en génétique et reproduction animale. Mostaganem : université Abdelhamid Ibn Badis, 94 p.

Disponible sur : <http://e-biblio-univ-mosta.dz/handle/123456789/4991>.

**Multak N.K., 2019.** The impact of adding different levels of egg yolk on the motility and morphology pré and post thaw cryopreservation pf goat semen. Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences, 2019, vol. 12, n° 1, pp.107-115. ISSN 1999-6527.

**Nunes J.-F, Corteel J.-M, Combarous Y, Baril G., 1982.** Rôle de plasma séminal dans la survie *in vitro* des spermatozoïdes de bouc. Reprod. Nutr. Dévelop, 1982, vol. 22, n° 4, pp. 611-620.

**Orgeur P, Memouni P, Leboeuf B, Segnoiret J.-P., 1988.** Effet de l'expérience sociale au cours du développement sur le comportement sexuel et la production spermatique de jeune bouc. Ann. Zootrch, 1988, vol. 37, n° 2, pp. 99-110.

**Ortavant R., 1959.** Déroulement et durée du cycle spermatogénétique chez le bélier. Annales de zootechnie, INRA / EDP Sciences, 1959, vol. 8, n° 3, pp. 183-244.

## Références

---

**Perrard M-H, Grenet C, Prisant N, Geoffroy-Siraudin C, Segretain D, Guichaoua M.-R, Pointis G, Durrand P., 2010.** Analyse de la spermatogenèse *ex vivo*. *Med Sci (Paris)*, 2010, vol. 26, pp. 305-310.

**Ponsart C, Joly C, Le Guienne B, Nathalie B, Le Bourhis D, Gérard O, Mermillod P, Locatelli Y., 2014.** Biotechnologies des gamètes et de l'embryon. In : Marie saint-dizier, Sylvie Chastant-Maillard. *La reproduction animale et humaine*. Quae, France, pp. 553-578.

**Roof D.J, Bowley S, Price L.L, Mastas D.J., 2012.** Comparison of two commercial extenders for cryopreservation of goat semen without sperm washing. *Theriogenology*, 2012, vol. 77, pp. 412-420.

**Salmani H, Towhidi M, Bahreimi M, Shargli M., 2014.** *In vitro* assessment of soy bean lecithin and egg yolk based diluents for cryopreservation of goat semen. *Criobiologie*, 2014, vol. 68, pp. 276-280.

**Salmon V, Cinq-Mars D, Castonguay F, Bailey J., 2014.** Amélioration de la cryoconservation de la semence de boucs québécois, centre de recherche en biologie de la reproduction. Québec : université Laval, 3p.

Disponible sur : <http://www.mapaqqouvqcca>.

**Sharma A, Sood P, Chaudhary J.K., 2020.** Comparative efficacy of different concentrations of egg yolk for cryopreservation of goat semen. *Indian Journal of Animal Sciences*, 2020, vol. 90, n°4, pp. 560-563.

**Santiago-Moreno J, Coloma M.-A, Darado J, Pulido-Pastor P, Gómez-Guillamon F, Salas-Vega R, Gómez-Brunet A, López-Sebastián A., 2009.** Cryopreservation of spanish ibex (*Capra pyrenaica*) sperm obtained by electroejaculation outside the rutting season. *Theriogenology*, 2009, vol. 71, pp. 1253-1260.

**Tibary A, Manar S., 2018.** Cryoconservation du sperme et des embryons chez les petits ruminants. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 2018, vol. 6, n°2, pp. 195-210.

**Wahjuningsih S, Ciptadi G, Pridiawati K., 2019.** The effect of water clover (*Marsilea Crenata*) extract addition in egg yolk and skim milk extender on frozen

## Références

---

goat semen quality. IOP Conference Series : Earth and Environmental Science, 2019, vol. 387, n° 01, pp. 012103.

**Yeste M., 2016.** Sperm cryopréservation up date : cryodamage, markers, and factors affecting the sperm freezability in pays. Theriogenology, 2016, vol. 85, n° 1, PP. 47-64.

**Zarouk A, Souilem O, Drion P.-V, Beckers J.-F., 2001.** Caractéristique de la reproduction de l'espèce caprine. Ann. Méd. Vét, 2001, vol. 1458, pp. 98-105.

## Tables des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction .....	2

### **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>Chapitre1 : Anatomie de l'appareil génital .....</b>	<b>6</b>
I.    Les testicules.....	6
Les tubes séminifères .....	7
Les cellules de Sertoli .....	8
Les cellules de la lignée germinale.....	9
Spermatogonies .....	9
Spermatozoïde .....	9
La tête .....	9
Le flagelle .....	9
Le sperme .....	10
Les cellules dutissu interstitiel .....	10
II.    Les voies spermatiques .....	11
Les voies extra-testiculaires.....	11
L'épididyme	11
Le conduit déférent .....	11
III.    Le conduit éjaculateur .....	11

L'urètre.....	11
La verge (Ou Pénis).....	12
<b>Chapitre2 : Physiologie de la reproduction du bouc.....</b>	<b>14</b>
1. la spermatogenèse .....	14
Le lieu de la spermatogenèse .....	15
les différentes phases de la spermatogenèse .....	15
phase1 : les cellules souches germinales .....	15
phase2 : méiose et brassage génétique .....	16
phase3 : la spermiogenèse.....	17
la durée et la productivité de la spermatogenèse .....	18
le contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse .....	19
2. Aspects spécifique de la reproduction chez le bouc .....	20
Puberté .....	20
Saisonnalité .....	21
<b>Chapitre3 : Collecte et conservation de la semence du bouc .....</b>	<b>23</b>
1. Collecte de la semence.....	23
Technique de récolte à l'aide d'un vagin artificielle.....	23
Préparation du vagin artificiel .....	24
Technique de récolte à l'aide d'un électro-éjaculateur.....	24
2. sélection des males sur l'aptitude à la production de semence.....	25
3. Analyses du sperme .....	25
4. Conservation de la semence du bouc .....	26
plasma séminal et lavage du sperme .....	26
plasma séminal.....	27
composition du plasma séminal .....	27
a. enzyme EYCE.....	27
b. BUSpg60 .....	28
c. protéines d'affinité à l'héparine .....	28
Lavage du sperme .....	29
5. conservation des spermatozoïdes .....	32
Conservation de semence a l'état liquide.....	33

Conservation de semence a l'état congelée .....	33
6. dilueurs et cryoprotecteurs .....	34
Composition de dilueurs.....	35
Préparation de dilueurs.....	36
Agents cryoprotecteurs.....	37
7. Entreposage (durée de vie dans l'azote liquide) .....	37
8. Comparaison entre les méthodes de conservation .....	38
9. sécurisation des races par le cryoconservation de semence .....	38

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

<b>Chapitre1 : Matériel et méthodes .....</b>	<b>42</b>
<b>Chapitre2 : résultats et discussion .....</b>	<b>54</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>60</b>
Références bibliographiques	