

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de la biologie des Populations et des Organismes



MEMOIRE DE MASTER II

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME

MASTER II

Option : **reproduction animale**

Thème

***Etude de la fonction spermatique ovine chez la race
Ouled djellal***

Réalisé par :

M^r : Ben Ali Ahmed Redha.

M^{elle} : OutayebDjouher

Encadré par

Professeur : KAIDI. R

Les Membres du Jury :

M^r : Bessaad. M.A

MCB/SNV

Président de jury

M^{me} : Keskass.S

MAB/SNV

Examinatrice1

M^r :Belabdi.I

MAB/ISV

Co-promoteur

M^r : Lafri .M

Pr / ISV

Invité d'honneur

DEDICACES

*Je dédie ce travail à mon père et
ma mère pour les valeurs qu'ils
m'ont transmis*

*A ma femme et ma fille
MERIOUMA en témoignage de
leur amour*

*A l'âme de notre grande perte
LOLODJ*

*A l'âme de notre regretté
monsieur AMMI*

*Aux bons moments passés avec
mon ami OUMEDI DJAMEL*

*Et à tous mes amis et collègues que
DIEU vous bénisse*

DEDICACES

Je dédie le fruit de mes années d'étude à l'âme du grand disparu mon très chère papa à qui je dis «malgré ton absence aujourd'hui ; je te sens à mes côtés par ce qu'en fait tu vis en nous-en ta femme et tes enfants à travers l'amour et l'affection que tu nous avais donné pendant ta vie et dont je sens la chaleur jusqu'à maintenant».

Je le dédie aussi à la grande source de tendresse ma brave maman **SOUMIA** ainsi qu'à **FARIDA ;MENAD ; DEHBIA** et **HAYET** sans oublier **SAID** et **NACER** et surtout mes nièces **CESSILIA** et **INASSE**.

A mon **KARIM**

A ma très grande famille chaque un par son nom.

A tous ceux qui m'ont transmis leur savoir et leur passion

A tous mes amis vétérinaires et biologistes et spécialement **ASMA, IMANE, fïSSI, MIMA, SABRINA K, RADIA, SABRINA S** et **WAFAA**.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la connaissance pour accomplir ce travail.

*Dans le cadre de ce travail, Nous tenons à remercier notre promoteur Monsieur **KAIDI .R**, professeur, chercheur à l'institut des sciences vétérinaires de Blida, pour son aide, sa patience, et sa disponibilité Profonde gratitude*

Parallèlement, nous devons témoigner d'une marque de reconnaissance envers les membres du Jury qui ont pris la Peine d'examiner ce travail à savoir :

*Monsieur **BESSAD.M .A** de département BPO Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, Hommages respectueux,*

*Madame **KESKAS .S** de département BPO Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse, Sincères remerciements.*

*Monsieur **LAFRI.M** de l'institut des sciences vétérinaires Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse, Sincères remerciements.*

*Nous tenons à remercier notre Co-promoteur Monsieur **BELAID.I** Maitre-assistant .B à l'institut des sciences vétérinaires pour son aide, et sa patience. Sincères remerciements*

*Nous remercions de tous cœur Monsieur **ABDELI .A** Maitre-assistant .B à l'institut des sciences vétérinaires pour son aide, sa patience et sa compréhension. Sincères remerciements*

*Nous remercions profondément les ingénieurs de laboratoire de la biotechnologie et reproduction animale de l'institut des sciences vétérinaires madame Bentoura siham et M^{elle} **KABIR Wafaa** pour leur aide tout au long de la période du travail.*

Nous remercions, de tout cœur, tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Représente la moyenne \pm l'écart de VCL, VSL, VAP en ($\mu\text{m/s}$), ALH en (μm) BCF en (Hz) et LIN en (%).....	32
Tableau n°2 : Distribution en fréquence pour chaque type de spermatozoïdes par rapport au temps.....	35

Liste des figures

Partie bibliographique

Figure n°1 : Représente un cheptel d’ovin de race Ouled djellal.....	3
Figure n° 2 : Bélier Ouled Djellal de 12 moi d’âge.....	4
Figure n° 3 : Coupe horizontale du testicule gauche et de ses enveloppes.....	7
Figure n°4 : Anatomie du testicule.....	8
Figure n°5 : Spermatogenèse chez les ruminants.....	13
Figure n° 6 : Anatomie du spermatozoïde.....	21
Figure n°7 : La clé USB du logiciel CASA.....	26
Figure n°8 : Microscope avec camera intégré.....	26

Partie pratique

Figure n°9 : Carcasse d’ovin à l’abattoir de Mouzaia.....	27
Figure n°10 : Glacière électrique à 4°C.....	28
Figure n°11 : Technique de collecte du sperme épидидymaire.....	29
Figure n°12 : technique de la préparation d’échantillon pour l’évaluation de la concentration de la mobilité.....	30
Figure n°13 : Test de vitalité des spermatozoïdes par la coloration éosine-nigrosin.....	30
Figure n°14 : représente un spermatozoïde mort coloré en rouge et un autre non coloré.....	31
Figure n°15 : Graphe représentant la VCL, VSL et VAP ($\mu\text{m/s}$) par rapport au temps.....	33
Figure n°16 :Graphe montrant la ALH (μm) et BCS (Hz) par rapport au temps.....	34
Figure n°17 : cercle relative représentant les différents types de progressivité.....	35
Figure n°18 : Grappe représentant les pourcentages de la vitalité par rapport au temps.....	36

Abbreviations

LH : LutéinisingHormone.

FSH : FolliculStimulatingHormone.

ABP : AndrogenBindingProtein.

GnRH : GonadotropinReleasing Hormone.

JL : JoursLongs.

JC : JoursCourts.

SPZ : Spermatozoides.

CASA : Computer AssistedSpermAnalysis.

T3h : Temps égale trois heures.

T6h : Temps égale six heures.

T12h : Temps égale douze heures.

T24h : Temps égale vingt-quatre heures.

S : Secondes.

µm : Microns.

Hz : Hertz.

PM : Progressifs Moyens.

PR : Progressif Rapides.

R : Rapides.

VLC : Vitesse curviligne des spermatozoïdes

VSL : Vitesse rectiligne des spermatozoïdes

VAP : Vitesse moyenne des spermatozoïdes

ALH : Amplitude du déplacement latéral de la tête des spermatozoïdes par rapport à la trajectoire moyenne.

BCF : Fréquence de croisement ou fréquence moyenne avec laquelle la trajectoire curviligne du spermatozoïde croise la trajectoire moyenne.

STR : Pourcentage de rectitude ou de linéarité de la trajectoire moyenne (VSL / VAP),

LIN : Pourcentage de linéarité de la trajectoire curviligne (VSL / VLC).

Résumé

Notre travail consiste à évaluer la qualité spermatique épидидymaire de bélier de la race Ouled Djellal. Au total 24 testicules ont été ramené de l'abattoir étatique de Mouzaia et analysé par le CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), pour les paramètres de mobilité et vitalité au niveau de Laboratoire de la Biotechnologie et de la Reproduction Animale (LBRA) de l'Institut des sciences Vétérinaires. Les testicules ont été réparti en quatre groupes et analysé à 3 heures, 6 heures, 12 heures et 24 heures, le sperme épидидymaire a été prélevé, dilué et étudié selon la méthode de plusieurs rétrogrades.

Nous résultats ont montré que la mobilité était meilleure à T3 heures puis elle a diminué d'une manière significative à 6H, 12H et 24H. Cependant la vitalité n'a été affectée qu'après 12 heures.

Les résultats obtenus semblent être encourageants pour l'utilisation du sperme épидидymaire prélevé quelque heure après l'abattage des ovins.

Mots clés : ovin, épидидyme, spermatozoïdes, mobilité, vitalité, CASA.

الملخص

مهمتنا كانت دراسة نوعية الحيوانات المنوية لفصيلة أغنام أولاد جلال.

في المجموع تم إحضار 24 خصية من مسلخ الدولة Mouzaia وتحليلها بواسطة CASA (بمساعدة الحاسوب تحليل الحيوانات المنوية)، لاختبار مدى نسبة تنقل وحيوية الحيوانات المنوية وتم ذلك في مختبر التكنولوجيا الحيوية والاستنساخ الحيواني (LBRA) التابع لمعهد علم الحيوان. تم تقسيم الأعضاء التناسلية إلى أربع مجموعات وتحليلها في 3 ساعات، 6 ساعات، 12 ساعة و 24 ساعة،

وأظهرت النتائج أن نسبة تنقل الحيوانات المنوية خلال ثلاث ساعات الأفضل وبعد ذلك انخفضت بشكل ملحوظ عند 6

ساعات، 12 ساعة و 24 ساعة لكن حيوية الحيوانات المنوية لم تتأثر إلا بعد 12 ساعة.

النتائج المتحصل عليها بدت مشجعة لاستخدام السائل المنوي بعد بعض ساعات من ذبح الأغنام

كلمات المفاتيح: أغنام، الحيوانات المنوية، البربخ، تنقل، حيوية، خصية، CASA

Summary

Our work is to assess the epididymal sperm quality from Ouled Djellal ram

In total 24 testes were obtained from the Mouzaia slaughterhouse and analyzed by CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), for mobility and vitality parameters at the Laboratory of Biotechnology and Animal Reproduction (LBRA) of the Institute of Animal science.

The testes were divided into four groups and analyzed at 3 hours, 6 hours, 12 hours and 24 hours. Epididymal semen was collected, diluted and examined by the method of multiple backward.

Our results showed that mobility is better at three hours and then it decreased significantly at 6h, 12h and 24h. However vitality was affected only after 12 hours.

The results seem encouraging for the use of epididymal semen taken some time after slaughter.

Keys Words: sheep, epididymal, spermatozoa, CASA, mobility, vitality.

Sommaire

Abréviation.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	III
Résumés.....	IV, V, V
Recommandations	VII

PREMIERE PARTIE ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
-----------------------------------	----------

CHAPITRE I:Situation de l'ovin en Algérie caractéristiques de la race ovine Ouled Djellal

I.1. Situation de l'ovin en Algérie.....	2
I.2. Les caractéristiques généraux de la race Ouled Djellal.....	3

CHAPITRE II :Base anatomiques et histologiques de l'appareil reproducteur mâle et régulation hormonale de la fonction testiculaire

II.1. Anatomie et Histologie de l'appareil reproducteur mâle.....	5
II.1.1. Les testicules.....	5
II.1.2. l'épididyme.....	7
II.1.3. le canal déférent	7
II.1.4. les glandes annexes.....	8
II.1.4.1. Les vésicules séminales.....	8
II.1.4.2. La prostate.....	8
II.1.4.3. Les glandes bulbo-urétrales.....	8
II.1.4.4. Les organes d'évacuation.....	8
II.2. Régulation hormonale de la fonction testiculaire	9
II.2.1. Les fonctions testiculaires.....	9
II.2.1.1. La Stéroïdogénèse.....	9
II.2.1.2. La spermatogénèse	10
II.2.1.2.a. Le déroulement de la spermatogénèse	10
II.2.1.2.b. Le cycle spermatogénique	12
II.2.1.2.c. Le cycle de l'épithélium séminifère	12

II.2.2. Régulation hormonale de la fonction testiculaire.....	13
II.2.2.1.Le rôle des gonadotropines.....	14
II.2.2.2.Le rôle des stéroïdes sexuels.....	15
III. Puberté et photopériodisme.....	17
III.1. La puberté.....	17
III.1.1. Le développement testiculaire.....	17
III.1.1.1. Le développement macroscopique.....	17
III.1.1.2. Le développement microscopique.....	18
III.1.2. L'évolution des caractéristiques séminales.....	18
III.2. Effets de la photopériode sur l'activité de reproduction.....	19
IV. Etude de la fonction spermatique.....	21
IV.1. Morphologie des spermatozoïdes.....	21
IV.2. Collecte de la semence.....	22
IV.3. Examen du sperme.....	22
IV.3.1. Méthode classique.....	22
IV.3.1.1 Examens macroscopiques.....	22
IV.3.1.1.a. Volume.....	22
IV.3.1.1.b. Aspect, couleur et consistance.....	22
IV.3.1.1.c. Viscosité.....	22
IV.3.1.1.d. Le poids spécifique.....	22
IV.3.1.2. Examen microscopique du sperme.....	23
IV.3.1.2.a. Détermination de la motilité massale.....	23
IV.3.1.2.b. Détermination de la motilité individuelle.....	23
IV.3.1.2.c. Détermination de la concentration.....	24
IV.3.1.3. Examen biochimique.....	24
IV.3.1.3.a. pH du sperme.....	24
IV.3.2. Autres méthodes.....	25
IV.3.2.1. Le système d'analyse C.A.S.A.....	24

DEUXIEME ETUDE PRATIQUE

I. Matériel et Méthodes.....	27
-------------------------------------	-----------

I.1. Le matériel.....	27
I .1.1. Le matériel animal.....	27
I.1.2.Matériel de laboratoire.....	28
I.2. Méthodes.....	28
I.2.1. Méthode de collecte de la semen.....	28
I.2.2. Examen macroscopique de la semence.....	29
I.2.3. Evaluation de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes.....	29
I.2.4. Evaluation de la vitalité des spermatozoïdes par l'eosine-nigrosine.....	30
I.3.Analyse statistique	31
II. Résultats et discussion.....	32
II.1. La mobilité.....	32
II.2. Viabilité.....	35
II.3. Discussion générale.....	37
Conclusion.....	38

Recommandation

- Nous recommandons la généralisation de cette technique à toutes les races ovines Algériennes qui sont en voie de disparition.
- Etudier différentes races à fin de préserver notre patrimoine génétique locale.
- Procéder à la congélation de la semence épидидymaire ovine.
- Développer un dilueur spécifique à la semence ovine.
- De montrer les facteurs influençant la réussite de l'insémination artificielle après décongélation.
- Comparer les résultats de la semence épидидymaire après insémination artificielle avec les résultats obtenus par la saillie naturelle et ceux d'insémination artificielle avec semence fraîche.

INTRODUCTION

En Algérie, le cheptel ovin représente près de 21,4 millions de têtes dont 63% de race Ouled Djellal (**Adamou, et al. 2005**). Cette race occupe une place prépondérante à l'échelle nationale et même à l'échelle magrébine, par sa rusticité dans les différentes conditions (**Kerboua, et al. 2003**). En Algérie, pour pouvoir satisfaire les besoins en viandes rouges, une amélioration de la production animale s'impose pour faire face à la demande croissante. Cela passe d'abord par l'amélioration de l'efficacité de reproduction par le biais de l'amélioration de la fertilité aussi bien des femelles que des mâles. Rares sont les études sur la production spermatique des béliers dans notre pays (**Aissaoui et al. 2004 ; Ghozlane et al. 2005**). Ainsi, la nécessité d'examiner la fertilité des mâles nous a motivé à suivre la production spermatique des mâles après la puberté.

La problématique consiste donc à reconnaître les mâles capables de déposer au niveau du tractus génital femelle, du sperme viable et fécondant et de pouvoir conserver leur patrimoine génétique hautement potentiel même après leur mort ou abattage. L'utilisation du sperme épидидymaire est une nouvelle technique utilisable dans le cadre de l'insémination artificielle ou de la fécondation in vitro chez les ovins. La collecte de sperme épидидymaire permet le recueil de spermatozoïdes en nombre suffisant pour plusieurs dizaines d'inséminations artificielles (**Guérin et al. 2003**).

L'objectif de notre travail est d'étudier la mobilité et la viabilité par les paramètres cinétiques entre autres la vitesse curviligne, rectiligne et moyenne des spermatozoïdes, l'amplitude et la fréquence du déplacement latéral de la tête des spermatozoïdes par rapport à la trajectoire moyenne des spermatozoïdes et le pourcentage de linéarité de la trajectoire curviligne des spermatozoïdes prélevés sur des animaux abattus depuis quelques heures et conservés à 4°C jusqu'au 24 heures sans dilution dans leur milieu épидидymaire, dans le but de leur utilisation en suivi d'insémination artificielle ou en fécondation in vitro.

I. Situation de l'ovin en Algérie et Caractéristiques de la race ovine Ouled Djellal

I.1. Situation de l'ovin en Algérie :

En Algérie, l'élevage ovin constitue une véritable richesse nationale, appréciée à travers l'effectif élevé qui dépasse les 21,4 millions de têtes en 2009 (**O.N.S.2009**), et par la diversité des races qui constitue une bonne garantie pour l'avenir.

Les ovins représentent plus de 80 % du total de l'effectif animal national, suivis par les caprins puis par les bovins qui ne représentent pas plus de 8%. L'élevage ovin compte pour 25 à 30% dans la production animale et 10 à 15% dans la production agricole. Il fournit plus de 50% de la production nationale de viande rouge (**Adamou et al 2005**).

L'effectif ovin national a subi une légère amélioration après l'indépendance malgré les problèmes persistants de sécheresse, de mortalité liée au manque des soins vétérinaires et de mise en culture des parcours (**Chellig, 1992**). Depuis l'année 1992, l'effectif national s'est stabilisé autour de 17 millions et depuis il n'a pas subi de grandes variations (**Rondia, 2006**). Les ovins sont répartis sur toute la partie nord du pays, avec toutefois une plus forte concentration dans la steppe et les hautes plaines semi arides céréalières ; il existe aussi des populations au Sahara, exploitant les ressources des oasis et des parcours désertiques (**Kerboua et al., 2003**). Le déséquilibre observé dans la répartition de l'élevage ovin en Algérie est dû aux différents modes d'élevages utilisés qui comprennent deux types nettement distincts (**Dehimi, 2005**) : un élevage extensif nomade sur les zones steppique et saharienne, intéressant plus de 13 millions de têtes et un élevage semi-extensif sédentaire sur les hauts plateaux céréaliers, le tell et le littoral intéressant environ 6 millions de têtes. Le cheptel ovin, premier fournisseur en Algérie de viande rouge, est dominé par trois principales races bien adaptées aux conditions du milieu (**Chellig, 1992**) :

-La race arabe blanche Ouled Djellal, la plus importante représentant environ 58% du cheptel national.

-La race Rembi, des djebels de l'Atlas Saharien, à tête et membres fauves, représente environ 12% du cheptel.

-La race rouge Béni Ighil (dite Hamra en rappel de sa couleur) des Hauts Plateaux de l'Ouest (21% du cheptel).

Des races dites secondaires, à effectifs réduits, regroupant les races Zoulai, D'man, Barbarine et Targuia-Sidaouet la Taâdmit (**Chellig, 1992**).

Les populations ovines locales sont constamment soumises à l'adversité du milieu (rigueur du climat, contraintes alimentaires), et se caractérisent par une rusticité remarquable ; mais elles présentent des résultats de production hétérogènes et des caractéristiques morphologiques diverses.



Figure n°1 : représente un cheptel d'ovin de race Ouled djellal

I.2. Les caractéristiques générales de la race Ouled Djellal :

Le terme « Ouled Djellal » désigne à la fois la région située au sud-ouest de la brèche de Biskra, et le type racial du mouton qui y est exploité. Ce mouton aurait été introduit par les Béni Hillal, venus du Hidjaz (Arabie) au XI^e siècle (**Chellig, 1992**). Cette race est bien adaptée aux zones de parcours à sol calcaire des hauts plateaux céréaliers et des hautes plaines steppiques à climat très chaud en été et très froid en hiver, et à pluviométrie réduite de 200 à 500 mm/an (**ITEBO, 1996**) ; elle craint cependant les grands froids. Phénotypiquement, elle est entièrement blanche à laine fine et à queue fine, à taille haute, à pattes longues aptes pour la marche. C'est une excellente race à viande (Trouette, 1933 ; Sagne, 1950 ; Chellig, 1992) pèse environ 3,5 kg à la naissance (**Belacel, 1991 ; Dekhili et Mahane, 2004 ; Harkat et Lafri, 2007**) et 18 kg au troisième mois (âge de sevrage) (**Dekhili et Mahane, 2004**). Le bélier pèse 80 kg et la brebis 60 kg (**Kerboua et al. 2003**). Ce mouton est de grande taille (75-80 cm au garrot) (**Meyer et al. 2004**).

la race Ouled Djellal est la race la plus dominante (**Meyer et al. 2004**) , c'est la race typique de la steppe et des hautes plaines. Cette race a comme berceau le centre et l'Est Algérien, vaste zone allant de l'Oued Touil (Laghouat-Chellala) à la frontière tunisienne. Cette race est subdivisée en trois variétés (**Kerboua et al. 2003**).

-Ouled Djellal proprement dite qui peuple les Zibans, Biskra et Touggourt. C'est l'espèce la plus adaptée à la marche, elle est communément appelée «la transhumante».

-Ouled Nail qui peuple le Hodna, Sidi Aissa, M'sila, Biskra et Sétif. C'est le type le plus lourd, elle est communément appelée «Hodnia ».

-Chellala qui peuple la région de Laghouat, Chellala et Djelfa, c'est la variété la plus petite et la plus légère de la race Ouled Djellal.

Selon (**Chellig, 1992**), les performances de reproduction chez cette race sont comme suit:

- Age au premier oestrus (chaleur): agnelle féconde à partir de l'âge de 8 à 10 mois.
- Saisonnalité de l'oestrus : deux saisons: avril-juillet et octobre-novembre.
- Mise à la lutte: 18 mois, (Ténia) 35kg.
- Première mise bas: 24 mois.
- Intervalle entre deux agnelages: 11-12 mois.
- Fécondité: 95 %.
- Prolificité: 110 %.
- Productivité au sevrage: 70 % en élevage nomade, 80 % en élevage sédentaire.
- Longévité: 10 ans pour la brebis et 12 ans pour le bélier.

Certains auteurs s'accordent à reconnaître à la Ouled Djellal de bonnes qualités de reproduction, de bonnes aptitudes maternelles et une résistance aux conditions difficiles (**Trouette, 1933 ; Sagne, 1950**)



Figure n° 2: bélier Ouled Djellal de 12 moi d'age .

II. Base anatomiques et histologiques de l'appareil reproducteur mâle et régulation hormonale de la fonction testiculaire.

II.1 Anatomie et Histologie de l'appareil reproducteur mâle :

L'appareil génital mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration du sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales de la femelle où se réalise la fécondation (**Barone, 1978**).

Il comprend :

- Les testicules: qui produisent les spermatozoïdes et l'hormone mâle, la testostérone.
- Un système de canaux: l'épididyme, le canal déférent, le canal éjaculatoire et l'urètre à travers les quels sont transportés les spermatozoïdes.
- Les glandes annexes et les organes d'évacuation « vésicules séminales, prostate, glandes bulbo-urétrales »qui déversent leurs sécrétions dans les canaux au cours de l'éjaculation.

(**Baril, et al. 1993**).

II.1.1. Les testicules :

Les testicules des petits ruminants ont une forme ovoïde ou sphéroïde (**Regaudie et Reveleau, 1977 ; Vaissaire, 1977; Barone, 1990**), Chez le bélier, chaque testicule représente 0,4% du poids corporel soit 300g. (**Setchell, 1991**). Il varie en fonction de l'âge, de la race, de la saison et de l'état nutritionnel (**Baril et al. 1993**). Les testicules et l'épididyme sont recouverts d'un sac séreux «la vaginal» et de plusieurs enveloppes fibreuses et musculaires. Il s'agit de l'extérieure vers l'intérieure de 5 tuniques superposées : le scrotum, le fascia spermatique externe, le muscle crémaster, le fascia spermatique interne et la tunique vaginale (**Vaissaire, 1977 ; Barone, 1990**).

-le scrotum : il comprend deux parties: le revêtement cutané proprement dit « la peau » et le dartos. La peau du scrotum est mince, élastique, très souple, recouverte par des poils laineux chez le bélier (**Getty, 1975**). Elle forme un sac commun aux deux testicules pourvu d'un sillon médian (**Vaissaire, 1977 ; Barone, 1990**). Le dartos est un muscle peaucier à fibres lisses, constituant l'appareil suspenseur des bourses (**Vaissaire, 1977 ; Barone, 1990**), il forme autour de chaque testicule et de ses enveloppes profondes un sac complet (**Barone, 1978 ; Barone, 1990**). Son rôle principal est de maintenir les testicules à une température favorisant la formation et la conservation des spermatozoïdes (**Barone, 1990 ; Kastelic et al. 1996**) en faisant varier la surface et l'épaisseur du scrotum (**Barone, 1990**), ou encore par la présence de glandes sudoripares (**Grau et Walter, 1975**). Le scrotum sert non seulement à couvrir, à protéger les gonades mais contribue aussi à leur thermorégulation (**Setchell, 1991 ; Baril et al. 1993 ; Kastelic et al. 1996**).

-**Fascia spermatique externe**: c'est une couche conjonctive complexe qui sépare le scrotum des enveloppes profondes «muscle crémaster et fascia spermatique interne » (**Barone, 1978 ; Barone, 1990**).

-**Muscle crémaster, anciennement «tunique érythroïde»** : est un muscle formé de fibres musculaires striées à contraction volontaire et rapide (**Vaissaire, 1977 ; Barone, 1978 ; Barone, 1990**). Il joue un rôle de thermorégulation. -

Fascia spermatique interne : a été longtemps associé au feuillet pariétal de la tunique vaginale, sous le nom, de «fibro-séreuse».(**Vaissaire, 1977**) Le testicule est entouré d'une capsule fibreuse ou albuginée (**Habault, 1969 ; Vaissaire, 1977**), très riche en capillaires chez le bélier (**Vaissaire, 1977 ; Noakes et al.,2001**) dont les contractions spontanées et rythmiques contribuent à propulser les spermatozoïdes et le liquide testiculaire hors du testicule (**Setchell, 1991**).Des travées conjonctives ou septulatestis partant de l'albuginée et divisent le testicule en lobules assez réguliers, ayant l'aspect de pyramides incomplètement séparées les unes des autres (**Grau et Walter, 1975**), sont constitués de tubes séminifères et de tissu glandulaire interstitiel (**Setchell, 1991 ; Noakes et al.,2001**).-**Les tubes séminifères** : forment des anses qui s'ouvrent à leurs deux extrémités dans des tubes droits. A l'intérieur, les cellules de la lignée germinales sont associées aux cellules de Sertoli avec lesquelles elles constituent l'épithélium séminal et représentent les composantes majeures de la barrière hémato-testiculaire et subdivisent les tubes séminifères en deux compartiments: un basal contenant les spermatogonies et les spermatocytes au stade pré-leptotène et l'autre central contenant les spermatides (**Vaissaire, 1977 ; Amann et Schanbacher, 1983 ; Barone, 1990 ; Setchell, 1991**). Les espaces compris entre les tubes séminifères sont occupés par du tissu conjonctif au sein duquel sont répartis de petits amas de cellules interstitielles ou cellules de Leydig. L'interstitielle testiculaire sécrète l'hormone mâle ou testostérone, nécessaire au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génital mâle. Cette sécrétion contrôle en outre les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle (**Barone, 1990**).

-**Les tubes droits** : s'ouvrent dans un réseau de canalicules anastomosés qui forment lapartie profonde du rete- testis. Les canaux du rete-testis se déversent eux-mêmes dans l'épididyme par l'intermédiaire des canaux efférents.

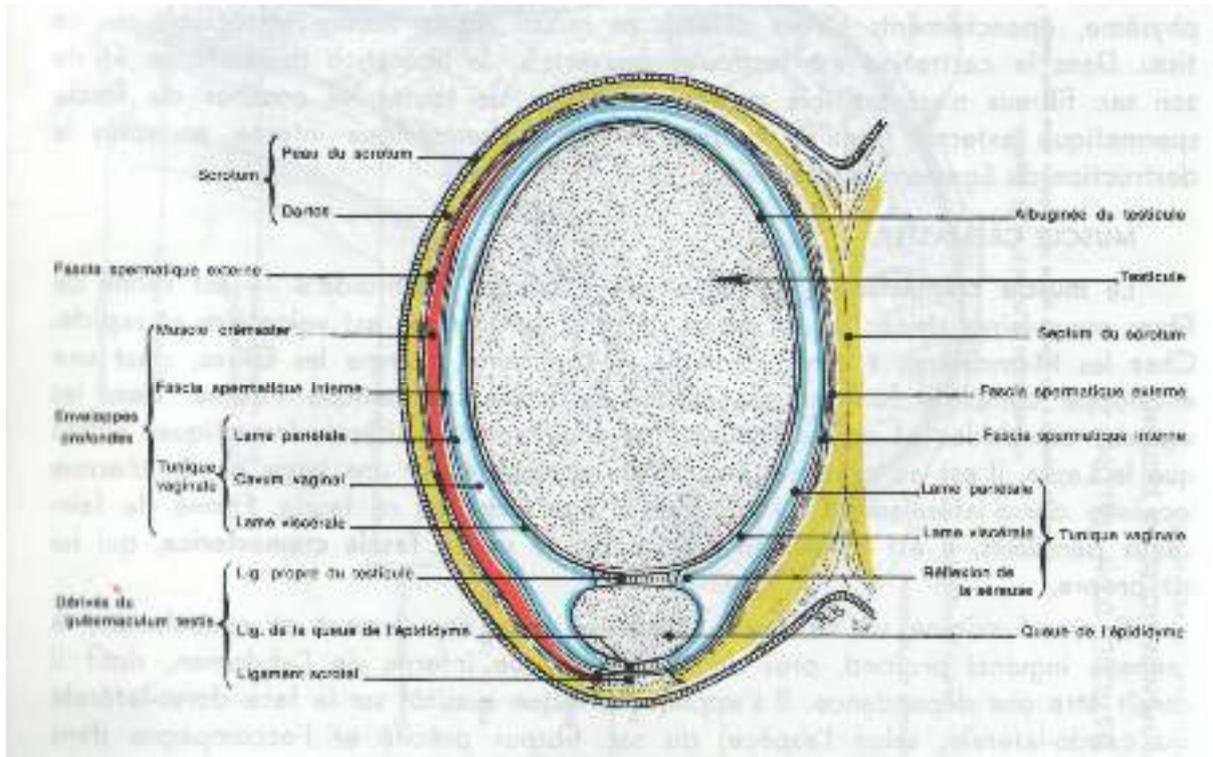


Figure n°3 : Coupe horizontale du testicule gauche et de ses enveloppes d'après (**Baron, 1990**).

II.1.2. l'épididyme :

L'épididyme est un tube allongé, très flexueux situé sur le pôle inférieur du testicule de diamètre croissant. Il se subdivise en trois régions la tête, le corps, et la queue dans laquelle existe souvent une réserve importante de spermatozoïdes. Il constitue un lieu de stockage, de maturation et de remaniement des spermatozoïdes. C'est au niveau de l'épididyme « le corps épидидymaire » que les spermatozoïdes acquièrent leur mobilité et leur pouvoir fécondant (**Chevrier et Dacheux, 1988 ; Barone, 1990 ; Setchell, 1991 ; Baril et al. 1993 ; Noakes et al. 2001**). On reconnaît à l'épididyme une autre fonction qui consiste à l'augmentation de la concentration du sperme par réabsorption de la majeure partie du fluide du rete-testis (**Setchell, 1991**). Dans l'épididyme, le sperme se conserve fertile jusqu'à 40 jours après ce délai, les spermatozoïdes sont fragmentés et sont résorbés par les spermiphages (**Hammond, 1961**). L'épididyme débouche dans le canal déférent.

II.1.3. le canal déférent : Il s'étend de la queue épидидymaire à l'urètre, c'est un tube de quelques centimètres mais, il a une puissante musculature qui va présenter des contractions au moment de l'éjaculation. Ces contractions du canal déférent sont induites par les prostaglandines (**Craplet et Thibier, 1977 ; Barone, 1990**).

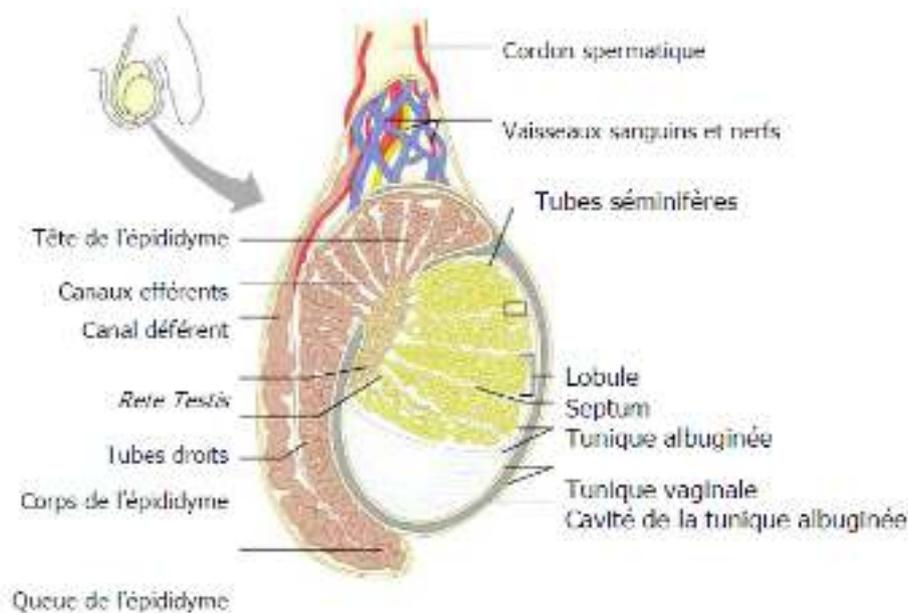


Figure n°4 : Anatomie du testicule selon (Vaissaire, 1977).

II.1.4. Les glandes annexes :

Elles sont chargées de l'élaboration du plasma séminal, qui assure la dilution, la nutrition et permet les mouvements des spermatozoïdes (Kolb, 1975).

II.1.4.1. Les vésicules séminales :

Font suite au canal déférent, se situent entre la vessie et le rectum (Barone, 1990). Elles déversent leurs sécrétions dans l'urètre par l'intermédiaire du conduit éjaculateur (Kolb, 1975 ; Barone, 1990 ; Bonnes et al. 2005). Leurs sécrétions constituent une source d'énergie pour les spermatozoïdes.

II.1.4.2. La prostate :

De 3 à 5 centimètres d'épaisseur, elle est située dans la paroi de l'urètre pelvien. Chez le bœuf, elle ne s'étend pas à la face ventrale de l'urètre. Le liquide prostatique étant riche en acides aminés, enzymes, fructose et surtout en Zinc « rôle bactéricide », contribue d'une grande part dans la formation du sperme (Barone, 1978).

II.1.4.3. Les glandes bulbo-urétrales :

Glande paire, appelée glande de Cowper, elle est peu volumineuse chez les petits ruminants, globuleuse, de taille d'une noisette et d'une largeur de 1cm (Barone, 1990 ; Setchell, 1991), Elle sécrète un liquide clair visqueux à pH alcalin « pH=7,8 » servant au nettoyage et à la lubrification de l'urètre juste avant l'éjaculation (Barone, 1978 ; Noakes et al. 2001).

II.1.4.4. Les organes d'évacuation :

-L'urètre est un long conduit impair servant à l'excrétion de l'urine et celle du sperme (Barone, 1990).

-Le pénis est l'organe copulateur du mâle (**Vaissaire, 1977**). Il est de type fibro-élastique, il porte à son extrémité un appendice vermiforme qui est spécifique à l'espèce ovine, sa structure tissulaire lui permet de s'éjecter au moment de l'accouplement et de déposer la semence dans les voies génitales femelles (**Barone, 1990**). Il est formé par l'urètre pelvien auquel sont annexés des muscles et des formations érectiles (**Bonnes et al.2005**).

II.2. Régulation hormonale de la fonction testiculaire :

II.2.1. Les fonctions testiculaires :

Les testicules exercent une double fonction : la fonction endocrine ou la stéroïdogenèse et la fonction exocrine ou la spermatogenèse. Ces deux fonctions se déroulent respectivement dans les cellules de Leydig et au niveau des tubes séminifères (**Courot, 1962;Schanbacher, 1982 ; Amann et Schanbacher, 1983**). La stéroïdogenèse dépend du support continu de la glande pituitaire (hypophyse) sous forme d'hormone lutéinisante (LH). Cette gonadotropine stimule la sécrétion des androgènes par les cellules de Leydig (**Schanbacher, 1982**). Alors que la spermatogenèse est favorisée par les deux gonadotropines qui agissent en synergie (**Desjardins, 1978**). La FSH agit indirectement par le biais des cellules de Sertoli pour favoriser la spermatogenèse (**Amann et Schanbacher, 1983**).

II.2.1.1. La Stéroïdogenèse

Les testicules élaborent les androgènes dont le plus dominant est la testostérone (**Desjardins, 1978**). Ils produisent, aussi d'autres hormones dont l'inhibine (**Desjardins, 1978**), l'androgène binding protéine « ABP ». (**Amann et Schanbacher, 1983**) et l'activine (**Amann, 1993 cité par Bahhar, 1998 ; Hochereau-de Reviers et al.1995**). Le rôle de l'ABP semble être de maintenir des concentrations élevées des androgènes dans la lumière des tubes séminifères et au niveau de l'épididyme (**Noakes et al.2001**). Il favorise le transport et le contrôle des changements de la sécrétion de la testostérone, alors que l'inhibine « hormone protéique non stéroïdienne » inhibe la sécrétion de la FSH « qui a stimulé sa synthèse ».(**Amann et Schanbacher, 1983 ; Cognié, 1988 ; Burger et Igarashi, 1988 cité par McKeown et al.,1997 ; Hadley, 1992 ; Bonnes et al., 2005**), et sans doute diminue la synthèse de la GnRH.(**Cognié, 1988 ; Hadley, 1992**).(**Price,1994**) suggère que l'inhibine n'agit pas avec la testostérone et que lui seul est suffisant pour la régulation de la sécrétion de la FSH chez le bélier. Donc, l'inhibine joue un rôle important dans la régulation de la fonction testiculaire et la spermatogenèse (**McKeown et al.1997**).

Chez les mammifères, les cellules de Leydig utilisent le cholestérol comme précurseur pour produire la pregnenolone, qui sera rapidement métabolisée en testostérone. (**Desjardins, 1978, Amann et Schanbacher, 1983 ; Noakes et al., 2001**). L'aromatation de la testostérone dans le

réticulum endoplasmique des cellules de Leydig est sous le contrôle de la LH (**Tepperman, 1980 ; de Krester, 1984 ; Noakes et al. 2001**). Chez le mâle, les androgènes en particulier la testostérone secrétée par les cellules de Leydig exercent un rétrocontrôle négatif sur la production de la LH et sans action sur la production de la FSH (**de Krester, 1984**). La testostérone est responsable de la différenciation embryonnaire des voies génitales (**Desjardins, 1978 ; Amann et Schanbacher, 1983**), du développement et du maintien des caractères sexuels primaires « testicules, conduits génitaux et glandes annexes ». (**Amann et Schanbacher, 1983**), du développement des caractères sexuels secondaires, du déterminisme du comportement sexuel mâle (**Bonnes et al., 2005**), du contrôle et du maintien de la spermatogenèse. (**Baril et al., 1993**). En plus de son action sur la fonction sexuelle, la testostérone possède une action sur la croissance. Cet androgène favorise le développement de la musculature de l'avant bras et du cou, conférant au mâle sa conformation particulière (**Butterfield, 1988 cité par Mahgoub et Lodge, 1994b**).

II.2.1.2. La spermatogenèse : La spermatogenèse, chez le mâle adulte, est un mécanisme extrêmement complexe et long qui assure deux fonctions essentielles: la multiplication perpétuelle des spermatogonies souches pour la production de spermatozoïdes murs libérés dans la lumière des tubes séminifères, et le renouvellement permanent de ces spermatogonies qui vont constituer le stock de «futurs» spermatozoïdes. (**Baril, et al., 1993**).

II.2.1.2.a. Le déroulement de la spermatogenèse :

Selon (**Desjardins, 1978 ; Noakes et al. 2001**), l'épithélium séminifère est composé de trois types de cellules germinales : spermatogonies, les spermatocytes « primaires et secondaires » et les spermatides à chacune des quelles correspond une phase du cycle spermatogénétique : la spermatocytogenèse, la méiose et la spermiogenèse. (**Johnson, 1991**).

Juste avant la différenciation sexuelle de l'embryon, les cellules germinales primordiales migrent dans le testicule fœtal, puis se différencient en gonocytes qui sont situés dans les tubes séminifères. Ils se multiplient et, peu après la naissance, se transforment en spermatogonies qui restent dormantes jusqu'à la puberté où elles se transforment en spermatozoïdes. (**Baril, et al., 1993**). Les spermatogonies souches stockées le long de la membrane basale des tubes séminifères, entre les cellules de soutien « précurseurs des cellules de Sertoli ». (**Courot, 1962 ; Hochereau-de Reviers et al., 1995 ; Noakes et al., 2001**), donnent par mitose d'une part des cellules filles qui deviennent des spermatogonies souches et d'autre part, d'autres cellules filles qui se divisent activement en spermatocytes. (**Desjardins, 1978 ; Johnson, 1991**).

Trois types de spermatogonies originalement décrits par (**Johnson, 1991 et Noakes et al. 2001**) sont :

-Les spermatogonies A sont situées au niveau de la lame basale, possédants de larges noyaux sphériques ou ovalaires, constitués de longs chromosomes (Johnson, 1991) avec une chromatine en très fines granulations (**Barone, 1990**).

-les spermatogonies intermédiaires

-Les spermatogonies B ou croûtelles sont situées en une position plus centrale, possédants des noyaux plus arrondis, constitués de chromosomes plus étroits que ceux des spermatogonies poussiéreuses (A) (Johnson, 1991) dont la chromatine forme des grains (aspect croûtelles) (**Barone, 1990**). A l'issue de la mitose, les spermatogonies B donnent naissance aux spermatocytes primaires. Chez les ovins, six différents sous types de spermatogonies sont observés les spermatogonies A0, A1, A2, A3, In (intermédiaire), B1 et B2 apparaissent durant ce stade (**Desjardins, 1978 ; Hochereau-de Reviers et al. 1976 cité par Noakes et al. 2001**). Les spermatocytes primaires préleptotènes résultent de la division mitotique des spermatogonies B et restent attachés par des ponts intercellulaires (**Desjardins, 1978 ; Barone, 1990 ; Johnson, 1991**), ces ponts entre cellules du même stade de développement, facilitent le développement ou la dégénérescence synchrone des cellules germinales, la différenciation de la spermatide haploïde avec un seul chromosome sexuel et/ou la phagocytose des résidus laissés après la spermiation. (**Johnson, 1991**). La dégénérescence de spermatogonies permet de contrôler la production abondante de spermatocytes durant ou en dehors de la saison sexuelle (**Johnson, 1991**). Une fois transformée en spermatocyte primaire produit final de la dernière division spermatogonale, la cellule germinale va se diviser. C'est la dernière synthèse d'ADN « 4n chromosomes », puisque la méiose débute immédiatement, conduira à la première division méiotique, qui aboutira aux spermatocytes secondaires « 2n ch. ». Ces derniers se divisent rapidement pour donner naissance à des cellules haploïdes « n chromosomes ». Au cours de la prophase de la méiose, cinq stades cellulaires successifs : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse, apparaissent selon (**Dollander et Fenart, 1979 ; Johnson 1991 et Noakes et al. 2001**). La prophase est suivie par trois autres stades de division cellulaire : la métaphase, l'anaphase et la télophase (**Dollander et Fenart, 1979 ; Johnson, 1991**) ; d'où en résulte la séparation des chromatides sœurs dans deux cellules filles nettement plus petites : les spermatides (**Dollander et Fenart, 1979**), dont la charge en ADN est réduite en moitié (Bonnes et al., 2005). Selon **Baril et al. 1993**, L'efficacité de la transformation des spermatocytes primaires peut être modifiée par des signaux tels que la lumière chez les races saisonnières. Des anomalies dans la division méiotique peuvent aussi entraîner la production de gamètes diploïdes. La spermiogenèse est la différenciation morphologique de spermatides issues de la deuxième division méiotique en spermatozoïdes. C'est une étape essentielle dont dépend, dans une large mesure, la qualité finale des gamètes La spermatide, cellule sphérique possédant un noyau

sphérique (**Johnson, 1991 ; Noakes et al. 2001**) se transforme en une cellule possédant une tête aplatie avec un noyau condensé et une queue nécessaire à la motilité (**Johnson, 1991 ; Baril et al., 1993**). La libération du spermatozoïde dans la lumière des tubes séminifères est l'étape finale de la spermatogénèse.

II.2.1.2.b. Le cycle spermatogénique :

Il est considéré comme étant la succession des différents stades, depuis la première division d'une spermatogonie souche, jusqu'à la libération dans la lumière du tube séminifère des spermatozoïdes auxquels elle a donné naissance. L'appréciation de sa durée chez une espèce donnée est de 49 jours (**Bonnes et al. 2005**). La durée du cycle est caractéristique pour chaque espèce. (**Johnson, 1991 ; Baril et al. 1993**).

II.2.1.2.c. Le cycle de l'épithélium séminifère :

Le cycle de l'épithélium des tubes séminifères est défini comme étant les séries des changements dans une portion de l'épithélium du tube séminifère (série complète d'associations cellulaires) entre deux apparitions du même stade de développement. (**Johnson, 1991**).

Chaque série complète d'associations cellulaires est appelée «cycle de l'épithélium séminifère ». La durée du cycle de l'épithélium séminifère est en moyenne 10,4 jours chez les ovins (**Johnson, 1991**). Le nombre de stades ainsi que la durée relative de chacun, varie avec l'espèce (**Amann et Schanbacher, 1983 ; Johnson, 1991**). En absence de détermination directe de la durée du cycle spermatogénétique, il est considéré selon (**Johnson, 1991**), comme étant 4,5 fois la durée du cycle de l'épithélium pour une espèce donnée « $10,4 \times 4,5 = 46,8$ jours » (**Amann, 1986 cité par Johnson, 1991**). La spermatogénèse se déroule à la fois de la périphérie des tubes séminifères vers le centre et en spirale le long du tube (**Cheuremont, 1975 cité par Bahhar, 1998**). Les ondes spermatogénétiques fonctionnent comme un mécanisme permettant de:- assurer une libération constante de spermatozoïdes.

- réduire la compétition des hormones et des métabolites utilisés à un stade donné.
- réduire la congestion des tubes séminifères due au déroulement de la spermatogénèse le long des tubes séminifères pour assurer le transport des spermatozoïdes et des hormones nécessaires au fonctionnement de l'épithélium.
- faciliter la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme grâce à un apport constant de spermatozoïdes et de liquides en performance des testicules. (**Johnson, 1991**).

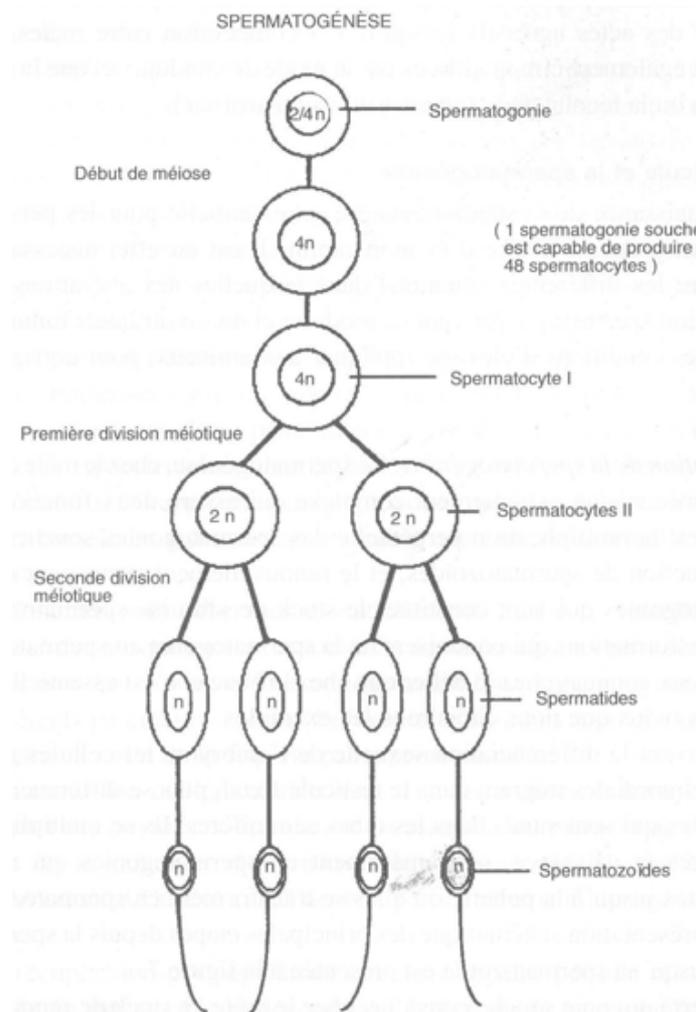


Figure n°5 :Spermatogénèse chez les ruminants d'après (Baril et al. 1993)

II.2.2. Régulation hormonale de la fonction testiculaire :

Dans le testicule adulte, il existe des corrélations positives entre le nombre de cellules de Sertoli et la production spermatique. Les cellules de Sertoli soutiennent et communiquent avec les cellules germinales. Elles créent une barrière, entre le sang et le testicule, qui maintient un milieu spécifique à l'intérieur des tubes, et elles synthétisent des produits nécessaires aux processus spermatogénétiques ou à la maturation épидидymaire. Les cellules de Sertoli sécrètent le fluide tubulaire qui transporte les spermatozoïdes jusqu'au rete-testis, avec un des métabolites (inositol, pyruvate ou lactate) et des protéines. « Androgen Binding Protein, inhibine, etc. ». (Baril, et al., 1993).

Le contrôle des fonctions testiculaires repose sur la relation hormonale entre le système nerveux central et les gonades « hypothalamus-hypophyse-testicule », il est assuré à la fois par les hormones gonadotropes et stéroïdiennes (Amann et Schanbacher, 1983), ayant pour origine le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules. (Bonnes et al. (2005)

II.2.2.1. Le rôle des gonadotropines :

Les neurones hypothalamiques produisent de la GnRH « LHRH » ; une neuro-hormone de nature peptidique « Gonadotropin Releasing Hormone », qui sera libérée dans le système vasculaire porte, où la GnRH interagit avec ces récepteurs trouvés sur la surface des cellules gonadotropes (**Adams, 2005**). Cette hormone hypothalamique stimule la synthèse et la libération des hormones gonadotropes hypophysaires « la FSH et la LH ». (**Adams, 2005 ; Bonnes et al., 2005**). La « follicul stimulating hormone » et la « lutéinisant hormone » présentent selon (**Johnson, 1991**) deux sites d'actions au niveau testiculaire, il s'agit respectivement des cellules de Sertoli et de Leydig. Les cellules de Sertoli sont les seules cellules testiculaires possédant des sites d'action pour la FSH radioactive (**Amann et Schanbacher, 1983**). Alors, que des récepteurs spécifiques à la LH apparaissent sur les cellules de Leydig (tissus interstitiel) avant la naissance (**Levasseur, 1979**). Ces deux gonadotropines utilisent le système d'AMP cyclique et leurs activités biologiques sont toujours associées et synergiques (**Short, 1973 ; Desjardins, 1978**).

La FSH ou follitropine ou hormone folliculo-stimulante; stimule le développement des tubes séminifères et l'activité spermatogénétique (**Vaissaire, 1977 ; Bonnes et al. 2005**). L'action de la FSH sur la spermatogenèse est indirecte mais, elle agit directement sur les cellules germinales (**Amann et Schanbacher, 1983**). Elle stimule directement, les cellules de Sertoli pour leur fonction de soutenir le développement des cellules germinales (**Johnson, 1991**).

Selon (**Desjardins, 1978**) L'interaction entre la FSH et les cellules de Sertoli résulte en l'augmentation de l'AMPc intracellulaire. Cette dernière induit l'activation des protéines Kinases et la synthèse de l'ARNm et de protéines spécifiques. Il s'agit de la production de l'ABP (androgen binding protein) ou protéine liant les stéroïdes androgènes (**Rieutort, 1995**), qui sert à atténuer les changements de concentration de la testostérone et participe aussi à son transport (**Amann et Schanbacher, 1983**). L'inhibine, autre produit des cellules de Sertoli, inhibe en retour la synthèse (**de Krester, 1984 ; Hadley, 1992 ; Noakes et al. 2001**) et la libération de la FSH à partir de l'antéhypophyse (**Tilbrook et al. 1993 cité par McKeown et al. 1997**). L'inhibine joue un rôle important dans la régulation de la fonction testiculaire et de l'activité spermatogénétique à travers la suppression sélective de la concentration de la FSH dans le sang périphérique, sans altérer la sécrétion de la LH (**McKeown et al., 1997**). La LH libérée ou ICSH « interstitiel cell stimulating hormone » ; stimule la synthèse d'androgènes par les cellules de Leydig (**Bonnes et al., 2005**), qui produisent de la testostérone sous contrôle de la prolactine. (**Johnson, 1991**). En effet, la testostérone présente des récepteurs au niveau des cellules de Leydig (**Desjardins, 1978; de Krester, 1984**) et agit en synergie avec la LH et avec d'autres hormones telles que les substances paracrines sécrétées par les tubes séminifères sur la spermatogenèse (**Amann, 1989 cité par Johnson, 1991**).

(Desjardins, 1978), suggèrent que la prolactine agit au même temps avec la LH dans la régulation de la stéroïdogenèse. L'hypophysectomie entraîne une perte des récepteurs testiculaires pour la LH chez le rat et l'administration de la LH et/ou la FSH ne rétablit pas ces récepteurs (Hadley, 1992) ni même la concentration de la testostérone (Vaissaire, 1977). La preuve selon (Hadley, 1992) est que l'inhibition de la sécrétion de la prolactine entraîne une diminution du nombre de récepteurs testiculaires pour la LH, alors que l'inhibition de la sécrétion de la LH ou de la FSH reste sans effet sur le nombre de ces récepteurs. Par conséquent, toutes ces observations laissent suggérer que la prolactine joue un rôle important dans la régulation du nombre de récepteurs de la LH au niveau des testicules.

II.2.2.2 Le rôle des stéroïdes sexuels : La testostérone est produite par les cellules de Leydig en réponse à LH. Il a été clairement démontré que la testostérone joue un rôle essentiel dans l'initiation de la spermatogenèse au moment de la puberté et dans le maintien de la spermatogenèse chez l'adulte. Les récepteurs à la testostérone et à FSH sont localisés au niveau des cellules de Sertoli (Desjardins, 1978). L'ABP produit par les cellules de Sertoli se lie à la testostérone (Bonnes et al., 2005). Ainsi, un mécanisme de séquestration pour la testostérone se produit. (Hadley, 1992). L'ABP permet même de transporter la testostérone jusqu'à l'épididyme. (Baril et al., 1993).

Les concentrations testiculaires en testostérone sont très élevées d'ailleurs la diminution expérimentale de la production de testostérone chez le rat induit une augmentation de l'apoptose des cellules germinales, ce qui suggère le rôle de facteur de survie cellulaire de la testostérone. (Baril, et al., 1993). Les approches expérimentales développées pour étudier le contrôle endocrinien de la spermatogenèse reposent sur des expériences d'hypophysectomie. L'inconvénient de cette approche est la suppression concomitante des sécrétions de FSH, LH et de testostérone et l'impossibilité d'isoler l'effet d'une hormone. Les méthodes d'immunisation contre le GnRH ou FSH ont également été développées. Ainsi, l'immunisation contre le GnRH induit une altération réversible de la spermatogenèse restaurée par l'administration de testostérone. (Baril, et al., 1993). La testostérone et l'oestradiol inhibent la sécrétion de LH en exerçant un rétrocontrôle négatif au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse et affectent peu la sécrétion de FSH. La testostérone est concentrée dans le liquide interstitiel qui baigne les cellules de Leydig et dans le liquide des tubes séminifères. Les concentrations testiculaires de testostérone sont très supérieures à celles du sérum. Le maintien de ces concentrations pourrait être lié à la sécrétion d'une ABP par les cellules de Sertoli. Une étude expérimentale chez le rat dont la sécrétion endogène de testostérone était supprimée par l'administration de testostérone à différentes doses a montré que la production de spermatozoïdes augmentait avec la concentration testiculaire de testostérone et atteignait un plateau pour une valeur seuil de cette concentration. (Baril, et al., 1993)

III. Puberté et photopériodisme :

III.1. La puberté :

La puberté peut être définie comme l'âge et le poids auxquels les animaux sont capables de se reproduire, c'est une phase à partir de laquelle l'animal sera capable de se reproduire. (Luquet et al., 1978). Elle reflète un développement morphologique, physiologique et comportemental. (Brown, 1994 ; Ebling, 2005). Dans les deux sexes, la puberté est, en général, précédée d'une période de quelques semaines, appelée période prépubère, pendant laquelle une stimulation externe peut provoquer l'apparition de la puberté. Chez les ovins, l'achèvement de la spermatogénèse, (Courot, 1962) et la présence de spermatozoïde au niveau des tubes séminifères (Herrera-Alarcon et al. 2007) ou au niveau de l'épididyme (Dyrmundson et Lees, 1972 ; Abdel Rahim et al. 1989) ont été considérés comme les premiers signes de la puberté.

On considère généralement qu'un animal est pubère dès que les premiers signes de l'activité sexuelle sont visibles (Bonnes et al. 2005) et que les premiers spermatozoïdes apparaissent dans l'éjaculat (Skinner et Rowson, 1968 ; Stabenfeldt, 1992). En outre, la présence de spermatozoïdes mobiles (Olster et foster, 1986 ; Chakraborty et al. 1989 ; Abdel Rahim, 1997 ; Derqaoui et al., 2009), avec au moins 10% de spermatozoïdes mobiles (Aman et Schanbacher, 1983 ; Mukasa-Mugerwa et Ezaz, 1992) ou même plus de 30% spermatozoïdes mobiles (Kridli et al., 2006 a) étaient retenus pour marquer la transition de la phase pré-pubertaire à la phase pubertaire.

III.1.1. Le développement testiculaire

III.1.1.1. Le développement macroscopique

A la naissance, le poids des testicules varie de 2 à 30 g selon l'espèce et la race (Baril et al. 1993). Il est plus en liaison avec le poids corporel qu'avec l'âge des animaux pendant la première période de croissance lente des testicules (Courot, 1962).

L'épididyme suit la même tendance que celle du testicule (Noakes et al. 2001).

Le poids de l'épididyme est plus corrélé au poids testiculaire qu'au poids corporel ou à l'âge (Orji et Steinbach, 1976). Non seulement le poids mais les autres paramètres testiculaires tels que le volume et la circonférence scrotale sont plus corrélés au poids corporel et à l'âge physiologique qu'à l'âge chronologique (Orji et Steinbach, 1976 ; Abdel Rahim et al., 1989). D'ailleurs, la circonférence scrotale et le volume testiculaire augmentent 2 à 4 fois plus que le poids vif durant la première année de vie chez les agneaux (Emsen, 2005). La circonférence scrotale est corrélée au poids vif des agneaux (Courot, 1971 ; Benseghir, 1978 ; Abdel Rahim et al., 1989 ; Adam et Findlay, 1997 ; Rege et al., 2000 ; Toe et al., 2000 ; Salhab et al., 2001 ; Karakus et al., 2010), lui-même est corrélé à l'âge à la puberté (Mukasa-Mugerwa et Ezaz, 1992 ; Hassan et al., 1993 ; Kumar et al., 2010 a ; Jafariahngari et al., 2012 ; Martinez et al., 2012). Elle est aussi corrélée à

l'âge de la puberté donc, en absence de mesure du poids des agneaux et lorsque les pesées font défaut, le diamètre testiculaire peut être utilisé comme indicateur de la puberté. (**Mukasa-Mugerwa et Ezaz (1992)**).

III.1.1.2. Le développement microscopique :

A la naissance, les tubes séminifères sont petits et sans lumière central (**Barone, 1990 ; Herrera-Alarcon et al. 2007**) en forme de cordes solides (**Dufour et al.,2002 ; Herrera-Alarcon et al.,2007**). Ils sont appelés ainsi cordons sexuels (**Courot, 1962**). Entre lesquels se répartissent les cellules de soutien « cellules de Sertoli ». (**Desjardins, 1978**).

Au centre des tubes séminifères s'observent les gonocytes ; les seules cellules germinales observées à la naissance, entourées par les cellules de Sertoli (**Courot, 1962 ; Herrera-Alarcon et al. 2007**).

Quelques semaines après la naissance « 3 à 6 semaines », certaines gonocytes migrent déjà vers la membrane basale et se transforment en spermatogonies (**Herrera-Alarcon et al. 2007**) et on observe des stades cytologiques de transition entre gonocytes et spermatogonies (**Courot, 1962**).

Les cellules de Sertoli se prolifèrent au maximum chez le fœtus, mais elles continuent à se proliférer à la naissance (**Courot, 1962 ; Franca et al. 2000 cité par Dufour et al. 2002**) et cessent de se multiplier après la puberté (**Franca et al. 2000 cité par Dufour et al. 2002**). Apparemment, la population de cellules de Sertoli se stabilise après. Cette croissance est importante chez le mâle et conditionne la capacité ultérieure des testicules adultes de produire des spermatozoïdes (**De Reviers et al. 1980 ; Dufour et al.,2002**). Ce stock est sous contrôle des gonadotropines et de la photopériode avant la puberté (**De Reviers et al. 1980**).

Les cellules de Leydig sont fonctionnelles même en stade précoce de gestation et régressent durant les phases finales de gestations et même après la naissance, puis elles deviennent fonctionnelles avant l'installation de la spermatogenèse et de la puberté. (**Desjardins, 1978 ; Amann et Schanbacher, 1983 ; Hooker, 1970 cité par Johnson, 1991**). Elles augmentent de 7 fois le nombre, entre 25 et 100 jours d'âge après la naissance. (**Chandolia, 1996**). La lumière des tubes séminifères commence à apparaître pour la première fois vers l'âge de 4 mois. (**Herrera-Alarcon et al. 2007**). L'élargissement de la lumière des tubes séminifères est responsable selon (**Courot, 1962**) de la part essentielle de l'augmentation du poids des testicules. Chez les petits ruminants, l'activité spermatogénétique est fortement corrélée à la taille testiculaire (**Yarney et al. 1990 ; Yarney et Sanford, 1990**). Elle est même corrélée au poids et aux mensurations testiculaires avant la puberté (**Yarney et al. 1990**).

III.1.2. L'évolution des caractéristiques séminales :

L'éjaculat récolté chez les petits ruminants reflète l'évolution des processus qui conduisent à sa production. Au fur et à mesure, que les agneaux grandissent, un grand nombre de globules apparaît

vers l'âge de 84 jours, donnant un aspect plus consistant et trouble aux éjaculats ainsi collectés ressemblant à celui des éjaculats contenant des spermatozoïdes. **(Skinner et Rowson, 1968)**.

L'apparition des globules dans les éjaculats coïncide avec le moment d'élargissement de la lumière des tubes séminifères de 70 à 84 jours d'âge. **(Skinner et Rowson, 1968)**. A ce stade de développement, le fructose et l'acide citrique augmentent considérablement dans l'éjaculat et par conséquent, les globules peuvent émaner des conduits « tubes séminifères et épидидyme ». **(Skinner et Rowson, 1968)**.

Les éjaculats collectés au moment de la puberté ont des concentrations, des motilités, des pourcentages de spermatozoïdes vivants et morphologiquement normaux particulièrement faibles. **(Kridli et al. 2006 a)**. Ce n'est qu'après, que le nombre total de spermatozoïdes et la concentration augmentent au même temps que l'amélioration de la motilité et la réduction du nombre de spermatozoïdes anormaux. **(Skinner et Rowson, 1968)**. Ce qui laisse penser selon **(Rege et al. 2000)**, qu'au début, l'environnement épидидymaire est loin d'être optimal pour la maturation des spermatozoïdes et l'acquisition de leurs motilités.

III.2. Effets de la photopériode sur l'activité de reproduction :

La photopériode est le principal facteur de l'environnement qui détermine, en majeure partie, le début ou l'arrêt de la saison de reproduction chez les ovins. En général, les jours longs (JL) sont inhibiteurs de l'activité sexuelle alors que les jours courts (JC) sont stimulateurs **(Malpaux et al., 1996)**. Dans les deux sexes, l'activité gonadique et le comportement sexuel varient avec la durée du jour. Les autres facteurs de l'environnement, comme la température, le régime alimentaire ou les facteurs sociaux, agissent comme des modulateurs de l'activité sexuelle. Les ovins sont qualifiés de reproducteurs en jours courts, l'augmentation de la durée de la phase obscure du rythme nyctéméral entraîne une décharge de la mélatonine pendant l'obscurité, cette hormone sécrétée par la glande pinéale est responsable de la traduction du message lumineux chez les animaux **(Goodman et al., 1982 ; Cameron., 2008)**, en agissant au niveau central sur l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire elle augmente la pulsativité de LH et ainsi la production d'androgènes **.(Malpaux et al, 1996 ; Locatelli et Mermillod, 2005)**. Chez le bélier, les variations saisonnières de la spermatogénèse se traduisent par des modifications du volume et du poids des testicules qui reflètent l'activité spermatogénétique **(Dacheux et al 1981 ; Baril et al., 1993 ; Meyer, et al., 2004)**, et de la sécrétion de testostérone qui a des conséquences sur le comportement sexuel **(Rouger 1974, Ortavant et al 1988 ; cités par (Thimonier et al., 2000)**. Par exemple chez le bélier Soay, une race très primitive du Nord de l'Ecosse, la taille testiculaire, la concentration plasmatique, en FSH et en testostérone, ainsi que la libido et le comportement d'agressivité, atteignent leur maximum entre août et décembre, saison du «rut» chez cette race **(Lincoln 1979 ;**

cité par Chemineau et al., 2009). Chez le bélier Ile-de-France, le poids testiculaire et la production de spermatozoïdes par testicule « mesuré directement à la sortie de celui-ci », varient, respectivement, de moins de 200g et 1 milliard par jour en mars, jusqu'à plus de 300 g et 5 milliards par jour en septembre (**Ortavant et al., 1985 ; cité par Chemineau et al., 2009**). Toutefois, contrairement à ce que l'on observe pendant l'anoestrus saisonnier des brebis, l'activité sexuelle des mâles n'est jamais nulle. Un bon niveau d'activité sexuelle peut même être maintenu par un entraînement régulier « pratiqué en particulier dans les centres d'insémination » (**Boukhliq 2002**). En effet sous les latitudes moyennes et élevées, la spermatogénèse ne s'arrête pas, mais en dehors de la saison sexuelle, la fréquence des spermatozoïdes porteurs d'anomalies morphologiques augmente (**Folch, 1984**), et le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat diminue plus rapidement avec le numéro d'ordre des éjaculats successifs, que pendant la saison sexuelle (**Baril et al., 1993**). Pour nos races ovines locales, (**Chellig, 1992, Mehouchi, 1995 et Boudjenane, 2004**) trouvent que la plupart des femelles sont en activité sexuelle entre les mois de Mai et Décembre, pour les mâles la saisonnalité de l'activité sexuelle est peu marquée, et les béliers sont capables de produire de la semence durant toute l'année, cependant des variations quantitatives et qualitatives ont été observées (**Mehouchi, 1995 ; Ghozlane et al., 2005 ; Boucif, et al. 2007**).

IV. Etude de la fonction spermatique :

IV.1. Morphologie des spermatozoïdes :

Le spermatozoïde : c'est une toute petite cellule reproductrice mâle mobile, intervenant dans la reproduction sexuée. Les spermatozoïdes matures sont constitués de deux grandes parties : la tête et le flagelle, reliés par une pièce connectrice (col ou collet). Le volume du cytoplasme est très réduit. **(Encyclopédie libre)**.

La tête est constituée essentiellement du noyau, qui renferme sous une forme extrêmement condensée le matériel génétique (ADN), et de l'acrosome, qui contient des enzymes permettant au spermatozoïde de traverser la zone pellucide de l'ovocyte pour le féconder. Le flagelle est constitué d'un filament axial ou axonème ; dans la première partie du flagelle (pièce intermédiaire), l'axonème est entouré de mitochondries qui fournissent l'énergie nécessaire à ses mouvements ; dans la deuxième partie (pièce principale), il n'est plus entouré que d'un réseau de fibres denses, qui disparaît à son tour dans la troisième partie (pièce terminale). **(Encyclopédie libre)**. A la sortie du testicule, le cou de la plupart des spermatozoïdes porte une gouttelette cytoplasmique qui migre, pendant le transit épидидymaire, jusqu'à la partie distale de la pièce intermédiaire de laquelle elle est ensuite éliminée. Une gouttelette en position proximale signifie souvent la présence d'un défaut de maturation épидидymaire. **(Baril et al. 1993)**.

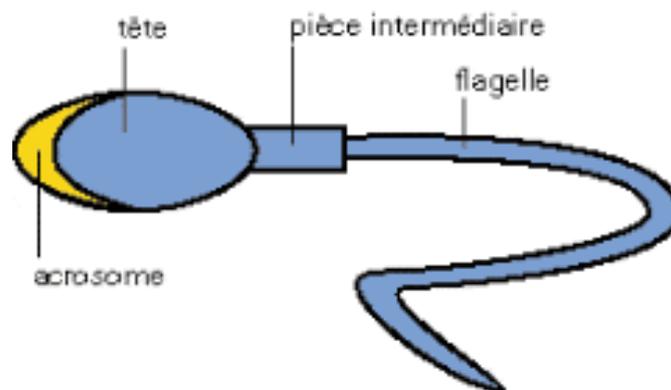


Figure n° 6 : Anatomie du spermatozoïde(photo personnelle).

La motilité des spermatozoïdes est généralement assurée par les mouvements ondulatoires d'un flagelle. Chez les mammifères, la motilité des spermatozoïdes est augmentée lors de la capacitation dans les voies génitales femelles. La progestérone produite par les cellules folliculaires (corona radiata) autour de l'ovocyte augmente également leur motilité en faisant rentrer des ions Ca^{2+} dans le cytoplasme des spermatozoïdes, en ouvrant un canal calcique appelé CatSper¹. **(Encyclopédie libre)**.

IV.2. Collecte de la semence :

La collecte des spermatozoïdes épididymaires, pour l'étude de la fonction spermatique ovine est réalisée sur des organes prélevés après castration ou abattage de l'animal. Les volumes de liquide obtenus varient de 0,8 à 2,5ml avec une concentration moyenne des gamètes de 8×10^9 spz.ml⁻¹ pour les béliers. (Yvon GUÉRIN 2003).

IV.3. Examen du sperme :**IV.3.1. Méthode classique :**

Classiquement, la détermination de la qualité du sperme en suppose le prélèvement préalable et ensuite l'évaluation de divers paramètres d'examen macroscopique, microscopique ou biochimique de valeur inégale dont seule la concordance permet de tirer des conclusions valables. (Ch. Hanzen 2010).

IV.3.1.1 Examens macroscopiques :**IV.3.1.1.a. Volume :**

La quantité de sperme varie selon les espèces et pour une espèce donnée, selon l'état physiologique de l'individu, l'âge, la saison, les méthodes de récolte, la race ou encore les conditions sanitaires et alimentaires, chez le bélier, le volume du sperme varie de 0,5 à 2ml avec une moyenne de 0,8ml et une concentration de 2×10^6 à 3×10^6 spz /mm³. On distingue habituellement les espèces à insémination de type utérin (cheval, porc, chien) et les espèces de type vaginal (ruminants, lapin). Chez les premières, le sperme est abondant et peu concentré tandis que l'inverse est vrai pour les espèces du second groupe. (Ch. Hanzen 2009).

IV.3.1.1.b. Aspect, couleur et consistance :

Le sperme normal est un liquide crémeux, épais, de couleur blanchâtre. (Ch. Hanzen, 2009). En général plus le sperme est blanc et visqueux, plus sa concentration en spermatozoïdes est élevée.

Par exemple chez le bélier :

- sperme crémeux épais correspond à une concentration de 5×10^9 spz/ ml,
- Sperme laiteux correspond à 2×10^9 spz/ ml,
- Sperme trouble correspond à 0.7×10^9 spz/ ml (Douet 2000).

IV.3.1.1.c. Viscosité :

elle dépend de la concentration en spermatozoïdes, et de sa conductibilité électrique c'est-à-dire de sa concentration en ions. (Ch. Hanzen 2009).

IV.3.1.1.d. Poids spécifique :

dépend du rapport entre la concentration en spermatozoïdes et le volume du plasma séminal. (Ch. Hanzen 2009). Les variations de ce paramètre sont en relation avec le nombre des spermatozoïdes mûrs (plus lourds) et immatures (plus légers). (Eduardo Villena et al 2003).

IV.3.1.2. Examen microscopique du sperme :

Comme son nom l'indique, cet examen fait principalement appel au microscope.

IV.3.1.2.a. Détermination de la motilité massale :

La motilité du spermatozoïde est due à la contraction du filament axial. La progression des spermatozoïdes est habituellement rectiligne. Au cours de leur déplacement, ils subissent une rotation autour de leur grand axe. Dans la queue de l'épididyme, les spermatozoïdes sont immobiles. Leur motilité dépend de leur présence dans un milieu de pH et de température normale, renfermant en quantités adéquates nutriments et ions, conditions offertes une fois qu'ils sont présents dans les sécrétions séminales. **(Ch. Hanzen 2009)**.

La motilité massale dépend essentiellement de trois facteurs : la concentration, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et de la vitesse de déplacement des spermatozoïdes. Ils doivent être pris en considération dans l'interprétation du score de la motilité massale.

L'intensité et le nombre des mouvements se traduisent par de véritables vagues observables après dépôt d'une goutte de sperme sur une lame préchauffée et son examen au faible grossissement si possible au moyen d'un microscope à contraste de phase. **(Ch. Hanzen 2009)**. on observe le mouvement de l'ensemble des spermatozoïdes qui forment des tourbillons plus ou moins rapides **(Eilts 2004)**. Ceux-ci sont notés subjectivement sur une échelle de 0 à 5 **(Douet 2000)**.

- Mouvements tourbillonnaires : 5.
- Mouvements amples et rapides: 4.
- Mouvements limités: 3.
- Mouvements faibles: 2.
- Mouvements très légers: 1.
- Pas de mouvements: 0.

IV.3.1.2.b. Détermination de la motilité individuelle :

Une goutte de sperme est placée entre lame et lamelle sur la platine à 37°C du microscope, on observe, au fort grossissement (x40), individuellement les spermatozoïdes, l'intensité, la rapidité et la trajectoire de leurs mouvements. On peut ainsi apprécier d'une manière subjective, le pourcentage de spermatozoïdes vivants ou morts, fléchant ou tournant en rond. Cet examen peut se faire également après dilution et refroidissement pour juger dans le temps, le comportement et la résistance des spermatozoïdes. Lacroix (1976), **(Douet 2000)**.

Les taux de spermatozoïdes morts ou anormaux acceptables dans le sperme devraient se situer entre 20 et 26%. **(Colas et al. 1975 ; Colas 1980 ; Fantodji, et al., 2009)**. Il est aussi possible de réaliser une estimation objective de la motilité par ordinateur (C.A.S.A). Cette analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes permet une mesure plus fine des mouvements puisqu'il est possible,

avec cette méthode, d'identifier chaque spermatozoïde et de suivre son déplacement. (**Kumar, et Naqvi2010**).

Un sperme de très bonne qualité 4 doit posséder au moins 80 à 100 % de spermatozoïdes mobiles. Un sperme de bonne qualité 3 aura 60 à 79 % de spermatozoïdes mobiles. Un sperme de qualité correcte 2 aura 40 à 59 % de spermatozoïdes mobiles et enfin un sperme de faible qualité 1 aura moins de 40 % de spermatozoïdes mobiles. L'examen de la motilité individuelle est intéressant car il fournit indirectement des informations intéressantes sur l'intégrité de la membrane du spermatozoïde et son intégrité morphologique. Ainsi un pourcentage élevé de spermatozoïdes mobiles joint à un pourcentage élevé de spermatozoïdes morts donnera à penser à une mauvaise manipulation du sperme plus qu'à un sperme normal. De même une faible motilité est souvent corrélée avec un pourcentage élevé de formes anormales ou de spermatozoïdes morts. (**Ch. Hanzaen2009**).

IV.3.1.2.c. Détermination de la concentration :

La concentration exprime le nombre de spermatozoïdes par mm³ (ou par ml). Elle peut être déterminée directement par comptage des spermatozoïdes au moyen d'une cellule hématimétrique ou indirectement par comparaison visuelle du sperme à des solutions standard, par comptage électronique ou encore par néphélométrie (ou néphélémétrie). Cette méthode est universellement utilisée dans les centres d'IA. Elle consiste à apprécier la concentration en spermatozoïdes en évaluant l'opacité de la suspension au moyen d'un spectrophotomètre ou d'un colorimètre. Cette opacité peut cependant être indirectement augmentée suite à la présence de débris cellulaires. (**Ch. Hanzen2009**). Le comptage direct des spermatozoïdes au moyen d'une cellule hématimétrique est possible cela suppose une dilution préalable. Ce comptage est très précis, mais nécessite beaucoup de temps. (**Hafez et Hafez 2000, cités par Bester.2006**). La concentration du sperme de bélier varie de 1 à 6 milliards de spermatozoïdes par millilitre. En dessous de 2 milliards, l'échantillon est rejeté, les quantités de dilueur à ajouter deviennent alors trop faibles pour garantir une bonne conservation des spermatozoïdes (**Sagot, 2009**).

IV.3.1.3. Examen biochimique :

IV.3.1.3.a. pH du sperme : Chez le bélier, le pH normal est légèrement acide 6.85. Il devient alcalin chez les sujets stériles ou peu féconds. Il est corrélé à la concentration et à la vivacité du sperme, plus un sperme est concentré, plus son pH est acide et peut atteindre 5.9. (**Derivaux et Ectors.1989**).

IV.3.2. Autres méthodes :

IV.3.2.1 Le système d'analyse C.A.S.A :

Le Sperm Class Analyzer® est un système CASA (Computer Assisted Semen Analysis), qui permet de réaliser une analyse automatique et objective de la concentration, de la mobilité et morphologie, de la fragmentation d'ADN et de la vitalité du sperme. Les principaux avantages obtenus avec l'utilisation de ce système sont :

- Une grande précision dans l'analyse.
- Standardisation du résultat, impossible avec une analyse subjective.
- Fiabilité des résultats.
- Analyses rapides et gestion de l'information obtenue.

Aujourd'hui, les systèmes employés sont le système IVOS®, le système SM-CMA et le « Hobson SpermTracker ». Le système IVOS® a été développé en 1992 par Hamilton-Thorn. Il présente les innovations suivantes : un éclairage stroboscopique par illumination diode pour produire des images nettes et plus précises, un système d'enregistrement pour favoriser le suivi de l'analyse du sperme, une classification automatisée des mouvements des spermatozoïdes et l'utilisation facultative d'une illumination fluorescente et d'un fluorochrome de l'ADN spermatique afin de distinguer les cellules de tout autre objet ambigu.

Le système SM-CMA a été développé dans le début des années 90. Il est le seul système à pouvoir détecter la pièce intermédiaire du spermatozoïde pour déterminer si l'objet immobile est bien un spermatozoïde intact ou pour distinguer la trajectoire propre à deux cellules qui se croisent ou se trouvent dans une région floue et incertaine. Le « Hobson SpermTracker » a été introduit dans le milieu des années 90. (Amann et Katz 2004).

L'analyse informatique des spermatozoïdes est principalement réservée au monde de la recherche où la standardisation, l'exactitude et la précision sont des conditions indispensables à l'obtention de mesures expérimentales. L'intérêt de l'utilisation d'un analyseur CASA dans un environnement commercial, comme un hôpital vétérinaire ou un centre de reproduction en équine, est sa capacité à recueillir des résultats objectifs sur la mobilité. Une incertitude existe cependant encore sur la relation entre la fertilité et les valeurs obtenues par le CASA.

Par ailleurs ces instruments permettent de sélectionner des caractéristiques diverses (fréquence et durée des prises d'images, valeur seuil démarquant la présence de mouvement, progression des mouvements, mesures de vitesse, taille et luminosité des têtes des spermatozoïdes) afin d'optimiser la capture des spermatozoïdes et de minimiser celle d'objets inertes. Chaque manipulation est importante pour améliorer la précision et la répétabilité des mesures données par les laboratoires. (Jasko, et al. 1990, Wessel, Althouse. 2006).



Figure n°7 : La clé USB du logiciel CASA



Figure n°8:Microscope avec camera intégré

I. Matériel et Méthodes

I.1. Le matériel

I.1.1. Le matériel animal

L'étude a porté sur 24 béliers de 12 mois d'âge, de la race Ouled djellal, c'est la principale race ovine en Algérie, exploitée pour sa meilleure qualité de viande. (Trouette, 1933; Sagne, 1950; Chellig, 1992; Dekhili, 2002).

Pour l'ensemble des expériences du travail présenté, les spermatozoïdes épидидymaires d'ovins ont été recueillis sur des organes prélevés après abattage de l'animal à l'abattoir de Mouzaia de la wilaya de Blida.

Les 24 testicules étudiés ont été ramenés au laboratoire réparti en 4 groupes :

Grp 1 : testicules examinés 3 heures après l'abattage des animaux.

Grp 2 : testicules examinés 6 heures après l'abattage des animaux,

Grp 3 : testicules examinés 12 heures après l'abattage des animaux

Grp 4 : testicules examinés 24 heures après l'abattage des animaux.

Ces testicules ont été ramenés au laboratoire dans une glacière électrique à 4°C.

I.1.2. Matériel de laboratoire

Le C.A.S.A. (Computer Assisted Sperm Analysis), constitué d'un microscope biologique, une caméra, un ordinateur avec le logiciel d'analyses SCA® installé.

Le bain marie pour maintenir les testicules à + 37°C, l'eau distillée et le NaCl.

L'huile de paraffine, les aiguilles, la pince hémostatique et de l'aluminium.

La plaque chauffante, le vortex, leja slide, les lames et les lamelles.

Les colorants (eosine et nigrosine), les désinfectants, l'eau distillée, les micropipettes, le NaCl, les tubes secs, les embouts, les lames de bistouri, les gants et les éppendorfs.

I.2. Méthodes

I.2.1. Méthode de collecte de la semence

Avant de commencer l'examen, les testicules ont été mis dans un bain marie 12 à 15 minutes.

A l'aide d'une lame de bistouri on a isolé l'épididyme de testicule et perfusé le tubule en sa région caudale à l'aide d'une aiguille insérée dans la lumière du canal déférent. (Figure09).

Le sperme est collecté en incisant l'organe au niveau de la moitié de la région caudale. Méthode décrite par (Guérin et al. (2003)).



Figure n°09 : Technique de collecte du sperme épидидymaire (photo personnelle).

I.2.2. Examen macroscopique de la semence

Cette étape a été effectuée à l'œil nu, pour pouvoir estimer le volume, l'aspect et la couleur de la semence collectée. **Hanzen (2009)**.

Le volume de semence collectée dans ce travail était de 0,4 à 0,6 ml.

Le sperme était de couleur blanchâtre et d'aspect crémeux.

I.2.3. Evaluation de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes

Dans cette étape d'étude on a pratiqué le protocole décrit par **Purdy and Graham, (2004)**.

La semence récoltée a été diluée à 1/9 ml pour avoir 150 à 200 spermatozoïdes/ champs d'observation ou $50 \text{ à } 100 \times 10^6 \text{ spz/ml}$

A l'aide d'une micropipette, on prélève **0,1ml** de la semence diluée à **1/9**, et on la met dans un tube sec, auquel on ajoute **0,3 ml** de NaCl, on mélange le tube au vortex puis on dépose une goutte sur la lame **leja slide** et un examen est effectué grâce au microscope SCA® au grossissement **10×**, à contraste de phase PH 1 négatif. Le microscope est muni d'une plaque chauffante réglée à **37°C**.

I.2.4. Evaluation de la vitalité des spermatozoïdes par l'éosine-nigrosine

C'est un test qui met en évidence l'intégrité de la membrane cytoplasmique des spermatozoïdes. A l'aide d'une micropipette, on prélève **10µl** de la semence diluée à **1/9**, qu'on dépose sur une lame puis on ajoute **10 µl** de l'éosine et **10µl** de nigrosine.

Mélanger, étaler et laisser sécher 2 à 3 minutes.

La lecture se fait au microscope SCA® au grossissement **60×**.

On considère vivant, les spermatozoïdes qui se colorent en blanc et mort ceux qui apparaissent en rose. (Figure 10)

Le protocole de la coloration éosine-nigrosine est le même décrit par **Purdy and Graham, (2004)**.



Figure n° 10 : représente un spermatozoïde mort coloré en rouge et un autre vivant non coloré. (Photo personnelle)

I.3. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été traité par le logiciel CASA.

Toutes les données et analyses statistiques ont été exécutées dans les systèmes d'analyse statistique, StatView®, version 5.0 (SAS Institute Inc., 1998). L'analyse des principaux facteurs de variation des paramètres relatifs à la mobilité ont été réalisée moyennant une analyse des variances (ANOVA).

Les paramètres cinétiques de la mobilité sont :

VLC : Valeur en microns /seconde de la vitesse curviligne des spermatozoïdes

VSL : Valeur en microns / seconde de la vitesse rectiligne des spermatozoïdes

VAP : Valeur en microns / seconde de la vitesse moyenne des spermatozoïdes

ALH : Amplitude du déplacement latéral de la tête des spermatozoïdes par rapport à la trajectoire moyenne en microns/seconde.

BCF : Fréquence de croisement ou fréquence moyenne avec laquelle la trajectoire curviligne du spermatozoïde croise la trajectoire moyenne exprimée en Hz.

STR : Pourcentage de rectitude ou de linéarité de la trajectoire moyenne (VSL / VAP),

LIN : Pourcentage de linéarité de la trajectoire curviligne (VSL / VCL). (**Manuel CASA**).

L'évaluation de la mobilité par SCA se base sur les paramètres suivants :

-aire de particules est comprise entre 3 à 70 μm^2

-classification des spermatozoïdes par type selon que :

- VCL et VAP \leq à 10 $\mu\text{m/s}$: spermatozoïdes lents.
- $10 \leq$ VCL et VAP \leq 45 $\mu\text{m/s}$: spermatozoïdes moyens.
- $45 \leq$ VCL et VAP \leq 75 $\mu\text{m/s}$: spermatozoïdes rapides.

- STR \geq 80% indique une bonne semence.

- LIN \leq 50% indique une bonne semence. (**Manuel CASA**).

II. Résultats et discussion

II.1. La mobilité

La vitesse des spermatozoïdes est l'un des éléments clés dans le processus de fertilisation, qui a été également démontrée dans un grand nombre d'étude (**Gage et al. 2004; Holt et al. 1989**). Les résultats de la mobilité des spermatozoïdes sont résumés dans le tableau 01

Tableau n° 1 : Représente la moyenne \pm l'écart de VCL, VSL, VAP en ($\mu\text{m/s}$), ALH en (μm), BCF en (Hz) et LIN en (%).

temps	VCL	VSL	VAP	LIN (%)	ALH	BFC
T3h	53.4 \pm 28.6 ^a	20,82 \pm 19.3 ^a	31.2 \pm 20.1 ^a	39 \pm 0.27 ^a	2.4 \pm 1.3 ^a	5.7 \pm 3.3 ^a
T6h	45.8 \pm 34.3 ^b	18.6 \pm 23.2 ^b	26.7 \pm 25.4 ^b	33 \pm 29 ^b	2.0 \pm 1.4 ^b	4.6 \pm 3.7 ^b
T12	45.2 \pm 34.1 ^b	16.9 \pm 20.7 ^c	26.8 \pm 24.0 ^b	34 \pm 27 ^b	2.1 \pm 1.4 ^b	4.4 \pm 3.2 ^c
T24	46.1 \pm 35.9 ^b	16.8 \pm 20.2 ^c	26.9 \pm 24.3 ^b	32 \pm 29 ^d	2.3 \pm 1.6 ^c	3.4 \pm 2.9 ^d

VCL, Curvilinear Velocity ; VSL, Straight-Line Velocity ; VAP, Average Path Velocity, (**abcd**) Les différentes lettres à la même colonne indiquent une différence significative entre les quatre temps étudiés ($p \leq 0,05$).

LIN représente le pourcentage de linéarité de la trajectoire curviligne; qui doit être inférieur à 50% (Manuel CASA). C'est l'un des plus important paramètres de mobilité du spermatozoïde, ce dernier doit consommer moins d'énergie pendant son chemin vers l'oviducte et plus précisément l'ampoule pour pouvoir féconder l'ovocyte.

Dans notre étude LIN été de 39 \pm 27% à T3h, valeur est différente de celle présenté par **Avaraz et al. (2012)** qui est de 60,95% \pm 3,11 et celle obtenue par **Garcia-Alvarez et al. (2010)** qui est de 48% \pm 1,03. (Figure : 11)

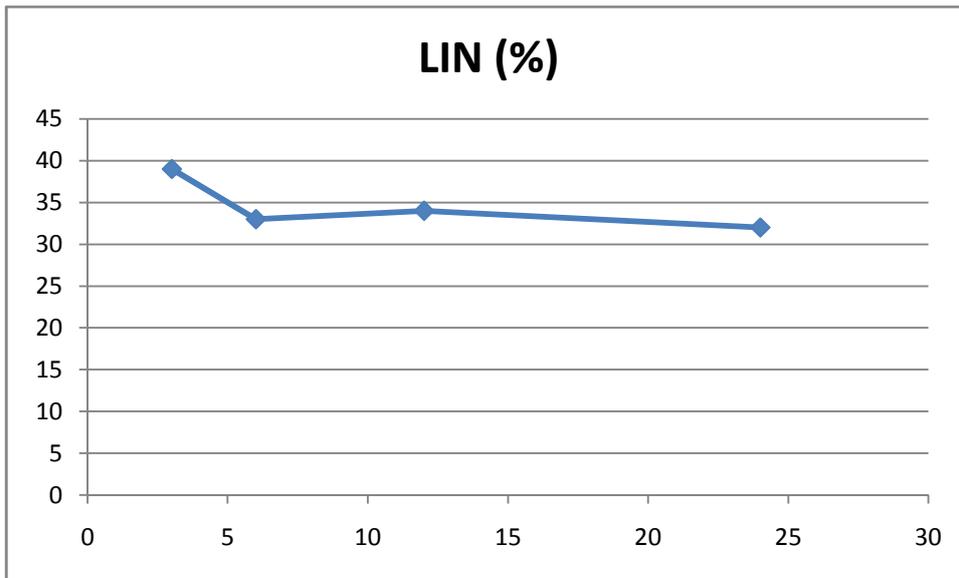


Figure n° 11 : Graphe représentant la LIN par rapport au temps.

La VSL vitesse rectiligne des spermatozoïdes a présenté des valeurs différentes entre les quatre temps étudiés, cette différence est significative. (Figure : 12).

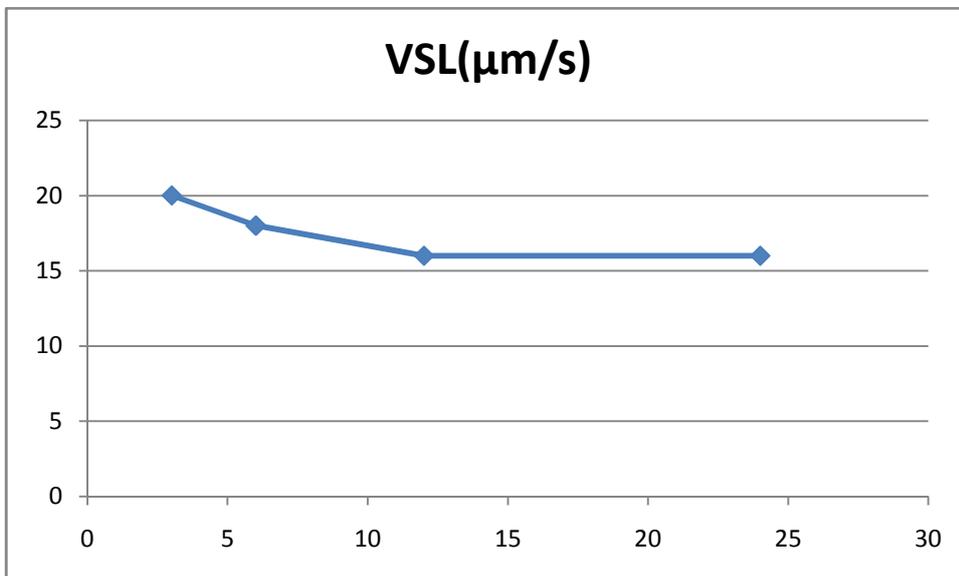


Figure n° 12 : Graphe représentant la VSL ($\mu\text{m/s}$) par rapport au temps.

Les valeurs de la LIN de la VSL sont différentes de celles rapportées par **Avaraz et al. (2012)**, **Garcia-Alvarez et al. (2010)**, et **Del Olmo et al. (2013)**. Ces derniers ont pu récolter

le sperme après avoir disséqué les vaisseaux, et donc ils ont éliminé toute possibilité que le sang « spermicide » soit en contact avec les spermatozoïdes.

VAP vitesse moyenne des spermatozoïdes a montré une valeur de $31.2 \pm 20.1 \mu\text{m/s}$ à T3h, et de $26 \mu\text{m/s}$ à T= 6h, 12h, et 24h. (Figure : 13)

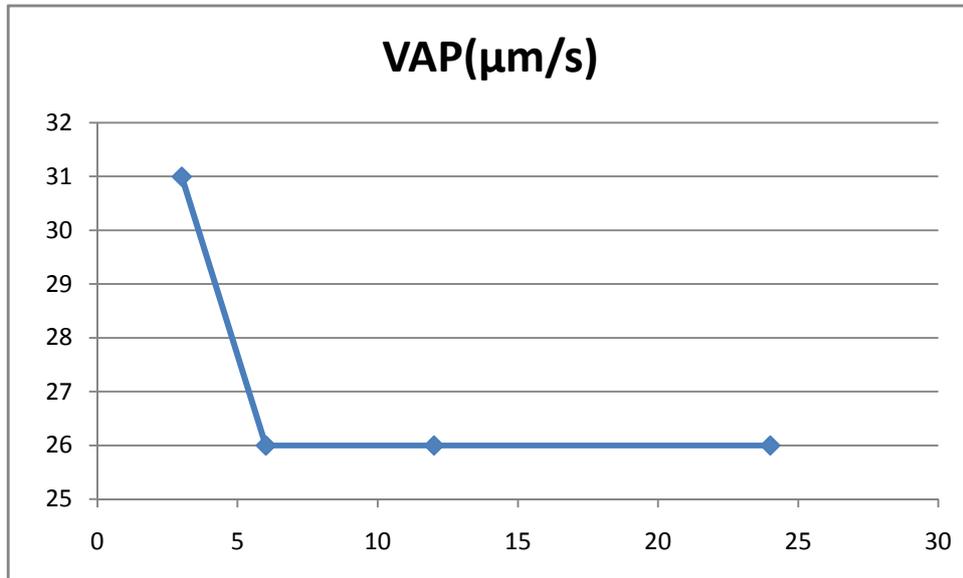


Figure n° 13 : Graphe représentant la VAP ($\mu\text{m/s}$) par rapport au temps.

L'analyse statistique de la vitesse curviligne des spermatozoïdes VCL a présentée une valeur de 53.4 ± 28.6 à T3h, cette valeur est inférieure à celle présentée par **Garcia-Alvarez et al. (2010)**, qui est de $73,87 \pm 87 \mu\text{m/s}$. (Figure : 14).

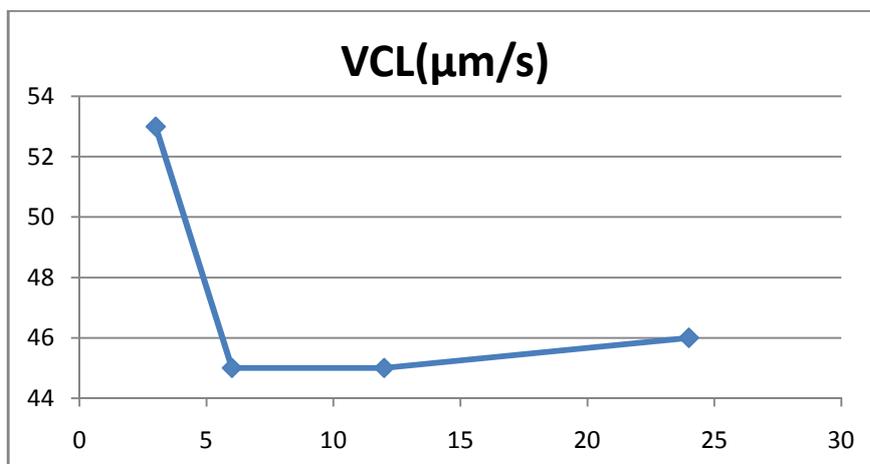


Figure n° 14 : Graphe représentant la VCL ($\mu\text{m/s}$) par rapport au temps.

Ces auteurs ont utilisé le dilueur TTF (Tes-Tris-Fructose) qui a un effet meilleur que le NaCl sur la mobilité des spermatozoïdes.

A savoir que la VCL et la VAP doivent être comprises entre $45\mu\text{m/s}$ et $75\mu\text{m/s}$ pour classer les spermatozoïdes **de rapides**. Et **de moyens** si elles sont comprises entre $10\mu\text{m/s}$ et $45\mu\text{m/s}$. (**manuel CASA**).

Dans notre étude, la VCL et la VAP ont montré une différence significative entre le T3h et les autres temps (6h, 12h et 24h) ; bien que cette différence ne fût pas significative entre les trois dernières périodes.

L'amplitude de déplacement latéral de la tête du spermatozoïde par rapport à la trajectoire moyenne (ALH) est de $2.4\pm 1.3\mu\text{m}$, Hz à T3h, ce résultat est en accord avec celui rapporté par **Garcia-Alvarez et al. (2010)**. Par contre il est inférieur à celui obtenu par **Alvarez et al. (2012)** qui est de $8,32\pm 1,09\mu\text{m}$.

De même, la BFC; fréquence à laquelle la tête du spermatozoïde traverse la trajectoire moyenne est de $5.7\pm 3,3\text{ Hz}$ à T3h. Cette valeur est différente de celle montrée par **Del Olmoa al. (2012)**. Qui de $4,9\pm 0,2$

ALH et BCF ; sont les paramètres cinétiques qui permettent d'avoir une idée sur l'hyperactivité des spermatozoïdes.

Dans notre étude l'ALH et la BFC ont présenté une différence significative entre les quatre temps étudiés, (Figure15et 16).

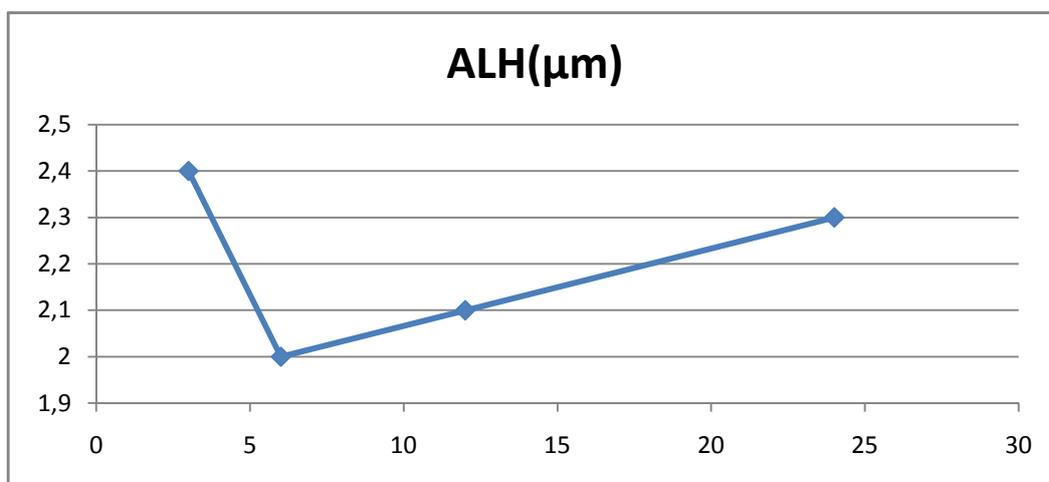


Figure n°15: Graphe montrant la ALH (μm) par rapport au temps

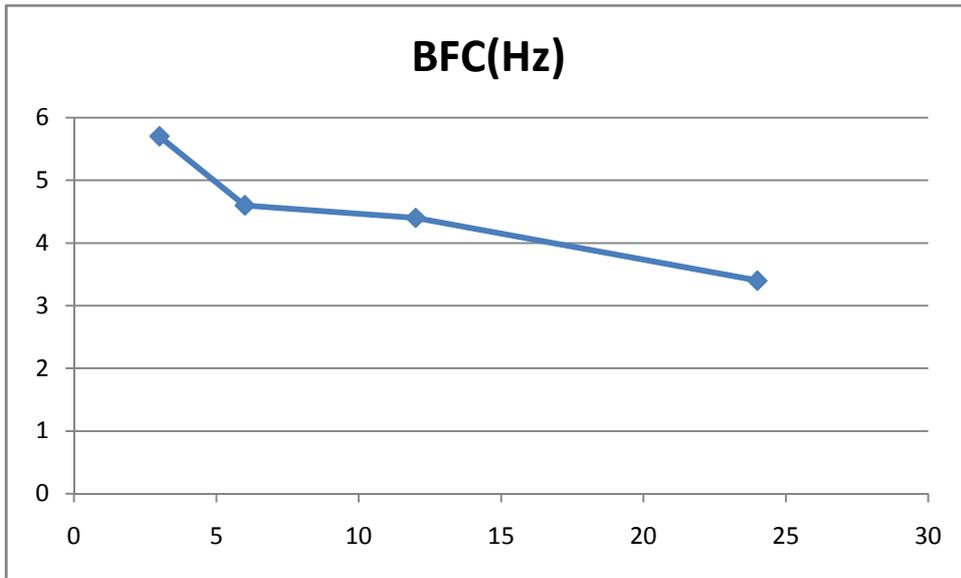


Figure n°16: Graphe montrant la BFC en Hz par rapport au temps.

La classification des spermatozoïdes par type : lent, moyen, rapide et statique ont été résumé dans le tableau suivant :

Tableau n°2 : distribution en fréquence des différents types de spermatozoïdes par rapport au temps.

	Pourcentage 3h	Pourcentage 6h	Pourcentage 12h	Pourcentage 24h
Lent	28,082	21,249	26,909	7,246
Moyen	2,622	7,734	6,197	3,085
Progressif moy	3,387	4,820	1,916	1,366
Progressif rap	0,983	10,616	3,031	2,961
Rapide	0,565	8,967	5,586	3,685
Statique	64,360	46,613	56,360	81,656
totale	100,00	100,00	100,00	100,00

Les spermatozoïdes ont présenté une progressivité meilleure à T= 6h et T= 12h qu'au T= 3h, par contre la totalité étaient statique (immobile) à T= 24h. (Figure 18).

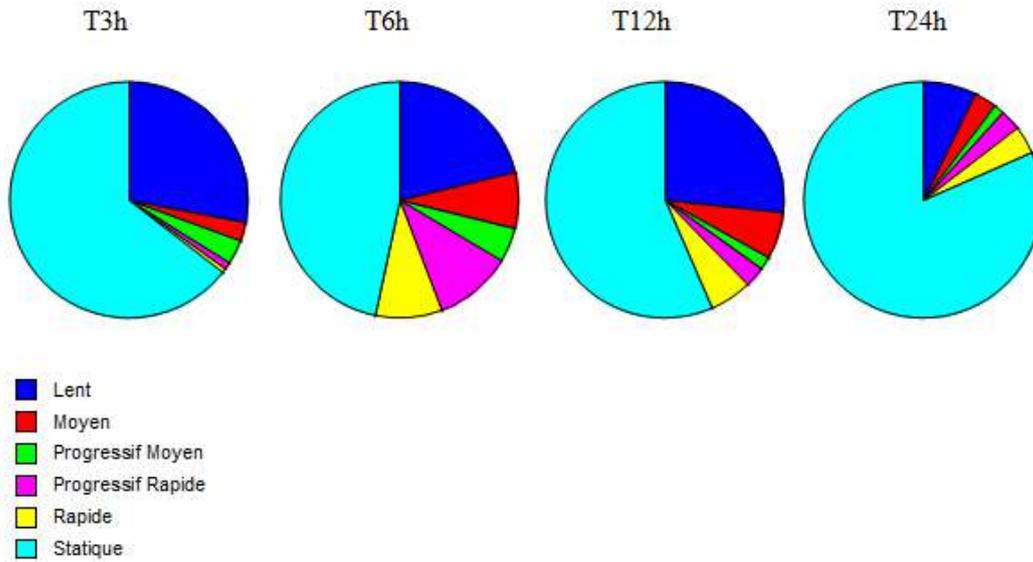


Figure n°17 : cercle relative représentant les différents types de progressivité des spermatozoïdes.

II.2. Viabilité :

Les résultats obtenus n'ont montré aucune différence significative, la vitalité des spermatozoïdes est de $55.9\% \pm 12.6$ à T=3h ; ce pourcentage a augmenté jusqu'au $70.1\% \pm 8.2$ à T=6H puis il a subit une légère diminution à T= 12h pour atteindre $43.9\% \pm 15.6$ à T= 24h. Ces résultats pourraient être expliqués par le nombre élevé de spermatozoïdes statiques. (Figure 19).

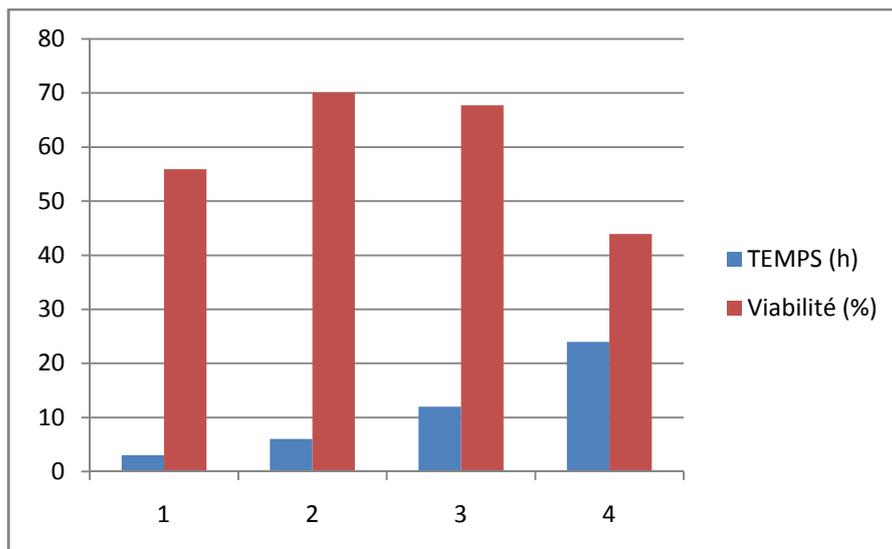


Figure n°18: Grappe représentant les pourcentages de la vitalité par rapport au temps.

II.3. Discussion générale :

Des multiples observations ont confirmé que l'épididyme est un excellent milieu de conservation. Sa composition est complexe et résulte de l'activité de réabsorption et de sécrétions de l'épithélium de cet organe. De nombreuses protéines présentes dans ce milieu sont probablement liées à la protection des gamètes notamment contre les peroxydations. **(Guérin et al., 2003).**

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré une meilleure mobilité des spermatozoïdes à 3h. A l'analyse statistique, les paramètres cinétiques VCL, VSL, VAP, LIN et STR ont présenté une différence significative ($p < 0.05$) entre T3h et les autres temps (6h, 12h et 24h).

La comparaison entre les valeurs obtenues aux différentes périodes a révélé que le taux des spermatozoïdes PM à T6h et T12h respectivement était meilleur que celui des spermatozoïdes à T3H et pratiquement de T24h. Ainsi le pourcentage des spermatozoïdes PM à T6H était élevé par rapport à ce des spermatozoïdes à T3h, T12h et T24h, cela pourrait être expliqué par le pourcentage élevé des spermatozoïdes statiques.

Aucune différence significative concernant le taux de vitalité n'a été constaté entre le T3h, T6h et le T12h ni entre le T3h et T24h, alors qu'il est de (43%) à 24h, ce résultat est en accord avec celui de Guérin et al. (2003) ce qui explique la bonne protection des spermatozoïdes par le liquide épидидymaire. Par contre, le taux de survie à T=3H est inférieur à celui rapporté par Belkadi et al. (2013) qui est de $(82,15 \pm 1,48)$ à 0h. La distance entre l'abattoir et le laboratoire (CASA), au même temps il faut au moins une demi-heure pour pouvoir collecter le sperme épидидymaire ne nous a pas permis de réaliser l'étude à 0h.

A savoir que le liquide épидидymaire est composé de matières organiques (protéines, glucose et triglycérides) et non organiques (principalement des minéraux : K, Na, Mg, Ca et), ce qui permet la survie des spermatozoïdes **(Hajirezaee et al. 2009).**

Conclusion

Notre étude nous a permis de conclure que l'épididyme est un bon milieu de conservation des spermatozoïdes à 4°C, chez le bélier de la race Ouled Djellal.

La perfusion de la queue épидидymaire peut être une bonne méthode pour prélever de la semence en quantité suffisante.

Cette étude met donc en œuvre une méthode pour utiliser le sperme une dernière fois après l'abattage. Cette technique pourrait être utilisée pour des races de même espèce en voie de disparition pour la préserver nos races et espèces locales

La mobilité des spermatozoïdes était meilleure à 3 heures, alors que la vitalité n'a pas été affectée qu'après 12 heures.

Les résultats obtenus semblent être encourageants pour l'utilisation du sperme épидидymaire prélevé quelques heures après l'abattage des ovins.

Références Bibliographiques

- [1]. **ABDEL RAHIM, S. E.** (1997) Studies on the age of puberty of male camels (Camelus dromadaries) in Saudi Arabia. Vet. J.154,79-83.
- [2]. **ABDEL RAHIM, S. E. A., SHARABY, M. A., SULEIMAN, I. O.** (1989) Studies on the age of puberty of Najdi ram. Anim. Repro. Sci., 20, 1, 67-69.
- [3]. **ADAM, C. L., FINDLAY, P. A.** (1997) Effect of nutrition on testicular growth and plasma concentrations of gonadotrophins, testosterone and insulin-like growth factor I (IGF-I) in pubertal male Soay sheep. J. Reprod. Fertil.11,121-125.
- [4]. **ADAMOU, S., BOURENNANE, N., HADDADI, HAMIDOUCHE, S., SADOUD, S.,** (2005). Quel rôle pour les fermes-pilotes dans la préservation des ressources génétiques en Algérie. Série de Documents de Travail N° 126 Algérie – 2005
- [5]. **ADAMS, T. E.** (2005) Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals. Anim. Repro. Sci.88, 127-139.
- [6]. **AISSAOUI C., CHIBANI J., BOUZEBDA Z.** (2004) Etudes des variations de la production spermatique du bélier de race Ouled Djellal soumis à un régime pauvre. 11ème Renc. Rech. Rum.14, 380.
- [7]. **Álvarez, M. Tamayo-Canula, J Martínez-Rodríguez, C. López-Urueña E, Gomes-Alves, S., Anela, L. Martínez-Pastora, F de Paza, P** (2012). Specificity of the extender used for freezing ram sperm depends of the spermatozoa source (ejaculate, electroejaculate or epididymis)
- [8]. **AMANN RP, Katz DF.** Reflections on CASA after 25 years. Journal of Andrology. 2004, 25, 317-
- [9]. **AMANN, R. P., SCHANBACHER, B. D.** (1983) Physiology of male reproduction. J. Anim. Sci. 57,380-403.
- [10]. **BAHHAR, K.** (1998) Etude de l'avènement de la puberté chez le chevreau Noir de Montagne du Maroc : développement corporelle et testiculaire. Mémoire. 3ème Cycle Biologie. Animale. IAV Hassan II, Rabat, Maroc, pp124.
- [11]. **Baril G., Chemineau P., Cognie Y., Guérin Y., Leboeuf B., Orgeur P., Vallet J.C., 1993.** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO (Ed), pp47, 231.

- [12]. **BARONE, R.** (1978) Anatomie comparée des animaux domestiques. Tome 3. Splanchnologie II. Appareil uro-génital. Foetus et Annexes. Péritoine et topographie abdominale. Ed. Vigot, Paris : 951 p.
- [13]. **BARONE, R.** (1990) Anatomie comparée des animaux domestiques. Tome 4. Splanchnologie II. Appareil uro-génital. Foetus et Annexes. Péritoine et topographie abdominale. Ed. Vigot, Paris, pp95.
- [14]. **BELACEL, M.** (1991) La production de petits ruminants en Algérie. In : **ADENIJI, K.O.** (Ed.) Small Ruminant Research and Development in Africa. Pub., OAU. Proceeding of the workshop on the improvement of small ruminants in North Africa. June 1991 Cairo, Egypt, 3-7.
- [15]. **BELKADI, S., ALLOUI, N., BELKACEM, L., AISSI, A., SAFSAF, B., DJAABA, M., IDIR, K.** (2013). Etude de la vitalité et de la mobilité des spermatozoïdes épидидymaires conservés à 4°C chez la race Ouled Djellel
- [16]. **BENSEGHIR, A.** (1978) Contribution à l'étude de la fonction sexuelle mâle de deux races ovines marocaines : D'man et Benihsen. Thèse Doc. Med. Vét. IAV Hassan II, Rabat, Maroc, pp69.
- [17]. **BESTER, N., (2006).** Effect of different dietary energy levels on productive and Reproductive traits in Dorperrams. Magister Scientiae Agriculturae. University of the Free State. Bloemfontein, pp175
- [18]. **BOUCIF, A., AZZI, N., TAINTURIER, D., NIAR, A.** (2007) Variations saisonnières des paramètres reproductifs chez les béliers de deux races locales algériennes. Renc. Rech. Ruminants. 14,380.
- [19]. **Boudjenane, I., (2004).** Systèmes accélérés de reproduction chez les ovins. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA (Programme National de Transfert de Technologie en agriculture) Bulletin réalisé à L'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II.
- [20]. **BONNES, G., DESCLAUDE, J., DROGOUL, C., GADOUD, R., JUSSISAU, R., LE LOC'H, A., MONTMEAS, L., ROBIN, G. et al.** (2005) Reproduction des animaux d'élevages. 2^{ème} Ed. Dijon ,Educagri (Ed.), 407.
- [21]. **Boukhliq, R., (2002).** Cours en ligne sur la reproduction ovine. Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II - MAROC
- [22]. **BROWN, B. W.** (1994) A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. Reprod. Nutr. Dev. 34, 89-114.

- [23]. **Cameron, J., (2008).** Guide de référence sur la photopériode Publications techniques : Université Laval. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Canada, 138P. www.agr.gc.ca.
- [24]. **Hanzen. Ch.2009.** La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants.
- [25]. **Hanzen. Ch. 2010.** L'insémination artificielle chez les ruminants.
- [26]. **CHAKRABORTY, P. K., STUART, L. D., BROWN, J. L. (1989)** Puberty in the male Nubian goat: serum concentration of LH, FSH and testosterone from birth through puberty and semen characteristics at sexual maturity. *Animal Reproduction Science*.20,91-101.
- [27]. **CHANDOLIA, R. K. (1996)** Early gonadotropin secretion and sexual maturation in bull calves and 366. **YARNEY, T. A., SANFORD, L. M. (1990)** Pubertal development of ram lambs: reproductive hormone concentration as indices of postpubertal reproductive function. *Can. J. Anim. Sci.*, 70: 149-157. ram lambs. Thesis of Doctor of Philosophy. University of Saskatchewan Canada: pp250.
- [28]. **CHELLIG, R.,(1992).** Les races ovines algériennes. OPU. 1992.80.
- [29]. **CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., BRILLARD, J.-P., FOSTIER, A., (2009).** Saisonnalité de la reproduction et de la production chez les poissons, oiseaux et mammifères d'élevage. *INRA Prod. Anim.*, 22 (2), 77-90.
- [30]. **CHEVRIER, C., DACHEUX, J. L. (1988)** Maturation des spermatozoïdes de bélier : Etude préliminaire du mouvement flagellaire caractéristique des formes de transition du corps de l'épididyme. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28: 1301-1305.
- [31]. **COGNIÉ, Y. (1988)** Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. *INRA Prod. Anim.* 1(2) ,83-92.
- [32]. **Colas, G., (1980).** Variation saisonnière de la qualité du sperme chez le bélier Ile-de-France. I' Etude de la morphologie cellulaire et de la motilité massale. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 20, 1789-1799.
- [33]. **Colas, G., Personni, D., Courot, M., Ortavant, R., (1975).** Influence du rythme de la récolte sur la production de spermatozoïdes chez le jeune bélier Romanov. *Ann. Zootech.* 24, 189-198.
- [34]. **COUROT, M. (1962)** Action des hormones gonadotropes sur le testicule de l'agneau impubère. Réponse particulière de la lignée Sertolienne. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 2,157-162.
- [35]. **CRAPLET, C., THIBIER, M. (1977)** Le mouton: Tome 4, 4e Ed., Vigot Frère (Ed.). Paris, 575 p.

- [36]. **DACHEUX, J.L., PISSELET, C., BLANC, M.R., HOCHEREAU-DE REVIERS, M.T., COUROT, M.,(1981).**Seasonal variations in retetestisfluidsecretion and sperm production in differentbreedsofram.J. Reprod. Fertil.61, 363-371
- [37]. **DEHIMI, M.L.** (2005) Chapter Three: Small ruminant breeds of Algeria. In : IÑGUEZ, L. (Ed.) Characterisation of small ruminant breeds in West Asia and North Africa. Vol.2: North Africa. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. (ICARDA), Aleppo, Syria, 196p.
- [38]. **Del Olmoa, E. Bisbala A., Maroto-Moralesa, AGarcía-Alvarez, O. Ramonb, M. Jimenez-Rabadanb, P. Martínez-Pastorc, F. Solera, A.J. Gardea, J.J.. Fernandez-Santosa, M.R.** (2013). Fertility of cryopreserved ovine semen is determined by sperm velocity
- [39]. **DEKHILI, M., MAHANE, S.** (2004) Facteurs de l'accroissement en poids des agneaux (Ouled-Djellal) de la naissance au sevrage. Renc. Rech. Ruminants.11,235.
- [40]. **DE KRESTER, D.M.** (1984) The testis. In: AUSTIN. R.C., SHORT, R.V. (Ed.) Reproduction in mammals: 3. Hormonal control of reproduction. 2nd Ed. Cambridge University Press Ed,pp244.
- [41].**DE REVIERS, M., HOCHEREAU-DE REVIERS M. T., BLANC, M. R., BRILLARD, J. P., COUROT, M., PELLETIER, J.** (1980) Control of Sertoli and germ cell population in the cock and sheep testes. Reprod. Nutr. Dévelop.20 (1B) ,241-249.
- [42]. **DERIVAUX, J., ECTORS, F., (1989).** Reproduction chez les animaux domestiques.ÉditeurAcadémies, 3e edition, pp1-141.
- [43]. **DERQAOU, L., EL FADILI, M., FRANÇOIS, D., BODIN, L.** (2009) Onset of puberty in D'man and Timahdite breeds of sheep and their crosses. 60 th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 24-27 August 2009, Barcelona, Spain.No. 13, pp276.
- [44]. **DESJARDINS, C.** (1978) Endocrine regulation of reproductive development and function in the male. J. Anim. Sci.47,56-79.
- [45]. **DOLLANDER, A., FENART, R.** (1979) Embryologie générale comparée et humaine. 4 éme Ed. Flammarion Médecine Sciences (Ed.), pp394.
- [46]. **DOUET, D-G. N., (2000).** Congélation de sperme de mammifères, application aux antilopes. Thèse Docteur vétérinaire. Ecole nationale de Nantes, pp111.
- [47].**DUFOUR, J. M., RAJOTTE, R. V., KORBUTT, G. S.** (2002) Development of an in vivo model to study testicular morphogenesis. J. Androl.23, 635-644.
- [48]. **DYRMUNDSSON, O. R., LEES, J. L.** (1972) pubertal development of Clun Forest ram lambs

in relation to time of birth. J. Agric. Sci.79,83-89.

[49]. **EBLING, F. J. P.** (2005) The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction*.129, 675-683.

[50]. **EDUARDO VILLENA, F., JOSE JIMENEZ, R.M., MENDOZA, E., LOPEZ, J.C.,** (2003).Technicien en élevage.Editions Cultural, S.A Tome2, MADRID – Espagne, pp226.

[51]. **EILTS, B, E.,** (2004). Male Theriogenology: Semen

Evaluation.[Web]:http://www.vetmed.lsu.edu/eiltslotus/theriogenology-5361/male_index.htm. (05-05-2011).

[52]. **Encyclopedielibre**[web] :<https://fr.wikipedia.org/wiki/Spermatozo%C3%AFde>

[53].**EMSEN, E.** (2005) Testicular development and body weight gain from birth to 1 year of age of Awassi and Redkaraman sheep and their reciprocal crosses. *Small Rum. Res.* 59,79-82.

[54]. **FANTODJI, A., SORO, D., TREYAVO, M.,** (2009). Caractéristiques spermatiques et maturité des gonades des aulacodes mâles d'élevage en Côte d'Ivoire.*Revue Méd. Vét.*160, 1, 44-53.

[55]. **Folch, J.,** (1984).The influence of age, photoperiodism and temperature on semen production of Rams.InCourtot, M., (ed) the male in farm animal reproduction.EEC programme of co-ordination of research on animal production. Commission of the European Communities coordination of agricultural research.

[56]. **Gage, M.J., Macfarlane, C.P., Yeates, S., Ward, R.G., Searle, J.B., Parker, G.A.,** (2004). Spermatozoal traits and sperm competition in Atlantic salmon: relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success. *Curr. Biol.* 14, 44–47.

[57]. **García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., Ramón, M., del Olmo, E., Montoro, V., Dominguez-Rebolledo, A.E., Bisbal, A., Jiménez-Rabadán, P., Pérez-Guzmán, M.D., Soler, A.J.,** (2010). Analysis of selected sperm by density gradient centrifugation might aid in the estimation of *in vivo* fertility of thawed ram spermatozoa

[58]. **GETTY, R.** (1975) the anatomy of the domestic animals. 5e edition, London: W. B. Saunders Company, Vol. 2, pp2095.

[59]. **GHOZLANE, F., ZIKI, B., YAKHLEF, H.** (2005) Variations saisonnières des caractères quantitatifs du sperme de bélier de race Ouled Djellal. *Renc. Rech. Ruminants.* 12,380.

[60]. **GOODMAN, R., BITTMAN, E., FOSTER, D., KARSCH, F.,** (1982).Alterations in the control of Luteinizing Hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biology of Reproduction.*27, 580-589.

[61]. **GRAU, H., WALTER, P.** (1975) Précis d'histologie et d'anatomie microscopique des animaux

domestiques. Vigot Frère, Paris (Ed.), pp188.

[62]. **HABAULT, P.** (1969) *Elément de zootechnie générale*. 3e édition, Bailliere, J.B. et Fils 12-17.

[63]. **HADLEY, M.E.** (1992) *Endocrinology*. 3rd Ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA (Ed.), pp608.

[64]. **HAMMOND, J.** (1961) *Reproduction, croissance et hérédité des animaux de la ferme*. 1 ère Ed., Vigot frères (Ed.), pp268.

[65]. **HARKAT, S., LAFRI, M.** (2007) Effet des traitements hormonaux sur les paramètres de reproduction chez des brebis Ouled-Djellal. *Courrier du Savoir*.08, 125-132.

[66]. **HASSAN, F., MOUSA, M. T., ABOUL-NAGA, A. M., EL-HOMMOSI, F., ABD EL-HAFEZ, G.** (1993) Puberty and early mating performance in subtropical fat-tailed sheep and their crosses. In: **LEBBIE, S. H. B., REY, B., IRUNGU, E. K.** (Ed.) *Small Ruminant Research and Development in Africa*, pp268.

[67]. **HERRERA-ALARCÓN, J., VILLAGÓMEZ-AMEZCUA, E., GONZÁLEZ-PADILLA, G., JIMÉNEZ-SEVERIANO, H.** (2007) Stereological study of postnatal testicular development in Blackbelly sheep. *Theriogenology*.68, 4, 582-591.

[68]. **HOCHEREAU-DE REVIERS, M. T., PERREAU, C., PISSELET, C., LOCATELLI, A., BOSC, M.** (1995) Ontogenesis of somatic and germ cells in sheep fetal testis. *J. Reprod. Fert.* 103:,41-46.

[69]. **Holt, W.V., Shenfield, F., Leonard, T., Hartman, T.D., North, R.D., Moore, H.D.**, (1989). The value of sperm swimming speed measurements in assessing the fertility of human frozen semen. *Hum. Reprod.* 4, 292–297.

[70]. **INSTITUT TECHNIQUE D'ELEVAGE BOVIN ET OVIN (ITEBO) ALGER.,** (1996). Les races ovines Algériennes principales caractéristiques.

[71]. **JAFARIAHANGARI, Y., SMITH, S., SHARMA, R. K., ZEREHDARAN, S., BLAIR, H.** (2012) The effect of pre-natal environment on live weight, reproductive and semen characteristics in ram lambs. *Small Rum. Res.*103,200-204.

[72]. **Jasko DJ, Lein DH, Foote RH.** *A comparaison of two computer-automated semen*

analysis instruments for the evaluation of sperm motion characteristics in the stallion. Journal of Andrology 1990.11,453-9.

[73]. **JOHNSON, L.** (1991) Spermatogenesis. In: CUPPS, P.T. (Ed.) Reproduction in domestic animals. 4th Ed., Academic Press, Inc. San Diego. New York. Boston. London. Sydney. Tokyo, pp670.

[74]. **KARAKUŞ, K., EYDURAN, E., AYGÜN, T., JAVED, K.** (2010) Appropriate growth model describing some testicular characteristics in Norduz male lambs. J. Anim. & Plan. Sci. 20, 1,1-4.

[75]. **KASTELIC, J. P., COOK, R. B., COULTER, G. H.** (1996) Contribution of the scrotum and testes to scrotal and testicular thermoregulation in bulls and rams. J. Reprod. Fert. 108,81-85.

[76]. **KERBOUA, M., FELIACHI, K., ABDEFETTAH, M., OUAKLI, K., SELHAB, F., BOUDJAKDJI, A., TAKOUCHT, A., BENANI, Z., ZEMOUR, A., BELHADJ, N., RAHMANI, M., KHECHA, A., HABA A., GHENIM, H.** (2003) Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie. Ministère De l'Agriculture Et Du Développement Rural, Commission Nationale Anger. 1-46.

[77]. **KOLB, E.** (1975) Physiologies des animaux domestiques. Ed. Vigot Frères Paris (Ed.), pp974.

[78]. **KRIDLI, R. T., ABDULLAH, A. Y., MOMANI SHAKER, M.** (2006b) Sexual performance and reproductive characteristics of young adult Awassi, CharollaisXAwassi and RomanovXAwassi rams. Sheep and Goat Res. J.21, 12-16.

[79]. **KRIDLI, R. T., ABDULLAH, A. Y., SHAKER, M. M., AL-MOMANI, A. Q.** (2006a) Age at puberty and some biological parameters of Awassi and its first crosses with Charollais and Romanov rams. Ital. J. Anim. Sci.5.193-202.

[80]. **KUMAR, D., JOSHI, N., NAQVI, S. M. K.** (2010a) Objective assessment of sperm motion characteristics of Malpura ram lamb raised under intensive management system in semiarid tropical environment. Trop. Anim. Health Prod. 42, 653-658.

[81]. **KUMAR, D., NAQVI, A-J. S. M. K., (2010).** Objective assessment of sperm motion characteristics of Malpura ram lambs raised under intensive management system in semiarid tropical environment. Trop Anim Health Prod. 42,653–658.

[82]. **LEVASSEUR, M. C.**(1979) Thoughts on puberty: the gonads. Ann. Bio. anim. Bioch. Biophys. 19, 2A, 321-335.

- [83]. **LOCATELLI, Y., MERMILLOD, P., (2005).**Caractéristiques et maîtrise de la fonction de reproduction chez les cervidés. *INRAProd. Anim.* 18 (1), 3-25.
- [84]. **LUQUET, F., BERNY, F., BRINCE, G., COURNUT, J., DELAHAYE, J., DES TOUCHES, C., GILBERT, L., GUGGER, R., JARDON, C., LAIDET, M., LECLOUX, J. M., LEIMBACHER, F., MAITRE, C., MANNO, J. M., MARCHAND, G., PERRET, G., PEVRAUD, D., VAN QUACKEBEKE, E. (1978)** L'élevageovin. Hachette (Ed.), pp255.
- [85]. **MAHGOUB, O., LODGE, G. A. (1994b)** Growth and body composition of Omani local sheep 1. Live-weight growth and carcass and non-carcass characteristics. *Anim. Prod.*58, 365-372.
- [86]. **Malpaux, B., Vigui, C., Thiéry, J.C., Chemineau, P., (1996).**Contrôle photopériodique de la reproduction. *INRA Prod. Anim.*, 9 (1), 9-23.
(Manuel CASA). Sperm Class Analyzer – SCA (CASA system)
- [87]. **MARTINEZ, J. M., DOMINGUEZ, B., BARRIENTOS, M., CANSECO, R., ORTEGA, E., LAMOTHE, C. (2012)** Biometry and testicular growth influenced by nutrition on prepubertalPelibuey lambs. *Online J. Anim. FeedRes.* 2, 314-321.
- [88]. **MEHOUACHI, M. (1995)** Caractéristiques de reproduction chez les béliers de race Barbarine et Noire de Thibar. *Cahiers Options Méditerranéennes.* 6, 35-41.
- [89]. **MEYER, C., FAYE, B., KAREMBE, H. et al. (2004)** Guide de l'élevage du mouton méditerranéen et tropical. *CEVA Santé Animal*, pp154.
- [90]. **MCKEOWN, R. M., CALLAGHAN, D. O., ROCHE, J. F., BOLAND, M. P. (1997)** Effect of immunization of rams against bovine inhibin α 1-26 on semen characteristics, scrotal size, FSH, LH and testosterone concentration. *J. Repro. Fertil.* 109, 237-345.
- [91]. **MUKASA-MUGERWA, E., EZAZ, Z. (1992)** Relationship of testicular growth and size to age, body weight and onset of puberty inMenz ram lambs. *Theriogenology.*38, 979-988.
- [92].**NOAKES, D.E., PARKINSON, T.J., ENGLAND, G. C. W. (2001)** Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics (Theriogenology). 8th Ed., Saunders Elsevier (Ed.),pp868.
- [93]. **OLSTER, D. H., FOSTER, D. L. (1986)** Control of gonadotrophin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feed back in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep. *Endocrinologie.* 118, 2225-2234.

- [94]. **OFFICE NATIONAL DES STATISTIQUES O.N.S.** 2009.
- [95]. **ORJI, B. I., STEINBACH, J.** (1976) Postnatal development of testis and epididymis in the Nigerian Dwarf sheep. VIII International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Krakow. Vole III, 73-76.
- [96]. **PRICE, C.A.** (1994) Evidence that testosterone and follicular fluid do not interact in the control of FSH secretion in rams. *Theriogenology*.41, 2, 174-482.
- [97]**Purdy, P.H., Graham, J.K.,** (2004). Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on the cryosurvival of bull sperm.*Cryobiology* 48, 36–45.
- [98]. **REGAUDIE, R., REVELEAU, L.** (1977) *Le mouton*. 2ème Ed. J. B. Ballière (Ed.), pp567.
- [99]. **REGE, J. E. O., TOE, F., MUKASA-MUGERWA, E., TEMBELY, S., ANINDO D. BAKER, R. L., LAHLOU-KASSI, A.** (2000) Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep. II. Genetic parameters of semen characteristics and their relationships with testicular measurements in ram lambs. *Small Rum. Res.* 37, 173-187.
- [100]. **RIEUTORT, M.** (1995) *Physiologie animale. Tome 2: Les grandes fonctions*. 4ème Ed. Masson, pp281.
- [101]. **RONDIA, P.** (2006) Aperçu de l'élevage ovin en Afrique du Nord. *Filière Ovine et Caprine*. 18, 11-14.
- [102]. **SAGOT, L.,** (2009). *Conduite de la reproduction. Insémination animale : du bélier à la paille*. Institut de l'élevage- CIIRPO. INRA Paris. [Web]:www.inst-elevage.asso.fr. (06/05/2011).
- [103]. **SALHAB, S. A., ZARKAWI, M., WARDEH, M. F., AL-MASRI, M. R., KASSEM, R.** (2001) Development of testicular dimensions and size, and their relationship to age, body weight and parental size in growing Awassi male lambs. *Small Rum. Res.* 40,187-191.
- [104]. **SCHANBACHER, B. D.** (1982) Hormonal interrelationships between hypothalamus, pituitary and testis of rams and bulls. *J. Anim. Sci.*55, 56-67.
- [105]. **SETCHELL, B.P.** (1991) Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P.T. (Ed.) *Reproduction in domestic animals*. 4th Ed., Academic Press, Inc. San Diego. New York. Boston. London. Sydney. Tokyo, pp670.

- [106]. **SHORT, R. V.** (1973) Role of hormones in sex cycles. In: AUSTIN, R. C., SHORT, R. V. (Ed.) Reproduction in mammals. Book 3: Hormone in Reproduction. Cambridge University Press. 42-72.
- [107]. **SKINNER, J. D., ROWSON, L. E. A.** (1968) Puberty in Suffolk and cross-bred rams. J. Reprod. Fert. 16, 479-488.
- [108]. **STABENFELDT, G.H.** (1992) Reproduction /lactation. In: CUNNINGHAM, J.G. (Ed.) Text book of veterinary physiology. W.B. Saunders Company, pp656.
- [109]. **TEPPERMAN, J.** (1980) Metabolic and endocrine physiology. 4th Ed. Year Book Medical Publishers, INC, pp335.
- [110]. **THIMONIER, J., COGNIE, Y., LASSOUED, N., KHALDI, G., (2000).**
L'effet mâle chez les ovins : une technique actuelle de maîtrise de la reproduction.
Production animal, pp13223-231.
- [111]. **TOE, F., REGE, J. E. O., MUKASA-MUGERWA, E., TEMBELY, S., ANINDO, D., BAKER, R. L., LAHLOU-KASSI, A.** (2000) Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep. 1. Genetic parameters of testicular measurements in ram lambs and relationship with age at puberty in ewe lambs. Small Rum. Res. 36, 227-240.
- [112]. **VAISSAIRE, J.P.** (1977) Sexualité et reproduction des mammifères. Maloine S.A. Ed., Paris, pp457.
- [113]. **WESSEL , MT., ALTHOUSE GC.** Validation of an objective approach for simultaneous assessment of viability and motility of fresh and cooled equine spermatozoa. Animal Reproduction Science. 2006,94,21-2.
- [114]. **YARNEY, T. A., SANFORD, L. M., PALMER, W. A.** (1990) Pubertal development of ram lambs: body weight and testicular size measurements as indices of postpubertal reproductive function. Can. J. Anim. Sci. 70, 139-147.
- [115]. **GUÉRIN, Y.**(2003) .Conservation et utilisation du sperme épидидymaire d'ovins et de cervidés en insémination artificielle et fécondation in vitro, pp174.