

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة (1)
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



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

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biologie et physiologie de reproduction

Thème

Evaluation de la qualité de la semence congelée utilisée en insémination
artificielle caprine

Présenté par :

Soutenu le : le 16/ 07/2023

Harchaoui Zahra

Bari Lamia

Devant le jury :

	Grade/Lieu	Qualité
Mr. YAHIMI. A	MCA/USDB1	President
Mme. SAYAD .M	MCA/USDB1	Examinatrices
Mr. YAHIA.A	MCA/USDB1	Promoteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tous, nous remercions dieu de nous avoir donnée le courage, la patience ET la volonté pour achever Ce travail.

Nous vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent respectivement à notre promoteur. Monsieur. YAHIA.A qui a accepté de nous encadrer .nous le remercions infiniment pour son aide .ses orientation et sa patience.

*Comme nous tenons à remercier Monsieur YAHIMIA d'avoir accepté de précéder Ce jury et l'examineur Monsieur ALAOUI.A
Remercîment en chaleureux A toute les professeurs et les enseignants de département Biologie.*

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

Dédicace

Je dédie ce travail à.....

Ma trésor mère, tu mas donnée la vie, la tendresse et courage

Pour réussir

Mon très cher père, l'épaule solide .rien au monde ne vaut les

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

Mes chers frères et toute ma famille

Mes très chères amies Ilham, DOAA et ma promotion de master 2023

Zahra

A mes très chers parents source d'affection et d'amour

A mes chères sœurs :

Nesrine, Fatima, rihabe, maya

A mon frère hamza

A toute ma famille source de soutien

A tous mes amies

BARI LAMIA

Résumé

L'évaluation de la qualité des semences utilisées en insémination artificielle caprine est cruciale car cela influence directement le niveau de fertilité du troupeau caprine

L'étude consiste à évaluer la qualité de sperme congelé caprine des deux races Alpine et Saanen en utilisant le système CASA (computer Assisted Sperm Analysis) (HT IVOS II) pour l'analyse de la motilité, concentration, morphologie, et le microscope optique pour analyser la vitalité en deux méthodes l'un test de Eosine/ Nigrosine et l'autre est le test hypo-osmotique (Host), pour l'intégrité membranaire flagellaire, ainsi que la morphologie. Les résultats obtenus par le système CASA sur 16 paillettes obtenus auprès de CNIAAG pour les deux races ont révélé une concentration Spermatozoïque de 147 ± 47 M/ml chez la Race Saanen et $200,24 \pm 100,48$ M/ml chez la Race Alpine. Le taux de la motilité progressive est $17,04 \pm 0,06\%$ et $17,11 \pm 0,08\%$ chez Saanen et Alpine respectivement. Le taux de morphologie est $88,26 \pm 0,2\%$ chez Saanen et $74,20 \pm 0,013\%$ chez la race Alpine. Les résultats obtenus par le microscope optique sur un grossissement X40 ont montré un taux de morphologie des spermatozoïdes normaux est de $24 \pm 0,03\%$ et $24,06 \pm 0,02\%$ respectivement chez Saanen et Alpine.

Pour les deux races Saanen et Alpine respectivement, les résultats des taux de vitalité obtenus sont de $29 \pm 0,2\%$ et $27 \pm 0,08\%$ pour la méthode Éosine / Nigrosine, et de $36 \pm 0,6, 29,38 \pm 0,07\%$ pour la méthode Host.

Sur la base des résultats obtenus à l'aide de CASA et microscope optique et leur analyse statistique (concentration, vitesse progressive et morphologie) la fécondité de la semence est plus satisfaisante pour la semence Alpine.

Mots clés : Insémination artificielle, , CASA, Sperme congelé caprine, CNIAAG

ملخص

تقييم جودة النطاف المستخدمة في التلقيح الاصطناعي للماعز ضروري بما أنه يؤثر مباشرة على مستوى خصوبة قطع الماعز

(تتكون الدراسة من تقييم جودة السائل المنوي المجمد للماعز لسلاستي الألبين والسانين باستخدام نظام لتحليل الحركة والتركيز والشكل والمجهر الضوئي (HT IVOS II) (تحليل السائل المنوي المساعد بالكمبيوتر CASA والأخرى باستخدام اختباري خاص Eosine / Nigrosine لتحليل الحيوية بالطرق الاثنيتين الأولى باستخدام اختبار أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال نظام .لسلامة الغلاف الخلوي والشكل أيضا (Host) بالضغط الفقري مل لسلالة /مليون 147 ± 47 للسلاطين تركيز منوي قدره CNIAAG قارورة حصلت عليها من 16 على CASA $17.11 \pm 17.04 \pm 0.06$ معدل الحركة التقدمية هي .مل لسلالة الألبين/مليون 200.24 ± 100.48 السانين و 74.20 ± 0.013 % للسانين و 88.26 ± 0.2 معدل الشكل هو .% لكل من السانين والألبين على التوالي 0.08 فأظهرت نسبة شكل الحيوانات المنوية X40 أما النتائج التي تم الحصول عليها من خلال المجهر الضوئي بتكبير .الألبين % على التوالي لكل من السانين والألبين. 24 ± 0.03 و 24.06 ± 0.02 الطبيعية هي

و 27 ± 0.2 % :بالنسبة لكل من السلاطين السانين والألبين على التوالي ، تم الحصول على نتائج نسب الحيوية التالية Host. % باستخدام طريقة 29.38 ± 0.07 % و 36 ± 0.6 ، و Eosine / Nigrosine % باستخدام طريقة $0.08 \pm$ الشكل،)والمجهر الضوئي وتحليلها الإحصائي CASA بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها باستخدام نظام ،لسلالة الألبين فإن جودة النطاف هي أكثر رضا (التركيز والحركة التقدمية)

الكلمات المفاحية : التلقيح الاصطناعي، نظام التحليل المعلوماتي لأمشاج، السائل المنوي المجمد للماعز، ت.إ.ت.و.

Abstract

The quality evaluation of semen used in goat artificial insemination is crucial as it directly influences the fertility level of the goat herd. The study aims to assess the quality of frozen goat semen from two breeds, Alpine and Saanen, using the Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) system (HT IVOS II) for motility, concentration, morphology, and optical microscope for vitality analysis using two methods: Eosine/Nigrosine test and hypo-osmotic test (Host) for flagellar membrane integrity and morphology. The results obtained by the CASA system for 16 straws obtained from CNIAAG for both breeds revealed a sperm concentration of 147 ± 47 M/ml for Saanen and 200.24 ± 100.48 M/ml for Alpine. The progressive motility rate was $17.04 \pm 0.06\%$ for Saanen and $17.11 \pm 0.08\%$ for Alpine. The morphology rate was $88.26 \pm 0.2\%$ for Saanen and $74.20 \pm 0.013\%$ for Alpine. The results obtained by the optical microscope at a magnification of X40 showed a normal sperm morphology rate of $24 \pm 0.03\%$ for Saanen and $24.06 \pm 0.02\%$ for Alpine. For both Saanen and Alpine breeds, the vitality rates obtained were $29 \pm 0.2\%$ and $27 \pm 0.08\%$ respectively for the Eosine/Nigrosine method, and $36 \pm 0.6\%$ and $29.38 \pm 0.07\%$ for the Host method. Based on the results obtained using CASA and optical microscope and their statistical analysis (concentration, progressive motility, and morphology), the fertility of the semen is more satisfactory for the Alpine breed.

Key words : artificial insemination, CASA, frozen goat semen, CNIAAG.

Liste des abbreviation

ALH: amplitude of Head emplacement

BCF: Beat Cross Frequency

CASA: computer Assisted sperm Analysis

°C: Degree Celsius

CNIAAG Centre National d'insémination Artificielle et Amélioration génétique

E/N: Eosine / Nigrosine

EYCE: Egg Yolk coagulation enzyme

GOT: Glutamic Oxaloacetic Transaminase

HOST: Hypo-Osmotique Swelling test

IA: Insémination artificielle

QC: Control de qualité

LDL : Lowdensitylipoprotein

LIN : linéarité de la trajectoire curviligne

ml : millilitre

M : million

OMS : organisation mondial de la santé

Spz: spermatozoid

SBI III:

STR: straightness

Vap: average path velocity

VCL: curvilinéaire velocity

WOB: Wobble

DSP: Daily sperm production

μl : Microlitres

Liste des tableaux

Tableau 1: La notation de motilité massale des spermatozoïdes ... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 2: La notation de motilité individuelle des spermatozoïdes..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 3: identification des paillettes **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des figures

- Figure 1** : schéma d'une paillette d'insémination artificiel **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 2**: comptage des spermatozoïdes dans l'hématimètre **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 3** ; Anomalies morphologiques de spermatozoïdes de bouc.. **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 4**:HOST (hypo-osmotic swelling test): types de réaction membranaire du flagelle au stimulus hypo-osmolaire **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 5**: plateforme des biotechnologies liées à la reproduction des carnivores. **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 6**: Système CASA (L'analyseur de sperme IVOS II)..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 7**: appareillages de laboratoire..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 8**: produit et réactif..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 9**: mesure de quantité de l'azote liquide **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 10**: Méthode de décongélation des paillettes. **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 11**:préparation de la lame de morphologie **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 12**: Les étapes d'analyse d'échantillon par le système HT IVOS **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 13**: moyenne et l'écartype des valeurs vitesse curviligne des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine). 11
- Figure 14**: moyenne et l'écartype des valeurs VSL des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine)..... 12
- Figure 15** : moyenne et l'écartype des valeurs vitesse de déplacement moyenne des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine)..... 13
- Figure 16** : moyenne et l'écartype des valeurs LIN% des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine)..... 14
- Figure 17**: moyenne et l'écartype des valeurs STR% des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine)..... 15
- Figure 18**:les moyenne et l'écartype des taux de motilité des spermatozoïdes chez la race Saanen et Alpine..... 16
- Figure 19**: la moyenne et l'écartype des concentrations des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen, mesurée par le CASA..... 17
- Figure 20**: la moyenne et l'écartype de vitalité éosine /nigrosine des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen, mesurée par le CASA..... 18

Figure 21: la moyenne et l'écartype de teste hypo-osmotique des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen	19
Figure 22: le moyenne et l'écartype deSpz normaux étudiée par le microscope optique GX40	20
Figure 23: la moyenne et l'écartype de morphologie des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen, mesurée par le CASA.....	21

SOMMAIRE

Introduction	1
1Caractéristiques de semence de bouc	3
1.1 La semence fraîche	Erreur ! Signet non défini.
1.2 .La semence congelée	Erreur ! Signet non défini.
1.3 L'effet de plasma séminal	Erreur ! Signet non défini.
2 : Evaluation de la qualité spermatique	
Évaluation de qualité spermatique	Erreur ! Signet non défini.
2.1 Examen microscopique.....	Erreur ! Signet non défini.
2.1.1 concentration	Erreur ! Signet non défini.
2.1.2 motilité massale.....	Erreur ! Signet non défini.
2.1.3 motilité individuel	Erreur ! Signet non défini.
2.1.4 Examen morphologiques.....	Erreur ! Signet non défini.
2.1.5 Analyse de la vitalité	Erreur ! Signet non défini.
2.1.6 Test hypo osmotique (Host)	Erreur ! Signet non défini.
2.1.7 Examen Bactério-virologique.....	Erreur ! Signet non défini.
2.1.8 Examens complémentaires	Erreur ! Signet non défini.
2.2 _Relation entre la semence et leur fertilité	Erreur ! Signet non défini.
1. L'objectif de travail.....	Erreur ! Signet non défini.
2Lieu et période de l'étude	Erreur ! Signet non défini.
Matériels et méthodes	
3Matériel et méthodes	1
3.1 Matériel de l'laboratoire	Erreur ! Signet non défini.
3.1.1 Système Casa.....	Erreur ! Signet non défini.

3.1.2	Appareillage	Erreur ! Signet non défini.
3.1.3	Produit	Erreur ! Signet non défini.
3.1.4	Les paillettes.....	Erreur ! Signet non défini.
4	Méthode	Erreur ! Signet non défini.
4.1	Décongélation de paillette	Erreur ! Signet non défini.
4.2	Analyse de la vitalité des spermatozoïdes	Erreur ! Signet non défini.
C)	La morphologie des spermatozoïdes	Erreur ! Signet non défini.
4.3	Analyse par système HAMILTON THORN IVOS II (HT IVOS II)	Erreur ! Signet non défini.
non		défini.

1 Résultats et discussion

1.1 Statistique descriptive des paramètre cinétique des 16 paillette évaluée par le système HT IVOS II **Erreur ! Signet non défini.**

2 Etude comparatif de la vitalité analyser par les casa et microscope optique pour les deux races (Saanen et Alpine) **Erreur ! Signet non défini.**

3 Etude comparative de la vitalité des spermatozoïdes caprin des deux races Saanen et Alpine par deux méthode E/N et hypo- osmotique **Erreur ! Signet non défini.**

4 Etude comparatif de la morphologie analyser par les casa et microscope optique pour les deux races (Saanen et Alpine)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Conclusion..... 32



Introduction

Les petits ruminants ont un rôle important dans l'assurance de la sécurité alimentaire et économique des ménages dans les zones montagneuses, de même que dans les pays d'Afrique du Nord et du Sahel (**Mohous, 2016**)

En Algérie, l'élevage des caprins est principalement destiné à la production de lait, de viande et de cuir. (**Sanou, 2019**). la production de lait de chèvre représente une infime partie de la production nationale de lait. Malgré une augmentation du nombre de chèvres croisées au cours des 20 dernières années (1992-2011), atteignant 4 544 000 têtes, la quantité de lait de chèvre produite n'a que légèrement augmenté. Au cours de cette période, la production de lait est passée de 138 800 tonnes à 248 400 tonnes (**FAO, 2012**).

L'utilisation de l'insémination artificielle (IA) avec de la semence congelée est un moyen efficace de répandre les caractéristiques génétiques des mâles caprins dans la population. Cette méthode permet de stocker le matériel génétique de mâles de grande valeur même après leur mort et de le diffuser dans des fermes éloignées sans affecter la qualité de la semence. Cependant, la fertilité lors des inséminations artificielles avec de la semence congelée chez les caprins reste faible. Contrairement aux taux de gestation allant de 65 à 70% observés avec de la semence fraîche, atteignant parfois 80 %(**Romano, 2004**), les taux de gestation associés à l'utilisation de la semence congelée se situent généralement entre 20 et 40 %(**Gibbons A, 2002, Vera et al, 2004**)

Divers facteurs, tels que le processus de dilution, les agents cryoprotecteurs (ACP) ou encore les méthodes de congélation, ont une influence significative sur la réussite de la cryoconservation des spermatozoïdes (**Aboagla et Terada 2004 ; Cabrera et al. 2005 ; Câmara et al, 2011**). Les spermatozoïdes de bouc sont particulièrement vulnérables aux variations de température (**Purdy, 2006**). Ainsi, pour une cryoconservation réussie du sperme de bouc, il est primordial d'appliquer une méthode de refroidissement adéquate. En général, les échantillons de sperme pré-dilués sont stockés à une température supérieure.

L'objectif était d'analyser la qualité du sperme congelé de deux races caprines (Alpine et Saanen) destiné à l'insémination artificielle. Les échantillons ont été analysés en utilisant la microscopie optique pour évaluer la vitalité et la morphologie des spermatozoïdes, et

un système CASA pour mesurer la motilité, la concentration et la morphologie des spermatozoïdes. Les résultats de ces deux méthodes ont ensuite été comparés.

1.1 Caractéristiques de semence de bouc

1.2 . La semence fraîche

Peu de recherches ont été menées sur la production spermatique chez les boucs. Les Informations disponibles concernant la production quotidienne par mâle, appelée DSP (DailySperm production), suggèrent qu'elle varie de 5,5 à 14,5 x 10⁹ spermatozoïdes, avec de Légères variations saisonnières entre les races. Chez les boucs des races Alpine et Saanen, la production quotidienne est estimée à 2,96 ± 0,36 x 10⁹ spermatozoïdes(Leboeuf,2003).

1.3 .La semence congelée

Chez les caprins, la semence produite pour l'insémination artificielle est conditionnée en Paillettes de 0,25 ml contenant environ 100.10⁶ spermatozoïdes totaux.

Pour conserver le sperme à long terme, un processus de cryoconservation est utilisé. Ce Processus implique tout d'abord la congélation du sperme pendant trois heures à une Température de 4°C. Ensuite, le sperme est placé dans de petites paillettes et conservé dans de l'azote liquide pendant plusieurs années (Baiee *et al.*, 2017). Afin de garantir la qualité du sperme sur le long terme, il est essentiel de prendre en compte Certains facteurs. Tout d'abord, le sperme doit être refroidi pendant une période de 2 à 3 Heures avant d'ajouter un cryoprotecteur. Ensuite, il peut être congelé dans de l'azote Liquide pour assurer sa préservation optimale (Baiee *et al.*, 2018).

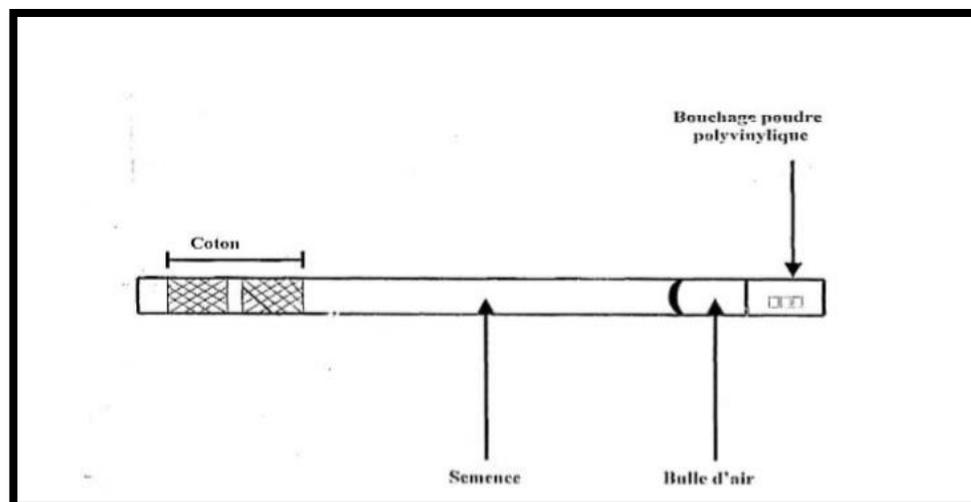


Figure 01 : schéma d'une paillette d'insémination artificiel(Derivaux et Ectors, 1986)

1.4 L'effet de plasma séminal

La conservation de ces semences, en particulier lorsqu'elles sont rarement congelées, peut entraîner des dommages au sperme. Ces dommages sont principalement causés par des altérations de la structure des spermatozoïdes (membrane, flagelles) et de leur fonctionnalité, ce qui affecte leur mobilité et leur viabilité.

Plus spécifiquement, l'effet néfaste du plasma séminal sur la motilité des spermatozoïdes stockés peut être observé dans les spermatozoïdes conservés dans une solution à base de lait écrémé ou contenant du jaune d'œuf, qui est souvent utilisée pour le stockage du sperme de bouc. Le plasma séminal contient une enzyme appelée l'ovocoagulase du jaune d'œuf (EYCE) (Egg yolk coagulation enzyme) sécrétée par la glande bulbo-urétrale, ainsi qu'une protéine (SBU III) également produite par cette glande. Ces composants ont été identifiés comme ayant un impact négatif sur la viabilité du sperme *in vitro* en présence de certains composants du lait écrémé (**Degadillo, 1993**)

2 - Évaluation de qualité spermatique

La qualité du sperme devrait être basée sur l'utilisation de plusieurs tests d'évaluation du sperme afin d'améliorer la précision de la prédiction de la fertilité

2.1 Examen microscopique

Examen microscopique permet l'évaluation de la mobilité massale, individuel et la Concentration spermatique. La semence doit être conservée à 37 c pour l'examen de Mobilité (**kinberling, 1997**).

2.1.1 Concentration

Plusieurs possibilités et méthodes existent pour mesurer la concentration de sperme de bouc (**Boutih ., 2019**) :

- Appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculat.
- Comptage exact avec un hématimètre.
- Mesure de la densité optique dans un spectrophotomètre.

a) Appréciation visuelle directe de la concentration de l'éjaculat

Est une technique utilisée par plusieurs centres d'IA.

Cette pratique n'est toutefois pas recommandé en raison de son assez grande imprécis due à L'appréciation subjective et, parce que d'autres techniques précises et d'emploi facile Peuvent être utilisées.

b) /hématimètre

Le comptage exact des spermatozoïdes peut être réalisé en utilisant un hématimètre

Pour effectuer cette mesure, un échantillon de sperme est prélevé et dilué dans une solution saline ou de formaldéhyde pour rendre les spermatozoïdes plus visibles.

L'échantillon est ensuite placé sur l'hématimètre et observé sous un microscope. En

Comptant le nombre de spermatozoïdes dans une zone spécifique de l'hématimètre

en multipliant ce chiffre par le facteur de dilution, il est possible d'obtenir un Comptage précis des spermatozoïdes (L'OMS ,2010)

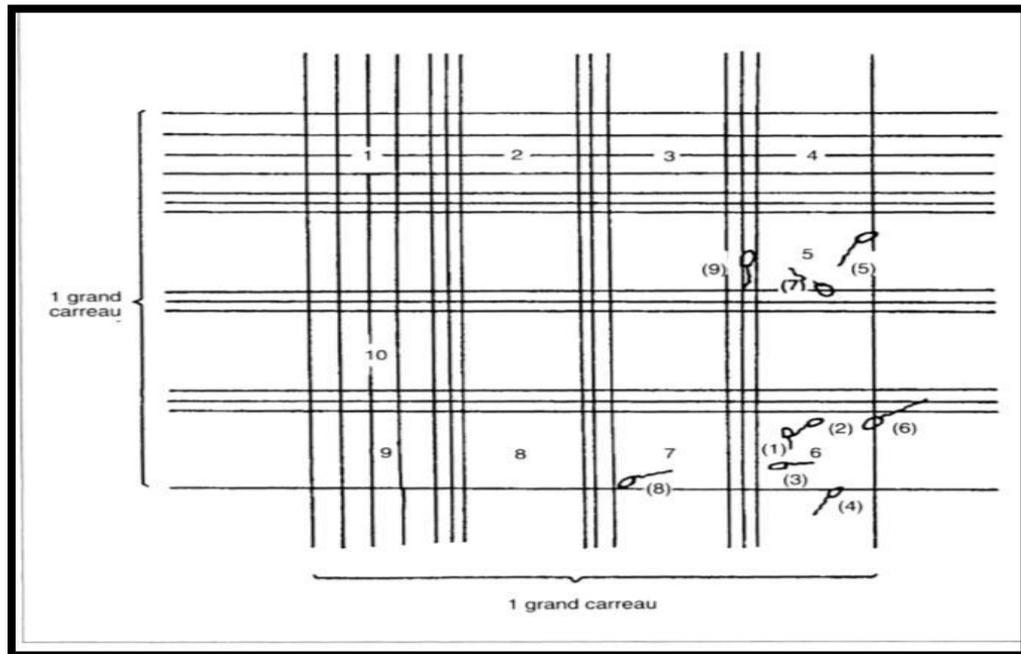


Figure 01 : comptage des spermatozoïdes dans l'hématimètre (Baril, *al* 1993)

c) Spectrophotomètre

Ou néphélométrie, c'est une méthode utilisée dans les centres d'insémination

Artificielle. Pour évaluer la concentration en spermatozoïdes, une méthode courante pour d'analyser l'opacité de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre ou d'un colorimètre.

(Belhamiti ,2007).

Chez les races saisonnées, Il existe une relation inverse entre la concentration spermatique et le volume de l'échantillon. En dehors de la saison de reproduction, la concentration Spermatique est élevée, tandis qu'en saison sexuelle, elle est faible.

Ces variations sont le reflet de la synthèse et de la sécrétion des glandes annexes.

Celles-ci sont stimulées par la testostérone qui est élevée en saison sexuelle et basse en Contre saison.

2.1.2 Motilité

2.1.2 Motilité massale

Dès que la semence est collectée, il est possible d'évaluer la mobilité de manière rapide et facile à travers un examen microscopique. Une goutte de sperme pur est déposée sur une lame et placée sur la platine chauffante du microscope (37-38°C) sous un grossissement de 80.

L'observation doit être effectuée très vite car la motilité massale du sperme pur, à cette température, diminue rapidement après 15 à 20 secondes. La mesure est effectuée en utilisant une échelle qui s'étend de zéro à cinq. (Tableau I). (Baril et al, 1993)

Cette méthode est capable de détecter avec assez d'efficacité les éjaculats dans lesquels les Spermatozoïdes sont morts ou ont une mobilité très faible. Cependant, cela n'est pas possible avec précision lorsqu'il s'agit de distinguer les éjaculats contenant des pourcentages différents de spermatozoïdes mobiles ou de différentes motilités individuelles.

(Maxwell et Evans, 1987 ; Baril et al, 1993).

Elle repose principalement sur 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. Ces facteurs devraient être considérés lors de l'analyse de l'évaluation de la motilité massale (Hanzen, 2015).

Tableau I : La notation de motilité massale des spermatozoïdes

NOTE	ASPECTS DE MOUVEMENT
0	Immobilité totale
1	Mouvement individualisé
2	Mouvement très lente
3	Motilité massale général de faible amplitude
4	Motilité massale rapide, sans tourbillons
5	Motilité massale rapide, avec tourbillons

2.1.3 Motilité individuel

On procède en diluant une faible quantité de sperme dans du lait écrémé, puis en le

Plaçant entre une lame et une lamelle. Ensuite, on observe le mélange sous un microscope à Contraste de phase, qui est équipé d'une platine chauffante.

Note sur l'échelle de 0 (absence de mouvement de spermatozoïdes) à 5

(Spermatozoïdes fléchant avec un mouvement rectiligne) est attribuée.

Il est préférable d'évaluer la qualité d'une semence en se basant sur la motilité individuelle plutôt que sur la motilité collective. (Tableau II) (Baril et al. 1993)

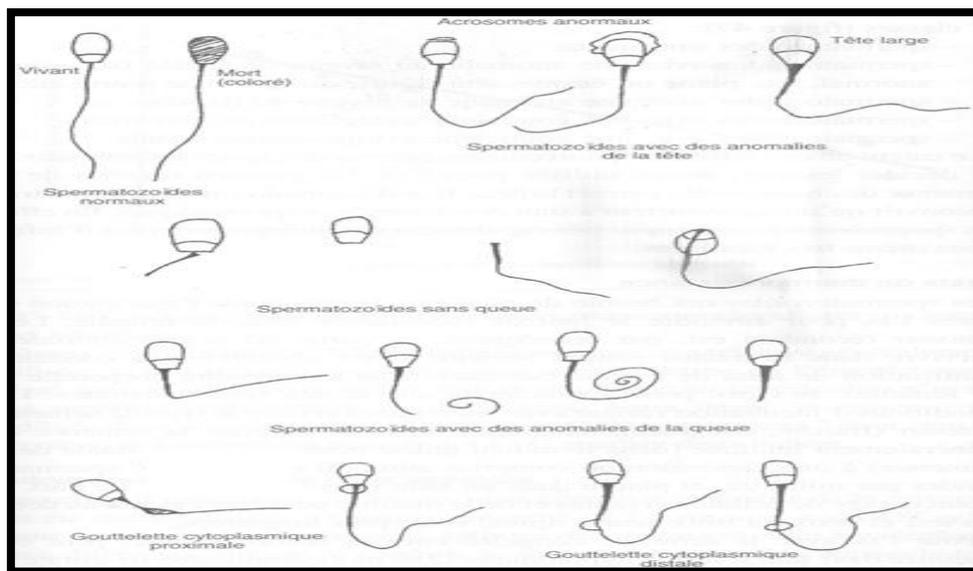
Tableau II : La notation de motilité individuelle des spermatozoïdes.

NOTE	MOTILITE INDIVIDUELLE
0	Pas de déplacement de spermatozoïdes
1	Déplacement très lente Ou pasde déplacement, tremblement de spermatozoïdes, oscillations de la queue
2	Déplacement lente, tremblement, mouvement inorganisé, quelques spermatozoïdes se déplacent plus rapidement
3	Les spermatozoïdes effectuent de déplacement curvilinéairesans tremblement
4	Déplacement rapide, quelque cellule avec un trajectoire rectiligne, d'autres avec un trajectoire courbe.
5	Déplacement rectiligne et rapide des spermatozoïdes.

2.1.4 Examen morphologiques

2.1.4.1 Morphologie de spermatozoïdes

Le spermatozoïde est composé de trois parties : la tête, le col et le flagelle, et ces parties varient d'une espèce à l'autre. La tête contient le noyau et les mitochondries et peut prendre différentes formes et dimensions selon l'espèce, chez le bouc où elle mesure 8 microns de longueur sur 5 microns de largeur. Les spermatozoïdes présentent une grande diversité de formes et de tailles en fonction des espèces animales. (Hanzan, 2009).



.Figure : 02 Anomalies morphologiques de spermatozoïdes de bouc (Baril et al, 1993)

2.1.5 Analyse de la vitalité

Nous pouvons suivre l'évolution de vitalité en passant par deux tests, qui sont :

2.1.5.1 La coloration éosine nigrosine

Cette technique de coloration repose sur la caractéristique selon laquelle les cellules mortes sont perméables à certains colorants, tels que l'éosine, qui pénètre dans les membranes plasmiques endommagées. En évaluant un échantillon de 200 spermatozoïdes, cette méthode nous permet de déterminer le pourcentage de spermatozoïdes en vie : ceux en blanc ont une membrane cellulaire intacte, qui ne réagit pas à la coloration à l'éosine, tandis que ceux en

rouge présentent une membrane endommagée permettant à l'éosine de Pénétrer à l'intérieur de la cellule. La nigrosine est seulement utilisée pour colorer le fond du frottis. **(Dussault, 2009)**.

2.1.5.2 La technique

Procédez comme suit : déposez deux gouttes de sperme dans un récipient, puis ajoutez deux gouttes de solution aqueuse d'éosine à 1 % et mélangez bien au vortex. Patientez 30 secondes, avant d'ajouter deux gouttes de solution aqueuse de nigrosine à 10 % et de bien mélanger à nouveau. Posez ensuite une goutte de ce mélange entre une lame et une lamelle, et comptez 200 spermatozoïdes au grossissement 40X. **(Dussault, 2009)**.

2.1.6 Test hypo osmotique (Host)

Le test Hypo-Osmotique de Gonflement (Host) est un moyen pour vérifier si les cellules Spermatiques ont une membrane de flagelle intacte. Cette méthode implique l'ajout de Sperme dans un milieu ayant une concentration de solution inférieure à celle des cellules, Également appelée milieu hypotonique, et maintenu à une température corporelle normale Pendant un certain temps. Ensuite, la réaction des spermatozoïdes est observée pour Évaluer leur gonflement ainsi que la courbure de leurs flagelles en examinant le frottis. Cette Technique permet de distinguer les spermatozoïdes réactifs des spermatozoïdes non réactifs. Le principe de ce test repose sur le caractère semi-perméable d'une membrane cellulaire Intacte. En présence d'un milieu extracellulaire hypo-osmolaire, l'eau pénètre dans la cellule Afin de rétablir la pression osmotique de chaque côté de la membrane. Cette réaction se traduit par un gonflement de la cellule qui est visible en microscopie optique. En revanche, Une cellule dont la membrane est altérée perd sa capacité osmorégulatrice et ne gonfle pas en milieu hypo-osmolaire. **(Forges, 2001)**.

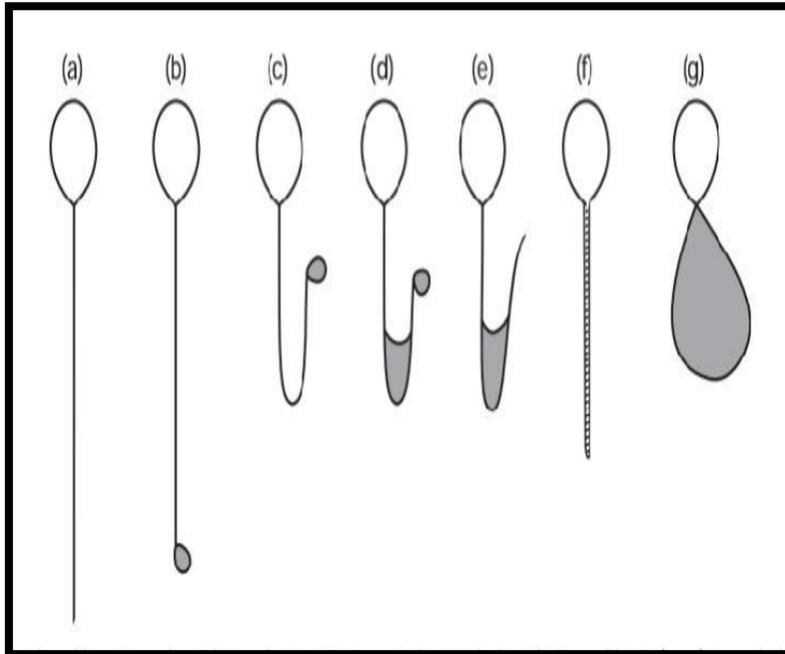


Figure 03:HOST (hypo-osmotic swelling test) types de réaction membranaire du flagelle au stimulus hypo-osmolaire

2.1.7 Examen Bactéριο-virologique

La coloration d'exclusion doit être réalisée lorsque l'on suspecte une infection du tractus génital, en particulier si le sperme est pollué par des polynucléaires. Bien que le sperme soit normalement stérile, il peut être contaminé pendant le processus de collecte par des germes saprophytes tels que *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium*, *Entérocoques*, *Proteus* et entérobactéries. Cependant, l'identification d'un germe ne le rend pas nécessairement responsable de l'affection. (Hanzan, 2009.)

2.2 Relation entre la semence et la fertilité

Plusieurs études ont été menées afin de trouver une relation entre les résultats des tests effectués en laboratoire et la capacité des spermatozoïdes à fertiliser les femelles inséminées avec cette semence. Néanmoins, il a été observé que la fécondité ne dépend pas uniquement de la qualité de la semence, mais également du moment de l'ovulation de la femelle - qu'elle soit naturelle ou induite par des hormones - ainsi que du site auquel la semence est déposée. Ces tests ont pour principale utilisation d'identifier les échantillons de semence de mauvaise qualité ou ceux qui n'ont pas résisté efficacement à la congélation et La décongélation. Cependant, avec des échantillons de qualité « utilisable », la corrélation

Revue bibliographique

Entre les résultats des tests en laboratoire et la capacité à fertiliser les femelles n'est pas très élevée. (**Baril et, 1993**).

Lieu et période de l'étude

Ce travail à été réalisé dans la plateforme des biotechnologies liés à la reproduction des Carnivores au niveau de service de l'analyse de semence de l'université Saad dahleb Blida 1.



Figure 04 : plateforme des biotechnologies liées à la reproduction des carnivores.

3 Matériel et méthodes

3.1 Matériel de l'laboratoire

3.1.1 Système CASA



Figure 5 : Système CASA (L'analyseur de sperme IVOS II)

Est un système d'imagerie automatisé et assisté par ordinateur (CASA) développé par la Société Hamilton Thorne. Il utilise des technologies avancées pour analyser la morphologie, La motilité et la concentration des spermatozoïdes dans un échantillon de sperme. Le système d'analyse de sperme IVOS II est composé d'une chambre d'analyse, d'un Microscope à haute résolution, d'un logiciel de microscopie assistée par ordinateur et d'un Système de contrôle de température.

3.1.2 Appareillage

- 1) Etuve
- 2) Vortex
- 3) Eppendorf
- 4) Micropipette
- 5) Lame porte objet et lamelle couvre objet
- 6) Dé congélateur à 37 °C
- 7) Mandarin de pistolet d'insémination
- 8) Bt Cryoprotecteur
- 9) boîte de rangement des lames
- 10) microscope binoculaire

11) microscope binoculaire



.Figure 06 : appareillages de laboratoire.

3.1.3 Produit

- 1) Solution hypotonique
- 2) L'eau physiologique
- 3) Solution commercial Easy buffer A
- 4) Colorant Diff-Quick®
- 5) Colorant Eosine/ Nigrosine

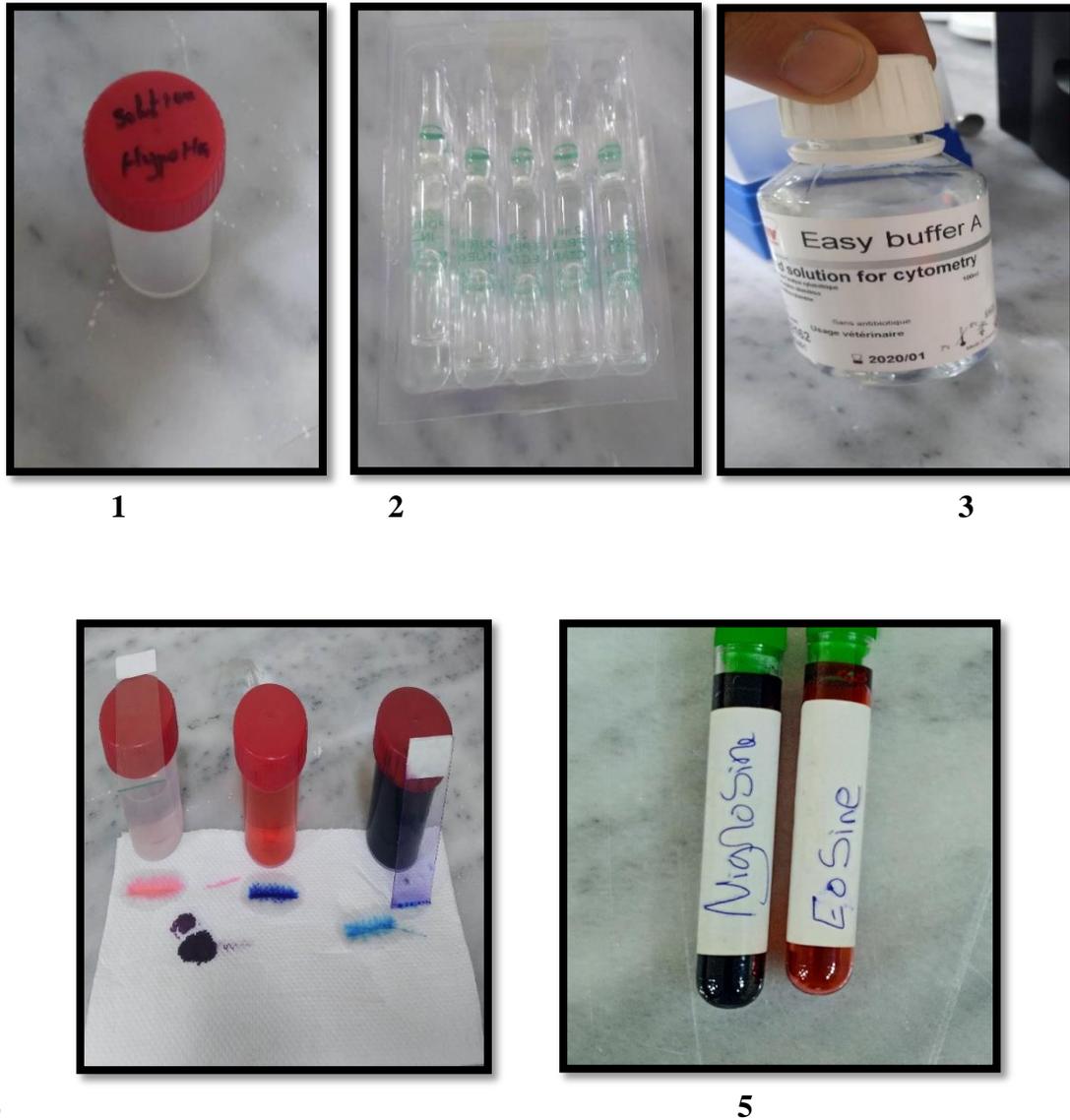


Figure 07 : produit et réactif

3.1.4 Les paillettes

Nous avons utilisé dans cette étude 16 paillettes congelées caprine de deux races alpine et Saanen, conservées dans l'azote liquide (-196 °C).

Il convient de noter que les paillettes renferment les informations suivantes.

- ✓ Date de collecte
- ✓ N° national du bouc.
- ✓ Nom du bouc
- ✓ Centre de collecte

Matériel et méthodes

- ✓ Code barres
- ✓ Race

Tableau 04 : identification des paillettes

N° de paillettes	Centre de collecte	Date de production	N°de lot	La Race	Le bouc
8	CNIAAG	22/11/2013	3443	Saanen	AIRO
8	CNIAAG	22/11/2013	NI	Alpine	NI

4-Méthode

Vérification de quantité d'azote liquide

Avant de décongeler la paillette, nous devons mesurer la quantité d'azote liquide. Cela nous permettra de nous assurer qu'il y a suffisamment d'azote liquide pour maintenir la température des paillettes en dessous de -196 .

Il est crucial de surveiller en permanence le niveau d'azote afin de maintenir une plage idéale de 12 à 17. Cette surveillance doit être effectuée pendant le stockage et avant toute l'utilisation de substances.

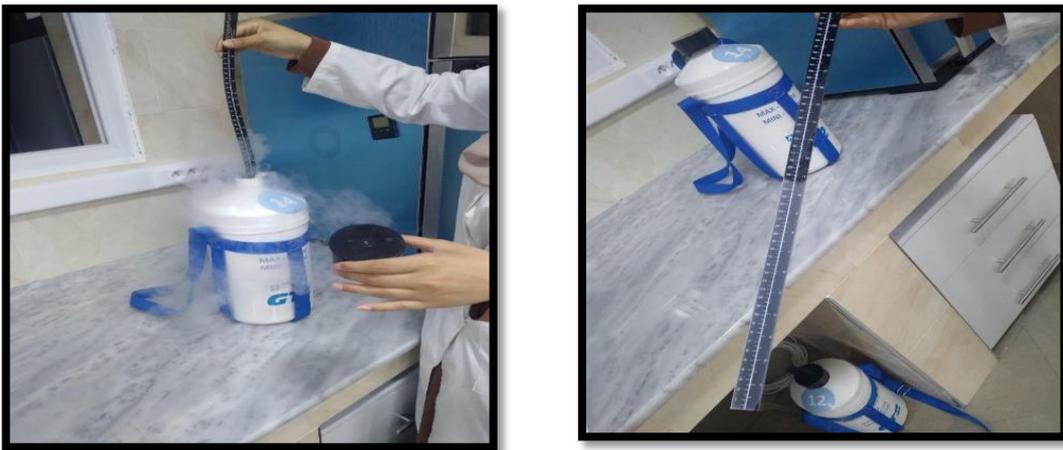


Figure 08: mesure de quantité de l'azote liquide

3.2 Décongélation de paillette

Tout d'abord, la paillette qui était conservée dans l'azote liquide (-196°C) est placée dans un bain-marie pendant 30 secondes à une température de 37°C pour la décongeler. Il est essentiel de bien sécher la paillette en utilisant du papier absorbant pour éliminer toute l'eau résiduelle, car l'eau peut endommager les spermatozoïdes. Une fois séchée, la paillette est secouée pendant quelques secondes, puis l'extrémité est ouverte en découpant le côté soudé. Ensuite, le mandrin est inséré dans le côté du coton pour pousser le sperme hors de la paillette. Il est important de gratter toute l'extrémité de la paillette pour récupérer tout le sperme. Le sperme est ensuite transféré dans un tube Eppendorf et placé sur une grille chauffante à une température de 37°C pour maintenir la qualité et la viabilité des spermatozoïdes.



Figure 09 : Méthode de décongélation des paillettes.

3.3 Analyse de la vitalité des spermatozoïdes

a) Test Eosine/nigrosine

La vitalité des spermatozoïdes est mise en évidence grâce à une coloration à l'éosine-nigrosine, qui permet d'observer l'intégrité de la membrane cytoplasmique des Spermatozoïdes. Pour réaliser cette analyse, 40 μ l (une goutte) de semence diluée à 1/40 èmesont prélevés à l'aide d'une micropipette et déposés sur une lame.

Ensuite, un goutte d'éosine (40 μ l) et une goutte de nigrosine sont ajoutés, mélangés et laissés Agir pendant 2_ 3 min et on étale le mélange Après avoir étalé le mélange sur la lame, celle-ci est séchée à l'air libre pendant 30 minutes.

b) Test hypo-osmotique (Host)

L'objectif du test hypo-osmotique est d'évaluer la vitalité des spermatozoïdes. Il consiste à placer le sperme dans une solution hypo-osmotique (120 microlitre) qui été préparer au Préalable et chauffée à 37 pendant 45min. Les spermatozoïdes qui ont une membrane Plasmique intacte vont réagir à cette solution en gonflant et en montrant une activation de Leur flagelle, ce qui indique leur capacité de mobilité et de fécondation (spermatozoïdes vivant).

C) La morphologie des spermatozoïdes

Pour évaluer la forme des spermatozoïdes, il est nécessaire de les examiner au microscope Optique après les avoir colorés au préalable. Pour observer les spermatozoïdes au Microscope optique, il est nécessaire de diluer l'échantillon de sperme. La dilution se fait en Mélangeant 40 microlitres de sperme avec 120 microlitres d'une solution de dilution Appelée Easy Buffer A. Cette dilution correspond à une dilution de 1/3ème, ce qui signifie que le sperme est dilué 3 fois son volume initial. Cette étape est nécessaire pour que les Spermatozoïdes puissent être visualisés avec précision sous le microscope optique.



Figure 10:préparation de la lame de morphologie

3.4 Analyse par système HAMILTON THORN IVOS II (HT IVOS II)

- Par une pipette prélever une petite quantité de sperme décongelé (3 à 4 μ l) et la transférer dans une chambre de comptage spécialement conçue pour le système HAMILTON THORN IVOS
- Pour la dilution de semence, à l'aide d'un pipetteprélève un volume de 40 μ l de sperme avec un volume de 120 μ l de solution Easy Buffer A pour obtenir une concentration de 2millions de SPZ./ml.

Matériel et méthodes

- Insérer la chambre de comptage dans le système d'analyse de sperme HAMILTON THORN IVOS II.
- Lors d'une analyse de sperme, l'échantillon est placé dans la chambre d'analyse et

Maintenu à une température de 37°C

- . Le microscope analyse ensuite l'échantillon en utilisant plusieurs zones prédéfinies (A, B, C et D), avec plusieurs images capturées par zone.
- Les images sont ensuite analysées par le logiciel pour calculer avec précision la motilité, la morphologie et la concentration des spermatozoïdes



. **Figure 11** : Les étapes d'analyse d'échantillon par le système HT IVOS

Les paramètres obtenus grâce au système HT IVOS II sont les suivants :

❖ **Paramètres cinétique**

- ✓ Vitesse moyenne (VAP, $\mu\text{m/s}$)
- ✓ Vitesse de déplacement linéaire (VSL, $\mu\text{m/s}$).
- ✓ Vitesse curvilinéaire (VCL, $\mu\text{m/s}$)
- ✓ L'amplitude de mouvements latéraux de la tête (ALH, μm).

Matériel et méthodes

- ✓ Straightness (STR)
- ✓ Fréquence de croisements des trajectoires (BCF, Hz).
- ❖ **Pourcentage de mobilité**
 - ✓ Pourcentage des spermatozoïdes mobiles (MOT, %)
 - ✓ Pourcentage des spermatozoïdes progressifs (PROG, %)
- ❖ **Paramètres Morphologiques**
 - ✓ Pourcentage des spermatozoïdes normaux
 - ✓ Gouttelette proximale
 - ✓ Gouttelette distale
 - ✓ DMR
 - ✓ Flagelle replié.
 - ✓ Flagelle enroulé

Résultats et discussion

1-Statistique descriptive des paramètre cinétique des 16 paillette évaluée par le système HT IVOS II

- VCL

L'analyse de la vitesse curviligne des spermatozoïdes VCL

La figure représente la moyenne et l'écartype des valeurs de la vitesse curviligne des spermatozoïdes VCL des deux races Alpines et Saanen qui sont respectivement de $180,9 \pm 45 \mu\text{m/s}$ et de $176,46 \pm 43,5 \mu\text{m/s}$

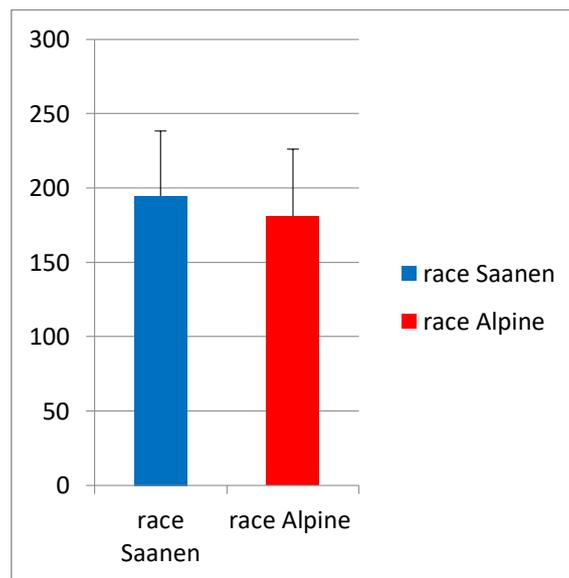


Figure 1: moyenne et l'écartype des valeurs vitesse curviligne des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine).

Selon l'étude des (BRAVO et al., 2011), pour qu'un SPZ soit considéré comme mobile, sa VCL doit être supérieure à $20 \mu\text{m/s}$. de plus, ils ont classé les spermatozoïdes en trois catégorie : lent, moyenne ou rapide, en fonction de leur VCL. nos résultats pour la Saanen et Alpine sont nettement supérieure au résultats de cet auteur .

- les résultats de la vitesse moyenne et l'écartype de la VAP, des spermatozoïdes ont montré une valeur de $127,22 \pm 34,66 \mu\text{m/s}$ pour la semence Saanen et $117,29 \pm 19,9 \mu\text{m/s}$ pour la semence Alpine.

$P=0,6$ Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre la VCL des SPZ des deux races.

- **VSL**

- ❖ Les valeurs de La VSL, vitesse rectiligne des spermatozoïdes de la semence des deux races Saanen et Alpine sont représenté comme suit : moyenne et l'écartype des valeurs qui sont respectivement de $117.99 \pm 32,92 \mu\text{m/s}$ et $106.38 \pm 18,43 \mu\text{m/s}$

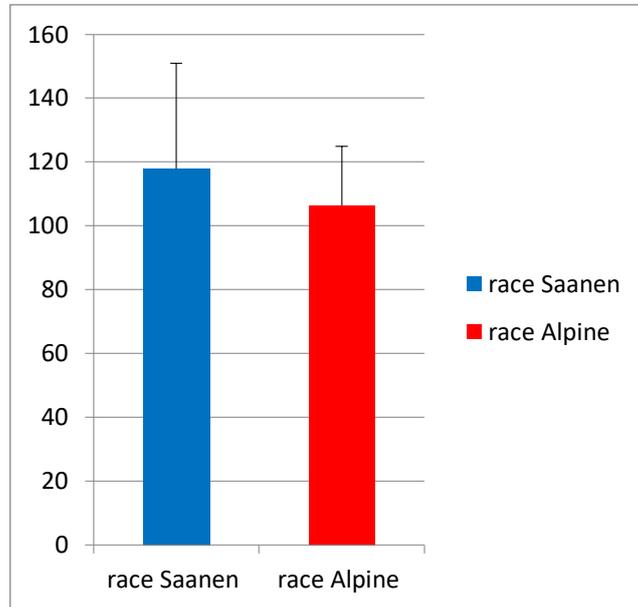


Figure 2: moyenne et l'écartype des valeurs VSL des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine).

Selon l'étude de (Derado *et al.*, 2010) qui à trouvée la VSL de 104.6 ± 0.64 étudiée sur semence fraiche de caprin de Florida

$P=0.4$ statiquement il n'ya pas de différence significative entre la VSL des Spz des paillettes des deux race Alpine et Saanen

Résultats et discussion

- VAP

La figure représente la moyenne et l'écartype des valeurs de la vitesse de déplacement des spermatozoïdes VAP des deux races Alpines et Saanen qui sont respectivement de $127,2 \pm 34,6 \mu\text{m/s}$ et $117,29 \pm 19,9 \mu\text{m/s}$

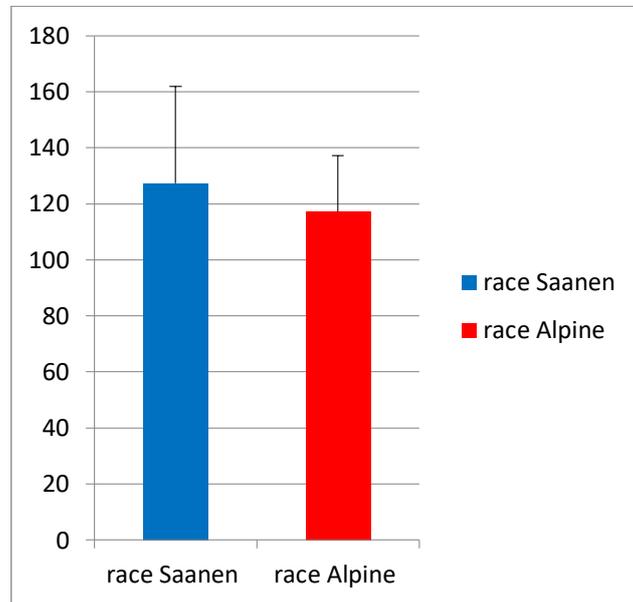


Figure 3 :moyenne et l'écartype des valeurs vitesse de déplacement moyenne des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine).

Pour évaluer les spermatozoïdes comme étant rapides, il est important que leur VCL (vitesse curviligne moyenne) et leur VAP (vitesse de déplacement moyen) se situent entre $45 \mu\text{m/s}$ et $75 \mu\text{m/s}$ (**manuel CASA**)

Les résultats la VAP de la race Saanen sont supérieure que ceux de race Alpine.

$p=0.53$ statistiquement il n'ya pas de différence significative entre VAP des Spz des deux race

Résultats et discussion

- LIN%

*LIN, correspond à la proportion de trajectoires droites empruntées par les spermatozoïdes, nos résultats concernant LIN ont montré des valeurs moyennes et l'écartype qui sont respectivement de $61 \pm 0,07\%$ et $59 \pm 0,08\%$ pour la race Saanen et Alpine

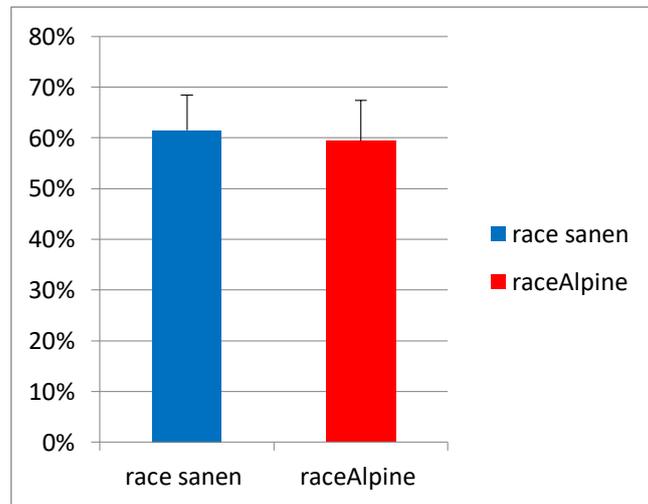


Figure 4 : moyenne et l'écartype des valeurs LIN% des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine).

Le pourcentage de linéarité de la trajectoire courbe (LIN), est un paramètre essentiel pour évaluer la mobilité des spermatozoïdes pour féconder l'ovocyte dans l'ampoule, le spermatozoïde doit parcourir la distance en utilisant moins d'énergie (**manuel CASA**)

$P=0,75$ Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre la LIN% des Spz des deux races.

- STR %

La figure 17 suivante montre le taux moyenne et l'écartype des valeurs de la STR% de la semence Saanen et Alpine sont respectivement de $91 \pm 0,02\%$ et $86 \pm 0,06\%$.

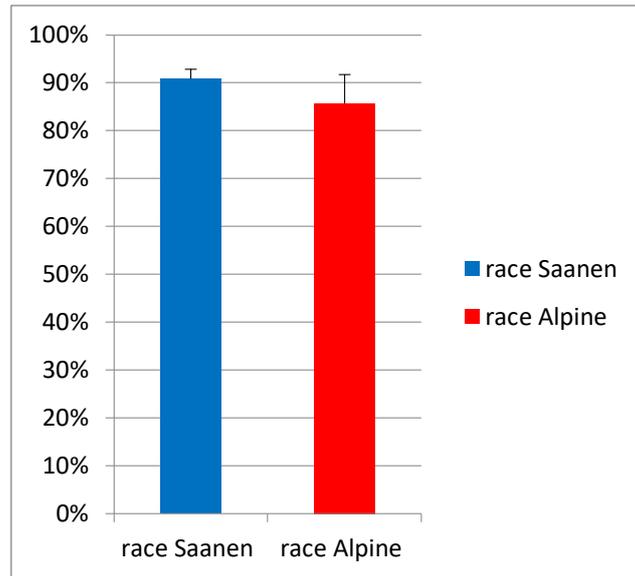


Figure 5: moyenne et l'écartype des valeurs STR% des spermatozoïdes de deux race (Saanen et Alpine).

Dans le but d'évaluer la progression des spermatozoïdes, les indices de LIN

Et de rectitude de la trajectoire STR sont couramment utilisé. La valeur de LIN permet de mesurer la rectitude de la trajectoire des SPZ, avec une valeur minimale qui doit atteindre 59% (TOMAS, 2007). Quant a l'indice STR, il indique la rectitude du mouvement .afin qu'un SPZ soit considéré comme progressif, il doit présenter un STR supérieure à 80% (OMS, 2010)

Il ressorte des résultats obtenus que les taux de LIN et STR chez les deux races (Saanen et Alpine) sont de 61.46% et 59.39%(LIN) et 90.7%et 85.66% (STR) respectivement.il est à noter que nos résultats Sont opposés a ceux obtenus par ABED, (2018), qui sont de 58.6% et 77.46% (LIN) et 38.6% et63.4% respectivement.

P= 0,09 Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre la STR% des Spz des deux races.

- **La motilité progressive**

Le figure18 ci-dessus représente les moyennes et l'écartype des taux de la motilité progressif totale des SPZ des deux races (Saanen et Alpine), on remarque que ce paramètre est presque

Résultats et discussion

identique pour les deux races ; $17.11 \pm 0,08\%$ chez la race Alpine et $17.03 \pm 0,06\%$ pour la race Saanen.

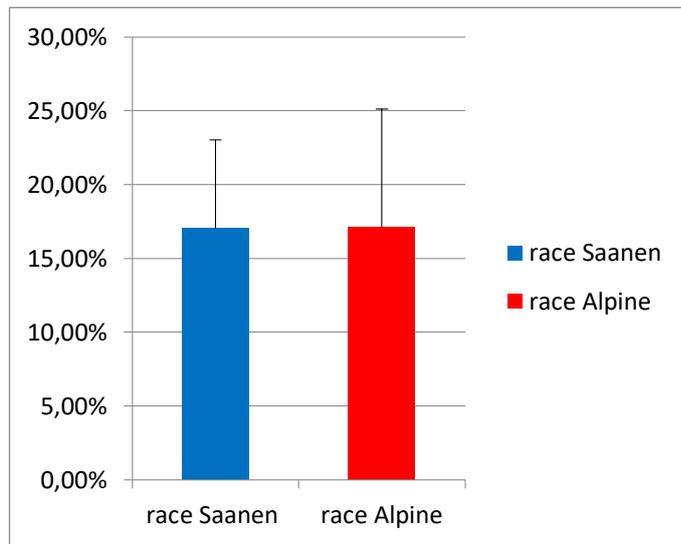


Figure 6: les moyennes et l'écart-type des taux de motilité des spermatozoïdes chez la race Saanen et Alpine

Et selon (HANZEN) et (INR PROD), 1998, pour qu'un sperme soit considéré comme ayant une très bonne qualité il doit contenir au moins 80% à 100% des spermatozoïdes mobiles. Et qu'un sperme de faible qualité présentera 40% de spermatozoïdes mobiles. Donc en conclusion, la qualité de semence est faible et la motilité des spermatozoïdes pas.

La qualité des spermatozoïdes est appréciée *in vitro* en mesurant le pourcentage de survie et la motilité individuelle des spermatozoïdes après dégel à $+37^{\circ}\text{C}$ d'une paillette de chaque éjaculat congelé. Seuls sont retenus les éjaculats présentant après dégel au moins 30% de spermatozoïdes mobiles et une motilité individuelle au moins égale à 3,0 sur une échelle allant de 0 à 5,0. En moyenne 70% des éjaculats ainsi traités sont conservés pour être utilisés par IA. (INR PROD, 1998)

$P=0,79$ Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre le taux des spermatozoïdes progressifs des deux races.

- la concentration

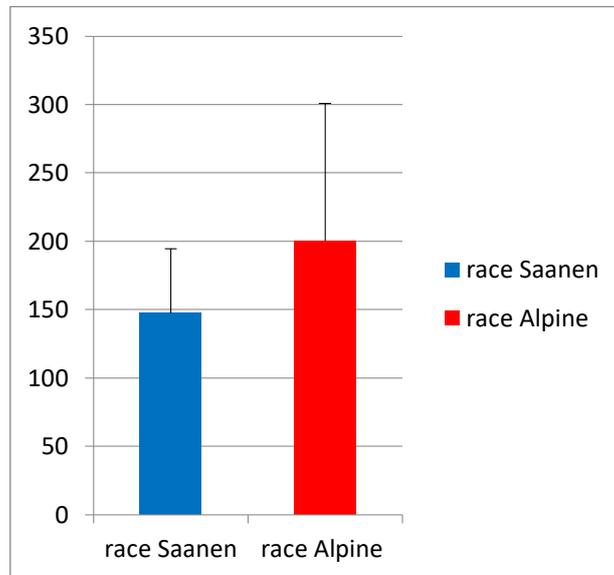


Figure 7: la moyenne et l'écartype des concentrations des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen, mesurée par le CASA

Dans la (figure 18), le graphique illustre la concentration de spermatozoïde mesuré via le système CASA. On peut observer une concentration spermatique de moyenne de 147.27 ±47,26 M/ml de l'échantillon analysé pour la semence Saanen et une moyenne concentration Plus élevé pour la semence Alpine alors qui est de 200.24±100,48 M/ml.

P=0 ,29 Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre la concentration en spz des paillettes des deux races.

.Selon les résultats de l'étude menée par (Cortell 1977), chez les races saisonnières, la concentration spermatique évolue de manières inverses par rapport au volume : elle est plus élevée en dehors de la saison de reproduction et plus faible pendant cette période. Toutefois, ces résultats peuvent être influencés par la dilution requise pour l'analyse du sperme

Chez les caprins, la semence produite pour l'insémination artificielle est conditionnée en Paillettes de 0,25 ml contenant environ 100.106 spermatozoïdes totaux.

Résultats et discussion

Pour conserver le sperme à long terme, un processus de cryoconservation est utilisé. Ce processus implique tout d'abord la congélation du sperme pendant trois heures à une température de 4°C. Ensuite, le sperme est placé dans de petites paillettes et conservé dans de l'azote liquide pendant plusieurs années (Baiee et al., 2017).

2-Etude comparatif de la vitalité analyser par microscope optiqueGX40 pour les deux races (Saanen et Alpine)

La Figure19 représente la moyenne et l'écartype de la vitalité des spermatozoïdes mesuré par la méthode éosine /nigrosine

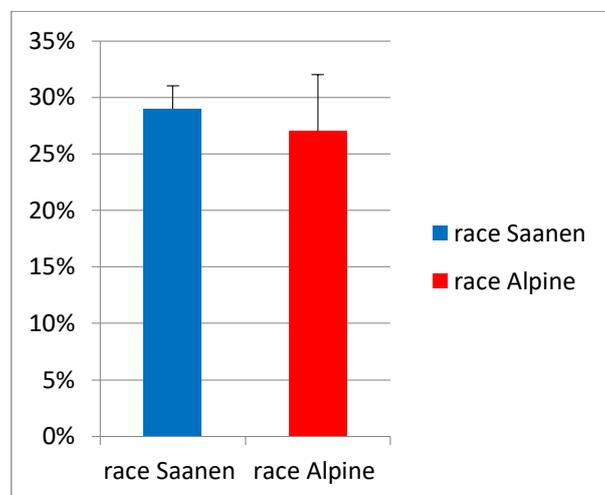


Figure 8: la moyenne et l'écartype de vitalité éosine /nigrosine des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen

Le graphique indiqué dans la figure 20représente le nombre moyenne de vitalité des spermatozoïdes pour les deux races (Alpine et Saanen), analyser par la méthode hypo osmotique observer par un microscope optique GX(40).

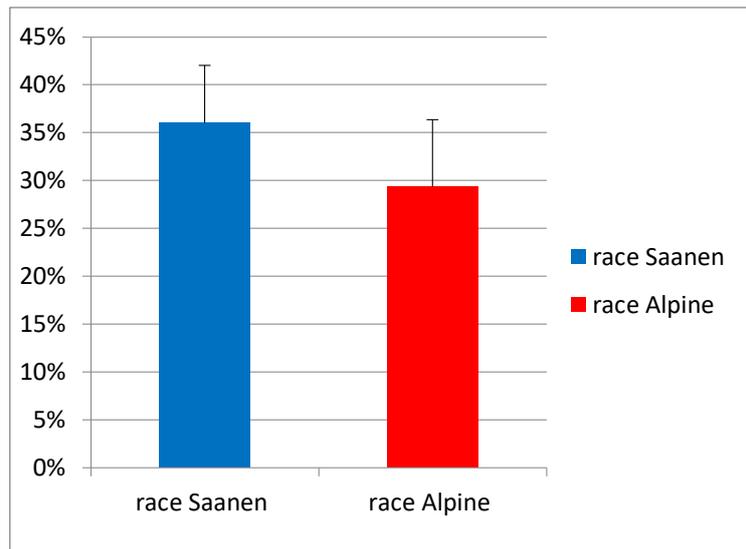


Figure 9: la moyenne et l'écartype de teste hypo-osmotique des spermatozoïdes des deux races Alpine et Saanen

Dans la première méthode (E/N), on remarque que la moyenne et l'écartype de la vitalité chez la race Saanen est de $29 \pm 0.02\%$ sur 200 SPZ analysé ce qui est presque identique à celle de race Alpine $27 \pm 0.05\%$ sur 200 SPZ analysé.

$P=0,67$ Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre Le taux des spz vivants des paillettes des deux races mesuré par la méthode E/N.

Dans la deuxième méthode (hypo -osmotique), il ressorte que la moyenne et l'écartype de la vitalité chez la race Saanen est de $36 \pm 0.06\%$ ce qui notamment supérieure à celle de race Alpine $29.38 \pm 0.07\%$

Cette valeur est inférieure à la norme d'acceptation en IA la plus restrictive qui est d'au moins 50% des spermatozoïdes vivant.

$p=0,71$ Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre Le taux des spz vivants des paillettes des deux races mesuré par la méthode HOST.

Ces résultats pourraient s'expliquer par deux éléments à savoir :

- Une relative amélioration dans la gestion de la qualité en production de semence GNIAAG 2013 par rapport à la période actuelle de préparation des paillettes

Résultats et discussion

- Une différence des techniques d'analyse utilisées

D'après le graphique présenté par la figure 20 : on voit que le pourcentage des spermatozoïdes mort dans la semence des races Saanen et Alpine est de 71.86% et 72.93% respectivement par rapport à totale de 200 spermatozoïdes étudiée.

Selon (colas et al .1975 ; colas1980) le ratio les spermatozoïdes morts ou anormaux doivent être comprise entre 20 et 26%

A noter que dans nos résultats le taux des spermatozoïdes était bien supérieur à 26%

Le processus de congélation a un impact sur l'intégrité de la membrane spermatique .les recherche suggèrent que les altérations de la membrane débutent plus tôt au niveau de la tête de spermatozoïde qu'au niveau du flagelle .Néanmoins, les travaux de (Bechtel et de son équipe)

Etude comparatif de la morphologie analyser par le CASA et le microscope optiqueGX40 pour les deux races (Saanen et Alpine)

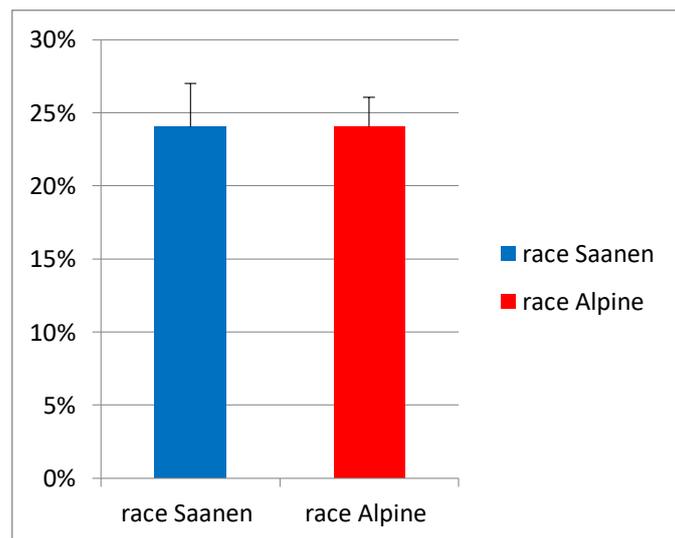


Figure 10: moyenne et l'ecartype des SPZ normale étudiée par le microscope optique GX40

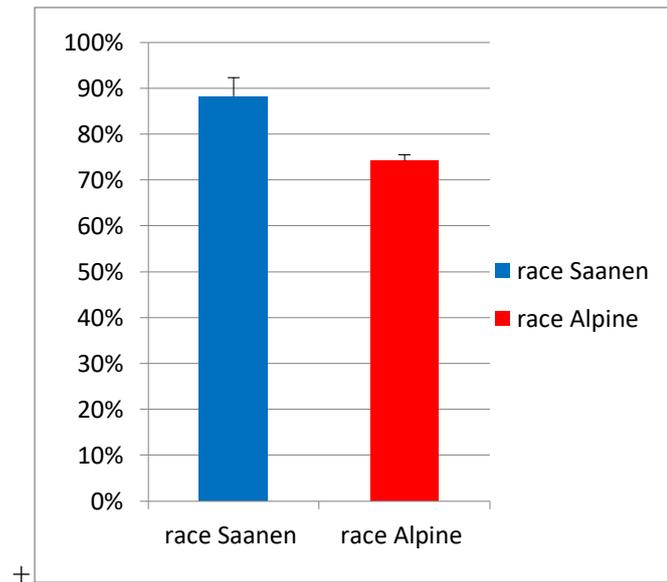


Figure 11: la moyenne et l'écartype des spermatozoïdes normaux des deux races Alpine et Saanen, mesurée par le CASA

Le pourcentage moyenne et l'écartype des spermatozoïdes normaux évalué par le système CASA est $88.26\% \pm$ et $74.20\% \pm$ pour les deux races (Saanen et Alpine) respectivement, l'étude obtenu par le microscope optique GX40 c'est $48.37\% \pm$ et $46.62\% \pm$ des spermatozoïdes normaux pour les deux races (Saanen et Alpine) respectivement para port à total de 200 spermatozoïdes étudiée.

$P=0,83$ Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre Le taux des spz normaux des paillettes des deux races mesuré par microscopie.

$P=0.005$ Statiquement il ya une différence significative entre le taux des spz normaux calculé par les CASA de paillettes des deux race et en prend en considération le CASA comme référence

Il ya une déférence nettement significative entre les résultats des deux méthodes (CASA et microscope optique) concernant le taux des Spznormaux, $p=0.007$.

D'après (PINARTetal.,1998) il existe deux type de malformation des spermatozoïdes en fonction de leur origine ,a savoir l'origine testiculaire ou épидидymaire .ces anomalies surviennent lors de processus de spermatogénèse et spermatogénèse ,tandis que les anomalies secondaire sont causées par des facteurs environnementaux physique et chimique aux quels

Résultats et discussion

les spermatozoïdes sont exposée. il a été précédemment rapporté que la formation de cristaux de glace est le principale facteur affectant la morphologie des spermatozoïdes lors de la cryoconservation du sperme (**MORISS, 2006**)

Selon (**Ozkavukcu et al, 2008**) La présentation de la structure morphologique à l'intérieur de la membrane et de l'acrosome de spermatozoïde est primordiale, car certaines caractéristique essentielles à la fécondation doivent être maintenus, notamment l'intégrité de l'ADN, des membranes plasmique de la tête des spermatozoïdes soient plus susceptible aux dommages que celles de la queue.

Le processus de congélation et de décongélation a causé des dommages irréversibles à la tête des spermatozoïdes de chèvre (**ozkavukcu et al., 2008**)

- ❖ Plusieurs éléments prouvent impacté la qualité du sperme une fois décongelé, le choix de l'extendeur, de processus de dilution et de congélation ainsi que la méthode d'analyse (**GALIANA et al., 2021**)
- Une relative amélioration dans la gestion de la qualité en production de semence GNIAAG 2013 para port à la période actuelle de préparation des paillettes
- Une différence des techniques d'analyse utilisées



Conclusion

Conclusion

L'évaluation de la qualité des semences utilisée en insémination artificielle caprin est cruciale car elle conditionne directement la fertilité du troupeau .En effet, l'utilisation d'une mauvaise qualité peut entraîner des problèmes d'infertilité, une augmentation du taux de la mortalité embryonnaire et des malformations congénital chez les chèvres .par conséquent, la qualité des semences est un facteur déterminant dans l'optimisation de la performance reproductive des caprins

A l'issu de cette étude, il est à conclure ce qui suit :

- La concentration spermatique moyenne, une concentration spermatique de l'échantillon analysé pour la semence Saanen et une concentration Plus élevé pour la semence Alpine
- Les pourcentages moyenne de spermatozoïde progressive et motile évalué par le casa sont très faible chez la race Alpine et pour la race Saanen.)

Et s'inscrivent en dessous des normes d'acceptation en
- Le pourcentage moyen de spermatozoïde vivant avec un flagelle de réaction pour les deux races Saanen et Alpine respectivement a donné une moyenne de es spermatozoïdes vivant pour deux race (Saanen et Alpine) respectivement .cette valeur est inferieur à la norme d'acceptation en IA.qui est au moins 50% de numération des spermatozoïdes
- Le pourcentage moyen des spermatozoïdes normaux évalué par le système HT IVOS II pour les deux races (Saanen et Alpine) respectivement, et l'étude obtenu par le microscope optique GX40 c'est des spermatozoïdes normaux pour les deux races (Saanen et Alpine) respectivement notre résultats par microscope optique elle est indiqué une grand différence entre les deux méthodes utilisé .par contre ,l'étude microscopique ce pourcentages n'atteint pas le seuil de la norme qui exige au moins 80% de normaux
- Sur la base des résultats obtenus a l'aide de CASA et microscope optique et leur analyse statistique (concentration, vitesse progressive et morphologieect) la fécondité de la semence est plus satisfaisant pour la semence Alpine

Conclusion

La mauvaise qualité de la semence caprine congelée produite en Algérie s'avère être une cause déterminante par d'autres pouvant expliquer les taux élevés d'échec en IA. Cependant, ces causes ne peuvent être déterminées sans l'implémentation d'un système de gestion de la qualité en production de semence.

Perspectives

- Dans les centres de production de semence caprine, comme le CNIAAG en Algérie, le contrôle qualité (CQ) doit être systématique et porter sur plusieurs facteurs, dont les caractéristiques du sperme qui ont un impact direct sur la fertilité et le succès de l'IA. Par conséquent, l'objectif est de vérifier que les graines obtenues répondent aux attentes de l'utilisateur et ont des capacités de fertilisation alimentées par l'IA.
- Améliorer les conditions de congélation par développement de protocoles de conservation de sperme.

Références

- Abed T., 2018.** Evaluation de la qualité spermatique chez l'espèce caprine et fertilité des Saanen et Alpine dans la région de Akbou (Bejaia). Mémoire de Master. Université de Saad dahleb Blida
- Aboagla, E.M., Terada, T., 2004.** Effect of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*.
- Baiee F.H, Wahid H, Rosnina Y, Ariff O.M, Yimer N, Salman H, Khumran A.M., 2017.** Hypo-osmotic swelling test modification to enhance cell membrane integrity evaluation in cryopreserved bull semen. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.*; 40(2):259–268.
- Baiee F.H, Wahid H, Rosnina Y, Ariff O, Yimer N, Jeber Z, Harighi F.2018.** Impact of *Eurycomalongifolia* extracts on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in chilled and cry preserved bull sperm. *Cryobiology*. 80(2):43–50.
- Baril G, Chemineau P, Cognié Y ., 1993.** « Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins ».
- Belhamiti Belkacem Tahar., 2007.** variations de la production spermatique, insémination artificielle et Diagnostic de la gestation par échographie chez les caprins de la Race locale dans la région de ,Magistère en science vétérinaire, université Iben khaldoun Tiaret.
- Boutih Amira et Boutih Rima ., 2019** Bibliographie sur l'intérêt du cholestérol dans la conservation du sperme, Master en Biologie animale université Abderrahmane Mira, Béjaïa .
- Bravo JA, Montanero J., Calero R., Roy TJ., 2011.** Relación entre variables subjetivas e informatizadas del movimiento espermático del morueco. *Cambre. Zootec.* 2011 ; 60 :1087–1094.
- Cabrera, F., González, F., Batista, M., Calero, P. Medrano, A., Gracia, A., 2005.** The Effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary Buck (*Capra hircus*). *Reprod. Domest. Anim.* 40 (3), 191–195.
- Câmara, D.R., Silva, S.V., Almeida, F.C., Nunes, J.F., Guerra, M.M.P., 2011.** Effect of antioxidants and duration of pre-freezing equilibration on frozen-thawed ram semen. *Theriogenology* 76 (2), 342–350.

Delgadillo J.A., Leboeuf B., Chemineau P., 1993. Maintenance of sperm production in bucks during a third year of short photoperiodic cycles. *Reprod. Nutr. Dev.*, 33,609-617

Dorado J ,Molina ,Munoz ,Serano,hi,Hidalgo M .,2010 . Identification of sperm sub population with defined motility characteristics in ejaculates from Florida goats *theriogenology*:74,795-804

Dussault J., 2009. Spermogramme. *Technologie Médicaux, Quebec*16(2), 1-8.

EVANS (G.) and (W.M.C.) MAXWELL. 1987 . Salmon's Artificial Insemination of Sheeps and Goats.

Butterworths: Sydney , Boston , London Durban Singapore , Wellington.

Forgres P. Monnier-Barbarrino, B. Foliguet T., 2001 ; La vitalité des spermatozoïdes, *Spermiologie, Andrologie*, 11(1), 45-55

Hanzan C 2009., La propriété de l'appareil reproducteur et l'examen du sperm de ruminants, cours de reproduction, université Liège Belgique.

Galiana S, Rinaldo B ,Almela C, poto A, Ruy S .,2021. post – Thaw Qualité of spermatozoa with Three Different Extenders in the Marciano Garandina Goat Breed *Animals* 13(2) : 1-14

Gibbons A., 2002, Inseminación artificial con semen congelado en cabras de raza Angora. *Taureau.* ; 162 : 4–32.

Kimberling C.V., Parsons G.A., 1997. Breeding soundness evaluation and surgical sterilization of the ram. *Current therapy in large animal Theriogenology*, 620-628.

Ozkavukcu, S., Erdemli, E., Isik, A., Oztuna, D., Karahuseyinoglu, S., 2008. Effect of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *J. Assist. Reprod. Genet.* 25 (8), 403–411.

Pinart, E., Camps, R., Briz, M.D., Bonet, S., Egozcue, J., 1998. Unilateral spontaneous abdominal cryptorchidism: structural and ultrastructural study of sperm morphology. *Anim. Reprod. Sci.* 49 (4), 247–268

Purdy, P.H., 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rumin. Res.* 63, 215–225

Romano JE., 2004 Synchronisation de l'œstrus à l'aide de pessaires intravaginaux CIDR, FGA ou MAP pendant la saison d'élevage chez les chèvres nubienne. Petit Rumin. Rés. 2004

Sanou DS., 2019, caractéristique du sperme de bouc sahélien au Burkina Faso, Trupicultura ,2295-8010 Vol 37 N°2, 557.

Leboeuf B, Restall B, Salamoun S., 2003. Production et conservation de la semence de bouc pour l'insémination artificielle. INRA Prod. Anim., 16 (2), 91-99.

Tomás C., 2007. Mémoire de maîtrise. Universidad Politécnica de Valencia; Valence, Espagne. Nuevos Protocolos Para la Crioconservación d'Espermatozoides de Macho Cabrío.

Vera TA, Chagra-Dib EP, Leguiza HD, Brizuela R., Valdivia CL., 2004 Incidence du type de service sur les paramètres reproducteurs de cabras criollas en Los Llanos de La Rioja. Rév. Argent. Prod. Anim. ; 24 : 273–274.

World Health Organization. , 2010 (OMS 2010). WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen "FIFTH EDITION". 978 92 4 154778 9, NLM classification.