

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - 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 la Reproduction

Thème :

Effet de l'alimentation hyperprotéique sur la fertilité chez
les bovins
(Impact sur la qualité spermatique)

Présenté par :

Date de soutenance : 17/07/2022

- **ABERSI CYLIA**
- **BENCHENINA HADDA**

Devant le jury :

| Nom | Grade/ Lieu | Qualité |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Mr. Saidani K | MCA/ISV-UB-1 | Président |
| Mme Makhlouf | MCB/SNV-UB-1 | Examinatrice |
| Mr. BesbaciM | MCA/ISV-UB-1 | Promoteur |
| Mr. Abdelli A | MCA/U BOUIRA | Copromoteur |

Promotion : 2021-2022



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A mon cher **PAPA**, celui qui a été toujours mon support dans cette vie, qui m'a donné le courage éclatant pour continuer. A ma chère et tendre*

***MAMAN**,*

sourcé d'affection de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir atteindre mes objectifs.

*A mes chères sœurs **Kahina, Thanina, Tinhinane** qui me soutient toujours.*

*A mon très cher frère **Aghiles**.*

*A mes neveux **Juba Axil, Sifax, Aylane, Ales**.*

A tous mes amis et mes proches.

*A tous mes collègues de la promotion **BPR** 2021/2022, et tous nos enseignants.*



CYLIA

Dédicace

Je dédie ce travail à toute ma famille

A mes chers parents, que Dieu leurs accorde la santé et le bien-être ; pour toute leurs sacrifices et prières pour moi ; je leurs dis que dieu vous garde mes yeux.

*A mon, cher mari, frère et ami (**Merzak**) ; malgré son travaille très prenant il était toujours là pour moi. Merci de m'avoir encouragé d'aller tous droit.*

*A ma chère et mon âme sœur **Zahia** pour tout le soutien moral qu'elle m'a donné aux moments de ma faiblesse. Merci d'avoir occupé la responsabilité que je dois à mes parents pour m'aider à avancer dans mes études.*

*A mes chères petites filles **Belkis** et **Tinhinane** et ma goutte de miel ; **Malak**.*

A ma chère belle-mère, à mes sœurs, à mes beaux-frères ; que dieu vous protège et vous ravisse dans votre vie

*A ma binôme **Cylia** pour sa compréhension, son aide, sa volonté et son insistance ; et je la dis que le fait de t'avoir connu est un gain pour moi que dieu te protège et te donne tout le bonheur dans ta vie.*

*A madame **Dembri Hassiba** pour le milieu opportun qu'elle m'a assuré au boulot pour la continuité de cette formation ; que dieu te protège ma grande.*

Benchenina Hadda



REMERCIEMENT

On remercie en premier lieu Dieu de nous avoir aidés à entreprendre ce travail et de nous avoir donné la force de le réaliser.

Nos remerciements à SAIDANI.K qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de nos jurys de PFE.

*On tient à remercier grandement Monsieur **Besbaci Mohamed**, notre promoteur pour sa grande disponibilité et ses précieux conseils, ainsi que pour le temps consacré au suivi théorique et pratique tout au long de la réalisation de cette étude.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aussi, à Mme **Makhlouf.C**, qui a aimablement accepté de faire partir de ce jury pour juger notre travail.*

Mes remerciements s'adressent aussi à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Enfin nous remercions toute personne qui nous a aidés de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Table des matières

| | |
|--|----|
| Liste des figures..... | 8 |
| Liste des tableaux..... | 9 |
| Liste des abréviations | 10 |
| RESUME | 11 |
| ABSTRACT..... | 12 |
| الملخص 13 | |
| INTRODUCTION | 14 |
| Partie bibliographique | 15 |
| CHAPITRE I :..... | 16 |
| Alimentation et métabolisme protéique | 16 |
| 1. Alimentation protéique des bovins | 17 |
| 1.1. Les protéines et la matière azotée | 17 |
| 1.1.1. Les constituants azotés ou matières azotées totales (MAT) :..... | 18 |
| 1.2. Les besoins en matière azotée des bovins..... | 20 |
| 2. Métabolisme protéique des bovins | 22 |
| 2.1. Digestion et métabolisme des matières azotées | 22 |
| 2.2. Métabolisme de la matière azotée : | 27 |
| CHAPITRE II : Influence de l'augmentation des matières azotées sur la fertilité..... | 29 |
| 1. Marqueurs de statut azoté..... | 30 |
| 1.1. Ammoniac..... | 30 |
| 1.2. Urée..... | 31 |
| 2. Augmentation de la ration en matière azotée et urémie | 32 |
| 2.1. L'augmentation de la ration en matières azotées | 32 |
| 2.2. Urémie et reproduction..... | 33 |
| 2.2.1. Urémie | 33 |
| 3. Conséquences d'une ration trop riche en azote sur la reproduction : | 35 |
| 3.1. Etiologie des troubles | 35 |
| 4. Pathogénie des troubles de la reproduction | 37 |
| 4.1. Mécanisme d'action | 37 |
| 4.1.1. Toxicité des composés azotés | 37 |
| Chapitre III :..... | 41 |

| | |
|---|----|
| Potentiel fertilisant de male | 41 |
| 1 - La puberté | 42 |
| 2-La spermatogenèse | 42 |
| 2.1. Cinétique de la spermatogenèse | 42 |
| a- Les spermatogonies:..... | 42 |
| 2.3. Contrôle de la spermatogenèse | 44 |
| a-Facteur physique: | 44 |
| 3 - La libido | 46 |
| 4- Le sperme et spermogramme (qualité/quantité) | 46 |
| 5 - Technique de l'insémination artificielle | 47 |
| 5.1. Transport de la semence | 47 |
| 5.2. Décongélation du sperme | 48 |
| 5.3. Technique d'insémination | 48 |
| Partie expérimentale | 49 |
| Objectif de l'étude | 50 |
| Matériels et méthodes | 51 |
| 1. Matériels et méthodes | 52 |
| 1.1. Lieu d'étude | 52 |
| 1.2. Matériel biologique | 52 |
| 1.3. System CASA | 52 |
| 1.4. Conservation du sperme..... | 54 |
| 1.5. Préparation de l'ammoniac | 54 |
| 1.6. Préparation d'échantillon d'étude | 55 |
| 2. Analyse de la mobilité | 56 |
| 3. Analyse de la vitalité | 57 |
| 3.1. Coloration | 57 |
| 3.2. Lecture de vitalité..... | 58 |
| Résultats et discussions | 59 |
| 1. Résultats | 60 |
| 1.1. La vitalité des spermatozoïdes..... | 60 |
| G*T : Interaction de groupe*temps..... | 60 |
| 1.2. La motilité globale des spermatozoïdes | 60 |

| | |
|---|----|
| 1.2.2. Les descripteurs de la motilité des spermatozoïdes | 61 |
| 2. Discussion..... | 62 |
| CONCLUSION..... | 65 |

Liste des figures

| | | |
|--|--|----|
| Figure 1: Diversité et complexité des protéines | 18 | |
| Figure 2: Classification des matières azotes totales (DJAALAB I. 2017) | 19 | |
| Figure 3: Les caractéristiques de l'animal et de la ration et leurs relations. (mayer C. et denis J.P 1999). | 21 | |
| Figure 4: Système digestif des bovins (HALL et SILVER, 2014)..... | 22 | |
| Figure 5: digestion et absorption des protéines | 23 | |
| Figure 6: Utilisation digestive des matières azotées totales | 24 | |
| Figure 7: Dégradation des matières azotées totales et recyclage de l'urée..... | 25 | |
| Figure 8: Schéma simplifié de la digestion des glucides, des lipides et des matières azotées chez le ruminant (Cuvelier et Dufrasne, 2014). | 26 | |
| Figure 9: Schéma général du métabolisme azoté dans l'organisme | 28 | |
| Figure 10: Taux de gestation en fonction de l'urémie plasmatique (P.Faverdin, R.Vérité 1998) | 34 | |
| Figure 11: Ultra structure du spermatozoïde | 44 | |
| Figure 12: Régulation neuroendocrine de la spermatogenèse | 46 | |
| Figure 13 : Des paillettes commerciales de la semence bovine | 52 | |
| Figure 14:L'automate CASA | 53 | |
| Figure 15: Représentation des différentes trajectoires de la tête obtenue par analyses de l'automate CASA. | 53 | |
| Figure 16: Le NaCl | Figure 17:L'ammoniac..... | 54 |
| Figure 18: Préparation de l'échantillon | 55 | |
| Figure 19: Agitation des solutions | 55 | |
| Figure 20: Lecture de la mobilité des spermatozoïdes..... | 57 | |
| Figure 21: Eosine-Nigrosine | Figure 22: Lames colorés à l'éosine-nigrosine..... | 58 |
| Figure 23:Test de Williams sur spermatozoïde bovin. | 58 | |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Influence de l'excès d'azote alimentaire sur l'ammoniémie et sur | 31 |
| Tableau 2: Influence de la dégradabilité de l'azote alimentaire sur la concentration ruminale en ammoniac, sur l'urémie et sur les performances de reproduction chez la vache laitière. | 32 |
| Tableau 3 : Effet du niveau de protéine brute de la ration sur les performances de reproduction (Vissek, 1984). | 34 |
| Tableau 4 : Utilisation de la glycémie et de l'urémie pour le dépistage en routine..... | 39 |
| Tableau 5: Pourcentage de la vitalité des spermatozoïdes dans les deux milieux NH3 et témoin. | 60 |
| Tableau 6: Pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans les différents milieux NH3 et témoin | 61 |
| Tableau 7: Pourcentage de la mobilité progressive des spermatozoïdes dans les différents milieux NH3 et témoin. | 61 |
| Tableau 8: Pourcentage des descripteurs de la motilité des spermatozoïdes | 62 |

Liste des abréviations

AA : Acide Aminé

AGV : Acides Gras Volatiles

ANP : Azote Non Protéique

ATP : Azote Total Protéique

CASA : Computer Assisted Semen Analysis

CVMS : Consommation volontaire de matière sèche

GnRH : Gonadotrophine Releasing Hormone

IA : Insémination Artificielle

IF : Insémination Fécondante

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

IV : Intervalle Vêlage

LH : Hormone Lutéinisante

MA : Matières Azotées

MET : Mort embryonnaire tardive

MS : Matière Sèche

PB : Protéines Brutes

PDI : Protéines Digestibles dans l'Intestin

PDIA : Protéines Digestible dans l'Intestin grêle d'origine Alimentaire

PDIE : Protéines Digestible dans l'Intestin grêle permises par l'énergie (E) apporter par l'aliment.

PDIM : Protéines Digestible dans l'Intestin grêle d'origine Microbienne

PDIN : Protéines Digestible dans l'Intestin grêle permises par l'azote (N) apporter par l'aliment.

TB : Taux Butyrique

TP : Taux Protéique

TRIA1 : Taux de Réussite de la première Insémination Artificiel

UE : Unités d'Encombrement

UFL : Unité Fourragère Lait

RESUME

L'objectif de notre étude est d'étudier l'impact des métabolites protéiques plus exactement l'ammoniac (NH₃) sur la qualité spermatique chez les bovins. Pour effectuer cette étude La Semence du taureau a été décongelée diluer, puis colorée à l'éosine et la nigrosine. L'évaluation de la motilité et la vitalité des spermatozoïdes dans 4 temps (T0, T1, T2, T3) a été réalisée à l'aide du logiciel **CASA** qui permet une analyse automatique, d'un échantillon de spermes selon les paramètres suivants : **mobilité, concentration, morphologie, fragmentation de l'ADN, vitalité, la réaction de l'acrosome et leucocytes**. Les résultats ont révélé que la proportion des spermatozoïdes vivants est faible dans le milieu contenant de l'ammoniac par rapport au milieu témoins et diminue dans les deux milieux avec le temps, et que la motilité globale des spermatozoïdes était plus faible dans le milieu contenant de l'ammoniac (NH₃) par rapport au milieu témoin dans les différents temps. La motilité est considérée comme un paramètre important pour l'évaluation des bovins de la qualité du sperme bovin. Cependant, la motilité et les paramètres cinématiques ne doivent pas être considérés comme une solide indication du pouvoir fécondant

Mots-clés : qualité spermatique, alimentation hyperprotéique, reproduction.

ABSTRACT

The objective of our study is to study the impact of protein metabolites more precisely ammonia (NH₃) on sperm quality in cattle. To carry out this study, the semen of the bull was thawed, diluted, then stained with eosin and nigrosine. The evaluation of motility and vitality of spermatozoa in 4 times (T0, T1, T2, T3) was carried out using CASA software which allows automatic analysis of a sperm sample according to the following parameters: mobility, concentration, morphology, DNA fragmentation, vitality, acrosome reaction and leukocytes. The results revealed that the proportion of live spermatozoa is low in the ammonia-containing medium compared to the control medium and decreases in both media over time, and that the overall sperm motility was lower in the ammonia-containing medium. Ammonia (NH₃) relative to the control medium at the different times. Motility is considered an important parameter for the assessment of bovine semen quality in cattle. However, motility and kinematic parameters should not be taken as a strong indication of fertilizing power.

Keywords: sperm quality, high protein diet, reproduction.

الملخص

الهدف من دراستنا هو دراسة تأثير مستقلبات البروتين بشكل أكثر دقة على الأمونيا (NH₃) على جودة الحيوانات المنوية في الماشية. لإجراء هذه الدراسة ، تمت إذابة السائل المنوي للثيران ، وتخفيفه ، ثم تلطيخه باليوزين والنيغروسين. تم إجراء تقييم حركة وحيوية الحيوانات المنوية في 4 مراحل زمنية (0T ، T1 ، T2 ، T3) باستخدام برنامج CASA الذي يسمح بالتحليل التلقائي لعينة الحيوانات المنوية وفقاً للمعايير التالية: التنقل، والتركيز، والتشكل، وتفتيت الحمض النووي، والحيوية، رد فعل acrosome والكريات البيض. أظهرت النتائج أن نسبة الحيوانات المنوية الحية منخفضة في الوسط المحتوي على الأمونيا مقارنة بوسط التحكم وتنخفض في كلا الوسطين بمرور الوقت ، وأن الحركة الكلية للحيوانات المنوية كانت أقل في الوسط المحتوي على الأمونيا. إلى وسيط التحكم في أوقات مختلفة. تعتبر الحركة عاملاً هاماً لتقييم جودة السائل المنوي في الأبقار. ومع ذلك، لا ينبغي أن تؤخذ المعلمات الحركية والحركية كمؤشر قوي على قوة الإخصاب.

الكلمات المفتاحية : جودة الحيوانات المنوية ، النظام الغذائي

الغني بالبروتين ، التكاثر.

INTRODUCTION

Les performances de reproduction ont une grande importance économique en élevage. Il existe de grands types d'élevage bovin qui sont surtout :

- l'élevage de bovins laitiers (à production laitière faible, moyenne ou forte),
- l'élevage de bovin à viande ou allaitant. En élevage laitier, il n'y a pas de production de lait sans naissance d'un veau.

Plus la production de lait est importante, et plus les problèmes de reproduction peuvent se poser (**Brisson et al. 2005**). En élevage allaitant, les performances de reproduction sont souvent faibles, limitant la production de veaux (**Grimard et al. 2002**).

Les ruminants sont dotés d'un extraordinaire système digestif, capable de transformer des fourrages ne possédant aucune valeur nutritive pour les humains en aliments hautement digestibles. Pour raisonner leur alimentation, il est nécessaire de disposer d'outils et d'information précis sur leur besoin alimentaire et leur capacité d'ingestion d'une part, et d'autres parts sur valeur nutritive et la digestibilité des aliments (**Wheeler, 1996**).

Pour répondre aux objectifs de l'éleveur, qui sont la production d'un veau/vache/an et assurer une bonne production en quantité et en qualité du lait, il est appelé à suivre un programme d'alimentation adéquate pour combler les différents besoins de la vache laitière. La ration ingérée par la vache doit apporter suffisamment d'énergie (UFL), d'azote (PDI), de minéraux, de vitamines et d'eau.

Les quantités d'aliments ingérables sont limitées par l'encombrement créé au niveau du rumen et par la capacité d'ingestion de l'animal. On traduit donc généralement la qualité de la ration en termes de valeur énergétique, de valeur protéique et d'ingestibilité. Et l'on met ensuite cette valeur en relation avec les besoins en énergie et en protéines de l'animal ainsi qu'avec sa capacité d'ingestion (**Guérin et al, 2002**).

Bien sûr, les rations vont dépendre du type de bovins dans l'exploitation et de leur stade de production : viandeux, laitiers mais aussi veaux, taureaux ou jeunes femelles en croissance, vaches laitières ...

Partie bibliographique

CHAPITRE I :
Alimentation et métabolisme protéique

1. Alimentation protéique des bovins

L'alimentation azotée est un élément-clé du rationnement d'un ruminant car elle module à la fois les performances et l'impact environnemental de l'élevage. (Faverdin *et al.*, 2003).

L'alimentation azotée des ruminants repose sur deux bases fondamentales :

- Les cellules de l'organisme des ruminants ont les mêmes dépenses en acides aminés que celles des monogastriques (acides aminés indispensables et banal).
- Les acides aminés absorbés au niveau des intestins ont deux sources différentes : l'une alimentaire issue des protéines alimentaires non dégradées dans le rumen et l'autre issue des protéines microbiennes formées dans le complexe rumen-réseau.

Donc les acides aminés indispensables peuvent provenir d'autres sources que l'alimentation, il y a capacité d'utiliser d'autre source que les protéines comme l'urée par exemple.

Le remaniement de la matière azotée dans le rumen rend le concept des besoins et apports azotés beaucoup plus complexe chez les ruminants. (Faverdin *et al.*, 2003).

1.1. Les protéines et la matière azotée

La protéine est une séquence de plusieurs dizaines à milliers d'acides aminés reliés par une liaison peptidique (Figure 01).

Les protéines représentent un composant alimentaire indispensable assurant l'apport en azote et en acides aminés utilisés pour la synthèse et l'entretien de très nombreuses protéines de l'organisme et comme précurseurs d'autres molécules azotées non protéiques incluant entre autres des hormones, des neuropeptides, les acides nucléiques le glutathion ou la créatine. En outre, les acides aminés peuvent subir une désamination et leur squelette carboné rejoint les voies du métabolisme énergétique en particulier *via* la gluconéogenèse voie pour laquelle certains acides aminés sont des précurseurs majoritaires.

L'apport en protéine affecte de ce fait de très nombreuses fonctions de l'organisme mais il reste difficile de définir quelles fonctions peuvent être de bons marqueurs pour la mesure du besoin en protéine.

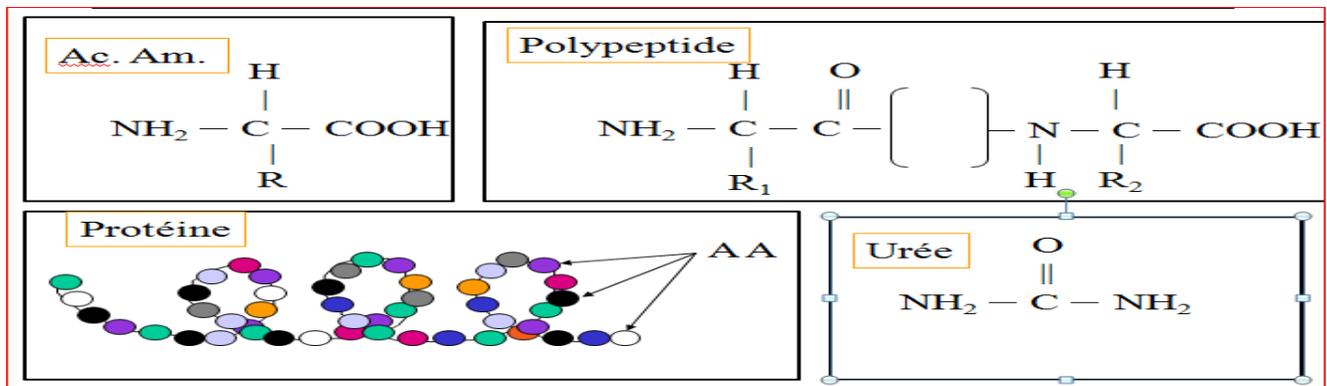


Figure 1: Diversité et complexité des protéines

Les protéines sont constituées par une ou plusieurs chaînes d'acides aminés pourvus d'une fonction amine (NH₂). Lors des différentes étapes du métabolisme, les acides aminés sont dégradés et la fonction amine est libérée pouvant donner de l'ammoniaque (NH₃). L'ammoniaque dans le sang est particulièrement toxique. Mais le foie transforme rapidement l'ammoniaque en urée (H₂N-CO-NH₂) qui est non toxique. (P.Faverdin, R.Vérité,1998).

Les matières azotées sont représentées par des protéines et de l'azote non protéique. Une protéine est constituée d'une longue chaîne d'acides aminés (AA). En alimentation, 20 AA différents sont pris en considération, dont pratiquement la moitié d'entre eux sont considérés comme essentiels car ne pouvant être synthétisés par l'animal.

L'azote non protéique comprend quant à lui notamment les peptides (chaînes d'AA limitées), les AA, l'urée et l'ammoniac (NH₃). (Cuvelier *et al.*, 2010).

1.1.1. Les constituants azotés ou matières azotées totales (MAT) :

a/ Les matières azotées protéiques (MAP)

Ce sont les protéines, les polypeptides, les acides aminés libres. Les matières azotées protéiques donnent par hydrolyse des acides aminés. Leur structure et leur nature leur donne une certaine solubilité dans l'eau et dans les différents tampons ainsi qu'une aptitude à être hydrolysés par les enzymes bactériennes chez les ruminants.

b/ Les matières azotées non protéiques (MANP)

Ce sont les amides, les divers nitrates et l'ammoniac. Les matières azotées non protéiques ne sont pas constituées d'acides aminés, il s'agit de formes azotées simples (NO₂⁻, NO₃⁻,

NH4+). Parmi les aliments les plus riches, on trouve les graines oléagineuses et protéagineuses (22 à 40%), les céréales sont les plus pauvres (10%). La teneur en matière azotées chez les plantes fourragères varie de 15 à 35 % MS, elle dépend de leur stade de végétation ainsi que leur aspect botanique. (DJAALAB I. 2017)

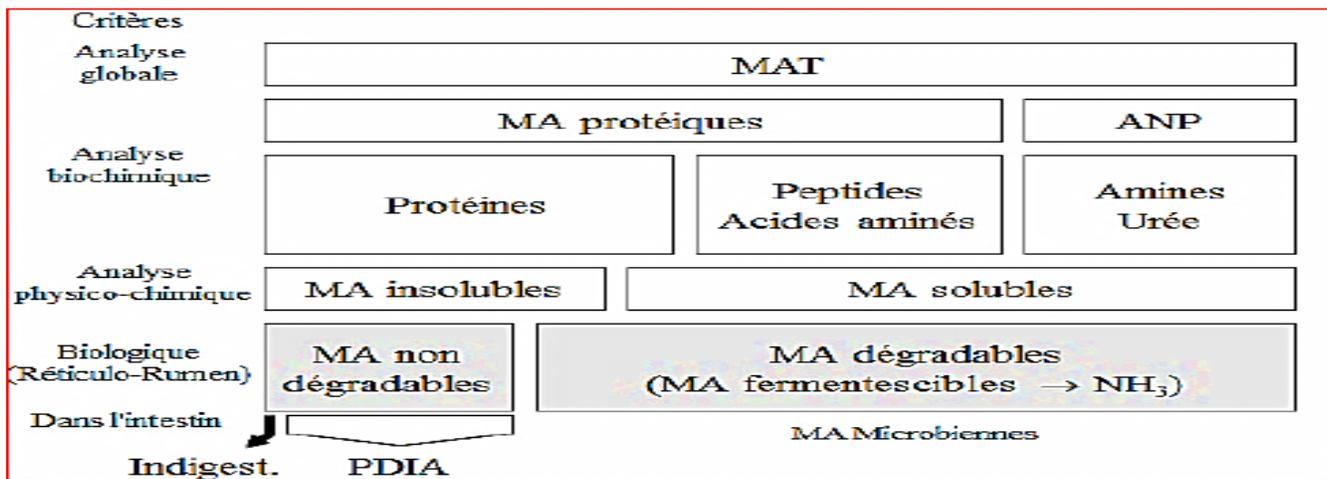


Figure 2: Classification des matières azotées totales (DJAALAB I. 2017)

1.1.2. Place de l'azote dans l'alimentation animale

Le rôle de la matière azotée est de fournir l'énergie nécessaire et cela en utilisant les acides aminés synthétisés et absorbés par l'organisme.

Les besoins azotés d'entretien et de production sont assurés par l'utilisation d'acides aminés qui sont synthétisés en protéines animales.

Ces matières azotées servent à renflouer les besoins de production ainsi que fonctionnels (enzymes, anticorps, les hormones...etc.)

Les formes azotées se distinguent par les substances protéiques et les substances non protéiques (ANP).

Les protéines sont tous ensemble comportant 10 acides aminés, alors que celles qui ont moins de 10 acides aminés sont dites azotes protidiques. ; Leur hydrolyse (protéines et protides) partielle libère des acides aminés. Alors que les ANP, ont une solubilité totale libérant de l'azote (l'urée, amides...etc.).

Il y a une fraction de l'azote alimentaire non utilisée par l'animal qui est sous forme de déjection. L'une provient de l'utilisation digestive (sous forme fécale) qui est plus répandue chez les ruminants est d'environ 70 à 80%, elle est sous la dépendance de l'espèce animale et de l'alimentation qui constitue la ration.

L'autre provient de l'utilisation métabolique des acides aminés sanguins fixés par la synthèse des protéines issues de l'oxydation, qui est sous forme d'urine, et sous la dépendance d'adéquation quantitative (apport de MAT : matière azotée totale) et qualitative (apport d'acides aminés).

1.2. Les besoins en matière azotée des bovins

Un bon programme d'alimentation pour les bovins doit indiquer les aliments qui sont Appropriés, les quantités nécessaires ainsi que la manière et le moment de servir (**wheeler, 1996**).

1.2.1. Les besoins et les recommandations alimentaires

La distinction entre les notions de besoins nutritionnels et d'apports alimentaires recommandés est primordiale. Selon **JARRIGE (1988)**, ces deux notions sont trop souvent confondues (Figure03).

a/ Notion de besoin : Les animaux doivent trouver dans leurs aliments les constituants permettant le renouvellement de la matière vivante, son accroissement éventuel (croissance, gestation) et la synthèse des productions. Les quantités d'éléments nutritifs assimilables nécessaires à toutes ces activités définissent les besoins. Les besoins nutritionnels nets correspondent donc aux dépenses physiologiques de l'animal pour son entretien et ses productions ; dépenses que l'animal couvre à partir des nutriments qui lui sont apportés par la ration. Les besoins alimentaires incluent à la fois les besoins nutritifs et la capacité d'ingestion.

b/ Les recommandations alimentaires : Dans la pratique, les calculs de ration ne s'appuient pas uniquement sur les valeurs des besoins alimentaires mais sur les valeurs des recommandations.

Différents aspects justifient l'emploi de recommandations à la place des besoins alimentaires : la prise en compte des marges de sécurité et de l'existence de réserves corporelles mobilisables, la limitation de certains excès d'apport et le respect d'un certain équilibre dynamique des apports.

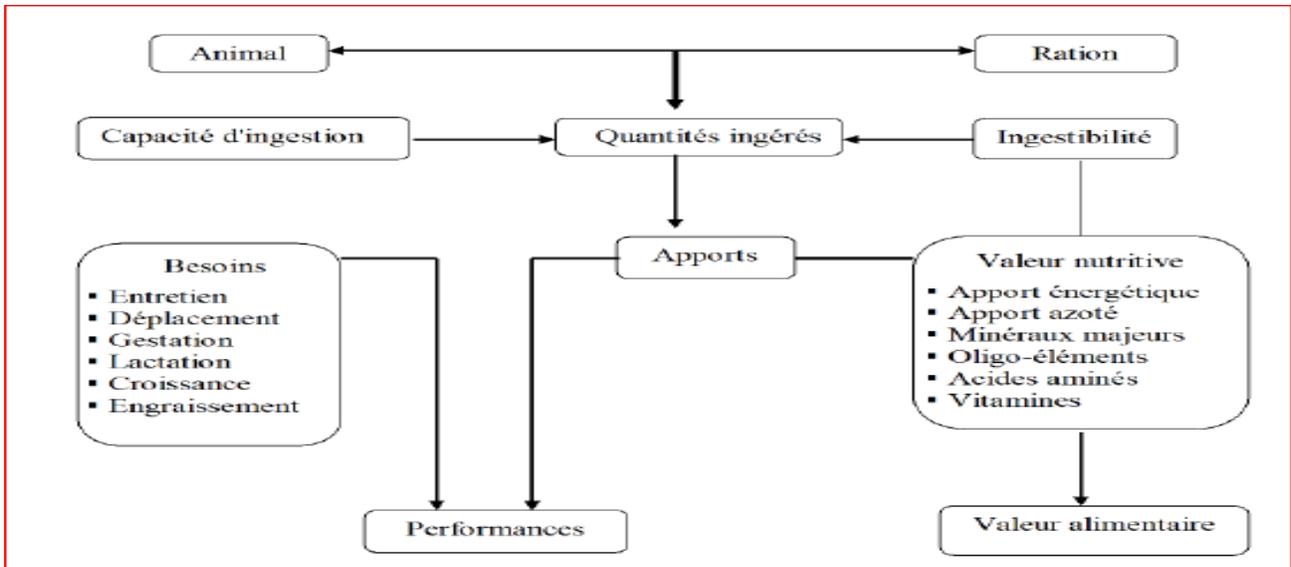


Figure 3: Les caractéristiques de l'animal et de la ration et leurs relations. (mayer C. et denis J.P 1999).

2. Métabolisme protéique des bovins

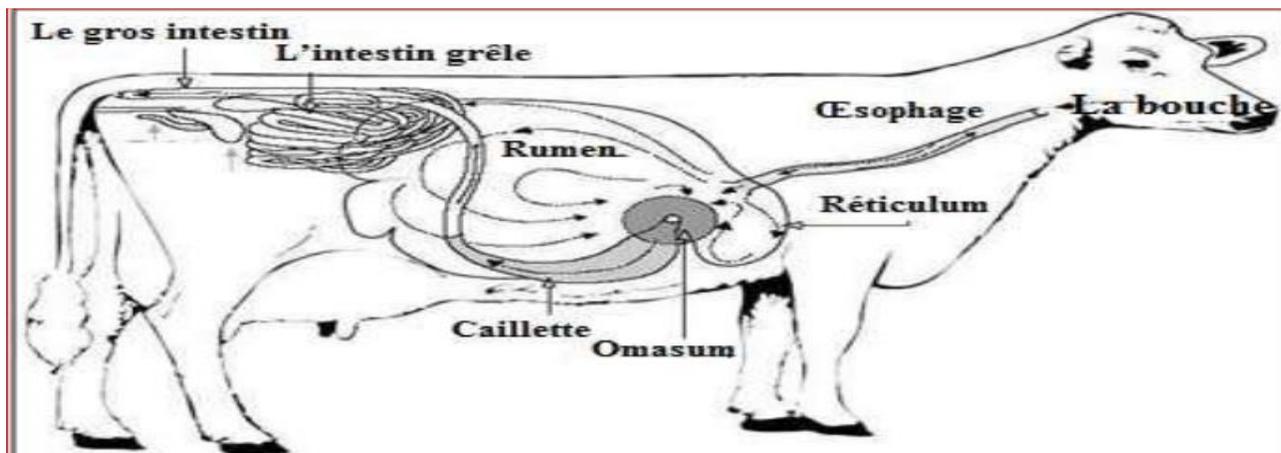


Figure 4: Système digestif des bovins (HALL et SILVER, 2014)

2.1. Digestion et métabolisme des matières azotées

Les matières azotées alimentaires subissent dans le rumen une dégradation dont le produit terminal est l'ammoniac (NH_3) ; utilisé par les microorganismes pour synthétiser leurs protéines microbiennes en présence d'une quantité suffisante d'énergie. Cette dernière est fournie par la dégradation des glucides via les fermentations microbiennes. L'ammoniac excédentaire est absorbé puis transformé en urée dans le foie.

Les protéines microbiennes subissent une digestion enzymatique dans la caillette, conduisant à la formation d'acides aminés (AA). (Cuvelier et Dufrasne, 2014)

2.1.1. Digestion dans le rumen-réseau

Les matières azotées alimentaires dans le rumen sont d'abord hydrolysées en peptides, puis Acides aminés, ensuite sont désaminés en ammoniac, qui est le produit terminal de la protéolyse microbienne. La résistance à la dégradation ruminale varie fortement en fonction de la nature de l'aliment. En général, les protéines des fourrages sont plus dégradées (60 à 80%) que celles des concentrés (20 à 60%). L'ammoniac formé est soit utilisé par la population microbienne, ou, passe vers le foie où il est converti en urée. L'absorption de l'ammoniac est conditionnée par sa concentration dans le rumen (50 à 80 mg/ 100 ml de jus de rumen), et par le pH du rumen (pH élevé, absorption rapide).

Au niveau intestinal, en moyenne, 60% des acides aminés absorbés dans l'intestin grêle proviennent des bactéries ruminales, et les 40% qui restent sont les protéines alimentaires qui ont

échappé à la dégradation ruminale. En général, plus de 80% des protéines qui arrivent dans l'intestin sont digérées ; le reste passe dans les matières fécales.

a/ Protéolyse : La première étape de la dégradation des protéines résulte de l'activité des protéases bactériennes. C'est principalement les bactéries amylolytiques qui interviennent dans la protéolyse : elles dégradent principalement les protéines solubles. Les protozoaires participent plutôt à la dégradation des protéines insolubles incluses dans des particules de taille appropriée telles que des chloroplastes ou des bactéries qu'ils ingèrent.

b/ Hydrolyse des peptides : Les peptides sont rapidement hydrolysés. Les peptides de grande taille subissent une hydrolyse par des peptidases liées à la membrane extracellulaire des bactéries, cela produit alors des oligopeptides, des di-peptides, des tri-peptides et des acides aminés, qui seront ensuite absorbés par les bactéries. De plus, les bactéries, ayant la capacité d'assimiler des peptides de petite taille, vont les dégrader en acides aminés à l'aide d'enzymes intracellulaires.

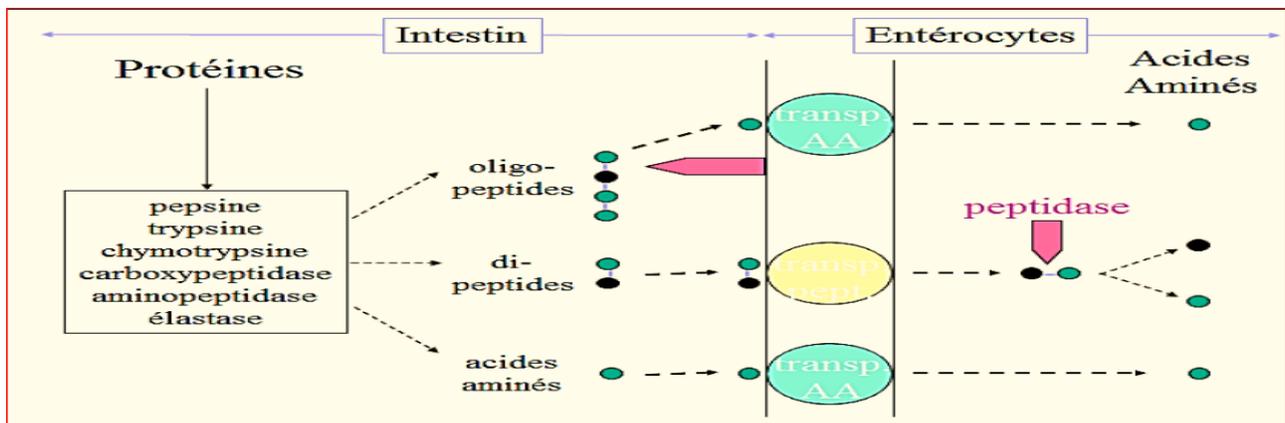


Figure 5: digestion et absorption des protéines

c/ Dégradation des acides aminés : Les acides aminés, d'origine alimentaire ou produits de l'hydrolyse des protéines, sont soit désaminés en NH_3 et en AGV, soit incorporés dans les protéines bactériennes (protéosynthèse microbienne).

d/ Devenir des autres composés azotés de la ration : Les acides nucléiques représentent 5 à 10% des matières azotées présentes dans les rations des ruminants. Ces molécules proviennent également des fragments desquamés de l'épithélium ruminale et des microorganismes lysés. Ils sont rapidement dégradés et peuvent être utilisés par les microorganismes comme source d'énergie et d'azote.

L'urée, d'origine alimentaire ou salivaire, est très rapidement hydrolysée par des uréases bactériennes : cela engendre la production de NH_3 . Les nitrates sont réduits en nitrites puis en NH_3 .

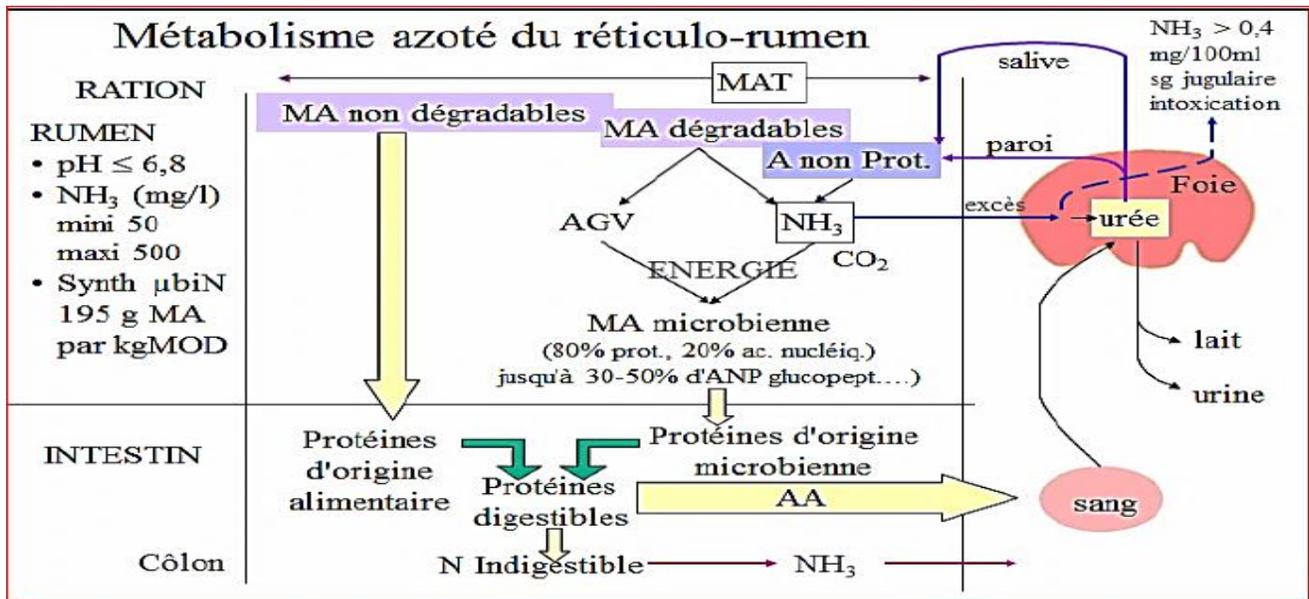


Figure 6: Utilisation digestive des matières azotées totales

e/ L'uréogénèse à partir de l'ammoniac : La dégradation des matières azotées entraîne la production de NH_3 . Ce dernier sera utilisé par le microbiote pour la synthèse de nouveaux acides aminés. Dans la mesure où NH_3 n'est pas utilisé par les micro-organismes pour cette synthèse de matières azotées microbiennes (protéines microbiennes), la majeure partie de l'ammoniac restant est absorbé au niveau de la paroi du rumen, véhiculé au foie où il est transformé en urée. Cette urée est en partie recyclée dans la salive ou par diffusion à travers la paroi de tout le tube digestif et/ou en partie éliminée par l'urine le lait donc perdue.

L'uréogénèse à partir de l'ammoniac nécessite beaucoup d'énergie. Elle est estimée à 4 ATP /moles d'urée produite.

L'absorption d'ammoniac est conditionnée par sa concentration dans le rumen (50 à 80mg/100 ml de jus de rumen) et par le pH du rumen (un pH élevé conduit à une absorption rapide, un pH bas à une absorption lente). La concentration en ammoniac dans le rumen peut varier de 2 à 40 mmol

/l, mais on estime à 4-5 mmol /l la teneur nécessaire pour que la production de protéines bactériennes soit maximum... (DJAALAB I., 2017)

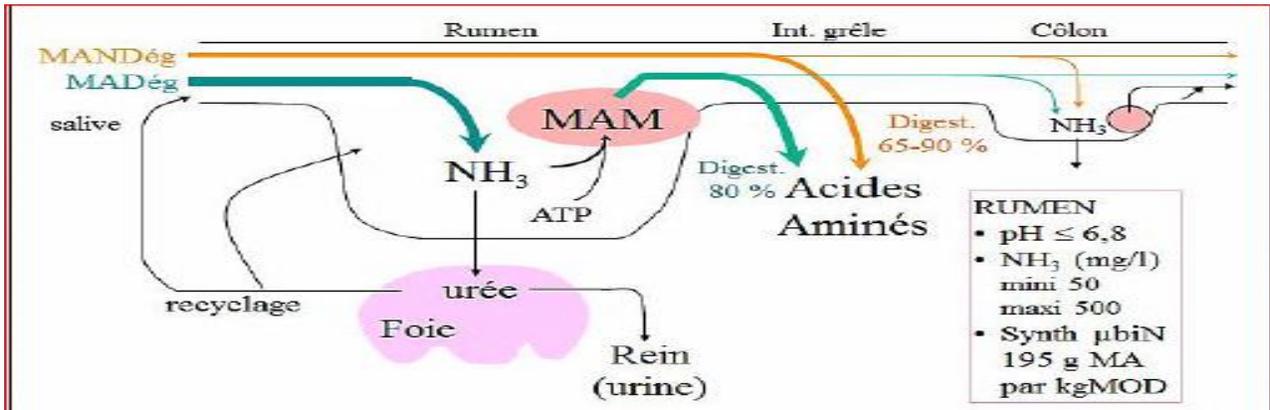


Figure 7: Dégradation des matières azotées totales et recyclage de l'urée

2.1.2. Digestion dans l'intestin grêle

Les protéines qui arrivent au niveau du duodénum sont de deux types : alimentaires et microbiennes. Il est admis que 80 % des protéines microbiennes se trouvent sous forme de protéines vraies et 20 % sous forme d'acides nucléiques qui n'auraient aucune valeur pour l'animal.

La digestion et l'absorption des protéines auraient lieu principalement dans le deuxième tiers de l'intestin grêle ; elles seraient donc faibles dans l'iléon malgré ses capacités élevées entre autres un pH de 7.5 favorable à l'action des enzymes protéolytiques.

La digestibilité des protéines dans l'intestin grêle varie considérablement de 0.5 à 0.80. Elle est estimée à 0.80 pour les protéines d'origine microbienne et de 0.25 à 0.95 pour les protéines alimentaires.

Pour un niveau d'alimentation donné, elle est liée positivement au flux duodénil de protéines et négativement au flux iléal de matière non protidique.

Les protides qui échappent à la digestion dans l'intestin grêle sont donc constitués principalement de fractions communes d'origines bactérienne et endogène, auxquelles vient se rajouter une fraction d'origine alimentaire, moins importante et de composition variable. (DJAALAB I., 2017)

2.1.3. Dans le gros intestin

Les bactéries du cæcum et du côlon proximal ont une importante activité de protéolyse, de désamination, de décarboxylation et d'uréolyse.

La dégradation des protéines aboutit à la formation des acides aminés eux-mêmes dégradés en ammoniac, acides gras volatils et méthane.

Le métabolisme de l'azote dans le gros intestin apporte peu d'acides aminés à l'animal (6% maximum des apports) mais le gros intestin participe de façon importante au recyclage de l'urée participant de ce fait pour 40 % au transfert net d'azote de l'ensemble du tube digestif aux liquides corporels.

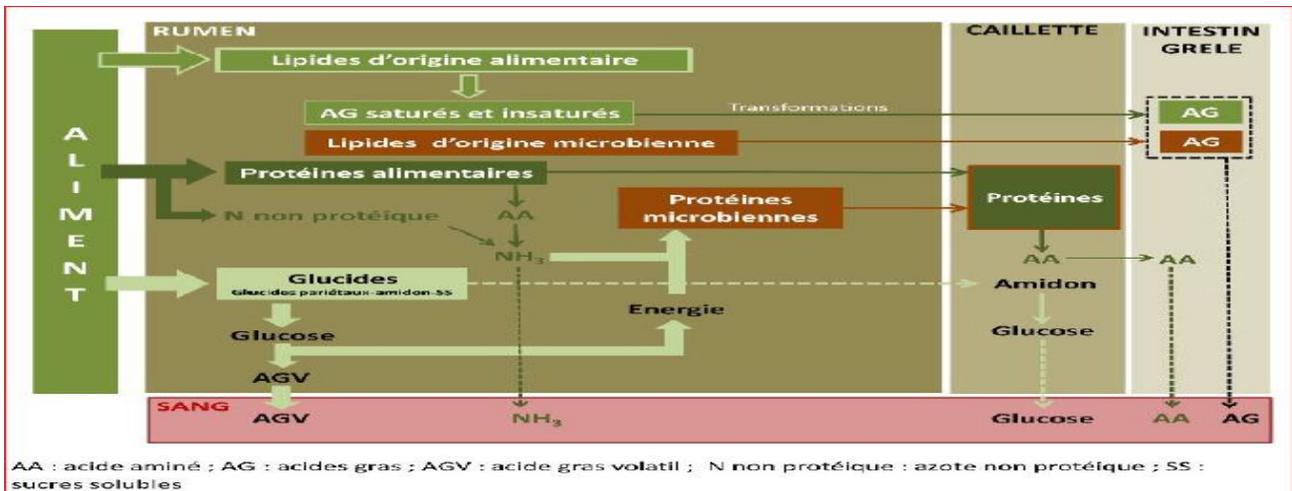


Figure 8: Schéma simplifié de la digestion des glucides, des lipides et des matières azotées chez le ruminant (Cuvelier et Dufrasne, 2014).

Le gros intestin joue un rôle important dans le recyclage de l'ammoniac au cours de la digestion des parois végétales ; surtout lors d'une diminution du temps de séjour des digestas dans le rumen suite à un niveau alimentaire élevé. Aussi, lors de la diminution de l'activité cellulolytique entraînée par des régimes riches en amidon rapidement fermentescible.

La quantité d'azote qui arrive dans le cæcum représente :

- * 25 à plus de 50 % de la quantité d'azote ingérée (avec les rations pauvres en azote) ;
- * La moitié de cet azote est sous forme soluble ;
- * Jusqu'à 17 % sous forme ammoniacale ;
- * Les protéines représentant 40 à 80 % de cet azote, sont d'origine alimentaire, microbienne et endogène auxquelles il faut ajouter l'azote provenant du mucus sécrété par la paroi du gros intestin, les cellules desquamées.
- * l'urée provenant du sang et diffusant à travers la paroi. (DJAALAB I, 2017)

2.2. Métabolisme de la matière azotée :

Chez les bovins, les AA présents sont utilisés pour synthétiser des protéines, mais aussi pour synthétiser du glucose lorsque cela est nécessaire. Par conséquent, il existe une compétition pour l'utilisation des AA entre la voie de la synthèse des protéines et la voie de la synthèse du glucose. **(Cuvelier et Dufrasne, 2014).**

2.2.1. Protéines totales

Les protéines plasmatiques sont principalement synthétisées dans le foie, les plasmocytes, les ganglions lymphatiques, la rate et dans la moelle épinière. Elles fournissent les acides aminés nécessaires pour le maintien des fonctions vitales, la croissance, la reproduction et la lactation.

Elles jouent un rôle physiologique primordial au niveau cellulaire, ont un rôle de transport, et pour certaines, sont dotées d'activité enzymatique ou hormonale. Seules les protéines présentes dans le plasma ont un intérêt diagnostic.

Ces molécules sont formées de chaînes d'acides aminés dont l'enchaînement est codé génétiquement qui sont repliées et donnent à la molécule une configuration spéciale propre ; celle-ci laisse apparaître différents groupements chimiques (carboxyliques, aminés...) mis en évidence dans diverses réactions colorées comme celle, connue, dite du biuret. **(Medaille et Briend-Marchal, 2008)**

Les protéines sériques assurent de nombreuses fonctions : le maintien de la pression oncotique, le transport de molécules liposolubles, l'immunité, messagers chimiques (insuline, adrénaline), médiateurs de l'inflammation, coagulation, système tampon. **(Parot, 2011).**

2.2.2. Urée

L'urée est le produit final du métabolisme des protéines dans le corps. Lors du catabolisme protéique ; elles sont dégradées en acides aminés et l'ammoniac formé est transformé en urée dans le foie. L'urée est normalement sécrétée dans les urines, elle est classiquement considérée comme indicateur de la fonction glomérulaire. Ce paramètre, bien que classique, est difficile à interpréter. L'urée est excrétée majoritairement par le rein. **(Juillard, 2001).**

Lors du catabolisme protéique, les protéines sont dégradées en acides-amminés dont la désamination entraîne la formation d'ammoniac. Celui-ci est capté presque exclusivement par le foie **(Whiteetal., 1973)** qui le transforme alors en urée. La formation d'une molécule d'urée consomme deux ions ammonium NH_4^+ .

L'urée est principalement excrétée par les reins, mais d'autres voies d'excrétion existent. Dans le rein, l'urée filtre librement à travers la membrane glomérulaire et par conséquent dans le filtrat glomérulaire la concentration de l'urée est la même que dans le plasma. Une partie de l'urée est ensuite réabsorbée passivement dans les tubules. Elle rejoint l'espace interstitiel puis la circulation sanguine générale via la vascularisation rénale (Braun et Lefebvre, 2008).

L'urée est considérée comme le mode de transport beaucoup moins toxique d'une molécule toxique : l'ammoniac. (Parot, 2011)

L'urée sanguine est l'indicateur essentiel du taux azoté de la ration et des réserves corporelles.

L'urée sanguine augmente avec :

- L'importance des apports azotés,
- Un catabolisme accru provoqué par le jeûne,
- Par la suite d'une intoxication par l'urée,
- Lors d'addition dans la ration
- Par la suite d'une sous nutrition énergétique.

Il a été noté que l'urée du lait constitue un bon indicateur du rationnement azoté. En revanche, la gestation n'a pas d'effet sur l'urémie, mais elle augmente au cours du premier mois de lactation.

(DJAALAB I., 2017)

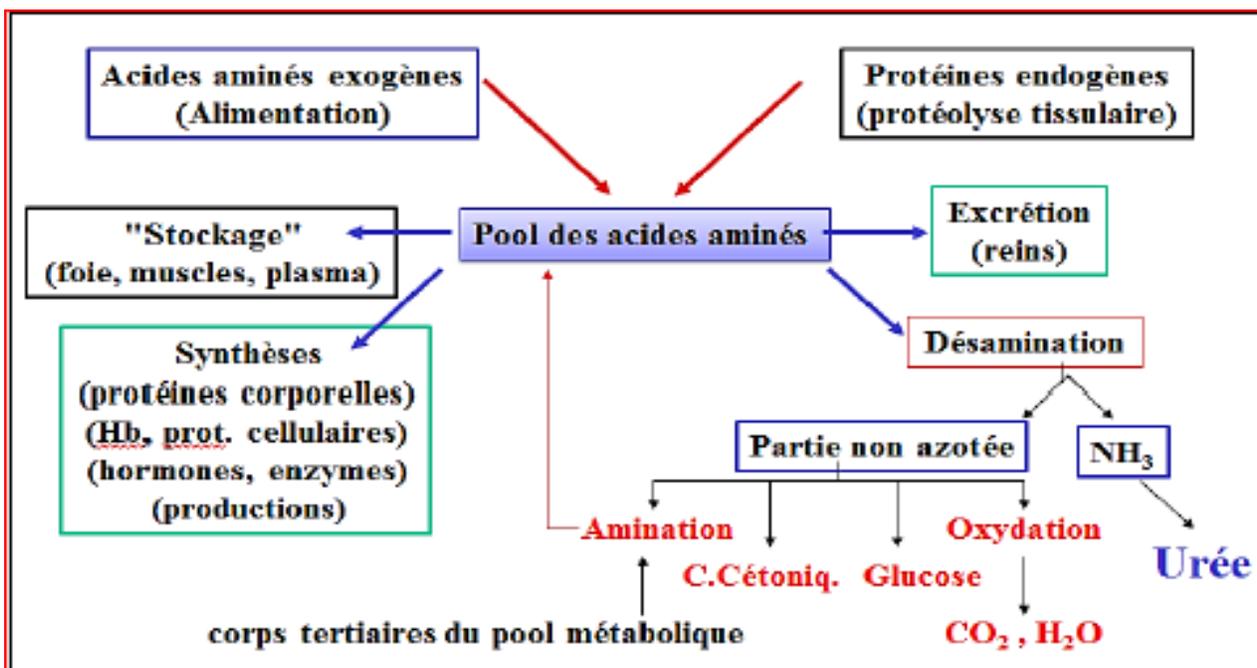


Figure 9: Schéma général du métabolisme azoté dans l'organisme

CHAPITRE II : Influence de l'augmentation des matières azotées sur la fertilité

1. Marqueurs de statut azoté

1.1. Ammoniac

Il n'y a pas de stockage de l'ammoniac dans le rumen : tant que sa concentration reste inférieure à 200 mg/l de contenu ruminale, l'ammoniac est entièrement converti en protéines microbiennes ; au-delà de cette teneur, l'ammoniac non utilisé par la flore diffuse du rumen vers le secteur sanguin. Ce gaspillage d'azote survient lorsque les sources d'azote dégradables et déficitaires en énergie sont supérieures aux sources d'énergie (PDIN >> PDIE).

Ensuite, le sang transporte l'excédent ammoniacal jusqu'au foie, où il est transformé en urée. La capacité hépatique maximale de détoxification de l'ammoniac en urée est d'environ de 2 mmol/min/kg de foie.

Dès que les capacités hépatiques d'uréogénèses sont dépassées, l'ammoniac passe dans la circulation générale pour être distribué aux divers tissus, sur lesquels ses effets sont néfastes. On considère que cette toxicité apparaît dès le seuil de 500 mg/l de contenu ruminale (**Visek, 1984**).

Ainsi, la concentration plasmatique en ammoniac est un marqueur spécifique et sensible pour détecter les excès d'apports azotés (tableau 01). Néanmoins, l'ammoniémie est peu utilisée en routine car elle est difficile à doser. L'ammoniémie normale est de 0.04-0.06 mg/dl (23-35 $\mu\text{mol/l}$) (**Ferguson & Chalupa, 1989**).

Les excès d'azote se traduisent par une élévation des teneurs ruminales, puis sanguines en ammoniac. En outre, il faut toujours prendre en compte la nature de l'azote en excès : plus l'azote est dégradable, plus la concentration ammoniacale ruminale et sanguine augmente, plus la fertilité est altérée. Les travaux de **Fekete et al. (1996)** confirment l'impact de la dégradabilité de l'azote sur l'évolution des concentrations d'urée et d'ammoniac, mais avec un effet inverse sur les paramètres de reproduction.

Tableau 1: Influence de l'excès d'azote alimentaire sur l'ammoniémie et sur L'urémie des vaches laitières. (Pangborn et al., 1978 ; In : Jordan & Swanson, 1979)

| Biochimie sanguine | 16.3 % MAT/MS | 19.3 % MAT/MS |
|------------------------|---------------|---------------|
| NH ₃ (mg/l) | 4.68 | 5.17 |
| (mmol/l) | 0.275 | 0.304 |
| Urémie (mg/l) | 90.8 | 182.5 |
| (mmol/l) | 1.51 | 3.04 |

1.2. Urée

1.2.1. Urée dans le Sang

PDIN >> PDIE entraîne une hyper urémie ; PDIE >> PDIN fait diminuer l'urémie. S'il n'y a pas d'écart entre PDIE et PDIN, une hyper urémie indique un apport azoté global trop important. En pratique, lorsqu'on apporte 100 à 200 g de MAT au-delà des besoins à couvrir, l'urémie s'élève de 0.1 g/l (1.7 mmol/l).

Les valeurs sanguines normales de l'urémie sont de 0.2-0.3 g/l (soit 3.3-5 mmol/l). En début de lactation, les valeurs sont plus basses (hémodilution) : 12 à 17 mg/dl (2 à 3 mmol/l).

Les problèmes apparaissent pour des valeurs supérieures à 0.35 g/l (6 mmol/l) ou inférieures à 0.15 g/l (2.5 mmol/l). (Vagneur, 1992 ; Ferguson, 1996).

1.2.2. Urée dans le Lait

La concentration d'urée dans le lait est fortement liée à l'urémie et à la concentration ruminale en ammoniac. L'augmentation de la concentration ruminale en NH₃ 1 h après le repas est suivie de l'augmentation de l'urémie 2 h plus tard, et de l'élévation de la concentration de l'urée dans le lait 1 h après l'élévation de l'urémie (Gustafsson & Palmquist, 1993).

La concentration normale d'urée dans le lait oscille entre 0.25 et 0.3 g/l (4.2-5 mmol/l). Wolter (1992) indique qu'une concentration en urée dans le lait inférieure à 0.2 g/l (3.3 mmol/l) signe une carence protéique ; supérieure à 0.33 g/l (5.5 mmol/l), elle traduit un excès azoté. Par conséquent, les concentrations en urée dans le sang et dans le lait sont des indicateurs spécifiques et sensibles de l'apport azoté car elles varient de façon instantanée, quel que soit le stade physiologique de l'animal (Manston et al., 1975). De plus, elles sont faciles à mesurer en pratique. Contrairement à l'urémie qui n'apporte qu'une information individuelle, ponctuelle, perturbée par la proximité du

repas, le dosage de l'urée dans le lait offre de nombreux avantages : prélèvements faciles à réaliser, possibilité d'un diagnostic de troupeau sur le lait de mélange (**Wolter, 1992**).

Dès que les capacités microbiennes de protéosynthèse sont dépassées, l'uréogénèse est stimulée par les surplus ammoniacaux : l'urémie augmente parallèlement à la teneur ruminale en NH₃. Mais l'uréogénèse semble moins influencée par la dégradabilité de l'azote que par l'excès azoté global (tableau 02).

Tableau 2: Influence de la dégradabilité de l'azote alimentaire sur la concentration ruminale en ammoniac, sur l'urémie et sur les performances de reproduction chez la vache laitière.

(Folman, 1981 ; In : Visek, 1984)

| | 16 % MAT peu dégradable | 16 % MAT dégradable | 20 % MAT |
|------------------------------|-------------------------|---------------------|----------|
| NH ₃ rumen (mg/l) | 86 | 100 | 173 |
| Urémie (mg/l) | 84 | 88 | 154 |
| (mmol/l) | 1.40 | 1.47 | 2.57 |
| Taux fécondation (%) | 69 | 56 | 44 |
| V-IF (jours) | 84 | 98 | 102 |

Dans le cadre d'un suivi de troupeau, la concentration de l'urée dans le sang ou dans le lait permet d'évaluer en temps réel le statut azoté de la vache. Le dosage de l'urée joue le rôle de « sonnette d'alarme », indiquant qu'il faut revoir rapidement la composition azotée et énergétique de la ration.

2. Augmentation de la ration en matière azotée et urémie

2.1. L'augmentation de la ration en matières azotées

Même avec des protéines peu dégradables, pour augmenter la production de lait et de matières sèches du lait, se traduit souvent par une diminution de la fertilité. Elle s'accompagne d'un niveau élevé d'azote uréique dans le plasma sanguin qui agit sur la fertilité même si l'excès est de courte durée (**Rhoadset al. 2004**).

Cette diminution de la fertilité est liée à un environnement utérin modifié par les effets de l'équilibre énergétique négatif en période post-partum et de l'urée qui résulte du régime riche en protéines. Le pH de l'utérus en phase lutéale est diminué, la concentration du plasma en progestérone diminuée. Ces modifications sont nuisibles à la maturation des oocytes et au développement des embryons (**Butler, 1998 ; Elrod et Butler, 1993 ; Elrod et al., 1993**).

De plus, l'urée aurait une action directe sur les oocytes (**Ocon et Hansen, 2003**) mais sans agir sur la composition ionique du fluide de l'oviducte (**Kenny et al.,2002**).

2.2. Urémie et reproduction

2.2.1. Urémie

La fertilité est atteinte dès que l'urémie dépasse le seuil de 0.4 g/l (6.67mmol/l) (**Ferguson, 1996**).

Le taux de conception entre 50 et 150 jours post-partum chute significativement (de 60 % à 20 %) quand l'urémie est supérieure à 0.43 g/l (7.17 mmol/l).

Chaque fois que l'urémie augmente de 1 mg/dl (0.17 mmol/l), le taux de conception diminue de 0.8 % (**Ferguson et al., 1993**). Il diminue également de 2.7 % par 100 g de MAT excédentaire (Butler, 1996).

Barnouin et Chacornac (1992) signalent une incidence supérieure de métrites chez des vaches présentant une urémie élevée un mois avant vêlage.

2.2.2. Urée dans le lai :

Avec des régimes à forte teneur azotée, la concentration en urée dans le lait augmente, corrélée à un allongement de l'IV-IF. L'intervalle le plus court est obtenu pour des valeurs de 4.5 à 5.0 mmol/l (0.27 à 0.3 g/l) d'urée dans le lait (**Gustafsson&Carlsson, 1993**).

Comme l'illustre le **tableau 03**, l'impact négatif d'une concentration élevée d'urée dans le lait ou le sang sur la reproduction a été démontré dans la littérature. Dans la majorité des études, un apport excessif de protéine se traduisant par un taux d'urée élevé, le taux de conception a été réduit de façon significative. De plus un effet similaire a été obtenu lorsque la concentration d'urée avait été causée soit par un excès de protéine brute, un excès de protéine dégradée au rumen ou de protéine échappant à la dégradation ruminale. Il ne s'agit donc pas d'un effet associé au type d'aliment utilisé, mais bien au résultat des modifications alimentaires, soit une concentration élevée d'urée dans le sang.

Selon l'expérience de Visek, 1984 sur 45 vaches, Il constaté cette fois-ci (tableau 03) un impact négatif très marqué de l'augmentation du niveau de protéine brute de la ration sur la reproduction.

Tableau 3 : Effet du niveau de protéine brute de la ration sur les performances de reproduction (Visek, 1984).

| Critère | Niveau de protéine | | |
|---|--------------------|---------------------|---------------------|
| | Bas (12,7%P.B) | Moyen (16,3%P.B) | Élevé (19,3%P.B) |
| Intervalle vêlage-1 ^{re} chaleur | 36 | 45 | 27 |
| Intervalle vêlage-conception | 69 | 96 | 106 |

La figure 10 montre que le taux de gestation diminue lorsque la teneur en urée de plasma est élevée. L'effet se marque surtout au-delà de 40 mg/dl. Cette limite semble également valable pour le taux d'urée du lait du fait qu'il est similaire et hautement corrélé au taux plasmatique (P.Faverdin, R.Vérité1998).

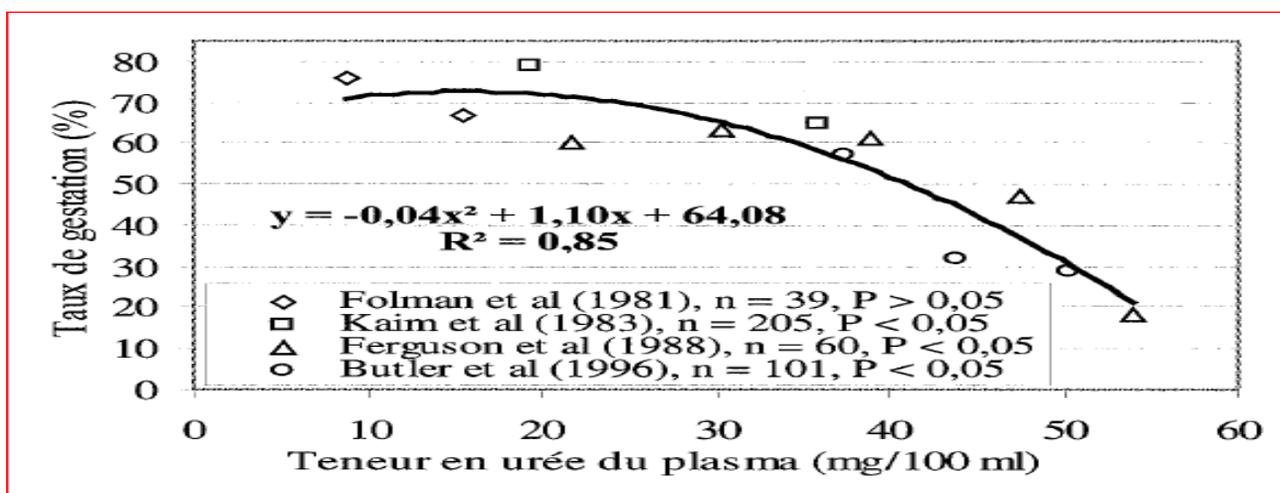


Figure 10: Taux de gestation en fonction de l'urémie plasmatique (P.Faverdin, R.Vérité 1998)

3. Conséquences d'une ration trop riche en azote sur la reproduction :

Les excès azotés alimentaires se rencontrent le plus souvent en début de lactation : les apports en PDIA et en précurseurs de PDIM sont augmentés afin de stimuler l'appétit, la production laitière, le TP et le TB. Cependant, ils provoquent une ammoniogenèse trop rapide, une uréogenèse exacerbée et un ralentissement des synthèses microbiennes.

Les manifestations suraiguës de ces excès sont spectaculaires : tétanie de nutrition ou d'herbage, entérotoxémie vraie. Les formes chroniques, beaucoup plus insidieuses et polymorphes, sont plus graves économiquement : fièvres de lait, syndrome de la vache couchée, cétose, fourbure, immunodépression, mammites et infertilité (**Wolter, 1992**).

3.1. Etiologie des troubles

3.1.1. Facteurs déterminants

3.1.1.1. Nature de l'azote

La nature de l'azote de la ration influence la pathogénie des troubles observés. L'excès d'azote dégradable provient d'apports trop importants en herbe jeune ou luzerne ou leurs ensilages mal conservés, en choux ou colza fourrages, en tourteaux non tannés et en ANP. Il provoque une alcalose ou intoxication ammoniacale aiguë. L'excès d'azote non dégradable (tourteaux tannés) stimule la production laitière mais accroît le déficit énergétique.

3.1.1.2. Insuffisance de glucides fermentescibles

La valeur énergétique de la ration conditionne la gravité des troubles occasionnés par un apport azoté trop important. L'impact de cet excès est modéré si l'organisme dispose de suffisamment d'énergie et de radicaux carbonés pour transformer l'azote excédentaire par le biais des synthèses microbiennes ruminales et de l'uréogenèse. Dans un contexte de bilan énergétique positif, toute surcharge azotée est transformée en protéines et stimule la production laitière, ainsi que la croissance.

Dans le cas contraire, l'excès azoté est converti en ammoniac, urée et acides alpha cétoniques (catabolites des acides aminés), toxiques pour la fonction de reproduction.

De plus, lors d'un déficit énergétique, les effets d'un excès azoté sont aggravés par le manque de substrats carbonés et d'énergie pour la protéosynthèse microbienne et l'uréogenèse. A titre d'exemple, de l'ensilage de maïs trop mûr et insuffisamment broyé, du sorgho, des pommes de terre, des fourrages récoltés tardivement sont faiblement énergétiques.

3.1.1.3. Absence de synchronisation entre les apports de protéines dégradables et les apports de glucides fermentescibles

L'excès azoté est d'autant plus néfaste que les apports azotés et énergétiques sont décalés dans le temps. C'est le cas lors de régimes dissociés (ensilage de maïs le matin et ensilage d'herbe le soir ; complémentation énergétique à l'aube et complémentation azotée à la traite), ou bien si les repas sont déséquilibrés, trop peu nombreux ou mal répartis dans la journée, même si la ration est globalement satisfaisante. Il convient donc d'ajuster la cinétique de dégradation des protéines à la disponibilité énergétique : par exemple, à un tourteau tanné, assimilé lentement, on associera du maïs grain, source d'énergie lentement dégradable.

3.1.2. Facteurs favorisants

3.1.2.1. Age

Multipares : Chez des vaches en 4ème lactation, l'augmentation de la concentration en protéines de la ration (19 % contre 16 % MS) ou de la proportion en protéines hautement dégradables (72 % contre 62 %) altère fortement le taux de réussite en IA (29 % contre 53 %), tandis que la fertilité des vaches en 2ème ou 3ème lactation est peu atteinte. Quant aux vaches en 1ère lactation, elles ont une meilleure fertilité (TRIA1 de 65 % contre 36 %) lorsque la ration à 16 % de PB (au lieu de 19 %) est riche en protéines très dégradables (**Ferguson, 1996 ; Folman et al. 1983**).

Génisses : Les génisses s'avèrent très sensibles à l'excès d'azote soluble, qui provoque des avortements et favorise les rétentions placentaires (**Paragon, 1991**). Pour **Howard et al. (1987)**, une augmentation de l'apport en protéines dégradables améliore la fertilité de génisses de moins de 28 mois mais détériore celle des vaches de plus de 56 mois. Cependant, **Ferguson & Chalupa (1989)** constatent une diminution de la fertilité des génisses en cas d'apports azotés excessifs, même si l'apport énergétique est adapté, car la priorité de l'organisme n'est ni la reproduction, ni la production laitière, mais la croissance.

3.1.2.2. Niveau de production laitière

Un taux de 15-16 % de MAT s'avèrera excessif pour un troupeau de productivité moyenne mais sera optimal pour des fortes productrices.

En définitive, la multiplicité des facteurs à prendre en compte explique les divergences des auteurs sur l'impact des excès azotés sur la fonction de reproduction. D'une manière générale, la fertilité est altérée à partir 17 % de MAT dans la ration, et gravement atteinte pour 19 % de MAT (**Ferguson & Chalupa, 1989**).

4. Pathogénie des troubles de la reproduction

4.1. Mécanisme d'action

Le mécanisme par le quel un taux élevé d'urée dans le sang affecte négativement la fertilité :

4.1.1. Toxicité des composés azotés

L'excès protéique conduit à une élévation des concentrations sanguines et tissulaires en urée et en ammoniac, composés toxiques.

NH₃. L'ammoniac s'accumule dans les sécrétions du tractus génital sous forme d'ions ammonium : l'acidification du milieu réduit la motilité et la survie des spermatozoïdes, altérant ainsi la fécondation (**Kaur & Arora, 1995**). De plus, l'ammoniac est responsable d'avortements consécutifs à l'inflammation des caroncules placentaires (**Salat-Baroux, 1988**).

En outre, il réduit le pouvoir immunitaire des macrophages et des leucocytes, ralentissant alors la stérilisation post-partum de l'utérus ; les métrites qui en résultent créent un environnement dysgénésique pour l'implantation de l'embryon (**Ferguson & Chalupa, 1989**).

Urée. L'urée, toxique pour les gamètes et les embryons, est responsable des faibles taux de réussite en IA, des mortalités embryonnaires précoces et de l'allongement de l'intervalle entre les chaleurs (**Elrod & Butler, 1993**).

4.1.2. Altération de l'environnement utérin

Comme les autres fluides corporels, la concentration d'urée dans les sécrétions utérines augmente parallèlement à l'urée sanguine (**Jordan et al., 1983**). Cependant, d'autres modifications à sa composition ont également été observées durant la phase lutéale : diminution de la concentration de phosphore, potassium et magnésium (**Jordan et al., 1983**), diminution du pH (**Elrod et Butler, 1993**). Normalement, le pH des sécrétions utérines est d'environ 6,8 durant la phase œstrale (un pH similaire à celui du sperme bovin), puis augmente à environ 7,1 durant la phase lutéale. Les minéraux mentionnés plus haut présentent une variation similaire (**Elrod et Butler, 1993**). Les variations normales de pH sont contrôlées par la réponse de l'endomètre utérin à la concentration de progestérone. Une concentration d'urée élevée diminuerait la capacité de la progestérone de contrôler la composition ionique du fluide utérin (**Butler, 1998**).

De plus, une sécrétion accrue de prostaglandines F_{2α} et E₂ a été observé lorsque des cellules endométriales d'utérus ont été incubées avec des concentrations élevées d'urée (**Butler, 1998**).

Ensemble, ces résultats indiquent clairement que des concentrations élevées d'urée affectent le développement et diminuent les chances de survie et d'implantation de l'embryon (**Blanchard et al. 1990 ; Bishonga et al. 1996 ; Ocon et al. 2003**).

4.1.3. Dysfonctionnement du contrôle hormonal

a/ Hormones ovariennes :

L'excès azoté perturbe la fonction endocrine du corps jaune en agissant directement sur la synthèse de la progestérone ou en altérant la sécrétion de LH (**Butler, 1998 ; Folman et al. 1983**). Or, la progestéronémie en phase lutéale est corrélée au taux de réussite en insémination (**Enjalbert, 1994**). Une baisse de la progestéronémie implique donc une moindre fertilité, en raison de l'importance de cette hormone dans la maturation folliculaire, la descente des embryons dans l'utérus, la sécrétion du lait utérin et le maintien d'un environnement utérin favorable à la poursuite de la gestation.

b/Hormones du Système Nerveux Central :

-LH. L'influence de la suralimentation protéique sur la fonction hypophysaire est moins claire. **Kaur & Arora (1995)** notent une réduction de l'amplitude et de la fréquence de la sécrétion pulsatile de LH. **Jordan et Swanson (1979)**, et **Howard et al. (1987)** rapportent une augmentation des concentrations sériques de LH chez des vaches nourries avec une ration riche en protéines, probablement en réponse à la baisse de la concentration de progestérone. **Randel (1990)** indique l'existence d'une relation inverse entre la concentration en LH et l'urémie et l'albuminémie.

-GnRH. L'excès protéique n'aurait pas d'effet direct sur la sécrétion de GnRH, sauf lorsque ces excès aboutissent à un important déficit énergétique.

En définitive, l'hypophyse et l'hypothalamus sont peu sensibles aux situations d'excès azoté, contrairement aux cas de déficit énergétique.

4.1.4. Impact sur le cycle œstral

Il semble que l'effet de l'apport protéique et de la concentration d'urée sur le retour de l'activité cyclique ovarienne soit minime et aucun effet sur le développement folliculaire n'a été rapporté (**Butler, 1998**). Aucun effet sur l'incidence de kystes ovariens n'a été observé (**Carlsson et Pehrson, 1993**).

4.1.5. Impact sur le bilan énergétique

L'élimination de l'excès d'azote sous forme d'urée entraîne une dépense énergétique significative pour la synthèse de l'urée à partir de l'ammoniac. Chaque molécule d'urée produit requiert l'apport de quatre molécules de phosphate provenant d'ATP, (**McBride et Kelly, 1990**), ce qui se traduit par une dépense énergétique estimée à environ 18 kcal par gramme d'azote en excès (**Staples et Thatcher, 2001**). Comme la priorité métabolique des vaches en début de lactation est la production de lait, ce coût énergétique additionnel affecte plus fréquemment les réserves corporelles (mobilisation plus importante, délai dans l'atteinte de l'équilibre énergétique ou regain plus lent) que la production. L'impact du bilan énergétique sur la reproduction (retard de la première ovulation, développement anormal des follicules et de l'embryon) a été démontré plus haut, il suffit donc de rappeler qu'un taux d'urée élevé engendre une dépense énergétique supplémentaire qui détériore le bilan énergétique.

Enfin, le niveau d'ammoniac dans le rumen serait l'un des mécanismes de contrôle de l'appétit, une concentration trop élevée entraînant une baisse de la consommation.

Tout ce qui affecte l'appétit risque forcément d'entraîner des problèmes de reproduction conséquence d'un déficit en énergie plus prononcé ; vaches subissant déjà un bilan énergétique négatif ou un stress comme une métrite (**Ferguson, 2002**).

4.1.6. Altération du métabolisme intermédiaire

La cholestérolémie est corrélée négativement à l'apport protéique et au déficit énergétique. En aggravant le déficit énergétique existant en début de lactation, l'excès azoté contribue doublement à diminuer la concentration plasmatique en cholestérol, précurseur des stéroïdes sexuels (**Ruegg et al., 1992 b**).

De plus, toute pathologie hépatique (stéatose, parasitose,) diminue les capacités de détoxification des surplus azotés et prédispose à l'infertilité. Réciproquement, plus l'excès azoté est important, plus le foie est engagé dans la voie de l'uréogénèse ; il est alors moins performant dans la synthèse de molécules indispensables à la fonction de reproduction (immunoglobulines, hormones...)

Tableau 4 : Utilisation de la glycémie et de l'urémie pour le dépistage en routine des maladies de production de la vache laitière. (Vagneur)

| | | GLYCEMIE | | |
|--|---|---|---|---|
| | | <u>Elevée</u> > 0.60 g/l > 3.5 mmol/l | <u>Moyenne</u> 0.55-0.60 g/l 3-3.5 mmol/l | <u>Faible</u> < 0.50 g/l < 2.75 mmol/l |
| U R E M I E | <u>Elevée</u> > 0.40 g/l > 6.5 mmol/l | Régime hyperconcentré : bonne technicité requise | Alcalose chronique Infertilité : repeat- breeding | Cétose Anoestrus Sous-production |
| | <u>Moyenne</u> 0.25-0.35 g/l 4-6 mmol/l | Acidose | Apports équilibrés | Léger déficit énergétique |
| | <u>Faible</u> < 0.20 g/l < 3 mmol/l | Acidose Sous-production Infertilité | Sous-production Infertilité | Sous-alimentation Sous-production Infertilité |

Chapitre III :

Potentiel fertilisant de male

1 - La puberté :

Elle se définit comme la première fois où le mâle est capable de produire un éjaculat contenant 50 millions de spermatozoïdes dont 10% au minimum sont mobiles.

Pour les bovins, la puberté est atteinte en moyenne entre 35 et 55 semaines d'âge. Comme chez la femelle, de nombreux facteurs influencent l'âge d'acquisition de la puberté, entre autres la race, le gain moyen quotidien (GMQ) et donc la nutrition, et la saison de naissance.

Chez le taureau, la puberté apparaît entre 10 et 12 mois on remarque des changements morphologiques peuvent être notés chez le mâle quelques semaines avant l'apparition des spermatozoïdes fertiles dans l'éjaculat. On observe des changements de la conformation corporelle, une augmentation de l'agressivité envers les autres mâles, une augmentation de la libido ainsi qu'une croissance rapide du pénis et des testicules. (THOMAS ET AL., 2002)

2-La spermatogenèse

La spermatogenèse ou formation de spermatozoïdes se définit comme l'ensemble des processus qui transforment la cellule germinale initiale (spermatogonie, cellule diploïde) en une cellule haploïde hautement spécialisée et différenciée : **le spermatozoïde**.

La spermatogenèse est un processus complexe et continu, (à partir du moment où elle démarre à la puberté, elle se déroule sans interruption jusqu'à produire des spermatozoïdes, et ce pendant de très nombreuses décennies) par opposition à l'ovogenèse

Chez l'espèce bovine, la durée de la spermatogenèse est constante : environ 74 jours. Elle aboutit à la formation en continu de millions de spermatozoïdes.

2.1. Cinétique de la spermatogenèse

a- Les spermatogonies:

Cellules souches diploïdes ($2n$), petites cellules arrondies de 10 à 15 μm de diamètre. Les spermatogonies, vont se multiplier par mitose et donner des **spermatocytes de type I** (spermatocyte I diploïde) ; Cette étape dure 27 jours.

b- Les Spermatocytes

C'est la différenciation qui entame la réduction de la moitié du nombre du chromosome ($2n$ chromosome, n chromosome)

Se caractérise par 02 méioses :

- Méiose réductionnelle
- Méiose équationnelle

*Méiose réductionnelle: On passe du spermatocyte I en spermatocyte II diploïde. La première division aura pour conséquence:

- La réduction de moitié de la garniture chromosomique
- La disjonction des hétérochromosomes X et Y
- L'échange de matériel héréditaire entre les chromatides d'origine paternelle et maternelle.
- C'est une période très longue, cette première division méiotique dure 23 jours

*Méiose équationnelle: Elle aboutit à partir d'un spermatocyte de type II à deux spermatides de cellules haploïdes:

- Légèrement allongées, de petites taille (8-10 Pm)
- S'observent vers l'intérieur du tube séminifère
- A noyau claire possédant un nucléole volumineux
- C'est une division très rapide (moins de 24heures)

La méiose produit donc deux gonades populaires de spermatozoïdes à X ou Y et crée une très grande diversité génétique par répartition au hasard des chromosomes

c- La spermiogénèse

C'est la maturation post-méiotique des spermatides en spermatozoïdes. Cette phase ne comporte pas de division cellulaire mais seulement des transformations nucléaires et cytoplasmiques des spermatides. Ce phénomène se déroule dans la lumière des tubes séminifères, au cours de leur trajet dans le tractus génital.

Elle abouti à la formation de cellules spécialisées dans la reproduction : **les spermatozoïdes.**

d-Le spermatozoïde :

- Structure du spermatozoïde :

- Tête :(Acrosome, noyau)
- Flagelle

- Fonction du spermatozoïde:

-Fonction flagellaire: mobilité

-Fonction céphalique : fécondance

-Fonction nucléaire : génétique

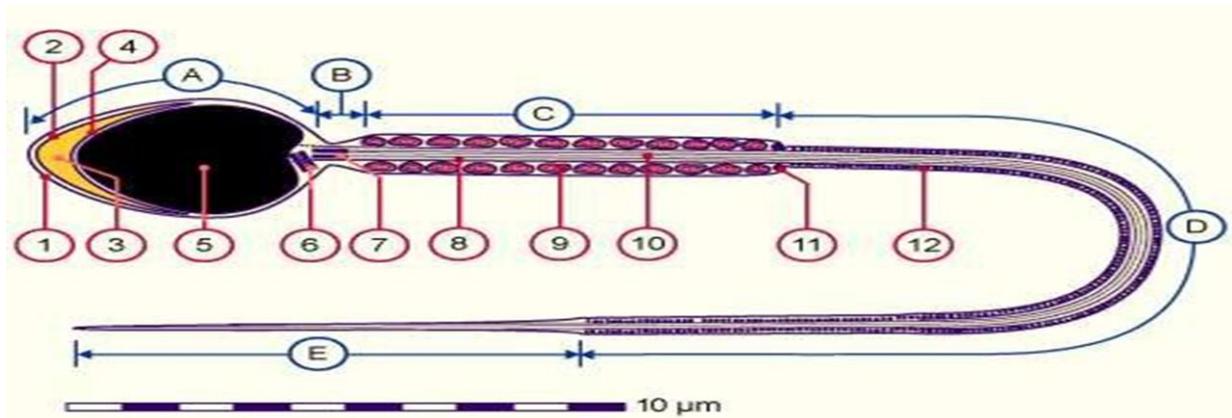


Figure 11: Ultra structure du spermatozoïde

1 : Membrane plasmique, 2 : Membrane acrosomiale externe, 3 : Acrosome, 4 : Membrane acrosomiale interne, 5 : Noyau, 6 : Centriole proximal, 7 : Restes du centriole distal,

8 : Faisceaux longitudinaux extérieurs denses, 9 : Mitochondrie, 10 : Axonème, 11 : Annulus, 12 : Fibres denses externes. A : Tête, B : Collet, C : Pièce intermédiaire, D : Pièce principale,

E : Pièce terminale

2.3. Contrôle de la spermatogenèse

a-Facteur physique:

- La spermatogenèse est liée à la température : Température idéale est de 35 degrés

-
- Se déroule efficacement que dans le scrotum (la température est inférieure de 3 à 5 degrés à la température corporelle)
 - Elle est inexistante dans les testicules intra-abdominaux (ex: cryptorchidie, par anomalie de la descente testiculaire)

b-Contrôle neuro- endocrinien

GnRH :

C'est Le premier responsable de la fonction testiculaire. La production pulsatile de cette hormone par des neurones de l'hypothalamus (production très augmentée à la période pubertaire) que s'installe la fonction testiculaire.

Il provoque la sécrétion hypophysaire de 02 hormones: FSH et LH au niveau du testicule, ces hormones ont les actions suivantes :

FSH: elle permet le développement des cellules de sertoli et la spermatogenèse (fonction exocrine du testicule : excrétion des spermatozoïdes)

Elle se fixe sur des récepteurs membranaires des cellules de sertoli et joue un triple rôle:

- l'activation de la spermatogenèse par l'intermédiaire du cytoplasme sertolien
- La stimulation de la formation d'ABP (Androgène Binding Protéine)
- Elle provoque la sécrétion d'inhibine, hormone exerçant un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH

LH: Assure la multiplication des cellules de Leydig et la sécrétion de testostérone.

Rôle de testostérone :

La majeure partie de testostérone pénètre dans le cytoplasme sertolien ou elle se lie à ABP pour conditionner le développement de l'épithélium séminal et le bon fonctionnement des voies génitales (liquide séminale) La testostérone libre passe dans le sang et exerce deux actions:

- Une action positive sur le tractus génital et les glandes annexes

- ❑ Une rétroaction négative sur la sécrétion de LH.

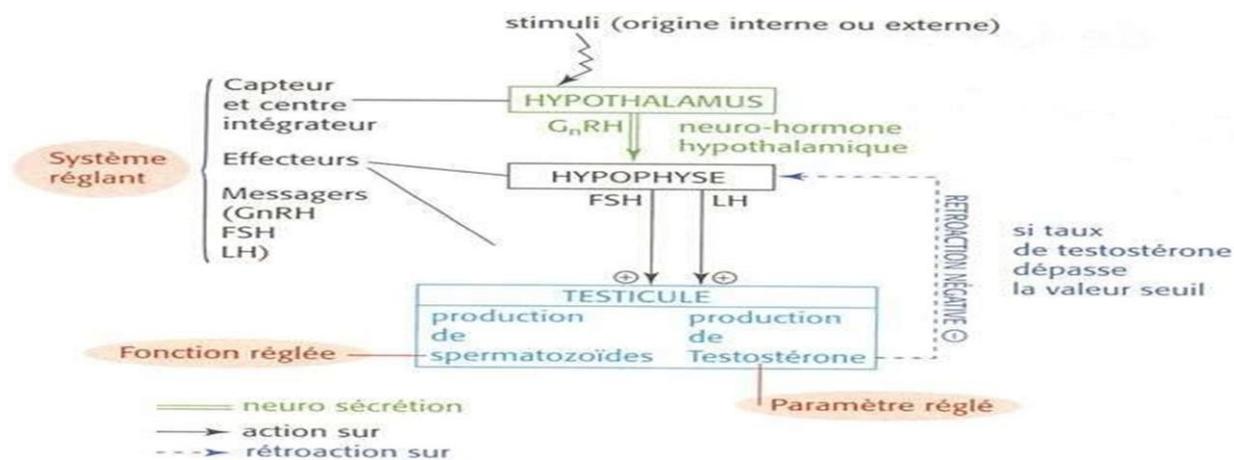


Figure 12: Régulation neuroendocrinienne de la spermatogenèse

3 - La libido :

La libido peut être définie comme la volonté et la vigueur du mâle, c'est une composante importante de la fertilité du taureau, surtout en monte naturelle. Elle est déterminée par de nombreux facteurs. Une part est génétique comme par exemple la race : les taureaux allaitants ou l'âge. Mais il y a aussi des facteurs environnementaux comme l'apprentissage, le ratio de vaches présentées par taureau, la présence d'un autre taureau plus dominant. Enfin des problèmes physiques (Boiterie, obésité, maladie générales) et nutritionnels (sur ou sous-nutrition) peuvent entraîner une diminution de la libido (**PETHERICK, 2005**)

La libido chez le mâle est un indice qui représente leur vigueur et leur fertilité, la libido est influencée par plusieurs facteurs tels que l'alimentation qui est le facteur majeur qui agit sur l'expression de ce comportement par l'animal. En effet une sous alimentation conduit à une perte du poids vifs des animaux qui peut affecter le désir sexuel des mâles, également une suralimentation conduisant à l'engraissement voire obésité des animaux provoque la diminution de leur libido ainsi peut devenir un problème en monte naturel et aussi en insémination artificielle.

4- Le sperme et spermogramme (qualité/quantité) :

La qualité du sperme peut être altérée sous les climats difficiles. Généralement, il est décrit chez les taureaux importés de zones tempérées, une influence défavorable des températures élevées, associées ou non à une forte hygrométrie, sur la qualité du sperme : Baisse de la concentration, de la motilité, du pourcentage de spermatozoïdes vivants, de la fertilité, et augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux. (DEMARQUETTE, 1966)

D'après, (CORAH, 1987) la décision de garder ou détruire le sperme récolté est en fonction des résultats que fournit l'examen de sa qualité. Les normes communément admises pour l'évaluation de la qualité d'un éjaculat dans le cadre de son utilisation pour insémination artificielle sont :

- Volume > 1 ml ;
- Concentration supérieure à $0,5 \times 10^9$ par ml ;
- Motilité supérieure à 3 ;
- Pourcentage de spermatozoïdes vivants supérieur à 60% ;
- Taux de spermatozoïdes sans anomalies majeures supérieur à 80% ;
- PH (6,5- 7,2).

La qualité et la quantité de spermatozoïdes est sous l'influence des facteurs : climatiques, génétique et le facteur alimentation. L'alimentation constitue le facteur majeur favorisant la production de spermatozoïdes par les mâles à son tour participe à une meilleure qualité et/ou quantité de la semence, l'alimentation minérale et vitaminique contribue à l'amélioration de cette qualité et/ou quantité. Or toute carence en élément minéraux et en vitamine entraîne une baisse de la motilité des spermatozoïdes. La spermato-gramme permet d'évaluer et d'apprécier sa qualité (motilité, fertilité) et sa quantité (concentration, pourcentage de spermatozoïdes vivant et le taux de spermatozoïdes anormaux). Afin de maximiser le succès de l'insémination artificielle et d'assurer une semence de qualité aux utilisateurs pour assurer également une fécondation.

5 - Technique de l'insémination artificielle :

5.1. Transport de la semence :

Le transport des semences congelées se fait dans des récipients ou containers à -196°C. **(HASKOURI, 2001, PARREZ et DUPLAN, 1987, WATTIAUX, 2000).**

La manipulation de ces containers est souvent prise a légère par les inséminateurs, lorsque cet équipement tombe en panne (cassure, manque de liquideetc. il cause beaucoup de pertes. **(HASKOURI 200 WATTIAUX 2000)**

5.2. Décongélation du sperme :

Dans les conditions pratiques, on s'attachera à minimiser le temps entre la décongélation et l'insémination en évitant ainsi de causer des dégâts aux cellules spermatiques et à utiliser un bain marie de 35 à 37 °C comme milieu de décongélation **(HASKOURI, 2001)**. La semence doit être décongelée dans un petit thermos d'eau à 32-35 secondes. **(HASKOURI, 2001, WATTIAUX, 2000)**

5.3. Technique d'insémination :

L'insémination artificielle requiert une connaissance précise du système reproducteur de la vache et un entrainement adéquat du technicien. Une personne expérimentée garde toujours a l'esprit l'importance de l'hygiène pendant la procédure pour minimiser les risques d'infection bactérienne. Par contre, une personne inexpérimentée peut non seulement déposer a semence au mauvais endroit, mais en plus, le manque d'hygiène et de dextérité peuvent causer des infections ou des blessures internes. **(WATTIAUX ,2000)**. Pendant l'insémination artificielle, la paillette doit être passée a travers du cervix et la semence doit être déposée dans le corps de l'utérus ; durant cette procédure ; le technicien insère sons bras dans le rectum. Il est important d'éviter trop de mouvements a l'intérieur du rectum Our éviter que l'air n'y pénètre et le fasse « gonfler » ce qui rend la manipulation du système reproducteur difficile. Le cervix peut être localisé en raclant le plancher du rectum lentement **(WATTIAUX, 2000)**

L'expertise de l'inséminateur est de savoir manipuler le cervix. Il doit être tenu fermement mais 'légèrement ' et supporte par la main plutôt que pince entre les doigts. Une fois que la main contrôle bien les mouvements du cervix, la pipette (contenant la paillette de semence) est insérée lentement dans le vagin et l'ouverture du cervix. Mouvoir le cervix d'une main (et la pipette avec l'autre main) est souvent nécessaire pour pouvoir passer le cervix. Lorsque le bout de la pipette peut se sentir a l'extrémité opposée du cervix, c'est-à-dire a l'entrée du corps de l'utérus, l'inséminateur y p dépose a semence. Si la pipette est insérer trop loin et la

semence est déposer dans une corn utérus la probabilité de fécondation diminue fortement
(**HASKOURI, 2001 ; PAREZ et DUPLAN 1987 ; WATTIAUX 2000**)

Partie expérimentale

Objectif de l'étude

Les protéines alimentaires jouent un rôle important dans la reproduction, l'augmentation des protéines brutes alimentaires et leur catabolisme accru engendre l'augmentation des métabolites protéiques dans le sang cela a été associé à une diminution de la réussite de l'IA chez la vache.

L'objectif de notre étude est d'étudier l'impact de ces métabolites plus exactement l'ammoniac (NH_3) sur la qualité spermatique chez les bovins.

Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes

1.1. Lieu d'étude

On a fait notre étude au niveau de laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction (LBRA), Institut des sciences vétérinaires, Université Blida 1.

1.2. Matériel biologique

On a utilisé six paillettes de la semence congelée d'espèce bovine issue des taureaux de la race Holstein. On les a obtenues au centre national de l'insémination artificielle et de l'amélioration génétique (CNIAAG) Alger.



Figure 13 : Des paillettes commerciales de la semence bovine

1.3. System CASA

Pour analyser la vitalité et la mobilité spermatique nous avons utilisé le système CASA (Computer Assisted Semen Analysis). Celui-ci est composé d'un microscope à contraste de phase équipé d'une caméra reliée à un poste informatique muni d'un logiciel d'analyse dédié (figure 13).

Cet ensemble nous permet d'observer la course des spermatozoïdes et d'enregistrer de façon précise les trajectoires de plusieurs dizaines d'entre eux simultanément.

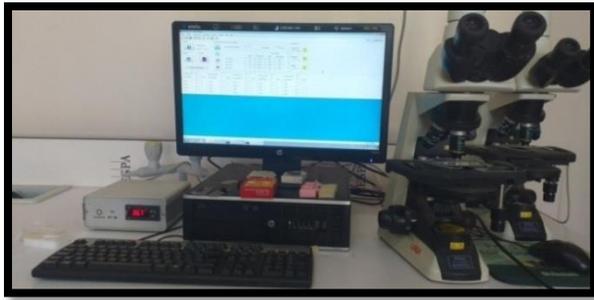


Figure 14: L'automate CASA

L'acquisition des champs est réalisée par la caméra, associée à un effet stroboscopique de fréquence calibrée. Le contraste de phase va permettre de faire ressortir la tête des spermatozoïdes à l'image, que le logiciel va repérer selon des données espèces-dépendantes de taille, d'intensité et de contraste, pré-intégrées au logiciel. Cela va nous permettre d'obtenir une analyse du déplacement des têtes des spermatozoïdes. Les trajectoires de la tête ainsi obtenues vont nous permettre de calculer un certain nombre de paramètres (figure14) :

- La vitesse curvilinéaire ou VCL, trajectoire réelle.
- La vitesse moyenne ou VAP, trajet moyen.
- La vitesse en ligne droite ou VSL, distance entre les points de départ et d'arrivée.
- L'amplitude latérale de la tête ou ALH, distance entre la position réelle de la tête du Spermatozoïde et la position moyenne.

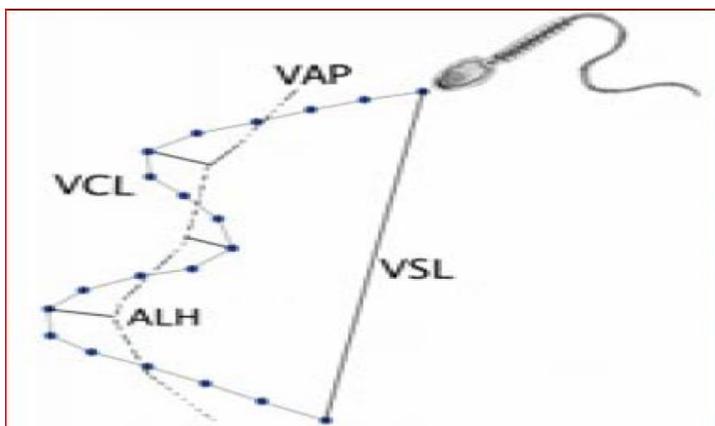


Figure 15: Représentation des différentes trajectoires de la tête obtenue par analyses de l'automate CASA.

Le logiciel permet également de discriminer, par un certain nombre de "cut-offs" dans les paramètres, différentes populations de spermatozoïdes présentes dans l'échantillon et de les quantifier (immobiles, mobiles, progressifs, hyperactives).

1.4. Conservation du sperme

Les paillettes de la semence congelée ont été conservées dans un bété contenu de l'azote liquide d'une température de -196°C .

Le sperme a été dilué avec un dilueur commercial et cryoconservé selon les procédures standards, conditionnées en pailles en plastique de 0,25 ml contenant 20×10^6 des spermatozoïdes par paillette et conservés dans un liquide azote.

1.5. Préparation de l'ammoniac

Nous avons préparé la solution à tester avec de l'ammoniac (NH_3) 30% dilué avec de l'eau physiologique (NaCl , 0,9%) avec une dose de 24ml /100ml. Le pH a été tamponné avec des solutions tampons à 6.89 à l'aide d'un pH mètre.



Figure 16: Le NaCl

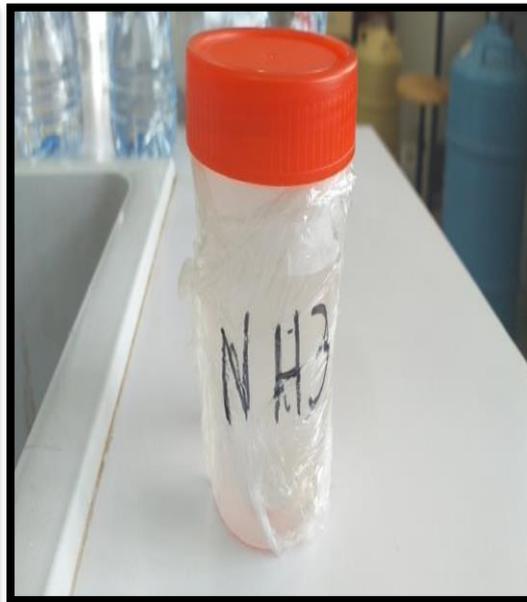


Figure 17: L'ammoniac

1.6. Préparation d'échantillon d'étude



Figure 18: Préparation de l'échantillon

Nous avons décongelé la semence en plongeant les paillettes dans l'eau d'un bain-marie d'une température de 37°C pendant 30 secondes.

Après avoir ouvert les six paillettes (0.25ml) en coupant les deux extrémités, on a vidé le contenu (1.5 ml de semence) dans un tube sec, en rajoutant le même volume (1V=1.5ml) de sérum physiologique (NaCl,0,9%). On obtient la solution n°1.

Dans deux autres tubes secs on mit 1 ml de la solution n°1 on rajoute 1ml de sérum physiologique (NaCl,0,9%) dans le premier tube on obtient la solution **témoin**. Dans l'autre tube, on rajoute 1 ml de l'ammoniac pour obtenir la solution de l'**ammoniac**.

Pour bien mélanger les solutions, on a utilisé un vortex.

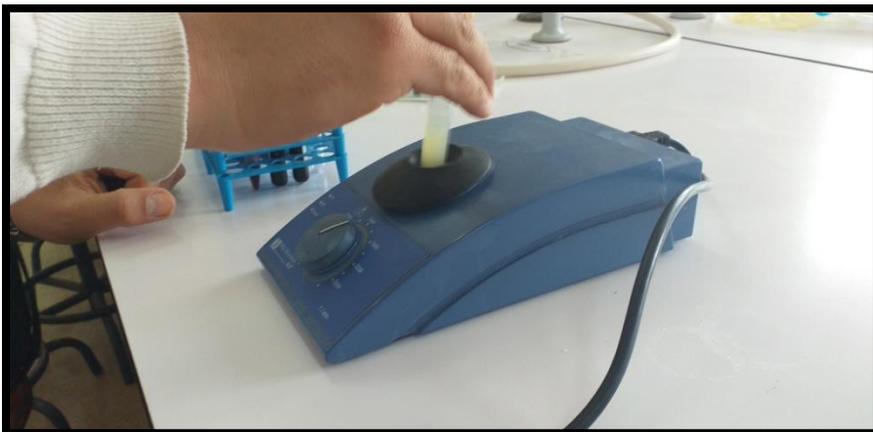


Figure 19: Agitation des solutions

Les échantillons ont ensuite été incubés à 37°C et évalués pour la vitalité et la motilité dans les 4 temps différents :

T0 =juste après la dilution (5min)

T1=30min

T2=1h30

T3=3h

2. Analyse de la mobilité

Sur deux lames de verre préchauffées, on met sur la première une goutte de la solution témoin et sur la deuxième une goutte de la solution d'ammoniac.

On prend une lamelle de verre, on pose un côté de la lamelle contre la goutte, on laisse descendre la lamelle. Les lames sont mises sous le microscope photonique pour analyser la mobilité des spermatozoïdes dans les deux milieux.

Les caractéristiques de motilité des spermatozoïdes étaient déterminées avec un objectif 10 et un oculaire x10 à 37 °C.

Pour chaque échantillon, trois champs microscopiques ont été analysés (environ 500 spermatozoïdes) à l'aide du système d'analyse de sperme assistée par ordinateur. Les proportions de spermatozoïdes mobiles (motilité) et les spermatozoïdes progressivement mobiles ont été évalués, ainsi que leur cinématique (figure 19).

Les cinématiques enregistrées pour chaque spermatozoïde étaient :

1- VCL : la vitesse curviligne ($\mu\text{m/s}$) : vitesse moyenne des spermatozoïdes mobiles sur la distance parcourue, y compris toutes les déviations des spermatozoïdes mouvement de la tête.

2- VAP : vitesse de trajectoire moyenne ($\mu\text{m/s}$) ;

3- VSL : vitesse en ligne droite ($\mu\text{m/s}$) ;

4- ALH : amplitude du déplacement latéral de la tête (μm) ;

5- BCF : fréquence croisée de battement (Hz) ;

6- WOB : coefficient d'oscillation ($\mu\text{m/s}$) ; calculé comme VAP/VCL ;

7- LIN : linéarité ($\mu\text{m/s}$) ; calculée comme VSL/VCL ;

8- STR : la rectitude (; calculée comme VSL/VAP).



Figure 20: Lecture de la mobilité des spermatozoïdes

On refait cette méthode de lecture de mobilité pour 4 temps différents T0, T1, T2, T3.

3. Analyse de la vitalité

Le test de Williams permet de différencier les spermatozoïdes vivants des spermatozoïdes morts.

3.1. Coloration

La viabilité des spermatozoïdes a été estimée dans les deux milieux à l'aide de la coloration à l'Eosine-Nigrosine.

Sur une lame préchauffée, on dépose une goutte de la solution témoin sur une extrémité on ajoute une goutte d'éosine. On mélange. Puis on attend 30 secondes. On ajoute une goutte de Nigrosine. Puis on mélange.

Avec une autre lame on étale le mélange en commençant au niveau des trois gouttes mélangées vers l'autre extrémité de la lame. Puis on laisse quelle sèche. On fait la même chose pour la solution d'ammoniac.

On refait cette coloration pour les quatre temps différents : T0, T1, T2 et T3.

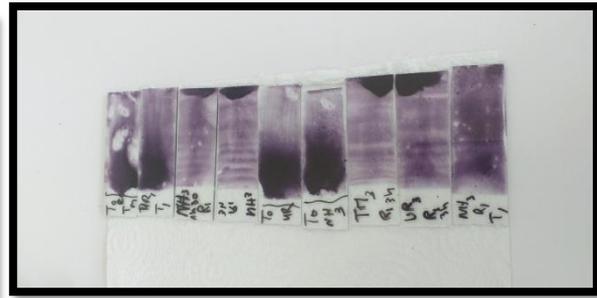


Figure 21: Eosine-Nigrosine

Figure 22: Lames colorés à l'éosine-nigrosine

La coloration à l'éosine- nigrosine est pour établir le pourcentage de spermatozoïdes vivants.

3.2. Lecture de vitalité

On met les lames colorées sous le microscope photonique pour analyser la vitalité des spermatozoïdes dans les deux solutions.

Les spermatozoïdes morts sont colorés en rose, les spermatozoïdes vivants ne fixant pas le colorant restent blancs (figure 22). Les spermatozoïdes ayant une bordure post acrosomiale rose sont considérés comme morts même si le reste de la cellule est incolore. Le résultat est exprimé en pourcentage de spermatozoïdes vivants.

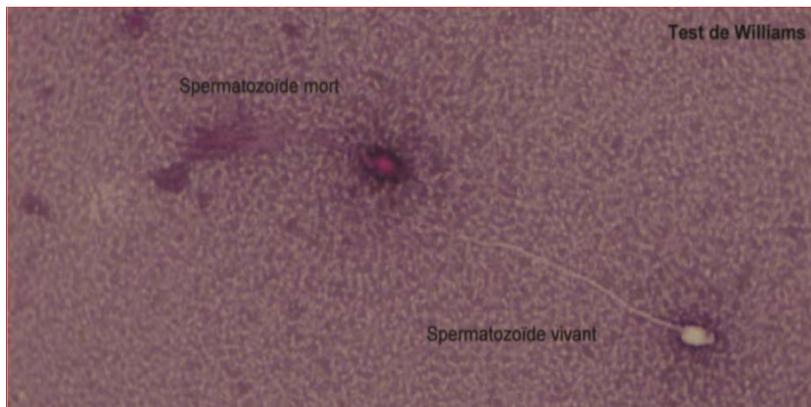


Figure 23: Test de Williams sur spermatozoïde bovin.

La tête des spermatozoïdes morts apparaît en violet et la tête des spermatozoïdes vivants apparaît en blanc.

Résultats et discussions

1. Résultats

Le but principal de notre travail a été d'étudier l'impact de l'ammoniac (NH₃) sur la vitalité et la mobilité des spermatozoïdes.

Les résultats sont obtenus sous forme d'es tableaux de données avec des pourcentages correspondant aux différents paramètres de vitalité et de motilité des spermatozoïdes dans le milieu témoin et le milieu contenant de l'ammoniac.

1.1. La vitalité des spermatozoïdes

La proportion des spermatozoïdes vivants est faible dans le milieu contenant de l'ammoniac par rapport au milieu témoin et diminue dans les deux milieux avec le temps. (Tableau 5).

Il y a une différence significative (P=0,019) entre le milieu témoin et le milieu contenant de l'ammoniac.

Tableau 5: Pourcentage de la vitalité des spermatozoïdes dans les deux milieux NH₃ et témoin.

| Descripteurs de la vitalité spermatiques | Milieu | Temps | | | | SE | Valeur P | | |
|--|-----------------|-------|--------|--------|---------|-----|----------|-------|-------|
| | | 5 min | 30 min | 90 min | 180 min | | Groupe | Temps | G*T |
| Vitalité | Control | 45.5 | 44.7 | 44.2 | 36.2 | 6.9 | 0.019 | 0.161 | 0.801 |
| | NH ₃ | 37.7 | 36.7 | 28.3 | 17.2 | | | | |

SE : Erreur standard ;

Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives (groupe)

G*T : Interaction de groupe*temps.

1.2. La motilité globale des spermatozoïdes

La motilité globale des spermatozoïdes était plus faible dans le milieu contenant de l'ammoniac (NH₃) par rapport au milieu témoin dans les différents temps (T0, T1, T2, T3).

Il y a une différence significative (P=0.0008) entre les groupes contenant de l'ammoniac et les groupes témoins.

A T1=30 min la motilité globale des spermatozoïdes à augmenter dans les deux milieux (NH3 et témoin) par rapport à T=5min.

A T2=90min et T3=180min la motilité a diminué à nouveau. (**Tableau 06**)

Tableau 6: Pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans les différents milieux NH3 et témoin

| Descripteurs de la motilité spermatique | Milieu | Temps | | | | SE ² | Valeur P | | |
|---|-----------------|-------|--------------------------|--------|---------|-----------------|----------|-------|------------------|
| | | 5 min | 30 min | 90 min | 180 min | | Groupe | Temps | G*T ⁴ |
| % Motile | Control | 29.65 | 52.56_a | 29.48 | 23.30 | 8.51 | 0.0008 | 0.187 | 0.586 |
| | NH ₃ | 10.40 | 13.58_b | 6.88 | 5.71 | | | | |

1.2.1. Motilité progressive des spermatozoïdes

Pour la motilité progressive des spermatozoïdes la proportion des spermatozoïdes progressifs était trop faible dans le milieu contenant de l'ammoniac par rapport au milieu témoin. Elle diminue avec le temps jusqu'elle devienne nulle a T3=180min.

A T2=90min la motilité progressive dans les deux milieux a augmenté par rapport à T0 et T1. (**Tableau7**).

Il y a une différence significative (P=0,0001) entre le milieu témoin et le milieu contenant de l'ammoniac.

Tableau 7: Pourcentage de la mobilité progressive des spermatozoïdes dans les différents milieux NH3 et témoin.

| Descripteurs de la motilité spermatique | Milieu | Temps | | | | SE ² | Valeur P | | |
|---|-----------------|-------|--------|--------------|---------|-----------------|----------|-------|------------------|
| | | 5 min | 30 min | 90 min | 180 min | | Groupe | Temps | G*T ⁴ |
| % Prog Mot | Control | 31.05 | 28.52 | 30.55 | 18.07 | 6.79 | 0.0001 | 0.507 | 0.910 |
| | NH ₃ | 6.00 | 1.30 | 5.07 | 0.00 | | | | |

1.2.2. Les descripteurs de la motilité des spermatozoïdes

A T1=30min dans le milieu témoin, on remarque que les cinématiques VAP, VCL, VSL, WOB sont plus élevées que dans le T0=5min.

Et dans le milieu contenant de l'ammoniac les vitesses VAP, VCL, VSL, ALH, BCF sont plus élevées à T2=90min que dans le T1=30min (**tableau8**). Pour presque tous les paramètres sont plus faibles dans l'ammoniac que dans le milieu témoin.

Dans tous les paramètres y a une différence très significative entre les groupes témoin et les groupes d'ammoniac.

Ces paramètres ont été significativement différents dans le temps ; nous avons aussi constaté une interaction groupe*temps significatif sauf pour le paramètre VSL et BCF.

Tableau 8: Pourcentage des descripteurs de la motilité des spermatozoïdes

| Descripteurs de la motilité spermatozoïque | Milieu | Time | | | | SE ² | | | | Valeur P | | |
|--|-----------------|-------|--------------|-------------|--------------|-----------------|--------|--------|---------|----------|---------|------------------|
| | | 5 min | 30 min | 90 min | 180 min | 5 Min | 30 Min | 90 Min | 180 Min | Groupe | Temps | G*T ⁴ |
| VAP | Control | 29.2 | 31.3 | 26.2 | 23.7 | 0.83 | 0.56 | 0.82 | 0.83 | <0.0001 | <0.0001 | 0.023 |
| | NH ₃ | 12.9 | 12.8 | 14.2 | 9.4 | 1.42 | 1.07 | 1.69 | 1.81 | | | |
| VCL | Control | 43.5 | 43.8 | 37.8 | 38.9 | 1.02 | 0.69 | 1.01 | 1.02 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| | NH ₃ | 21.5 | 21.6 | 27.9 | 18.4 | 1.75 | 1.31 | 2.07 | 2.22 | | | |
| VSL | Control | 23.49 | 24.38 | 20.96 | 16.38 | 0.79 | 0.54 | 0.79 | 0.80 | <0.0001 | <0.0001 | 0.151 |
| | NH ₃ | 8.76 | 8.19 | 8.36 | 4.63 | 1.37 | 1.03 | 1.62 | 1.74 | | | |
| STR | Control | 0.677 | 0.663 | 0.637 | 0.594 | 0.01 | 0.008 | 0.01 | 0.01 | <0.0001 | <0.0001 | 0.030 |
| | NH ₃ | 0.617 | 0.631 | 0.540 | 0.469 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | | | |
| LIN | Control | 0.472 | 0.467 | 0.452 | 0.387 | 0.01 | 0.007 | 0.01 | 0.01 | <0.0001 | <0.0001 | 0.001 |
| | NH ₃ | 0.432 | 0.416 | 0.297 | 0.264 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | | | |
| WOB | Control | 0.633 | 0.651 | 0.621 | 0.579 | 0.009 | 0.006 | 0.009 | 0.009 | <0.0001 | <0.0001 | 0.0001 |
| | NH ₃ | 0.629 | 0.621 | 0.499 | 0.510 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | | | |
| ALH | Control | 1.81 | 1.76 | 1.62 | 2.01 | 0.03 | 0.02 | 0.03 | 0.03 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| | NH ₃ | 1.26 | 1.35 | 1.69 | 1.21 | 0.06 | 0.05 | 0.08 | 0.08 | | | |
| BCF | Control | 6.61 | 6.29 | 6.62 | 4.35 | 0.17 | 0.12 | 0.17 | 0.18 | <0.0001 | <0.0001 | 0.111 |
| | NH ₃ | 3.91 | 3.00 | 3.22 | 2.09 | 0.30 | 0.23 | 0.36 | 0.38 | | | |

2. Discussion

La motilité est considérée comme un paramètre important pour l'évaluation de la qualité du sperme bovin. Cependant, la motilité et les paramètres cinématiques ne doivent pas être considérés comme une solide indication du pouvoir fécondant d'un échantillon de sperme donné sans tenir compte des interactions des spermatozoïdes avec les microenvironnements qu'ils rencontrent (Mc Knight et al., 2014).

La motilité des spermatozoïdes peut être affectée d'une condition à l'autre, y compris le type d'instrument (**Amann & Waberski, 2014**), réglage de CASA, température à laquelle l'analyse est faite (**Broekhuijse, Šostarić, Feitsma et Gadella, 2011**) et enfin les milieux de sperme (**Anbari et al., 2016**). En particulier, différents composés présents dans les fluides de l'appareil génital féminin peuvent affecter les caractéristiques de motilité des spermatozoïdes (**Åkerlöfet al., 1987**).

Dans notre expérience le nombre de spermatozoïdes morts était plus élevé dans l'ammoniac que le groupe témoin (tableau 08). Ceci démontre l'effet de l'excès des concentrations de l'ammoniac dans l'utérus sur les spermatozoïdes lors de la saillie ou de l'insémination artificielle. L'ammoniac est toxique pour les gamètes et les embryons, est responsable des faibles taux de réussite en IA, des mortalités embryonnaires précoces et de l'allongement de l'intervalle entre les chaleurs (**Elrod & Butler, 1993**).

L'augmentation de protéines dégradables dans le rumen constituerait un risque d'augmentation de la concentration en ammoniac et donc de l'urée plasmatique et urinaire. **Enjalbert (2003)** observe l'existence d'une relation négative entre la fertilité et l'urémie. En effet, les vaches avec MET ont en moyenne une urémie supérieure à celle de vaches gravides, puis le taux de mortalité embryonnaire est sensiblement plus élevé lors de la distribution de la ration la plus riche en azote

Elrod et Butler (1993) et Ferguson (2002) ont mesuré l'intervalle entre les saillies et ont observé un nombre plus élevé de cycles longs (26 à 36 jours) chez les sujets démontrant un taux d'ammoniac élevé, ce qui indique une possible mortalité embryonnaire subséquente à une fertilisation.

L'excès azoté perturbe la fonction endocrine du corps jaune en agissant directement sur la synthèse de la progestérone (**Butler, 1998 ; Folman et al., 1983**). Or, la progestéronémie en phase lutéale est corrélée au taux de réussite en insémination (**Enjalbert, 1994**). Une baisse de la progestéronémie implique donc une moindre fertilité, en raison de l'importance de cette hormone dans le maintien d'un environnement utérin favorable à la poursuite de la gestation.

On a observé aussi pour la motilité des spermatozoïdes (tableau 09) qu'elle s'est affectée dans l'ammoniac ou elle se diminue par rapport au milieu témoin.

L'ammoniac s'accumule dans les sécrétions du tractus génital sous forme des ions d'ammonium : l'acidification du milieu réduit la motilité et la survie des spermatozoïdes, altérant ainsi la fécondation (**Kaur & Arora, 1995**).

Le taux de survie des spermatozoïdes congelés, après décongélation, diminue au cours de la période d'étude, passant de 85% à 74%. On a constaté que la motilité des spermatozoïdes (tableau 09) a augmenté à T1 par rapport à T0 ou nous concluons que les spermatozoïdes prennent un temps environ de 30 min pour la réactivation après la décongélation.

Les vitesses VAP, VCL, VSL (tableau11) ont augmenté également dans T1 pour le milieu témoin alors que dans le milieu d'ammoniac ont augmenté à T2. L'ammoniac retarde la réactivation de la mobilité des spermatozoïdes.

CONCLUSION

Les meilleurs résultats de reproduction de la vache sont obtenus, lorsque les besoins alimentaires des animaux sont satisfaits sur une longue durée : des mises en réserves sont possibles à certains moments du cycle de reproduction, comme avant le vêlage chez les vaches laitières. Pour chaque élément de l'alimentation, il convient de donner ni trop (excès) ni trop peu (carence). Le manque comme l'excès peuvent être nocifs. Lorsqu'il y a une ou des carences, l'effet se fait ressentir d'abord sur la fonction de reproduction. L'importance pour la reproduction des différents éléments de l'alimentation est dans l'ordre : l'énergie, l'azote, les minéraux, la vitamine A, etc. L'élément le plus bas (ou l'interaction entre éléments) est celui qui détermine les performances. C'est la loi des facteurs limitants. **Meyer, C.** influence de l'alimentation sur la reproduction des bovins domestiques. 1–52 (2009).

Plusieurs études tendent à dire que l'efficacité de la reproduction diminue avec l'augmentation du taux de protéines brutes de la ration, cependant leurs résultats ne sont pas tous constants. L'impact de la protéine sur la fertilité est mieux cerné lorsqu'on parle en termes de fraction protéique dégradable et non dégradable.

Certains facteurs peuvent moduler ces effets, l'état de santé par exemple. La parité est aussi à considérer, les vaches plus vieilles étant moins fertiles et les vaches plus jeunes utilisant l'azote alimentaire différemment, possiblement en raison de leur croissance qui n'est pas terminée ou de leur courbe de lactation dont la forme est différente. La densité d'énergie nette de la ration, si elle est augmentée lors d'excès en protéine dégradable, améliore le taux de conception.

Pour limiter les désordres de reproduction, les stratégies alimentaires visent principalement à réduire l'impact du bilan énergétique négatif de la vache en début de lactation en optimisant la CVMS, à éviter l'excès de protéine et à s'assurer que la ration offerte comble les besoins en minéraux et vitamines. Il ne faut pas oublier que plusieurs aspects de la régie peuvent être en cause lors d'un problème d'infertilité dans un troupeau et que l'investigation d'un tel problème mérite une approche globale.

Étant donné la dégradation partielle de la protéine alimentaire dans le rumen et la synthèse de protéine microbienne, la complexité du métabolisme de la protéine chez la vache laitière demeure un défi de taille. Heureusement que la recherche se poursuit.

Pour des performances satisfaisantes en reproduction, il est clair que le suivi du niveau d'urée dans le lait est une piste intéressante, à condition de faire une interprétation éclairée des résultats. Des résultats d'urée dans le lait inférieurs à 10 mg/dL pour un groupe de vaches ne sont pas forcément alarmants sous l'angle des performances attendues en reproduction. Mais si un bon nombre de vaches en période de reproduction ont un taux supérieur à 19mg/dl, les Risques que la nutrition protéique affecte la reproduction augmentent. Le comptage de cellules somatiques doit être pris en considération puisqu'un comptage élevé peut interférer avec le dosage d'urée dans le lait.

Liste des références

1-ÅKERLÖF, E., FREDRICSON, B., GUSTAFSSON, O., LUNDIN, A., LUNELL, NO, NYLUND, L., ... POUSETTE, Å. (1987). Comparaison entre un swim-up et un Percoll Technique du gradient pour la séparation des spermatozoïdes humains. *Journal international de Andrologie*, 10(5), 663–669. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1987.tb00367>

2-AMANN, RP ET WABERSKI, D. (2014). Analyse de sperme assistée par ordinateur (CASA): Capacités et développements potentiels. *Thériogénologie*, 81(1), 5-17.e3. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.09.004> 551

3-ANBARI, F., HALVAEI, I., NABI, A., GHAZALI, S., KHALILI, MA ET JOHANSSON, L. (2016). La qualité du milieu de préparation du sperme affecte la motilité, la viabilité et l'intégrité de l'ADN de spermatozoïdes humains. *Journal des sciences de la reproduction humaine*, 9(4), 254–258. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.197691>

4- BARNOUIN J, CHACORNAC JP.A nutritional risk factor for early metritis in dairy farms in France.*Prev. Vet. Med.*,**1992**, **13**, 27-37.

5- BARTON BA, ROSARIO HA, ANDERSON GW, GRINDLE BP, CARROLL DJ. Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows.*J. Dairy Sci.*, **1996**, **79**, 2225-2236.

6-BISHONGA, C., J.J. ROBINSON, J.J., T.G. MCEVOY, R.P. AITEN, I. ROBERTSON. 1996. Excess ureadietary intake in ewes and its effect on ovulation rate and embryo development. *Jpn J. Vet. Res.*44:139-151.

7-BLANCHARD, T., J.D. FERGUSON, L. LOVE, T. TAKEDA, B. HENDERSON, J. HASLER, W. CHALUPA. 1990.Effects of dietary crude protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *Am J. Vet.Res.*51:905-908.

8- BRAUN JP, LEFEBVRE HP (2008). KIDNEY FUNCTION AND DAMAGE. IN : KANEKO, HARVEY, BRUSS,EDITORS. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6thed. San Diego, Academic Press,485-528.

9-BRISSEONJ. Nutrition,alimentationetreproduction. Symposuim sur les bovins laitiers **2003.**

10-BRISSEON J., LEFEBVRE D., GOSSELIN B., PETIT H., EVANS E., 2005. Nutrition, alimentation et reproduction. In: Symposium sur les bovins laitiers, Saint-Hyacinthe, Canada, CRAAQ Centre de références en agriculture et agroalimentaire de Quebec.

11-BROEKHUIJSE, MLWJ, ŠOSTARIC, E., FEITSMA, H. ET GADELLA, BM (2011).Valeur supplémentaire de l'analyse de sperme assistée par ordinateur (CASA) par rapport à la motilité conventionnelle évaluations en insémination artificielle porcine. *Thériogénologie*, 76(8), 1473-1486.e1.

<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2011.05.040>

12-BTLER, W.R., J.J. CALAMANET S.W. BEAM, 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation topregnancy rateinlactatingdairycattle. *J.Anim. Sci.*, 74:858-865.

13- BUTLER W. R., 1998. Review: Effect of Protein Nutrition on Ovarian and Uterine Physiology in Dairy Cattle. *In : Symposium: optimizing protein nutrition for reproduction and lactation. J.*

Dairy Sci., (81): 2533-2539.

14-BUTLER WR.Review : Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle.*J. Dairy Sci.*, **1998, 81**, 2533-2539.

15- CANFIELD RW, SNIFFEN CJ, BUTLER WR.

Effects of excess degradable protein on post-partum reproduction and energy balance in dairy cattle.*J. Dairy Sci.*, **1990, 73**, 2342-2349.

16- CARLSSON, J ,B .PEHRSSON .1993. The relations hip between seasonal variations in the concentration of urea in bulk milk and the production and fertility of dairy herds. *J. Vet Med.* 40:205-212.

17- CORAH L.R., 1987. Nutritional and reproductive management of bulls. *Agri-Practice*, 8 (7): 37- 42.

18-CUVELIER, CH, J-L.HORNICK, Y. BECKERS, E. FROIDMONT, E. KNAPP, L.

ISTASSE, I. DUFRASNE : L'Alimentation de la vache laitière, **2010** : Physiologie et Besoins. Université de Liège, centre Wallon de recherches agronomiques. P. 67.

19-CUVELIER C., DUFRASNE I., 2014. Livret de l'agriculture : L'alimentation de la vache laitière : Aliments, calculs de ration, indicateurs d'évaluation des déséquilibres de la ration et pathologies d'origine nutritionnelle. Université de Liège.

http://www.fourragesmieux.be/Documents_telechargeables/Cuvelier_C_&_Dufrasne_I_Livre_t_alimentation_des_VL_2_Aliments_et_calculs.

20-DEMARQUILLY, C., FAVERDIN, P., GEAY, Y., VERITE, R. ET VERMORE, M., « Bases rationnelles de l'alimentation des ruminants. » INRA Prod. Anim., hors série, V. 4. (1996)

21-DEMARQUETTE J., 1966. Problèmes pratiques posés par l'alimentation des taureaux des centres d'insémination artificielle. ENVA, 101 p.

22-DJELLAB, I., 2017 Nutrition des ruminants

https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/Cours/NUTRITION_RUMINANTS.pdf

23-ENJALBERT F. Relation alimentation-reproduction chez la vache laitière.

Point Vét., **1994**, **25**, 77-84.

24- ELROD C. C., BUTLER W. R., 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J Anim Sci*, (71): 694-701.

25- ELROD C. C., VAN AMBURGH M., BUTLER W. R., 1993. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim Sci.*, (71): 702-706.

26-ELROD CC, BUTLER WR. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Dairy Sci.*, **1993**, **71**, 694-701.

27- FERGUSON, J.D., ET W. CHALUPA, 1989. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **72**:746-766.

28- FEKETE S, HUCZENICZA G, KELLEMS RO, et al. Influence of a deficient intake of high and low degradable protein on body composition, metabolic adaptation, production and reproductive performance in early lactation dairy cows. *Acta. Vet. Hung.*, **1996**, **44**, 309-333.

29- FERGUSON JD, CHALUPA W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **1989**, **72**, 746-766.

30- FERGUSON JD. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **1996**, **59**, 173-184.

31- FERGUSON JD, GALLIGAN D, BLANCHARD T. Serum ureal nitrogen and conception rate : the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, **1993**, **76**, 3742-3746.

32-FERGUSON,J.D.2002. Protein and fertility.Proc.ZinproCorp.TexasDairySeminar.

33- FOLMAN Y, ROSENBERGM, ASCARELLI I, KAIM M, HERZ Z.

The effects of dietary and climatic factors on fertility, and on plasma progesterone and oestradiol-17-beta levels in dairy cows.*J. SteroidBiochem.*, 1983, **19**, 863-868.

34-FROIDMONT E. ,THEWIS A.,BARTIAUX-THILL N.L'urémie (lait/plasma) peut révéler un apport excessif de protéines limitant la fertilité des vaches **Renc. Rech. Ruminants,2002**

35- GARCIA-BOJALIL, C. M., C. R. STAPLES, C. A. RISCO, J. D. SAVIO, W. W. THATCHER. 1998. Proteindegradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows:reproductiveresponses.*J.DairySci.* 199881:1385-1395.

36- GODDEN S. M., KELTON D. F., LISSEMORE K. D., WALTON J. S., LESLIE K. E., LUMSDEN J. H.,

2001. Milk Urea Testing as a Tool to Monitor Reproductive Performance in Ontario Dairy Herds. *J. Dairy Sci.*, (84): 1397-1406.

37-GRIMARD B., PONTER A.A., HUMBLLOT P, PONSART C., MIALOT J.P., 2002. Alimentation hivernale des vaches allaitantes et performances de reproduction. *Elev. Et Insém.*, (309): 3-18.

38- GUSTAFSSON, A.H. , D.L. PALMQUIST. 1993. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea andmilk ureaindairy cows athighandlowyields. *J.DairySci.*76:475-484.

39- GUSTAFSSON AH, PALMQUIST DL. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at highand low yields.*J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 475-484.

40- GUSTAFSSON AH, CARLSSON J.Effects of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yieldand reproduction in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.*, **1993, 37**, 91-105.

41- HASKOURI, 2001, PARREZ et DUPLAN, 1987, WATTIAUX, 2000

<https://agronomie.info/fr/technique-de-linsemination-artificielle/>

42- HOWARD HJ, AALSETH EP, ADAMS GD, et al.Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows.*J. Dairy Sci.*, **1987, 70**, 1563-1571.

43-[HTTPS://PLANET-VIE.ENS.FR/THEMATIQUES/ANIMAUX/SYSTEME-DIGESTIF/LA-DIGESTION-RUMINALE-DES-ALIMENTS](https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/systeme-digestif/la-digestion-ruminale-des-aliments)

44- INRA (1978) : *Alimentation des ruminants*, INRA Publications, Route de St Cyr, F-78000 Versailles, 622 p.

45-INRA (1988) : *Alimentation des bovins, ovins et caprins*, INRA Publications, Paris, 471 p.

46-INRA ., 2004. Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Alimentation des polygastriques .Edu-cagri Ed. pp296-323.

47-JARRIGE R., 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed. INRA, Paris, 476 p(18-56).

48-.JARRIGE, R., «Introduction. » In : R. Jarrige (ed), Alimentation des ruminants, (1978). INRA, Paris.

49- JORDAN ER, SWANSON LV.Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein, and albumin in the high-producing dairy cow.*J. Dairy Sci.*, **1979**, **62**, 58-63.

50- JORDAN, E.R., T.E. CHAPMAN, D.W. HOLTAN, L.V. SWANSON. 1983. Relationship of crude protein to composition of uterine secretions and blood in high producing postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* **66**: 1854-1862.

51-JUILLARD, C., 2001. Effets des anesthésiques sur la fonction rénale du chien. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 131p.

52-KAUR H, ARORA SP. Dietary effects on ruminant livestock reproduction with particular reference to protein. *Nutr. Res. Reviews*, **1995**, **8**, 121-136.

53- KENNY D. A., HUMPHERSON P. G., LEESE H. J., MORRIS D. G., TOMOS A. D., DISKIN M. G.,

SREENAN J. M., 2002. Effect of Elevated Systemic Concentrations of Ammonia and Urea on the Metabolite and Ionic Composition of Oviductal Fluid in Cattle. *Biol. Reprod.*, **66** (6): 1797-1804.

54-LARSON, S .F., W.R.BUTLER, W.B.CURRIE. 1997. Reduced fertility associated with

low progesterone post breeding and increased milk urea Nitrogen in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80:1288-1295.

55- MANSTON R, RUSSELL AM, DEW SM, PAYNE JM.The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows.*Vet. Rec.*, **1975**, **96**, 497-502.

56-MCBRIDE,B.W.,J.W.KELLY.1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastro intestinal tract and liver: Areview. *J.Anim.Sci.*68:2997-3010.

57-MCKNIGHT, K., HOANG, HD, PRASAIN, JK, BROWN, N., VIBBERT, J., HOLLISTER, KA, ... MILLER, MA (2014). La perception neurosensorielle des signaux environnementaux module le sperme

58-MEDAILLE, C., BRIEND-MARCHAL, Y., 2008. Guide pratique des analyses biologiquesvétérinaires.Med'com,Paris,France,319p.

59-MEYER, C.ET DENIS, J.P. « Elevage de la vache laitière en zone tropicale. » édition CIRAD-emvt, (1999). 305 p.

60- OCON O. M., HANSEN P. J., 2003. Disruption of Bovine Oocytes and Preimplantation Embryos
by Urea and Acidic pH.*J. Dairy Sci.*, **86** (4): 1194 - 1200.

61- PARAGON BM. Qualité alimentaire et fécondité chez la génisse et la vache adulte : importance des nutriments non énergétiques.*Bull. G.T.V.*, **1991**, **91**, 39-52.

62-Parot, C., 2011. Bilans héματο-biochimiques chez le cheval d'endurance de haut niveau :intérêt pronostic et proposition de valeurs de référence. Thèse pour le Doctorat vétérinaire. La Faculté de médecine de Créteil , Ecole Nationale Vétérinaire D'Alfort,115p.

63- PETHERICK J., 2005. A review of some factors affecting the expression of libido in beef cattle, and individual bull and herd fertility. *Applied Animal Behaviour Science*, 90 (3-4): 185-205.

64-P.FAVERDIN, D.M'HAMED, M.RICO-GOMEZ, R. VÉRITÉ : la nutrition azotée influence l'ingestion chez la vache laitière. *INRA PRO. Anim*, **2003**, 16(1) ; 27-37

65-P.FAVERDIN, R.VERITE –Utilisation de la teneur en urée du lait comme indicateur de la nutrition protéique et des rejets azotes chez la vache laitière **Renc. Rech. Ruminants, 1998**-journee3r.fr

66-RAJALA-SCHULTZ, P.J., W.J.A. SAVILLE, G.S. FRAZER, T.E. WITTUM. 2001. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:482-489.

67-RANDEL RD. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.*, **1990, 68**, 853-862

68-RHOADS M. L., GILBERT R. O., LUCY M. C., BUTLER W. R., 2004. Effects of Urea Infusion on the

Uterine Luminal Environment of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, **87** (9): 2896-2901.

69-RUEGG PL, GOODGER WJ, HOLMBERG CA, WEAVER LD, HUFFMAN EM.

Relation among body condition score, serum urea nitrogen and cholesterol concentrations, and reproductive performance in high-producing Holstein dairy cows in early lactation. *Am. J. Vet. Res.*, **1992 b, 53**, 10-14.

70-SALAT-BAROUX J. Les avortements spontanés à répétition. *Reprod. Nutr. Develop.*, **1988, 28**, 1555-1568

71- Staples, C.R., W.W. Thatcher. 2001. Nutrient influences on reproduction of dairy cows. Proc. Mid-South Nutr. Conf.

72- THOMAS M. G., ENNS R. M., HALLFORD D. M., KEISLER D. H., OBEIDAT B. S., MORRISON C. D., HERNANDEZ J. A., BRYANT W. D., FLORES R., LOPEZ R., NARRO L., 2002. Relationships of metabolic hormones and serum glucose to growth and reproductive development in performance-tested Angus, Brangus, and Brahman bulls. *J. Anim. Sci.*, (80): 757-767.

73- VAGNEUR M. Biochimie de la vache laitière appliquée à la nutrition. *La Dépêche Technique*, 1992, **28**, 26 p.

74- VAGNEUR M. Relation nutrition-fertilité chez la vache laitière. *Bull. G.T.V.*, **1994, 94**, 133-140.

75- VERITE R., MICHALET-DOREAU B., CHAPOUTOT P., PEYRAUD J.L., PONCET C. (1987) : "Révision du système des Protéines Digestibles dans l'Intestin (PDI)", *Bull. Techn. CRZV Theix*, 70, 19-34.

76- VISEK WJ. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction.

J. Dairy Sci., 1984, **67**, 481-498.

77- WHEELER B., 1996.« Guide d'alimentation des vaches laitières. Fiche technique. »
Ministère de l'agriculture et de l'alimentation. Ontario, Canada (1996).

78- WHITEA, HANDLERP, SMITHEL (1973). Principles of Biochemistry . New York, McGraw-Hill.

79- WITTWER, F.G., P. GALLARDO, J. REYES, H. OPITZ. 1999. Bulk milk urea concentrations and their relationship with cow fertility in grazing dairy herds in Southern Chile. *Prev. Vet. Med.* 38: 159-166.

80- WOLTER R. Alimentation de la vache laitière. Paris : France Agricole, **1992**. 223 p.