

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des populations et des organismes



Mémoire

De fin d'étude en vue de l'Obtention du Diplôme de Master

II en Biologie

Option : Reproduction animale

Thème

Etude comparative des caractéristiques de la semence (Observation visuelle et analyse d'images par le système CASA) chez le lapin mâle de la souche synthétique et de la population locale

Présenté par :

Soutenue publiquement le : /09/2017

Melle MESKOURI Ibtisem.

Devant le jury composé de :

| | | | |
|-------------------|---------------------------|------------|--------------------|
| Président | : BESSAAD.M.A | MCB | NSV/Blida 1 |
| Examineur | : KAIDLR | PR | ISV/Blida 1 |
| Promotrice | : BOUMAHDI MERAD.Z | MCA | ISV/Blida1 |

Promotion : 2016/2017

DEDICACE

Je dédie mon travail à mes très chers parents BAHIA et RACHID qui m'ont soutenu et aidé tout au long de mon travail. Que Dieu les protège et les garde.

A mon frère KARIM et ma sœur NASSIMA qui ont été toujours présents.

A ma belle-sœur CHAFIA et ma nièce INES.

A mes amies : Nawel, Rym et Inchirah pour leurs motivations et leur soutien.

A FAIZA, en souvenir de tous les moments passé ensemble cette année.

A Mes supérieurs Mr.AISSAOUI Karim et AISSAOUI Abdelkader et mes collègues, spécialement Lilia, Nedjma, Lila, Bouchra, Redha, Mahdi et beaucoup d'autres pour m'avoir permis d'accomplir ce travail.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury :

Dr Bessaad Mohamed Amine, Maître de Conférences B à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie des Populations et des Organismes, Université Saad Dahleb, Blida 1, de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire. Hommages respectueux.

Pr Kaidi Rachid, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Blida 1, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

Dr Bouamhdi-Mérad Zoubeida, Maître de conférences A à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1 pour avoir accepté de diriger ce travail et assurer mon encadrement et mon initiation à la recherche scientifique. Votre présence et votre disponibilité m'ont été précieuses, votre exigence et votre souci du détail m'ont incité à approfondir ma réflexion. Permettez-moi de vous exprimer toute mon estime et mon admiration pour votre bonté, votre modestie, votre compréhension, ainsi que vos qualités professionnelles qui ne peuvent que susciter ma grande estime et profond respect.

Je ne peux pas m'en tenir aux remerciements purement académiques et s'il y a une personne que je voudrais absolument remercier c'est bien, **Dr Tarzaali Dalila** Maître assistante B à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1. Un grand et sincère merci pour le soutien et les conseils ainsi que pour toute l'aide apportée avant et durant mon travail ainsi pour votre rigueur scientifique et votre souci du détail. Hommages respectueux.

Je remercie toute l'équipe de la station expérimentale de l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida 1, Université Saad Dahleb, Blida 1 pour la disponibilité et l'aide apportée : **Dr Abbada Leila, Karima, Mustapha, Hakim et Ismail**, merci infiniment.

Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Notre expérimentation a consisté en étude comparative de la qualité de la semence du lapin mâle entre la population locale et la souche synthétique.

Au total des lapins de souche synthétique (n = 10) âgés de 11 mois et de poids qui varie entre 2,935 à 3,525 Kg et des lapins de population locale âgés de 11 mois (n = 10) et de poids de 2950 à 3565 kg ont fait l'objet d'une expérimentation afin de comparer les caractéristiques macroscopiques et microscopique (et analyse d'imagerie) de la semence. Les mâles ont subi préalablement un entraînement pour l'éjaculation dans le vagin artificiel. Durant toute notre expérimentation, qui a duré 5 semaines, deux éjaculats successifs ont été récolté une fois par semaine pour chaque mâle des deux groupes étudiés. Chaque prélèvement récolté a été soumis à une analyse macroscopique (volume, couleur et pH) et une analyse microscopique (Motilité, concentration, viabilité et morphologie). Les résultats de l'étude ont révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre la souche synthétique et la population locale pour la couleur, la libido (12,45 vs 11,7 seconde), le volume avec gel (1,88 vs 1,57 ml), le volume sans gel (0,79 vs 0,84 ml) et le pH (7,59 vs 7,70). Par contre une différence significative a été notée entre la souche synthétique et la population locale, pour la concentration (322,64 vs 498,8 spz/éjaculat), et pour certains dérivés de la motilité à savoir, VSL, VAP, STR et BCF. En ce qui concerne le taux de spermatozoïdes vivants et morts ainsi que pour le taux d'anomalies, on n'a noté aucune différence significative entre la souche synthétique et la population locale. A partir de nos résultats et dans nos conditions de travail, on peut conclure que, mis à part quel que paramètres, il n'y a pas une grande différence entre les caractéristiques de la semence de la souche synthétique et ceux la population locale.

Mots clés : Souche synthétique, Population locale, semence, concentration spermatique, motilité des spermatozoïdes, système CASA.

Our experiment consisted in a comparative study of the quality of the male rabbit seed between the local population and the synthetic strain.

In total, 10 rabbits of synthetic strain aged of 11 months and weighing between 2.935 and 3.525 kg and 10 from the local population aged of 11 months and weighted of 2950 to 3565 kg were used in this experiment in order to compare the macroscopic and microscopic (and imaging analysis) characteristics of the semen. The males have previously undergone training for ejaculation in the artificial vagina. Throughout our experiment, which lasted 5 weeks, two successive ejaculates were collected once a week for each male of the two groups studied. Each ejaculate sample was subjected to macroscopic analysis (volume, color and pH) and microscopic analysis (motility, concentration, viability and morphology). The results of the study revealed that there was no significant difference between the synthetic strain and the local population for color, libido (12.45 vs 11.7seconde), the volume with gel (1.88 vs 1.57ml) volume without gel (0.79 vs 0.84ml) and pH (7.59 vs 7.70). On the other hand, no significant difference was noted between the synthetic strain and the local population for the concentration (322.64 vs 498.8), and for certain motility derivatives namely, VSL, VAP, STR and BCF. There were no significant differences between the synthetic strain and the local population in terms of live and dead spermatozoa and the rate of abnormalities. From our results and in our working conditions, it can be concluded that there is not a great difference between the characteristics of the semen between the synthetic strain and the local population.

Key words: Synthetic strain, Local population, seed, sperm concentration, sperm motility, CASA system.

ملخص

سلالة الاصطناعية الكلي للأرانب (ن = 10) كانت تتراوح أعمارهم بين 11 أشهر وأوزان تتراوح 2,935-3,525 كغ والسكان المحليين من الأرانب (ن = 10) ووزن 2950-3565 كغ تخضع تجربة للمقارنة بين ميزات العيانية والمجهرية (وتحليل التصوير) من البذور. وقد سبق أن خضع الذكور لتدريب القذف في المهبل الاصطناعي. في جميع أنحاء تجاربنا، التي استمرت 5 أسابيع، تم جمع اثنين فأنزل المتعاقبة مرة واحدة في الأسبوع لكل من مجموعتي الدراسة من الذكور. تعرض كل عينة تم جمعها لتحليل العيانية (حجم واللون ودرجة الحموضة) والتحليل المجهري (الحركة والتركيز). (وسلامة والتشكل).

وأظهرت نتائج الدراسة أنه لا يوجد فرق بين ضغطا كبيرا سلالة الاصطناعية والسكان المحليين للون، الرغبة الجنسية؛ دون حجم هلام (0.79 مقابل 0.84) ودرجة الحموضة (7.59 vs 1.57) (12.45 مقابل 11.7)؛ حجم مع هلام (1.88 مقابل 7.70). بواسطة ضد فرق كبير ولوحظ بين سلالة البلاستيك والسكان المحليين، وتركيز (322.64 مقابل 498.8)، وبالنسبة لبعض مشتقات الحركة وهي فصل و فاب و ستر و بسف. وفيما يتعلق معدل الحيوانات المنوية الحية والميتة وكذلك معدل تشوهات، لم يكن هناك فرق كبير بين سلالة الاصطناعية والسكان المحليين.

من نتائجنا وظروف العمل لدينا، يمكن للمرء أن يستنتج أن مجموعة على حدة بغض النظر المعلمة لا فرق كبير بين خصائص سلالة البذور بين الاصطناعية والسكان المحليين.

الكلمات المفتاحية: السلالة الاصطناعية، السكان المحليين، البذور، تركيز المنوي الحركة المنوية، نظام كاسا

| | |
|---|----|
| Introduction | 01 |
| Chapitre I : Rappels sur l’anatomie de l’appareil génital du lapin mâle. | |
| I.1. Anatomie de l’appareil reproducteur mâle : | 03 |
| I.1.1. Les testicules..... | 03 |
| I.1.2. L’épididyme..... | 05 |
| I.1.3. Le canal déférent..... | 06 |
| I.1.4. L’urètre..... | 06 |
| I.1.5. Les glandes annexes..... | 06 |
| I.1.6. Les voies externes d’excrétion et l’organe de copulation..... | 07 |
| Chapitre II. Rappels sur la physiologie de la reproduction | 08 |
| II.1. Développement des gonades et la puberté..... | 08 |
| II.1.1. Développement des gonades..... | 08 |
| II.1.2. Maturation sexuelle..... | 09 |
| II.2. Spermatogenèse : Production des gamètes mâles..... | 11 |
| II.2.1. Cycle spermato-génétique..... | 11 |
| II.2.2. Production des spermatozoïdes par le testicule..... | 12 |
| II.2.3. Maturation épидидymite..... | 12 |
| II.3. Régulation hormonale..... | 15 |
| II.3.1. Régulation du testicule endocrine..... | 15 |
| II.3.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule..... | 16 |
| Chapitre III : Caractéristiques de la semence chez le lapin mâle adulte | 18 |
| III.1. Caractéristiques physico-chimique du sperme de lapin adulte..... | 18 |
| III.1.1. Caractéristiques générales de la semence du lapin..... | 18 |
| III.1.2. Composition de la semence du lapin..... | 18 |
| III.2. Relation entre les caractéristiques de la semence et les performances de reproduction..... | 20 |
| III.3. Facteurs de variation de la production spermatique..... | 21 |
| III.3.1. Facteurs intrinsèques..... | 21 |
| III.3.2. Facteurs extrinsèques..... | 22 |
| III.3.3. Autres Facteurs..... | 25 |
| III.4. Etude des techniques d’évaluation spermatique..... | 26 |
| III.4.1. La méthode de collecte..... | 26 |
| III.4.2. Méthodes d’analyse de la semence..... | 26 |
| III.4.3. Nouvelle méthode d’évaluation de la semence : Test CASA..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| III.4.3.1. Analyse du sperme assistée par ordinateur ou analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes (Computer Assisted Sperm Analysis = CASA)..... | 29 |
| III.4.3.2. Analyse CASA - Procédure opérationnelle..... | 31 |
| Matériel et méthodes | 32 |
| I. Objectif..... | 32 |
| II. Matériel et Méthodes..... | 32 |
| II.1. Lieu et durée de l'expérimentation..... | 32 |
| II.2. Bâtiment d'élevage et habitat des animaux..... | 32 |
| II.3. Les animaux..... | 33 |
| II.4. L'alimentation et abreuvement..... | 34 |
| II.4.1. Aliment..... | 34 |
| II.4.2. Eau de boisson..... | 34 |
| II.5. Traitement prophylactique et hygiène des lieux..... | 35 |
| II.6. Protocole expérimental..... | 35 |
| II.6.1. Préparation du matériel de récolte de la semence..... | 36 |
| II.6.2. Préparation des mâles à la récolte spermatique..... | 36 |
| II.6.2.1. Collecte de la semence | 36 |
| II.6.2.2. Méthode d'analyse du sperme..... | 38 |
| II.6.2.2.1. Examen Macroscopique..... | 38 |
| II.6.2.2.2. Examen Microscopique..... | 40 |
| II.6.2.2.3. Manipulation du système CASA..... | 42 |
| III. Analyse statistique..... | 46 |
| Les résultats | 47 |
| I. Nombre d'éjaculats..... | 47 |
| II. La libido..... | 48 |
| III. Les caractéristiques macroscopiques..... | 49 |
| III.1. Couleur..... | 49 |
| III.2. Le volume de la semence..... | 49 |
| III.3. Le pH..... | 50 |
| IV. Les caractéristiques microscopiques..... | 51 |
| IV.1. La motilité massale et individuelle..... | 51 |
| IV.2. Paramètres cinétiques de la semence..... | 52 |
| IV.3. La concentration..... | 53 |
| IV.4. Le pourcentage de spermatozoïdes vivants et morts..... | 54 |

| | |
|---|-----------|
| IV.5. Le pourcentage de spermatozoïdes normaux et anormaux..... | 55 |
| Discussion..... | 57 |
| Conclusion & perspectives..... | 63 |
| Références bibliographiques..... | 64 |

- AA:** Acide aminé
- ALH:** Amplitude of lateral movement of the head
- BCF:** Track crossing frequencies
- CASA:** Computer Analyser System Assisted.
- ES:** Erreur standard
- FSH:** Follicle stimulating hormone
- ISCH:** Interstitial Cell Stimulating Hormon
- GCD:** Goutelette cytoplasmique distale
- GNRH** Gonadotropin realeasing hormone
- LSM:** La somme des moindres carrés
- LH:** Luteinising hormone
- LIN:** Linearity
- QE:** Queue enroulée
- STR:** Straightness
- SCA :** Sperm class analyser
- TNSQ:** Tete normale sans queue
- VCL:** Curvilinear velocity.
- VSL :** Straight line velocity
- VAP :** Mean path velocity,Average velocity.
- WOB:** Wobble

| N° | | Page |
|--|---|-----------|
| <i>La partie bibliographique</i> | | |
| Figure 1 | Appareil génital du lapin mâle | 3 |
| Figure 2 | Aspect morphologique de testicules du lapin (flèche) (Esther van Praag, 2003). | 4 |
| Figure 3 | Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997) | 5 |
| Figure 4 | Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours (souche moyenne pesant 4 kg adulte) (Prud'hon (1973) cité dans Lebas (2009)). | 9 |
| Figure 5 | Cycle spermato-génétique chez le lapin (Posière, 2002) | 12 |
| Figure 6 | Schéma de la régulation hormonale (copyright Morin-Ganet, 2006). | 17 |
| Figure 7 | Schéma de spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009). | 19 |
| Figure 8 | Production hebdomadaire de spermatozoïdes en fonction du nombre de prélèvements effectués en 7 jours et de leur distribution sur la semaine, d'après Bunaciu <i>et al.</i> (1996) (barres vertes) et Bencheickh (1983) (barres jaunes). | 24 |
| Figure 9 a et b | Caractéristiques du mouvement du spermatozoïde (Verstegen <i>et al.</i> , 2002). | 30 |
| <i>La partie matériel et méthodes</i> | | |
| Figure 10 | Bâtiment d'élevage canicule. | 32 |
| Figure 11 | Cages individuelles. | 33 |
| Figure 12 | Aliment granulé distribué aux animaux. | 34 |
| Figure 13 | Abreuvoir en forme de bac en plastique. | 34 |
| Figure 14 | Protocole expérimental. | 35 |
| Figures 15 (A,B) | Préparation du vagin artificiel | 36 |
| Figure 16 | Lapine bote en train placée sur la cage du mâle. | 37 |
| Figure 17(A,B) | Récolte de la semence. | 38 |
| Figure 18(A,B) | Récolte et mesure du pH. | 39 |
| Figure 19 | Volume avec et sans gel. | 39 |
| Figure 20 | Couleur du sperme. | 40 |
| Figure 21(A,B) | Thermos et bain marie. | 40 |
| Figure 22 | Division de la grille de la cellule de Thoma. | 41 |
| Figure 23 | Le système CASA. | 43 |
| Figure 24 | Mouvement des spermatozoïdes coloré selon leurs vitesses. | 44 |
| Figure 25(A,B) | Spermatozoïde vivant (A) et spermatozoïde mort (B) après coloration à l'éosine-nigrosine. | 44 |
| Figure 26 | Principales anomalies des spermatozoïdes de taureau classées selon BLOM. | 45 |
| Figure 27 | QRE(queue repliée et enroulée); TNSQ (Tête normale sans queue); GCD (Gouttelette cytoplasmique distale); QE (Queue enroulée). | 46 |
| <i>La partie résultats</i> | | |
| Figure 28 | Comparaison nombre d'éjaculat. | 48 |
| Figure 29 | Evolution de la libido en fonction du type génétique des lapins. | 48 |
| Figure 30 | Comparaison des volumes avec gel. | 50 |
| Figure 31 | Comparaison des volumes sans gel. | 50 |
| Figure 32 | Comparaison pH en fonction du type génétique. | 51 |

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figure 33 | La motilité massale en fonction du type génétique des lapins. | 52 |
| Figure 34 | La motilité individuelle en fonction du type génétique des lapins. | 52 |
| Figure 35 | La concentration en fonction du type génétique des lapins étudiés. | 54 |
| Figure 36 | Pourcentage de spermatozoïdes vivant en fonction du type génétique des lapins. | 55 |
| Figure 37 | Pourcentage de spermatozoïdes anormaux en fonction du type génétique des lapins. | 56 |

Résultats et Discussion

Introduction

Partie Expérimentale

Partie Bibliographique

Résultats

Discussion

Conclusion et Perspectives

Références Bibliographiques

Matériels et Méthodes

| N° | | Page |
|--|--|-----------|
| <i>La partie bibliographique</i> | | |
| Tableau 1 | Influence du lieu de prélèvement des spermatozoïdes sur le pouvoir fécondant (Orgebin-Crist ,1967 cité par Boussit, 1989). | 14 |
| Tableau 2 | Paramètres de la motilité des spermatozoïdes et valeurs (Theau-Clément <i>et al.</i> , 1996). | 31 |
| <i>La partie matériel et méthodes</i> | | |
| Tableau 3 | Echelle de Petit jean (1965) pour notation de la motilité massale (Boussit, 1989). | 41 |
| Tableau 4 | Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle (Boussit, 1989). | 44 |
| <i>La partie résultats</i> | | |
| Tableau 5 | Comparaison de la réponse aux sollicitations pour la population locale et la souche synthétique durant les 5 semaines. | 47 |
| Tableau 6 | La libido en fonction du type génétique. | 48 |
| Tableau 7 | Le volume avec gel de la semence en fonction du type génétique. | 49 |
| Tableau 8 | Le pH en fonction du type génétique des lapins | 51 |
| Tableau 9 | La motilité massale et individuelle en fonction du type génétique. | 51 |
| Tableau 10 | Les caractéristiques cinétiques selon le type génétique. | 53 |
| Tableau 11 | La concentration en fonction du type génétique. | 53 |
| Tableau 12 | Le pourcentage de spermatozoïdes vivants et morts en fonction du type génétique. | 54 |
| Tableau 13 | Le pourcentage de spermatozoïdes normaux et anormaux en fonction du type génétique. | 55 |

En Algérie, plusieurs travaux de recherches ont été menés dans le but de préserver le patrimoine génétique du lapin local et d'étudier ses paramètres zootechniques. Ainsi, sur le plan de la caractérisation des performances, l'ensemble des données bibliographiques confirment la faible prolificité et le faible poids de cette population (Berchiche et al, 2000 ; Berchiche et Kadi, 2002 ; Belhadi, 2004 ; Zerrouki et *al.*, 2005a ; Nezzar, 2007). Toutefois, au vu de la bonne adaptation aux variations climatiques de cette population (Zerrouki et *al.*, 2005b), il convient de la conserver, mais de l'utiliser dans un programme d'amélioration génétique, C'est dans ce sens qu'il a été décidé en 2004 en collaboration entre l'ITELV, l'INRA de Toulouse et l'université de Tizi-Ouzou. de créer une souche synthétique à partir du croisement de femelles de la population locale avec une souche de l'INRA de Toulouse (INRA2666) par insémination artificielle (Gacem et Bolet, 2005 ; Gacem *et al.*, 2009 ; Zerrouki *et al.*, 2014). La souche ainsi créée est en phase de diffusion auprès des producteurs algériens. Sur le plan de la reproduction du lapin mâle de population locale, seuls des travaux sur la qualité de la semence ont été menés par (Boulbina *et al.*, 2011) cependant, à notre connaissance, aucun travail sur la qualité de la semence du mâle de souche synthétique n'a été réalisé.

Aujourd'hui, pour maîtriser les techniques d'élevage et contribuer au développement de la cuniculture en Algérie, il est nécessaire d'introduire la technique d'insémination artificielle. Le succès de l'insémination artificielle dépend en grande partie de la qualité de la semence, c'est pourquoi il est important de disposer de techniques analytiques fiables permettant de l'évaluer (comme le système CASA). L'application de cette technologie de reproduction en Algérie nécessite avant tout la détermination de la réponse des mâles de la population locale et de la souche synthétique à la récolte artificielle de la semence. En effet, la caractérisation des capacités reproductives de ces lapins et l'étude des facteurs de variations influençant la production spermatique peuvent définir les conditions d'utilisation des mâles afin d'obtenir une quantité optimale de sperme. En conséquence, la variation de la qualité de la semence du lapin affecte sa fertilité, le nombre de femelles inséminées et la production cunicole

En revanche, les recherches spécifiques au lapin mâle local et souche synthétique demeurent encore minoritaires (Boulbina, 2011).

Le présent document commence par une partie bibliographique dans laquelle on retrouve au début un rappel des aspects anatomiques et physiologiques de l'appareil

reproducteur du lapin mâle sera énoncé, complété par la physiologie de la reproduction et enfin les caractéristiques de la semence.

La partie expérimentale se compose quant à elle de : Matériels et méthodes utilisés dans notre expérimentation, suivie par les résultats obtenus. Enfin, une discussion générale de ces mêmes résultats. Le document se termine par une conclusion comprenant un résumé des principales informations obtenues et par des recommandations.

Chapitre I : Rappels sur l'anatomie de l'appareil génital du lapin mâle.

I.1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle :

L'appareil génital du lapin mâle, est situé postérieurement, s'exteriorise par des bourses peu marquées par rapport aux autres mammifères (Boussit, 1989). Les organes internes sont composés des testicules, des conduits excréteurs (épididyme, canal déférent, et urètre) et des glandes annexes (vésicule séminale, glandes vésiculaires, prostate, glandes para prostatiques et glandes de Cowper). Le pénis est l'organe externe copulateur.

L'appareil génital mâle a d'une manière générale deux fonctions primordiales, la production des gamètes mâles et leur dépôt dans les voies génitales femelles d'une part, et la sécrétion des hormones sexuelles d'autre part (**Figure 1**) (Alvarino, 1993).

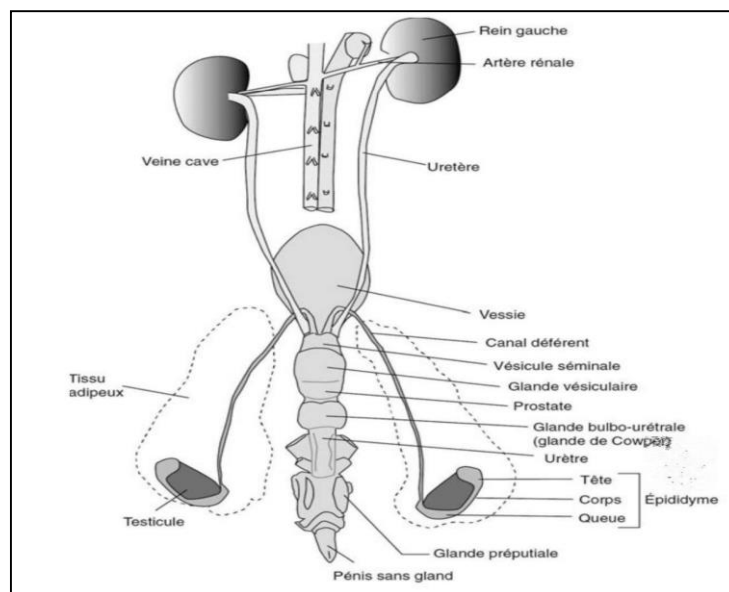


Figure 1 : Appareil génital du lapin mâle (adapté de Barone et *al.*, 1973).

I.1.1. Les testicules :

Le scrotum, paroi externe et duveteuse des bourses, forme un sac enveloppant les testicules. Au nombre de deux, ils ont pour rôle d'élaborer les spermatozoïdes. Ils sont situés à la naissance dans la cavité abdominale et non visibles. Ils descendent dans les sacs scrotaux à l'âge de deux mois environ. Chez l'adulte, ils sont volumineux, ovoïdes et très allongés. Pendant l'accouplement, ils sont fortement tuméfiés (**Figure 2**) (Boussit, 1989). Situé de part

et d'autre de la ligne médiane inguinale, les testicules chez le lapin adulte sont de forme ovoïde amincis aux extrémités avec un pôle caudale plus pointu, mesurant 3 à 3,5cm de longueur, 1 à 1,3 cm d'épaisseur et pesant 1,5 à 2 g.

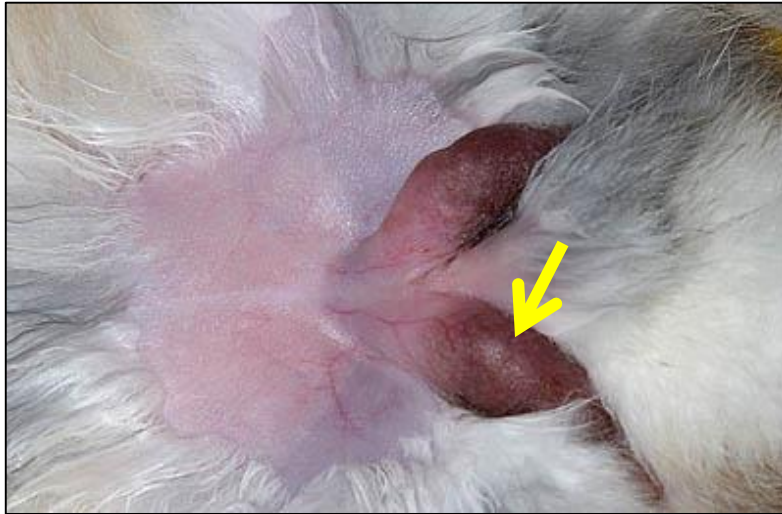


Figure 2 : Aspect morphologique de testicules du lapin (flèche) (Esther van Praag, 2003).

Le lapin est alternativement exorchide lorsque les testicules montent dans la cavité abdominale sous l'effet de frayeur, énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire « le crémaster » (Boussit, 1989 ; Barone, 2001). Le scrotum est une enveloppe propre à chaque testicule, constitué de fibres élastiques, conjonctives et musculaire lisses. Il assure la suspension des testicules et maintient leurs enveloppes profondes. Par ses lentes contractions, il détermine les mouvements vermiculaires et les rides du scrotum, notamment sous l'influence du froid (Barone, 2001).

- **Les structures intra-testiculaires :**

Le parenchyme testiculaire est composé de :

- **Les tubes séminifères :** 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin (**Figure 3**). Ils se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le « rete testis », d'où partent une dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993). L'épithélium séminifère est constitué par les cellules de Sertoli et des cellules germinales à différents stades de la

spermatogénèse (spermatogonies A et B, spermatocytes I et II et spermatozoïdes) (Wrobel, 1990).

- **Les Espaces entre les tubes séminifères** : Ils sont occupés par du tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs dans lequel sont repartis des cellules interstitielles en amas appelées cellules de Leydig, elles synthétisent 95% de la testostérone présente dans le sang et de 20 à 50% des autres androgènes (Wrobel, 1990).

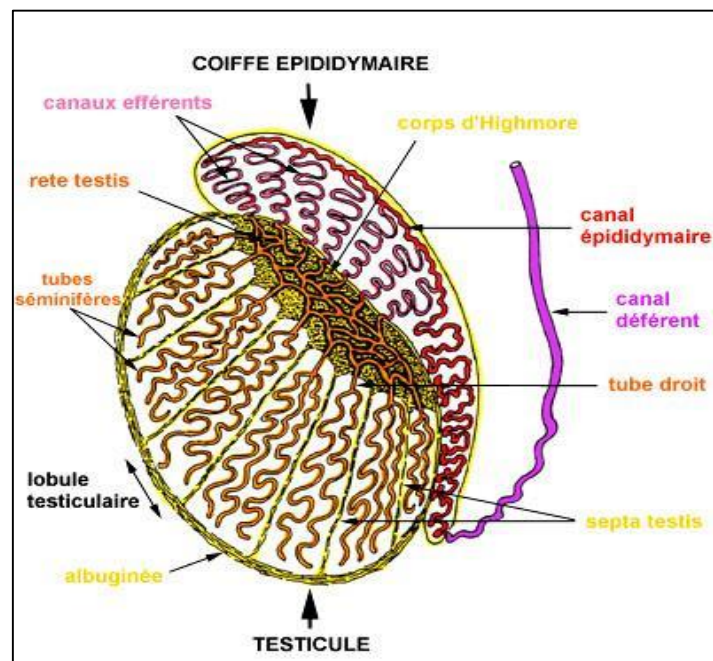


Figure 3 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997).

I.1.2. L'épididymes :

Il est contigu au bord supérieur du testicule et permet le transport et la maturation des spermatozoïdes. Chaque épидидyme est constitué de trois parties : la tête, le corps et la queue. La tête volumineuse coiffe le pôle antérieur du testicule. Le corps est également accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure. L'épididyme se termine par la queue, libre légèrement renflée qui est le lieu de stockage des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

I.1.3. Le canal déférent :

Il fait suite à la queue de l'épididyme et permet d'acheminer les spermatozoïdes vers un renflement fusiforme, l'ampoule déférentielle couchée au-dessus de la vessie (Boussit, 1989). Il assure le transit jusqu'à l'urètre grâce à un péristaltisme basal, additionné d'une motricité brusque lors de l'éjaculation (Barone, 2001 ; Bonnes et *al.*, 2005).

I.1.4. L'urètre :

L'urètre est un conduit long de 12 à 13 cm, dont 8 à 9 seulement pour la partie pénienne, servant à la fois à l'excrétion de l'urine et du sperme. Il part de la vessie et tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité (Barone, 2001).

I.1.5. Les glandes annexes :

Elles ont pour rôle de sécréter différents milieux constituant le liquide séminal lors de l'éjaculation. Elles sont de plusieurs types (Boussit, 1989).

- **La vésicule séminale** : La vésicule séminale est bilobée, placée entre le rectum et la vessie, dont la partie terminale fusionne avec les ampoules déférentielles, pour former le canal éjaculateur qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre (Boussit, 1989).
- **La glande vésiculaire (proprostate ou prostate craniale)** : La glande vésiculaire est de forme ovale, relativement volumineuse, bilobée et sa couleur blanchâtre est liée à l'accumulation des sécrétions granulaires blanches. Sur la face dorsale, cette glande s'ouvre dans l'urètre par deux canaux excréteurs (Holtz et Foote, 1978).
- **La prostate** : La prostate, est la principale glande accessoire de l'appareil génital, volumineuse, facilement reconnaissable par sa couleur claire, située sous la glande vésiculaire, s'ouvrant par quatre à six conduits dans l'urètre (Boussit, 1989).
- **Les glandes para prostatiques** : Les glandes para prostatiques sont nettement plus petites, arrondies situées de part et d'autre de l'urètre, ventralement à la prostate. Elles débouchent dans l'urètre par un nombre variable de petits conduits (Barone,

2001). Tous les lapins mâles ont au moins une paire de glandes para prostatiques (Holtz et Foote, 1978).

- **La glande bulbo-urétrale (glande de Cowper)** : La glande bulbo-urétrale est bilobée, située postérieurement à la prostate, s'ouvrant par deux paires de canaux dans l'urètre caverneux (Boussit, 1989).

I.1.6. Les voies externes d'excrétion et l'organe de copulation :

- **Le pénis** : Le pénis dépourvu de gland est dirigé obliquement vers l'arrière au repos. Il est alors enfermé dans un repli tégumentaire, le fourreau, qui loge la partie libre. Pendant l'érection, il prend une position horizontale dirigé vers l'avant. Il mesure de 3 à 5 cm. L'urètre extra pelvien ne possède pas de renflement érectile (Boussit, 1989).
- **Les glandes préputiales** : Deux glandes préputiales, sécrétant une substance très odorante, sont situées en arrière du pénis. Elles jouent un rôle dans déclenchement de l'ovulation chez la femelle en stimulant le reflexe ovulatoire (Boussit, 1989).

Chapitre II. Rappels sur la physiologie de la reproduction :

La fonction de reproduction chez la plus part des mammifères repose sur un équilibre et une synchronisation des actions entre les différentes structures cellulaires, hormonales ou biochimiques du système neuroendocrinien et le système reproducteur. La physiologie de la reproduction chez le lapin suit exactement le même fonctionnement, et les différents phénomènes pour aboutir une maturité complète des spermatozoïdes, qui sont un élément clé pour la fertilité d'une population tiennent siège au niveau des différents organes constituant l'appareil génital male. Le testicule est le siège de la production des gamètes males et l'épididyme lui faisant suite est le lieu de leurs maturations.

II.1. Développement des gonades et la puberté :

II.1.1. Développement des gonades :

La différenciation des gonades commence au 16^{ème} jour après la fécondation, et la production des hormones androgènes débute le 19^{ème} jour de gestation. Les canaux de Muller régressent le 20^{ème} jour. Au 24^{ème} jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Muller sont bien établis (Alvarino, 2000). A la naissance, les testicules se trouvent en position abdominale et la descente de ces derniers dans les sacs scrotaux coïncide avec la puberté (Alvarino, 1993).

Le développement pondéral : Jusqu'à l'âge de 5 mois il n'existe pas de dimorphisme sexuel, le poids des lapins mâles et femelles étant identique. Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de 5 semaines. Pour la race Néo-Zélandaise le gain de poids quotidien de 0 à 40 jours d'âge est de 2,4 mg/jour, et de 37 mg/jour de 40 à 240 jours d'âge (Berger et al., 1982). D'après Alvarino (2000) et Lebas (2009), le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge. L'évolution du poids des testicules en fonction de l'âge montre une accélération de la croissance testiculaire entre 70 et 110 jours environ (**Figure 4**).

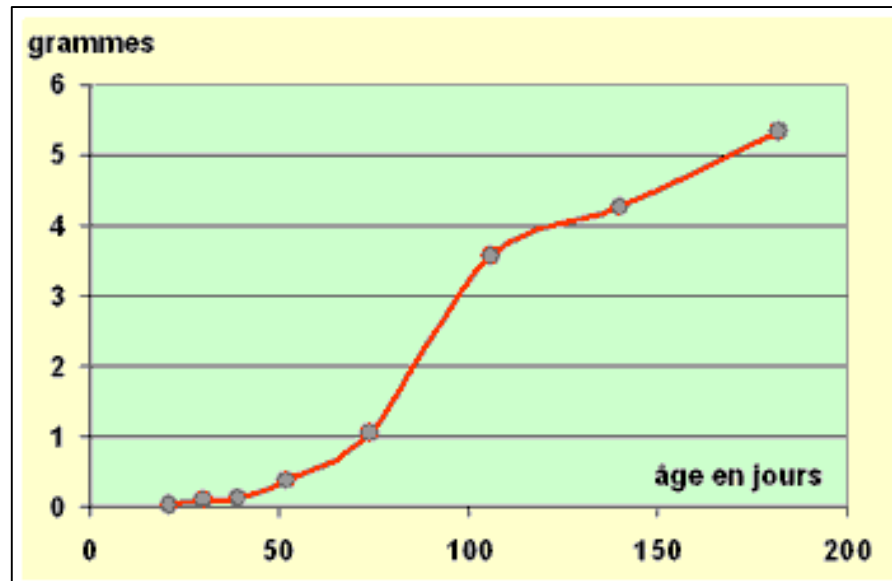


Figure 4 : Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours (souche moyenne pesant 4 kg adulte) (Prud'hon (1973) cité dans Lebas (2009)).

Les gonades annexes ont une croissance de même type mais légèrement décalée dans le temps et plus tardive. Leur activité sécrétrice est en nette progression, jusqu'à l'âge d'un an (Alvarino, 2000 ; Lebas, 2009).

Développement de l'appareil génital externe : A la naissance, les organes génitaux externes ne présentent pas de dimorphisme sexuel très marqué. La formation du scrotum débute vers le 2ème mois d'âge, et à 3 mois, les testicules descendent dans le scrotum. Le pénis se développe et acquiert la taille et la forme caractéristique de l'adulte à la fin du 3ème mois d'âge (Berger et al., 1982).

II.1.2. Maturation sexuelle :

La maturation sexuelle chez le lapin se fait en 4 phases :

La phase infantile : La phase infantile s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle se caractérise par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale, et de faibles concentrations plasmatiques de FSH et de testostérone (Boussit, 1989). Durant ce stade, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermatogénétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger et al., 1982).

La phase pré pubertaire : Elle débute vers l'âge de 40 jours et est marquée par l'accélération de la croissance testiculaire et l'élévation des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. Les premières cellules de Leydig matures apparaissent à 40 jours, leur nombre augmente très rapidement, et, entre 70 et 80 jours, le tissu interstitiel a acquis un aspect adulte (Berger *et al.*, 1982 ; Boussit, 1989). La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours d'âge (Lebas, 2009). La multiplication et la différenciation des cellules de Sertoli sont dépendantes des gonadotrophines (Alvarino, 2000).

La puberté : Il existe des données contradictoires quant à la définition de la puberté chez le lapin. Mann et Parsons (1950) définissent la puberté comme le stade à partir duquel, la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent la sécrétion du fructose et d'acide citrique. Dans ce cas, la puberté serait alors atteinte à l'âge de 42 jours, bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle (Skinner, 1967) Cependant, Macari et Machado (1978 in Lebas, 2009) signalent que la puberté est atteinte lorsque le lapin devient capable de se reproduire par l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat, vers l'âge de 110 jours.

Par ailleurs, Sebbagh (1983) rapporte que la puberté chez le lapin est le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte. Selon Macari et Machado (1978) ce stade est atteint à partir de l'âge de 24 semaines (168 jours) chez le lapin Néo-Zélandais blanc et coïncide alors en termes de reproduction à la maturité sexuelle. La puberté serait également définie d'après Boussit (1989), par le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule (vers 4 à 5 mois d'âge).

La maturité sexuelle : Amman et Lambiase (1967) définissent la maturité sexuelle comme le moment, où la production journalière de sperme n'augmente plus. Ensuite la production de sperme récolté reste stable ou décroît légèrement. Par contre, il semblerait que le volume, donc à priori la sécrétion de plasma séminal, augmenterait jusqu'à l'âge de 12 mois. Chez le lapin mâle Néo-Zélandais, la maturité sexuelle est atteinte vers 30 à 32 jours. Toutefois, un mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines mais avec un rythme moins intensif, par rapport à un adulte mature sexuellement (Lebas, 2009).

Il a été démontré qu'à l'âge de 20 semaines, les mesures testiculaires et le pourcentage des tubes séminifères qui contiennent des spermatozoïdes ne représentent que 70% de leur valeur par rapport à l'âge adulte (33 semaines d'âge), et que l'évolution du volume de l'éjaculat et la motilité individuelle des spermatozoïdes avec l'âge montrent une augmentation importante entre la 20^{ème} et la 33^{ème} semaine (Garcia-Thomas et *al.*, 2009). Toutes ces données sont à considérer comme un ordre de grandeur. Il existe en effet des différences génétiques dans l'âge de la puberté et la maturité sexuelle, mais les conditions d'élevage jouent aussi un rôle essentiel, en particulier l'alimentation et plus encore le climat (Lebas, 2009).

II.2. Spermatogenèse : Production des gamètes mâles :

Chez le lapin, la spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours après la naissance, les tubes séminifères étant actifs aux alentours de 12 semaines. Des spermatozoïdes sont présents dans les éjaculats à partir de 16 semaines (Lebas et *al.*, 1994). Les testicules descendent dans le scrotum vers 12 semaines, mais ils peuvent remonter en position abdominale car le canal inguinal reste largement ouvert (Harcourt–Brown, 2002).

II.2.1. Cycle spermato-génétique :

Le cycle spermato-génétique représente la succession chronologique des différents stades de la spermatogenèse en un point donné du tube séminifère. Il représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires, permettant à partir d'une cellule souche spermatogoniale d'élaborer un spermatozoïde non mature (**Figure 5**) (Boussit, 1989). Le même auteur atteste que le cycle spermatogénétique est divisé en deux phases, la première consiste en la multiplication et la division des cellules souches, et durant la deuxième phase se produit la réduction du stock génétique et la transformation de ces cellules souches en spermatozoïdes dits testiculaires (**Figure 5**).

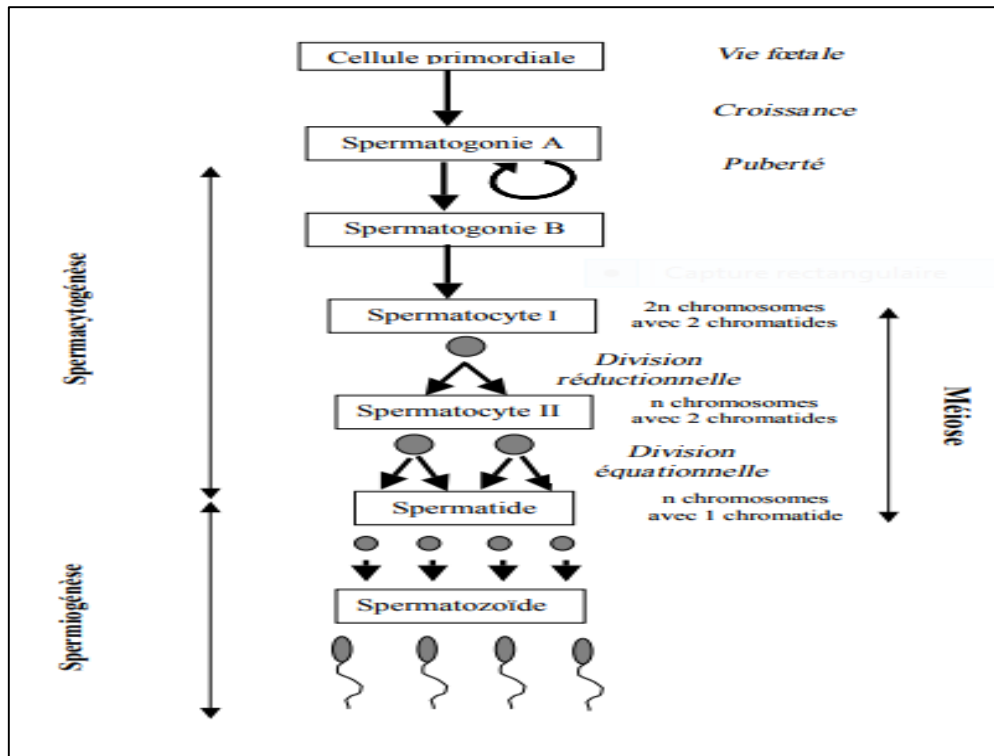


Figure 5 : Cycle spermatogénétique chez le lapin (Posière, 2002).

II.2.2. Production des spermatozoïdes par le testicule :

Chez le lapin, la production journalière de spermatozoïdes est estimée de 25 à 60 million par gramme de testicule, soit une production de 100 à 250 millions de spermatozoïdes par animal et par jour. Celle-ci varie en fonction de la race (selon notamment le format), de l'âge, des variations de poids testiculaire et des délais nécessaires à l'établissement de la spermatogénèse (Boussit, 1989). La saison est également citée comme facteur de variation, en raison de la durée de la photopériode, laquelle est favorable à cette production (Orgebin-Crist, 1968). En revanche, la production de spermatozoïdes est continue et pas du tout affectée par le rythme d'utilisation du mâle lors des accouplements (Amann, 1970 cité par Boussit, 1989 ; Theau-Clement *et al.*, 2009).

II.2.3. Maturation épидидymaire :

A leur sortie du testicule, lieu de production des gamètes mâles, les spermatozoïdes sont non féconds et immobiles. Ils sont également inactifs du point de vue de la synthèse protéinique car leur ADN, très fortement condensé depuis les dernières étapes de

spermiogénèse, est soumis à une condensation accrue durant la maturation, ceci est dû à la formation de ponts disulfures au niveau des protamines qui lui sont associées. C'est au-delà de leur transit à travers l'épididyme, assuré par les contractions des fibres musculaires lisses, qui entourent les cellules épithéliales, que les spermatozoïdes acquièrent progressivement l'aptitude à féconder un ovocyte *in vivo*, à se mouvoir et à se maintenir en vie lors de leur stockage dans la queue épидидymaire, avant l'éjaculat (Bedford, 1967 ; Orgebin-Crist, 1967). On parle alors de maturation post-testiculaire des gamètes.

Ce processus est le résultat d'une constante interaction tout le long de l'épididyme, entre les spermatozoïdes immatures et le fluide infraliminaire, microenvironnement spécifique créé par les activités d'absorption et de sécrétion des cellules épидидymaires. Les spermatozoïdes subissent de nombreuses modifications morphologiques et biochimiques lors de leur transit au sein de la lumière épидидymite. Ceci se traduit essentiellement par l'acquisition de la mobilité et la modification de protéines membranaires du spermatozoïde.

Composition du fluide épидидymaire : En raison de la spécificité tissulaire, la composition du fluide épидидymaire est propre à chaque région, à chaque segment qui constitue l'épididyme, créant un environnement liminaire unique, en chaque point de ce long canal circonvolutions. Ainsi, les spermatozoïdes rencontrent un environnement unique en chaque point parcouru au sein de cette lumière (Olson *et al.*, 2002). Le fluide épидидymaire, de par sa composition très variée, est riche en protéines, en ions divers, en inositol, en L-carnitine et en acide sialique (Riar *et al.*, 1973) provenant du sang ou sécrété par l'épithélium. Il participe à la survie et au maintien de l'intégrité des spermatozoïdes (Britan, 2006).

Modifications morphologiques des spermatozoïdes : Dans la partie proximale de la tête de l'épididyme, l'acrosome des spermatozoïdes est long et large et présente une gouttelette cytoplasmique sur la pièce intermédiaire, près de la tête. Au cours du transit, l'acrosome se raccourcit, la gouttelette cytoplasmique glisse le long des pièces intermédiaires et la densité des spermatozoïdes s'accroît. Dans la queue de l'épididyme, les spermatozoïdes ont un acrosome réduit et n'ont pas de gouttelette cytoplasmique (Belford, 1963).

Apparition du pouvoir fécondant : D'après Boussit (1989), la modification des charges de surface au cours du transit, s'accompagnerait d'une sensibilité croissante aux variations du pH et de la température. Le revêtement glycoprotéique est modifié au cours du transfert par la

perte de la gouttelette cytoplasmique, mais également par l'adhésion de protéines provenant des sécrétions de l'épithélium épидидymaire. Ces modifications interviendraient dans les propriétés d'agglutination du sperme, dans le développement de capacité fertilisante, notamment pour la reconnaissance de l'ovule. La capacité fertilisante est acquise dans la moitié inférieure du corps de l'épididyme, bien que la proportion des spermatozoïdes fertiles dans cette zone reste encore moindre que celle dans la queue de l'épididyme ou dans les canaux déférents (**Tableau 1**) (Alvarino, 2000).

Tableau 1: Influence du lieu de prélèvement des spermatozoïdes sur le pouvoir fécondant (Boussit, 1989).

| Insémination avec des spermatozoïdes prélevés | % d'œufs fécondés 48 heures après insémination |
|--|---|
| Dans la tête de l'épididyme | 0 |
| Dans le corps proximal de l'épididyme | 0 |
| Dans le corps distal de l'épididyme | 57 |
| Dans la queue proximale de l'épididyme | 74 |
| Dans la queue distale de l'épididyme | 95 |
| Après l'accouplement | 95 |

Acquisition de la mobilité : A la sortie du testicule et au niveau de la tête antérieure, les spermatozoïdes n'ont que des mouvements vibratoires de la queue et ne se déplacent pas, ils sont immobiles (Gaddum, 1968 cité Boussit, 1989). Dans la tête distale, les cellules présentent une courbure statique, avec oscillation de l'extrémité du flagelle sans déplacement. Dans le corps apparaissent les mouvements transitoires, caractérisés par une grande courbure ce qui va entraîner des mouvements circulaires et erratiques. Dans la région caudale, les cellules présentent un mouvement mature caractérisé par une distribution symétrique des ondes de part et d'autre des flagelles, permettant une trajectoire rectiligne (Gaddum, 1968, 1980 ; Yanagimachi, 1994). Le contrôle de cette mobilité dépend des facteurs exogènes et endogènes. L'apparition de la mobilité est associée à l'augmentation intracellulaire de l'AMPc (Dacheux et Paquignon, 1980) et des protéines Kinase AMPc dépendantes et à la diminution du Ca^{++} et de la calmoduline. La mobilité progressive est associée à l'augmentation de la carnitine dans les spermatozoïdes. Les facteurs responsables du déclenchement de la mobilité ne sont pas encore connus, mais la phosphorylation des

protéines dépendantes de l'AMPc pourrait y intervenir (Tash et Bracho, 1998 ; Eddy *et al.*, 2003).

Stockage des spermatozoïdes : L'épididyme est le lieu de stockage des spermatozoïdes ; le stock total de 1000×10^6 spermatozoïdes est distribué comme suit : 275×10^6 dans la tête et le corps, 650×10^6 dans la queue de l'épididyme et 50×10^6 dans le canal déférent. Néanmoins, le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue épидидymite, varie selon l'activité sexuelle et de la durée de la photopériode (Alvarino, 1993).

II.3. Régulation hormonale :

La fonction sexuelle du lapin mâle fait l'objet d'une régulation de type neuroendocrinienne. Les hormones intervenant dans cette régulation ont deux origines : le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules (Bonnes *et al.*, 2005).

II.3.1. Régulation du testicule endocrine :

Au niveau hypothalamique : Le fonctionnement gonadique est sous la dépendance d'une gonadoliberine la GnRH (gonadotrophine releasing hormone). La sécrétion du GnRH est pulsatile et se fait dans le système veineux porte hypothalamo-hypophysaire. L'expression des effets du GnRH nécessite sa liaison aux récepteurs membranaires spécifiques des cellules gonadotropes. Ce récepteur est une protéine de 327 AA, ayant sept domaines transmembranaires, couplés aux protéines G (Thibault et Levasseur, 2001).

Au niveau hypophysaire : La GnRH se fixe sur des récepteurs localisés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. Cette fixation active le système de phosphokinase C et stimule la synthèse et la sécrétion par les cellules gonadotropes des deux gonadotrophines : FSH et ISCH (Interstitial Cell Stimulating Hormon), équivalent de LH (Thibault et Levasseur, 2001 ; Bonnes *et al.*, 2005). La GnRH est sécrétée de façon pulsatile, car après activation le nombre de ses récepteurs à la surface des cellules gonadotropes diminue (Thibault et Levasseur, 2001).

Au niveau testiculaire : Les gonadotrophines hypophysaires agissent sur des récepteurs membranaires spécifiques, topographiquement séparés :

- La LH qui prend le relai de la β hCG d'origine placentaire, active dans les premières semaines du développement fœtal. Elle exerce son action en se fixant sur des récepteurs situés sur la cellule de Leydig, où elle stimule, par l'intermédiaire de l'adénylcyclase, la biosynthèse de la testostérone, essentiellement en favorisant le transport du cholestérol vers la membrane interne de la mitochondrie (Thibault et Levasseur, 2001).
- La FSH n'a de récepteurs que sur la cellule de Sertoli, dont elle stimule l'ensemble des sécrétions et elle agit directement sur les cellules germinales, dont elle active la multiplication (Thibault et Levasseur, 2001 ; Bonnes *et al.*, 2005).

II.3.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule :

La régulation de la fonction gonadotrope est caractérisée par un rétrocontrôle négatif exercé à la fois au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse, par la sécrétion testiculaire. La testostérone à une action inhibitrice sur la sécrétion de la LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus. L'inhibine exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des sous unités β de la FSH, par les cellules gonadotropes (**Figure 6**).

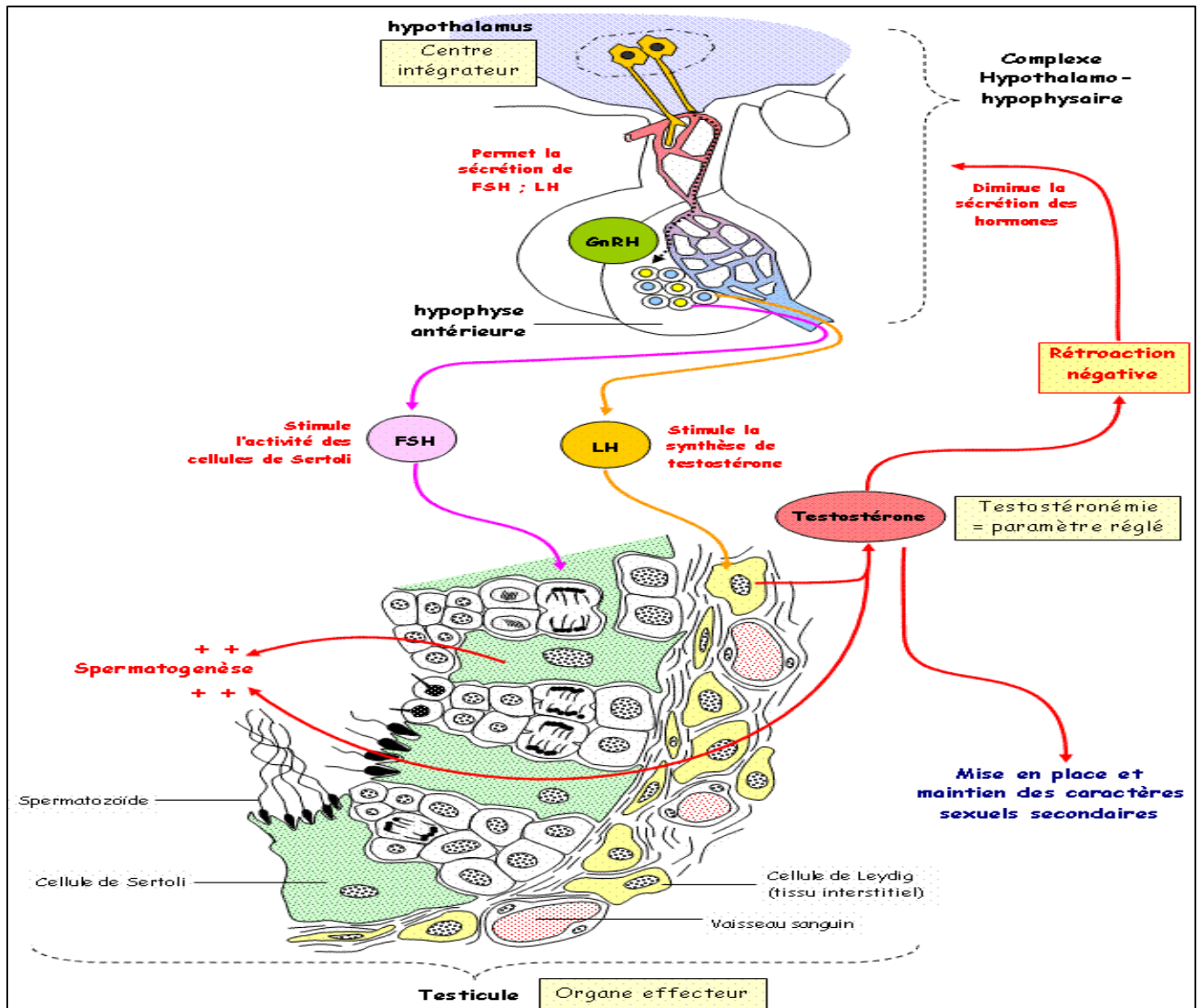


Figure 6: Schéma de la régulation hormonale (Morin-Ganet, 2006).

www.genie-bio.ac-versailles.fr/IMG/.../Cours_La_regulation_des_hormones_males.

Chapitre III : Caractéristiques de la semence chez le lapin mâle adulte :

Le potentiel reproducteur des animaux d'élevage est défini par une caractérisation des performances de reproduction. Chez le lapin mâle, ces performances regroupent les deux aspects qualitatif traduit par la fertilité et quantitatif, par la prolificité. Ces deux aspects sont sous l'influence de facteurs liés à la fois à l'animal (génétique, âge) et au milieu (saison, température) dans lequel l'animal est élevé.

III.1. Caractéristiques physico-chimique du sperme de lapin adulte :

Le sperme est composé de deux éléments séparable par centrifugation : les spermatozoïdes et le plasma séminal qui sont mélangés pendant l'éjaculation (Boussit, 1989 ; Vaissaire, 1995).

III.1.1. Caractéristiques générales de la semence du lapin :

Le volume de la semence varie de 0,3 à 6 ml selon la sécrétion des glandes annexes (la fraction gélatineuse). Sans gel, le volume est de l'ordre de 0,3 à 1 ml et la concentration est évaluée entre 150 et 500 x 10⁶ spermatozoïdes/ml. Le volume et la concentration sont susceptibles de variations très importantes entre mâles et entre collectes successives pour un même mâle. La mesure du pH, dès la récolte est un bon estimateur de la qualité de la semence. Certains auteurs trouvent ce pH nettement alcalin autour de 8, tandis que d'autres le trouvent très légèrement acide, de l'ordre de 6,8 à 6,9 (Alvarino, 1993 ; Lebas, 2009 ; Quiles et Hevia, 2000).

III.1.2. Composition de la semence du lapin :

Spermatozoïdes : Le spermatozoïde est une cellule profondément transformée, apte à féconder un ovule maternel d'une même espèce (Vaissaire, 1977). Le spermatozoïde du lapin mesure entre 55 et 57 µm ; la forme de la tête est ovoïde, piriforme et rétrécie caudalement (5 x 4 x 0,5 µm). Il abrite une chromatine nucléaire très dense, entourée par l'acrosome sur le trois quart de sa surface. En arrière, on observe une région post-acrosomiale, délimitée par un segment équatoriale « col » est une pièce d'union entre la tête et la queue, il s'attache à

l'extrémité postérieure du noyau par une pièce basale, d'où naît le centriole proximal. La queue du spermatozoïde du lapin mesure 45µm, composée d'un complexe axonème typiquement mammalien, deux microtubules centraux et neuf diplo-microtubules périphériques (**Figure 7**) (Baronne, 2001 ; Boiti 2005).

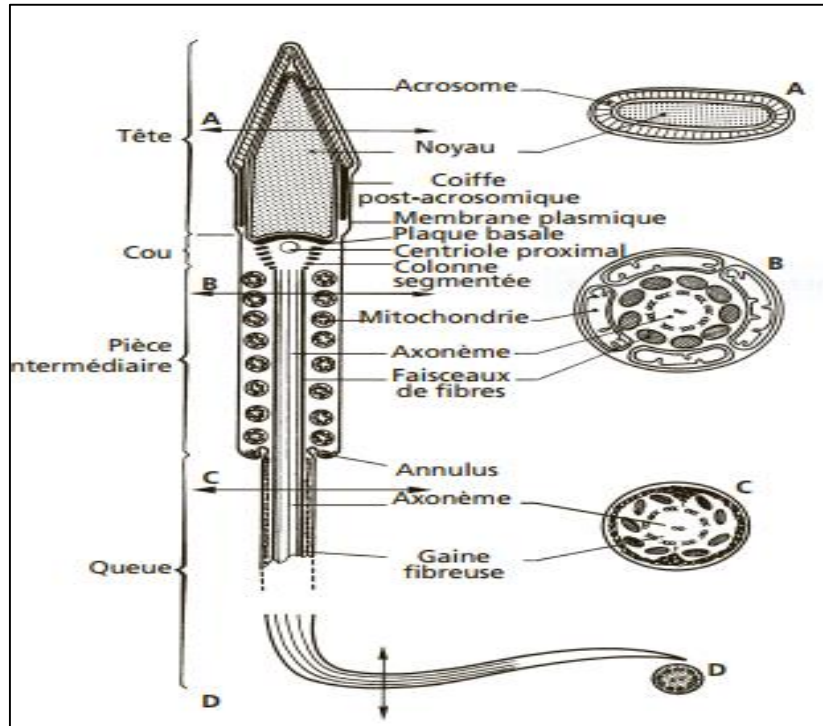


Figure 7 : Schéma de spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009).

Plasma séminal : Le plasma séminal est un fluide sécrété principalement par les glandes annexes (prostate, glandes de Cowper) ; il est apprécié comme un dilueur naturel des spermatozoïdes. Le plasma séminal joue un rôle positif dans la conservation de la motilité. En effet, Castellini *et al.* (2000) rapportent que les spermatozoïdes placés dans un milieu pauvre en plasma séminal perdent leur motilité en 1 à 3 heures (h), et ils la conservent pendant 6h dans une dilution au 10^{ème}. Ces effets sont liés aux multiples éléments qui le composent, à savoir le substrat énergétique et les substances protectrices, assurant ainsi le mouvement des spermatozoïdes (Boussit, 1989). Parmi les substances modulatrices de la mobilité, les granules séminales jouent un rôle important. Ils sont de tailles variables (0,5 à 6 µm), non homogènes et généralement délimités par une membrane bi-laminaire. Elles sont très abondantes dans le sperme (450x10⁶/ml) et semblent être responsables en partie du processus modulateur de capacitation, réaction acrosmique et le statut kinésique du sperme. Cardinali *et al.* (2007), soulignent que l'élimination de ces granules par centrifugation retient leur effet

décapacitatif ; cet effet est lié à la libération des particules lipidiques, en l'occurrence les tocophérols et le cholestérol, qui sont inhibiteurs de la réaction acrosomique.

Granules séminales : Il a été démontré que ces particules sont sécrétées par la prostate, principalement par le premier lobe, appelé la pro-prostate. Sous microscope électronique, ces particules montrent une forme ronde et présentent des protubérances cytoplasmiques, avec de petites vésicules détachées. Elles sont de taille différentes (0,5 à 6 μm de diamètre) et largement présentes dans le sperme de lapin ($450 \times 10^6/\text{ml}$). Ces particules modulent le processus de capacitation et la réaction acrosomique des spermatozoïdes, leur cinétique, la réponse immunitaire de l'appareil génital femelle, ainsi que le transit des spermatozoïdes dans le tractus génital de la femelle. L'ovulation chez la lapine n'est pas spontanée, mais elle est induite par le coït. Elle se produit environ 10-16 heures après l'accouplement et, au cours de cette phase de latence, les spermatozoïdes doivent éviter la capacitation prématurée et la réaction acrosomique, aussi les particules séminales contribuent-elles à retarder ce processus (Castellini, 2008).

III.2. Relation entre les caractéristiques de la semence et les performances de reproduction :

Le pH du sperme, mesuré dès la récolte, est corrélé négativement ($r = -0,51$) avec la fertilité (Theau-Clement, 1994), et positivement avec la taille de la portée ($r = 0,41$) (Alvarino, 1993). De plus, des corrélations entre la fertilité d'une part, le volume ($r = 0,16$), la concentration ($r = 0,22$), le pourcentage de cellules vivantes ($r = 0,49$) et les anomalies des spermatozoïdes, d'autre part, ont été identifiées par différents auteurs (Theau-Clement, 1994 ; Garcia-Thomas et *al.*, 2006). Le taux d'anomalies de l'acrosome est corrélé négativement ($r = -0,55$) avec la fertilité, et la décondensation de la chromatine du noyau affecte négativement la taille de la portée ($r = 0,26$) (Courstens et *al.*, 1994 cité par Castellini, 1996). De même, un taux important d'anomalies des spermatozoïdes diminue le taux de gestation (Lavara et *al.*, 2005).

La motilité des spermatozoïdes est considérée comme un bon indicateur sur le fonctionnement et l'intégrité des membranes. Chez le lapin, des travaux indiquent qu'une bonne motilité des spermatozoïdes améliore le taux de gestation (Brun et *al.*, 2002 ; Farrell et *al.*, 1993 cité par Garcia-Thomas et *al.*, 2006). Par contre, Hagen et *al.* (2002) cité par Garcia-

Thomas et *al.* (2006) n'indiquent aucun effet de la vitesse des spermatozoïdes ($\mu\text{m/s}$) sur la fertilité.

III.3. Facteurs de variation de la production spermatique :

La production du sperme est marquée par une importante variation de ses principales caractéristiques (Castellini, 2008).

III.3.1. Facteurs intrinsèques :

Facteur individuel : Au sein d'une même population, nous observons chez les lapins de même âge et soumis aux mêmes conditions de production, une variation individuelle. Cette dernière peut être observée soit sur une échelle inter mâle, soit sur une échelle inter lot de mâles, et pourrait être due à la fois aux facteurs génétiques et/ou environnementaux (Theau-Clement, 1994 ; Bencheikh, 1995 ; Castellini, 2008 ; Theau-Clement et *al.*, 2009).

Cette importante variabilité entraîne une diminution de la répétabilité et de l'héritabilité des caractéristiques de la semence et rend l'amélioration génétique de ces derniers, difficile à réaliser (Castellini, 1996 ; Castellini, 2008).

Facteur génétique : La qualité et la quantité de la semence produite par le mâle, varie selon leur origine génétique (Alvarino, 2000 ; Theau-Clément et *al.*, 2003 ; Lebas, 2009). L'étude faite par Crimella et *al.* (1992), sur l'influence de la race, montre une faible différence entre quatre types génétiques (New-zélandaise, Californian, Burgandy et Carmagnola) pour les caractères pH, volume et motilité ($p < 0,05$). Cependant Virage et *al.* (1992) et Hassanien et Baiomy (2011), rapportent une supériorité des mâles californiens, par rapport aux néozélandais pour certains caractères.

Selon l'étude comparative de Bencheikh (1993), entre les souches : INRA A1077 (origine néozélandaise) et INRA A2066 (origine californienne), les lapins de la souche d'origine californienne sont significativement moins performants. En l'occurrence, Vicente et *al.* (2000) et Brun et *al.* (2006), trouvent que les lignées sélectionnées pour la croissance (respectivement lignée R et H) présentent la production spermatique la plus faible. L'utilisation des croisements entre souches montre l'avantage de l'effet de l'hétérosis sur la production

spermatique. D'après Burn et *al.* (2002), les mâles croisés présentent des valeurs significativement plus élevées en terme de concentration, de taux de spermatozoïdes par éjaculat (TSE), et de taux de spermatozoïdes motiles (MSE).

Le facteur âge : Theau-Clement et *al.* (2009), trouve que l'âge des mâles influence certains paramètres de la semence. Sur le plan quantitatif, les mâles adultes (37-43 semaines) ont significativement des éjaculats plus concentrés et des MSE plus élevé (MSE : 293×10^6 vs $221, 212 \times 10^6$ spermatozoïdes, adultes vs jeunes, en croissance respectivement). (Castellini, 2008), trouvent que les mâles de moins de 5 mois et de plus de 20 mois d'âge, ont un pourcentage plus élevé de spermatozoïdes à chromatine endommagée.

III.3.2. Facteurs extrinsèques :

Facteur saison : Les effets de la saison regroupent les variations de durée d'éclairement, de température et de pluviométrie. Plusieurs auteurs (Marai et *al.*, 2002a ; Zerroukib et *al.*, 2005 ; Saffa et *al.*, 2008) ont étudié l'effet de la saison sur l'activité sexuelle du lapin ,et ont observé que la plus part des paramètres de la production spermatique sont affectés .

L'influence de la saison est nettement marquée par une saison de reproduction chez le lapin sauvage, ce qui n'est pas observé chez le lapin domestique (Boussit, 1989), pour lequel l'habilité de l'ardeur sexuelle est détériorée en été et améliorée au printemps (Marai et *al.*, 2002b ; Saffa et *al.*, 2008). D'après Boulbina (2011), la saison de naissance influence sur l'âge d'entrée en puberté. En effet, les lapins qui sont nés en hiver entrent plus tôt en puberté que ceux née en été. Ces perturbations pourraient être expliquées par l'effet de la saison sur la sécrétion de la testostérone, dont la concentration en été augmenté dans le testicule ($122 \pm 13,1$ vs $100,1 \pm 16,3$ ng/dL) et diminue dans le sang (213 ± 18 vs 352 ± 18 mg/dl) (El-Masry et *al.*, 1994).

En général, différents paramètres spermatiques à savoir le volume, la concentration, la mobilité et le pourcentage de cellules mobiles enregistrent des variations en fonction de la saison (Panella et Castellini,1990 ; Marai et *al.*, 2002a ; Rodriguez-De Lara et *al.*,2008 ; Saffa et *al.*, 2008 ; Theau-Clement et *al.*, 2009). La motilité des spermatozoïdes est faible en été ,elle augmente progressivement et atteint son pic au printemps (Marai et *al.*, 2002a ; Rodriguez De-Lara et *al.*, 2008 ; Safa et *al.*, 2008 ; Theau-Clement et *al.*, 2009). Les plus

faibles concentrations en spermatozoïdes sont enregistrées en automne et en été (Virag *et al.*, 1992 ; Theau-Clement *et al.*, 2009).

Les différentes études portant sur l'effet de la saison sur le pH du sperme révèlent une grande variabilité des données. Certains auteurs ne rapportent aucun effet de la saison sur ce paramètre (Nizza *et al.*, 2003 ; Theau-Clement *et al.*, 2009). En revanche, Alvarino (1993) indique que l'augmentation du pH du sperme du lapin élevé en été (>27°C) est à l'origine de la stérilité temporaire rencontrée durant cette période. Les anomalies spermatiques et le pourcentage de spermatozoïdes morts par éjaculat augmente en été (Saffa *et al.*, 2008). Par ailleurs, le nombre total de spermatozoïdes vivant, normaux et motiles par éjaculat est plus important au printemps par rapport à l'hiver (Rodriguez De-Lara *et al.*, 2008). Cependant, Nizza *et al.* (2003) et Virag *et al.* (1992) n'ont pas trouvé d'effet saison ni sur le pourcentage des anomalies ni sur le pourcentage des cellules vivantes.

Effet température : L'influence de la température sur la fonction de reproduction est attribuée plus à un effet d'hyperthermie qu'à un effet d'hypothermie, qui ne semble pas perturber le comportement sexuel des lapins (Boussit, 1989). L'exposition des mâles à des températures élevées (34°C pendant 8h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa et Thwaites, 1992). Selon Finzi *et al.* (1990) L'effet de l'hyperthermie est plus rapide sur l'apparition des anomalies que sur la chute de la concentration spermatique.

Alimentation : La stratégie alimentaire en terme de quantités ou d'éléments constitutifs est un facteur important à maîtriser (Joly et Theau-Clément, 2000). En effet, une influence de l'alimentation sur le comportement, les caractéristiques de la semence ou même les caractéristiques membranaires du spermatozoïde a été mise en évidence (Castellini *et al.*, 2006).

Les différentes études relatives à l'effet de la teneur protéinique de l'aliment sur les caractéristiques de la semence recommandent un taux optimal de 14,5% (Luzi *et al.*, 1996 ; Nizza *et al.*, 2000a). Les aliments contenant le plus de lysine améliorent le comportement sexuel et accroissent le taux de spermatozoïdes vivant pour le second éjaculat. Toutefois l'addition de la méthionine augmente la motilité du second éjaculat et réduit la libido du deuxième prélèvement (Nizza *et al.*, 2000b).

Facteur rythme de récolte : Le rythme de la collecte n'est que l'aptitude de l'animal à épuiser sa réserve épидидymaire (soit 1 à 2 milliard) face aux sollicitations imposées par l'opérateur, qui peut aller de 1 à 4 prélèvements par jour pendant 1 à 7 jours (Bencheikh, 1993 ; Bodnar et al., 1996 ; Bunaciu et al., 1996 ; Arroita et al., 2000 ; Mocé et al., 2000). A partir du troisième prélèvement, le volume, la concentration et le nombre de doses pour l'insémination diminuent (Lopez et al., 1996).

Le nombre de jours de collecte par semaine peut varier d'un jour de prélèvement (Bencheikh, 1995 ; Bunaciu et al., 1996 ; Arroita et al., 2000 ; Mocé et al., 2000) à des prélèvements journaliers (Bodnar et al., 1996). Dans ce cas, le volume et la concentration spermatique sont altérés lorsque le rythme de collecte augmente (Bencheikh, 1995 ; Bodnar et al., 1996 ; Bunaciu et al., 1996 ; Arroita et al., 2000) tandis que le nombre de spermatozoïdes prélevés par semaine est plus élevé dans les rythmes les plus intensifs (Bencheikh, 1995 ; Nizza et al., 2003) (**Figure 8**).

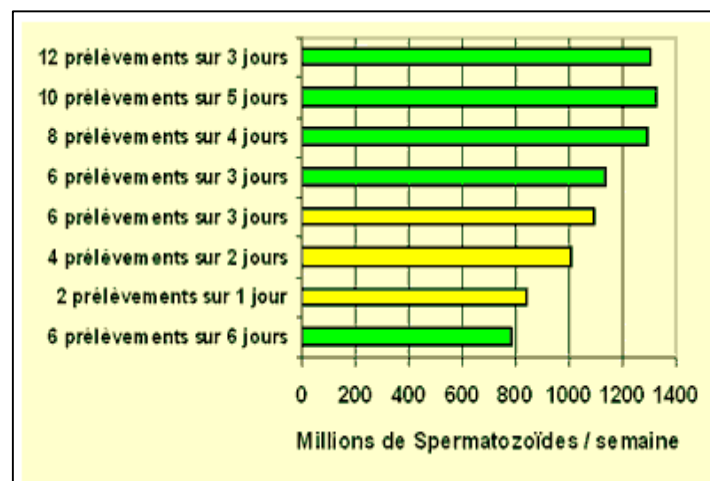


Figure 8 : Production hebdomadaire de spermatozoïdes en fonction du nombre de prélèvements effectués en 7 jours et de leur distribution sur la semaine, d'après Bunaciu et al. (1996) (barres vertes) et Bencheikh (1983) (barres jaunes) (Cité par Lebas, 2009).

Les travaux de Lebas (1996), montrent que la production par semaine augmente avec l'accentuation du rythme, mais avec une atteinte de la qualité de la semence et un épuisement du lapin.

Ordre de l'éjaculat : Certains auteurs ne révèlent pas de différence de volume du sperme collecté lors de deux prélèvements successifs (Nizza et al., 2000 ; Mocé et al., 2000). En

revanche, d'autres données indiquent que le volume de l'éjaculat collecté lors du premier prélèvement est significativement plus élevé que dans celui recueilli lors du deuxième prélèvement (Theau-Clement et *al.*, 1991 ; Bencheikh, 1995 ; Rodrigue-De-Lara et *al.*, 2008). Par ailleurs l'effet inverse est observé concernant la concentration en spermatozoïdes (Holtz et Foote, 1978 ; Panella et Castellini, 1990 ; Theau-Clement et *al.*, 1991 ; Bencheikh, 1995), la mobilité des spermatozoïdes (Abdel-Ghaffar et *al.*, 1994 ; Bencheikh, 1995 ; Rodriguez-De Lara et *al.*, 2008) et le nombre de spermatozoïdes normaux et l'intégrité de l'acrosome ne sont pas influencés par l'ordre de collecte (Mocé et *al.*, 2000 ; Rodriguez-De Lara et *al.*, 2008).

III.3.3 Autres Facteurs :

L'effet opérateur : Des travaux rapportent un effet du préleveur de sperme sur les caractéristiques quantitatives et qualitatives de ce dernier. Ainsi Theau-Clement et *al.* (2009) signalent que la motilité massale, le pourcentage de cellules motiles et la concentration en spermatozoïdes sont plus élevés dans les semences collectées par un préleveur comparativement à un autre.

Les relations existant entre le préleveur et l'animal prennent une place prépondérante dans la réussite de la collecte. Un opérateur calme, attentif et patient augmentera ses chances de réussite. La technique de collecte ne doit pas stresser l'animal. Aussi, il faut veiller à ne pas le bousculer, prendre certaines habitudes dès le départ et les conserver par la suite (Boussit, 1989).

Les effets agissant directement sur la semence : Le sperme est un milieu biologique vivant, auquel tout risque de choc doit être évité ce quel que soit sa nature (mécanique, thermique, chimique ou de radiation) (Boussit, 1989).

III.4. Etude des techniques d'évaluation spermatique :

III.4.1. La méthode de collecte :

Le matériel de collecte : Chez le lapin, la collecte du sperme se fait habituellement à l'aide d'un vagin artificiel. C'est un réceptacle qui fournit à l'organe copulateur des stimuli thermiques et mécaniques et de l'élasticité nécessaire pour l'éjaculation (Alvarino, 1993).

La technique de collecte du sperme : Au moment de la récolte spermatique une femelle boute-en-train est introduit dans la cage du mâle, pendant quelques secondes afin de déclencher le processus d'accouplement. Dès que le mâle tente de chevaucher la femelle, l'opérateur attrape celle-ci par les épaules afin de l'immobiliser. La main libre tenant le vagin artificiel passe sous l'abdomen de la femelle et relève le train arrière (Position lordose). Le vagin artificiel, tenu au creux de la main, se trouve juste sous la zone uro-génitale légèrement en retrait sous l'abdomen. Ces opérations doivent se faire rapidement pour profiter de la libido exacerbée du mâle. Le comportement du mâle est parfaitement identique à celui observé lors d'une saillie naturelle. L'opérateur peut néanmoins orienter le vagin artificiel afin de faciliter l'intromission du pénis (Boussit, 1989 ; Arencibia et Rosario, 2009).

III.4.2. Méthodes d'analyse de la semence :

Les mesures macroscopiques : Immédiatement après la récolte, on procède à un examen visuel du sperme dans le tube de récolte, ce qui nous permet d'apprécier :

- **La couleur :** Le sperme a une couleur blanchâtre. Son opacité dépend surtout de la concentration spermatique. Les éjaculats de faible concentration sont claires, d'aspect aqueux voire légèrement jaunâtre. Ils contiennent parfois un gel muco-gélatineux plus ou moins consistant et transparent (Boussit, 1989). La couleur optimale de la semence est blanc nacré. Cette dernière peut être modifiée par la présence d'éléments étrangers :
 - Couleur jaune : présence d'urine ou de pus.
 - Couleur rougeâtre : présence de sang frais.
 - Couleur marron : présence d'éléments sanguins dégénérés ou matière fécales.

- Couleur blanchâtre ou transparente : indique une faible concentration en spermatozoïdes (Alvarino, 1993).
- **Le volume :** Le volume peut être apprécié sur un tube gradué ou par étalonnage, la mesure est rapide et facile. Un gel peut être présent dans le tube collecteur et des formations purulentes peuvent être présentes (Boussit, 1989). Bien qu'un éjaculat de volume normal soit un indice favorable, le volume total collecté n'est qu'un facteur secondaire d'appréciation. Il est néanmoins noté comme une caractéristique de mâle (Boussit, 1989 ; Boiti *et al.*, 2005).
- **Le pH :** Le pH du sperme du lapin se situe entre 6 et 7,3. C'est un bon indicateur de l'activité métabolique des spermatozoïdes et de l'activité sécrétoire des glandes annexes. Toute variation du pH diminue sensiblement la qualité du sperme (Boussit, 1989). La mesure du pH (pH-mètre, papier indicateur) doit être immédiate après la récolte, car le sperme s'acidifie rapidement suite à la formation d'acide lactique résultant de l'utilisation des sucres par les spermatozoïdes (Alvarino, 1993 ; Arencibia et Rosario, 2009).

Les mesures microscopiques :

- **La mobilité :**
- **La motilité massale :**

L'emploi du terme motilité et non mobilité signifie que les spermatozoïdes se meuvent d'eux-mêmes et ne se déplacent pas. La motilité est la traduction littérale de l'anglais motility (Hanzen, 2009). Par examen microscopique, on observe l'impulsion en masse des spermatozoïdes en mouvements, représentée sous forme de vagues. L'intensité de la motilité massale est notée sur différents degrés référenciés. Selon Boussit (1989), une échelle de 0 (pas de spermatozoïdes) à 9 (aspect de tourbillons) permet de classer la motilité massale. D'autres échelles plus simples de 0 à 5 et de 1 à 5 sont employées, respectivement par Roca *et al.*, (2000) ; Garcia Thomas *et al.*, (2006). L'examen doit être rapide, avec l'utilisation d'une plaque chauffante (37°C-38°C).

- **La motilité individuelle :**

Par observation microscopique, les spermatozoïdes dotés d'une motilité dite « fléchant » sont ceux présentant une trajectoire quasi rectiligne et capables de traverser le champ en 2 à 3 secondes. Les spermatozoïdes présentant des mouvements rotatoires circulaires ou des mouvements d'amplitude très réduite ne sont donc pas comptabilisés dans les spermatozoïdes mobiles. La mesure est réalisée en utilisant une échelle allant de 0 à 5 ou de 0 à 4. Cette estimation doit tenir compte donc de vitesse de déplacement des spermatozoïdes, de la rectitude de celle-ci et de ses mouvements latéraux (Boussit, 1989 ; Brill *et al.*, 1993 ; Cabannes, 2008).

- **La concentration :** La mesure de la concentration peut se faire par numération directe après une dilution du sperme dans une solution susceptible de disperser et de tuer les spermatozoïdes (solution de chlorure de sodium à 3% ou solution de formaldéhyde à 1%), en utilisant un hématimètre (cellule de Thoma, Burkner ou Neubauer) (Boiti *et al.*, 2005 ; Hanzen, 2009).
- **La viabilité :** La notion de viabilité spermatique, ou bien, le spermatozoïde vivant est plutôt liée à l'intégrité membranaire de cette cellule. L'estimation de l'intégrité membranaire peut être élaborée par plusieurs méthodes (Mocé et Graham, 2008). Différentes colorations, telle que l'Eosine/Nigrosine (Bamba, 1988), permettent d'estimer l'intégrité membranaire par un principe où les dommages de la membrane laissent pénétrer la coloration à l'intérieur de la cellule. Le spermatozoïde non viable prend la coloration de l'éosine (rose), le Nigrosine (bleu-violet) constitue le fond, les cellules vivantes restent incolores (Ducci *et al.*, 2002 ; Garcia-Thomas *et al.*, 2006 a,b). Les résultats de la viabilité sont classés comme suit : plus de 70-80% : semence très bonne, 70% : semence bonne, de 60-69% : semence moyenne, moins de 60% : semence de mauvaise qualité (Boiti *et al.*, 2005 ; Arencibia et Rosario, 2009).
- **La morphologie :** Plusieurs niveaux d'analyse morphométriques ont été élaborés, du degré essentiel effectué par différentes techniques de coloration, à d'autres aspects reliés à l'ultrastructure, comme la réaction acrosomique et l'intégrité d'hélice mitochondriale et membranaire (Boiti, 2005). L'analyse classique de la

morphologie utilise plusieurs types de coloration comme l'Eosine/Nigrosine, Trypan Bleu, Giemsa, Papanicolaou et Diff-Quick, qui font apparaître les différentes structures et permettent d'identifier les diverses anomalies (Foxcroft et *al.*, 2008). Elle est basée sur trois types de classification :

- La première classification basée sur la localisation de l'origine de l'anomalie : Primaire (spermatogénèse) se produisant à l'intérieur du tube séminifère, secondaire (maturation épидидymaire).
- La deuxième sur la capacité fertilisante et est désignée par majeur et mineur.
- La troisième basée sur la localisation des différentes anomalies sur différents segments de la cellule (Boussit, 1989).

III.4.3. Nouvelle méthode d'évaluation de la semence : Test CASA

III.4.3.1. Analyse du sperme assistée par ordinateur ou analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes (Computer Assisted Sperm Analysis = CASA) :

L'analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes par computer assisted sperm analysis (CASA) est réalisée au moyen d'un système automatisé comprenant un microscope de contraste de phase inversé à platine chauffante généralement trioculaire couplé à une caméra CDD et à un système informatique. Cet appareil permet de filmer les spermatozoïdes déposés sur la platine chauffante via différents systèmes (lame, chambre de Mackler) et d'étudier un grand nombre de paramètres relatifs à leur nombre, leur concentration et leur mobilité .

Les paramètres généralement mesurés sont : le nombre de spermatozoïdes analysés (totaux, mobiles, progressifs), les concentrations de spermatozoïdes (totaux mobiles, progressifs), les vitesses linéaires et curvilinéaires moyennes, l'amplitude du battement latéral de la tête, la fréquence de battement, la linéarité. L'intérêt de cette technique est de permettre de mesurer objectivement diverses caractéristiques spermatiques, jusque-là soumises à une grande variabilité intra et interindividuelle. Chez le lapin, plusieurs paramètres cinétiques sont évaluées par le système CASA, avec toutefois une organisation spécifique définie pour la

semence de lapin (Boiti *et al.*, 2005). Ainsi une forte concentration de cellule par ml et la présence des particules de différentes tailles comme dans la semence de lapin peuvent influencer l'estimation de CASA (Theau-Clement *et al.*, 1996a ; 1996b). La motilité des spermatozoïdes a été le premier, et continue d'être l'indicateur le plus largement utilisé de la fonction des spermatozoïdes (Partyka *et al.*, 2012).

Ce système de motilité, caractérise le mouvement des spermatozoïdes individuels. Ces mouvements, comprennent la mesure de la distance entre chaque point d'un spermatozoïde donné au cours de la période d'acquisition de la tête (vitesse curviligne, VCL, $\mu\text{m} / \text{s}$), la distance entre premier et dernier points de la tête, divisé par le temps d'acquisition (vitesse en ligne droite, VSL, $\mu\text{m} / \text{s}$), et la mesure de la tête des spermatozoïdes oscillation (amplitude latérale déplacement de la tête, ALH, μm), la linéarité (LIN, %) qui mesure le départ de la progression linéaire et est calculé comme $\text{VSL} / \text{VCL} \times 100$, tandis que la vitesse de trajet moyenne (VAP, $\mu\text{m} / \text{s}$) est un chemin lissé construit par la moyenne de plusieurs positions sur la piste de sperme (Verstegen *et al.*, 2002) (**Figure 10 a et b**).

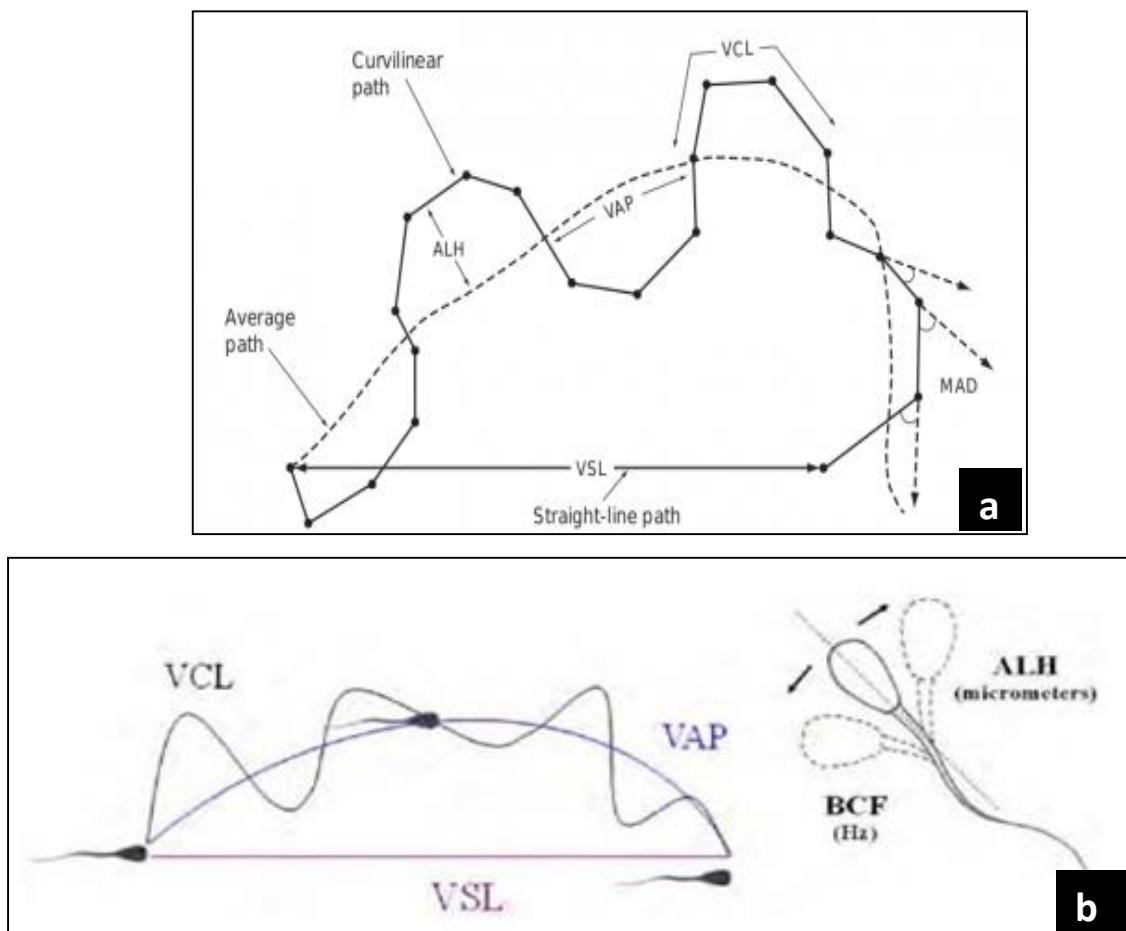


Figure 9 (a et b): Caractéristiques du mouvement du spermatozoïde (Verstegen *et al.*, 2002).

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

III.4.3.2. Analyse CASA - Procédure opérationnelle:

Quelles que soient les conditions de stockage avant de commencer l'analyse C.A.S.A, les échantillons sont conservés pendant 10 min à 37 °C dans un bain d'eau. La motilité peut être évaluée dans le sperme non dilué, mais lorsque la concentration est supérieure à 50×10^6 spermatozoïdes/ml, comme cela est le cas dans le sperme de lapin (**Tableau 2**), les échantillons doivent être dilués. En fonction de la concentration cellulaire initiale, une dilution supplémentaire est effectuée, afin d'éviter un grave "effet de dilution", la concentration finale de l'échantillon ne doit pas être inférieure à 10-15 millions de cellules / ml. Pour une analyse fiable CASA 40-50 cellules par champ sont traitées. Un milieu de Tris pourrait être utilisé pour la dilution des échantillons frais et congelés et décongelés, respectivement, (Theau-Clément et *al.*, 1996).

Tableau 2: Paramètres de la motilité des spermatozoïdes et valeurs
(Theau-Clément et *al.*, 1996).

| Caractères | Les valeurs standards |
|--|-----------------------|
| Spermatozoïde/ml (n x10 ⁶) | 250-600 |
| Progressive motilité % | 30-90 |
| Volume (ml) | 0,3-0,9 |
| pH | 7,1 |
| VCL | 80-100 |
| VSL | 30-50 |
| VAP | 50-70 |
| LIN | 35-80 |
| STR | 40-80 |
| ALH | 2,0-6,0 |

I. Objectif :

L'objectif de notre travail est basé sur l'étude comparative de la qualité de la semence entre deux populations de lapins : la population locale et la souche synthétique. Cette étude concernera l'évaluation des paramètres macroscopiques et microscopique de la semence suivi d'une analyse d'image par le système CASA.

II. Matériel et Méthodes :

II.1. Lieu et durée de l'expérimentation :

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

II.2. Bâtiment d'élevage et habitat des animaux :

Bâtiment d'élevage : Les animaux sont logés dans un clapier en dur (**Figure 10**), d'une superficie de 184 m², avec une charpente de type métallique, et une toiture en plaque eternit assurant une ventilation naturelle du bâtiment. Le bâtiment comporte deux salles de maternité qui se trouvent à droite de l'entrée principale, et au fond on retrouve une grande salle dédiée à l'engraissement des animaux, cette salle dispose de deux grandes fenêtres de type vasistas qui permettent l'éclairage et l'aération naturelle des lieux.



Figure 10 : Bâtiment d'élevage canicule (photo personnelle).

Logement des animaux : Les mâles sont placés dans des cages individuelles mesurant 70 cm de longueur sur 40 cm de largeur et 30 cm de hauteur (**Figure 11**), chaque cage est équipée d'une mangeoire individuelle ainsi qu'un système d'abreuvement à tétine. Les déjections sont réceptionnées sur le sol et ramassées deux fois par semaine. Durant la période expérimentale la température et l'hygrométrie ont été mesurés quotidiennement à l'aide d'un thermo-hygromètre digital.



Figure 11 : Cages individuelles (Photos personnelles).

II.3. Les animaux :

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

La souche synthétique : Les animaux utilisés proviennent de l'ITELV de Baba Ali. La production de notre cheptel expérimental descend en effet à partir de ces animaux élevés au sein même de notre clapier. Les Lapins de souche synthétique (n=10) sont âgés en moyenne de 11 mois \pm 15 jours et d'un poids variant entre 2935g et 3525g.

La population locale : Les lapins utilisés dans cette étude appartiennent à la population locale algérienne de robes variées. Ils proviennent de l'ENSV d'El Harrach, et leur mise à la reproduction a été réalisée au sein du clapier de la station. Les lapins de population locale (n=10), âgés en moyenne de 11 mois \pm 15 jours et de poids variant entre 2950g et 3565g

Au cours de l'expérimentation, deux lapines « boute-en-train » sont utilisées pour les saillies. Tous les animaux étaient en bon état sanitaire. Les mâles ont été placés dans des cages individuelles pour leur permettre une bonne adaptation pendant une durée de 10 jours.

II.4. Alimentation et abreuvement:

II.4.1. Aliment :

Tous les animaux étaient nourris à base d'un aliment granulé spécial pour lapins provenait de l'unité de fabrication de l'aliment de bétail de khemiss el khechna (Boumerdes) (**Figure 12**) distribué chaque matin en raison de 100g/jour, dans des trémies métalliques qui équipent chacune des cages d'élevage. Le granulé est fabriqué à base de maïs, de tourteaux de soja, de luzerne, de son, de phosphate bicalcique et de CMV spécial lapin.



Figure 12 : Aliment granulé distribué aux animaux (photo personnelle).

II.4.2. Eau de boisson :

L'eau distribuée aux animaux provient du réseau local d'eau potable. Elle est disponible en permanence grâce à un système de conduits en PVC munis de tétines automatiques. Des bacs en plastiques (**Figure 13**) de 6 litres sont raccordés au système de conduits et sont remplis chaque matin d'eau potable et fraîche.



Figure 13 : Abreuvoir en forme de bac en plastique (photo personnelle).

II.5. Traitement prophylactique et hygiène des lieux :

A la fin de sevrage, un anticoccidien a été additionné à l'eau de boisson afin de prévenir l'apparition de la coccidiose. De plus la prévention de gale essentiellement auriculaire a été réalisée par des injections d'ivermectine en sous cutanée en raison de 0,1 ml/ 5Kg de poids vif. L'apparition d'enterotoxémie a été évitée en traitant les animaux par une injection sous cutanée de 1ml/animal de Coglavax. Les déjections des lapins sont évacuées deux fois par semaine et le sol lavé. Le nettoyage des cages est réalisé à l'aide d'un chalumeau. Par mesure de sécurité et afin d'éviter toute introduction de maladie contagieuse ou à déclaration obligatoire, un pédiluve contenant un désinfectant (eau de javel et crésyl) a été mis en place à l'entrée du clapier.

II.6. Protocole expérimental :

Les différentes étapes de l'expérimentation sont regroupées dans la figure suivante :

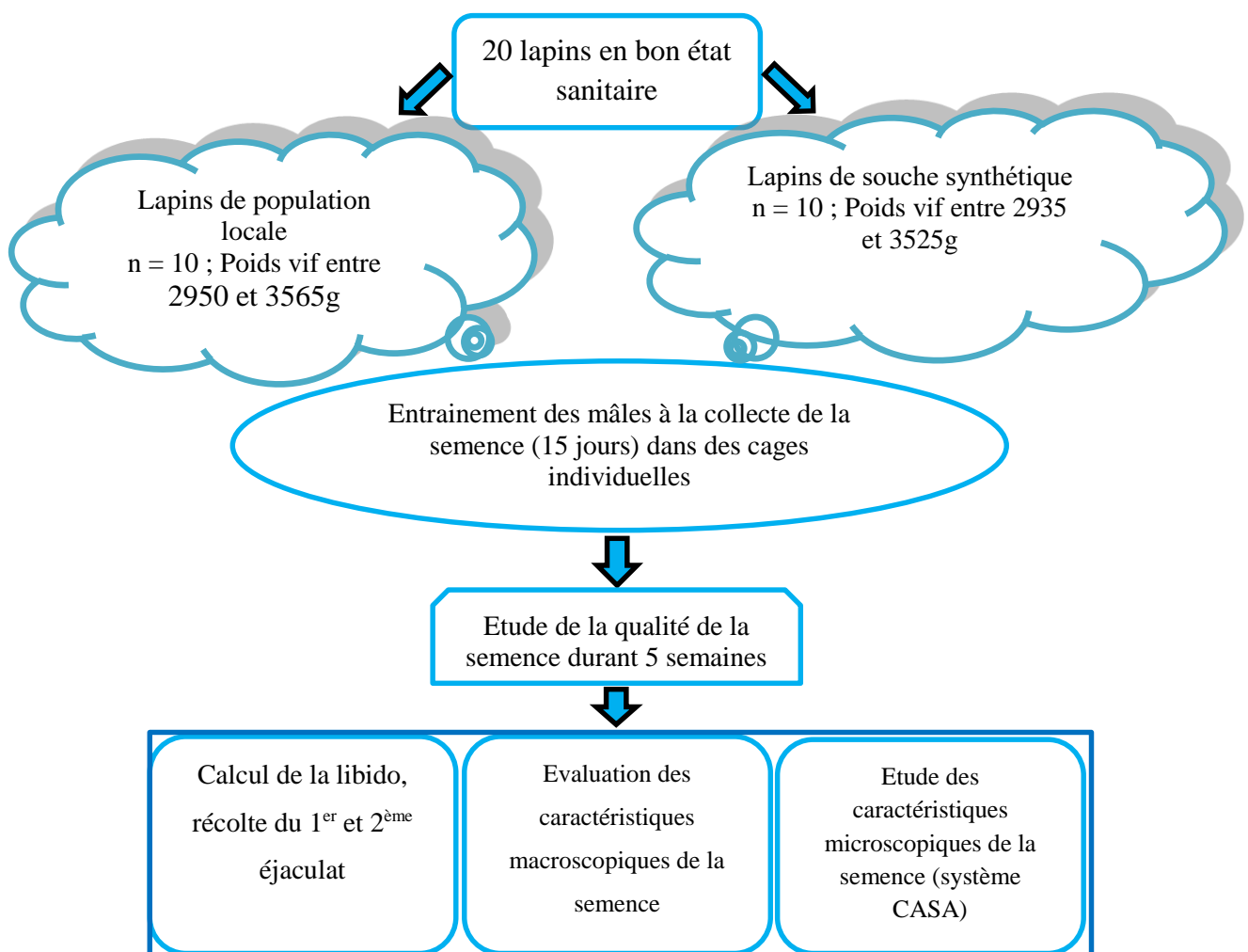


Figure 14 : Protocole expérimental

II.6.1. Préparation du matériel de récolte de la semence :

La semence est collectée au moyen d'un vagin artificiel en caoutchouc ou silicone de structure élastique (**Figure 15 A et B**), ce dernier est réchauffé avant utilisation à l'aide d'un bain marie maintenu à température entre 55 et 60°C grâce à une résistance. Avant son utilisation le vagin artificiel est bien nettoyé et bien séché. Un tube de collecte gradué est placé à l'extrémité du vagin artificiel pour pouvoir récolter la semence.



Figures 15 (A et B) : Préparation du vagin artificiel (photo personnelle).

II.6.2. Préparation des mâles à la récolte spermatique :

Avant le début de la période d'expérimentation tous les mâles ont été soumis à un entraînement quotidien pour les habituer à la collecte du sperme à l'aide d'un vagin artificiel, et cela en utilisant une femelle « Boute-en-train », pendant une période de 15 jours.

II.6.2.1. Collecte de la semence :

En premier lieu les mâles sont isolés dans des cages individuelles préparées spécialement pour la récolte du sperme. Au moment de la préparation du vagin artificiel, la femelle « boute-en-train » est laissée sur la cage des mâles pour les stimuler (Boiti *et al.*, 2005) (**Figure 16**).



Figure 16: Lapine boute en train placée sur la cage du mâle (photo personnelle).

- **Les étapes de la technique de récolte de la semence :**

Une fois que le vagin artificiel est prêt à être utilisé, la femelle « boute-en-train » est introduite dans la cage du mâle, lorsque le mâle exprime son comportement sexuel et tend à chevaucher la femelle, le préleveur immobilise rapidement le corps de celle-ci avec la main gauche placée sur le dos, et la main droite tenant le vagin artificiel passe sous l'abdomen entre les deux membres postérieurs de la femelle, et oriente le vagin artificiel vers le pénis afin de faciliter l'intromission de ce dernier. Après l'éjaculation, le mâle tombe à l'arrière en poussant par fois un cri caractéristique (**Figure 17 A ; B**).

- **Calcul de la libido :**

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

de temps calculé entre l'introduction de la femelle dans la cage du mâle et la première éjaculation à l'aide d'un chronomètre.

Un mâle qui refuse le chevauchement après 10 min de contact avec une première femelle ainsi qu'une deuxième, est considéré comme un mâle qui répond négativement à cette sollicitation et ce dernier n'est pas pris en considération dans l'effectif de la période de prélèvement (Theau-Clément *et al.*, 1991 ; 2009).



Figure 17 (A et B) : Récolte de la semence (Photos personnelles).

II.6.2.2. Méthode d'analyse du sperme :

II.6.2.2.1. Examen Macroscopique :

Juste après la récolte du sperme, le tube de collecte est maintenu dans le creux de la main pour protéger le sperme de la lumière et de la diminution brutal de la température. Le prélèvement doit être déposé dans les 15 min qui suivent la récolte dans un bain marie à 37°C. C'est pour cela que l'examen macroscopique doit se faire dans un délai très court ne dépassant pas les 15minutes.

Le pH : Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre (**Figure 18 A et B**).

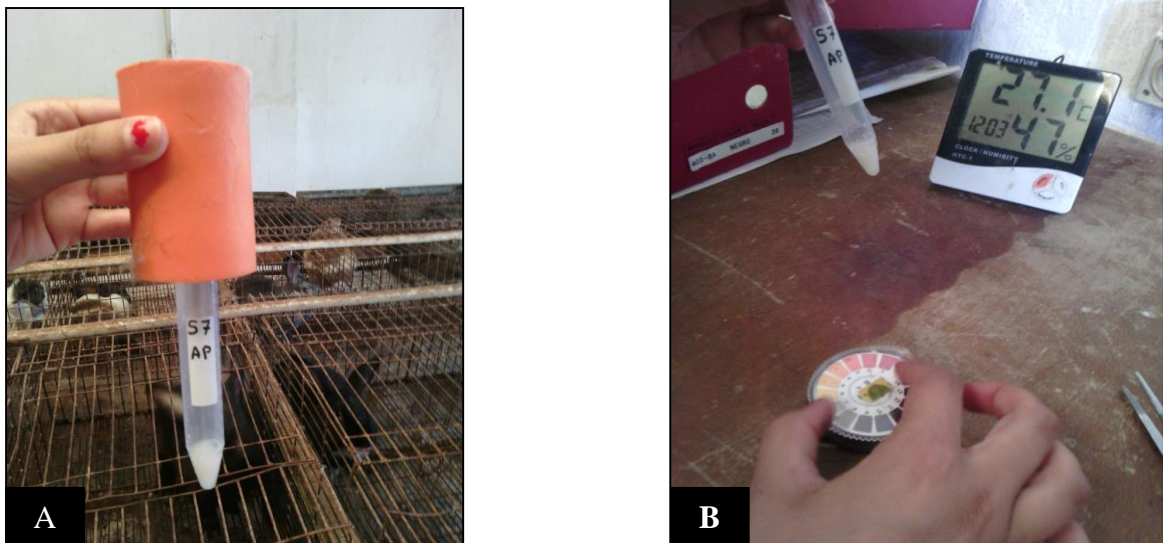


Figure 18 (A et B) : Récolte et mesure du pH (Photos personnelles).

Le volume : Le volume total de l'éjaculat est mesuré par lecture directe sur le tube gradué servant à la collecte. Si le sperme recueilli contient du gel le volume est mesuré avec le gel, et ensuite mesuré après avoir retiré le gel à l'aide d'une pipette Pasteur préalablement chauffée à l'aide de la vapeur d'eau, et cela pour déterminer le volume sans gel (**Figure 19**).

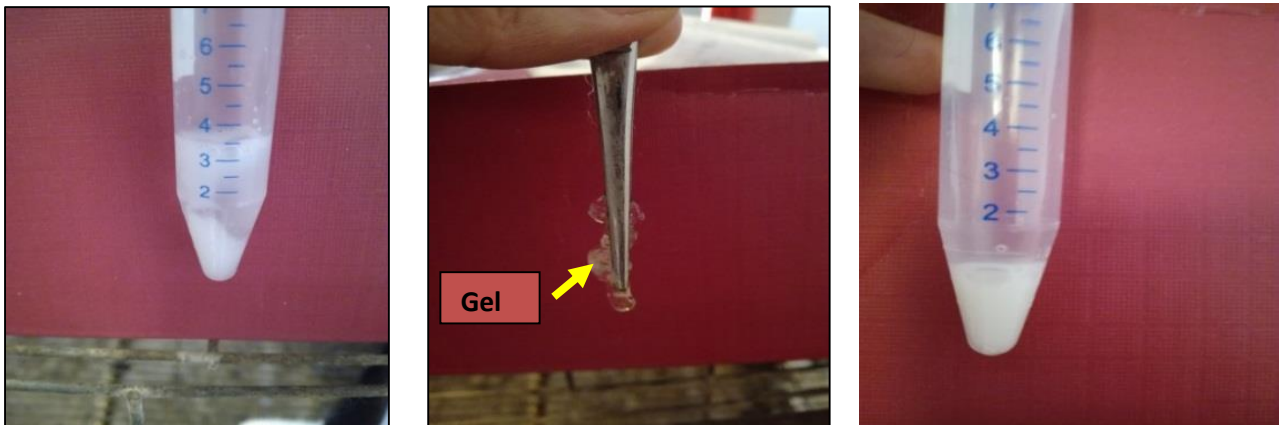


Figure 19 : Volume avec et sans gel (Photos personnelles).

La couleur : La couleur est déterminée par observation directe de l'éjaculat dans le tube de collecte transparent. Le degré de la couleur est noté selon les recommandations de Boussit (1989) :

- Sperme contaminé avec urine : Jaunâtre (**Figure 20**).
- Sperme avec présence de sang : Rosâtre ou rougeâtre.
- Sperme blanc crémeux.



- Sperme blanc nacré.

Figure 20 : Couleur du sperme (Photos personnelles).

II.6.2.2.2. Examen Microscopique :

Après la première étape d'analyse macroscopique qui se déroule au niveau du clapier, le tube contenant la semence est mis dans un thermos rempli d'eau maintenue à une température de 37°C, puis transféré au niveau du laboratoire de recherche pour la réalisation de la partie microscopique. Sur place, le tube est ainsi placé en position verticale dans un bain marie maintenu aussi à 37°C (**Figures 21 A et B**).

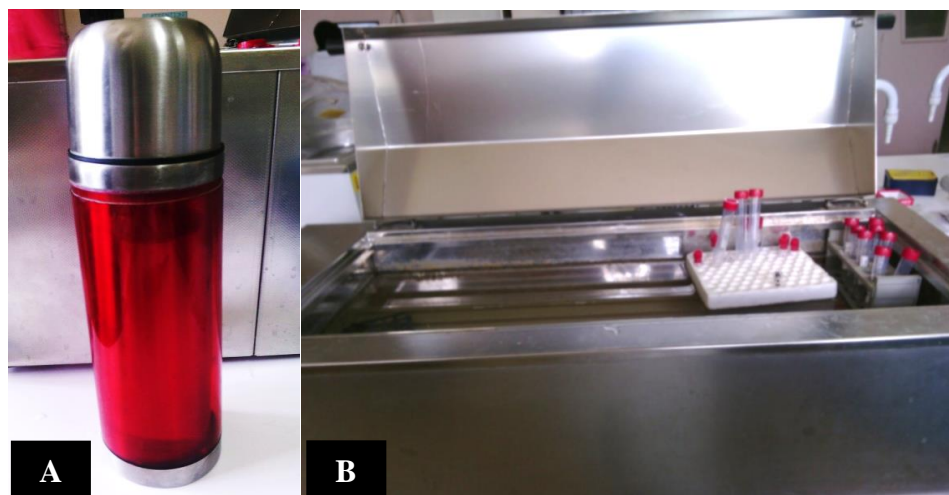


Figure 21 (A et B) : Thermos et bain marie (Photos personnelles).

La motilité massale : La motilité massale est estimée par l'observation d'une microgoutte de sperme posée sur une lame sous microscope, muni d'une plaque chauffante réglée à 37°C, et avec

un grossissement x100. Le mouvement global des spermatozoïdes est apprécié en fonction de l'intensité des vagues observée. La grille de notation « Grille de Petitjean » (1965) (cité par Boussit 1989), nous permet d'estimer l'intensité des vagues, une note allant de 0 (pas de spermatozoïdes) à 9 (aspect de tourbillon) est attribuée à chaque échantillon (**Tableau 3**). L'estimation de la motilité doit se faire dans les 5 à 10 minutes qui suivent la collecte.

Tableau 3 : Echelle de Petitjean (1965) pour notation de la motilité massale (Boussit, 1989).

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

La concentration : Cette mesure consiste à déterminer le nombre de spermatozoïdes par millilitre de semence pure en utilisant un hématimètre de type **cellule de Thoma**, cette dernière présente deux grilles. Chaque grille est divisée en 16 grands carreaux, eux même divisés en 16 petits carreaux (**Figure 22**). Pour la dilution et la fixation du sperme, on prend 10 microlitres de sperme à l'aide d'une micropipette auquel on ajoute 990 microlitres de formol dilué à 10% (10 ml de formol 35% dilué dans 1 l de solution NaCl 0,9%). On homogénéise la solution manuellement ou à l'aide d'un agitateur.

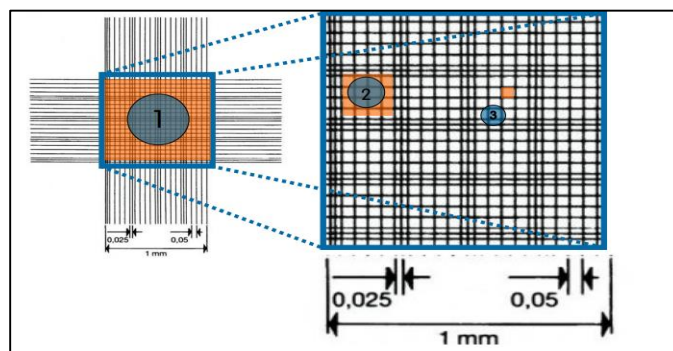


Figure 22 : Division de la grille de la cellule de Thoma (Oscar www.celeromics.com)

Etapes pour le comptage à l'hématimètre :

- Préparer la cellule de Thoma en pressant fortement la lamelle sur les côtés de la grille (Pour adhérer la lamelle a l'hématimètre).
- Déposer une goutte de solution diluée sans bulles d'air avec une micropipette en bordure de lamelle pour la 1ere grille.la gouttelette par capillarité sera diffusée entre lame et lamelle. Refaire la même opération pour la 2eme grille.
- Laisser reposer 10 minutes pour que les spermatozoïdes se déposent sur le fond de la lame. On observe au microscope à contraste de phase (grossissement x 400).
- Le comptage se fera sur les deux colonnes centrales de chaque grille plutôt que 4 colonnes d'une seule grille prise au hasard parmi les deux (Falières et Theau-Clement, 2007).
- Le calcule se fait selon Falières et Theau-Clement, 2007 comme suit, les deux colonnes centrales d'une grille contiennent 8 x 16 soit 128 petits carrés, sachant que le volume d'un petit carré est de 1/4000 mm³, le volume de 8 grands carrés est de 0,032 mm³. La concentration en spermatozoïdes par ml de diluant, sera si on compte les deux grille (haut et bas) :

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

D = dilution du sperme.

$$C_n = \frac{X \times D \times 1000}{\text{volume compté} \times 2} \quad \text{Soit :} \quad C_n = \frac{X \times 200 \text{ Million}}{64}$$

II.6.2.2.3. Manipulation du système CASA :

Le système CASA (Computer Analyser System Assisted) est constitué d'un microscope (Nicon) muni d'une plaque chauffante (**Figure 23 A**) avec des objectifs à contraste de phase négatif (10×, 20×, 40×, 60×),une caméra (Nicon),et un moniteur (hp) qui permet de voir en même temps l'image du microscope et l'image digitalisé par la fiche de l'ordinateur.Le logiciel utilisé pour l'analyse de la mobilité est le SCA ver. qui permet de quantifier le nombre de spermatozoides (spz) ayant un déplacement lent,moyen,rapide,et progressif,les paramètres de vitesse, l'angle et la rectitude des trajectoires.et ce système nous permet aussi le dénombrement et trouver le pourcentage des spermatozoïdes vivants ainsi que de dénombrer les spermatozoïdes normaux de ceux mal formés.

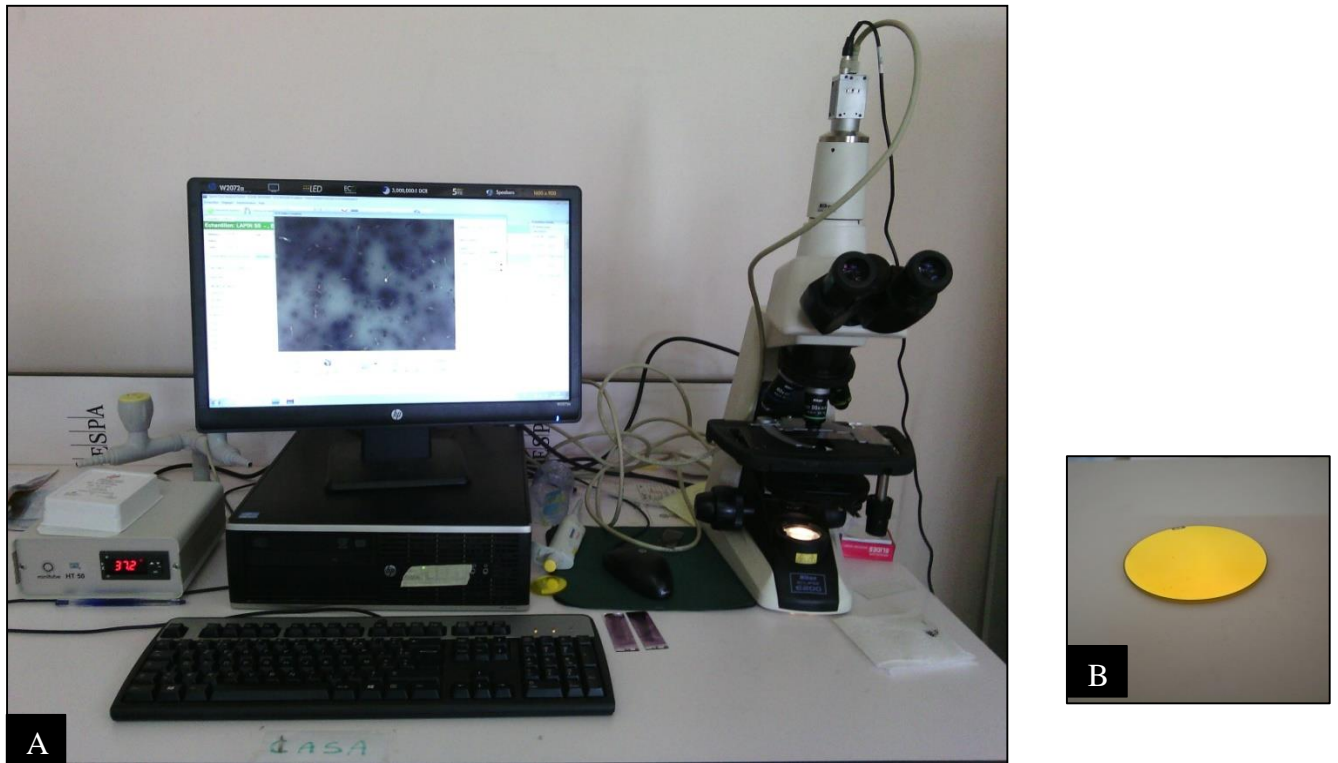


Figure 23 (A et B) : Le système CASA (Computer Analyser System Assisted)
(Photos personnelles).

La motilité individuelle : Prélever 10 microlitres de la semence pure (dans les premières minutes qui suivent la récolte) et les diluer dans 290 microlitres de solution Galape à savoir une dilution au 1/ 30 puis homogénéiser la solution contenant les spermatozoïdes. Avec une micro pipette déposer 3 μ l de la solution diluée dans l'un des puits de la lame Leja, l'observation se fait par le système CASA (grossissement X10) avec un filtre vert (**Figure 23 B**). Cette observation nous permet dans un premier lieu d'évaluer le type de mouvements des spermatozoïdes et de les noter en utilisant l'échelle d'Andrieu (1974) (**Tableau 4**) qui va de 0 à 4 (cité par Boussit, 1989 ; Baril et *al.*, 1993), ce système nous permet également d'évaluer la vitesse des spermatozoïdes qui est la motilité (VCL, VSL, VAP), le mouvement des spermatozoïdes est représenté distinctement sur l'écran de différentes couleurs (**Figure 24**).



Figure 24 : Mouvement des spermatozoïdes coloré selon leurs vitesses (Photo personnelle).

Tableau 4: Echelle d'Andrieu (1974) pour la notation de la motilité individuelle (Boussit, 1989).

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

La vitalité (Viabilité) : Pour étudier ce paramètre, on fait un frotti, en déposant sur une lame à l'aide d'une micropipette 10 microlitres de sperme pur au quel on rajoute 10 microlitres de **nigrosine** et 10 microlitres d'**éosine**, que l'on étale à l'aide d'une lame. On laisse la lame sécher, pendant quelques minutes. Dès que cette dernière est complètement sèche on procède à l'observation par le système CASA grossissement X20, on compte 200 spermatozoïdes. Les spermatozoïdes vivants apparaissent d'une couleur claire et les morts apparaissent avec couleur foncé (**Figure 25**).

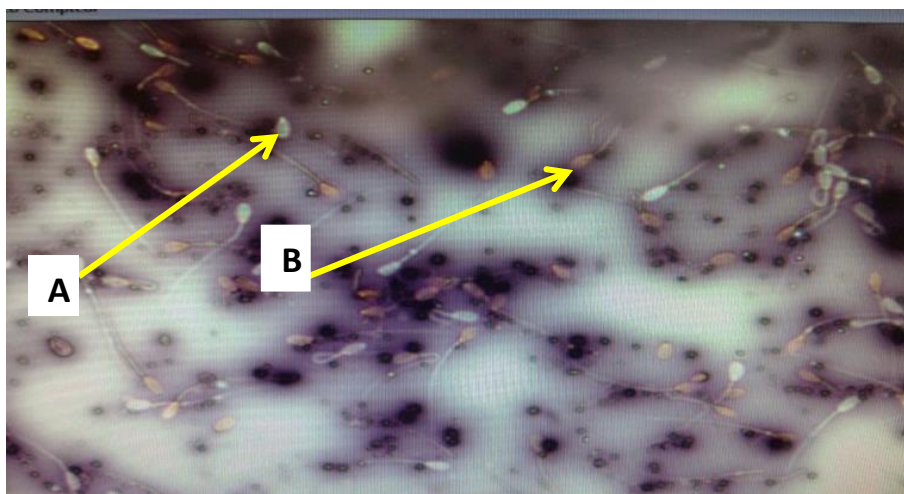


Figure 25 : Spermatozoïde vivant (**A**) et spermatozoïde mort (**B**) après coloration à l'éosine-nigrosine (Photo personnelle).

Morphologie : La même lame ayant été utilisée pour le comptage des spermatozoïdes vivants et mort est utilisée pour déceler les anomalies sur 200 spermatozoïdes, et cela en utilisant toujours le système CASA a grossissement x20. On peut distinguer plusieurs types d'anomalies (**Figure 26**) qui sont liés soit à la tête, pièce intermédiaire ou bien à la queue du spermatozoïde.

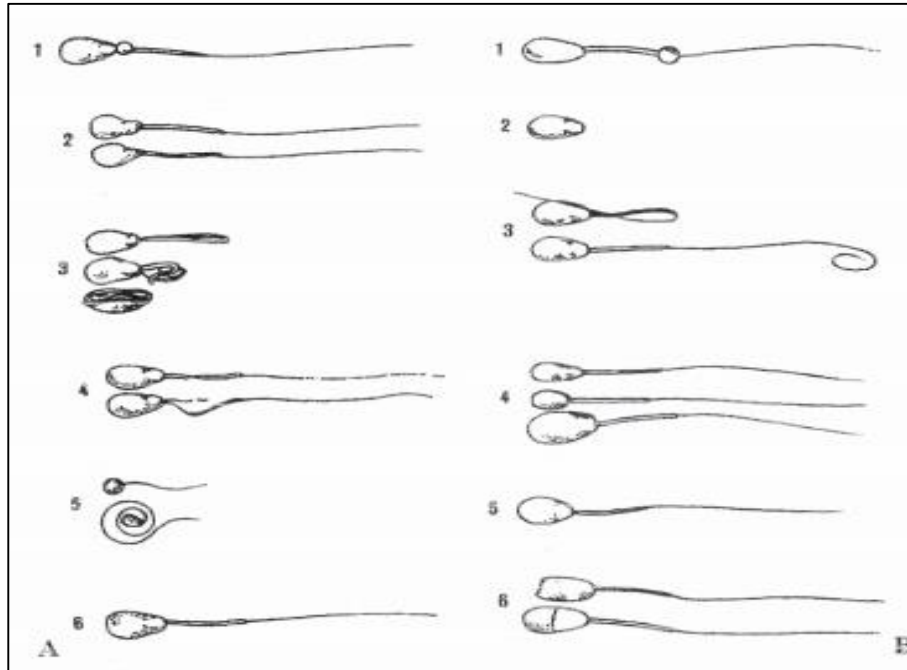


Figure 26 : Principales anomalies des spermatozoïdes de taureau classées selon BLOM (D'après OTT, 1986) (Repris par Boussit, 1989).

A : Anomalie majeures : **1** : Gouttelettes cytoplasmiques proximales ; **2** : Tête periforme ; **3** : Queue bouée ou enroulée en chignon queue enroulée autour de la tête ; **4** : Déformation de la pièce intermédiaire ; **5** : Mauvais développement ; **6** :Cratères.

B : Anomalies mineures : **1** : Gouttelettes cytoplasmique distale ; **2** : Tête normales sans queue ; **3** : queue repliée ou enroulée à l'extrémité ; **4** : tête étroite, petite ou géante ; **5** : Implantation apicale ; **6** : Acrosomes anormaux.

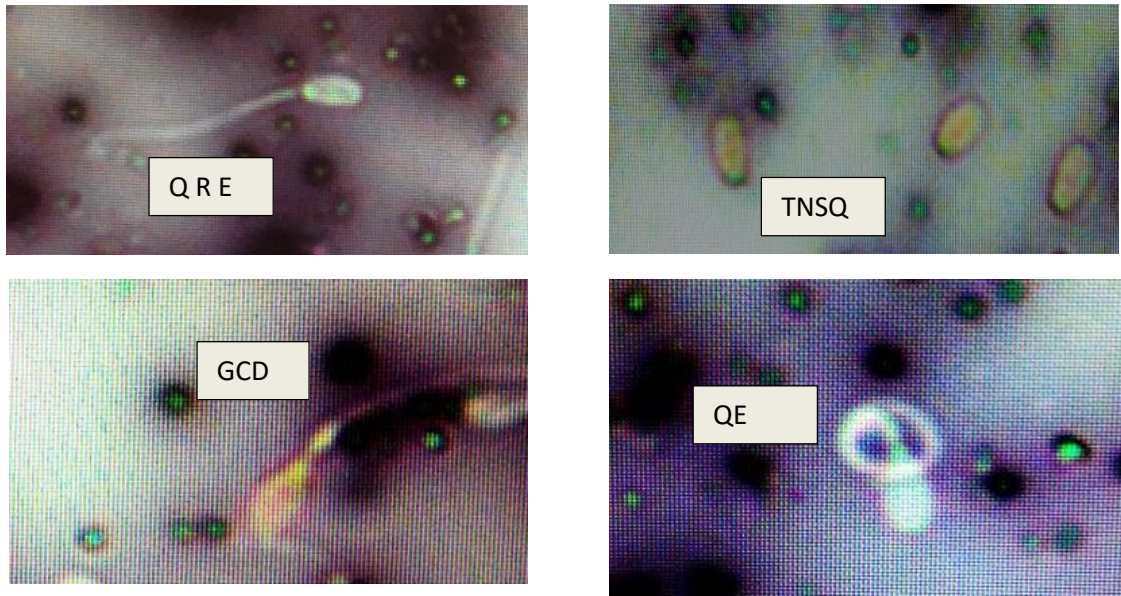


Figure 27: QRE (queue repliée et enroulée) ; TNSQ (Tete normale sans queue) ; GCD (Goutelette cytoplasmique distale) ; QE (Queue enroulée) photos personnelles.

III. Analyse statistique:

Les résultats sont présentés par la somme des moindres carrés et l'erreur standard. Le traitement statistique des données est réalisé à l'aide du logiciel SAS (*version 9.1.3; SAS Institute, 2002*).

Les différents paramètres sont analysés en utilisant la procédure Mixed avec le modèle suivant :

$$y_{ijk} = \mu + R_i + p_{ij} + e_{ijk}$$

μ : la somme des moindres carrés, R_i : l'effet de la population avec deux niveaux (synthétique et locale), p_{ij} : l'effet permanent de l'environnement, e_{ijk} : l'erreur.

Les résultats :

Dans la partie résultats, nous présenterons dans un premier temps le nombre global d'éjaculats obtenu par semaine, par male et par rapport aux nombres de sollicitations. Dans un deuxième temps, une comparaison de la libido entre les deux races étudiées, ensuite les caractéristiques macroscopiques de la semence chez les lapins de population locale et ceux de la souche synthétique sont étudiées. Enfin, nous terminerons par une analyse des paramètres concernant la qualité microscopique de la semence.

I. Nombre d'éjaculats :

Les résultats concernant le nombre total d'éjaculats récoltés par animal et par semaine en fonction du nombre de sollicitations sont présentés et illustrés respectivement dans le **Tableau 5** et la **Figure 28**. Chez la population locale, le taux moyen des éjaculats est de 82%. En revanche, les mâles de souche synthétique présentent un taux moyen des éjaculats de 91%, soit une différence de 10%.

Par ailleurs, nous avons noté une différence dans le nombre de récolte entre le premier et le deuxième éjaculat et ce quel que soit la race étudiée. En effet, le nombre de récolte pour le premier éjaculat est supérieur par rapport à celui récolté lors du deuxième éjaculat.

Tableau 5 : Comparaison de la réponse aux sollicitations pour la population locale et la souche synthétique durant les 5 semaines.

| | Locale | | Synthétique | |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | 1 ^{er} Ejaculat | 2 ^{ème} Ejaculat | 1 ^{er} Ejaculat | 2 ^{ème} Ejaculat |
| Semaine 1 | 9 | 7 | 10 | 8 |
| Semaine 2 | 9 | 9 | 10 | 9 |
| Semaine 3 | 9 | 5 | 9 | 7 |
| Semaine 4 | 9 | 9 | 10 | 9 |
| Semaine 5 | 9 | 7 | 10 | 9 |
| Total 1 | 45 | 37 | 49 | 42 |
| Nombre de sollicitations | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Total 2 | 82 | | 91 | |
| Réponse aux sollicitations(%) | 90% | 74% | 98% | 84% |

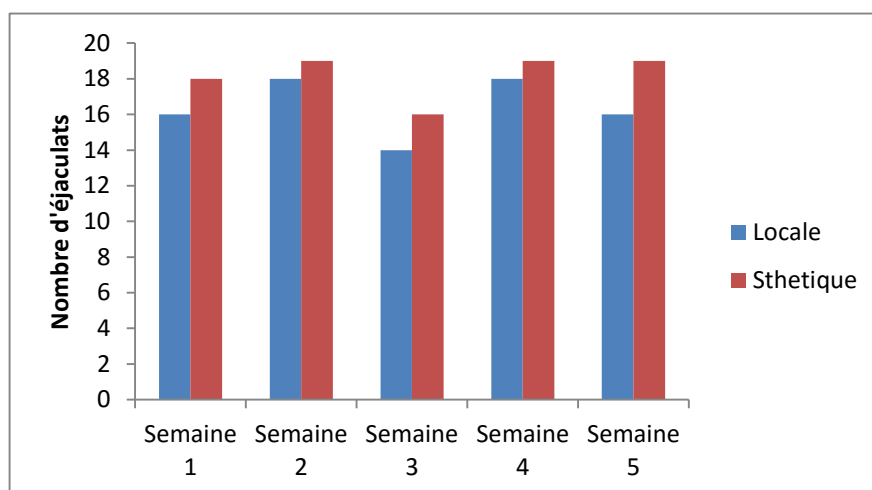


Figure 28 : Comparaison nombre d'éjaculat.

II. La libido :

Dans nos conditions expérimentales, l'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les deux groupes expérimentaux concernant la libido (11,5 vs 12,5 ; $P > 0,05$) (Tableau 6 et Figure 29). En ce qui concerne l'effet semaine, la libido moyenne est comparable entre les quatre premières semaines. Par contre, nous avons noté une différence significative entre la 5^{ème} semaine et les 4 semaines qui ont précédé (+ 53% ; $P < 0,05$).

Tableau 6 : La libido en fonction de la race des lapins étudiés.

| Race | Libido (s) | |
|-------------|--------------|--------------|
| | Locale | 11,49 ± 3,45 |
| Synthétique | 12,45 ± 3,23 | |

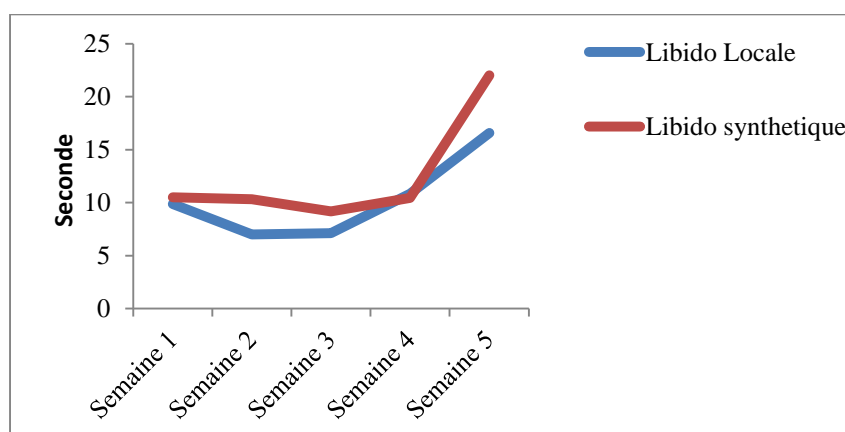


Figure 29 : Evolution de la libido en fonction de la race des lapins étudiés.

III. Les caractéristiques macroscopiques :

III.1. Couleur :

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

III.2. Le volume de la semence :

Dans les conditions de cette étude, le volume moyen de la semence a été évalué avec et sans gel. En effet, nous avons noté une différence entre le 1^{er} et le 2^{eme} éjaculat pour la présence et l'absence de gel et cela pour les deux races étudiées. La présence du gel dans le 1^{er} éjaculat est plus importante par rapport à sa présence dans le 2^{eme} éjaculat. Les éjaculats obtenus des mâles de population locale ont présenté un pourcentage élevé de présence de gel comparé à ceux de la souche synthétique (40,24% vs 25,27%). L'effet race sur le volume de la semence avec et sans gel est présenté et illustré respectivement dans le **tableau 7** et la **Figure 30** et **31**. L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative en fonction du type génétique du lapin, pour ce dernier paramètre ($P = 0,05$).

Tableau 7 : Volume moyen avec gel de la semence en fonction de la race des lapins étudiés (LSM \pm ES).

| | | Volume avec gel (ml) | Volume sans gel (ml) |
|------|-------------|----------------------|----------------------|
| Race | Locale | 1,57 \pm 0,13 | 0,84 \pm 0,10 |
| | Synthétique | 1,88 \pm 0,24 | 0,79 \pm 0,10 |

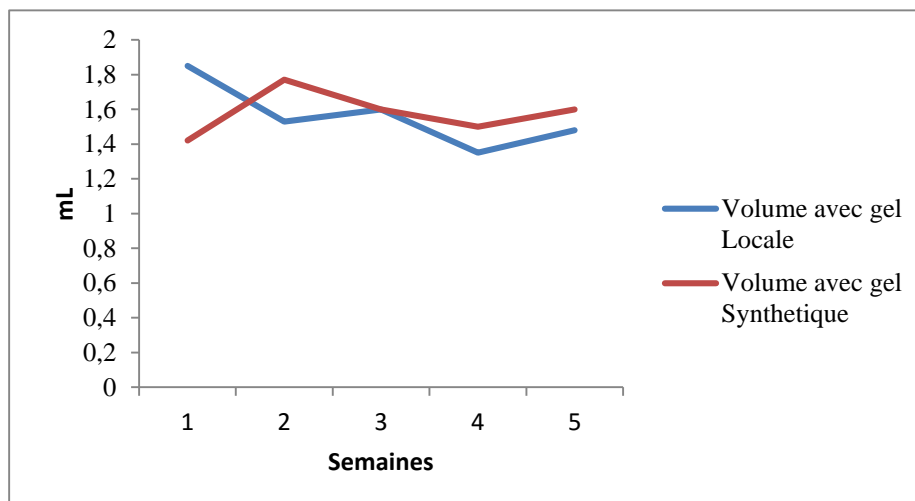


Figure 30 : Comparaison des volumes avec gel.

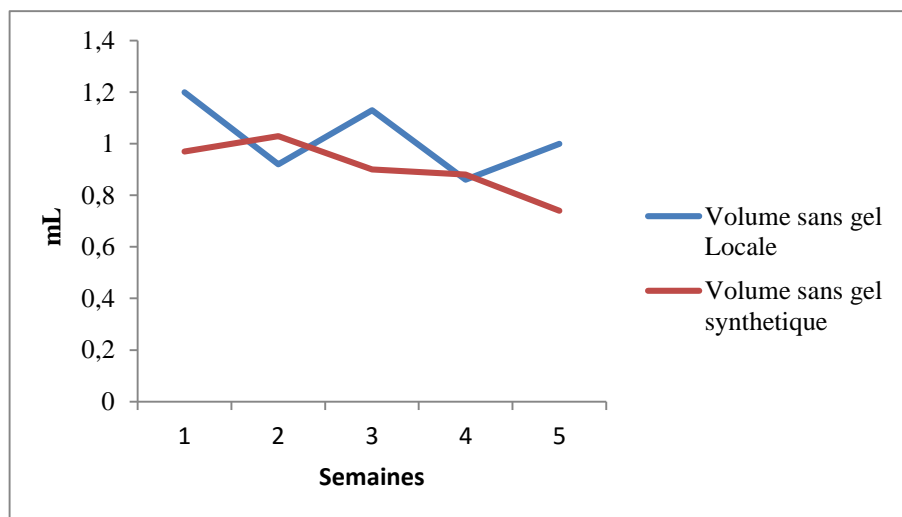


Figure 31 : Comparaison des volumes sans gel.

III.3. Le pH :

Les résultats concernant l'évaluation du pH moyen en fonction de la race du lapin ne montrent aucune différence significative au seuil $P = 0,05$ (Tableau 8 et Figure 32).

Tableau 8: pH moyen en fonction de la race des lapins étudiés (LSM ± ES).

| Race | pH | |
|------|-------------|-------------|
| | Locale | 7,70 ± 0,15 |
| | Synthétique | 7,59 ± 0,14 |

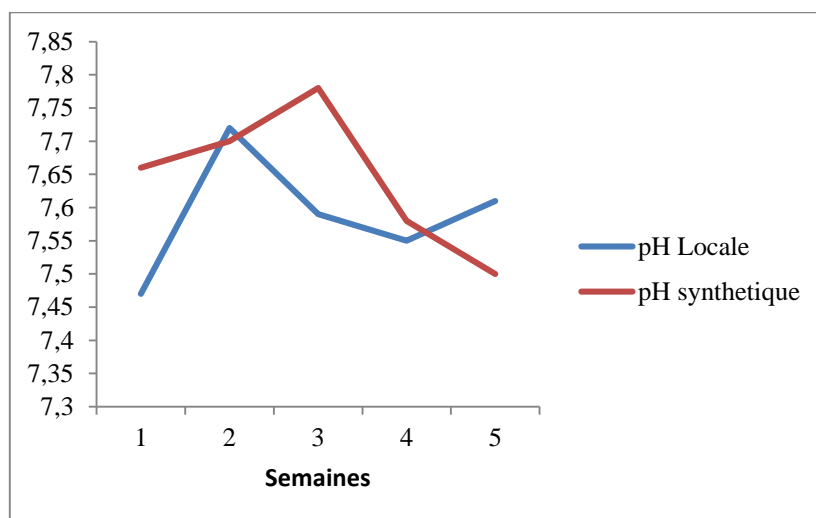


Figure 32 : Comparaison pH en fonction de la race des lapins étudiés.

IV. Les caractéristiques microscopiques :

IV.1. La motilité massale et individuelle :

La motilité massale et individuelle moyennes mesurées chez les lapins de population locale et ceux de souche synthétique, sont présentées dans le **tableau 9**. Contrairement à la motilité individuelle, la motilité massale a varié significativement en fonction du type génétique du lapin. En effet, la motilité massale était de 7,45 et 5,85 respectivement chez les lapins de population locale et de la souche synthétique. Un écart significatif de plus 21% est noté entre ces deux derniers (**Figure 33 et 34**).

Tableau 9: La motilité massale et individuelle en fonction de la race des lapins étudiés (LSM ± ES).

| Race | | Motilité massale | Motilité individuelle |
|-------------|--------|--------------------------|--------------------------|
| | Locale | | 7,45 ± 0,55 ^a |
| Synthétique | | 5,85 ± 0,52 ^b | 2,23 ± 0,20 |

a, b, ... sur une même colonne les moyennes affectées d'une lettre différente, différent entre elles au seuil P<0,05.

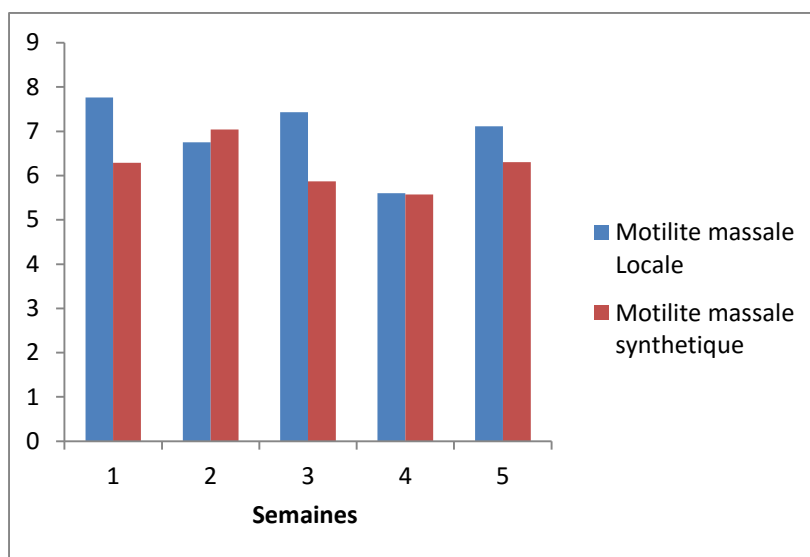


Figure 33: La motilité massale en fonction de la race des lapins étudiés.

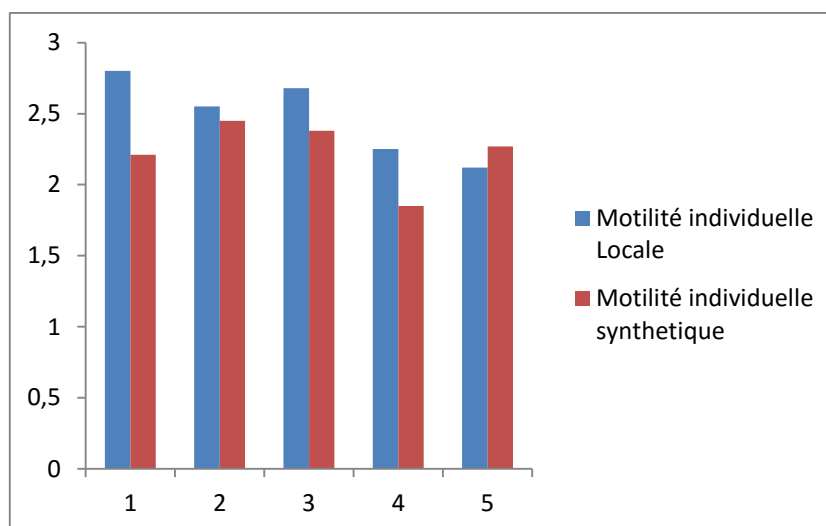


Figure 34 : La motilité individuelle en fonction de la race des lapins étudiés.

IV.2. Paramètres cinétiques de la semence :

Les paramètres cinétiques moyens de la semence en fonction de la race du lapin sont présentés dans le **tableau 10**. L'analyse statistique ne montre aucune différence significative pour la VCL, la LIN et l'ALH et cela en fonction du type génétique des lapins étudiés et les semaines de récolte prises en considération.

Par contre, les lapins de population locale et de souche synthétique ont présenté des valeurs différentes de VAP (50 et 42 respectivement). Un écart significatif de l'ordre de plus

15% est noté en faveur des lapins de population locale ($P < 0,05$). La valeur la plus élevée de la VAP est notée au cours de la 3^{ème} semaine. Elle est significativement plus élevée d'une part par rapport à celle mesurée au cours de la 1^{ère} semaine (49 vs 43 ; $P < 0,05$) et celle notée lors de la 4^{ème} semaine d'autre part (49 vs 44 ; $P < 0,05$). La VSL elle aussi a présenté une différence significative pour l'effet type génétique, puisque on a noté respectivement 39,6 μ m/s et 32,5 μ m/s ($P < 0,05$) pour la population locale et la souche synthétique.

Par ailleurs, la BCF est seulement influencée significativement par l'effet type génétique et les lapins de population locale ont montré les valeurs les plus faibles (-19% ; $P < 0,05$).

Enfin, contrairement au WOB qui n'est pas influencé significativement ni par l'effet type génétique des mâles, le STR a varié significativement en fonction de la type génétique. En effet cette dernière est plus élevée chez les lapins de population locale comparativement à celle mesurée chez les lapins de souche synthétique, soit un écart significatif de 19%.

IV.3. La concentration :

L'effet de la race sur la concentration moyenne des spermatozoïdes dans la semence est présenté dans **le tableau 11**. Les lapins de population locale ont présenté des valeurs de concentration en spermatozoïdes plus élevées comparées à celles enregistrées chez les lapins de souche synthétique. Cependant l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative entre les deux groupes de males (498,80 x 10⁶ vs 322,64 x 10⁶) ; $P > 0,05$) (**Figure 35**).

Tableau 11 : La concentration en fonction de la race des lapins étudiés
(LSM \pm ES).

| | Concentration (Nombre de spermatozoïde/ejaculat) | |
|-------------|---|------------------------------------|
| Race | Locale | 498,80x10 ⁶ \pm 72,31 |
| | Synthétique | 322,64x10 ⁶ \pm 69,32 |

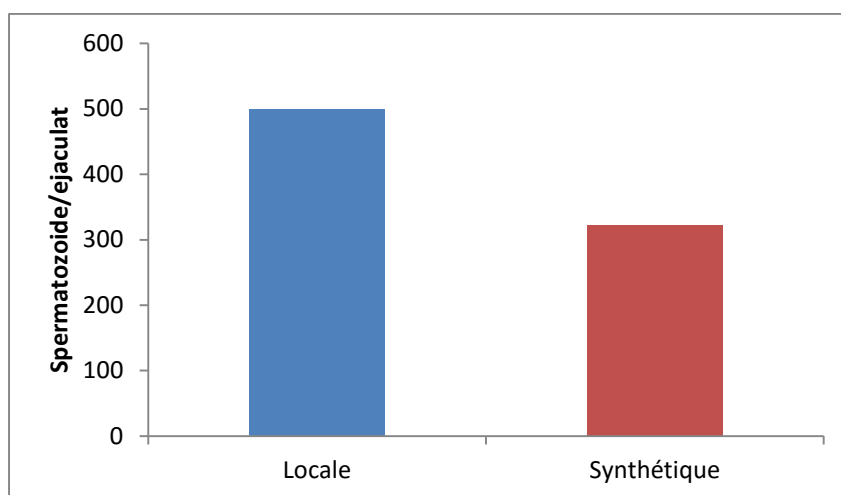


Figure 35: La concentration en fonction du type génétique des lapins étudiés.

IV.4. Le pourcentage de spermatozoïdes vivants et morts :

Le pourcentage moyen de spermatozoïdes vivants et morts selon la race est illustré dans le **tableau 12**. L'étude statistique n'a révélé aucune différence significative en fonction du facteur pris en considération (**Figure 36**).

Tableau 12 : Le pourcentage de spermatozoïdes vivants et morts en fonction de la race des lapins étudiés (LSM ± ES).

| | | Le pourcentage de spermatozoïdes vivants (%) | Le pourcentage de spermatozoïdes morts (%) |
|-------------|-------------|---|---|
| Race | Locale | 62,45 ± 3,77 | 37,55 ± 3,77 |
| | Synthétique | 57,49 ± 3,61 | 42,51 ± 3,61 |

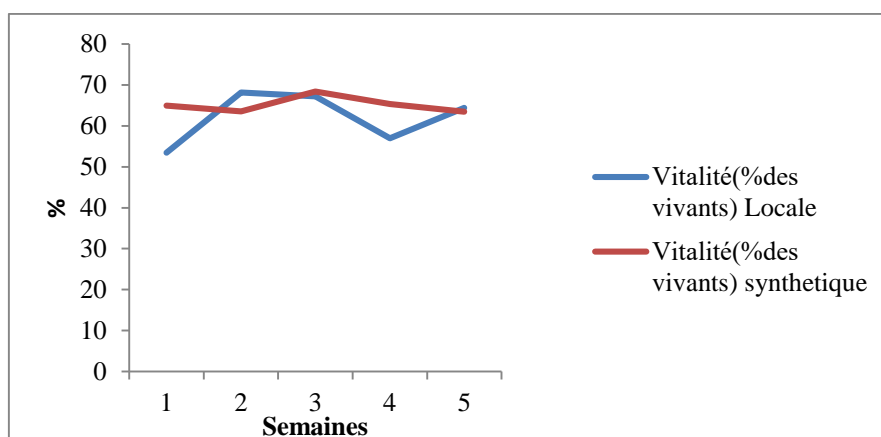


Figure 36: Pourcentage de spermatozoïdes vivant en fonction de la race des lapins étudiés.

IV.5. Le pourcentage de spermatozoïdes normaux et anormaux :

Le pourcentage moyen de spermatozoïdes normaux et anormaux ne présente aucune différence significative entre les lapins de population locale et de souche synthétique (**Tableau 13**). Cependant, l'effet semaine a influencé significativement ce dernier paramètre. En effet, un pourcentage élevé de spermatozoïdes anormaux a été enregistré au cours de la 1ere semaine par rapport aux autres semaines étudiées (45 vs 34% ; $P < 0,05$) (**Figure 37**).

Tableau 13 : Moyenne du pourcentage de spermatozoïdes normaux et anormaux en fonction de la race étudiés (LSM \pm ES).

| | | Le pourcentage de spermatozoïdes normaux (%) | Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux(%) |
|-------------|-------------|---|---|
| Race | Locale | 61,63 \pm 3,01 | 38,37 \pm 3,01 |
| | Synthétique | 64,87 \pm 2,89 | 35,13 \pm 2,89 |

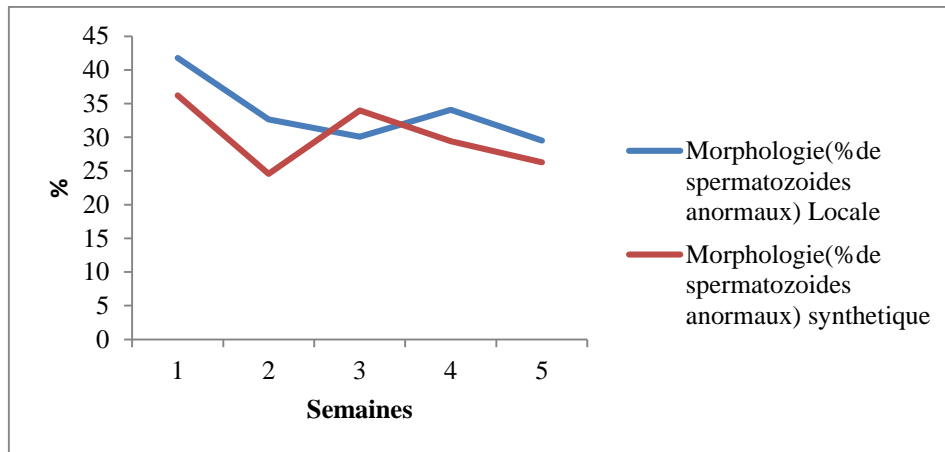


Figure 37 : Pourcentage de spermatozoïdes anormaux en fonction de la race des lapins étudiés.

Le choix des lapins n'a pas été fortuit...

Dans cette expérimentation, notre choix s'est porté sur deux types génétiques de lapins à savoir la population locale et la souche synthétique. Il faut souligner que les expérimentations préalablement faites ont porté sur une analyse de la qualité de la semence de la population locale (Boulbina *et al.*, 2011). A notre connaissance jusqu'à ce jour, on n'a pas pu trouver des résultats pour une analyse comparative entre les différentes caractéristiques de la semence de la population locale et la souche synthétique. Dans cette optique s'inscrit notre travail et qui a pour objectif une analyse comparative entre la qualité de la semence de la population locale et la souche synthétique.

Les aspects méthodologiques...

Dans nos conditions expérimentales, le nombre d'animaux utilisés est voisin à celui rencontré dans les travaux de différents auteurs cités dans la bibliographie (5 à 20 lapins) (Theau-Clement *et al.*, 1991 ; El-Gaafary, 1994 ; Nizza *et al.*, 2003 ; Garcia-Thomas *et al.*, 2006 a et b ; Safaa *et al.*, 2008).

Un des paramètres de notre expérimentation concerne le rythme de récolte de la semence pour chaque individu. En effet, nous avons suivi un rythme extensif correspondant à la récolte de deux éjaculats par jour et par semaine. Ce rythme est considéré comme optimal (Bencheikh, 1995 ; Arroita *et al.*, 2000 ; Nizza *et al.*, 2001 ; Nizaa *et al.*, 2003). Les deux éjaculats successifs sont séparés par 15 à 20 minutes. Selon les auteurs, ce temps peut varier entre 10 à 30 min pour l'obtention d'un 2^{ème} éjaculat de bonne qualité, (Arroita *et al.*, 2000 ; Mocé *et al.*, 2000 ; Nizaa *et al.*, 2001 ; Nizaa *et al.*, 2003 ; Lavara *et al.*, 2005 ; Theau-Clement, 2009).

Type génétique des lapins mâles...

...Nombre plus élevé d'éjaculats chez la souche synthétique

Durant notre expérimentation, nous avons noté, un taux de réponses positives aux sollicitations se situant en moyenne à 82% pour la population locale et à 91% pour la souche synthétique. Nos résultats sur le taux de réponse de la souche synthétique se rapprochent le plus à celui obtenu par Garcia-Thomas *et al.* (2006a) et qui est estimé à 93,9% chez les

lignées dénommées C et R sélectionnées sur la croissance. Par contre, ce taux paraît légèrement faible pour la population locale comparé à celui noté par Boulbina (2011) chez la même population égal à 99,2%. Chez la souche INRA 1601, la souche commerciale Hyplus et la souche INRA 1077, Bencheikh (1995) a rapporté des résultats plus faibles de 78,7% et 82,9% en moyenne et qui paraissent proches à nos résultats pour la population locale.

Nos résultats démontrent une meilleure réponse de la part de la souche synthétique. Cette différence peut être due à l'effet manipulateur ou aux conditions climatiques estivales. Les relations existant entre le préleveur et l'animal prennent une place prépondérante dans la réussite de la collecte.

La libido des lapins expérimentaux...

...Résultats comparables

Dans nos conditions expérimentales, la libido moyenne notée au cours de notre étude est respectivement de 11,49 secondes et de 12,45 secondes pour la population locale et la souche synthétique. Selon Boulbina (2011) la libido pour les mâles de la population locale est estimée à 7,9 secondes ce qui est meilleur par rapport à nos résultats pour cette même population.

Ce que nous pouvons noter, est que le temps de réaction de nos mâles de population locale est plus court par rapport à celui de la souche synthétique. Par ailleurs, pour les résultats des deux types génétiques étudiés, nos résultats restent meilleurs par rapport à ceux rapportés pour trois phénotypes du type génétique égyptienne Baladi (Red : 21 seconde, White : 18 seconde, black : 22 seconde) indiqué par Khalil (2002a). Cependant, nos résultats pour la population locale et la souche synthétique entrent dans l'intervalle de variation (entre 5 et 300 secondes) énoncé par Alvarino (1993). La variation dans la libido a été déjà citée dans la littérature. En effet, cette dernière varie en fonction de plusieurs paramètres parmi lesquels, la saison a l'effet le plus important. Plusieurs auteurs ont souligné que les températures estivales élevées pourraient avoir un effet dépressif sur la concentration de la testostérone ce qui induirait une augmentation du temps de la libido (Boiti et al., 1992 ; El Masry et al., 1994).

Type génétique des lapins mâles.....

.....Effet sur la présence ou non du gel

Lors de notre étude nous avons fait sortir un taux d'éjaculat présentant du gel, d'une moyenne de 40,24% pour la population locale et de 25,27% pour la souche synthétique. Le taux pour la population locale est plus élevé que celui rapporté par Boulbina (2011) et qui se situe en moyenne à 35,6% pour cette même population ainsi que pour d'autres résultats rapportés par la bibliographie, tel que pour le type génétique Néo-Zélandaise Blanche (27% ; Roca *et al.*, 1993). Par contre, pour la souche synthétique, le taux de présence de gel est beaucoup plus faible par rapport à celui de la population locale et se rapproche plus de celui des lignées sélectionnées sur la croissance C et R (22,8% ; Garcia-Thomas *et al.*, 2006b).

Par ailleurs, tel que signalé par Holtz et Foote (1978) et Garcia-Thomas *et al.* (2006a), nos résultats montrent que la proportion des éjaculats avec un gel est très élevée dans le premier éjaculat comparé au second et cela pour les deux types génétiques étudiés. Nos résultats (67,1% vs 10%) sont comparables à ceux de Boulbina (2011) (62% vs 8.6%) et ce, pour la même population. En revanche, ces derniers sont plus élevés comparés à ceux notés chez les lapins de la souche synthétique (55,4% vs 23,2%). Cette différence entre la présence du gel dans l'éjaculat pourrait être expliquée par l'effet type génétique. Il est à signaler que la présence du gel constitue une manipulation supplémentaire lors de l'analyse de la semence avant une insémination artificielle. Cependant, dans les conditions naturelles lors d'une saillie naturelle ce gel constitue un bouchon au niveau du vagin de la lapine pour éviter le reflux du sperme après l'accouplement (Alvarino, 1993).

Le volume d'éjaculats des mâles.....

.....absence d'effet type génétique

Pendant notre expérimentation, le volume total collecté pour la population locale a été estimé à 1,75ml et 1,88 ml pour la souche synthétique. Nos résultats montrent un volume total légèrement supérieur pour la souche synthétique comparativement à celui relevé chez la population locale. Ces résultats sont supérieurs à ceux relevés chez différentes type génétiques (Californienne, Néo-Zélandaise Blanche et Chinchilla du Mexique) âgées entre 8 et 12 mois d'âge (1,15 ml) (Salcedo-Baca *et al.*, 2004). Par ailleurs, chez les lapins hybrides, âgés entre 3 et 18 mois, le volume moyen du sperme est de 0,92 ml (Roca *et al.*, 2005). Selon Demerci

(1994) le volume de l'éjaculat varie entre 0,1 à 3 ml chez les lapins matures ce qui place nos deux types génétiques dans cette fourchette.

Le volume moyen sans gel prélevé respectivement pour la population locale et la souche synthétique est de 0,84, ml et 0,79 ml. Contrairement, au volume total, le volume sans gel estimé pour la population locale est supérieur à celui de la souche synthétique. Le type génétique Néo-Zélandaise Blanche enregistre un volume de 0,49 ml, nettement inférieur à nos deux types génétiques étudiés. Aussi la souche Egyptienne Baladi noir et la souche INRA 1077 présentent respectivement un volume inférieur, 0,7 ml et 0,79 ml (Safaa *et al.*, 2008 ; Bencheikh, 1995). Il est à noter que le volume total de la semence varie en fonction du type génétique du lapin (Brun et al 2002a). Nos résultats sont en contradictions avec ceux de ces derniers auteurs. Ceci pourrait être lié à une courte durée d'expérimentation (5 semaines) et une étude sur une période plus longue pourrait probablement dévoiler un effet significatif.

Le pH de la semence...

...Résultats comparables entre les deux types génétiques

Le pH de la semence récolté à partir de la population locale a été estimé à 7,70 et celui de la semence récolté à partir de la souche synthétique a été estimé à 7,59. On n'a pas noté une différence très importante lors de l'estimation du pH pour les deux types génétiques étudiés. Une grande variabilité du pH du sperme du lapin est révélée par les données de la littérature et entre les différentes souches et type génétiques étudiées (de 6,94 à 7,63) (Garcia-Thomas *et al.*, 2002a ; Brun *et al.*, 2009).

La motilité des spermatozoïdes ...

...différente pour la massale et comparable pour l'individuelle

Durant notre analyse de la motilité massale, nous avons noté un score de 7,45 pour la population locale et 5,58 pour la souche synthétique. Ces résultats montrent un avantage pour la population locale, cela va dans le même sens concernant les résultats observés par Boulbina (2011) pour cette même population (5,9), et dépassant celles observées par plusieurs auteurs (Safaa *et al.*, 2008 ; Theau-clement *et al.*, 2009). Il en est de même pour la motilité individuelle où les scores observés sont respectivement de 2,51 et de 2,23 pour la population locale et la souche synthétique, avec un léger avantage pour la population locale.

La différence noté en faveur de la population locale pour la motilité massale et individuelle peut être due à des concentrations différentes des éjaculats en spermatozoïdes car celle-ci est positivement corrélée à la motilité des spermatozoïdes (Roca *et al.*, 1993).

Les caractéristiques cinétiques de la semence.....

.....variables en fonction des lapins

Concernant la VCL, LIN, WOB et ALH, nous n'avons noté aucune différence significative entre les deux groupes expérimentaux. Cependant, nos résultats sont comparables à ceux relevés par Safaa *et al.* (2008) uniquement pour le premier paramètre. Par contre la VSL, STR, VAP et BCF ont montré une différence significative entre la population locale et la souche synthétique. La population locale a montré de meilleurs résultats pour les trois premiers paramètres et seul la BCF, était moins élevée chez cette dernière. A notre connaissance, peu de travaux ont étudié la qualité de la semence en fonction des différentes races et souches de lapins et en utilisant le système CASA, ce qui rend la discussion de ces paramètres difficile.

La concentration en spermatozoïdes...

...meilleur résultat chez la population locale

Dans nos conditions expérimentales, la concentration spermatique par éjaculat est de $498,80 \times 10^6$ spermatozoïdes pour la population locale et de $322,64 \times 10^6$ spermatozoïdes pour la souche synthétique. Ces résultats montrent un écart en faveur de la population locale. Nos résultats sont comparables à ceux enregistrés par Boulbina (2011) sur la même population (497×10^6 spermatozoïdes/éjaculat). De même, elles se rapprochent de celles retrouvées chez différents génotypes du lapin (Brun *et al.*, 2006 ; Benchikh, 1995 ; Safaa *et al.*, 2008). Néanmoins, des concentrations nettement plus faibles par rapport à nos résultats de l'ordre de 243×10^6 / spermatozoïdes par éjaculat sont révélées chez des différentes souches sélectionnées par l'INRA (1077 ; 2066 ; 2666 et 1001) (Theau-Clément *et al.*, 2003 ; Brun *et al.*, 2009). Les faibles valeurs enregistrées chez les lapins de souche synthétique pourraient être liées à la sensibilité de cette dernière vis-à-vis des grandes chaleurs enregistrées dans le cas de notre étude (31°C). En effet, des auteurs ont montré que les grandes chaleurs estivales peuvent avoir un effet négatif sur le nombre de spermatozoïdes produits par éjaculat (Safaa *et*

al., 2008 ; Theau-clement *et al.*, 2009), et cela serait lié à la dégénérescence de l'épithélium germinatif et à l'atrophie des tubes séminifères (Marais *et al.*, 1991).

La viabilité des spermatozoïdes...

...différence non significative entre les deux types génétiques

Le taux de viabilité exprimé lors de nos conditions expérimentales, révèle un résultat comparable entre la population locale (62,45%) et la souche synthétique (57,49%). Boulbina (2011) rapporte que le taux de viabilité de la population locale (63,5%) est faible comparativement à celui rapporté par différentes études (Bencheikh, 1995 ; Khalil, 2002a ; Salcedo-baca *et al.*, 2004 ; Garcia-Tomas *et al.*, 2006b ; Safaa *et al.*, 2008). L'augmentation du taux de spermatozoïdes morts pourrait s'expliquer par la dépréciation de la fonction épидидymaire contrôlée par la testostérone, elle-même affectée par la chaleur de la saison estivale (Marai *et al.*, 2002).

Le pourcentage d'anomalies...

...absence d'effet type génétique

Dans nos conditions expérimentales, le taux de présence d'anomalies totales dans la semence de la souche synthétique est inférieur (35,13%) à celui de la population locale (38,37%). Cette différence n'est pas significative. Ce résultat (pour les deux types génétiques) est plus élevé par rapport à celui rencontré chez la race Néo-Zélandaise Blanche en moyenne 24,3%. De même, nos résultats restent supérieurs aux valeurs rapportées par la littérature (entre 11,6 et 30,5%) (Khalil, 2002b ; Safaa *et al.*, 2008 ; Garcia-Tomas *et al.*, 2006a).

De tels résultats pourraient être liés à des défauts de la fonction de spermatogenèse, particulièrement aux derniers stades, durant lesquels s'effectue la différenciation des spermatides en spermatozoïdes elle-même affectée par la température élevée durant la saison estivale (Marai *et al.*, 1991).

A l'issu de notre expérimentation, qui a pour objectif de comparer les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de la semence entre les lapins de la population locale et celle de souche synthétique, nous pouvons conclure que :

Globalement, le nombre d'éjaculats récolté au cours de l'expérimentation était plus élevé chez les lapins de souche synthétique. Cependant, il reste inférieur comparé aux données citées dans la littérature.

Les caractéristiques macroscopiques de la semence (couleur, pH et volume) étaient comparables entre les lapins males de population locale et de souche synthétique.

Par ailleurs, concernant les caractéristiques microscopiques, nous avons noté une variation entre les deux types génétiques des lapins étudiés. En effet, la motilité massale et la concentration sont plus élevées chez les lapins de population locale. Aussi, certains paramètres cinétiques de la semence ont varié selon le type génétique de lapins étudiés.

Le pourcentage de viabilité et d'anomalies des spermatozoïdes était comparable entre les groupes expérimentaux et variable par rapport aux valeurs retrouvées dans la littérature sur différentes populations et races du lapin.

Enfin, les différences enregistrées dans la qualité de la semence entre les lapins de population locale et de souche synthétique, malgré qu'elles ne soient pas très importantes pourraient être liées en partie au facteur génétique. En effet, plusieurs études ont montré que le croisement génétique pourrait modifier la qualité de la semence jusqu'à atteindre 30% de variation entre les différents types génétiques du lapin.

Ce travail constitue une étude préliminaire pour caractériser la qualité de la semence du lapin de la population locale et de la souche synthétique. Les conclusions auxquelles nous avons abouti, nous amènent à l'identification de plusieurs axes de recherche. A ce propos plusieurs paramètres importants seraient à développer :

-Une caractérisation complète de la semence, en fonction de ses facteurs de variation à savoir l'effet saison, alimentation, âge et rythme de récolte sur des effectifs plus importants, serait intéressante à mettre en place.

-L'application de l'insémination artificielle après avoir caractérisé la qualité de la semence semble primordiale afin d'améliorer la production cunicole.

A

- Abdel-Ghaffar A.E., El-Azab A.I., et El-Dawy K.H., 1994. Rabbit semen metabolism. Options Méditerranéennes, série A "Séminaires méditerranéens", N° 8, 305-312.
- Alvarino M.R., 1993. Control de la reproducción en el conejo. 1^{ère} éd., IRYDA, Mundi-Prensa, 137 p.
- Alvarino M.R., 2000. Reproductive performance of male rabbits. 7th World Rabbit Congress, 4-7 juillet, Valencia (Spain), 28.
- Amann R.P., Lambiase J.T., 1967. The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. Journal of Reproduction and Fertility, 14 : 329-332.
- Amann R.P., 1970. Sperm production rates. In Johoson A.D., Gomes W.R., ET VanDemark N.L., (Ed.) The Testis, Acade. Pres., New York, 1: 433.
- Arencibia Arrebola D.F., et Rosario Fernandez L.A., 2009. Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de Conejos aplicado en estiduos de toxicologia de la fertilidad. Redvet Revista Electronica Veterinaria , 8 (10) : 1-18.
- Arroita Z., Falceto M.V., Martin Rillo S., De Alba C., Moreno C., Ciudad M.J., et Rafel O., 2000. Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen. 7th World Rabbit Congress, 4-7 Juillet, Valencia (Spain), 6 p.

B

- Bamba K., 1988. Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin-nigrosin stain. Theriogenology, 29: 1245-1251.
- Baril G., Chemineau P., Cognie Y., Guérin Y., Leboeuf B., Orgeur P., et Vallet J.C., 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO, Romme (Italie), 231 p.
- Barone R., Pavaux C., Blin P.C., Cuq P. (1973): Atlas of Rabbit Anatomy.
- Barone R., 2001. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: Splanchnologie II, Ed. Vigot, 920 p.
- Bedford J.M., 1963. Morphological changes in rabbit spermatozoa during passage through the epididymis. Journal of Reproduction and Fertility, 5: 169-177.
- Bedford JM., 1967. Effects of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbit. J. of Exp. Zoo. 163: 271-281.
- Belhadi S., 2004. Characterization of local rabbit performance. 8th World Rabbit Congress. Puebla (Mexico), September, 2004, 218-223.
- Berchiche M., Kadi S.A., et Lounaouci G., 2000. Elevage rationnel du lapin de population

- locale : Alimentation, croissance et rendement à l'abattage. 3^{èmes} Journées de Recherche sur les Productions Animales : « Conduite et performance de l'élevage »Tizi-Ouzou. 13, 14, 15 Novembre, 293-298.
- Berger M., Jean-Faucher Ch., De Turckheim M., Veyssiere G., et Jean C.I., 1982. La maturation sexuelle du lapin mâle. 3^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 8 et 9 décembre 1982, Paris, 1-11.
- Bodnar K., Torok I., Hejel P., et Bodnar E., 1996. Preliminary study on the effect of éjaculation frequency on some characteristics of rabbit semen. 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2: 41-44.
- Boiti C., Castellini C., Theau-Clément M., Besenfelder U., Liguori L., Renieri T., et Pizzi F., 2005. Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. World Rabbit Science, 13 : 71-91.
- Born C., Castellini C., Théau-Clément M., Besenfelder U., Renieri T., et Pizzi F., 2005. Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. World Rabbit Science, 13 : 71-91.
- Boulbina I., 2011. Caractérisation de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*). Thèse de magistère, Ecole Supérieure Vétérinaire d'Alger.
- Boussit D., 1989. Reproduction et insémination artificielle en Cuniculture. Association Française de Cuniculture, Ed. Lempdes France, 234 p.
- Britan A., 2006. Développement, optimisation et utilisation d'un système cellulaire de l'épithélium épидидymaire murin: Approches moléculaire. Thèse Doctorat, Ecole des Sciences de la vie et de la sant. Université Blaise Pascal d'Auvergne : 83p.
- Brun J.M., Theau-Clément M., et Bolet G., 2002a. Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. Anim. Res., 51: 433-442.
- Brun J.M., Theau-Clément M., et Bolet G., 2002b. The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insémination. Animal Reproduction Science, 70 : 139-149.
- Brun J.M., Theau-Clément M., Esparbié J., Falières J., Saleil G., Larzul C., 2006. Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63d body weight. Theriogenology, 66 : 2165-2172.
- Brun J.M., Sanchez A., Duzert R., Saleil G., Theau-Clément M., 2009. Paramètres génétiques des caractéristiques de la semence de lapin. 13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 Novembre 2009, Le Mans (France), 4 p.
- Bunaciu P., Cimpeanu I., Bunaciu M., 1996. Mating frequency effect on spermatogenesis and

performance of breeding rabbits. 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2 : 51-54.

C

Cabannes C.R., 2008. Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 107 p.

Cardinali R., Dal Blasco A., Mourvaki E., Del Vecchio M.T., Sartini B., Renieri T., Lasagna E., et Castellini C., 2007. Rabbit sperm particles: secretion pattern and main effect in the sperm functions. *J. Sub. Cytol. Pathol.* 39 : 3-10.

Crimella C., Luxi F., et Grilli G., 1992. The reproductive efficiency of the bucks in different genotypes. *J. App. Rabbit. Res.* 15: 480-488.

Castellini C., 1996. Recent advances in rabbit artificial insemination. 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2: 13-26.

Castellini C., Lattaioli P., et Bernardini M., 1999. Effect of dietary supplementation with atocopheryl acetate and ascorbic acid on qualitative characteristics and fertilizing ability of rabbit semen. *World Rabbit Science*, 7 (4): 217-220.

Castellini C., 2008. Semen production and management of rabbit bucks. 9th World Rabbit Congress, 10-13 June 2008, Verona (Italy), 265-277.

D

Ducci M., Gazzano A., Villani C., Cela V., Artini P.G., Matelli F., et Genazzani R., 2002. Membrane integrity evaluation in rabbit spermatozoa. *Eur. J Obst and Gynecol. Reprod. Biol.* 102: 53-56.

E

Eddy E.M., Toshimori K., et O'Brien D.A., 2003. Fibrous sheath of mammalian spermatozoa *Microsc. Res. Tech.* 61, 103-115.

Egea de Prado D., 1993. Fisiología de la reproducción en el conejo doméstico. *Boletín de cunicultura*, N° 69, septembre-octobre 1993, p. 44-49.

El-Fouly M.A., Amin S.O., EL-Sobhy H.E., et El-Sherbiny A.M., 1987. Effect of breed and season on some Chemical characteristics of rabbit semen. In : *Proceeding of the 1st Conf. Agric. Develop. Res.*, 1: 68-77.

El-Masry K.A., Nasr A.S., et Kamal T.H., 1994. Influences of season and dietary supplementation with sélénium and vitamin E or Zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males. *World Rabbit Science*, 2 (3) : 79-86.

Esther van Praag, 2003 Endometritis, Orchitis and Pyometra. MediRabbit

F

Farrell P.B., Foote R.H., Simkin M.E., Clegg E.D., et Wal R.J., 1993. Relationship of semen quality, number of sperm inseminated and fertility in rabbits. *J. Androl.* 14: 464-471.

Finzi A., 1990. Recherches pour la sélection de souches de lapins thermotolérants. Options méditerranéennes, série A ", Séminaires méditerranéens", N° 8, 41-45.

Foxcroft G.R., Dyck M.K., Ruiz-Sanshez A., Novak S., et Dixon WT., 2008. Identifying usable semen. *Theriogenology*, 70, 1324-1336.

G

Gaddum P., 1968. Sperm maturation in male reproductive tract. Development of mortality. *Anatom. Rec.* 161 (4), 471-482.

Gacem M., et Bolet G., 2005. Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche européenne. 7^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 Novembre, Paris, 15-18.

Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., et Bolet G., 2009. Comparaison des performances de reproduction d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie", 13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, (17-18 Novembre), Le Mans, France.

Garcia-Tomas M., Sanchez J., Rafel O., Ramon J., et Piles M., 2006a. Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. *Livestock Science*, 100: 111-120.

Garcia-Tomas M., Sánchez J., Rafel O., Ramon J., et Piles M., 2006b. Reproductive performance of crossbred and pure bred male rabbits. *Livestock Science*, 104: 233-243.

Garcia-Tomas M., Sanchez J., et Piles M., 2009. Post-natal sexual development of testis and epididymis in the rabbit: variability and relationships among macroscopic and microscopic markers. *Animal Reproduction*, 110: 347-355.

Gogol P., Bochenek M., et Smorag Z., 2002. Effect of rabbit age on sperm chromatin structure. *Reproduction Domestic Animals*, 37: 92- 95.

H

Hagen D.R., Gillkey A.L., et Foote R.H., 2002. Spermatozoal velocity and motility and relationship to fertility in the rabbit inseminated with low sperm number. *World Rabbit Science*, 10 (4): 135-140.

Hanzen CH., 2009. La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants. Année : 2008-2009, 21 p.

Hassanien H.H.M., et Baiomy Baiomy A.A., 2011. Effect of breed and parity on growth performance, litter size, litter weight, conception rate semen characteristic of medium size rabbits in hot climates. EPSA, 31 (1).

Holtz W., et Foote R.H., 1978. The anatomy of the reproductive system in male dutch rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with spécial emphasis on the accessory sex glands. Journal of Morphology, 158 : 1-20.

Holtz W., et Foote R.H., 1978b. Composition of rabbit semen and the origin of several constituents. Biology of Reproduction, 18 : 286-292.

J

Joly T., et Theau-Clément M., 2000. Reproduction et physiologie de la reproduction au 3^{ème} Congrès Mondial de Cuniculture. A.S.F.C. Journée du 5 Décembre 2000, Valencia 2000 "Ombres et lumières", thème "Reproduction", p. 19-24.

K

Kasa I.W., et Thwaites C.J., 1992. Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8 hours or either 1 or 5 days. J. Appl. Rabbit. Res., 15: 560-586.

Khalil M.H., 2002a. The Giza White Rabbits (Egypt). Options Méditerranéennes, série B "Etudes et Recherches", N° 38, p. 27-36.

Khalil M.H., 2002b. The Baladi Rabbits (Egypt). Options Méditerranéennes, série B "Etudes et Recherches", N° 38, p. 41-50.

L

Lazzaroni C., 2002. The Carmagnola Grey Rabbit (Italy). Options Méditerranéennes, série B "Etudes et Recherches", N° 38, p. 145-150.

Le Moigne A., et Foucrier J., 2009. Biologie du Développement. 7^{ème} Edition, DUNOD Inc : 41P.

Lebas F., 1994. Physiologie de la reproduction chez la lapine. Journée AERA-ASFC « la reproduction chez le lapin », 2-11.

Lebas F., 2009. Biologie du lapin. <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbioI.htm>.

López J., Alvarino J.M.R., Del Arco J.A., Bueno A., et Sanz C., 1996. Effect of male rabbit management on semen production. 6th World rabbit congress, Toulouse (France), 2: 83-86.

Luzi F., Maertens L., Mijten P., Pizzi F., 1996. Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. 6th World Rabbit Congress,

Toulouse (France), 2 : 87-92.

M

- Macari M., et Machado C. R., 1978. Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of the semen. *Laboratory Animals*, 12 : 37-39.
- Mann P.R., et Parsons U., 1950. Studies on the metabolism of semen. 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and seminal fructose. *Biochemical Journal*, 46: 440.
- Marai I.F.M., Abdel-Samee A.M., et El-Gaafary M.N., 1991. Criteria of response and adaptation to high temperature for reproductive and growth traits in rabbits. *Options méditerranéennes, série A "Séminaires méditerranéens"*, 17 : 127-134.
- Marai I.F.M., Habeeb A.A.M., et Gad A.E., 2002a. Rabbits productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science*, 78 : 71-90.
- Marai I.F.M., Habeeb A.A.M., et Gad A.E., 2002b. Reproductive traits of male rabbits as affected by climatic conditions, in the subtropical environment of Egypt. *Animal Science*, 75 : 451-458.
- Mocé E., Lavara R., Lavara F., et Vicente J.S, 2000. Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. 7th World Rabbit Congress, 4-7 Juillet, Valencia (Spain), 6 p.
- Mocé E., et Graham J.K., 2008. In vitro evaluation of sperm quality. *Anim. Reprod. Sci.* 105 : 104-118.
- Morin-Ganet, 2006. www.genie-bio.ac-versailles.fr/IMG Cours La régulation des hormones males (Consulté le : 18/09/2017)
- Muller Y., et Clos J., 1997. La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris : 9-31.

N

- Nezzar N., 2007. Caractérisation morphologiques du lapin local. Mémoire de Magister en Sciences Vétérinaire, option Anatomie Vétérinaire, Université El Haj Lakhdar, Batna, 104P.
- Nizza N., Di Meo C., et Taranto S., 2000a. Influence of dietary content on libido and semen characteristics bucks. 7th World Rabbit Congress, 4-7 Juillet, Valencia, Spain.
- Nizza N., Di Meo C., et Taranto S., 2000b. Effect of lysine and methionine on libido and semen characteristics of bucks. *World Rabbit Science*, 8: 181-184.

Nizza A., Di Meo C., Taranto S., et Stanco G., 2001. Effect of collection frequency on rabbit semen production. *World Rabbit Science*, 10 (2): 49-52.

Nizza A., Di Meo C., et Taranto S., 2003. Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. *Reproduction of Domestic Animals*, 38 : 436.

O

Olson G.E., Nagdas S.K., et Winfrey V.P., 2002. Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J. Androl.* 6: 20-34.

Orgebin-Crist M.C., 1968. Gonadal and epididymal sperm reserves in the rabbit : estimation of the daily sperm production. *Journal of Reproduction and Fertility*, 15 : 15-25.

P

Panella F., et Castellini C., 1990. Fattori ambientali e genetici che influiscono sulle caratteristiche del seme di coniglio. *Riv. Coniglic*, 8 : 39-41.

Posière S.C.G.J., 2002. Récolte de la semence de chat (*Felis catus*) par électro-éjaculation et par dissection de l'épididyme (comparaison des méthodes, essai de cryoconservation avec un dilueur canin). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 95 p.

Q

Quiles A., et Hevia M.L., 2000. Bases fisioloógicas de la reproducción en cunicultura. *Agricultura : Revista agropecuaria*. N° 814, p. 270-273.

R

Riar S.S., Setty B.S., et Kar A.B., 1973. Studies on the physiology and biochemistry of mammalian epididymis : Biochemical composition of epididymis. A comparative study. *Fertility and Sterility*, 24: 355-363.

Roca T., Casas J., et De Gracia J., 1993. Efecto de los factores ambientales sobre las características del semen de conejo. *Boletín de cunicultura*, N° 70, 4 p.

Rodriguez-De Lara R., Fallas-López M., Rangel-Santos R., Mariscal-Aguayo V., Martínez-Hernández P.A., et García Muñiz J.G., 2008. Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits. 8th World Rabbit Congress, 10-13 June, Verona- Italy, p. 443-448.

S

Sabbagh M., 1983. Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus Cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période

d'adaptation au stress thermique. Thèse de Docteur Vétérinaire, Université de Dakar, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires, 113 p.

Safaa H.M., Emarah M.E., et Saleh N.F.A., 2008. Seasonal effects on semen quality in Black Baladi and White New Zealand rabbit bucks .World Rabbit Science, 16 : 13-20.

Salcedo-Baca R., Pichardo-Reyes M., et Echagaray-Torres J.L., 2004. Buck semen characteristics from a Mexican population of the Californian, White New Zealand, and Chinchilla breeds. 8th World Rabbit Congress, 7-10 septembre 2004, Puebla (Mexico),

T

Tash J.S., et Bracho G.E., 1998. Identification of phosphoproteins coupled to initiation of motility in live epididymal mouse sperm. Biochem. Biophys. Res. Commun. 251: 557-563.

Theau-Clement M., Thébault R.G., Bolet G., et De Rochambeau H., 1991. La reproduction du lapin Angora de souche Française : Ovulation chez la femelle, production de semence chez le mâle. Reproduction Nutrition and Development, 31 : 667-673.

Theau-Clement M., Lattaioli P., Roustan A., Castellini C. 1996a. A comparison between computerised semen image analyses and visual methods to evaluate various biological parameters in rabbit semen. 6th World Rabbit Congress, Toulouse 1996, Vol 2, 133-137.

Theau-Clement M., Delhomme G., Valteau C., Rideud P., et Falières G., 2003. Influence du nombre de spermatozoïdes inséminés sur les performances de reproduction des lapines en fonction de leur état physiologique. 10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 Novembre 2003, Paris.

Theau-Clement M., Sanchez A., Duzert R., Saleil G., Brun J.M., 2009. Etude de facteurs de variation de production spermatique chez le lapin. 13^{ème} journée de la recherche cunicole, 17-18 novembre 2009, Le mans, France.

Thibault C., et Levasseur M.C., 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA, Editions, 928p.

V

Vaissaire J.P., 1995. Lapin et rongeurs : normes physiologiques, hématologiques et biochimiques, alimentation, In : Pathologie du lapin et des rongeurs domestiques, 2^{ème} Ed, Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, Maison-Alfort : 21 : 35.

Vicente J.S., Viudes De Castro M.P., Lavara R., et Lavara F., 2000. Effect in male line on prolificacy from does insemination with low sperm does. 7th World Rabbit Congress,

4-7 Juillet, Valancia, Spain.

Virage G.Y., Mézes M., et Bersény A., 1992. Effect of independent factors on semen characteristics in rabbit. *J. App. Rabbit. Res.* 15: 499-504.

W

Wrobel K.H., 1990. Male reproduction system. In: *Textbook of Veterinary Histology*, 2^{ème} Ed: 226-243.

Y

Yanagimachi R., 1994. *Mammalian Fertilization*. 2nd Ed. Raven Press, New York, NY, USA.

Z

Zerrouki N., Bolet G., Berchiche M., et Lebas F., 2005a. Evaluation of breeding performance of local Algerian rabbit population raised in the Tizi-Ouzou area (Kabylia). *World Rabbit Science*, 2005, 13: 29-37.

Zerrouki N., Kadi S.A., Berchiche M., et Bolet G., 2005b. Evaluation de la productivité des lapines d'une population locale Algérienne, en station expérimentale et dans des élevages. 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. 29-30 Novembre, Paris, 11-14.

Zerrouki N., Lebas F., Gacem M., Meftah I., et Bolet, G., 2014. Reproduction performances of a synthetic rabbit line and rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations", *World Rabbit Science*, V.22, 269-278.