



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Evaluation de la qualité spermatique chez l'espèce caprine et fertilité des Saanen et Alpine dans la région de Akbou (Bejaia).

Présenté par
ABED TAOUS

Soutenu le 18 /07/2019

Devant le jury :

Président(e) :	YAHIMI A	MCB	ISV B
Examineur :	YAHIA A	MCA	ISV B
Promoteur :	BESBACI M	MCB	ISV B
Co-promoteur :	BELABDI B	MAA	ISV B

Année :2018/2019

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Résumé

Chapitre I : Fonction de la reproduction chez le bouc.	10
1. Les testicules.	10
2. Les voies spermatiques.	10
2.1. Les tubes séminifères.	10
2.2. Epididyme.	11
2.3. Le canal défèrent.	12
3. Les glandes annexes.	12
3.1. Rôles et propriétés des glandes annexes chez le bouc.	12
4. Les spermatozoïdes	13
5. Durée et productivité de la spermatogénèse.	15
Chapitre II : Collecte de la semence.	17
1. Méthodes de récolte de sperme.	18
1.1. Réalisation de la collecte à l'aide du vagin artificiel.	18
1.1.1. Le vagin artificiel.	18
1.1.2. Entraînement des mâles pour la collecte.	20
1.1.3. La récolte par électroéjaculation.	18
Chapitre III : Contrôle de la semence.	22
1. Examens macroscopiques.	22
1.1. Volume.	22
1.2. La couleur du sperme.	22
1.3. La consistance et l'aspect du sperme.	22
1.4. Le pH	23
2. Examen macroscopique du sperme.	23

2.1. La concentration.	23
2.1.1. Appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculation.	24
2.1.2. Le comptage direct par hématimètre.	25
2.1.3. La spectrophotométrie.	25
2.2. La motilité.	25
2.2.1. La motilité massale.	27
2.2.2. La motilité individuelle des spermatozoïdes	27
3.Examen morphologique	27
3.1. Coloration totale.	28
3.2. Coloration vitale.	28
3.3. Examen bactérie-virologique.	29
3.4.1. Test de fructolyse.	29
3.4.2. La réduction du bleu de méthylène.	29
3.4.3. La thermorésistance .	29
4.Relations entre la qualité de la semence et sa fertilité.	30
Chapitre IV : Conservation de la semence.	31
1-L'enzyme de coagulation du jaune d'œuf (EYCE).	31
2.La protéine SBU III.	31
3-Plasma séminal et lavage du sperme.	32
3.1- Le lavage de la semence du bouc.	32
4.Techniques de conservation de la semence.	32
4.1- La dilution de la semence.	32
4.2- L'effet bénéfique du jaune d'œuf.	33
4.3. L'effet bénéfique du lait.	33
4.3. L'effet bénéfique du lait.	34
5.Conditionnement de la semence.	35
6.La cryoconservation de la semence.	36
6.1. Principe.	36
6.2. Les agents cryoprotecteurs.	37
Chapitre V : Insémination artificielle.	37
1.Les avantages de l'insémination artificielle.	37

1.1. Avantage génétique.	37
1.2. Avantage sanitaire.	37
1.3. Avantages techniques.	38
2.Inconvénients et limites de l'IA.	38
3.facteurs influant la réussite de l'insémination artificielle.	38
3.1. Facteurs intrinsèques liés au mâle.	38
3.1.2. Facteurs intrinsèques liés à la femelle.	39
3.2. Facteurs extrinsèques.	39
3.2.1. Facteurs liés à l'insémination.	39
V. La partie expérimentale.	41
1.Objectif.	41
Partie I : Analyses de la semence congelée.	41
1.Matériel et méthodes.	41
1.1. Matériel.	41
1.1.1. Matériel biologique.	41
1.1.2. Matériel de laboratoire.	41
2.Méthodes.	42
2.1. Méthode de décongélation de la semence.	42
3.Examen macroscopique de la semence.	43
3.1. Evaluation de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes.	43
3.2. Evaluation de la vitalité des spermatozoïdes par la coloration à l'éosine -nigrosine.	45
4.Analyse des résultats.	46
5. Résultats et discussion.	47
5.1. Motilité.	47
5.2. Pourcentage des spermatozoïdes motiles.	51
6. Analyse statistique des résultats obtenus par le CASA	55
6.1. La vitalité de la semence après dégel	55
6.2.La concentration de la semence après dégel	56
6.3. Analyse statistique des résultats de la progression des spermatozoïdes	57
6.4. Analyse statistique de la motilité progressive individuelle	60

Partie II : Fertilité des femelles inséminées avec la semence congelée.	64
1. Matériel.	64
1.1. La semence de boucs de deux races (Saanen et Alpine).	64
1.2- La cuve d'azote pour le stockage et la conservation des paillettes.	64
1.3- Le pistolet d'insémination.	65
1.4. Autres matériels.	65
2. Technique de l'insémination artificielle.	65
2.1. Préparation de la paillette.	65
2.2. Préparation du spéculum et de la femelle.	56
2.3. Dépôt de la semence dans les voies génitales femelles.	66
3. Résultats et discussion.	67
4. Conclusion générale.	68
5. perspectives et recommandation.	69

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques de la semence de bouc et de sa production.	16
Tableau 2 : La description de la motilité massale des spermatozoïdes.	26
Tableau3 : représente la moyenne de VCL, VSL, VAP et STR en (um/s) et LIN en (%).	48
Tableau 4 : Fertilité des chèvres Saanen après insémination artificielle.	67
Tableau 5 : Fertilité des chèvres Alpines après insémination artificielle.	67
Tableau 6 : Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction du moment de retrait de l'éponge.	68

Liste des figures

Figure 1 : Structure histologique du tube séminifère.	10
Figure 2 : Structure du spermatozoïde.	14
Figure 3 : Vagins artificiels pour les petits ruminants.	18
Figure 4 : Différents types d'electroejaculateurs.	21
Figure 5 : Hématimètre : cellule de Malassez.	25
Figure 6 : Conditionnement de la semence.	34
Figure 7 : Congélation et stockage des paillettes.	36
Figure 8 : Le système CASA .	42
Figure 9 : matériel utilisé pour la réalisation des de la semence.	42
Figure 10 : Décongélation des paillettes dans un bain marie réglé sur 37° C.	43
Figure11 : Paillette de semence caprine (couleur blanc jaunâtre et aspect laiteux).	44
Figure 12 : représentant les différentes étapes de l'analyse de la motilité individuelle des spermatozoïdes : a, b, c, d).	45
Figure 13 :Les différentes étapes de l'analyse de la vitalité des spermatozoïdes.	46
Figure 14 : Une image qui représente un spermatozoïde coloré en rose (mort) et le reste qui sont non colorés (vivants).	46
Figure 15 : Graphe représentant le % la LIN de la semence des deux races Saanen et Alpine .	48
Figure 16 : Graphe représentant la VSL (um/s) de la semence des deux races Saanen et Alpine.	49
Figure 17 : Graphe représentant la VAP (um/s).	49
Figure 18 : Graphe représentant la VCL (um/s).	50
Figure 19 : Graphe représentant la STR.	50
Figure 20 : Taux de motilité des spermatozoïdes chez la race Saanen et Alpine.	51
Figure 21 : Moyenne des vitesses de progression des spermatozoïdes à l'examen de motilité individuelle de la semence (Alpine et Saanen).	52
Figure 22 : Vitalité des spermatozoïdes de la semence caprine des deux échantillons (races Alpine et Saanen).	53
Figure 23 : Concentrations du sperme des deux races Alpine et Saanen, mesurées par le système CASA.	54
Figure 24 : Analyse statistique du paramètre de la vitalité.	55

Figure 25 : Analyse statistique de la concentration du sperme après dégel.	56
Figure 26 : Taux de spermatozoïdes progressifs rapides.	57
Figure 27 : Taux de spermatozoïdes non progressifs.	58
Figure 28 : Taux de spermatozoïdes lents.	59
Figure 29 : Analyse statistique de VAP.	60
Figure 30 : Analyse statistique des résultats de la STR.	61
Figure 31 : Analyse statistique des résultats de la LIN.	62
Figure 32 : Analyse statistique de la VSL.	63
Figure 33 : Cuve d'azote.	65
Figure 34 : matériels d'insémination (de gauche à droite) : gaines d'insémination, le pistolet, le speculum et la source lumineuse).	66
Figure 35 : Réalisation de l'IA et dépôt de la semence (a : insertion de speculum et identification du col de l'utérus ; b et c : dépôt de la semence).	66

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de mon très cher grand –père et de mon oncle ABED Mahfoud .

A ma grand- mère que j’aime beaucoup .

A mes parents en témoignage de leur soutien et amour ; qui m’ont accompagnée dans tout ce que j’ai accompli jusque-là.

A ma sœur Djahida et mon frère Jugurtha qui ont toujours été fiers de moi.

A mon oncle Mouhand Said Abed, qui m’a toujours soutenue.

A mes deux amies qui ont été là pour moi comme deux étoiles scintillantes ; Siham AZZOUG et Tinhinan SAHIB.

A Docteur Ait Ouali Samir pour son soutien et tous les moyens qu’il a mis à ma disposition pour réaliser ce travail, vous êtes une source d’inspiration pour moi.

A Abeddrahim , pour sa patience son soutien et son aide.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d’études.

Je leur dédie ce modeste travail en témoignage de mon grand amour, mes sincères reconnaissances et ma gratitude infinie.

Remerciements

Je tiens à remercier les membres du jury, tout en espérant qu'ils trouveront les qualités de clarté et de motivation qu'ils attendent :

M YAHIMI A, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

M. YAHYA A, qui a accepté d'examiner ce travail.

C'est avec grand plaisir que je saisis l'occasion de la présentation de ce projet de fin d'étude, pour adresser mes vifs remerciements à toute l'équipe pédagogique de l'Institut des sciences vétérinaire de Blida(ISVB).

Monsieur BESBACI, pour son encadrement, sa disponibilité et sa gentillesse.

Ce travail a été rendu possible grâce aux équipements mis à ma disposition au laboratoire de biotechnologie de reproduction animale (LBRA) de l'INSVB.

Mes sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à Monsieur BELABDI B, pour son aide et ses conseils.

Et surtout, je saisis cette occasion pour remercier Docteur Ait Ouali Samir, qui a mis à ma disposition beaucoup de moyens pour l'élaboration de cette étude.

Résumé

Cette étude vise à évaluer la qualité spermatique chez l'espèce caprine des deux races Saanen et Alpine et fertilité des femelles inséminées avec la même semence dans la région de Akbou (wilaya de Bejaia) en suivant deux variantes à savoir le type des chaleurs et le moment de dépôt de la semence. Cette étude a porté sur 10 paillettes de chacune des races étudiées, qu'on a pu obtenir du CNIAAG, centre national d'insémination artificielle et de l'amélioration génétique de Baba Ali (Alger), afin d'étudier les paramètres spermatiques (la motilité, la vitalité et les différentes vitesses progressives des spermatozoïdes). Ensuite on a tenté d'évaluer l'efficacité de l'IA réalisée sur les chèvres en chaleurs synchronisées et sur les chèvres en chaleurs naturelles. 40 femelles partagées en deux lots, constitués chacun de 20 chèvres ont été exploitées, dont certaines sont soumises à un traitement progestatif et d'autres qui ont manifesté des chaleurs naturelles. Dans notre étude, l'insémination artificielle des chèvres, nous a permis d'obtenir un taux de fertilité faible mais encourageant qui est plus élevé chez l'Alpine que chez la Saanen et qui est respectivement de 42,30% et 24,13% sur chaleurs induites et 25% et 20% sur des chaleurs naturelles puis .Selon nos résultats, la concentration spermatique de la semence Alpine ainsi que les paramètres de progression des spermatozoïdes (la mobilité, la VSL, la VAP, la VCL, STR et LIN) sont plus satisfaisants que ceux de la semence Saanen.

Mots clés : sperme, chèvre, insémination artificielle, fertilité, synchronisation des chaleurs.

Abstract

This study aims to evaluate the sperm quality in the goat species of both Saanen and Alpine breeds and the fertility of females inseminated with the same semen in the Akbou region (wilaya of Bejaia) by following two variants, namely the type of heat and the time of seed deposition. This study included 10 straws of each of the breeds studied, which were obtained from CNIAAG, the national centre for artificial insemination and genetic improvement in Baba Ali (Algiers), in order to study the sperm parameters (motility, vitality and different progressive speeds of sperm). Then an attempt was made to evaluate the effectiveness of AI performed on synchronized heat goats and natural heat goats. 40 females divided into two batches, each consisting of 20 goats, some of which are subjected to a progestin treatment and others that have been exposed to natural heat. In our study, the artificial insemination of goats allowed us to obtain a low but encouraging fertility rate which is higher in the Alpine than in the Saanen and which is respectively 42.30% and 24.13% on induced heat and 25% and 20% on natural heat then. According to our results, the sperm concentration of Alpine semen and the sperm progression parameters (mobility, VSL, VAP, VCL, STR and LIN) are more satisfactory than those of Saanen semen.

Key words : sperm, goat, artificial insemination, fertility, heat synchronization.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نوعية الحيوانات المنوية في الماعز في كل من سلالات السانين والألبين وخصوبة الإناث اللواتي تم تلقيهن بنفس المني في منطقة أقبو (ولاية بجاية) حسب متغيرين هما نوع الشبق و وقت إيداع السائل المنوي. تضمنت هذه الدراسة 10 رقائق مجمدة من المني من كل من السلالات المدروسة، والتي تم الحصول عليها من CNIAAG، المركز الوطني للتلقيح الاصطناعي والتحسين الوراثي لبابا على (الجزائر العاصمة)، لدراسة العوامل المنوية (الحركة والحيوية والسرعات التقدمية المختلفة للحيوانات المنوية). ثم حاولنا تقييم فعالية التلقيح الاصطناعي المنجز على الماعز في الشبق المتزامن والماعز في الشبق الطبيعي. تم استغلال 40 إناث مقسمة إلى مجموعتين ، كل منهما يتكون من 20 من الماعز ، والتي يتعرض بعضها للعلاج بالبروجستيرون والبعض الآخر الذي أظهر ضيقا طبيعيا. في دراستنا هذه ، التلقيح الاصطناعي للماعز ، سمح لنا بالحصول على معدل خصوبة منخفض ولكنه مشجع أعلى في سلالة الألبين أكثر من السانين والذي هو على التوالي 30،42 ٪ و 13،24 ٪ في الشبق المتزامن و 25 ٪ و 20 ٪ في الضيق الطبيعي بعد ذلك. وفقا لنتائجنا ، فإن تركيز الحيوانات المنوية للمني في سلالة الألبين وكذلك متغيرات الحيوانات المنوية (قابلية الحركة ، VSL ، VAP ، VCL ، STR و LIN) أكثر مرضية من مني سلالة السانين .

الكلمات المفتاحية: السائل المنوي، الماعز، التلقيح الاصطناعي، الخصوبة، الشبق المتزامن.

Liste des abréviations

ALH : Amplitude of Head Déplacement.

BCF : Beat Cross Frequency.

CASA : Computer Assisted Sperm Analysis.

EYCE : Egg yolk coagulation enzyme.

GOT : Glutamic Oxaloacetic Transaminase.

IA : Insémination artificielle.

LDL : Low density lipoprotein.

LIN : Linéarité de la trajectoire curviligne.

Spz : spermatozoïde.

STR : Straightness.

VAP : average path velocity.

VCL : curvilinéaire velocity.

VSL : straight line velocity.

WOB : Wobble.

CNIAAG : Centre National d'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique.

DSP : Daily Sperm Production.

Introduction

Dans certaines régions dans le monde, la chèvre reste l'animal qui joue un rôle primordial dans l'alimentation des populations, et la valeur de la chèvre s'est avérée capitale, lors des grandes famines qui ont sévi récemment dans le monde et en particulier le continent africain (**Gourine, 1989**). En Algérie l'élevage caprin compte parmi les activités agricoles les plus traditionnelles associées à l'élevage ovin, cette population reste marginale et ne représente que 13% du cheptel national (**Fantazi, 2004**).

Avec une production de 1750000 tonne de viande et 2377000,000 millions litres de lait. L'Algérie ne couvre pas les besoins croissants de sa population. Cette situation qui a poussé l'état à importer des chèvres performantes (la Saanen, l'Alpine...etc.), sans pour autant tenir compte, des problèmes d'alimentation, et d'adaptabilité de ces animaux à l'égard des conditions de l'environnement, a fait que ces essais aboutissent à l'échec. La situation de la production caprine algérienne rend indispensable d'entamer un travail de renforcement de la filière et de son efficacité technico-économique, en se basant en premier lieu sur l'augmentation de la productivité numérique d'animaux de « bonne qualité génétique » par l'amélioration des performances de reproduction. À cet objectif l'insémination artificielle apparait comme solution pouvant aider à une meilleure maîtrise de la reproduction caprine. (**F.A.O, 2014**).

L'insémination est dépendante de deux caractères distincts : la fertilité de la femelle d'une part et la fécondance du mâle d'autre part. Les facteurs de variation de la réussite de l'insémination peuvent être spécifiques du mâle (âge, qualité de la semence. . .), de la femelle (âge, carrière. . .) ou communs aux deux sexes (année, saison). De plus, il s'ajoute les facteurs liés à ce type d'insémination (protocole de synchronisation, inséminateur, mode de préparation des paillettes).

Dans le présent travail nous nous sommes fixés comme objectif l'évaluation de la qualité spermatique chez l'espèce caprine des deux races Saanen et Alpine, et par la suite tenter de faire une corrélation avec les résultats de l'insémination artificielle des femelles avec la même semence dans la région de Akbou (Béjaia) en suivant deux variantes à savoir le type des chaleurs et le moment du dépôt de la semence.

Chapitre 01 : Fonction de la reproduction chez le bouc

1. Les testicules

Les testicules sont pourvus d'une fonction exocrine ou spermatique et d'une fonction endocrine (synthèse de l'androgène par les cellules de Leydig, synthèse d'oestrogènes, de l'Anti-Müllerian Hormone (AMH), de l'Androgen Binding Protein (ABP) et de l'inhibine par les cellules de Sertoli). Le testicule est recouvert par une membrane fibreuse, résistante, non élastique appelée albuginée (**Barone ,2001**).

2 Les voies spermatiques

2.1. Les tubes séminifères

Sont au nombre de deux à quatre par lobule. Ils s'entourent d'une lame basale délimitante contenant parfois des cellules myocytes contractiles. Leur paroi est constituée d'un épithélium stratifié, dont on cite deux types de cellules : les cellules de la lignée germinale et les cellules de Sertoli. L'espace inter lobulaire est occupé par des cellules endocrines isolées ou regroupées appelées cellules de Leydig (**Dadoune et Demoulin,2001**). (**Figure1**).



Figure 1 : Structure histologique du tube séminifère (**Albert et Jean, 2001**).

2.2.Epididyme

La paroi du canal épидидymaire est faite d'un épithélium pluristratifié entouré de fibres musculaires lisses à contraction péristaltique régulière (**Setchell et al ,1994**). Cette structure permet à l'épididyme d'accomplir deux principales fonction envers les spermatozoïdes :

-Le transport : le transit des spermatozoïdes à travers l'épididyme et sous dépendance de la diminution de la pression intra-luminale en allant vers la queue d'une part, et de la contraction des cellules musculaires de la paroi, d'autre part. Les spermatozoïdes sont d'abord transportés dans le liquide épидидymaire vers la queue de l'épididyme, où ils seront stockés jusqu'à l'éjaculation. Le transit se déroule sur 10à015 jours (**Goyal et Memon,2006**) ce transit des spermatozoïdes à travers l'épididyme est sous la dépendance de la diminution de la pression intra-luminale en allant vers la queue d'une part, et de la contraction des cellules musculaires de la paroi, d'autre part. Puis les spermatozoïdes peuvent survivre j'jusqu'à trois semaines dans la queue de l'épididyme (**Thibault et Levasseur ,2001**). A un temps donné, l'épididyme contient en moyenne 67% du stock des spermatozoïdes dont 73% d'entre eux sont réservés au niveau de la queue (**Ritar et al ,1992**).

-La maturation : cette fonction est assurée par les cellules épithéliale qui secrètent de nombreuses substances assurant la nutrition des spermatozoïdes, l'acquisition de leur mobilité (glycoprotéines, concentration de la carnitine plasmatique), et de leur pouvoir fécondant. La carniitine est transformée en acétylcarnitine utilisé comme substrat énergétique pour la mobilité spermatique (**Jeulin, Lewin ,1996**).

Les cellules épидидymaires produisent également un facteur décapacitant des spermatozoïdes qui empêche l'expression prématuré de leur pouvoir fécondant (**Dacheux F,Dacheux J-L ,2001**) .

❖ Acquisition de la fécondance :

L'épididyme est l'organe où les spermatozoïdes passent après leur voyage dans les canaux efférents du testicule. Quand les spermatozoïdes sortent de ces canaux, ils sont immobiles et non fertiles ; le passage à travers l'épididyme va les rendre mobiles et fertiles, les transformant ainsi en spermatozoïdes matures. L'épididyme accomplir deux principales fonctions envers les spermatozoïdes.

2.3.Le canal défèrent

Il joue, en plus de son rôle de voie spermatique, un rôle physiologique assez semblable à celui du canal épидидymaire **(Drion et al, 1993)**.

3.Les glandes annexes

Les glandes annexes secrètent, sous l'effet des androgènes, des substances nécessaires à la survie des spermatozoïdes **(Vaissaire ,1977)**.

Les vésicules séminales sont la source de substrats énergétiques des spermatozoïdes et de protéines de nature diverses. Chez le bouc leurs sécrétions sont riches en fructose, acide citrique et contiennent également des prostaglandines **(Dacheux F, Dacheux J-L,2001)**.

Les produits de sécrétions prostatiques sont riches en ions de zinc, en acide citrique et en protéines à activité protéasique.

Les glandes de Cowper émettant un fluide clair et visqueux qui sert comme un lubrifiant **(Dacheux F, Dacheux J-L,2001)**.

3.1 .Rôles et propriétés des glandes annexes chez le bouc

Aux voies spermatiques se lient des formations glandulaires appelées glandes annexes.

L'épididyme, les testicules et les glandes annexes font partie de l'appareil génital du bouc. Les glandes annexes comprennent les vésicules séminales, la prostate, les ampoules et les glandes bulbo-urétrales. Elles produisent des fluides et des nutriments qui se mélangent aux spermatozoïdes pour former la semence. Les glandes annexes assurent également le nettoyage de l'urètre avant l'éjaculation **(Craaq, 2009)**. Les ampoules servent de lieu de stockage pour les spermatozoïdes avant l'éjaculation **(Baril et al., 1993)**. Les vésicules séminales, situées de chaque côté de la vessie, sont les glandes annexes les plus actives qui produisent en grande partie le volume du liquide séminal **(Boukhlinq, 2002)**. Les glandes bulbo-urétrales sont toutes petites et situées dans la région caudale de l'urètre **(Baril et al., 1993)**.

Ces dernières y déversent leurs produits de sécrétion : ce sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales ou de Cowper **(Girod ; Czyba,1977)**.

4. Les spermatozoïdes

Le spermatozoïde est le gamète chez les mâles, c'est la seule cellule programmée pour vivre hors de l'organisme qui l'a produit (**Soltner, 1993**). C'est une cellule hautement spécialisée qui ne grossit plus et ne se divise plus. Découvert au microscope à Delf en 1677 par le Hollandais Van Leeuwenhoek, il est aujourd'hui étudié jusqu'aux moindres détails au microscope électronique (figure 5). Sur le plan anatomique il comprend :

- **La tête** : chez le bouc, elle présente une forme massive, longue de 8 μ et large de 4,5 μ à 5. Elle est constituée essentiellement du noyau à chromatine dense dont les deux tiers antérieurs sont recouverts par l'acrosome (**Thibault, 1975**). Le segment antérieur de ce dernier contient la « Hyaluronidase » qui digère le matériel unissant les cellules du cumulus oophorus, tandis que le segment postérieur renferme l'acrosine dont le rôle est la perforation de la zone pellucide de l'œuf (**Drin et al., 1993**)
- **Le col** : c'est une courte partie cytoplasme (2 à 3 μ) contenant une plaque basale, le centriole proximal, 9 fibres denses disposées autour d'un complexe filamentueux axial (axonème) qui comprend 9 paires de tubules périphériques et une paire de tubule centraux. Le tout s'entoure d'une gaine mitochondriale, elle-même entourée d'une mince couche cytoplasmique (**Vaissaire, 1977**).
- **Le flagelle** : présente, lui-même, trois parties successives :
- **La pièce intermédiaire** : débute au niveau du centriole distal et se termine par un épaissement de la membrane cytoplasmique en partie caudale : c'est l'annulus. Elle contient les éléments fibrillaires présents au niveau du col et des mitochondries disposées en gaine spiralée (**Barone, 1978**).
- **La pièce principale** : c'est la partie la plus longue de la queue. A son niveau, la gaine mitochondriale est substituée par une gaine fibreuse. -
- **La pièce terminale** : ne contient que le filament axial avec une mince membrane remplaçant la gaine fibreuse. (**Barone, 1978**).

Le flagelle est l'élément moteur du spermatozoïde car les mitochondries assurent les phosphorylations oxydatives du fructose présent dans le liquide séminal fournissant l'énergie nécessaire aux mouvements de la queue, tandis que les structures de l'axonème ont des propriétés contractiles ainsi, les microtubules périphériques sont riches en ATPase. (**Mc Donald, 1980 ; Albert et Jean, 2001**).

Aux voies spermatiques se lient des formations glandulaires appelées glandes annexes.

L'épididyme, les testicules et les glandes annexes font partie de l'appareil génital du bouc. Les glandes annexes comprennent les vésicules séminales, la prostate, les ampoules et les glandes bulbo-urétrales. Elles produisent des fluides et des nutriments qui se mélangent aux spermatozoïdes pour former la semence. Les glandes annexes assurent également le nettoyage de l'urètre avant l'éjaculation. **(Craaq, 2009)**. Les ampoules servent de lieu de stockage pour les spermatozoïdes avant l'éjaculation **(Baril et al, 1993)**. Les vésicules séminales, situées de chaque côté de la vessie, sont les glandes annexes les plus actives qui produisent en grande partie le volume du liquide séminal. **(Boukhliq, 2002)**. Les glandes bulbo-urétrales sont toutes petites et situées dans la région caudale de l'urètre. **(Baril et al., 1993)**.

Ces dernières y déversent leurs produits de sécrétion : ce sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales ou de Cowper. **(Girod ; Czyba,1977)**.

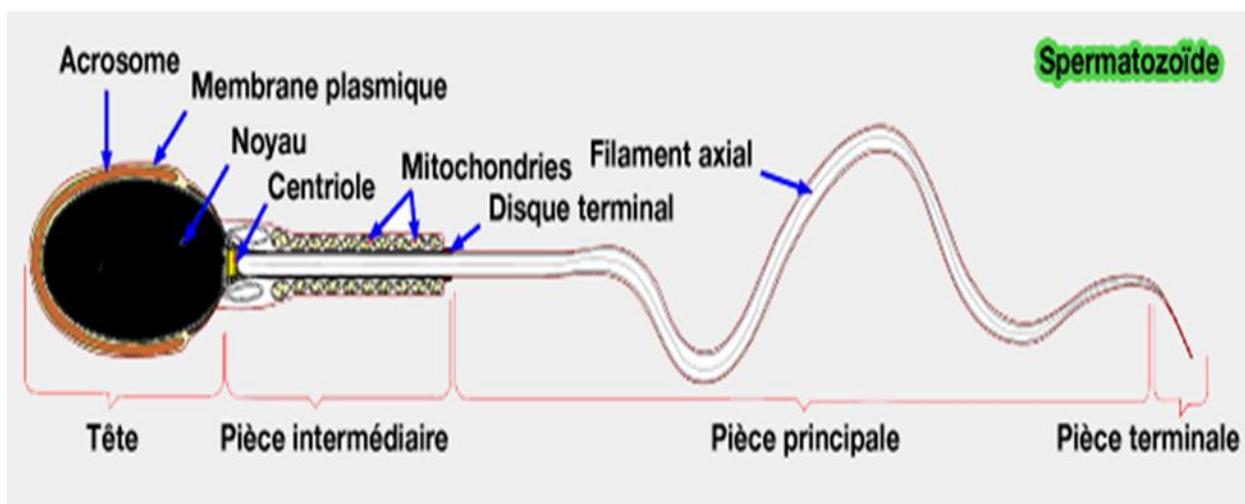


Figure 2 : Structure du spermatozoïde.

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

- Une fraction cellulaire constituée par les spermatozoïdes produits par les testicules ;
- Une fraction liquide appelée plasma séminal, faite de sécrétion testiculaires et des sécrétions des glandes annexes. **(Vaissaire ,1977 ; Soltner ,1993)**.

Chez le bouc, le sperme apparaît comme un liquide épais, crémeux et indolore avec une viscosité plus élevée que celle du taureau **(Vaissaire,1977)**.

Le volume spermatique varie selon les espèces et même dans l'espèce. Dans ce dernier cas, il sera en rapport avec l'état physiologique du mâle, l'individu, la race, le développement corporel, le nombre de saillies ou de récolte et la méthode de récolte.

Le bouc a un sperme très concentré mais peu abondant dont le volume est de 1 ml et la concentration est de 3.5×10^9 spermatozoïdes /éjaculat. (**Dérivaux, 1971 ; Hafez,1974**). Chez le jeune de 7 à 10 mois, le volume peut osciller entre 0,2 et 0,5ml et de 0,6 à 2ml chez le bouc adulte (**Setchell,1977 ; Corteel,1988**).

5.Durée et productivité de la spermatogénèse

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

La production journalière de spermatozoïdes ou DSP (Daily Sperm Production) est de l'ordre de 2,8 à 7,3 . 10^9 spermatozoïdes par jour et par testicule chez le bouc Alpin (**Leboeuf et al,2003**). La DSP est fonction du rendement des divisions cellulaires, et de la périodicité des divisions des spermatogonies souches qui elle, est fixe. (**Thibault et Levasseur., 2001**). Le rendement des divisions des cellules souches varie notamment avec la saison. (**Delgadillo et al., 1995**).

La semence correspond à la suspension des spermatozoïdes dans un liquide appelé plasma séminal. Les principales caractéristiques de la semence de bouc et de sa production sont présentées dans le (**tableau 1**).

Tableau 1 : Caractéristiques de la semence de bouc et de sa production. **(Leboeuf et al., 2003 ; Memon et al., 2006).**

Aspect /Couleur	Variable selon la concentration. Blanc nacré pour une semence de bouc
Volume (ml) par éjaculat	1,5 à 1,5 ml
Concentration moyenne	4×10^9 (2 à 4)
% de spermatozoïdes motiles	80 % (70 à 90%)
% de spermatozoïdes	80% (70à90%)
DSO(daily sperm out put)	$2,96.10^9 \pm 0,36$ spermatozoïdes chez les boucs Alpin et Saanen

- Le volume de l'éjaculat est variable selon les saisons, l'âge et les rythmes de collecte de la semence. **(Manfredi et al,1998)**. Il est élevé pendant la saison sexuelle. **(Corteel ,1977)**.
- La concentration spermatique est augmentée en dehors de la saison sexuelle **(Corteel.,1977)**.
- L'éjaculation quotidienne de spermatozoïdes (DSO) PEUT CORESPENDRE ENTRE 40 et 80 % de la production quotidienne de spermatozoïdes (DSP), lorsque les boucs sont plusieurs fois par semaine. **(Leboeuf et al.,2003)**.

6-Le plasma séminal

Le plasma séminal est un milieu extrêmement complexe qui contient de nombreuses substances, il a pour rôle de transporter les spermatozoïdes et d'apporter divers éléments essentiels à leur survie. **(Baril et al.,1993)**.

Les sécrétions des glandes annexes forment les $\frac{3}{4}$ du volume séminal. Ce dernier se forme lors de l'éjaculation : les spermatozoïdes quittent la queue de l'épididyme et rencontrent successivement les sécrétions de la prostate, des glandes vasculaires et des glandes bulbo urétrales. **(Courtens et al.,1998)**.

- La prostate apporte entre autre zinc et cholestérol qui sont utilisés par les gamètes.
- Les sécrétions de la glande vésiculaire apportent une grande contribution au volume du plasma séminal. Il est riche en fructose, la principale source d'énergie pour les gamètes.
- Les sécrétions des glandes bulbo-urétrales sont riches en phospholipase A, la BUSgp60ou aussi appelée enzyme de coagulation du jaune d'œuf), et la SBU III. Les produits de leur activité

enzymatique deviennent toxiques pour les membranes cytoplasmiques. La qualité des spermatozoïdes est alors détériorée. (**Pellicer –Rubio et Combarnous ,1998 ; Lebœuf et al. ,2003**). Cette particularité de la semence de de bouc donne des contraintes pour sa conservation et maintien de sa qualité après Cryo conserve.

Chapitre II : Collecte de la semence

1.Méthodes de récolte de sperme

La récolte du sperme constitue la première opération de l'insémination artificielle /ou de son examen. Deux techniques peuvent être utilisées pour la collecte des males des petits ruminants. La première est la collecte à l'aide d'un vagin artificiel qui constitue le moyen classiquement utilisé, la seconde est la collecte à l'aide d'un électro-éjaculateur.

1.1. Réalisation de la collecte à l'aide du vagin artificiel

1.1.1-Le vagin artificiel

Le principe du vagin artificiel est de reproduire l'ensemble des sensations présentées par les voies génitales femelle lors du coït (chaleur, pression, lubrification), et de recueillir rapidement un éjaculat total et non souillé. (Dumont,1997).

❖ Description

Le vagin artificiel a une forme et des dimensions en rapport avec l'espèce pour laquelle il est conçu, en tenant compte de la conformation du pénis et de la taille de l'animal (**figure 03**).



Figure 3 : Vagins artificiels pour les petits ruminants.

C'est un appareil simple et pratique, le vagin artificiel comporte deux parties :

- Un cylindre extérieur en matériel rigide le plus souvent en caoutchouc dur et épais ou en plastique muni d'une ouverture fermée par un bouchon.

- La chemise intérieure en latex ou en caoutchouc artificiel est introduite dans le cylindre externe et ses extrémités rabattues et maintenues par un élastique aux extrémités de celui-là. La cavité, ainsi, formée par le cylindre externe et la chemise interne est remplie d'eau en quantité suffisante pour obtenir une pression équivalente à celle du vagin de la femelle. Une extrémité du vagin artificiel est lubrifiée servant à introduire le pénis ; tandis que sur l'autre est fixée un cône en caoutchouc au bout duquel est adapté un tube en verre ou mieux en plastic gradué pour recueillir le sperme. Certains vagins artificiels sont équipés d'un thermomètre. **(Hanzen, 2015)**. Parfois, le cône en caoutchouc porte un orifice permettant le départ de l'air de manière à éviter un excès de pression à ce niveau.

Dans beaucoup de cas, le vagin artificiel est protégé d'un revêtement assurant, d'une part, la préservation de l'échantillon du choc thermique, et d'autre part, la protection du dispositif d'éventuels dommages. **(Shoenian, 2005)**.

❖ Les intérêts de la collecte au vagin artificiel

La Qualité de la semence : La collecte au vagin artificiel donne un éjaculat naturel, induit par une libido nécessaire et suffisante, et produit par un comportement physiologiquement proche du coït. C'est pourquoi elle permet d'obtenir le meilleur sperme possible à un moment donné **(Fabrice et al., 008)**.

❖ La préparation du vagin artificiel

Chez les caprins, au moment de la récolte du sperme, la chambre circulaire du vagin artificiel est remplie d'eau à 44 – 45°C en quantité suffisante de manière à créer une pression rappelant celle du vagin naturel. **(Hanzen, 2015)**.

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

Les températures élevées de l'eau peuvent léser l'organe copulateur du mâle qui, par la suite, refuse d'effectuer des montes. Une pression élevée du vagin artificiel est à éviter, car, elle peut ne pas céder passage au pénis et sera à l'origine d'un éclatement du cylindre interne. En regardant son ouverture, un remplissage correct se traduit par la simulation d'une fente vulvaire. **(Hanzen, 2006)**.

Du fait de leur élevage en case individuel, chaque bouc, dont sa partie abdominale et son fourreau sont nettoyés, est conduit directement de son box jusqu'à la salle de collecte, où une femelle bête entrain est alors immobilisée. Les mâles peuvent également être collectés dans leur box.

L'opérateur s'agenouille à côté du mâle. Lors du chevauchement, celui-là dévie le pénis du bouc, en le manipulant au niveau du fourreau, vers l'ouverture du vagin artificiel dirigé de bas en haut selon un angle de 45° et légèrement vers l'extérieur. **(Hanzen, 2006)**.

1.1.3. La récolte par électroéjaculation

L'électroéjaculation permet de provoquer l'éjaculation par une stimulation électrique. Un générateur produit de l'électricité qui est transmise par l'intermédiaire d'électrodes à l'animal. L'interface tissu/électrodes (résistance interne) joue un rôle non négligeable car la stimulation électrique doit parvenir jusqu'aux nerfs pour provoquer l'érection et l'éjaculation. On essaie de stimuler particulièrement les glandes bulbo -urétrales, la prostate et les vésicules séminales **(Stievenart, 1991)**.

On utilise, pour cela, une sonde rectale adaptée aux caractéristiques de l'anatomie de l'espèce **(Figure14)**. Cette sonde, comprenant généralement trois électrodes longitudinales et parallèles, est introduite dans le rectum et maintenue de façon à assurer un contact étroit avec le plancher du rectum.

Le protocole d'électroéjaculation (voltage, intervalles et nombre de stimulations) semble important pour l'obtention d'une semence de bonne qualité et doit être adapté à chaque espèce **(Cameron,1977)**.

Chez le bouc, l'émission de 3 ou 4 stimulations de 2,5 à 8 volts provoque l'éjaculation **(Gomes, 1977)**.

❖ La Technique

Les mâles sont télé-anesthésiés à l'aide d'un mélange de zolétil® (1mg/kg de tilétaminezolazépam) et de xylazine® à 1,5 mg/kg, par fléchage. Les animaux anesthésiés sont placés en décubitus latéral, les poils de l'extrémité du fourreau sont coupés, puis le prépuce et l'abdomen sont nettoyés. Le rectum est ensuite vidé des fèces et rincé au sérum physiologique, afin d'optimiser le contact électrique lors de la stimulation. La collecte de sperme est effectuée avec un électro-éjaculateur connecté à une sonde rectale. La sonde est enduite de lubrifiant

gynécologique préalablement à son introduction dans le rectum de l'animal. Les électrodes sont dirigées vers le bas. Un protocole de stimulation automatique et fixe est appliqué. Il s'agit de 32 stimulations de voltage croissant allant de 6 à 20 volt (**Locatelli et Mermillod, 2005**). Durant toute la stimulation, les réactions de l'animal sont suivies attentivement, en particulier les paramètres cardiaques et respiratoires. L'éjaculat est récolté dans un tube Falcon stérile, maintenu par un vagin artificiel enveloppé dans un protège vagin à 37°C puis transféré au laboratoire dans un bain-marie à 37°C, pour évaluation de sa qualité. Une fois prélevés, les animaux sont ramenés dans leur enclos où l'antidote de l'anesthésique est administré par voie intramusculaire (Yohimbine à 1 mg/kg). (**Aurelie,2007**).

En comparaison avec la récolte à l'aide de vagin artificiel, il est généralement admis que le volume de l'éjaculat est plus important et de concentration en spermatozoïdes plus faible du fait d'une sur-stimulation des glandes annexes, mais sans diminution de la motilité de ces derniers (**Akusu et al.,1984**).

Cette méthode est peu utilisée pour la collecte de semence. Elle est réservée aux mâles ayant perdus leur libido ou qui ne peuvent pas servir le vagin artificiel.

L'utilisation de cette technique n'est pas à préconiser chez l'espèce caprine à cause de l'effet défavorable du plasma séminale du bouc sur la conservation in-vitro des spermatozoïdes (**Nunes,1982**).

Mais les connaissances actuelles de l'anatomie et de la physiologie de l'appareil génital du bouc ont permis à cette technique de procurer un sperme avec un ratio de plasma séminal normal (**Corteel, 1981**).



Figure 4 : Différents types d'électro-éjaculateurs (**Goelz ,1999**).

Chapitre III : Contrôle de la semence

1.Examens macroscopiques

1.1. Volume

Après la récolte, la mesure du volume de l'éjaculat s'effectue par la lecture directe à l'aide de graduations du tube de collecte sans tenir compte de sa partie mousseuse (Baril et al,1993).

Le volume de l'éjaculat dépendra de divers facteurs, à savoir, l'âge, la saison et la fréquence de récolte (**Hafez, 1987 ; Maxwell et Evan., 1987**). Cependant, quand le volume de l'éjaculat augmente ou diminue, ces changements sont, en grande partie, dues aux changements de la quantité des sécrétions épидидymaire et des glandes annexes (**Corteel, 1977**).

1.2. La couleur du sperme

Chez le bouc, le sperme est de couleur blanc jaunâtre. Cette coloration est due à la présence d'un pigment lipochrome élaboré par la vésicule séminale. La couleur des spermatozoïdes peut être modifiée pour des raisons physiologiques (concentration) mais le plus souvent pathologiques.

-La coloration brunâtre témoigne de la présence d'éléments sanguins dégénérés.

-La coloration bleuâtre résulte d'une faible concentration ou de l'administration de bleu de méthylène.

Une coloration brunâtre ou grise indique une contamination du tractus génital du mâle (**Hafez, 1987 ; Maxwell et Evans, 1987**).

1.3. La consistance et l'aspect du sperme

Chez les caprins, le sperme est un liquide épais, crémeux, inodore et assez visqueux (**Marquis, 1990**).

La consistance de la semence est fonction du rapport entre les spermatozoïdes et le plasma séminal. Ainsi, le sperme de forte consistance contient beaucoup plus de spermatozoïdes que celui de faible consistance (**Salamon, 1976 ; Hafez, 1987**).

1.4. Le pH séminal

Le pH séminal est mesuré, juste après la récolte, à l'aide d'un pH mètre. Le sperme du bouc est légèrement acide, son pH varie de 6 à 6,8 avec une moyenne de 6,4 (**Vaissere, 1977**).

Cette valeur évolue inversement à celle de la concentration, quand celle-ci augmente, le pH diminue.

Après la collecte, le rythme de diminution du pH permet l'évaluation de la qualité du sperme (**Derivaux Ectors, 1986**). D'une manière générale, les spermatozoïdes forts concentrés et riches en fructose accusent une diminution plus rapide du pH que les autres du fait de l'accumulation plus rapide d'acide lactique due à une glycolyse plus intense ce qui, indirectement, témoigne leur meilleure qualité.

2.Examen macroscopique du sperme

2.1. La concentration

C'est un critère important pour le jugement de la qualité de la semence. L'objectif de cette mesure est de pouvoir déterminer le nombre de spermatozoïdes par millilitre de semence pure en utilisant le minimum de semence possible Elle peut être déterminée directement par comptage des spermatozoïdes au moyen d'une cellule hématimétrique ou indirectement par comparaison visuelle du sperme à des solutions standard, par comptage électronique ou encore par néphélométrie (ou néphélémétrie).

Chez les races saisonnées, la concentration spermatique suit une évolution inverse de celle du volume, elle est élevée en dehors de la saison de reproduction et faible en saison sexuelle (**Corteel,1977**). Ces variations sont le reflet de la synthèse et de la sécrétion des glandes annexes. Celles-ci sont stimulées par la testostérone qui est élevée en saison sexuelle et basse en contre saison (**Baril et al., 1993**).

2.1.1. Appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculation

L'appréciation de la couleur peut être une méthode empirique pour l'évaluation de la concentration. Ainsi, une couleur jaune très claire signifie une concentration inférieure à 1milliard de spermatozoïdes/ml.Cette pratique n'est toutefois pas recommandée en raison de son assez grande imprécision due à l'appréciation subjective et parce que d'autres techniques précises et d'emploi facile peuvent être utilisées.

2.1.2. Le comptage direct par hématimètre

La numération directe se fait au moyen d'un hématimètre. Ce dernier est constitué d'une lame de verre, creusée d'une petite cuvette dont le fond est garni d'un quadrillage (figure16). La totalité de la cellule de Malassez est composée de 100 rectangles dont les dimensions sont : Long= 0,25 mm / larg.= 0,20 mm / Prof. = 0,20 mm, Le volume total de la cellule est de 1 mm³ (100x2,5 x 0,2 x 0,20), Le quadrillage est donc constitué de 10 bandes verticales (0,25 mm) et de 10 bandes horizontales (0,20 mm) formant ainsi 100 rectangles. Parmi les 100 rectangles totaux, on trouve 25 rectangles qui sont divisés en 20 petits carrés afin de faciliter le comptage, chaque rectangle correspond à un volume 100 fois plus faible, soit 0,01 mm³. Ce type de numération suppose la dilution préalable 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 % (solution de Hancock). Le taux de dilution dépend de la concentration apparente du sperme.

On conseille une dilution de 1 % pour les spermés de taureau, de béliér et de bouc. **(Hanzen, 2006).**

Il existe différents types d'hématimètre qui se caractérisent notamment par leur surface (S) et la profondeur de leur chambre de numération (P) : Malassez (S : 5 mm², P : 0.2 mm), Thoma (S : 1 mm², P : 0.1 mm), Neubauer (S : 9 mm², P : 0.1mm) et Türk (S : 9 mm², P : 0.1 mm).

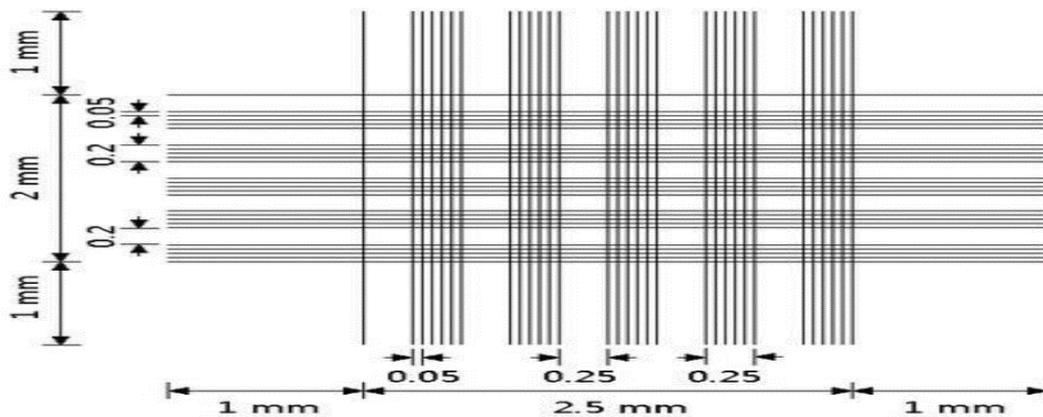


Figure 5 : Hématimètre : cellule de Malassez. **(Baril et al., 1993).**

2.1.3. La spectrophotométrie

Est la technique la plus efficace car elle allie rapidité et précision. Le principe général est de mesurer la densité optique (à une longueur d'ondes de 550 nanomètres) de la solution saline formolée précédente, contenant les spermatozoïdes, et de la comparer à un blanc (ne contenant pas de spermatozoïdes) (**baril et al., 1993**).

Cette méthode est universellement utilisée dans les centres d'IA. Elle consiste à apprécier la concentration en spermatozoïdes en évaluant l'opacité de la suspension au moyen d'un spectrophotomètre ou d'un colorimètre. Cette opacité peut cependant être indirectement augmentée suite à la présence de débris cellulaires. Cette méthode est moins exacte chez les espèces dont le plasma séminal présente de grandes variations d'opacité (verrat, étalon).

La cellule de Thomas (hemocytomètre) offre le double avantage être bon marché et de voir les spermatozoïdes (**Hanzen, 2009**).

2.2. La motilité

L'examen de la motilité doit se faire le plus rapidement possible après le prélèvement en le maintenant rigoureusement à une température voisine de 38°C. La progression des spermatozoïdes est habituellement rectiligne. Au cours de leur déplacement, ils subissent une rotation autour de leur grand axe. Dans la queue de l'épididyme, les spermatozoïdes sont immobiles. Leur motilité dépend de leur présence dans un milieu de pH et de température normale, renfermant en quantités adéquates nutriments et ions, conditions offertes une fois qu'ils sont présents dans les sécrétions séminales (**Hanzen.,2009**).

2.2.1. La motilité massale

C'est une mesure rapide et facile qui nécessite un examen microscopique de la semence, dès que celle-ci est collectée. Une goutte de sperme pur est déposée sur une lame et placée sur la platine chauffante du microscope (37-38°C) sous un grossissement de 80. L'observation doit être faite très rapidement car la motilité massale du sperme pur, à cette température, diminue rapidement au bout de 15 à 20 secondes.

La mesure est faite en utilisant une échelle qui va de zéro à cinq. (Tableau II). (**Maxwell et Evans., 1987 ; Baril et al., 1993**).

Elle dépend essentiellement de trois facteurs :

La concentration, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et de la vitesse de déplacement des spermatozoïdes. Ils doivent être pris en considération dans l'interprétation du score de la motilité massale (**Hanzen,2015**).

Tableau 2 : La description de la motilité massale des spermatozoïdes (**Salamon, 1976**).

Note	Mobilité massale	Description
-5	Très bonne	Vagues et tourbillons, mouvements très rapides ; les spermatozoïdes ne peuvent pas être visionner individuellement
-4	Bonne	Mouvements rigoureux, vagues et tourbillons ne sont pas aussi évidents qu'en score 5.
-3	Faible	Il n'y a pas ou il y a peu de vagues lentes ; les spermatozoïdes peuvent être individualisés. 45-65% des spermatozoïdes sont actifs.
-2	Assez faible	20 à 40% des spermatozoïdes sont actifs ou vivants, leur motilité est très faible. Absence de vagues.
-1	Très faible	Très peu de spermatozoïdes montrent des signes de vie sans mouvements progressifs.
-0	Absence	Tous les spermatozoïdes sont morts.

2.2.2. La motilité individuelle des spermatozoïdes

Cette évaluation est réalisable en même temps que l'estimation du pourcentage des spermatozoïdes mobiles, d'ailleurs, elles sont effectuées dans les mêmes conditions de grossissement et de température (**Hafez., 1987 ; Baril et al., 1993**).

L'examen de la motilité individuelle "progressive motility" sera, préférentiellement, réalisé une fois après dilution (10 à 40 fois) du sperme dans un dilueur ou dans du sérum physiologique préalablement chauffé. Ces milieux seront idéalement préparés avant l'examen pour éviter toute modification de pH, préjudiciable à la motilité des spermatozoïdes. La motilité sera déterminée au moyen d'un microscope à contraste de phase en plaçant une goutte de sperme diluée entre lame et lamelle. Trois à cinq champs proches du centre de la goutte, seront ainsi examinés au grossissement 200 à 500 et la moyenne calculée.

L'examen de la motilité individuelle est intéressant car, il fournit indirectement des informations intéressantes sur l'intégrité de la membrane du spermatozoïde et son intégrité morphologique. Ainsi, un pourcentage élevé de spermatozoïdes mobiles joint à un pourcentage élevé de spermatozoïdes morts donnera à penser à une mauvaise manipulation du sperme plus qu'à un sperme anormal. De même une faible motilité est souvent corrélée avec un pourcentage élevé de formes anormales ou de spermatozoïdes morts (**Hanzen,2015**). Pendant la saison de reproduction, la motilité spermatique est élevée ; ainsi, un éjaculat moyen contient 85 à 95% de spermatozoïdes normaux dont leur motilité individuelle est la plus élevée de l'année. En général, les variations saisonnières de la motilité, évaluées en conditions définies, sont associées aux variations saisonnières correspondantes de la fertilité (**Corteel,1976**).

3.Examen morphologique

C'est le second test qualitatif après la motilité. Il apprécie la qualité du sperme au travers du nombre de spermatozoïdes atypiques, qui indique une baisse de sa viabilité. Ce test est réalisé en recourant aux différentes préparations colorées.

L'examen morphologique nécessite la coloration du sperme. Pour ce faire, une goutte de sperme est mélangée à une goutte de colorant, et déposée à l'extrémité d'une lame et étendue en couche mince au moyen d'une autre lame inclinée à 45°. La préparation est séchée à l'air libre en quelques minutes. Certaines colorations ont pour objet de mieux faire apparaître la morphologie du spermatozoïde (coloration totale), les autres dites vitales permettent de différencier les spermatozoïdes morts et vivants.

3.1. Coloration totale

La coloration totale peut être simple fournissant une coloration uniforme des spermatozoïdes. Dans ce cas, les colorants suivants peuvent être utilisés : bleu de méthylène, bleu de toluidine, violet de gentiane et la fuchsine. La coloration totale est dite double en utilisant les colorations Giemsa et Williams. Ces dernières font mieux apparaître les différences structurales au niveau de la tête, de l'acrosome ou de la pièce intermédiaire.

La coloration à l'encre de Chine est dite négative car les spermatozoïdes apparaissent en clair sur le fond noir de l'encre de Chine. Cette coloration identifie bien la forme de la tête ainsi que la présence éventuelle d'une gouttelette protoplasmique. **(Derivaux et Ectors, 1986 ; Hafez, 1987).**

3.2. Coloration vitale

Cette coloration a pour principe d'utiliser un colorant qui ne traverse que les membranes des cellules mortes (éosine, rose Bengale, vert de Crésyl) et un colorant de fond qui facilite la lecture (bleu de méthylène, nigrosine). La coloration éosine-nigrosine est classiquement la plus utilisée. Tout en évitant la formation d'artefacts **(Hanzen, 2015),**

Pour déterminer le taux de cellules mortes et celles avec anomalies structurales, la lame est placée sur la platine chauffante du microscope à 37- 38°C et examinée à la lumière directe, pour au moins 150 spz dans différents champs de la même préparation **(Baril et al., 1993)**. Tous les spermatozoïdes colorés en totalité ou en partie sont considérés comme morts au moment de la coloration.

D'après Corète, 1981, l'incidence des anomalies morphologiques des spermatozoïdes augmente en dehors de la saison sexuelle ou après exposition des mâles à des températures ambiantes élevées. Cependant, la fertilité du bouc sera affectée, surtout si leur proportion dépasse 20% **(Marquis, 1990)**.

Les spermatozoïdes anormaux ne sont pas féconds et toute anomalie quelle que soit sa nature morphologique fait partir au spermatozoïde une partie de son pouvoir fécondant. Ces anomalies ne doivent pas dépasser 15% des spermatozoïdes pour obtenir un taux de fertilité convenable chez les animaux **(Harouna, 1987 cité par Seyini, 2008)**.

3.

3. Examen bactériovirologique

Il doit être réalisé lorsque l'on suspecte une infection du tractus génital et plus spécialement lorsque le sperme est pollué par des polynucléaires. Normalement, le sperme est stérile mais il peut être contaminé par les conditions de la récolte. Au nombre des germes saprophytes, on note *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium*, Enterocoques, *Proteus*, Entérobactéries. L'identification d'un germe ne le rend pas nécessairement responsable de l'affection. L'examen doit être corrélé avec les autres examens macroscopiques et microscopiques (**Hanzen, 2006**).

3.4.Examens complémentaires

3.4.1.Test de fructolyse

Les spermatozoïdes, stockés in vitro en anaérobiose, métabolisent le fructose présent dans le plasma séminal. L'index de fructolyse s'exprime par la quantité en milligramme de fructose assimilée par 10^9 spz en une heure à 37,6°C. Il est significativement corrélé avec la concentration et la motilité spermatique. Ainsi, un sperme de qualité a un index de fructolyse variant entre 1,4 et 2 (**Derivaux et Ectors, 1986**).

3.4.2.La réduction du bleu de méthylène

Ce test apprécie la déshydrogénase du sperme. Après coloration au bleu de méthylène, un sperme de bonne qualité se décolore en moins de 10minutes, au contraire, un sperme de qualité médiocre ne l'est qu'en dépassant les 15minutes (**Milovanov, 1986**).

3.4.3.La thermorésistance

C'est la détermination de l'aptitude des spermatozoïdes à survivre en conditions thermiques comparables à celles de l'appareil génital femelle.

La semence est diluée pour avoir entre 80 et 300 millions de spz/ml et est placée dans un bain-marie à 37 - 38°C. Le taux des cellules vivantes est déterminé au début du test et 3heures après (**Hafez, 1986**).

Dans le but de mieux apprécier la qualité de la semence, d'autres tests peuvent être utilisés, il s'agit, entre autres, de l'intégrité de l'acrosome, le test GOT (Glutamic Oxaloacetic, Transaminase) et l'aptitude des spermatozoïdes à se déplacer dans différents milieux y compris le mucus cervical (**Baril et al., 1993**).

4.Relations entre la qualité de la semence et sa fertilité

Beaucoup d'essais ont été réalisés pour corrélérer les résultats des tests in vitro décrits ci-dessus avec la fertilité des femelles inséminées avec la même semence. Malheureusement, la fécondance ne dépend pas d'un seul paramètre de la semence. Elle dépend aussi du type d'œstrus de la femelle (naturel ou induit par voie hormonale) et du lieu de dépôt de la semence. Les tests précédents sont essentiellement utilisables pour identifier les éjaculats de mauvaise qualité au moment de la récolte ou ceux qui n'ont pas résisté correctement aux processus de congélation/décongélation. Avec les éjaculats « utilisables », la corrélation entre tests in vitro et fertilité n'est pas très élevée. Dans l'espèce caprine, seule la motilité individuelle des spermatozoïdes 120 minutes après dégel et incubation à +37°C, est reliée à la fertilité. **(Baril et al.,1993)** L'intensité de la relation dépend du traitement progestagène utilisé et du lieu de dépôt de la semence (intra-utérine ou intra cervicale).

Chapitre IV : Conservation de la semence

La conservation de la semence, particulièrement à l'état congelé, provoque des dommages aux spermatozoïdes qui concernent à la fois leurs structures (membranes, flagelles) et leur état fonctionnel. Ces altérations influencent leur motilité et leur viabilité. Nunes (1982) a montré qu'une protéine (SBU III) sécrétée aussi par les glandes bulbo-urétrales avait un effet négatif sur la survie in vitro des spermatozoïdes en présence de constituants lactés du dilueur.

1.L'enzyme de coagulation du jaune d'œuf (EYCE)

L'enzyme EYCE a été identifiée comme une phospholipase A, laquelle hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf en acides gras et lysolécithine (**Iritani 1961 et Nishikawa, et 1963**), ce dernier composant étant toxique pour les spermatozoïdes de bouc.

2.La protéine SBU III

Cette protéine est sécrétée par les glandes bulbo-urétrales. Nunes (1982) a montré que SBU III est responsable de la diminution de la survie in vitro des spermatozoïdes conservés dans un milieu à base de lait écrémé.

La protéine SBU III, responsable de la détérioration des spermatozoïdes dilués dans un milieu à base de lait écrémé, est un monomère de 55-60 kDa N-glycosyl, protéine appelée BUSgp60 par Pellicer (1995).

Pellicer et Combarous (1998) ont montré que BUSgp60 génère des produits de lipolyse cytotoxiques (acides gras), en hydrolysant les triglycérides résiduels du dilueur à base de lait écrémé utilisé pour la cryoconservation des spermatozoïdes. BUSgp60 présente une grande homologie avec les lipases pancréatiques apparentées de type 2 (**Sias, 2000**).

Ainsi, l'EYCE, identifiée comme une phospholipase A, et la lipase BUSgp60 seraient une seule et même enzyme agissant à la fois sur les phospholipides du jaune d'œuf et sur les lipides résiduels du dilueur à base de lait écrémé. Toutes les lipases PLRP2 caractérisées jusqu'à présent possèdent aussi une activité phospholipasique et des expériences préliminaires (**Sias, 2000**) ont montré que BUSgp60 présentait une activité sur le corps jaune.

3. Plasma séminal et lavage du sperme

L'élimination du plasma séminal par lavage des spermatozoïdes de bouc dans un milieu physiologique, immédiatement après la collecte, augmente le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et leur motilité durant leur conservation à 37 °C ou après congélation /décongélation et incubation à 37 °C, dans des milieux à base de lait écrémé (**Corteel 1974**) ou dans des milieux contenant du jaune d'œuf (**Fougner ,1974, Rita et Salamon,1982**). Mais l'élimination du plasma séminal n'est pas nécessaire à la survie des spermatozoïdes conservés à 4 °C (**Lebœuf et al 2003**).

3.1. Le lavage de la semence du bouc

Le lavage de la semence dès la collecte est réalisé en suspendant le sperme dans une solution Krebs Ringer-Phosphate (solution «de lavage ») contenant du glucose, puis en centrifugeant le mélange pour éliminer le plasma séminal. Deux lavages successifs sont préférables à un seul lavage.

Au moment de la collecte, l'éjaculat est dilué avec la solution de lavage de façon à obtenir une concentration de 400×10^6 de spermatozoïdes/ml de la suspension à centrifuger. Le tube de collecte est alors placé dans une centrifugeuse pendant 15 minutes à 20°C, à une accélération de 500-600 g. Après quoi, le surnageant est éliminé avec une pipette et un nouveau volume, identique, de solution de lavage est ajouté ; le tube est centrifugé une seconde fois de la même manière précédemment citée.

4. Techniques de conservation de la semence

La réussite de l'IA dépend, principalement, de la qualité de la semence. Les inséminations artificielles réalisées avec de la semence fraîche ont un taux de succès très satisfaisant suivant les espèces et les techniques d'insémination (**Cseh et al., 2012**). La semence cryoconservée présente des taux de succès plus variables, principalement, dues aux dommages subis par les spermatozoïdes durant le processus de congélation (**Bailey et al., 2000**).

4.1. La dilution de la semence

Elle permet de réaliser à partir d'un seul éjaculat, l'insémination d'un nombre important de femelle et assurer la survie des spermatozoïdes pendant un certain temps (**Marquis,1990**).

Les dilueurs de semences sont des solutions aqueuses servant à augmenter le volume d'un éjaculat pour l'amener à la concentration de conservation souhaitée. Afin d'être efficace, le dilueur doit apporter les nutriments nécessaires au maintien métabolique des spermatozoïdes (glucose ou fructose), conserver un pH (Tris, Hepes). Et une osmolarité physiologique (NaCl, KCl), empêcher la prolifération bactérienne (antibiotiques) et faciliter l'ajout d'agent cryoprotecteur (**Gadea, 2003**).

4.2. L'effet bénéfique du jaune d'œuf

Le dilueur à base de jaune d'œuf est le plus commercialement utilisé puisqu'il a été le premier à être testé avec succès pour la congélation de la semence bovine qui représente un intérêt économique sans précédent (**Holt, 2000**).

En revanche, son mécanisme de protection n'est pas encore élucidé. Une hypothèse est que la portion phospholipidique du LDL serait responsable de son effet bénéfique en constituant un film protecteur à la surface de la membrane spermatique (**Quinn et al., 1980**) ou en remplaçant les phospholipides membranaires perdus ou endommagés pendant la cryoconservation (**Foulkes et al., 1980 ; Graham & Foote, 1987**).

Plus récemment, des tests de fertilité sur des vaches laitières ont montré que le dilueur à base de LDL seul permettait de maintenir une qualité spermatique post-dégel comparable à celle du dilueur à base de jaune d'œuf sans toutefois réussir à augmenter le taux de fertilité par insémination artificielle (59% pour le dilueur à base de LDL contre 65% pour le dilueur à base de jaune d'œuf) (**Amirat Briand et al., 2010**).

4.3- L'effet bénéfique du lait

La majorité des protéines du lait sont des caséines organisées en micelles (80%) qui seraient responsables de l'effet protecteur de la semence. Selon certains auteurs, les micelles de certaines caséines extraites du lait permettent de conserver à 4°C la semence d'étalon (**Batellier et al., 1997**), de bouc (**Le bœuf et al., 2003**).

5. Conditionnement de la semence

Le sperme est, généralement, stockée en paillettes de chlorure de polyvinyle, de 0.5 à 0.25 ml. L'une des extrémités des paillettes est obstruée par deux bouchons, entre lesquels s'interpose de la poudre de l'alcool polyvinylique.

Après homogénéisation de la semence diluée, il est possible de remplir les paillettes soit par utilisation d'une machine (**Figure 6**), soit par aspiration buccale à travers le bouchon de l'extrémité de la paillette. Après contact avec la semence, ce bouchon de polyvinyle forme une barrière étanche qui évite les pertes. Après quoi, en utilisant une seringue ou avec bref mouvement de poignet, il est nécessaire de laisser 1cm d'air à l'autre extrémité de la paillette afin de pouvoir obturer celle-ci avec la poudre polyvinylique. Les paillettes, soigneusement séchées avec du papier, peuvent alors être employées (**Marquis,1990**).



Figure 6 : Conditionnement de la semence.

Une manière de conserver la semence de taureau, bouc, bélier ou cheval en frais est de descendre progressivement sa température à 5 °C après sa dilution (**Katila ,1997 ; Lebœuf et al,1998 ; Verberckmoes et al .,2005 ; O'Hara et al .,2010**).

Cette descente de température a pour but de réduire les dépenses métaboliques et de prolonger la vie des spermatozoïdes (**Gadea,2003**).

Le dilueur Glucose –citrate –jaune d'œuf est l'un des premiers à avoir été testé avec succès sur de la semence de bélier depuis 1960 (**Salamon et Maxwell ,2000**). Plus récemment, les dilueurs de conservation de la semence en frais sont à base de Tris : Tris –glucose –jaune d'œuf et Tris-citrate –fructose-jaune d'œuf (**Salamon et Maxwell ,2000**).

Le dilueur à base de lait est également utilisé pour la conservation de la semence fraîche chez le bélier et le taureau **(Vishwanath et Shannon ,2000)**.

En général la semence fraîche du bouc doit être inséminée dans les 8h suivant la collecte afin d'obtenir le taux de gestation optimal **(Maxwell et Watson,1996 ; Salamon et Maxwell,2000)**.

6.La cryoconservation de la semence

6.1. Principe

La cryoconservation se définit comme l'utilisation de très basses températures pour conserver à long terme des cellules ou tissus, tout en maintenant intact leur structure et leur fonction **(Mazur,1984)**.

Cette dernière est la plus difficile à maîtriser puisque les cellules et tissus ne sont pas naturellement programmés pour résister à la décongélation et la majorité des cellules non protégées subissent d'importants dommages à basse température. De plus, les cellules spermatiques ne possèdent aucun système de réparation subissent ses dommages irréversibles rendant la semence non fonctionnelle.

Paillette moyennes de 0,5ml : maintenues 5min à 4cm au-dessus du niveau d'azote liquide, puis plongées directement dans celui-ci. Paillettes fines de 0,25ml : maintenues 2min à 16cm, puis 3min à 4cm au-dessus du niveau d'azote liquide et finalement, les plongées directement dans celui-ci **(Baril et al., 1993)**.

Pendant la congélation, l'eau va subir une transition de phase passant d'un état liquide à un état cristalline **(Mazur, 1968)**. De ceci résulte la formation de cristaux de glace et l'augmentation de la concentration en solutés présents dans le milieu. Les cristaux de glace, au cours de leur formation, transpercent les membranes des cellules tandis que l'augmentation de la concentration en solutés crée un changement de l'osmolarité du milieu, entraînant des pressions mécaniques importantes sur les membranes cellulaires **(Mazur, 1968)**.



Figure 7 : Congélation et stockage des paillettes.

6.2. Les agents cryoprotecteurs

Le glycérol, réduirait la formation des cristaux de glace délétères pour les membranes cellulaires en augmentant la concentration totale en soluté.

Quelques années plus tard, des études ont démontré que le changement d'osmolarité au moment de la congélation était la principale cause de dommage cellulaire, plus que la formation de cristaux de glace (**Lovelock, 1953a ; Lovelock, 1953b**). Le glycérol réduirait les Cryo dommages en équilibrant la variation de concentration en soluté de part et d'autres des membranes cellulaires. De ces études ont été déduites les propriétés des agents cryoprotecteurs :

- le Cryo protecteur doit être soluble dans l'eau et le rester à basse température afin d'abaisser la température de congélation.
- il doit avoir un faible taux de toxicité afin d'être utilisé à sa concentration d'efficacité optimale.
- il doit être toléré par le tractus génital femelle.

Le glycérol reste de loin le Cryo protecteur le plus couramment utilisé pour la congélation de la semence. En effet, la vitesse de congélation contrôle la vitesse de transition de phase de l'eau (et donc de formation de cristaux de glace) qui influe sur le contrôle de la concentration en soluté autour de la cellule. Ainsi, en contrôlant l'osmolarité autour de la cellule, le changement de température influence le transport d'eau en dehors de la cellule pendant la congélation et, l'entrée d'eau dans la cellule pendant la décongélation. Les Cryo protecteurs vont réduire la formation des cristaux de glace ainsi que les transferts d'eau au travers des membranes cellulaires en abaissant la température de congélation (**Mazur, 1963**).

Chapitre V : Insémination artificielle

L'Insémination Artificielle (IA) est la "biotechnologie" de reproduction la plus largement utilisée dans le monde. Chez les petits ruminants est pratiquée plus fréquemment après synchronisation hormonale des chaleurs et considérée comme l'un des outils de diffusion du matériel génétique performant, l'insémination artificielle est appliqué principalement pour assurer l'amélioration génétique rapide et sûre des animaux domestiques. L'insémination artificielle consiste à déposer le sperme au moyen d'une instruction, au moment le plus opportun et à l'endroit le plus approprié du tractus génital femelle. La méthode offre donc un double avantage : celui d'une part de multiplier la capacité de reproduction des mâles et donc de contribuer à l'amélioration génétique et d'autre part celui de constituer un moyen préventif de lutte contre les maladies sexuellement transmissibles.

1. Les avantages de l'insémination artificielle

1.1. Avantage génétique

Pour les schémas de sélection, l'insémination animale constitue un élément majeur dans les programmes de sélection et de testage sur la descendance (**Gahery.,2012**). L'amélioration des performances de production laitière et de la morphologie mammaire est ainsi plus rapide. Les chevrettes issues de mères inséminées constituent un groupe de renouvellement de qualité. Cela permet, aussi, d'obtenir dans son propre élevage de futurs boucs reproducteurs d'une bonne valeur génétique.

1.2. Avantage sanitaire

L'IA permet une dissociation spatio-temporelle entre les boucs reproducteurs et les femelles. L'absence de tout contact sexuel et le contrôle sanitaire des boucs entrant en centre de sélections participent à l'éradication ou au contrôle de certaines maladies. Les boucs sont indemnes de tuberculose, brucellose, fièvre Q, chlamydia, CAEV, paratuberculose et d'infections génitales. L'utilisation de l'IA limite les achats de boucs et, ainsi, l'importation des maladies pouvant nuire à l'élevage (**Gahery, 2012**).

1.3. Avantages techniques

L'insémination artificielle assure une gestion plus rigoureuse des lots d'animaux et permet de :

- . Planifier la reproduction.
- . Planifier et grouper les mises- bas.
- . Planifier et optimiser la production de lait et de viande.
- . Optimiser les apports alimentaires en fonction des besoins.
- . Faciliter l'élevage des chevrettes par la constitution de lots plus homogènes.
- . Les semences de tous les mâles du centre d'insémination sont testées et contrôlées pour garantir un bon pouvoir de fécondation. Les semences des boucs améliorateurs pour insémination artificielle sont ainsi garanties fertiles et sont disponibles en grande quantité à tout moment de l'année.
- . Par une gestion individuelle de la reproduction de chaque femelle, l'insémination vous permet un bon suivi des filiations.

2. Inconvénients et limites de l'IA

A côté de ces nombreux avantages de cette technique de reproduction, il existe certaines contraintes qui les contrebalancent. Il s'agit du faible nombre de géniteur nécessaire à chaque génération et du changement de l'expression de certains caractères, notamment de reproduction. L'utilisation d'un nombre restreint de reproducteurs peut être à l'origine :

- D'une diminution de la variabilité génétique,
- D'une diffusion possible de tares héréditaires ou de maladies non contrôlées,
- D'un accroissement du taux de consanguinité affectant les caractères naturels.

3. facteurs influant la réussite de l'insémination artificielle

3.1. Facteurs intrinsèques liés au mâle

La fécondance des mâles constitue donc un point critique dans la réussite d'un schéma de sélection (**Colenbrander et al., 2003**).

3.1.2. Facteurs intrinsèques liés à la femelle

❖ Carrière de la femelle

La fertilité maximale des chèvres est située entre 2 et 4 ans d'âge, au plus de 5 ans la fertilité diminue progressivement (**Bister J.L, 2006**). Plusieurs explications de ce résultat ont été avancées dans la littérature. Cette tendance peut être liée à une diminution de la réponse des femelles à la synchronisation par production d'anticorps anti-PMSG résultant des synchronisations précédentes (**Bodin et al., 1999**), par la diminution de la qualité des gamètes femelles ou par un dérèglement de la phase lutéale chez les bovins (**Garcia Isparta, 2007**).

L'intervalle de temps entre la mise bas précédente et l'insémination : est également un facteur de variation important de la fertilité femelle dans différentes espèces car il correspond au temps nécessaire au repos de l'appareil génital femelle et à la reconstitution des réserves corporelles. Plus cet intervalle est long, plus la probabilité de réussite de l'insémination est élevée (**Anel et al., 2006**).

❖ Production laitière

De nombreux auteurs ont mis en évidence, principalement chez les bovins, une relation phénotypique négative entre la production laitière et la réussite de l'insémination (**Melendez et Pinedo, 2007**).

❖ Poids, note d'état corporel (NEC)

Il existe une relation négative significative entre la perte de poids depuis la mise bas précédente et la réussite de l'IA (**Bulter, 1998 ; Roche, 2007**).

3.2. Facteurs extrinsèques

3.2.1. Facteurs liés à l'insémination

❖ Habileté de l'inséminateur

L'expérience de l'inséminateur apparaît importante pour l'obtention d'un bon niveau de fertilité. La fertilité augmente avec le nombre de chèvres inséminées annuellement par agent. Cette source de variation du taux de réussite à l'IA. ne doit pas être attribuée exclusivement à l'inséminateur car elle peut être associée à d'autres facteurs de variation de la fertilité tels que la race des chèvres et tous ceux concourant à l'effet élevage d'une même zone géographique (**INRA, 1995**).

❖ **Heure de retrait d'éponge**

Chez les chèvres de race Alpine, le niveau de fertilité diffère selon l'heure du retrait de l'éponge ; il est significativement plus élevé pour un retrait de l'éponge avant 14 heures, ce qui entraîne une mise en place de la semence tôt le matin. Cette situation n'est pas observée chez les chèvres de race Saanen (INRA, 1995).

❖ **Année et saison**

L'année et la saison sont des facteurs de variation de la fertilité des femelles et de la fécondance des mâles. Elle est souvent l'un des facteurs de variation majeur de la réussite de l'insémination.

❖ **Elevage et le système d'élevage**

L'effet élevage est l'un des facteurs de variation importants de la réussite de l'IA pour différentes espèces. Plus que les différences de localisation géographique entre élevages, ce facteur traduit les différences de conduite d'élevage qui existent entre troupeaux.

V. La partie expérimentale

1. Objectif

Cette étude vise à évaluer de la qualité spermatique chez l'espèce caprine par le biais d'une analyse du sperme avec le CASA et la fertilité des femelles Saanen et Alpine , inséminées avec la même semence dans la région de Akbou (wilaya de Bejaïa) en suivant deux variantes à savoir le type des chaleurs et le moment du dépôt de la semence et comparer ainsi l'efficacité des techniques de synchronisation des chaleurs ou de détection des chaleurs naturelles pour améliorer les résultats de fertilité en insémination artificielle .

Partie I : Analyses de la semence congelée

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel biologique

Notre étude expérimentale a porté sur 20 paillettes de semence caprine cryoconservée dans de l'azote liquide, réparties en deux lots de 10 paillettes pour chacune des races, (alpine et Saanen) dont la date d'éjaculation et le numéro de lot sont respectivement de 22-10-2013 ; n° : 3328 et 24-10-2013 n° :1057, afin d'analyser les deux paramètres majeurs de qualité de la semence à savoir la motilité individuelle et la vitalité des spermatozoïdes après décongélation.

1.1.2. Matériel de laboratoire

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

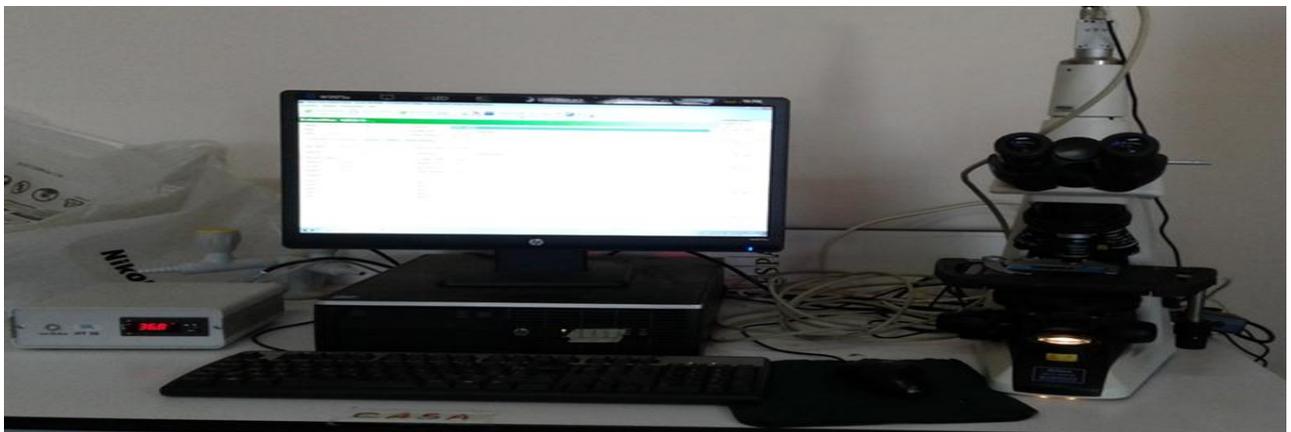


Figure 8 : Le système CASA, composé d'un ordinateur avec un logiciel SCA installé, un microscope biologique et une caméra intégrée.



Figure 10 : Décongélation des paillettes dans un bain marie réglé sur 37° C.

3.Examen macroscopique de la semence

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

Le volume de la semence contenu dans les paillettes était de 0.25 ml.

Le sperme était de couleur blanc jaunâtre et d'aspect laiteux.



Figure 11 : Paillette de semence caprine (semence de couleur blanc jaunâtre et aspect laiteux).

3.1. Evaluation de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes

La concentration spermatique varie généralement de 2 à 10 x 10⁹ spermatozoïdes par millilitre de semence éjaculée. Plusieurs possibilités existent pour mesurer cette concentration :

-appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculat -comptage exact avec un hématimètre -mesure de la densité optique dans un spectrophotomètre. (Baril et al., 1993).

Dans cette étape d'étude on a pratiqué le protocole de dilution suivant :

La semence décongelée a été diluée à 1/9 pour avoir 150 à 200 spermatozoïdes /champs d'observation. A l'aide d'une micropipette, on a prélevé 0,1 ml de la semence diluée à 1/9 et on la mis dans un tube sec, auquel on rajoute 0,3 ml de Na Cl .On a homogénéisé en soumettant le tube au vortex .On a prélevé à l'aide d'une micropipette et déposé une goutte sur la lame Leja slide .Une visualisation de la mobilité a été effectuée grâce au microscope SCA au grossissement $\times 10$, à contraste de phase PH 1 négatif ,sachant que le microscope est menée d'une platine chauffante réglée à 37°. Les étapes de la manipulation sont résumées dans la (figure 12). Au minimum, 200 cellules provenant de 5 champs sélectionnés aléatoirement ont été étudié.

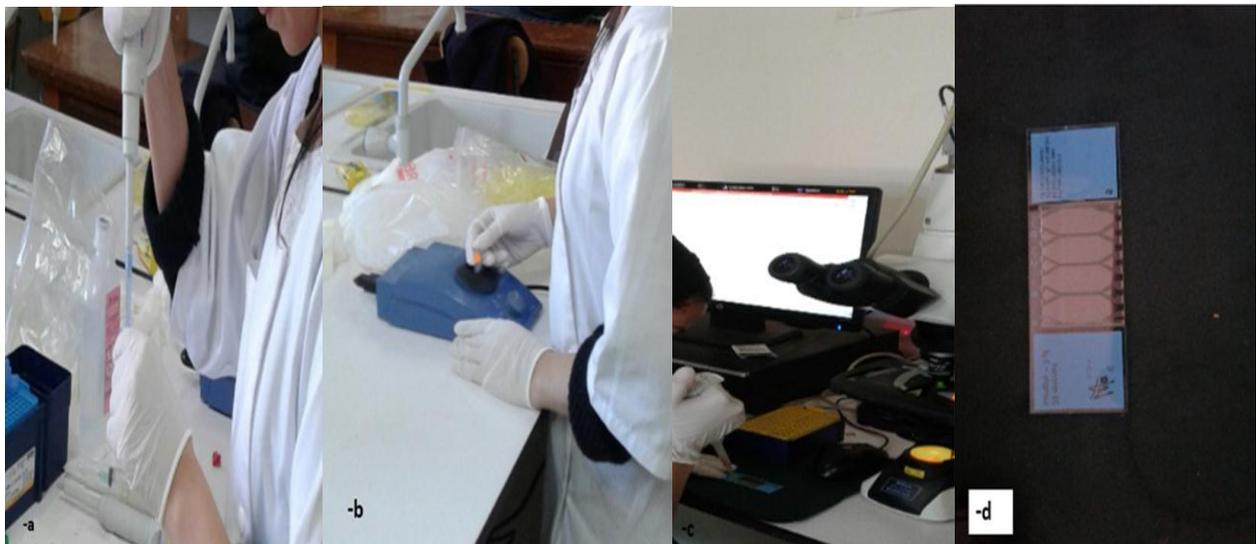


Figure 12 : représentant les différentes étapes de l'analyse de la motilité individuelle des spermatozoïdes : a, b, c, d).

a-dilution de la semence dans l'eau physiologique .

b-homogénéisation de la semence diluée à l'aide du vortex.

c- dépôt de la semence diluée dans une chambre de lame Leja-slide , qui diffuse par capillarité pour l'analyse de mobilité.

d- observation sous microscope au grossissement $G \times 10$ avec le contraste de phase et analyse de la motilité des différents champs capturés par la caméra du CASA .

3.2. Evaluation de la vitalité des spermatozoïdes par la coloration à l'éosine –nigrosine

L'analyse de la vitalité des spermatozoïdes se fait grâce à la coloration à l'éosine – nigrosine (**Figure13**), qui permet la mise en évidence de l'intégralité de la membrane cytoplasmique des spermatozoïdes. A l'aide d'une micropipette, on prélève 10 ul de la semence diluée à 1/9 qu'on dépose sur une lame, puis on rajoute 10ul de l'éosine et 10 ul de nigrosine, on mélange on laisse agir puis on étale et laisse sécher à l'aire libre 2 à 3 minutes.

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

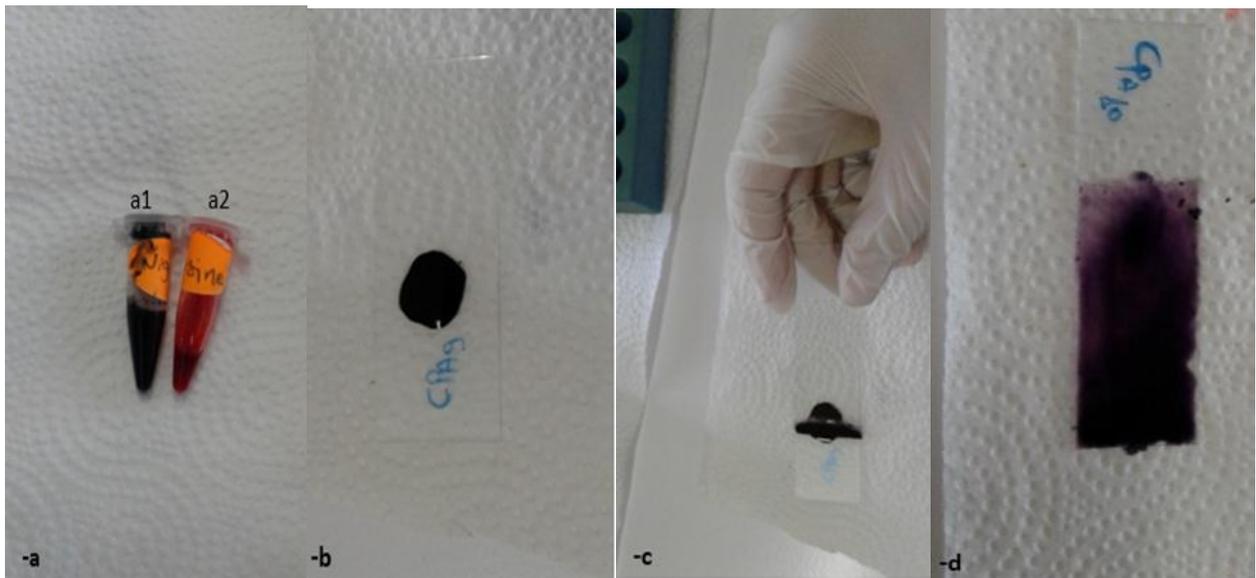


Figure 13 : Les différentes étapes de l'analyse de la vitalité des spermatozoïdes.

- a- Colorants utilisés pour l'analyse de la vitalité (a2 - éosine et a1 -nigrosine).
- b- Dépôt de la semence diluée et ajout de l'éosine –nigrosine.
- c- Etalement du mélange à l'aide d'une lame inclinée à 45°.
- d- Séchage de la lame 1 à 2 mn.

On considère vivants, les spermatozoïdes qui se colorent en blanc et morts ceux qui se colorent en rose (**Figure14**).

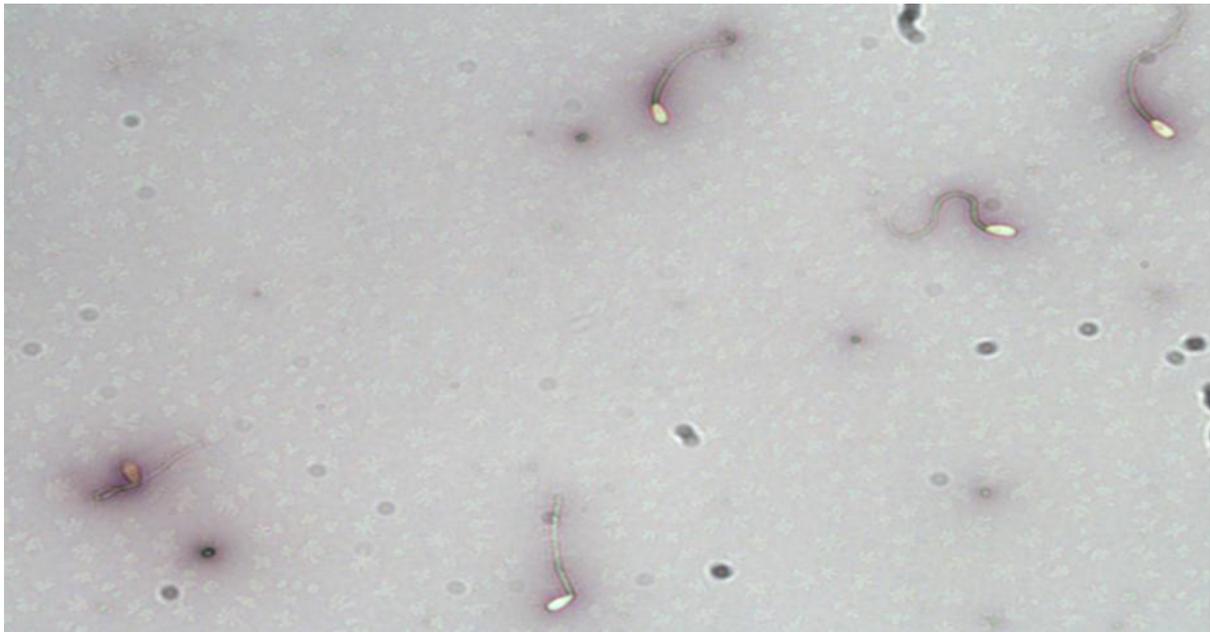


Figure 14 : Une image qui représente un spermatozoïde coloré en rose (mort) et le reste qui sont non colorés (vivants).

4. Analyse des résultats

Les résultats obtenus ont été traité par le logiciel CASA

Toutes les données et analyses statistiques ont été exécutées dans le système d'analyses statistiques sur View ; version 5.0 (SAS Institute Inc 1998). L'analyse des principaux facteurs de variations des paramètres relatifs à la mobilité. Suivies d'une régression logistique à l'aide du logiciel ANOVA .

Les paramètres cinétiques de la mobilité sont :

VLC, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH, BCF.

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

-aire de particules est comprise entre 3 à 70 μm .

-classification des spermatozoïdes par type selon que :

VCL et VAP $\leq 10 \mu\text{m/s}$: spermatozoïdes lents

$10 \leq \text{VAP} \leq 45 \mu\text{m/s}$: spermatozoïdes moyens

$45 \leq \text{VLC et VAP} \leq 75 \mu\text{m/s}$: spermatozoïdes rapides

-STR supérieur ou égale à 80 % indique une bonne semence.

5. Résultats et discussion

5.1. Motilité

La vitesse des spermatozoïdes est l'un des éléments clés dans le processus de fertilisation, qui a été également démontré dans un nombre d'études (**Gage et al, 2004 ; Holt et al.,1989**).

Les résultats de la motilité des spermatozoïdes sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 3 : représente la moyenne de VCL, VSL, VAP et STR en (um/s), ALH en (um), BCF (Hz) et LIN en (%).

	VCL	VAP	VSL	LIN	STR
Semence Saanen	41,76	25,56	18,75	58,6	38,6
Semence Alpine	46,83	38,02	31,96	77,46	63,51

VCL, Curvilineare Velocity ; VSL, Straight –Line Velocity ; VAP, Average Path Velocity.

Dans notre étude la LIN des spermatozoïdes de la semence Saanen et Alpine était respectivement de 58,6 % et 77,46 %.

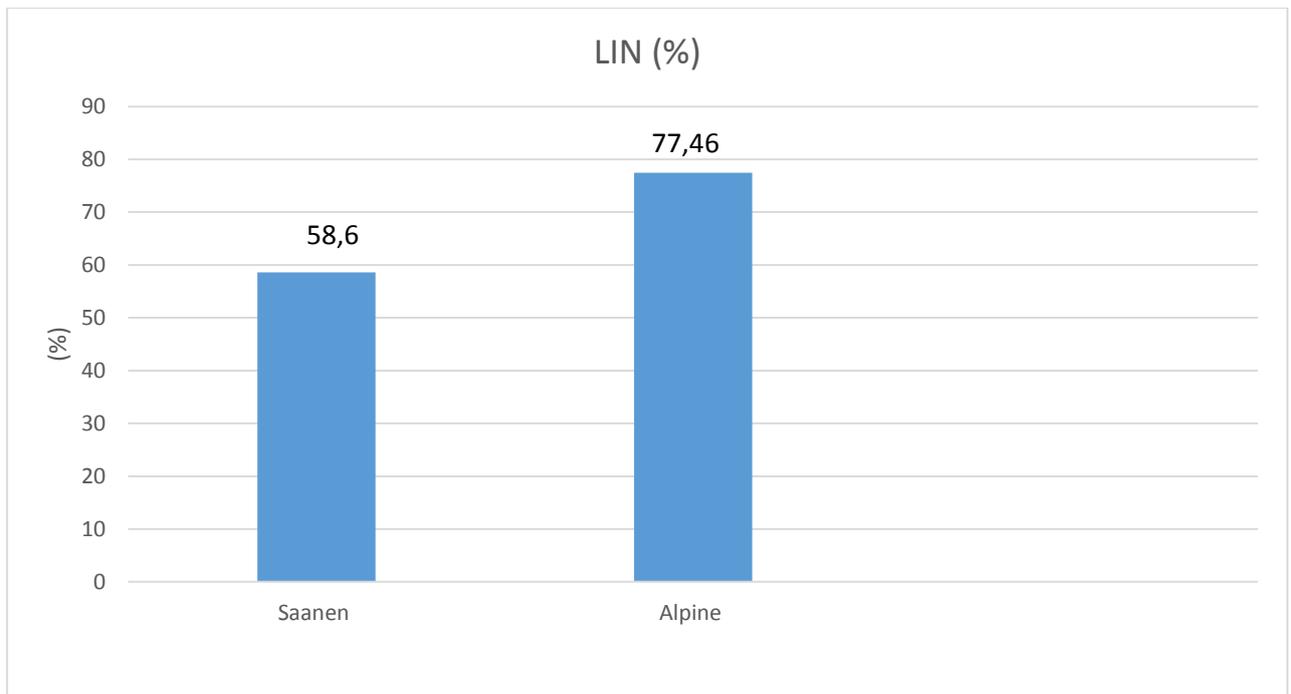


Figure 15 : Graphe représentant le % la LIN de la semence des deux races Saanen et Alpine.

La VSL, vitesse rectiligne des spermatozoïdes de la semence des deux races étudiées Saanen et Alpine, a représenté des valeurs qui sont respectivement de 58,6 % et 77,46 %.

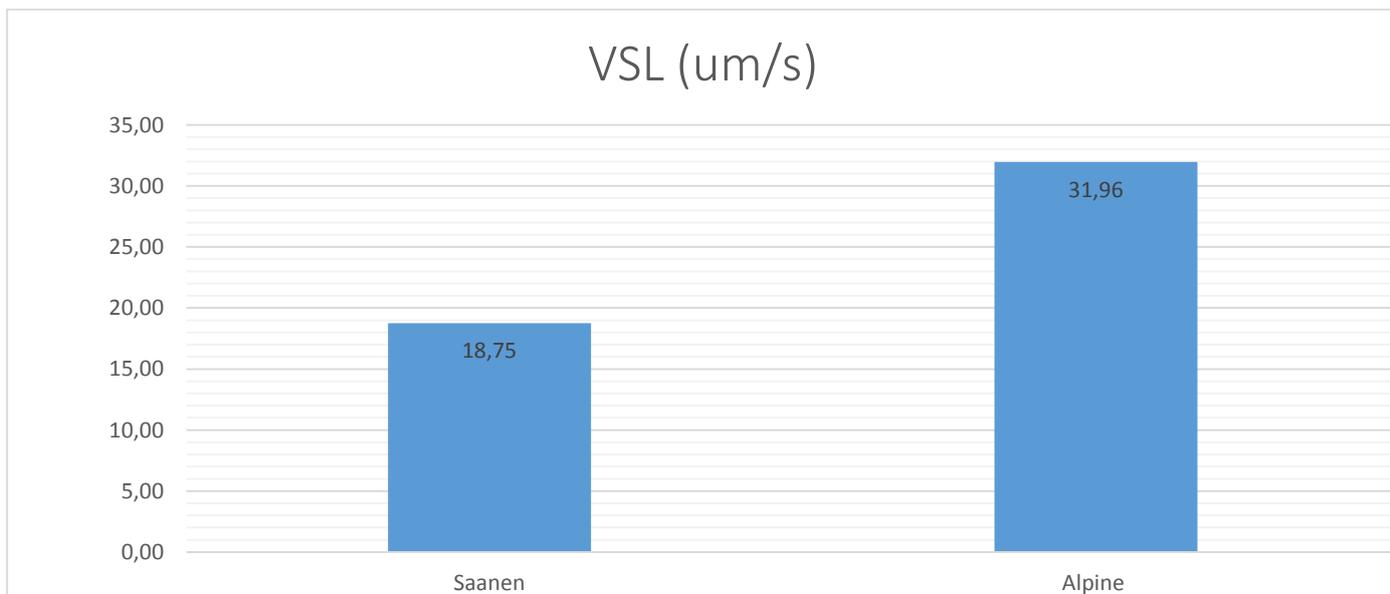


Figure 16 : Graphe représentant la VSL (um/s) de la semence des deux races Saanen et Alpine.

VAP, vitesse moyenne des spermatozoïdes a montré une valeur de 25,56 $\mu\text{m/s}$ pour la semence Saanen et 38,02 $\mu\text{m/s}$ pour la semence Alpine.

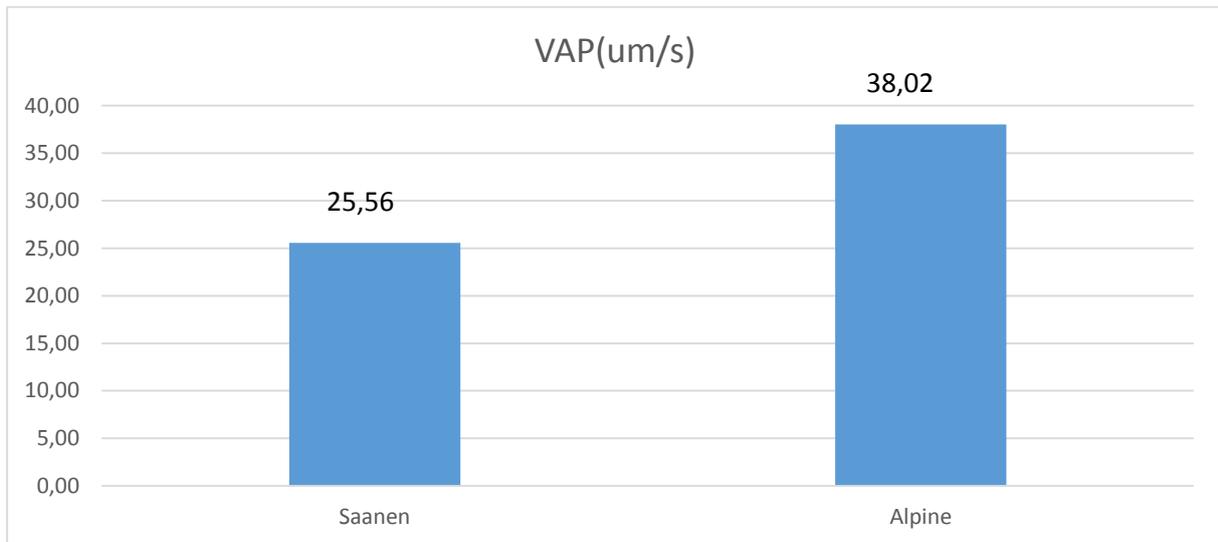


Figure 17 : Graphe représentant la VAP ($\mu\text{m/s}$).

L'analyse de la vitesse curviligne des spermatozoïdes VCL a présenté des valeurs qui sont respectivement de 41,76 $\mu\text{m/s}$ et de 46,83 $\mu\text{m/s}$, pour la Saanen et l'Alpine.

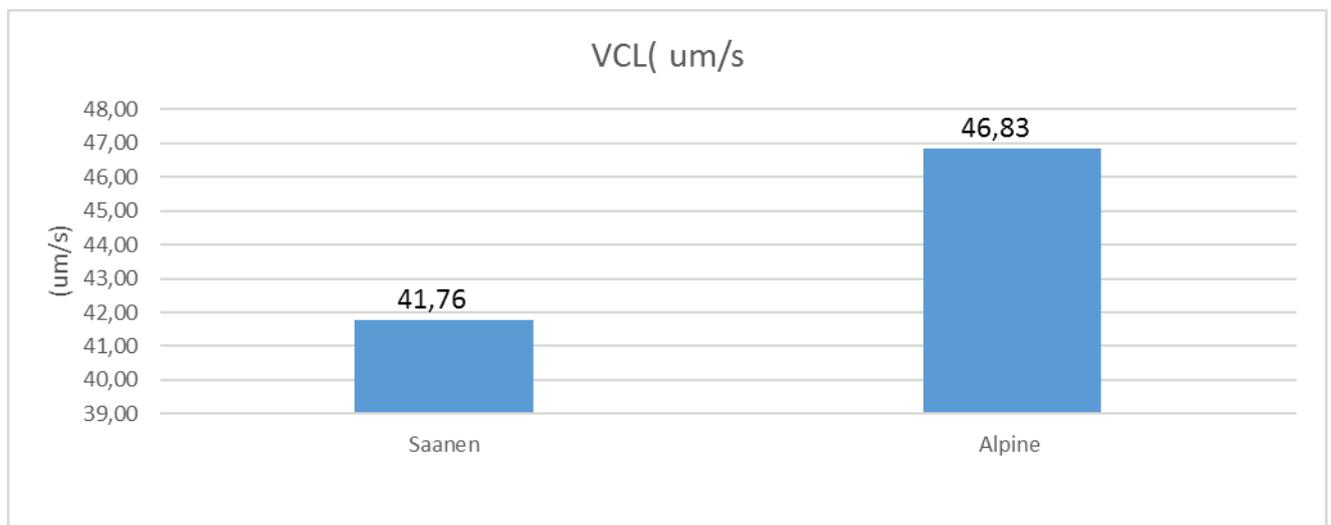


Figure 18 : Graphe représentant la VCL ($\mu\text{m/s}$).

Le graphe suivant montre les valeurs de la STR de la semence Saanen et Alpine sont respectivement de 38,6% et 63,51% .

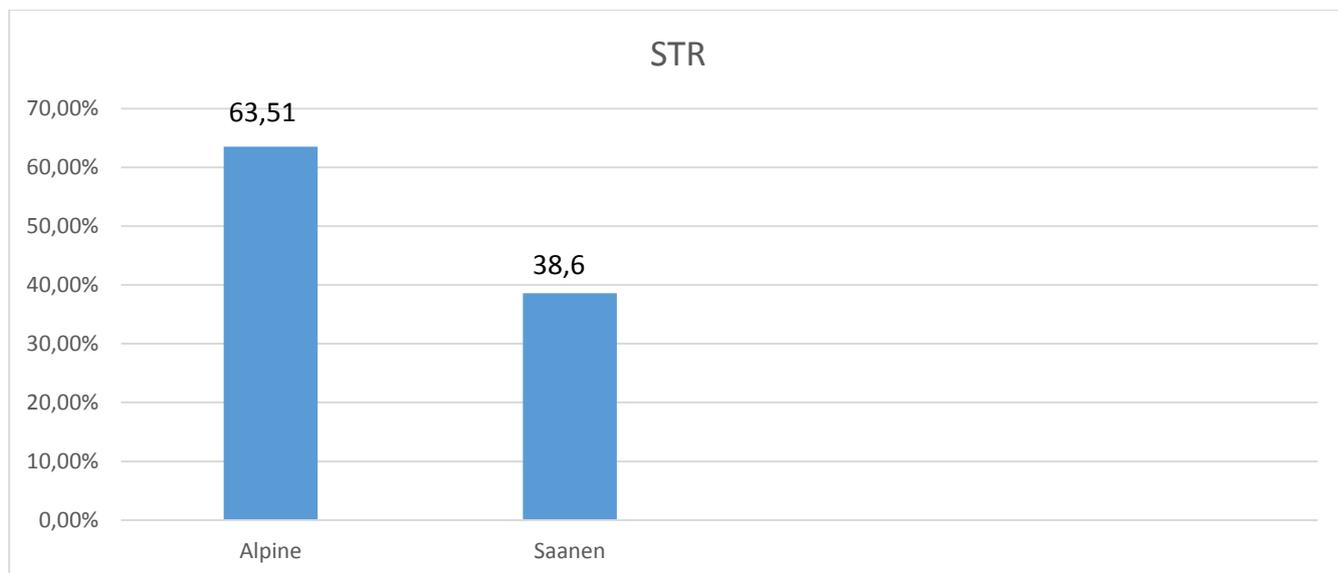


Figure 19 : Graphe représentant la STR.

La VCL et la VAP doivent être comprises entre 45 $\mu\text{m/s}$ et 75 $\mu\text{m/s}$ pour classer les spermatozoïdes de rapides, (Manuel CASA).

La LIN représente le % de linéarité de la trajectoire curviligne ; C'est l'un des plus importants paramètres de mobilité du spermatozoïde. Ce dernier doit consommer moins d'énergie pendant son chemin vers l'oviducte et plus précisément l'ampoule pour pouvoir féconder l'ovocyte (**CASA**).

D'autres décrivent la mobilité progressive comme étant une VAP supérieure à 30 $\mu\text{m/s}$ et une rectitude (STR) supérieure à 50 % (**Brinsko et al., 2003**). Vidament a défini la mobilité progressive comme étant une vitesse supérieure à 40 $\mu\text{m/s}$ et une linéarité supérieure à 80% (**Vidament, 2005**).

Le fait d'avoir le meilleur pourcentage de VSL dans la semence Alpine pourrait renforcer les barrières membranaires cellulaires des SPZ, ce qui permettrait une meilleure protection de la cellule lors de la réfrigération. D'ailleurs, le traitement du sperme avec le cholestérol avant la conservation à 4°C, pourrait réduire la sensibilité des membranes des SPZ aux dommages de refroidissement, en éliminant ou en réduisant la séparation de phases latérales des lipides (**Mocé et al., 2009**).

5.2. Pourcentage des spermatozoïdes motiles

Les résultats sont exprimés en taux de motilité individuelle des spermatozoïdes après dégel

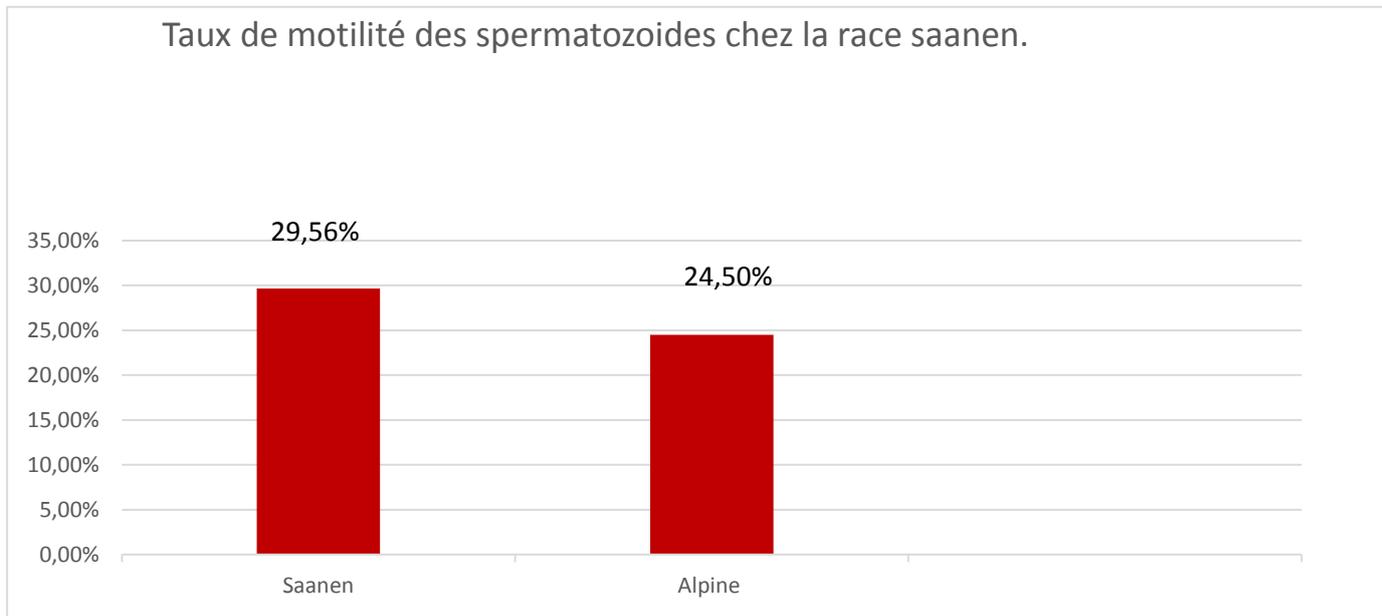


Figure 20 : Taux de motilité des spermatozoïdes chez la race Saanen et Alpine.

On a obtenu des résultats indiquant une baisse du taux de motilité chez les deux races, un taux de de 29,65% enregistré pour la semence de la race Saanen et de 24,50 % chez l'Alpine comme nous pouvons le constater dans le graphe ci-dessus (**Figure 22**).

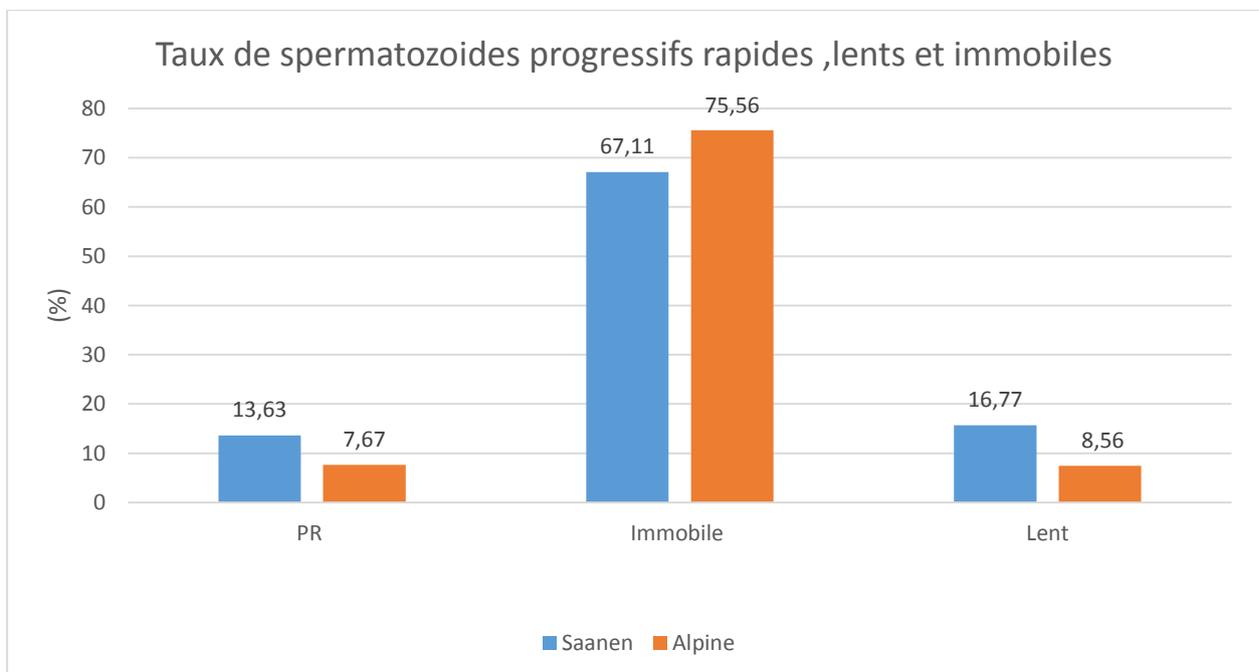


Figure 21 : Moyenne des vitesses de progression des spermatozoïdes à l'examen de motilité individuelle de la semence (Alpine et Saanen).

Il ressort de la (**figure 23**) qui représente les modalités retenues pour les vitesses de progression des spermatozoïdes à savoir : (PR : progressif rapide et immobile) des pourcentages enregistrés des spermatozoïdes progressifs rapides des semences Saanen et l'Alpine qui sont respectivement de 13,6% et 7,67%. Le taux de spermatozoïdes qui sont immobiles est de 67,11% pour la semence de la race Saanen et de 75,56% pour l'Alpine. On note une hausse significative du taux des spermatozoïdes immobiles du sperme des deux races, et une baisse très marquée du taux de spermatozoïdes progressifs rapides pour les deux échantillons en dessous de 14 %, mais qui relativement plus marqué pour la semence

D'après Hanzan, un sperme de très bonne qualité (4) doit posséder au moins 80 à 100 % de spermatozoïdes mobiles. Un sperme de bonne qualité (3) aura 60 à 79 % de spermatozoïdes mobiles. Un sperme de qualité correcte (2) aura 40 à 59 % de spermatozoïdes mobiles et enfin un sperme de faible qualité (1) aura moins de 40 % de spermatozoïdes mobiles. (**Hanzen,2006**).

Selon les auteurs la baisse de qualité du sperme après décongélation est due à des facteurs liés à la congélation et conservation de cette dernière. Les techniques de congélation détériorent la qualité de la semence. (**Batista et al., 2009**). À -196°C, température de l'azote liquide, les réactions métaboliques sont suspendues (**Bakhach et al., 2007**). La conservation des cellules à ces températures cryogéniques est théoriquement efficace pour des centaines d'années. D'ailleurs, la principale cause de dommages cellulaires est davantage attribuée aux variations de température lors des processus de congélation et de décongélation qu'à leur entreposage dans l'azote liquide (**Bakhach et al, 2007**).

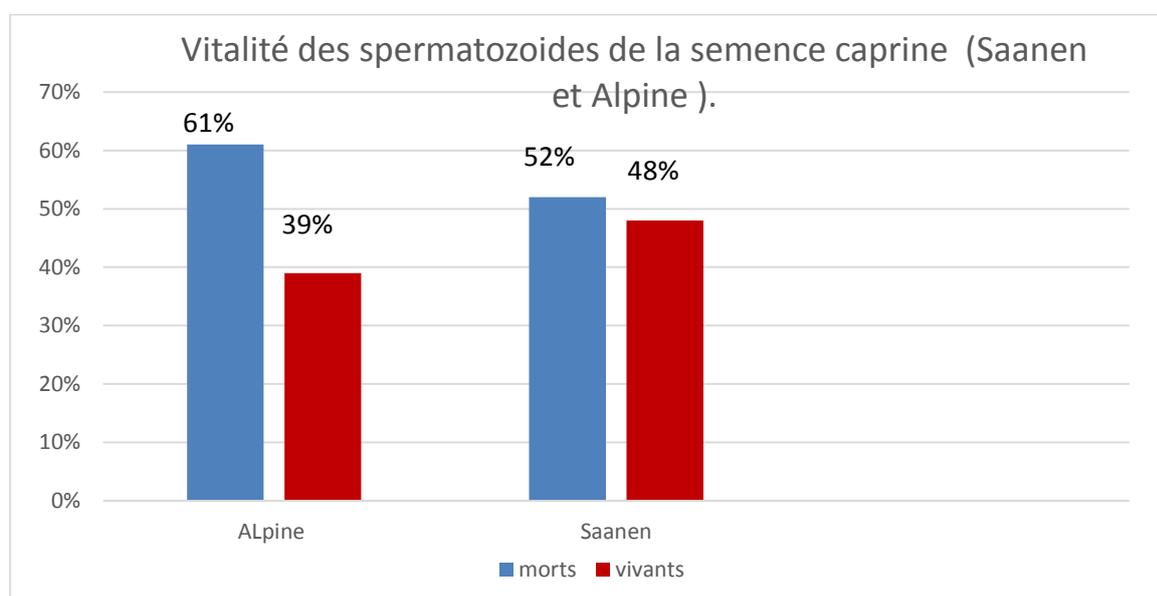


Figure 22: Vitalité des spermatozoïdes de la semence caprine des deux échantillons (races Alpine et Saanen).

On constate, d'après le graphe représenté par la **(figure 24)** une hausse du taux de mortalité des spermatozoïdes de la semence des deux races Saanen et Alpine qui est respectivement de 52% et de 61%. Selon (Colas et al,1975 ; Colas, 1980) le taux de spermatozoïdes morts ou anormaux devrait se situer entre 20 et 26%. On note que le taux de mortalité des spermatozoïdes dépasse largement 26%. D'après les auteurs le choc thermique et les changements rapides de température allant essentiellement de 35 à 15°C et de 0 à -80°C. **(Bakhach et al., 2007)** affectent la qualité de la semence. Ces variations de température créent des changements de l'arrangement des constituants lipidiques membranaires et mènent à l'altération des fonctions métaboliques du spermatozoïde. **(Medeiros et al)**. Il s'ensuit une perte de motilité et de perméabilité sélective de la membrane au calcium. **(Medeiros et al., 2002)**. Lorsque la concentration intracellulaire en calcium est très élevée, la motilité et la fertilité sont réduites **(Collin et al., 2000)**. Il en va de même pour la viabilité du spermatozoïde. **(Simpson et White, 1986)**. Le degré de dommage structurel dépend de la température et de la constitution en lipides des membranes. **(Bailey et al., 2003)**.

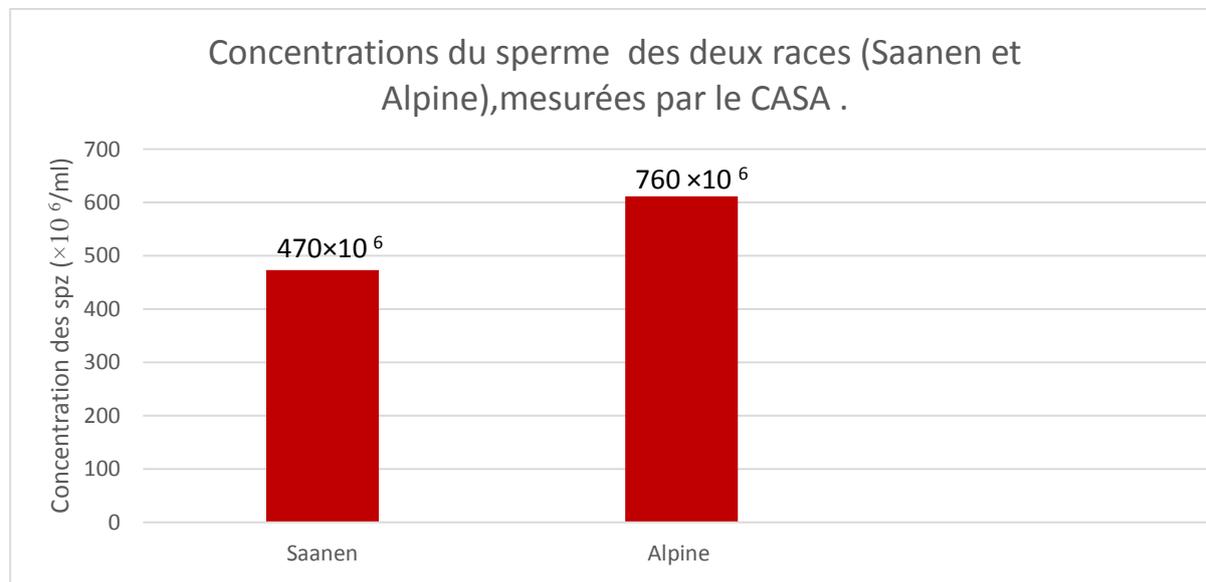


Figure 23 : Concentrations du sperme des deux races Alpine et Saanen, mesurées par le système CASA.

Le graphe représenté dans la **(figure 25)** indique les concentrations du sperme mesurées par le système CASA. On note une concentration spermatique de 470×10^6 spz /ml de l'échantillon analysé pour la semence Saanen et un taux plus élevé pour la semence Alpine alors qui est de

760×10⁶ spz/ml. D'après **(Corteel, 1977)**. Chez les races saisonnées, la concentration spermatique suit une évolution inverse de celle du volume, elle est élevée en dehors de la saison de reproduction et faible en saison sexuelle. Comme ils peuvent être expliqués par la dilution effectuée pour l'analyse du sperme.

6. Analyse statistique des résultats obtenus par le CASA

Une régression logistique a été réalisée à l'aide du logiciel ANOVA. On a obtenu les résultats suivants :

On ne retient que les paramètres présentant des variations significatives.

6.1. La vitalité de la semence après dégel

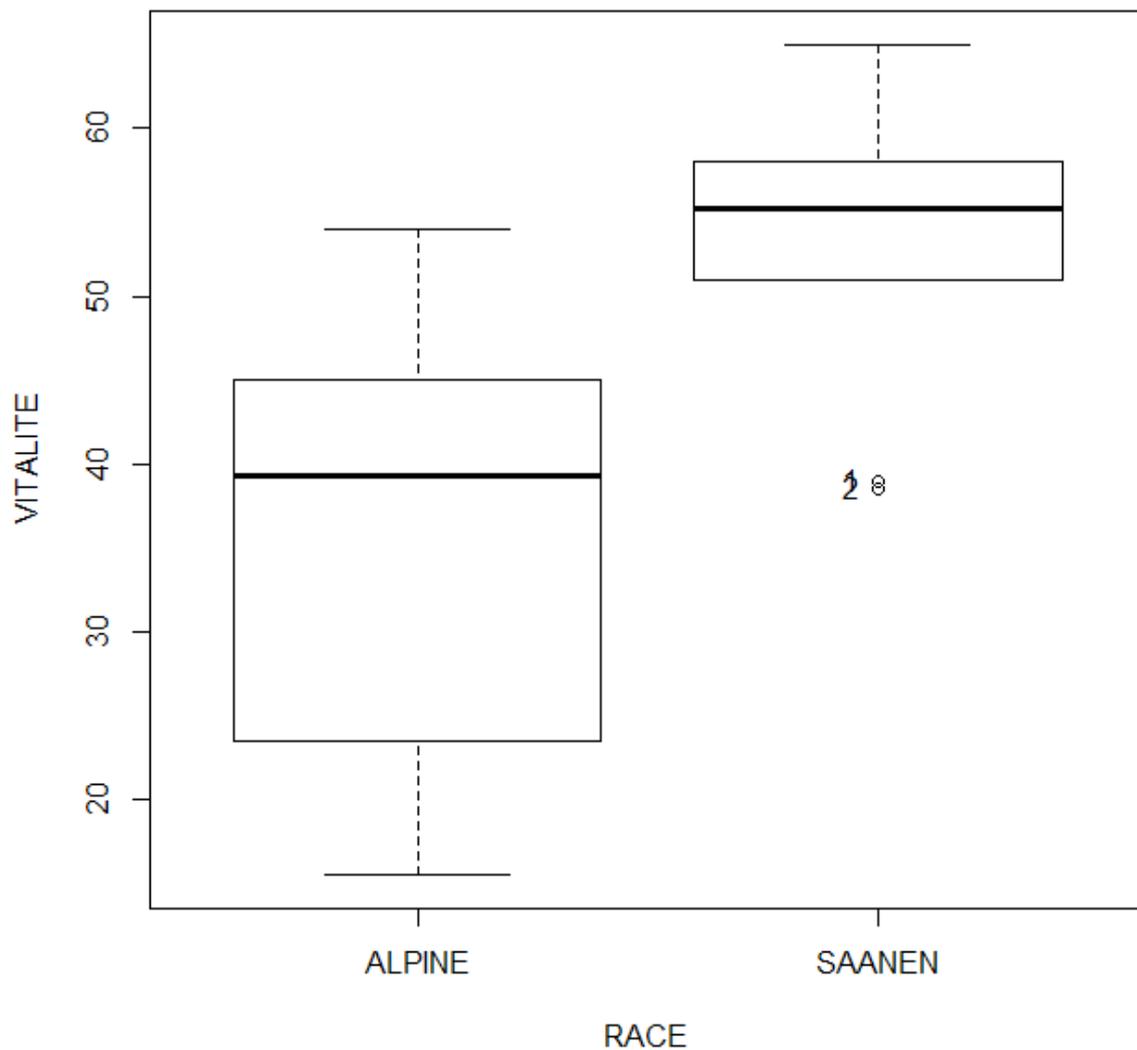


Figure 24 : Analyse statistique du paramètre de la vitalité.

On note une différence significative du taux de spermatozoïdes vivants pour la semence Saanen.

6.2. La concentration de la semence après dégel

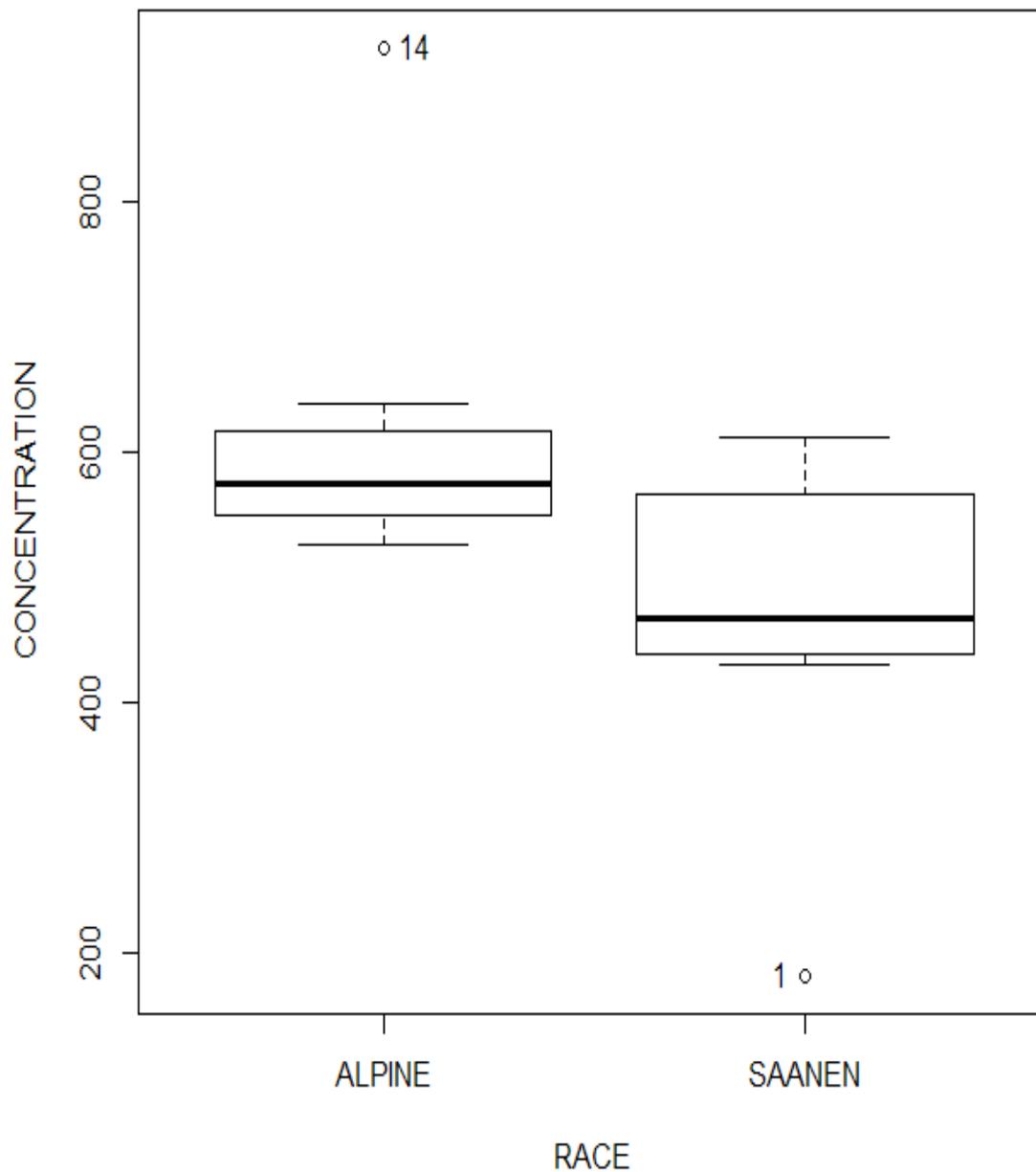


Figure 25 : Analyse statistique de la concentration du sperme après dégel.

L'analyse statistique des résultats de la concentration spermatique montre une variation peu significative entre la semence des deux races en faveur de la Saanen.

6.3. Analyse statistique des résultats de la progression des spermatozoïdes
PR : taux de spermatozoïdes progressifs rapides

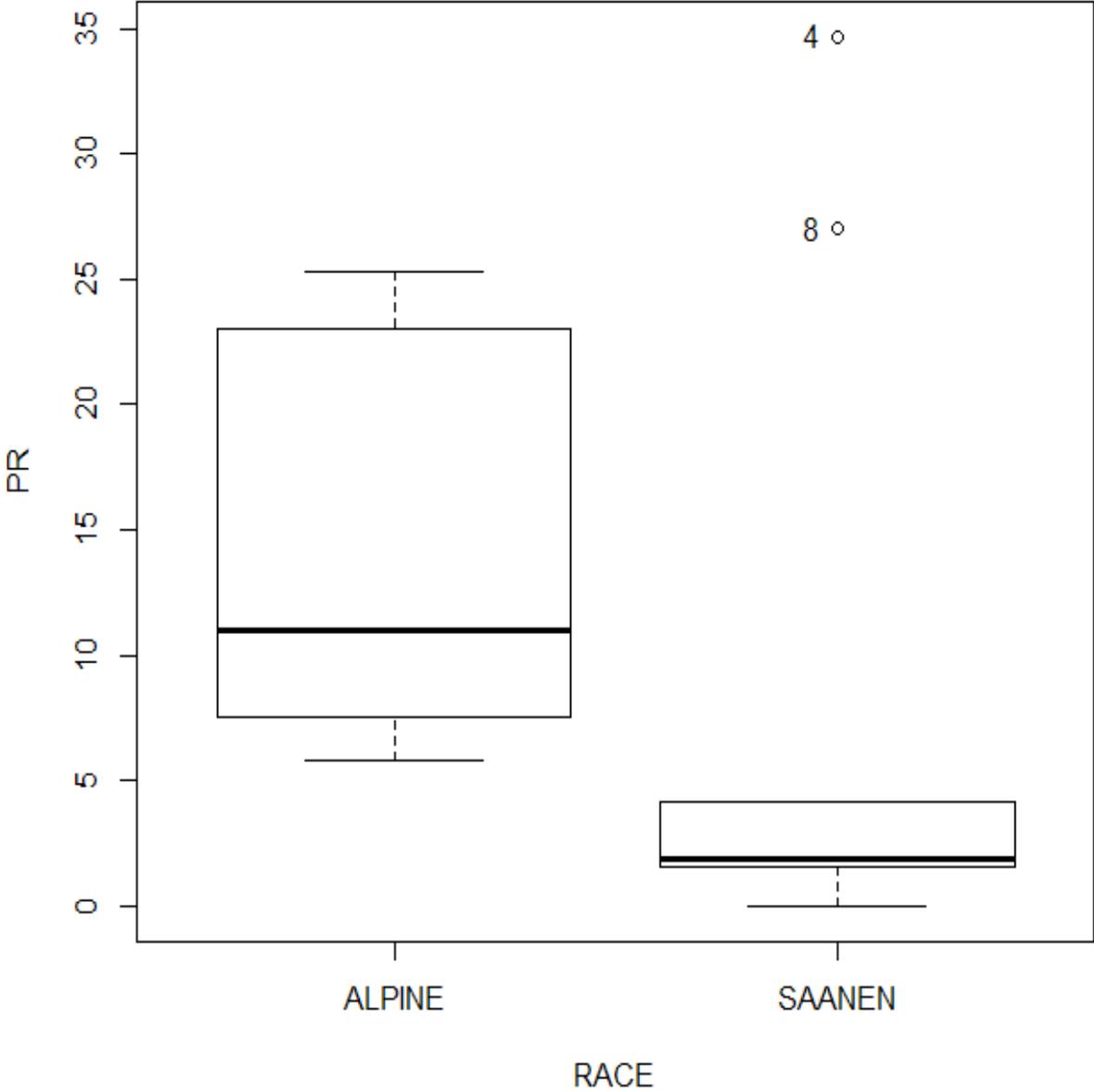


Figure 26 : Taux de spermatozoïdes progressifs rapides.

L'analyse ci-dessus montre une différence même peu significative en faveur de la semence Alpine.

NP :Taux de spermatozoides non progressifs

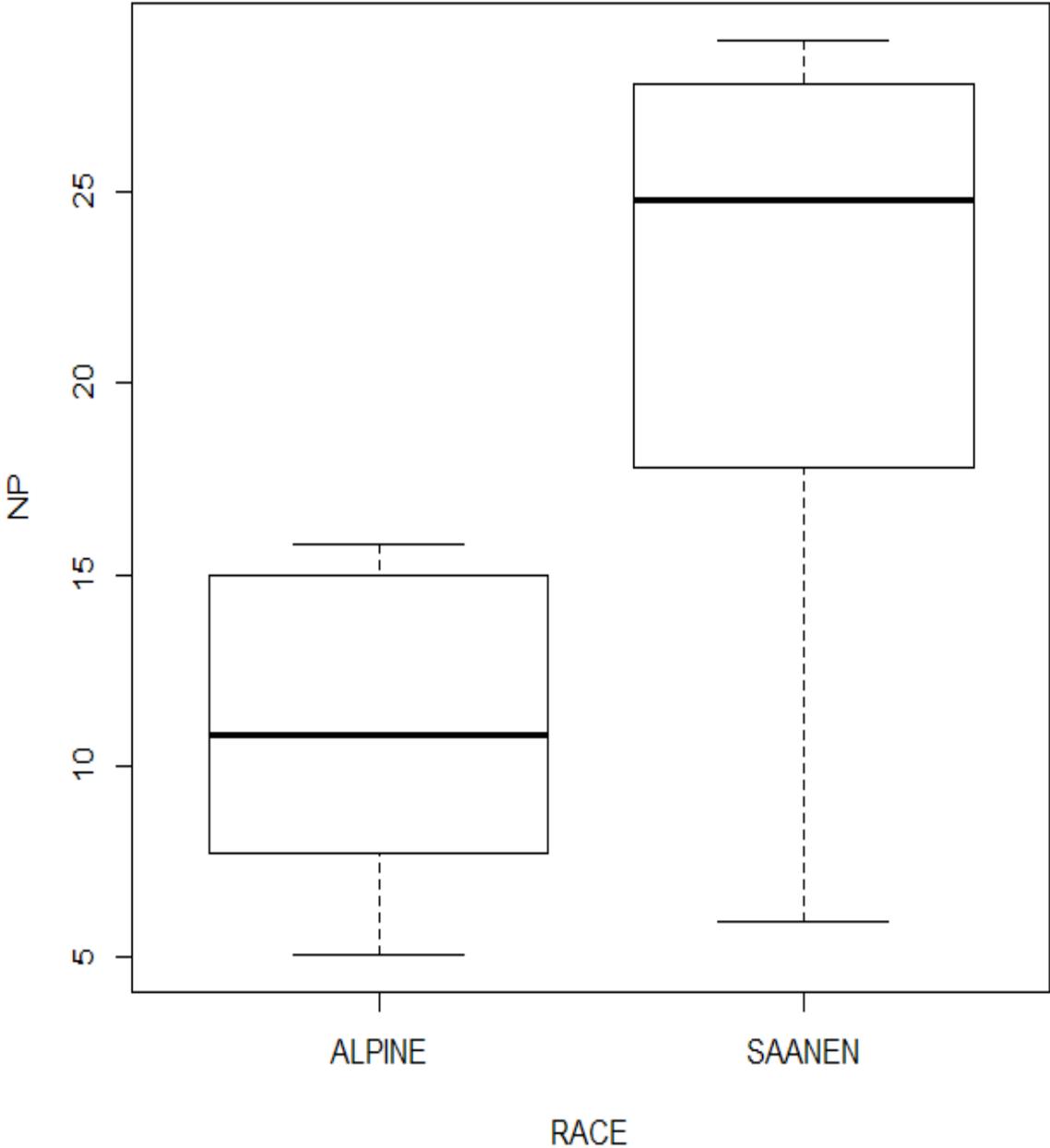


Figure 27 : Taux de spermatozoides non progressifs.

L'analyse statistique des résultats de différence du taux de spz NP s'est avérée très significative en faveur de la semence Saanen, ce qui mène à confirmer le taux élevé de spz non progressifs chez cette dernière.

Taux de spermatozoïdes lents :

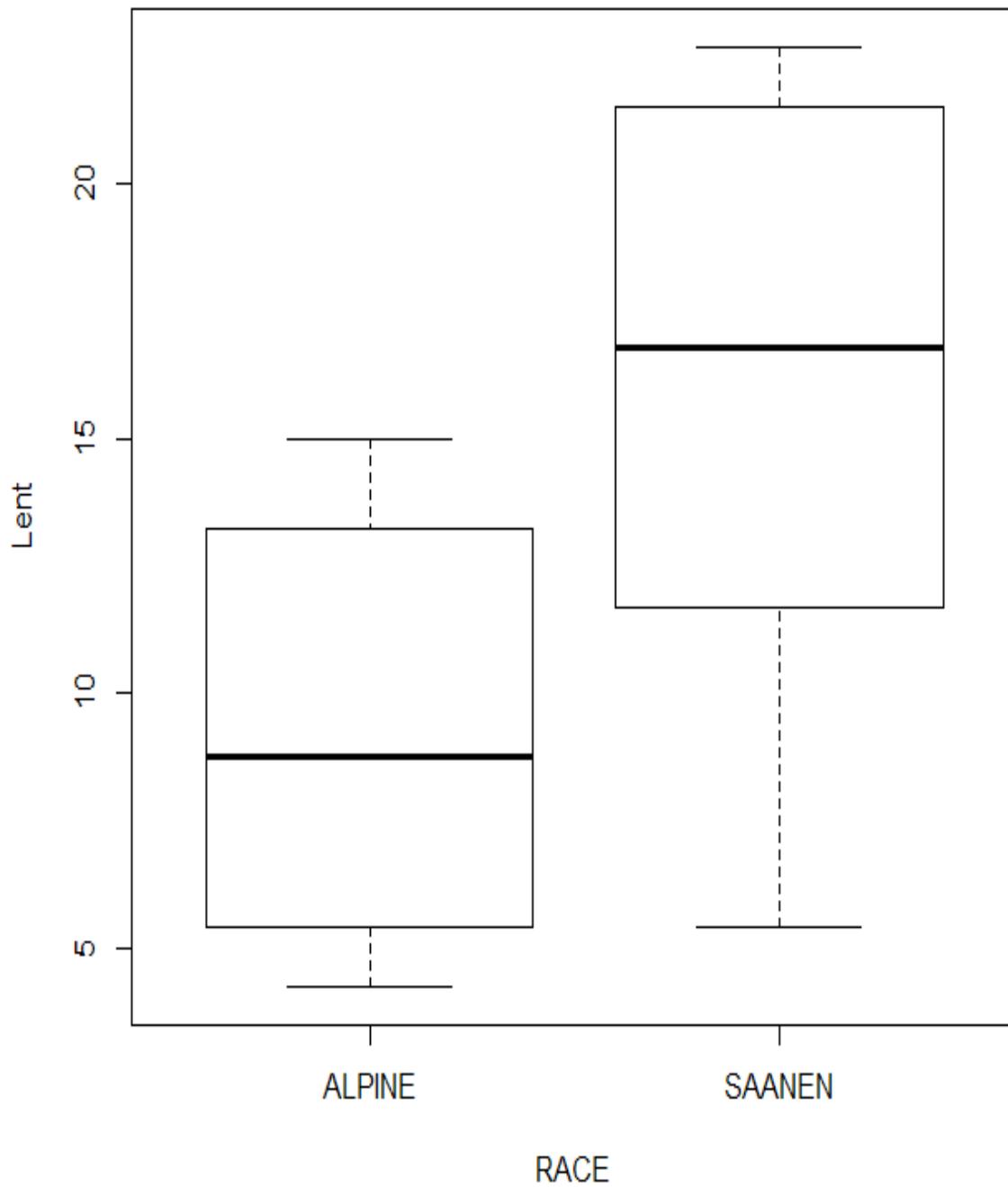


Figure 28 : Taux de spermatozoïdes lents.

On note une variation très significative du taux de spermatozoïdes lents en faveur de la semence Saanen.

6.4. Analyse statistique de la motilité progressive individuelle

VAP : vitesse moyenne du trajet $\mu\text{m/s}$

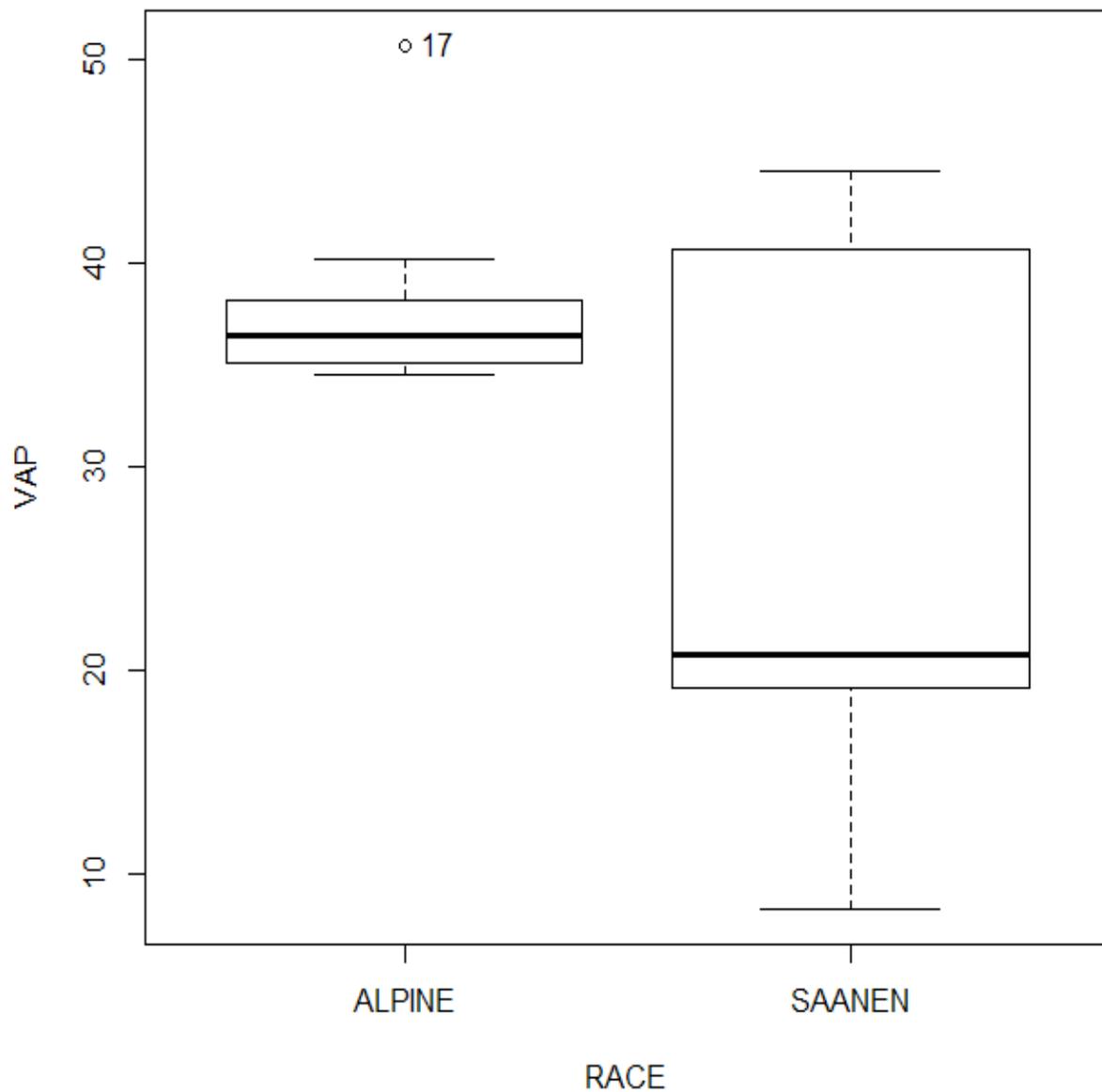


Figure 29 : Analyse statistique de VAP.

On note une variation très importante de la VAP et ce en faveur de la semence Alpine.

STR Rectitude ou linéarité de la trajectoire moyenne (VSL / VAP) (%)

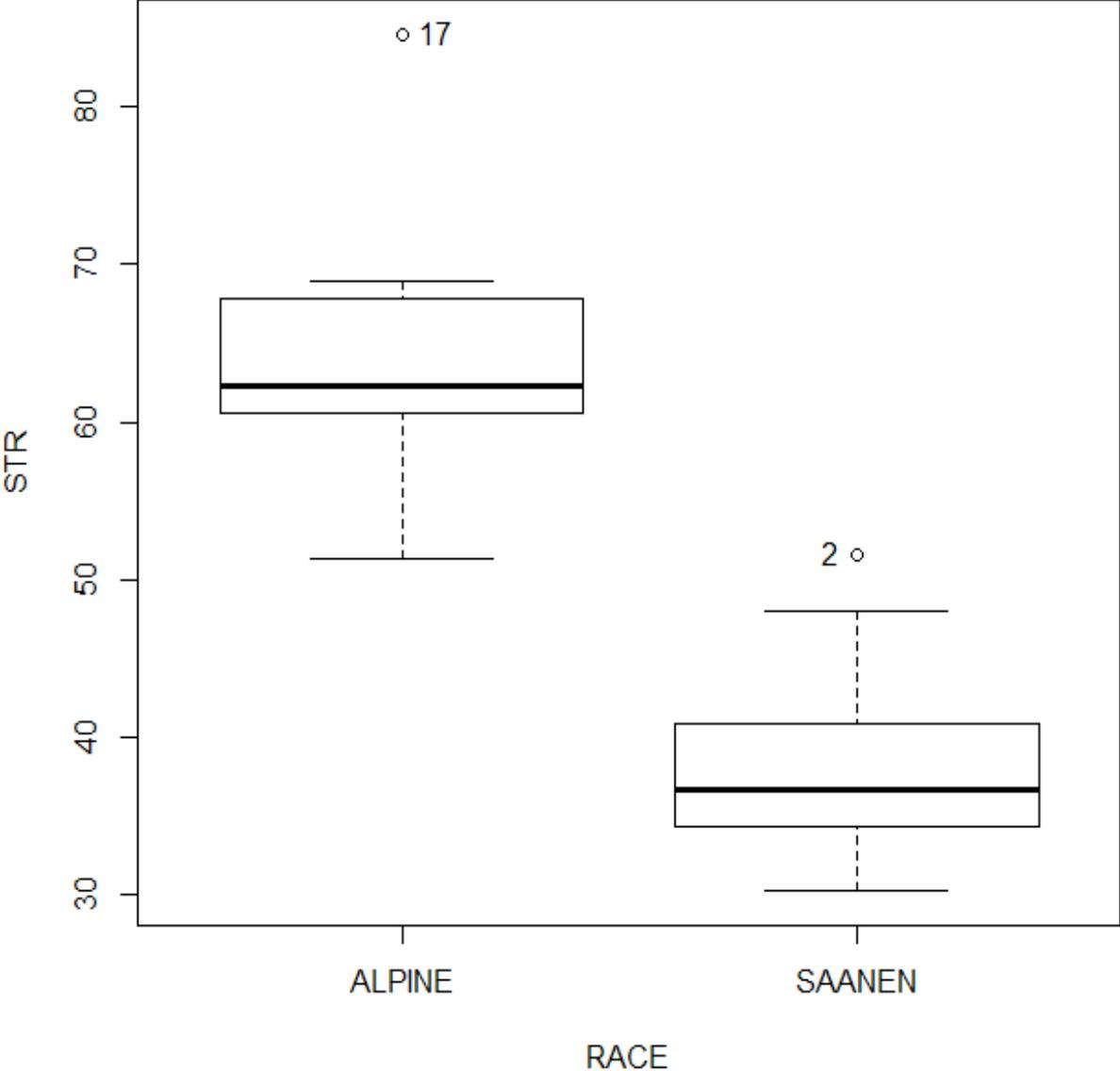


Figure 30 : Analyse statistique des résultats de la STR.

On note une variation significative de la STR et ce en faveur de la semence Alpine

LIN : Linéarité de la trajectoire curviligne (rapport VSL/VCL) (%)

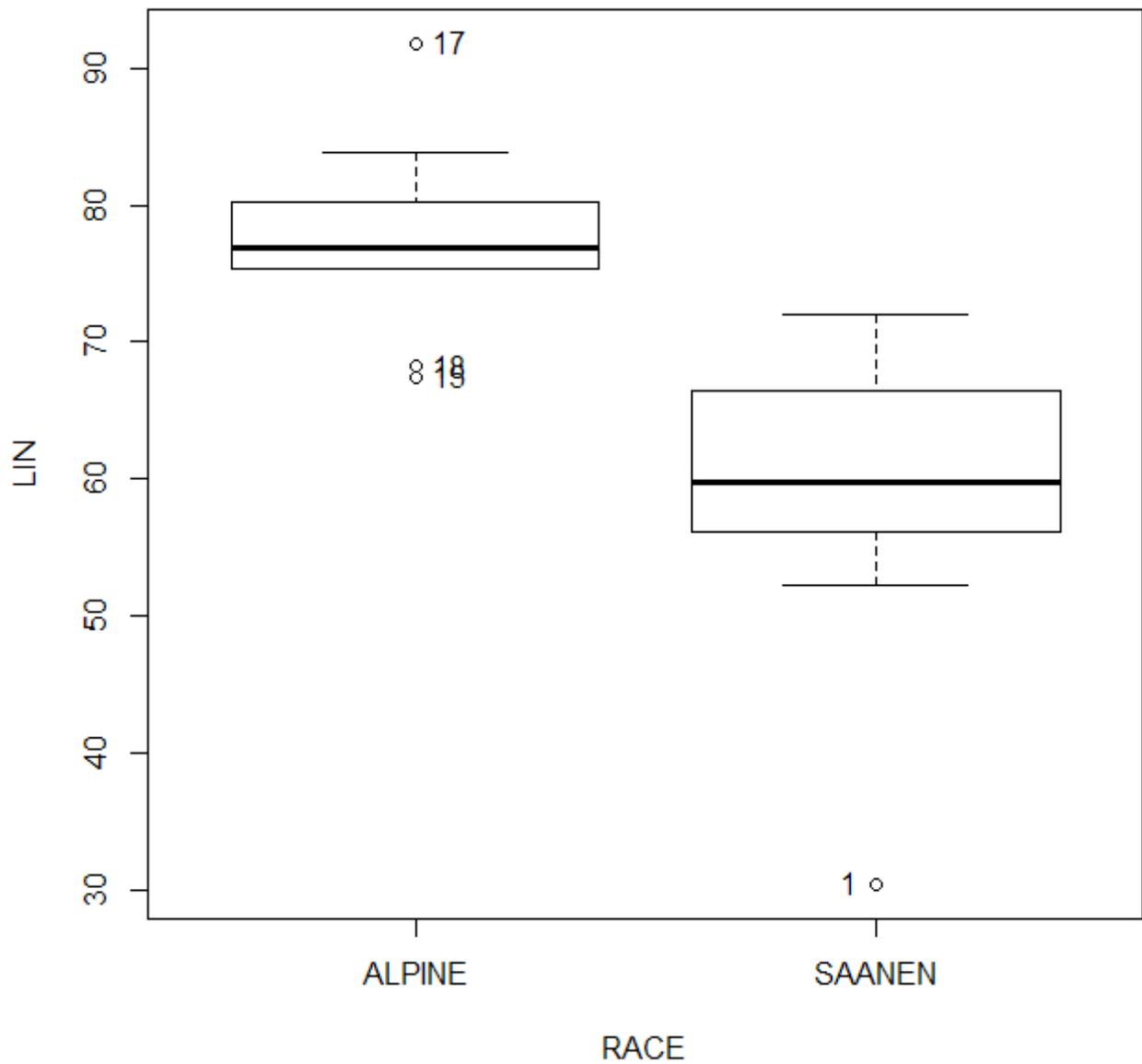


Figure 31 : Analyse statistique des résultats de la LIN.

On note une variation significative de la LIN en faveur de la semence Alpine.

VSL : Vitesse linéaire ($\mu\text{m/s}$)

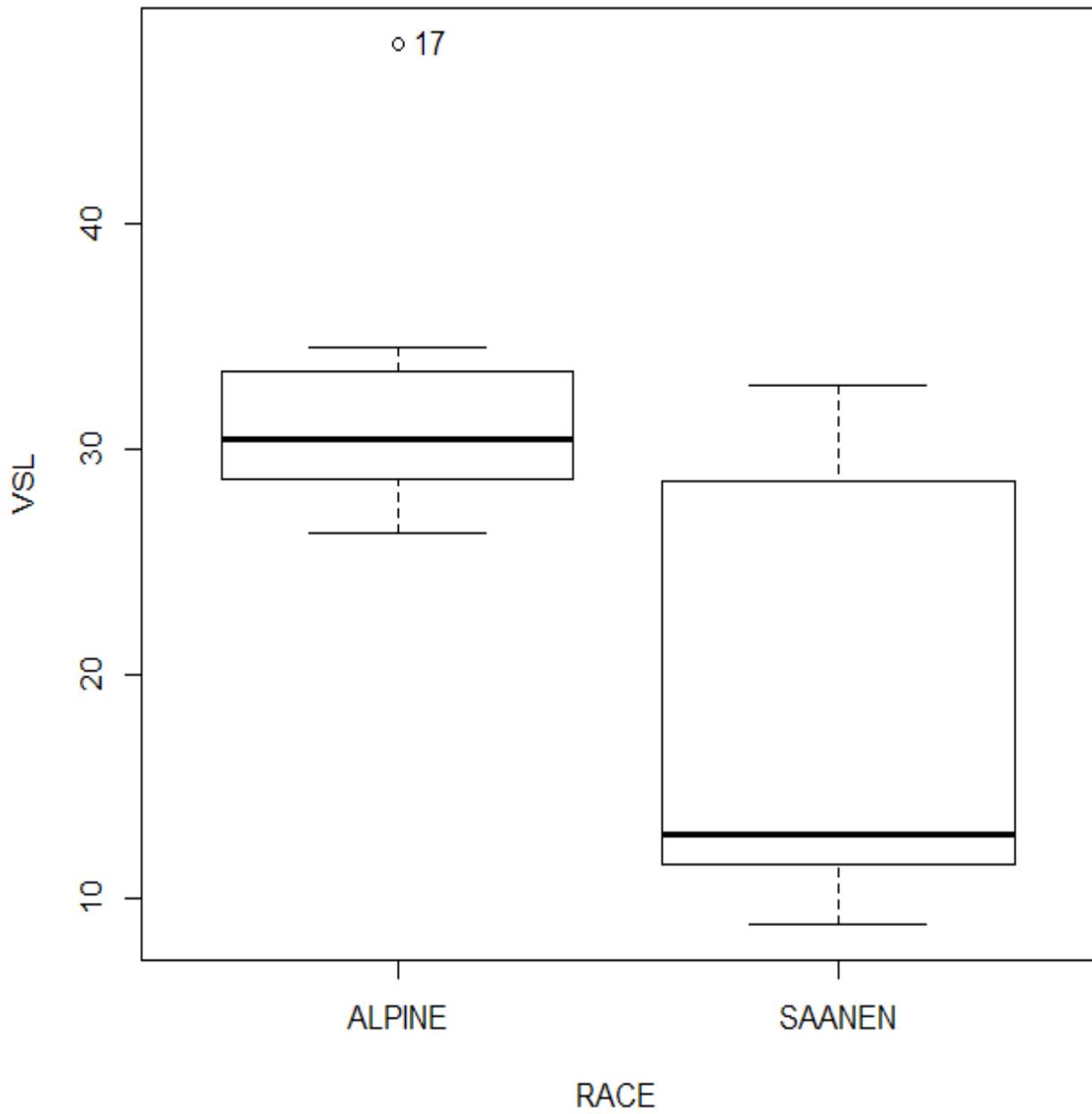


Figure 32 : Analyse statistique de la VSL.

On note une différence significative en faveur de la semence Alpine encore une fois.

Partie II : Fertilité des femelles inséminées avec la semence congelée

Par ailleurs, c'est sur des élevages traditionnels qu'avait eu lieu l'expérimentation. Nous avons opté pour 40 chèvres adultes ou chevrettes ayant leur poids optimal à la mise en reproduction (de plus de 8 mois d'âge). Dont 31 parmi elles ont été toutes soumises au traitement progestatif (Chronogest) et 9 chèvres en chaleurs naturelles. L'induction d'œstrus par voie hormonale est basée sur le maintien d'une éponge vaginale pendant 14 jours et de deux injections intramusculaires, l'une de PGF2a à **J9**, l'autre de PMSG à **J14** avec retrait de l'éponge. Les femelles ont été inséminées à des moments bien déterminés après retrait de l'éponge afin de déduire le moment optimal de l'insémination.

1. Matériel

1.1. La semence de boucs des deux races (Saanen et Alpine)

Cette semence est conditionnée en paillettes de 0,25 ml. Chaque paillette est identifiée par un code couleur qui révèle la race, et par un code barre qui assure la traçabilité (nom du bouc, centre de production, date de conditionnement). Les paillettes sont congelées afin d'assurer la bonne conservation des spermatozoïdes. Avant utilisation, elles sont réchauffées à 37°C pendant 20 à 30 secondes dans un décongélateur.

1.2. La cuve d'azote pour le stockage et la conservation des paillettes

L'azote est un gaz liquide qui maintient la semence congelée à une température de -196°C. L'organisation des paillettes dans la cuve se fait selon un plan de cuve bien précis. Les paillettes sont regroupées dans des canisters, sorte de récipients en métal que l'on peut monter et descendre dans la cuve.



Figure 33 : Cuve d'azote.

1.3. Le pistolet d'insémination

La paillette se monte sur un pistolet d'insémination : longue tige de métal qui permet le dépôt de semence à l'entrée du col de l'utérus de la chèvre. A son extrémité : un poussoir permet de libérer la semence décongelée.

1.4. Autres matériels

Le speculum, anneaux bloqueurs, gants de latex, ciseaux tranchants, gaines d'insémination, lampe de poche, lubrifiant non-spermicide, lunettes de protection, papier essuie-tout, pistolet d'insémination, thermomètre, chaise d'insémination.

2. Technique de l'insémination artificielle

2.1. Préparation de la paillette

À l'aide de pinces de métal sortir la paillette désirée du biostât, on plonge la paillette dans l'eau à 37° C pendant 30 secondes. On retire la paillette et l'essuyer avec du papier brun. On insère la paillette par l'embouchure de coton dans le pistolet d'insémination et laisser dépasser la paillette de 5 cm environ. On coupe le bout scellé de la paillette (bille, bouchon ou aplatie). On enfle une gaine de plastique par-dessus le pistolet. Puis on fixe la gaine de plastique à l'aide de l'anneau bloqueur. On pousse sur le piston du pistolet de métal jusqu'à la paillette (on sent une légère résistance). On peut conserver le pistolet dans la manche ou dans le dos pour éviter le choc thermique.

2.2. Préparation du spéculum et de la femelle

Un assistant soulève l'arrière train de la femelle, on insère délicatement le spéculum dans le vagin des femelles, après l'avoir lubrifié. A l'aide d'une source lumineuse, on identifie le col de l'utérus, ayant l'apparence d'une rosette rouge.



Figure 34 : matériels d'insémination (de gauche à droite) : gaines d'insémination, le pistolet, le spéculum et la source lumineuse).

2.3. Dépôt de la semence dans les voies génitales femelles

On introduit doucement le pistolet dans l'ouverture du spéculum, tout en le guidant au col, On dépose le bout de la paillette à l'entrée du cervix, puis on appuie lentement sur le piston du pistolet pour déposer la semence à l'entrée du col. Enfin, on sort le spéculum en le maintenant ouvert et on dépose doucement l'animal par terre.



Figure 35 : Réalisation de l'IA et dépôt de la semence (a : insertion de spéculum et identification du col de l'utérus ; b et c : dépôt de la semence).

3. Résultats et discussion

Tableau 4 : Fertilité des chèvres Saanen après insémination artificielle.

Saanen(20 chèvres)	Femelles inséminées	Taux de gestation %	Taux de mises bas %	Taille de la portée
Chaleurs induites	15	4 24,13%	24,13%	1,75
Chaleurs naturelles	5	1 20%	20%	1

Tableau 5 : Fertilité des chèvres Alpines après insémination artificielle.

Alpine (20 chèvres).	Femelles inséminées	Taux de gestation	Taux de mises bas	Taille de la portée
Chaleurs induites	16	7 42,30%	42,30%	2
Chaleurs naturelles	4	1 25%	25%	1

La présente étude s'est intéressée à l'efficacité des IA à la suite de la détection des chaleurs naturelles ainsi que les chaleurs synchronisées.

Selon le **tableau 5**, le pourcentage de réussite de l'insémination artificielle sur des chaleurs induites est de 42,30% par rapport à celle appliquée sur des chèvres avec des chaleurs naturelles avec un taux de 25% chez la race Alpine. Tandis que chez la race Saanen le taux de réussite de l'IA sur chaleurs observées est seulement de 20% alors qu'il est de 24,13% pour les femelles dont les chaleurs ont été synchronisées. Nos résultats en général, c'est-à-dire le taux de femelles gestantes pour l'ensemble des chèvres avec un taux de fertilité de 32,5% sont inférieurs à ceux trouvés par (**Lebœuf,1998**) ,62,4 %. Toutefois, il faut signaler que Lebœuf a mené ses études avec un effectif très important à savoir 17438 chèvres. Nos conditions d'élevage pourraient expliquer un tel résultat.

Nous constatons d'après les résultats représentées dans le **tableau 4**, que le taux de réussite de l'IA est beaucoup plus important chez la races Alpine et ce sur chaleurs induites. Lors de la synchronisation des chaleurs, on estime assez précisément le moment de l'ovulation de la

chèvre, ce qui maximise les chances de fécondation. Ce qui peut être corrélé avec les résultats de l'analyse du sperme. Sachant que la semence décongelée a une viabilité plus faible et plus rapidement périssable que la semence fraîche, il importe de faire coïncider le moment de l'insémination le plus près du moment de l'ovulation.

Après la synchronisation des chaleurs, les inséminations artificielles ont été programmées sur trois (3) horaires différents après retrait d'éponge.

Tableau 6 : Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction du moment de retrait de l'éponge.

Horaires	Nombre de chèvres inséminées /31chèvres	Nombre de chèvres pleine /15chèvres
40 heures après retrait	18	12 (72,72%)
48heures après retrait	9	3 (33,33%)
56 heures après retrait	4	0

La lecture du **tableau 6** nous a permis de constater les meilleurs résultats obtenus et ce, 40 heures après retrait de l'éponge, ce qui nous a permis d'enregistrer 72,72% de femelles pleines.

4.Conclusion générale

Sur la base des résultats obtenus à l'aide du CASA et leur analyse statistique (concentration et vitesses progressives) la fécondité de la semence est plus satisfaisants pour la semence Alpine.

D'autre part on a pu démontrer que l'efficacité des IA chez les chèvres avec des chaleurs induites.

On a pu déduire le meilleur moment de l'IA qui est dans notre étude de 40 h après retrait de l'éponge, tout en tenant compte de la durée de vie des gamètes.

La pratique des IA sur un plus grand nombre de femelles aurait sans doute permis de raffiner les résultats de fertilité.

Une analyse plus poussée de la semence aurait donné des résultats assurés une étude plus objective.

❖ Remarque

Cette étude suggère la possibilité qu'il existe qu'il y ait eu un effet négatif des conditions d'élevage.

5. Recommandations et perspectives

Des études vouées à l'amélioration des protocoles de congélation de la semence pourront être réalisées.

Amélioration des conditions de réalisation de l'insémination artificielle pour palier au stress que subissent les femelles.

L'adaptation des techniques de synchronisation des chaleurs sur différentes races caprines pourrait également faire l'objet d'une étude.

Des mesures d'accompagnement sont indispensables, car organiser le système d'élevage caprin suppose de mettre en évidence une politique s'incarnant dans une perspective de durabilité.

Liste des références

Akusu M.O, Agiang E.A, Egbunike G.N, 1984. « Ejaculate and plasma characteristics of west African Dwarf (WAD) buck». 10th Intl Congr. Anim. Reprod. A.I. June 10-14- Illinois, vol. 2, Abstract n° 50.

Albert et Jean., 2001. « Biologie du développement » .5ème édition de l'abrégé.

Amirat-Briand, L, Bencharif, D, Vera-Munoz, O, Pineau, S, Thorin, C, Destrumelle, S, Desherces, S, Anton, M, Jouan, M, Shmitt, E & Tainturier, D 2010 In vivo fertility of bull semen following cryopreservation with an LDL (low density lipoprotein) extender: preliminary results of artificial inseminations. Anim Reprod Sci 122 282-7.

Anel, L., Alvarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E. et De Paz, P. 2006. Stratégies d'amélioration de l'insémination artificielle ovine. Reproduction chez les animaux domestiques, 41, 30-42.

Aurelie, 2007 : these de master 2 « L'INSEMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LES CAPRINS DE LA RACE ARBIA DANS LA REGION DE TIARET ».

Bailey, J., A. Morrier et N. Cormier 2003. Cryoconservation de sperme : Succès et problèmes persistants chez les espèces d'élevage. Revue canadienne de zootechnie, 83 (3), 393-401.

Bakhach, J., V. Casoli et J.C. Guimberteau. 2007. La cryopréservation de tissus composites : principe, revue de la littérature et expérience de l'équipe bordelaise. Ann. Chir. Plas. Est. 52 : 531-547.

Baril G, Chemineau P, Cognié Y, 1993. « Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins ».

Barone, R, 2001. Anatomie comparée des mammifères domestique Vol 4, splanchnologie II, 3ème édition Edition Paris, France, 896 p.

Batellier, F, Magistrini, M, Fauquant, J & Palmer, E 1997 Effect of milk fractions on survival of equine

Batista, M., T. Niño, D. Alamo, N. Castro, M. Santana, F. González, F. Cabrera et A. Gracia. 2009. Successful artificial insemination using semen frozen and stored by an ultrafreezer in the Majorera goat breed. Theriogenology 71 : 1307-1315.

Bister, J. L. (2006). Evaluation des performances des élevages caprins extensifs dans le nord du Maroc. *Options Méditerranéennes*, 70, 87-94.

Bodin L. ; Elsen J.M. ; Hanocq E. et François D., 1999 Génétique de la reproduction chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.*, 12 : 87-100 p.

Boukhlik R, 2002 « Cours en ligne sur la reproduction ovine » Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II. Département de reproduction animale.

Brinsko, SP, Rigby, SL, Blanchard, TL, Lowry, VK et Varner, DD Love, CC, Thompson, JA, 2003. Relation entre la motilité et la viabilité des spermatozoïdes d'étalon détectée par deux techniques de coloration par fluorescence utilisant la cytométrie en flux. *Theriogenology* , 60 (6), 1127-1138.

Cameron C.D., 1977. The Effect Method of Stimulation on Response to electro-ejaculation. *Aust. Vet. J.*, 58: 380- 383.

Colas, G., Personnic, D., Courot, M., Ortavant, R. et Guérin, Y. (1975). Influence du rythme de récolte sur la production de spermatozoïdes chez le jeune bélier Romanov. Dans *Annales de zootechnie* (vol. 24, n ° 2, p. 189-198).

COLLIN, S., SIRARD, M. A., DUFOUR, M., & BAILEY, J. L. (2000). Sperm calcium levels and chlortetracycline fluorescence patterns are related to the in vivo fertility of cryopreserved bovine semen. *Journal of andrology*, 21(6), 938-943.

Corteel J. M., 1977. « Production, storage and artificial insemination of goat semen». In : *Management of reproduction in sheep and goats Simposium, Madison, july 24-25*, 41-57.

Corteel J.M 1974. « Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal : effet du glucose » *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 14, 741-745.

Corteel J.M, 1981. « Collection, processing and artificial insemination of goat semen » dans « *Goat production* » de Gall C., Academic press.

Corteel, J. M., Baril, G., Lebœuf, B., De Montigny, G., & Beaudey, Y. (1976). Variations de la motilité et de la fécondance des spermatozoides de bouc.

Courtens, J.L., Alencar, A., Gatti, J.L., Dacheux, F., Dacheux, J.L., Guerin, Y., 1998. Factors affecting male fertility in domestic mammals. *Rencontres Recherches Ruminants* 5, 31–36.

CRAAQ. 2009. L'élevage de la chèvre, 439 pp.

cryopreservation : why isn't it better ? *Theriogenology* 57 : 327-344.

Cseh, S., Faigl, V. et Amiridis, GS , 2012. Traitement du sperme et insémination artificielle dans la gestion sanitaire des petits ruminants. *Science de la reproduction animale*, 130 (3-4), 187-192.

Dacheux F, Dacheux J-L., 2001. « L'épididyme et les glandes annexes » dans « La reproduction chez les mammifères et l'homme » de Thibault C et Levasseur M-C. INRA, édition ellipses.

Dadoune J-P., Demoulin A., 2001. « Structure et fonction du testicule » dans "La reproduction chez mammifères et l'homme" de C. THIBAUT, Levasseur édition marketing, p 256 à 288.

Delgadillo, J.A., Hochereau-de Reviere, M.T., Daveau, A., Chemineau, P., 1995. Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). *Reproduction, Nutrition, Development* 35, 549–558.

Dérivaux J, 1971. « Reproduction chez les animaux domestiques ». Tome 1 et 2. Edition Déronaux, Liège.

Derivaux J. et Ectors F., 1986 Reproduction chez les animaux domestiques. - Louvain-la neuve : Cabay.- 1141 p.

Drion, P., Hanzen, C., Beckers, JF, B. Leboeuf, E. Ropstad, M., Balligand, ... et Collin, B. 2003. Physiologie de la reproduction et endocrinologie chez les cervidés. Une critique. Dans *Annales de médecine vétérinaire* (vol. 147, n ° 5, p. 291-313). Université de Liège.

Drion, PV, V. Furtoss, G. Baril, E. Manfredi, F. Bouvier, JL Pougard ... et J. Sulon ,2001. Quatre années d'induction / synchronisation de l'oestrus chez les caprins laitiers: effet sur l'évolution du taux de liaison de l'eCG en relation avec les paramètres de reproduction. *Reproduction Nutrition Development* , 41 (5), 401-412.

Dumont P. ,1997. « Points Veterinaire ». Vol28n°185, Aout –Septembre.

Fabrice, Benoit ,Guillaume Rigal 2008 .Comparaison de la qualité de la semence de taureaux collectés à l'électro-éjaculateur ou au vagin artificiel(Doctoral dissertation).

Fougner J.A., 1974. Intrauterin inseminasjon med dypfrossen saed hos geit. Proc. 12th Nord Vet. Cong. Reyhjavik. DII3, 147-148.

Foulkes, J A 1977 The separation of lipoproteins from egg yolk and their effect on the motility and integrity of bovine spermatozoa. *J Reprod Fertil* 49 277-84.

Gadea, J., Ruiz, S., Sellés, E., & Marco, M. A. 2003. Factors affecting the freezing capability of boar semen. ITEA (Información Técnica Económica Agraria). Producción Animal (España).

GAHERY C., 2012. La reproduction des caprins : maîtrise et mise en oeuvre dans les élevages - Réalisation d'un recueil sur support DVD. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes. Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation Nantes Atlantique, 246 p.

García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Bech-Sabat, G., Santolaria, P., Yániz, J. L., Nogareda, C., ... & López-Béjar, M. (2007). Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology*, 67(8), 1379-1385.

Girod C, Czyba J-C 1977. « Biologie de la reproduction ». Simep édition, 356p, p11-120.

Gomes W.R, 1977. «Artificial insemination». Extrait de Cole H.H. « Reproduction in domestic animals». 3^{ème} édition, 257-261.

Gomes W.R, 1977. «Artificial insemination». Extrait de Cole H.H. « Reproduction in domestic animals». 3^{ème} édition, 257-261.

Goyal, H., Memon, M.A., 2006. Chapitre 64 - Clinical reproductive anatomy and physiology of the buck., in : Current Therapy in Large Animal Theriogenology Vol.2. Saunders 511-513 24 42-52.

Hafez E.S.E, 1974. « Reproduction in farm animals ». 1vol., Lea-Febiger, 3e édition., 480p.

Hafez E.S.E, 1987. « Reproduction in farm animals » 1vol. Leo-Febiger, 5ème éd., 633p.

Hanzen C 2006. « Propédeutique de l'appareil reproducteur mâle et examen du sperme des ruminants, équidés et porc ». Cours de reproduction, université de Liège, Belgique.

Hanzen L'insémination artificielle chez les ruminants 2016 Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogenologie des animaux de production.

Holt, W V 2000a Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim Reprod Sci* 62 3-22. implicado en el deterioro de la calida de los espermatozoides diluidos en leche. Tesina de Licenciatura,

Iritani A., Nishikawa Y., 1961. Studies on the egg-yolk coagulating factors in goat semen. II Properties of the coagulating factor and influential conditions for coagulation. Proc. Siver Jubilee Lab. Anim. Husbandry, Kyoto University, 97-104.

Jeulin C, Lewin L . M, 1996. « Role of free carnitine and acetyl-L- carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatozoa ». *Hum ,Reprod ,Uptake* ,2,87-102.

Katila, T 1997 Procedures for handling fresh stallion semen. *Theriogenology* 48 1217-27.

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

Locatelli, Y., Cognié, Y., Vallet, J. C., Baril, G., Verdier, M., Poulin, N., ... & Mermillod, P. (2005). Successful use of oviduct epithelial cell coculture for in vitro production of viable red deer (*Cervus elaphus*) embryos. *Theriogenology*, 64(8), 1729-1739.

Lovelock, J E 1953a The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. *Biochim Biophys Acta* 10 414-26.

Lovelock, J E 1953b The mechanism of the protective action of glycerol against haemolysis by freezing and thawing. *Biochim Biophys Acta* 11 28-36.

Manfredi, E., Boue, P., Piacère, A., Brice, G., Baril, G., ... & Terqui, M. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livestock Production Science*, 55(3), 193-203.

Marquis P-H, 19 90. « Synchronisation de l'oestrus et insémination artificielle dans l'espèce caprine ». Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Thèse pour le doctorat vétérinaire, diplôme d'état. 156p.

Maxwell et Watson, PF ,1996. Progrès récents dans la conservation du sperme de bélier. *Animal Reproduction Science*, 42 (1-4), 55-65.

Maxwell W.M.C, Evans G, 1987. « Salamon's artificial insemination of sheep and goats». Butterworths, Sydney, Australia, 102p.

Mazur, P, 1963 Kinetics of Water Loss from Cells at Subzero Temperatures and the Likelihood of Intracellular Freezing. *J Gen Physiol* 47 347-69.

Mazur, P. et Schmidt, JJ, 1968. Interactions de la vitesse de refroidissement, de la température et de la vitesse de réchauffement sur la survie des levures congelées et décongelées. *Cryobiology* , 5 (1), 1-17.

Mc. Donald Me, 1980. « Veterinary endocrinology and reproduction ». Lea et Febiger edition 3rd 560 p.

Medeiros, C.M.O., F. Forell, A.T.D. Oliveira and J.L. Rodrigues ,2002. Current status of sperm cryopreservation : why isn't it better ? *Theriogenology* 57 : 327-344.

Melendez, P., & Pinedo, P,2007. The association between reproductive performance and milk yield in Chilean Holstein cattle. *Journal of dairy science*, 90(1), 184-192.

Parez, M. 1985. The most important genital diseases of cattle (control, treatment and the hygiene of semen collection). *Revue Sciences Techniques Office Internationalles des Epizooties*, 4, 67-69.

Pellicer M.T., 1995. Purificacion y caracterizacion del componente de la secrecion bulbouretral de macho cabrio problems in farm species. *Can J Anim Sci* 83 393-401. Traduire

Pellicer-Rubio, M. T., & Combarous, Y. 1998. Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60. *Reproduction*, 112(1), 95-105.

Ritar, A.J., Mendoza, G., Salamon, S., White, . Ritar, I.G., 1992. Frequent Semen Collection and Sperm Reserves of the Male Angora Goat (*Capra Hircus*). *J Reprod Fertil* 95, 97– 102.

Roche, JR, Macdonald, KA, Burke, CR, Lee, JM et Berry, DP 2007. Associations entre le score d'état corporel, le poids corporel et les performances de reproduction chez les vaches laitières à vêlage saisonnier. *Journal of Dairy Science*, 90 (1), 376-391.

Salamon, S & Maxwell, M C 2000 Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci* 62 77-111.

Salamon, S. 1976. Insémination artificielle de moutons. Insémination artificielle de moutons.

Setchell B.P, 1977. « Male reproductive organs and semen». Extrait de Cole H.H. « reproduction in domestic animals » third edition, 230-255.

Setchell B.P, Maddocks S, Brooks D.E, 1994. « Anatomy, vasculature, innervation and fluids of reproductive male tract ». In « The physiology of reproduction ». Second edition, Knobil E, Neil J.D, coord., Raven press Ltd, NY, 1063-1175.

Shoenian S,2005. « Reproduction in the ram ». Prolongation de cooperative du Maryland. Université de Maryland.

Sias B., 2000. Etudes des lipases pancréatiques apparentées de type2 (PLRP2) : Clonage, production, aractérisation biochimique et cinétique. DEA Nutrition aspects moléculaires et cellulaires, Université Aix- Marseille II.

Simpson, A.M. et I.G. White. 1986. Effect of cold shock and cooling rate on calcium uptake of ram spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 12 : 131-143.1

Soltner D, 1993. « Zootechnie générale, tome 1., la reproduction des animaux d'élevage ». Edition INRA, science et technique agricole.

STIEVENART, M. – L'électro-éjaculation chez les mammifères. Revue bibliographique Th. : Med.vet. : Lyon : 1997, n°6609.

Thibault C, 1975. « La fécondation ». 1 vol. Masson (1995). 20.

Thibault C, Beaumont A, Levasseur M-C, 1998. « La reproduction des vertébrés ». Edition MASSON, Paris.

Thibault C, Levasseur M-C, 2001. « La reproduction chez les mammifères et l'homme ». INRA, Editions Ellipses.

VIDAMENT,2005 . Marianne. Résultats sur le terrain en France des facteurs affectant la fertilité du sperme d'étalon congelé. Science de la reproduction animale , 2005, vol. 89, no 1-4, p. 115-136.

Vishwanath, R & Shannon, P 2000 Storage of bovine semen in liquid and frozen state. Anim Reprod Sci 62 23-53. Vitalkar P.H, Takarkhede R.C., Kolte A.Y., Dhore R.N., Barmase B.S., 1998. Non hormonal method of oestrous synchronisation in does. Indian Vet. J., 75, 88-89.