



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques  
Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée – LPAA –



## **Mémoire**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

### **MASTER 2**

#### **En sciences agronomiques**

Option :

#### **Génétique et reproduction animale**

Par :

**MESKINI Zakaria**

Thème

**L'INSEMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LES CAPRINS DE LA RACE ARBIA  
DANS LA REGION DE TIARET**

Soutenu le : 22 /06/2017, devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>KEBIR Ahmed</b>	<b>Médecin vétérinaire et Docteur en science</b>
<b>Examineur</b>	<b>MAZOUZ Mustapha</b>	<b>MAA Université de Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>BELHAMITI Tahar</b>	<b>MAA Institut des sciences vétérinaires de Tiaret</b>
<b>Co-encadreur</b>	<b>HALBOUCHE Miloud</b>	<b>Professeur Université de Mostaganem</b>

**Année Universitaire : 2016-2017**

## REMERCIEMENT

---

J'adresse tout d'abord mes remerciements les plus sincères, au Dr. BELHAMITI Taher, qui a très volontiers accepté d'être le promoteur de ce mémoire. Sa grande connaissance dans le domaine, ainsi que son expérience, ont joué un rôle important dans la conception de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également au Dr AIT AMRANE et Dr SELLES Mohammed pour leurs supports et grande contribution à l'élaboration de ce travail.

Nous tenons également à remercier messieurs les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance pour : Mr KEBIR pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette mémoire. Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mr. HaLBOUCHE et à MAZOUZ pour avoir fait de lecteur notre mémoire. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Finalement,

nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui ont participé à la réalisation de ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce mémoire :

A Ma tendre Mère : Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A mes frères et sœurs

A mes très chère amis : GHalib ; imad ; khaled ; khalil ; mannassi ; Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma profond estime, que dieu vous procure bonne santé et long vie.

A tous les membres de ma promotion.

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

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

## Table des matières

### Résumé

### Introduction

### Première partie : Etude bibliographique

### Chapitre 1 : Anatomie et histologie de l'appareil génital male

I	Les testicules: .....	1
A.	Anatomie et structure: .....	1
1	Les gonades : .....	1
2	Les enveloppes testiculaires : .....	3
a.	Le scrotum : .....	3
i.	La peau du scrotum : .....	3
ii.	Le dartos : .....	3
b.	La celluleuse : .....	3
c.	Le crémaster : .....	3
d.	La fibreuse : .....	3
e.	La séreuse vaginale : .....	3
3	Vascularisation et innervation testiculaire : .....	4
a.	L'artère testiculaire : .....	4
b.	La veine : .....	4
c.	Les lymphatiques : .....	5
d.	L'innervation testiculaire : .....	5
B.	Histologie du testicule : .....	5
1	Les tubes séminifères : .....	5
a.	Les cellules de Sertoli : .....	6
i.	Rôles des cellules de Sertoli : .....	6
b.	Les cellules de la lignée germinale : .....	8
i.	les spermatogonies : .....	8
ii.	Le spermatozoïde : .....	8
2	Le tissu interstitiel : .....	10
II	Les voies spermatiques .....	10
A.	Structure anatomique: .....	10
1	Les voies extra-testiculaires : .....	10

a. L'épididyme :.....	10
b. Le conduit déférent :.....	10
c. Le conduit éjaculateur :.....	10
d. L'urètre :.....	11
e. Le pénis ou verge :.....	11
B. Histologie des voies spermatiques :.....	12
1 Epididyme :.....	12
2 Le canal déférent :.....	12
3 Le pénis : .....	12
III Les glandes annexes :.....	12
A. Structure anatomique:.....	12
1 Les vésicules séminales :.....	12
2 La prostate : .....	12
3 Les glandes bulbo-urétrales ou de Cowper :.....	12
B. Histologie des glandes annexes :.....	13
IV Le sperme .....	13

## **Chapitre 2 : Physiologie de la reproduction du bouc**

I La Spermatogenèse.....	14
A Phase de multiplication des spermatogonies :.....	14
B Phase de réduction et de maturation : .....	14
C Phase de la spermiogenèse :.....	16
1 Réorganisation du noyau .....	16
2 Développement du système acrosomique .....	16
3 Assemblage des structures du flagelle.....	16
4 La spermiation.....	16
D Cycle de l'épithélium séminal.....	16
E Durée et productivité de la spermatogénèse :.....	17
II L'acquisition de la fécondance.....	18
A Le transport .....	18
B La maturation .....	18
III Les caractéristiques de la semence : .....	19
IV Le plasma séminal .....	19
V Contrôle neuroendocrinien de la spermatogénèse :.....	20

A	L'axe hypothalamo-hypophysaire .....	20
B	Rôle de la FSH .....	21
C	Rôle de la LH .....	21
D	Rôle de la testostérone :.....	21
<b>Chapitre 3 : collecte et conservation de la semence du bouc</b>		
I	Méthodes de récolte du sperme .....	23
A	Réalisation de la collecte au moyen du vagin artificiel .....	23
1	Le vagin artificiel .....	23
a	Description : .....	23
b	Les intérêts de la collecte au vagin artificiel .....	24
2	La préparation du vagin artificiel : .....	24
3	La collecte de la semence .....	25
4	Entraînement des mâles pour la collecte :.....	25
a	Mâles dont la semence n'a jamais été collectée .....	25
i	La réaction des mâles envers la femelle.....	25
b	Mâles dont la semence a déjà été collectée auparavant :.....	26
c	Inhibition du comportement sexuel .....	27
B	La récolte par électro-éjaculation.....	28
1	La Technique .....	28
II	Contrôle de la semence.....	30
A	Examens macroscopiques .....	30
1	Volume .....	30
2	La couleur du sperme.....	30
3	La consistance et l'aspect du sperme : .....	31
4	La mesure du PH : .....	31
B	Examen microscopique du sperme: .....	31
1	La concentration : .....	31
a	appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculat .....	32
b	Le comptage direct par hématimètre : .....	33
c	La spectrophotométrie.....	34
2	La motilité .....	35
a	La motilité massale.....	35
b	La motilité individuelle des spermatozoïdes :.....	36

3	Examen morphologique: .....	37
a	Coloration totale : .....	38
b	Coloration vitale : .....	38
c	Examen bactério-virologique .....	39
d	Examens complémentaires .....	40
	i    Le test de fructolyse : .....	40
	ii   La réduction du bleu de méthylène : .....	40
	iii  La thermorésistance : .....	40
C	Relations entre la qualité de la semence et sa fertilité : .....	40
III	Conservation de la semence .....	41
	• L'enzyme de coagulation du jaune d'œuf (EYCE).....	41
	• La protéine SBU III.....	41
A	Plasma séminal et lavage du sperme .....	42
1	Le lavage de la semence du bouc : .....	43
B	Les techniques de conservation de la semence .....	43
1	La dilution de la semence : .....	43
	i    L'effet bénéfique du jaune d'œuf.....	43
	ii   L'effet bénéfique du lait : .....	44
2	Conditionnement de la semence : .....	44
3	La conservation à l'état liquide .....	46
4	La cryoconservation de la semence .....	46
a	Principe.....	46
b	Les agents cryoprotecteurs.....	48

#### **Chapitre 4 : l'insémination artificielle**

I	L'INSEMINATION ARTIFICIELLE.....	49
A	Introduction générale.....	49
1	Définition et historique de l'insémination artificielle (IA).....	49
B	Les avantages de l'insémination artificielle.....	49
1	Avantage génétique .....	49
2	Avantage sanitaire.....	49
3	Avantage économique.....	50
4	Avantages techniques .....	50
C	Inconvénients et limites de l'IA : .....	50

D	Sélection des chèvres pour l'insémination artificielle.....	51
1	Ecarter les chèvres présentant une pseudogestation .....	51
2	Les traitements hormonaux répétés et anticorps anti-eCG .....	51
3	Ecarter les chèvres avec des antécédents d'infertilité.....	51
4	Ecarter les chèvres ayant moins de 170 jours de lactation .....	51
5	Ecarter les chèvres fortes productrices laitières .....	51
6	Ne pas intégrer les chevrettes, ni les chèvres de plus de 5 ans .....	52
E	Préparation alimentaire des chèvres avant insémination .....	52
F	insémination artificielle.....	53
a	la contention .....	53
	i    Au cornadis .....	53
	ii   La chaise de contention.....	54
b	Technique d'insémination artificielle exocervicale.....	54
	i    Préparation du matériel .....	54
	ii   La décongélation .....	54
	iii  Mise en place de la semence.....	55
	iv   Le moment de l'IA et le nombre d'interventions .....	55
c	INSÉMINATION ARTIFICIELLE INTRA-UTÉRINE PAR VOIE LAPAROSCOPIQUE .....	56
G	PARAMÈTRES SUSCEPTIBLES DE MODIFIER LES RÉSULTATS D'IA .....	58
1	Le moment d'insémination .....	58
2	L'utilisation répétée du traitement hormonal .....	58
3	Nombre de spermatozoïdes inséminés .....	58
4	Qualité des spermatozoïdes inséminés .....	58
5	Mâle utilisé pour l'IA .....	59
6	Œstrus naturel ou synchronisé .....	59
7	Lieu de dépôt de la semence .....	59
8	Age des femelles inséminées .....	59
9	Saison d'IA.....	59
10	Niveau d'alimentation, température, stress.....	60
11	Inséminateur .....	60

## **Deuxième Partie : partie expérimentale**

### **Matériel et méthode**

I	La synchronisation des chaleurs.....	61
1	Milieu et animaux.....	61
2	Technique :.....	61
II	La récolte de la semence du bouc et son examen.....	61
1	Milieu et animaux :.....	61
2	Technique :.....	62
a)	La récolte de la semence :.....	62
b)	L'examen de la semence :.....	63
III	La dilution de la semence et sa mise en place :.....	63
1	La dilution de la semence :.....	63
2	Le conditionnement de la semence :.....	63
3	La mise en place de la semence :.....	64

### **RESULTATS**

I	Réponse des chèvres au protocole de synchronisation des chaleurs.....	66
II	L'examen de la semence :.....	66
III	L'insémination artificielle :.....	67

### **Discussion**

### **Conclusion**

### **Références bibliographiques**

**LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 01 :Appareil uro-genital isolé et étalé du bouc .....</b>	<b>2</b>
<i>Figure 2 : Le testicule et ses enveloppes.....</i>	<i>4</i>
<b>Figure 3 : Structure histologique du tube séminifère.....</b>	<b>6</b>
<i>Figure 4 : Schéma représentatif des différentes fonctions des cellules de Sertoli .....</i>	<i>7</i>
<b>Figure 5: structure du spermatozoïde.....</b>	<b>9</b>
<i>Figure 6: Extrémité libre du pénis du bouc.....</i>	<i>11</i>
<b>Figure 7 : différents étapes de la spermatogenèse chez le bouc.....</b>	<b>15</b>
<b>Figure 8 : étape de la méiose de la spermatogenèse.....</b>	<b>15</b>
<b>Figure9: Etapes de la spermiogenèse.....</b>	<b>17</b>
<b>Figure 10 : regulation de la reproduction de la fonction de reproduction chez le male.....</b>	<b>22</b>
<b>Figure 11 : vagin artificiel pour les petits ruminants.....</b>	<b>23</b>
<b>Figure 12 : schéma représentant un vagin artificiel.....</b>	<b>24</b>
<b>Figure 13: Variations mensuelles de l'efficacité sexuelle chez les boucs.....</b>	<b>27</b>
<b>Figure 14 : Prélèvement de sperme par électro-éjaculation chez un taureau .....</b>	<b>29</b>
<b>Figure 15 : Variations saisonnières du volume de l'éjaculat et de sa concentration en spermatozoïdes chez cinq boucs alpin, m ± sem (Corteel, 1977).....</b>	<b>32</b>
<b>Figure 16 : Hématimètre : cellule de malassez.....</b>	<b>33</b>
<b>Figure 17 :Variation mensuelles de la motilité des spermatozoïdes après dilution refroidissement et dégel chez le bouc alpin.....</b>	<b>37</b>
<b>Figure18: Classification des différentes anomalies spermatiques.....</b>	<b>39</b>
<b>Figure 19 : conditionnement de la semence .....</b>	<b>45</b>
<b>Figure20: Schéma d'une paillette d'insémination artificielle.....</b>	<b>45</b>
<b>Figure 21 : Congélation et stockage des paillettes.....</b>	<b>47</b>
<b>Figure 22 : les différents modes de contention de la femelle en vue d'insémination artificielle.....</b>	<b>53</b>
<b>Figure 23 : le matériel d'insémination.....</b>	<b>54</b>
<b>Figure 24 : Détermination du moment optimal pour inséminer une chèvre.....</b>	<b>56</b>
<b>figure 25 :site d'insertion du trocards.....</b>	<b>57</b>
<b>Figure 26 : descriptif de la technique sous contrôle laparoscopique.....</b>	<b>57</b>
<b>Figure 27 : chèvre utilisée en boute-en-train .....</b>	<b>64</b>

**Figure 28 : Bouc entier muni d'un tablier utilisé pour la détection.....65**

**Figure 29 : contention de la chèvre au cours d'insémination .....65**

**Figure 30 : mise en place du speculum et mise vue du col de l'utérus.....66**

**LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau I : Caractéristiques de la semence de bouc et de sa production (Hafez, 1993 ; Leboeuf et al., 2003 ; Memon et al., 2006).....19**

**Tableau II : la description de la motilité massale des spermatozoïdes.....35**

**Tableau III : les différents composants des solutions.....**

**Tableau IV :Planning mettant en évidence les intervalles d'intervention lors de la synchronisation des chaleurs .....61**

**Tableau V : résumant la réponse des chèvres au protocole ainsi que le moment de leurs l'insémination .....67**

**Tableau VI : principaux caractéristique de la semence collectée à partir des boucs.....68**

## Résumé

Le présent travail a pour objectif l'insémination artificielle des chèvres de race Arbia avec de la semence fraîche du bouc de la même race conservée à une température de + 4°C. Cette expérimentation était divisée, alors en trois parties, à savoir : la synchronisation des chaleurs des chèvres, la récolte de la semence des boucs et son examen, la dilution et la mise en place de la semence dans les voies génitales des chèvres. Dans notre étude, l'insémination artificielle des chèvres de race Arbia dans la région de Tiaret, nous a permis d'obtenir un taux de fertilité faible 22,22%, mais encourageant. En Algérie, l'IA caprine est encore peu pratiquée que dans le reste du monde. Le faible taux de fertilité obtenu est considéré comme une première étape pour la développée.

L'étude s'est déroulée dans la ferme des expérimentations de l'université IBN-KHALDOUN de Tiaret, sur une période s'étalant de **décembre 2016 à avril 2017**.

**MOTS CLES : insémination artificielle, chèvre, synchronisation des chaleurs, collecte, race Arbia**

## ABSTRACT

The aim of this work is artificial insemination of Arbia goats with fresh semen of the same breed of goat kept at a temperature of + 4 ° c. This experiment was divided into three parts, namely: synchronization of goats' heats, harvesting of the semen of the goats and its examination, dilution and placement of the semen in the genital tracts of the goats. In our study, the artificial insemination of Arbia goats in the Tiaret region enabled us to achieve a low fertility rate of 22.22%, but encouraging. In Algeria, caprine Insemination is still practiced little than in the rest of the world. The low fertility rate obtained is considered as a first step for the developed.

The study took place on the experimental farm of the IBN-KHALDOUN University of Tiaret, over a period extending from December 2016 to April 2017.

**KEYWORDS:** artificial insemination, goat, heat synchronization, collection, breed Arbia

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى التلقيح الاصطناعي للماعز من سلالة العربية مع المنى مبردة من جدي من نفس السلالة السباق وقد تم تقسيم هذه التجربة، إلى ثلاثة أجزاء، وهي: تزامن الشبق الماعز و **4 + C** ° الذي حفظ في درجة حرارة استخلاص المنى من الجدي و فحصها، تخفيف ووضع المنى في المسالك التناسلية للماعز. في دراستنا، مكنا التلقيح الاصطناعي لماعز العربية في منطقة تيارت من تحقيق معدل خصوبة منخفض 22.22٪، ولكنه مشجع. في الجزائر، لا تزال ممارسة التلقيح لا تزال أقل بقليل مما هي عليه في بقية العالم. ويعتبر انخفاض معدل الخصوبة الذي تم الحصول عليه خطوة أولى لتطويرها

جرت الدراسة في المزرعة تجريبية لجامعة ابن خلدون تيارت، على مدى فترة تتراوح ما بين ديسمبر 2016 إلى أبريل 2017

الكلمات الرئيسية: التلقيح الاصطناعي والماعز، والتزامن للشبق، وجمع، أربيا

## 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 (F.A.O, 2014), 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 apparaît comme solution pouvant aider à une meilleure maîtrise de la production

Les caprins comptent parmi les animaux domestiques les plus fertiles, sous estimé la plus part du temps. La reproduction des caprins est saisonnière. Cela signifie que naturellement l'activité de reproduction est restreinte à une période de l'année.

Pour répondre à la demande des consommateurs, l'éleveur peut chercher à étaler sa production sur l'année, la maîtrise de la reproduction est alors une étape clé dans la conduite de son troupeau. La saisonnalité de la reproduction est liée à des mécanismes physiologiques particuliers qui régulent le cycle sexuel et l'expression des chaleurs au cours de l'année. Une bonne compréhension des mécanismes de la physiologie de la reproduction est donc un préalable indispensable.

L'activité sexuelle chez le bouc de race ARBIA

Chez le mâle, les trois paramètres étudiés, en l'occurrence, le comportement sexuel, la circonférence scrotale et la production spermatique ont révélé l'existence de variations saisonnières dans l'expression de l'activité sexuelle. L'automne représente la saison de forte activité, le printemps la saison de faible activité par contre l'été et l'hiver sont caractérisés par une activité moyenne. (HAMMOUDI ,2011)

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.

Cette étude vise à procéder en premier temps à la synchronisation des chaleurs d'un lot de chèvres par un traitement hormonal progestatif et à l'insémination artificielle de ces chèvres par la suite.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

Les fonctions de l'appareil reproducteur male sont : (1) la production, nutrition et le stockage des gamètes "les spermatozoïdes" (2) l'émission et le dépôt dans les voies génitales femelle, lors de l'accouplement de la semence et (3) la synthèse des hormones sexuelle. **(Figure 1).**

### **I Les testicules:**

#### **A. Anatomie et structure:**

##### **1 Les gonades :**

Ils sont situés côte à côte au dessous de l'anneau inguinal en partie libre. Ils sont enveloppés par des bourses formant une masse ovoïde pendante, partiellement bilobée (Montane et Bourdelle, 1978).

Le testicule est recouvert d'une membrane fibreuse, résistante non élastique : *l'albuginée*. L'albuginée émet une série de lames conjonctives, qui le subdivisent en lobules logeant le tissu parenchymateux, et servant de support aux éléments vasculo-nerveux (Drion et al, 1993).

Les lobules sont au nombre de 200 à 300 par testicule. Ils contiennent un tissu glandulaire interstitiel et des tubes séminifères d'un diamètre de 120 à 300 $\mu$ . Ces derniers comprennent deux parties inégales, la plus importante est contournée et débute à la base du lobule par une extrémité en cul de sac (Barone, 1978).

Les travées conjonctives de l'albuginée convergent vers la face postérieure du testicule pour former le corps de Higmore où arrivent les canalicules issus des tubes séminifères qui s'y anastomosent et forment le rete testis. De ce dernier, partent 10 à 12 canaux efférents qui traversent l'albuginée et se réunissent pour former la tête de l'épididyme (Drion et al, 1993).

## Anatomo-histologie de l'appareil génital male

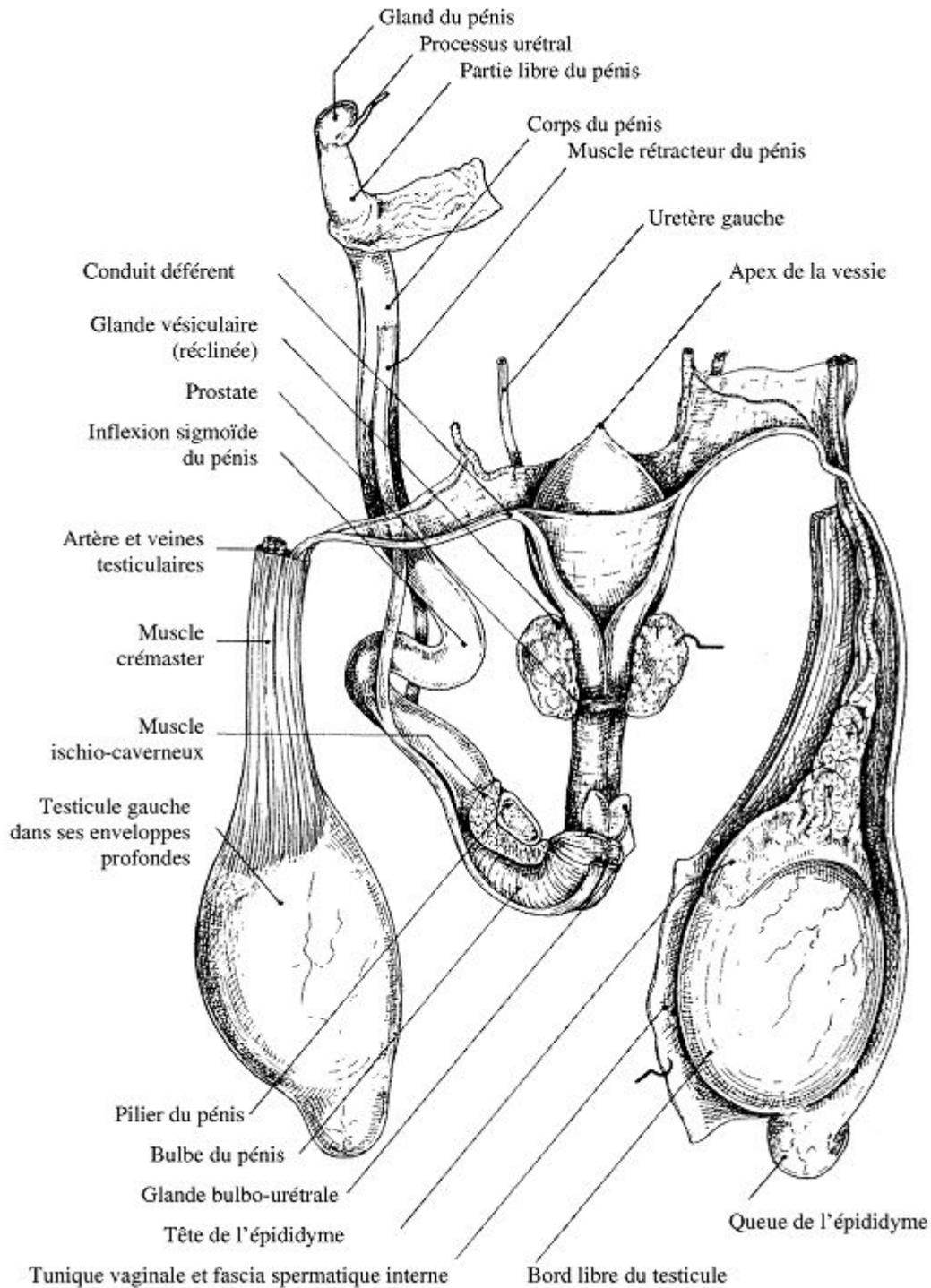


Figure 1 : Appareil uro-génital isolé et étalé du bouc [d'après Chatelain 1987]

### 2 Les enveloppes testiculaires :

Chaque bourse est constituée de cinq plans membraneux : un premier superficiel formé par le scrotum qui est lui-même formé par la peau du scrotum et le dartos, trois autres profonds formés par le crémaster, la fibreuse et la séreuse vaginale, et un dernier intermédiaire formé par la tunique celluleuse (Vaissaire, 1977) (**figure 2**).

#### a. Le scrotum :

##### i. La peau du scrotum :

Représente l'enveloppe cutanée unique commune aux deux testicules. Elle est mince, glabre et adhérente au dartos, recouverte de poils grossiers et riche en glandes sébacées.

Une espèce de bouc brésilienne présente la particularité d'avoir un scrotum double, ce qui permet d'optimiser la thermorégulation par la séparation des deux sacs dartoïques (Drion et al, 1993).

##### ii. Le dartos :

EST une enveloppe propre à chaque testicule. Il constitue l'appareil suspenseur des bourses. Les deux sacs dartoïques sont indépendants l'un de l'autre mais ils s'adosent sur la ligne médiane formant le septum du scrotum (Barone, 1978).

#### b. La celluleuse :

Représente un fascia lamelleux équivalent à un conjonctif sous cutané. Elle permet une grande mobilité au testicule, le protégeant contre les compressions et les chocs (Vaissaire, 1977 ; Drion et al, 1993).

#### c. Le crémaster :

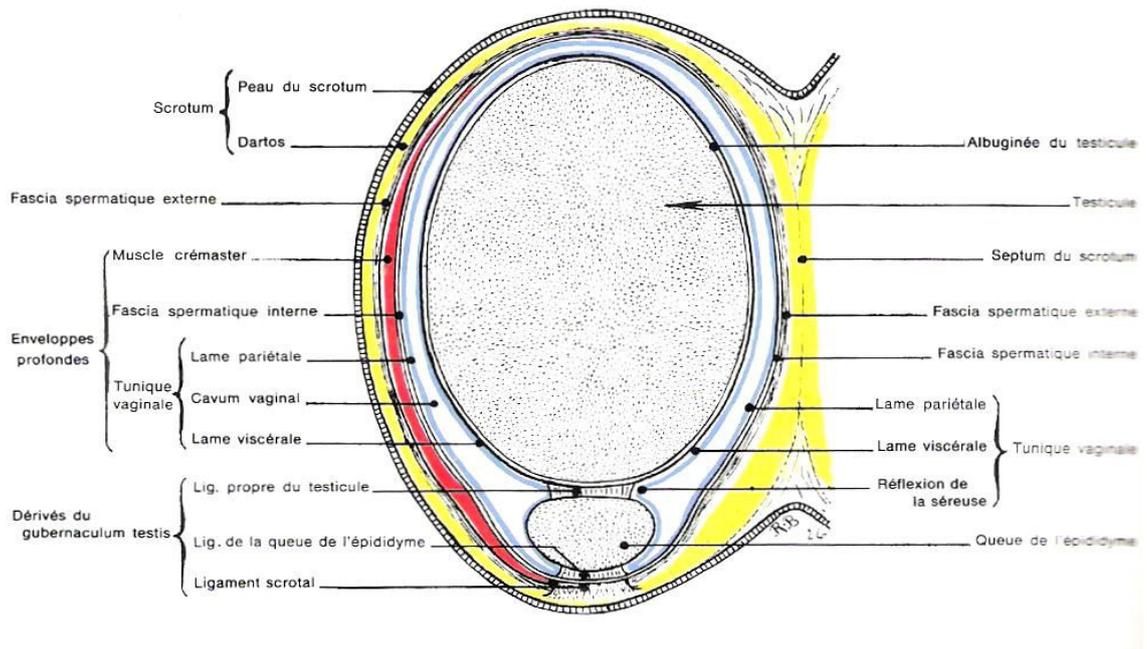
EST un muscle à contraction volontaire, étalé sur la face externe et les bords de la gaine vaginale. Sa contraction est à l'origine de l'ascension du testicule (Vaissaire, 1977).

#### d. La fibreuse :

EST constituée d'une partie externe fibreuse et d'une partie interne séreuse. Elle forme un sac pédonculé où logent le testicule et l'épididyme.

#### e. La séreuse vaginale :

Est une expansion du péritoine. Elle comprend un feuillet pariétal qui tapisse la face interne de la fibreuse et un feuillet viscéral qui recouvre le testicule et le cordon testiculaire (Drion et al, 1993).



**Figure 2 : Le testicule et ses enveloppes (Barone, 1978).**

### 3 Vascularisation et innervation testiculaire :

#### a. L'artère testiculaire :

Est issue de l'aorte abdominale. Elle assure l'irrigation du testicule. A l'entrée du canal inguinal, elle se fléchit en d'amples boucles tout au long du cordon spermatique, s'entremêlant avec un plexus veineux. Cette disposition est dite *cône vasculaire* dont la base repose sur le testicule.

A la surface testiculaire, l'artère spermatique se divise en branches qui pénètrent en profondeur pour former un réseau capillaire très riche (Barone, 1978).

#### b. La veine :

Le testicule est drainé par un ensemble de veinules situées sous l'albuginée qui reçoivent, à la surface du testicule, celles de la tête épидидymaire et s'engagent ainsi dans le cône vasculaire en se divisant en un réseau complexe : c'est le *plexus panpiniforme*. Ce réseau enserre étroitement les circonvolutions de l'artère spermatique et est à l'origine du refroidissement du sang arrivant au testicule.

A l'extrémité du cône vasculaire, la veine testiculaire draine l'ensemble des veines du cordon spermatique (Barone, 1978).

### c. Les lymphatiques :

Dans les espaces intertubulaires existe un réseau lymphatique, plus au moins développé au contact des cellules de Leydig, qui est drainé par de gros vaisseaux efférents s'engageant dans le cône vasculaire (Barone, 1978).

### d. L'innervation testiculaire :

Provient du plexus mésentérique caudal. Le scrotum, la tunique vaginale et le crémaster sont innervés indépendamment à partir du plexus lombo-sacré (Montane et Bourdelle, 1978).

## B. Histologie du testicule :

### 1 Les tubes séminifères :

Sont au nombre de deux à quatre par lobule. Ils s'entourent d'une lame basale délimitant contenant parfois des cellules myoïdes 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 intertubulaire est occupé par des cellules endocrines isolées ou regroupées appelées *cellules de Leydig* (Dadoune et Demoulin, 2001) (**figure 3**).

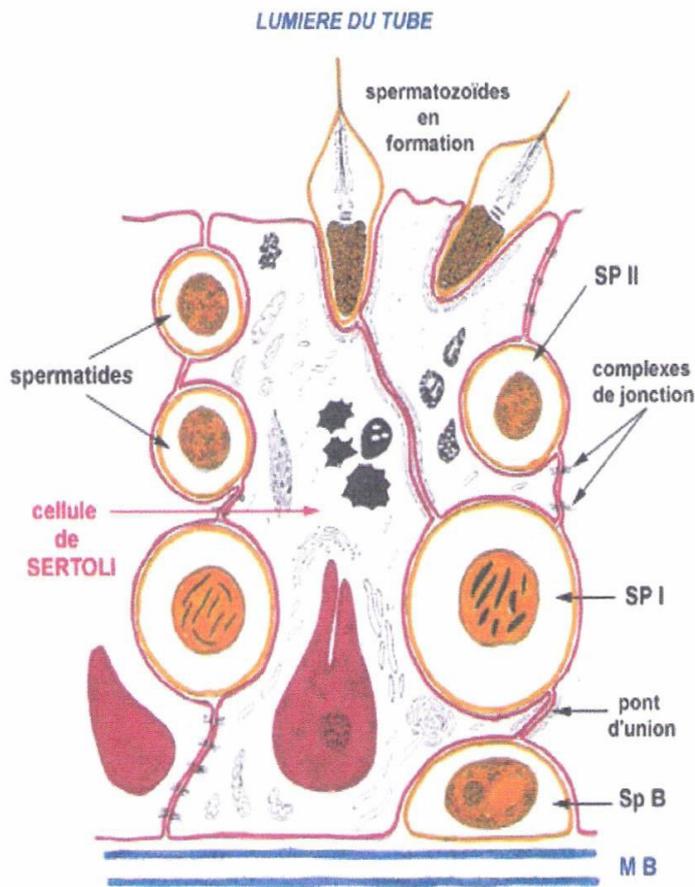


Figure 3 : Structure histologique du tube séminifère (Albert et Jean, 2001).

### a. Les cellules de Sertoli :

Ce sont des cellules somatiques à fonction identique et aux structures semblables à celles de tous les vertébrés (Thibault et al, 1998). Elles ont une forme pyramidale reposant sur la membrane basale. Les cellules de Sertoli s'étendent sur la hauteur du tube séminifère et s'unissent, d'une part, entre elles par des jonctions serrées, et d'autre part, avec les cellules germinales par des jonctions d'ancrages (Dadoune et Demoulin, 2001).

#### i. Rôles des cellules de Sertoli :

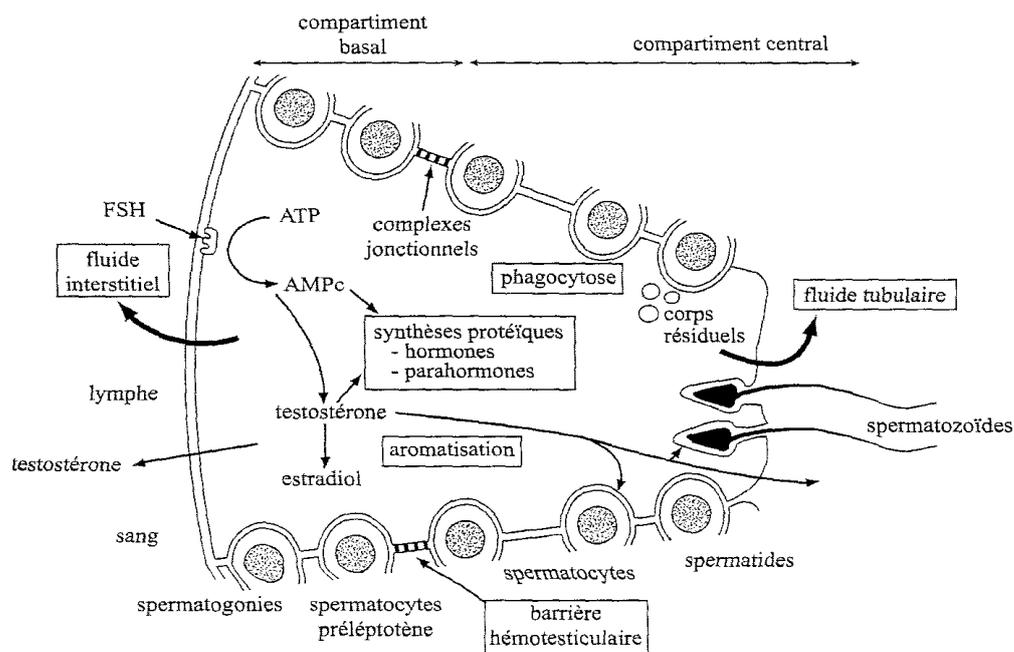
Elles ne seront indispensables au bon déroulement de la spermatogenèse qu'après leurs différenciations. Les cellules de Sertoli assurent les fonctions suivantes (figure 4) :

- Support, protection et nutrition des cellules germinales : les cellules de Sertoli relient les cellules de la lignée germinale et les protègent des réactions immunologiques. Les échanges

## Anatomo-histologie de l'appareil génital male

métaboliques de ces dernières se font à travers le cytoplasme sertolien en raison de la non vascularisation de l'épithélium séminal.

- **Spermiation** : leurs protéases cellulaires participent dans la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère.
- **Sécrétion et synthèse** : outre les lactates et les pyruvates, sources d'énergie pour les cellules germinales, les cellules de Sertoli produisent aussi plusieurs protéines d'importances variables, entre autres l'**ABP** (Androgen-Binding-Protein) et l'**inhibine**.
- **Stéroïdogénèse** : c'est le métabolisme de la testostérone en androstènedione, dihydrotestostérone et l'aromatisation de la testostérone en 17 $\beta$  oestradiol.
- **Phagocytose** : c'est la destruction des corps résiduels et des cellules germinales dégénérées (Dadoune, 1998).



**Figure 4 : Schéma représentatif des différentes fonctions des cellules de Sertoli (Dadoune et Demoulin, 2001).**

### b. Les cellules de la lignée germinale :

Sont les spermatogonies, les spermatocytes, les spermatides et les spermatozoïdes dérivant toutes des gonocytes.

#### i. les spermatogonies :

Situées près de la membrane basale, ces cellules ont un noyau arrondi, foncé à chromatine finement dispersée, et désignées par **Ad** (Dark, type A). Par mitose, elles donnent une spermatogonie **Ad** et une spermatogonie **Ap** (pâle, type A) appelée aussi « *poussiéreuse* » ayant une chromatine plus claire toujours finement dispersée. La division de celle-ci aboutit aux spermatogonies **B** ou « *croûtelleuses* ». Les spermatogonies croûtelleuses se divisent une à trois fois pour donner des « *spermatocytes du premier ordre* » ou « *spermatocytes I* » (George, 1996).

#### ii. Le spermatozoïde :

Le spermatozoïde est une cellule hautement spécialisée qui assure la transmission du génome haploïde mâle (ADN) à l'œuf de la femelle (Thibault, 1975).

C'est une petite cellule allongée, très mobile, de longueur variable selon les espèces (60 à 65 $\mu$  chez le bouc) (Altman, 1962). Elle se constitue d'une tête et d'un flagelle réunis par un col très bref (**figure5**).

- La tête : chez le bouc, elle présente une forme massive, longue de 8 $\mu$  et large de 4,5 à 5 $\mu$ . 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 (Drion et al, 1993).
- Le col : c'est une courte partie cytoplasmique (2 à 3 $\mu$ ) 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 tubules 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 épaississement 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 séminale 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).

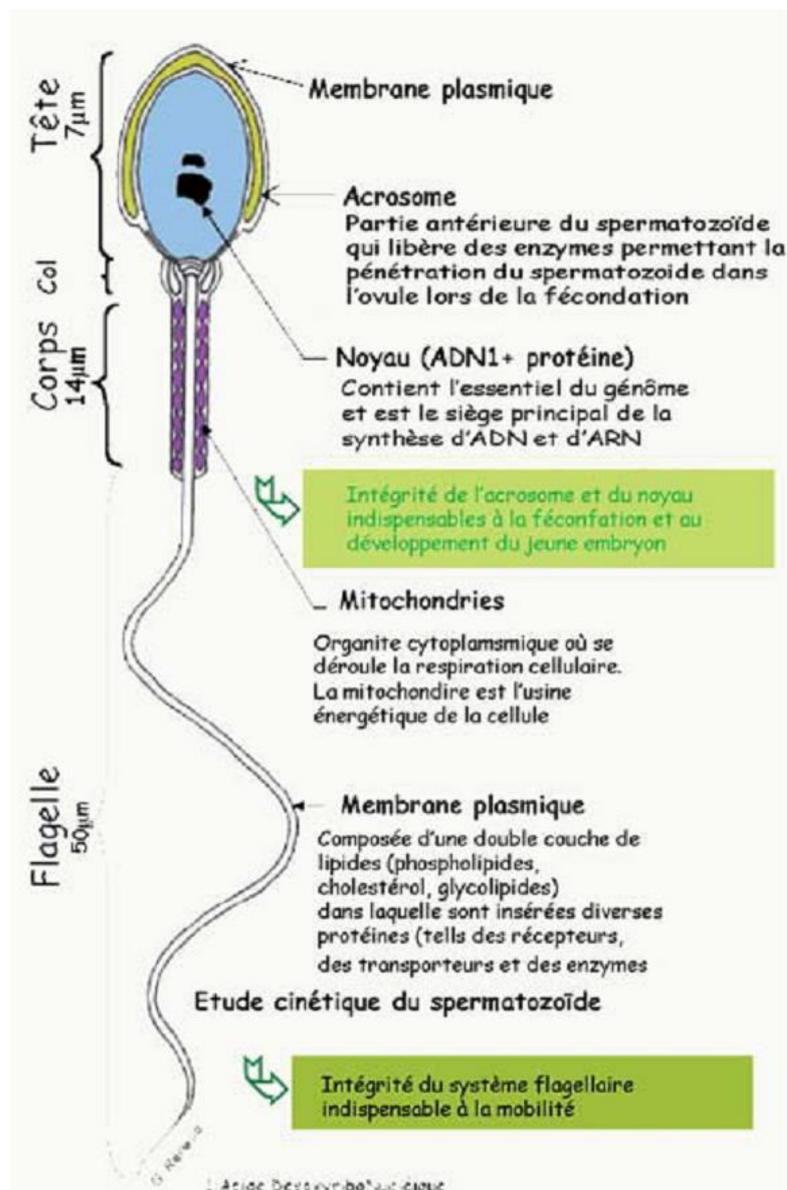


Figure 5 : structure du spermatozoïde

### 2 Le tissu interstitiel :

Isolées ou groupées en amas, les cellules de Leydig occupent les espaces intertubulaires en rapport étroit avec les capillaires sanguins et lymphatiques (Poirier et Chevreau, 1970).

Elles ont une forme polyédrique avec cytoplasme dense et noyau arrondi. Leur ultrastructure montre une capacité de stéroïdogénèse. Elles secrètent les androgènes sous forme de testostérone et de dihydrotestostérone (Dadoune, 1998).

## II Les voies spermatiques

Après leur élaboration dans les tubes séminifères, les spermatozoïdes seront évacués grâce à un ensemble de canaux : ce sont les voies excrétrices du sperme. Ces voies comprennent une partie intra-testiculaire (tubes séminifères droits et rete-testis) et une partie extra-testiculaire (Girod et Czyba, 1977).

### A. Structure anatomique:

#### 1 Les voies extra-testiculaires :

##### a. L'épididyme :

C'est un organe allongé, logeant le bord postérieur du testicule et coiffant ses deux extrémités. Il est fait d'un canal étroitement pelotonné et se divise en trois segments :

- Une tête dans laquelle pénètrent les canaux efférents ;
- Un corps étroit et allongé ;
- Une queue de laquelle part le canal déférent (Vaissaire, 1977).

##### b. Le conduit déférent :

ou canal déférent, fait suite à la queue de l'épididyme et s'étend jusqu'à l'urètre. D'une longueur d'environ 40cm, il traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, puis il s'infléchit vers la face dorsale de la vessie (Girod et Czyba, 1977).

Chez le bouc, le canal déférent se termine par une dilatation de 6 à 8cm de longueur appelée *ampoule déférentielle* (Nickel et al, 1973).

##### c. Le conduit éjaculateur :

c'est un conduit très bref qui résulte de l'union entre le conduit déférent et celui de la vésicule séminale. Il débouche dans la partie initiale de l'urètre (Barone, 1978).

### d. L'urètre :

C'est un long conduit impair qui sert à l'excrétion, à la fois, de l'urine et du sperme. Il se divise en deux portions :

La portion intra-pelvienne : part de la vessie, reçoit le débouché des canaux déférents et sort du bassin. Elle est dépourvue de formations érectiles ;

La portion extra-pelvienne ou pénienne : est faite de tige érectile (corps caverneux) accolée à une gaine de tissu érectile (corps spongieux) et dépourvue de glandes (Vaissaire, 1977).

### e. Le pénis ou verge :

le pénis du bouc mesure 40 à 55cm, il est mince, cylindrique, moins érectile et se termine en pointe à son extrémité libre (Altman, 1962 ; Hafez, 1968).

- Le pénis offre à l'étude deux parties (**figure 6**) :

- Une partie fixe formant une double inflexion en forme d'un **S** : c'est le S pénien ou inflexion sigmoïde ;
- Une partie libre terminée par un renflement recourbé en croché nettement asymétrique : c'est le gland. Le tube urétral se prolonge, sous la face inférieure du gland, d'un appendice vermiforme (Vaissaire, 1977).

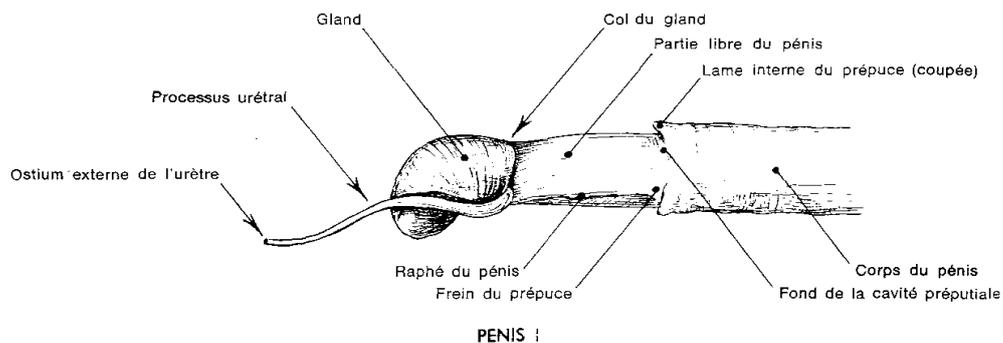


Figure 6: Extrémité libre du pénis du bouc (Barone, 1978).

### **B. Histologie des voies spermatiques :**

#### **1 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).

#### **2 Le canal déférent :**

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 Le pénis :**

Les tissus érectiles sont faits d'espaces sanguins, de tissu conjonctif fibro-musculaire entouré d'une albuginée. L'afflux sanguin à leur niveau est à l'origine de l'érection du pénis (Vaissaire, 1977).

### **III Les glandes annexes :**

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

#### **A. Structure anatomique:**

##### **1 Les vésicules séminales :**

Ce sont des organes pairs, allongés et ovoïdes avec une surface irrégulièrement lobulée. Leur extrémité crâniale est libre, tandis que leur extrémité postérieure est étirée et se termine par un canal excréteur. Ce dernier fusionne en partie avec celui du conduit déférent constituant ainsi le conduit éjaculateur qui débouche dans l'urètre (Barone, 1978).

##### **2 La prostate :**

Bien qu'elle existe chez tous les mammifères, elle est, chez le bouc, peu volumineuse, de couleur jaunâtre avec une portion disséminée au tour de l'urètre (Cuq, 1973 ; Drion et al, 1993).

##### **3 Les glandes bulbo-urétrales ou de Cowper :**

De forme globuleuse chez les ruminants, ces glandes siègent dorsalement, de chaque côté de l'urètre, écartées crânialement et rapprochées caudalement. Elles sont recouvertes par un muscle compresseur (Drion et al, 1993).

### B. Histologie des glandes annexes :

Les glandes annexes sécrètent, 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 natures diverses. Chez le bouc, leurs sécrétions sont riches en fructose, acide citrique et contiennent également des prostaglandines (Dacheux F, DacheuxJ-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 émettent un fluide clair et visqueux qui sert comme un lubrifiant (Dacheux F, DacheuxJ-L, 2001).

### IV Le sperme

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

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

Chez le bouc, le sperme apparaît comme un liquide épais, crémeux et inodore 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 1ml et la concentration est de  $3,5 \times 10^9$  spz/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).

## I La Spermatogenèse

est un mécanisme extrêmement complexe et est un phénomène continu débutant à la puberté qui assure deux fonctions essentielles:

la multiplication perpétuelle : les divisions et les différenciations des spermatogonies souches qui aboutissent à la production des spermatozoïdes qui sont produits dans les tubes séminifères dans le parenchyme testiculaire.

Et le renouvellement permanent de ces spermatogonies qui vont constituer le stock de «futurs»

Les tubes séminifères sont le lieu de fabrication des gamètes, où les cellules de la lignée spermatogénique sont associées à des cellules de soutien appelées cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001). **(Figure 7)**

### A Phase de multiplication des spermatogonies :

Juste avant la différenciation sexuelle de l'embryon, les cellules germinales primordiales migrent dans le testicule fœtal, puis se différencient en gonocytes qui sont situés dans les tubes séminifères. Ils se multiplient et, peu après la naissance, se transforment en spermatogonies

La spermatogonie souche constitue, chez le mâle, le stock de renouvellement (estimé à plusieurs millions de cellules), à partir duquel les lignées spermatogéniques sont initiées tout au long de la future vie reproductive du mâle adulte, ainsi que la différenciation des cellules conduisant aux spermatoocytes primaires. Les spermatogonies sont essentiellement des cellules diploïdes (chez le bouc  $2n = 60$ ), et désignées par Ad (Dark, type A). Par mitose, elles donnent une spermatogonie Ad et une spermatogonie Ap (pâle, type A) appelée aussi « poussiéreuse ». La division de celle-ci aboutit aux spermatogonies B ou « croûteuses ». Les spermatogonies croûteuses se divisent une à trois fois pour donner des « spermatoocytes du premier ordre » ou « spermatoocytes I » (George, 1996).

### B Phase de réduction et de maturation :

Une fois transformée en spermatoocyte primaire (produit final de la dernière division spermatogoniale) le spermatoocyte I devient une grande cellule ovale et réplique son ADN avant de rentrer en méiose c'est au cours de cette étape que le phénomène de crossing over se produit, permettant l'échange de portions de chromosome homologue parental et maternel **(figure8)** cela concourt au brassage des gènes caractéristique de la reproduction sexuée la première division de méiose réduit le nombre de chromosomes et donne des spermatoocyte de deuxième ordre (spermatoocyte II). Ils subissent rapidement la deuxième division de méiose qui sépare les deux chromatides de chromosome pour donner des cellules haploïdes : les spermatides

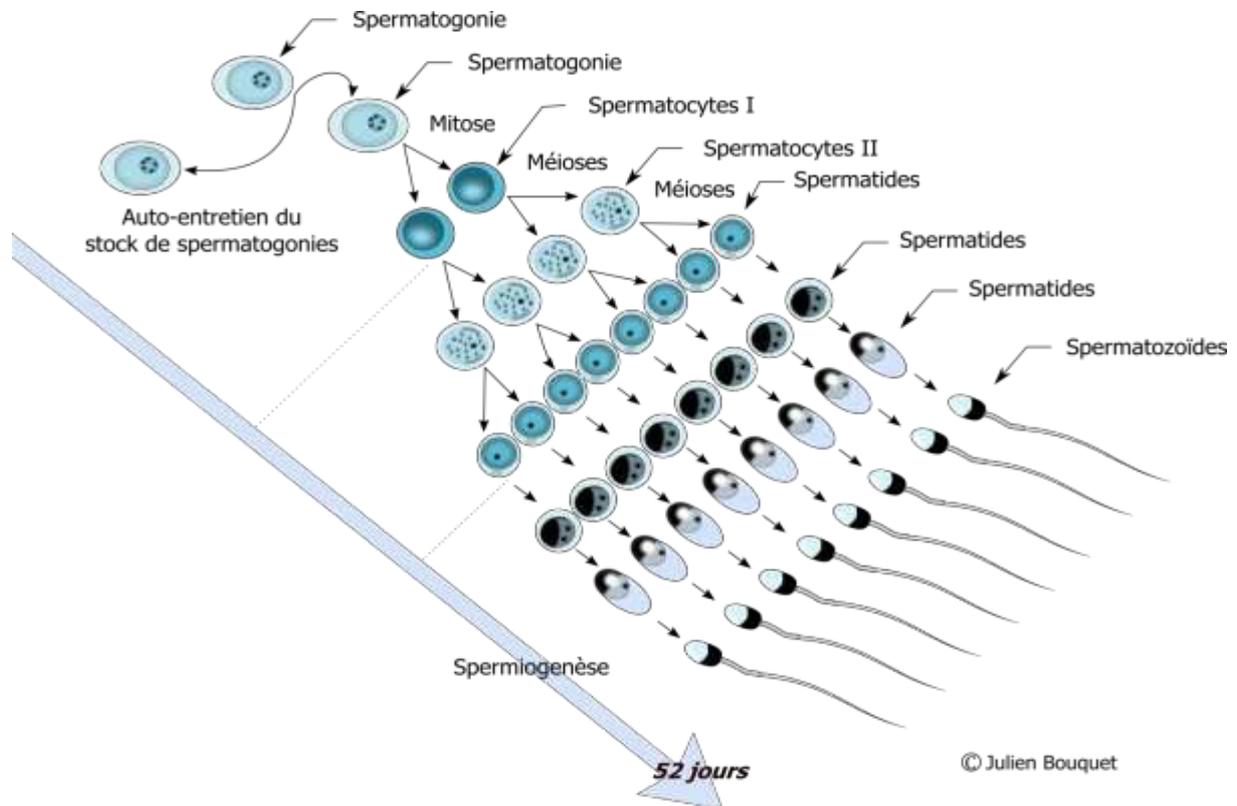
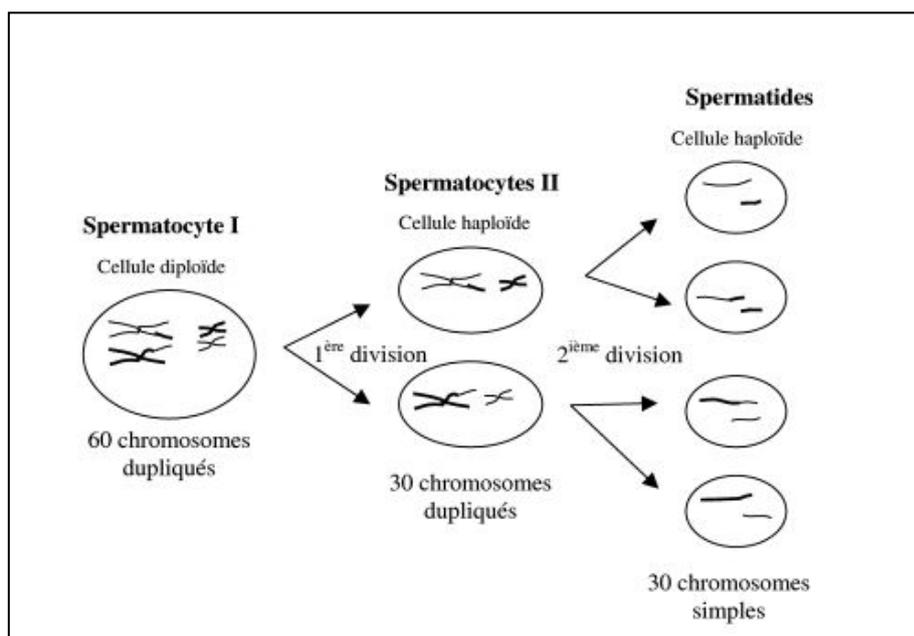


Figure 7 : différents étapes de la spermatogenèse chez le bouc



**Figure 8 : étape de la méiose de la spermatogenèse**

### **C Phase de la spermiogenèse :**

La spermiogenèse est définie comme la somme des changements nucléaires et cytoplasmiques intervenant entre les spermatides et les spermatozoïdes. C'est une étape essentielle dont dépend, dans une large mesure, la qualité finale des gamètes ( figure 9)

#### **1 Réorganisation du noyau**

Il s'aplatit latéralement, se dirige vers le pôle acrosomique et sa condensation se poursuit.

#### **2 Développement du système acrosomique**

Sur le pôle antérieur du noyau, s'étalent des vésicules provenant du système golgien pour former l'acrosome.

#### **3 Assemblage des structures du flagelle**

les formations flagellaires apparaissent à partir du col marqué par le centriole distal (Dadoune, 1998 ; Albert et Jean2001).

#### **4 La spermiation**

est l'étape finale de la spermatogenèse : c'est la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère (Vaissaire, 1977).

### **D Cycle de l'épithélium séminal**

« La succession dans le temps de ces associations cellulaires en une même partie du tube constitue le cycle de l'épithélium séminifère » (Thibault, 1993).

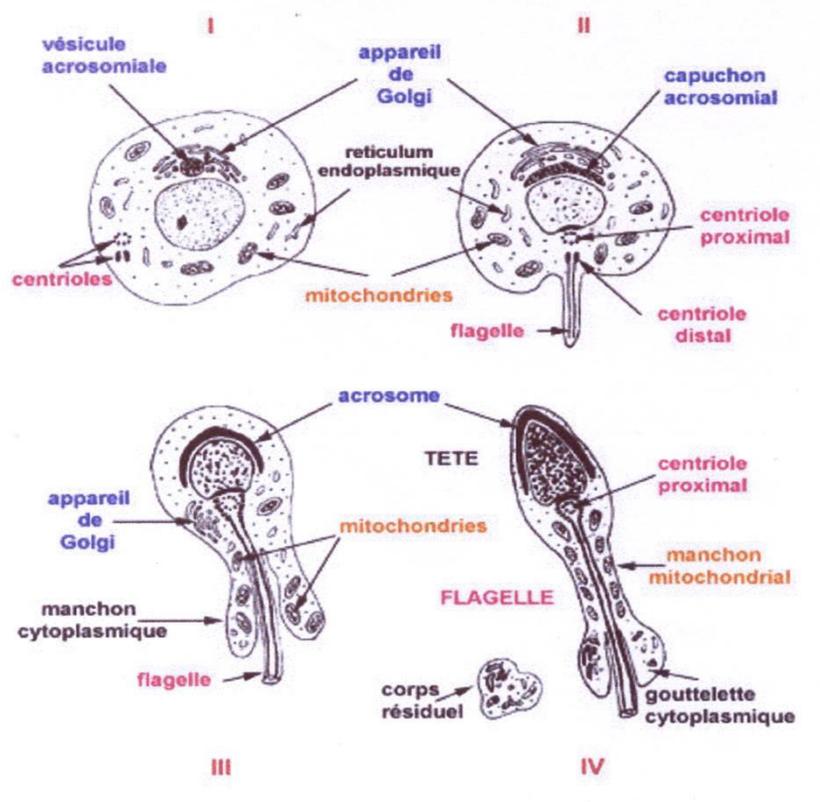


Figure9: Etapes de la spermiogénèse (Albert et Jean, 2001).

### E 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<sup>9</sup> 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).

## II L'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 :

### A Le transport

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 10 à 15 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 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 de spermatozoïdes dont 73 % d'entre eux sont réservés au niveau de la queue (Ritar et al., 1992).

### B La maturation

Au cours du passage épидидymaire, les spermatozoïdes subissent une maturation. Ainsi, quelques modifications morphologiques sont apportées sur le noyau et la membrane cytoplasmique. Les gamètes mâles acquièrent alors la capacité de mobilité du flagelle et l'aptitude à féconder. Ces fonctions sont assurées par les cellules épithéliales qui sécrètent 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 carnitine est transformée en acétylcarnitine utilisée comme substrat énergétique pour la motilité spermatique (Jeulin, Lewin, 1996).

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

### III Les caractéristiques de la semence :

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 I** )

**Tableau I : Caractéristiques de la semence de bouc et de sa production (Hafez, 1993 ; Leboeuf et al., 2003 ; Memon et al., 2006).**

<b>Aspect/Couleur</b>	<b><i>variable selon la concentration</i></b> <b>blanc nacré pour une semence de</b>
<b>Volume (mL) par éjaculat</b>	<b>0,1 à 1,5 mL</b>
<b>Concentration moyenne</b>	<b>4 .10<sup>9</sup> (2 - 5)</b>
<b>% de spermatozoïdes motiles</b>	<b>80 % (70-90%)</b>
<b>% de spermatozoïdes</b>	<b>80 % (70-90%)</b>
<b>DSO (daily sperm output)</b>	<b>2,96 .10<sup>9</sup> +/- 0,36 spermatozoïdes chez les boucs Alpin et Saanen</b>

- Le volume d'un 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 puis il diminue par la suite (Leboeuf et *al.*, 2003).
- La concentration spermatique est augmentée en dehors de la saison sexuelle (Corteel, 1977).
- L'éjaculation quotidienne de spermatozoïdes (DSO) peut correspondre entre 40 et 80 % de la production quotidienne de spermatozoïdes (DSP), lorsque les boucs sont prélevés plusieurs fois par semaine (Leboeuf, et *al.*, 2003).
- Le pourcentage de spermatozoïdes motiles est plus haut pendant la période de reproduction.
- Il existe des petites variations du pourcentage de spermatozoïdes anormaux : 5 à 8% pendant la saison et 10 à 18 % en dehors (Corteel, 1977 ; Leboeuf et *al.*, 2003).

### IV 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 ¾ 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 vésiculaires 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 une phospholipase A, la BUSgp60 (ou aussi appelée enzyme de coagulation du jaune d'œuf), et la SBU III, Les produits de leurs activité enzymatique deviennent toxiques pour les membranes cytoplasmiques. La qualité des spermatozoïdes est alors détériorée (Pellicer-Rubio et Combarous, 1998 ; Leboeuf et *al.*, 2003). Cette particularité de la semence de bouc donne des contraintes pour sa conservation et le maintien de sa qualité après cryoconservation.

### **V Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse :**

La fonction de reproduction est sous le contrôle du système nerveux central par l'intermédiaire de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Plusieurs facteurs environnementaux dont la photopériode agissent sur le système nerveux central (Chemineau et Delgadillo, 1994).

#### **A L'axe hypothalamo-hypophysaire**

Le complexe hypothalamo-hypophysaire situé à la base du cerveau est formé de l'hypothalamus et de l'hypophyse antérieure (Chemineau et Delgadillo, 1994; Thibault et Levasseur, 2001). Le contrôle de l'activité des gonades fait intervenir les hormones gonadotropes : LH (Luteinizing Hormone) et FSH (Follicule Stimulating Hormone). Elles sont synthétisées par des cellules de l'hypophyse antérieure.

La sécrétion de ces deux hormones est régulée par une neuro-hormone : la GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone, appelée aussi gonadolibérine) produite par des neurones de l'hypothalamus. Cette dernière est libérée dans les vaisseaux sanguins du système porte irriguant l'hypophyse. La gonadolibérine agit ainsi de façon immédiate sur la sécrétion de LH ; c'est pourquoi les pulses de LH sont directement liés à la pulsativité de la GnRH. Toutefois, l'action de la GnRH sur la libération de FSH est moins marquée. Les profils sécrétoires de GnRH, de LH et de FSH sont influencés par de nombreuses stimulations qui peuvent être d'origines nerveuses (stimuli visuel, olfactif, auditif) ou hormonales (rétrocontrôles, stress par les corticoïdes).

Le déclenchement et le maintien de la spermatogenèse sont sous la dépendance des hormones hypophysaires gonadotropes. Cependant, tandis que la FSH exerce ses effets directement sur l'épithélium des tubes séminifères, la LH exerce son effet stimulateur indirectement, via la testostérone produite par les cellules de Leydig. Mais il est admis que la prolactine intervient également (Dupoy J-P., 1993.)

La glande pinéale tient une place importante chez les races photopériodiques, puisque c'est elle qui traduit les effets de la lumière sur les neurones à GnRH (Baril G et al. 1993) (**Figure 10**)

### **B Rôle de la FSH**

La FSH assure le bon déroulement de la spermatogenèse en stimulant d'une part la production de testostérone et d'autre part la synthèse de l'ABP par l'intermédiaire des cellules de Sertoli (. Vaissaire.1977)

### **C Rôle de la LH**

L'action de la LH est indirecte sur le processus de la spermatogenèse puisqu'elle stimule la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig.

La sécrétion de la FSH et de la LH est contrôlée par un décapeptide hypothalamique : GnRH, de sécrétion pulsatile et de demi-vie courte. La sécrétion de la GnRH est elle-même soumise à l'influence de l'épiphysse et du système nerveux extra hypothalamique.

Deux mécanismes de rétrocontrôle long sont parfaitement établis :

L'inhibine, sécrétée par les cellules de Sertoli sous l'influence conjointe de FSH et de testostérone, déprime la sécrétion hypophysaire de FSH.

- Le taux d'androgènes circulants, d'origine gonadique, freine la sécrétion hypophysaire de la LH (Dadoune.2001)

### **D Rôle de la testostérone :**

- contrôle la différenciation de type mâle sur les organes génitaux embryonnaires,
- détermine le comportement sexuel mâle et le développement des caractères sexuels secondaires,
- stimule la synthèse de l'ABP, en synergie avec la FSH,
- contrôle la spermatogenèse par action directe sur le tube séminifère,
- contrôle la survie et la maturation épидидymaire des spermatozoïdes par stimulation des cellules épидидymaires,
- contrôle l'activité sécrétoire des glandes annexes (ex : fructose par la vésicule séminale),
- exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus pour la sécrétion de GnRH et sur l'antéhypophyse pour la sécrétion de LH,
- Enfin elle exerce une action sur la croissance en favorisant l'anabolisme protéique, la croissance des tissus osseux et le développement des muscles . (Bonne et al., 1988)

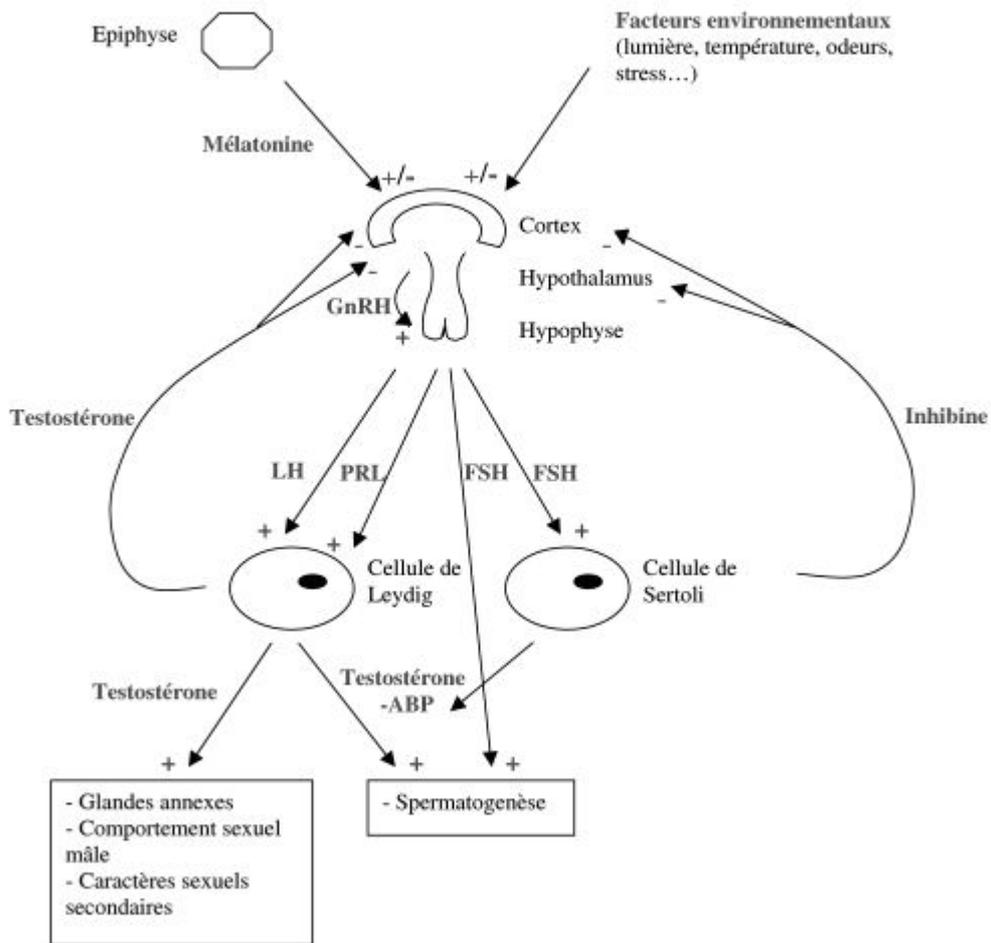


Figure 10 : regulation de la reproduction de la fonction de reproduction chez le male

### I Méthodes de récolte du sperme

La récolte du sperme constitue la première opération de l'insémination artificielle et/ou de son examen. Deux techniques peuvent être utilisées pour la collecte de la semence des mâles 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.

#### A Réalisation de la collecte au moyen du vagin artificiel

##### 1 Le vagin artificiel

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

##### a Description :

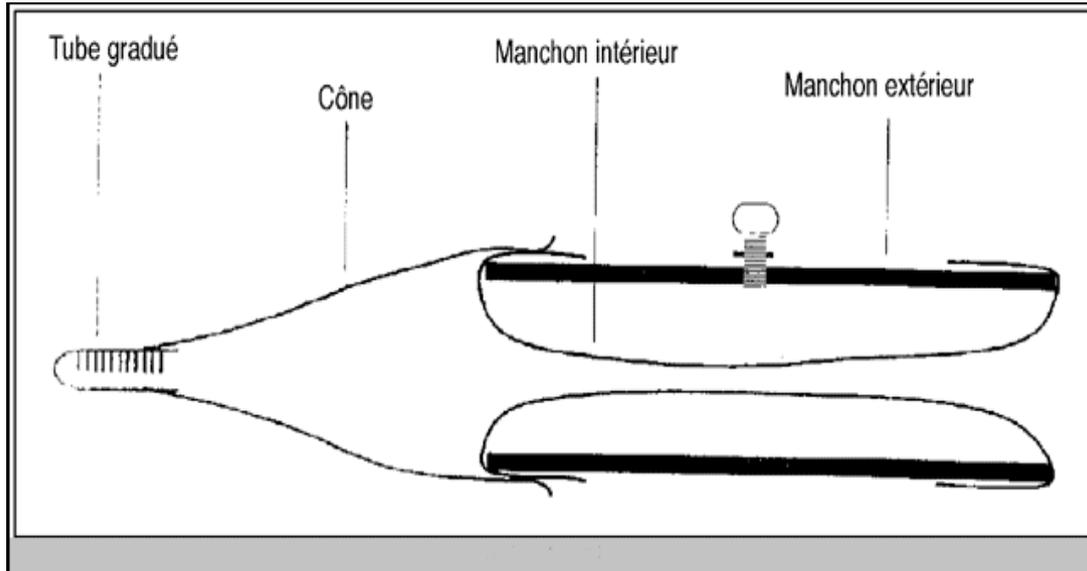
Le vagin artificiel a une forme et des dimensions en rapport avec l'espèce pour laquelle il est conçu, en tenant compte de la conformation du pénis et de la taille de l'animal. **(Figure 11)**



**Figure 11 : vagin artificiel pour les petits ruminants**

C'est un appareil simple et pratique, le vagin artificiel comporte deux parties : **(figure 12)**

- 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.



**Figure 12 : schéma représentant un vagin artificiel**

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).

### **b 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 2008).

- Elle permet également L'obtention De la totalité de l'éjaculat, et La mesure exacte de l'éjaculat, une meilleure viabilité du sperme en comparaison avec d'autres méthodes et l'absence de sécrétions extérieures.

### **2 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).

### **3 La collecte de la semence**

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 boute-en-train 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).

Il est nécessaire de mettre le vagin artificiel dans le prolongement du pénis afin d'assurer une intromission complète de l'organe. Après cela, l'animal éjacule immédiatement, le vagin est alors retourné de manière à recueillir le sperme dans le tube collecteur.

Il est important que le temps de contact entre la semence et le caoutchouc du cône soit le plus court possible (de Montigny, 1987).

### **4 Entraînement des mâles pour la collecte :**

#### **a Mâles dont la semence n'a jamais été collectée**

C'est une opération qui nécessite beaucoup de travail et de patience. Chez les races saisonnées, l'entraînement commence, de préférence, pendant la saison sexuelle, là où la motivation sexuelle est maximale, ou chez les jeunes animaux dès qu'ils entrent en puberté. Il est très important que ce travail soit assuré par la personne qui fasse les futures collectes, au même endroit où les animaux seront collectés.

Dans l'espèce caprine, du fait que les mâles sont élevés dans des boîtes individuels, les boucs sont exposés un par un devant une femelle immobilisée, de préférence en oestrus naturel ou induit par traitement hormonal classique. On peut, également, utiliser des femelles castrées, des mâles ou des mannequins. Une stimulation sexuelle appropriée permet l'obtention d'une éjaculation avec un volume, une concentration et une motilité élevés (Shoenian, 2005).

#### **i La réaction des mâles envers la femelle**

- Si le mâle manifeste un des éléments caractéristiques de la séquence du comportement sexuel :

Il est nécessaire que l'opérateur tente une approche. Celle-ci doit être faite calmement afin d'éviter un réflexe de crainte de l'animal. Si la motivation sexuelle du mâle est suffisante et

que, en dépit de la présence humaine, celui-ci continue de chevaucher la femelle, le vagin artificiel peut être présenté dès que le mâle est dans une position adéquate pour l'accouplement.

Deux situations peuvent alors survenir:

- Le mâle éjacule immédiatement dans le vagin artificiel. Il acceptera de le faire à chaque sollicitation.
- Le mâle, même s'il monte la femelle, redescend dès que la main de l'opérateur touche le prépuce pour dévier le pénis dans le vagin artificiel, ce dernier sera présenter à chaque tentative de chevauchement.

- Mâles peu motivés montrent seulement des tentatives d'accouplement :

La collecte est tentée à chaque fois que le mâle essaye de chevaucher la femelle. Le détachement de la femelle et son passage devant le mâle, le changement de la femelle ainsi que l'encouragement du mâle par la voix. Dans ce cas, une telle sollicitation ne doit pas excéder cinq à 10 minutes. Il est préférable de répéter les contacts avec la femelle, puisque c'est en général dans les minutes qui suivent chaque contact que le comportement sexuel est déclenché. (Baril et al, 1993).

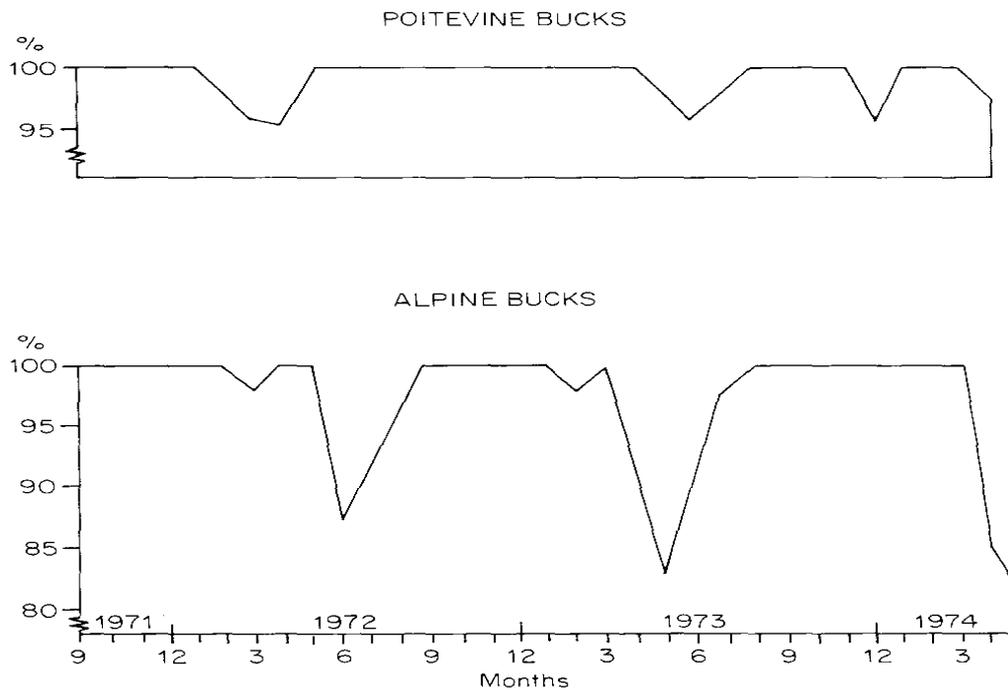
### **b Mâles dont la semence a déjà été collectée auparavant :**

Généralement, ces mâles ne manifestent pas de problèmes comportementaux, même après un repos de plusieurs mois, si le redémarrage de la collecte aura lieu en saison sexuelle. Toutefois, si ce redémarrage se situe hors saison, une inhibition sexuelle peut se produire sur un faible nombre de mâles.

Chez les boucs à activité sexuelle saisonnière, quoique manifestent un comportement sexuel normal en saison de reproduction, les chevauchements et les accouplements cessent de se produire chez tous ou quelques uns d'entre eux pendant plusieurs semaine voire mois, en contre saison (Shank, 1972).

Chez ceux qui continuent à chevaucher et accoupler au-delà de la période d'activité sexuelle, un accroissement significatif du temps de réaction est toujours observé (Corteel, 1977).

En dépit de la saisonnalité des montes, la semence peut être obtenue avec le vagin artificiel pendant toute l'année chez quelques races saisonnières telles que l'Alpine et la Poitevine. Ceci est possible avec des mâles manifestant un comportement sexuel normal et entraînés à servir le vagin artificiel dès l'âge de 5mois au rythme de deux collectes par semaine en jour et heurs fixes (**figure 13**).



**Figure 13: Variations mensuelles de l'efficacité sexuelle chez les boucs (% de succès aux tests de récolte) (Corteel, 1981).**

### c Inhibition du comportement sexuel

Soit à cause de la présence de l'homme, soit parce qu'ils sont homosexuels ou simplement «non actifs», soit enfin parce qu'ils ont un problème d'ordre sanitaire. Dans ce cas, la semence ne peut pas être collectée au vagin artificiel.

Leur proportion de 8,7% a été mesurée au hasard dans un groupe de 46 boucs Alpains et Saanen, chez qui une diminution de la libido était évidente à l'âge de 5 à 6 mois (Corteel, 1981).

#### ➤ Inhibition due à la présence de l'homme :

En présence de l'homme, peu de boucs manifestent une inhibition de leur comportement sexuel, dans le cas échéant, ces mâles reçoivent un entraînement spécial en vue de les familiariser avec la voix et l'odeur des vêtements de l'opérateur.

#### ➤ L'homosexualité :

Conséquence de l'élevage des boucs en groupes, se traduit par une inhibition du comportement sexuel du mâle en présence de la femelle. Dans une situation pareille, l'utilisation des mâles boute-en-train, au lieu d'une femelle, sera bénéfique pour la collecte de semence.

- Inhibition due à des problèmes sanitaires.

Une infection du prépuce et/ou du pénis est très douloureuse et peut empêcher la monte. Une inflammation des articulations peut également empêcher la saillie et toute infection générale est susceptible de diminuer la motivation sexuelle sont susceptibles de diminuer l'activité sexuelle. Le piétin et les abcès des pieds entraînent, presque toujours, une dégénérescence spermatique sévère ; les épидидymites peuvent être à l'origine d'une stérilité totale ou partielle (Chapelet et Thibier, 1976 ; Petrenkov, 1978, cités par OuldSaïdi, 1991).

### **B La récolte par électro-éjaculation**

L'électro-éjaculation 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 bulbourétrales, la prostate et les vésicules séminales (Stievenart, 1991)

On utilise, pour cela, une sonde rectale adaptée aux caractéristiques de l'anatomie de l'espèce (**figure 14**). 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'électro-éjaculation (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 8volts provoque l'éjaculation (Gomes, 1977).

#### **1 La Technique**

Les mâles sont télé-anesthésiés à l'aide d'un mélange de zolétil® (1mg/kg de tilétaminezolazépam) et de xylazine® à 1,5mg/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 effectué 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

## Collecte et contrôle de la semence

protège vagin à 37°C puis transféré au laboratoire dans un bainmarie 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 1mg/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 a préconisé 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 14 : Prélèvement de sperme par électro-éjaculation chez un taureau

## II Contrôle de la semence

### A Examens macroscopiques

#### 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).

Selon Setchell, (1977) et Taure, (1988), le volume de l'éjaculat varie entre 0,2 et 0,5ml chez les jeunes boucs de 7 à 10mois, et entre 0,6 et 2ml chez les adultes.

La production spermatique chez le bouc de race ARBIA augmente pendant la saison d'été et d'automne, puis elle commence à régressée en hiver et essentiellement au printemps. Et s'annule au mois de mai (Belhamiti, 2006)

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).

Chez les boucs des races saisonnées, le comportement sexuel, le volume testiculaire et la production spermatique sont influencés par les changements photopériodiques (Ortavant, 1977 ; Laubser et al, 1982 ; Branca et Cappai, 1989)

Chez le bouc australien de race cachemire, Walkden-Brown et al, 1994b, constatent que la reprise de l'activité sexuelle en fin d'été et à l'automne s'accompagne d'une augmentation du poids vif, de la circonférence scrotale, de l'intensité de l'odeur sexuelle, de la concentration plasmatique de testostérone, ainsi qu'une diminution de la quantité de nourriture ingérée.

Les boucs de race Alpine et Poitevine ont un volume d'éjaculat élevé en automne et en hiver, c'est-à-dire pendant la saison sexuelle. Ensuite, le volume diminue pour atteindre des valeurs minimales au printemps et en été, c'est-à-dire en période de repos sexuel (Leboeuf et al, 2003).

#### 2 La couleur du sperme

Chez la plupart des espèces animales, la couleur du sperme peut varier du blanc clair au jaune brillant (Ezekwe, 1988a).

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.

- Un sperme de couleur jaunâtre imputable à la présence d'un lipochrome provenant des vésicules séminales et dont la présence est sans rapport avec l'alimentation. Cette couleur jaune peut également résulter de la présence de pus ou d'urine ce qui compromet le pouvoir fécondant du sperme.
- La coloration rosée ou rougeâtre résulte de la présence de sang ou peut faire suite à l'administration prolongée de phénothiazine.

Remarque : quelques gouttes ou ml de sang peuvent parfois apparaître à la fin de l'éjaculation. Elles disparaissent le plus souvent spontanément et n'interfère pas avec la fécondation. Leur présence résulte vraisemblablement de ruptures de micro vaisseaux. Le plus souvent la présence d'éléments figurés du sang n'interfère pas avec la fertilité étant donné la présence dans le plasma séminal d'hémagglutinines qui éliminent ces corps étrangers par agglutination. (Hanzen, 2015)

- 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).

### **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).

### **4 La mesure du PH :**

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

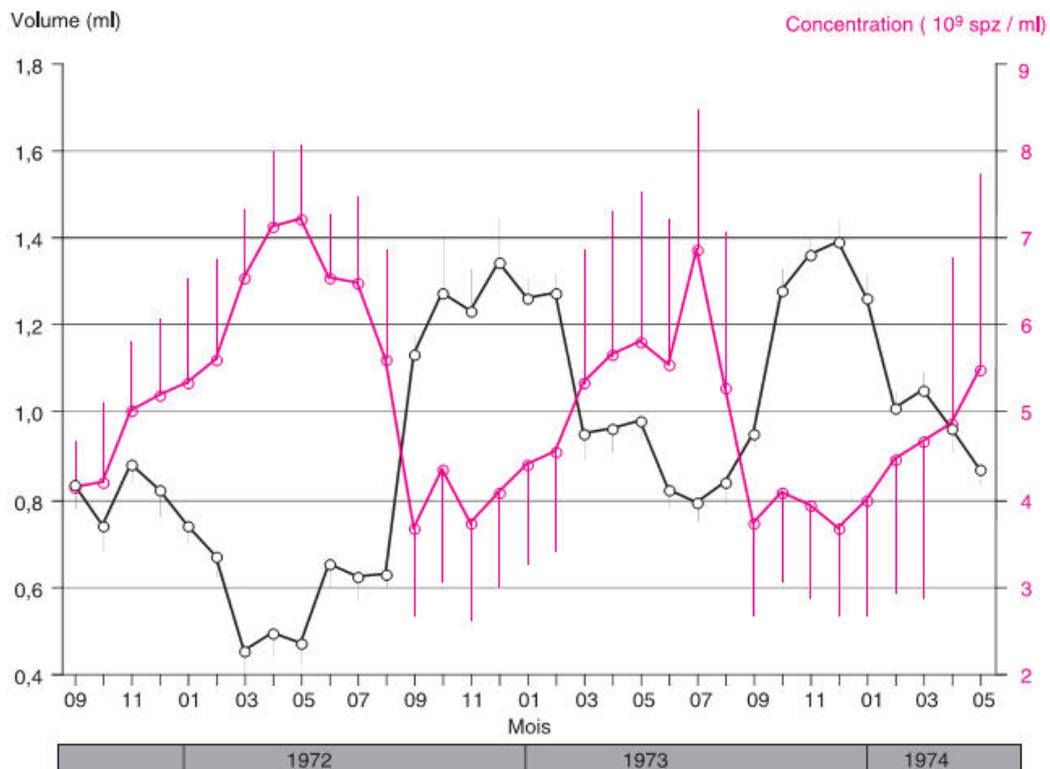
## **B Examen microscopique du sperme:**

### **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 (**figure 15**). 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)



**Figure 15 : Variations saisonnières du volume de l'éjaculat et de sa concentration en spermatozoïdes chez cinq boucs alpin, m ± sem (Corteel, 1977).**

### **a appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculat**

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 1 milliard de spz/ml.

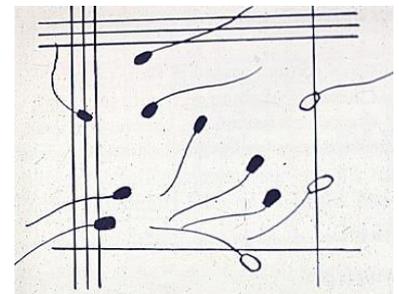
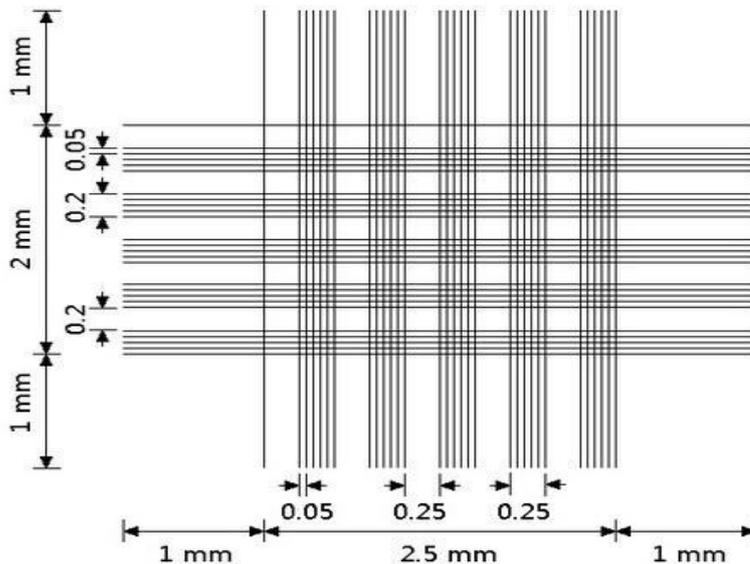
En revanche, un sperme blanc ivoire peut exprimer une concentration supérieure ou égale à 3 – 4 milliards de spz/ml (Marquis, 1990).

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.

### b 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 (**figure 16**). 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 mm<sup>3</sup> (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 mm<sup>3</sup>**. 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 spermes de taureau, de bélier et de bouc. (Hanzen 2015). 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 mm<sup>2</sup>, P : 0.2 mm), Thoma (S : 1 mm<sup>2</sup>, P: 0.1 mm), Neubauer (S : 9 mm<sup>2</sup>, P: 0.1mm) et Türk (S : 9 mm<sup>2</sup>, P: 0.1 mm).



**Figure 16 : Hématimètre : cellule de malassez**

Les différentes étapes à suivre pour un comptage à l'hématimètre sont les suivantes:

- Prélever (précisément) 0,01 ml de semence pure et le diluer dans 4 ml (précisément) de sérum physiologique formolé puis homogénéiser la solution.
- Préparer l'hématimètre en pressant fortement la lamelle sur les côtés de la grille, après avoir nettoyé et séché soigneusement les surfaces concernées. Cette manipulation permet de faire adhérer la lamelle à l'hématimètre
- Avec une pipette Pasteur, rincée au préalable, avec la solution contenant les spermatozoïdes, déposer une petite goutte de solution sans bulle d'air, en bordure de la lamelle. La gouttelette, par capillarité, se répartit, alors, entre l'hématimètre et lamelle.
- Laisser reposer quelques minutes afin que les spermatozoïdes se déposent sur le fond de la l'hématimètre.
- Placer avec soin l'hématimètre sur la platine du microscope, sous contraste de phase avec un grossissement de 200. Le champ du microscope couvre généralement la surface d'un grand carré.

Après dépôt d'une goutte de sperme et son recouvrement par une lamelle, le nombre de spermatozoïdes est déterminé au grossissement 10 x 40 sur une surface correspondant à 4 grands carrés. Par convention, on ne prend en compte que les têtes des spermatozoïdes situés à l'intérieur des deux lignes parallèles délimitant chaque grand carré ou dont la tête se trouve sur les lignes gauche et supérieure délimitant un grand carré. Le calcul de la concentration se fait de la manière suivante :

Pour calculer le nombre de spermatozoïdes par ml de l'échantillon initial:

Calculer le nombre moyen de spermatozoïdes comptés dans les 4 grands carrés, Multiplier la moyenne obtenue par 100 000 pour obtenir le nombre de cellules par ml d'échantillon dilué. Multiplier le nombre obtenu en par le facteur de dilution.

### **c 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 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).

### a 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**)

Cette technique est suffisamment efficace pour détecter les éjaculats où les spermatozoïdes sont morts ou sont très peu mobiles; elle est toutefois trop imprécise pour différencier les éjaculats avec différents pourcentages de spermatozoïdes mobiles ou différentes motilités individuelles (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 II : la description de la motilité massale des spermatozoïdes (Salamon, 1976).**

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

### **b La motilité individuelle des spermatozoïdes :**

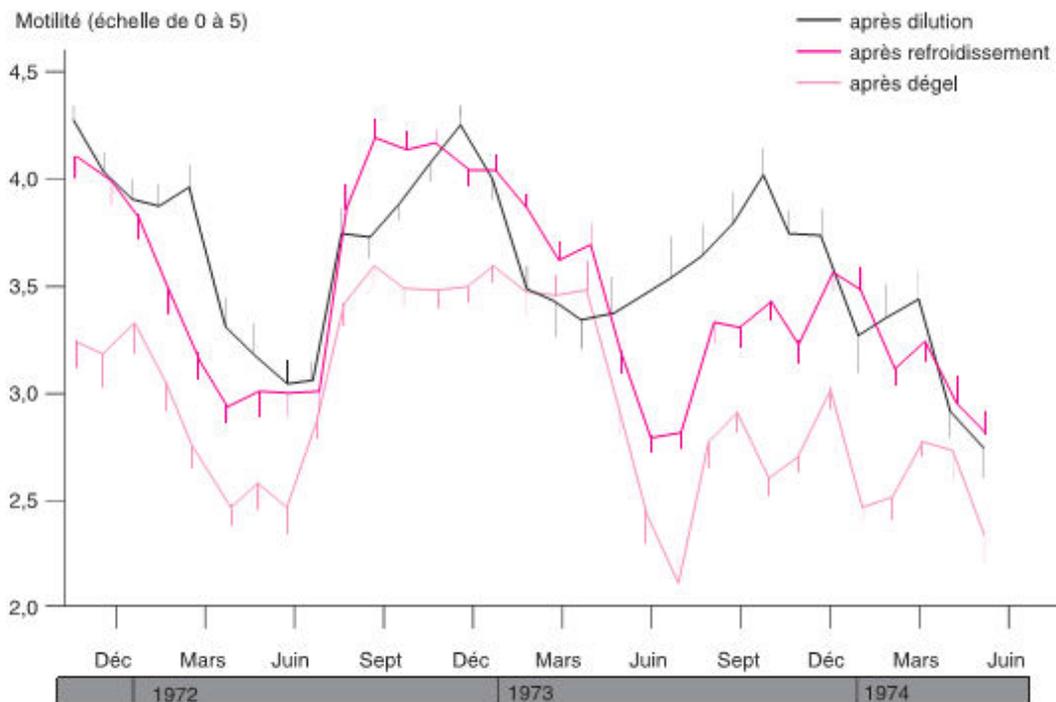
Cette évaluation est réalisable en même temps que l'estimation du pourcentage des spermatozoïdes mobiles, d'ailleurs, elles sont effectuées dans les mêmes conditions de grossissement et de température (Hafez, 1987 ; Baril et al, 1993).

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.

La motilité d'un spermatozoïde peut être considérée comme bonne quand il traverse le champ du microscope relativement rapidement avec des mouvements de rotation de la tête (spermatozoïdes fléchants ou traceurs). Certains spermatozoïdes présentent des mouvements circulaires imputables à l'implantation abaxiale de leur queue. D'autres se déplacent de manière curviligne ou plus lentement. Les analyseurs d'image de type CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) permettent de quantifier de manière plus précise la nature et la vitesse des déplacements. 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,2009)

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).

Chez les races à activité sexuelle saisonnière, le taux des spermatozoïdes mobiles est élevé pendant la saison sexuelle et faible en dehors de celle-ci (Delgadillo, 1990). 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 (**Figure 17**). En général, les variations saisonnières de la motilité, évaluées en conditions définies, sont associées aux variations saisonnières correspondantes de la fertilité (Corteel, 1976a).



**Figure 17 : Variation mensuelles de la motilité des spermatozoïdes après dilution refroidissement et dégel chez le bouc alpin ( corteel 1977)**

Les deux tests précédents sont suffisamment précis pour juger ou non si les éjaculats doivent être écartés sur la base de faibles pourcentages de spermatozoïdes mobiles ou de faible motilité. Ils sont généralement utilisés pour apprécier la qualité de la semence après congélation et dégel. Toutefois, même s'ils sont liés à la fertilité de la semence, ils sont incapables de la prédire avec précision; d'autres tests sont donc nécessaires (baril et al, 1993)

### 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 mélangé a 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. Le frottis est ensuite fixé par immersion dans une solution d'alcool méthylique ou dans une solution de formaline à 5 %. La fixation à l'air libre est également possible comme celle consistant à passer rapidement le frottis au-dessus d'une lampe à alcool. Tout choc thermique sera néanmoins évité pendant ces préparations. 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.

### **a 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 fuschine.

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).

### **b 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), cette technique permet la détermination du pourcentage des spermatozoïdes morts par rapport aux vivants.

Les frottis sont réalisés en mélangeant une goutte de colorant avec une goutte de sperme. Cependant, l'acrosome ne peut pas être évalué sur ce type de préparation, et seule une lecture, en milieu humide de préparation des gamètes fixés au formol en contraste de phase, le permet (Chavette, 1992).

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 150spz 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.

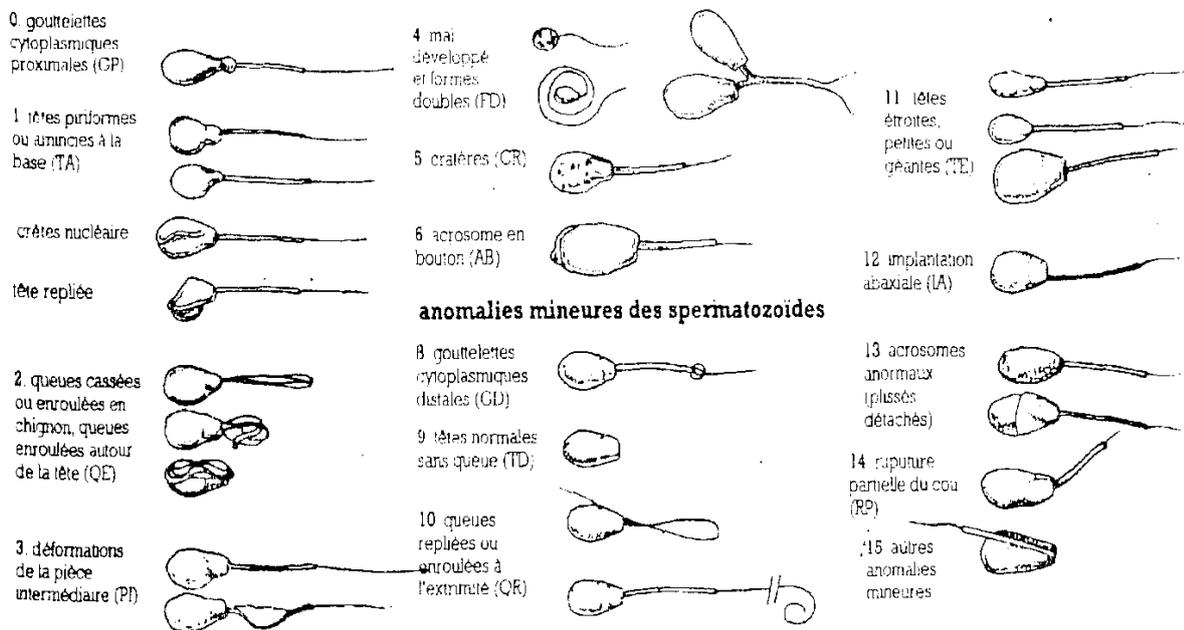
D'après Corteel, 1981, l'incidence des anomalies morphologiques des spermatozoïdes augmente en dehors de la saison sexuelle ou après exposition des mâles à des températures ambiantes élevées. Cependant, la fertilité du bouc sera affectée, surtout si leur proportion dépasse 20% (Marquis, 1990).

Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes peuvent être dites primaires si elles trouvent leur origine pendant la phase de spermatogenèse ou secondaires si elles surviennent pendant leur phase de maturation épидidymaire. La majorité des lésions du spermatozoïde sont dites primaires. Certaines peuvent être à la fois primaires et secondaires

comme la présence de gouttelettes, les têtes sans queue. Les lésions du spermatozoïde peuvent également être qualifiées de majeures ou de mineures selon qu'elles exercent ou non un effet négatif sur la fertilité.

Enfin, elles peuvent concerner isolément ou simultanément les diverses parties du spermatozoïde. La tête peut présenter des anomalies de forme, de dimensions, de duplication, de position ou de structure de l'acrosome. Les anomalies du col intéressent l'implantation de la queue, les têtes sans queue ou la persistance de la gouttelette protoplasmique. **(figure 18)**

**anomalies majeures des spermatozoïdes**



**Figure18: Classification des différentes anomalies spermatiques (Dumont, 1996).**

**c 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).

### **d Examens complémentaires**

#### **i Le 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).

#### **ii 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 10 minutes, au contraire, un sperme de qualité médiocre ne l'a qu'en dépassant les 15 minutes (Milovanov, 1986).

#### **iii 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 3 heures 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).

### **C 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 intracervicale;).

### III 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. Malgré de nombreux travaux consacrés à ces problèmes, la fertilité de la semence congelée demeure généralement plus faible que celle de la semence conservée pendant quelques heures à température positive.

L'effet délétère du plasma séminal sur la viabilité des spermatozoïdes conservés dans un milieu à base de lait écrémé ou contenant du jaune d'œuf, constitue un problème spécifique pour la conservation de la semence de bouc. Une enzyme sécrétée dans le plasma séminal par les glandes bulbo-urétrales, nommée egg yolk coagulating enzyme (EYCE), a d'abord été mise en évidence par Roy (1957) et Iritani *et al* (1961).

Plus récemment, 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.

- **L'enzyme de coagulation du jaune d'œuf (EYCE)**

La toxicité de l'enzyme EYCE sur les spermatozoïdes varie avec le pH, la température, la quantité de plasma séminal, la saison de production et la race des poules ayant produit le jaune d'œuf utilisé. Quand les spermatozoïdes de boucs sont débarrassés du plasma séminal par lavage avant dilution dans un milieu à base de jaune d'œuf et conservation à 4 °C, leur taux de survie est supérieur à celui des spermatozoïdes non lavés (Roy 1957, Iritani *et al* 1961). L'enzyme EYCE a été identifiée comme une phospholipase A, laquelle hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf en acides gras et lysolécithine (Iritani et Nishikawa, 1961 et 1963), ce dernier composant étant toxique pour les spermatozoïdes de bouc.

- **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. L'addition de SBU III à ce milieu réduit la viabilité des spermatozoïdes lavés, alors qu'aucun effet n'est observé lorsqu'ils sont dilués dans une solution saline Krebs-RingerPhosphate-Glucose (KRPBG).

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). Elle induit la diminution du taux de spermatozoïdes mobiles et de la motilité, une altération de l'acrosome et la mort des spermatozoïdes épидидymaires en présence de dilueur à base de lait écrémé.

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 (PLRP2 ; Sias 2000). Contrairement aux lipases classiques qui hydrolysent sélectivement les triglycérides, les PLRP2 possèdent également des activités phospholipasique A1 (Thirstrup *et al* 1994) et galactolipasique (Andersson *et al*, 1996).

Des observations en microscopie électronique ont révélé que 95 % des spermatozoïdes provenant de la queue de l'épididyme et dilués dans un milieu lacté déclenchent une réaction acrosomique après exposition aux sécrétions bulbo-urétrales (SBU). Les sécrétions des glandes vésiculaires (SGV) induisent une réaction acrosomique chez seulement 5 % des spermatozoïdes. Mais un mélange des deux sécrétions (SGV = 2,5µl/ml + SBU 2,5µl/ml) induit seulement 26,7 % de réaction acrosomique, ce qui montre l'effet protecteur des sécrétions vésiculaires (Courtens *et al* 1984).

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'oeuf 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 jaune d'oeuf.

### **A 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'oeuf (Fougner 1974, Ritar et Salamon 1982). Mais l'élimination du plasma séminal n'est pas nécessaire à la survie des spermatozoïdes conservés à 4 °C (Leboeuf *et al* 2003).

Les éjaculats collectés en saison sexuelle contiennent plus de plasma séminal que ceux obtenus en dehors de celle-ci. Une corrélation négative entre le volume de plasma séminal de l'éjaculat et le pourcentage de cellules mobiles après décongélation a été mise en évidence par Corteel (1977). Le taux de survie après congélation-décongélation est proportionnel ( $r = 0,9$ ) à la concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

Quand on compare la survie *in vitro* du sperme épидидymaire ou éjaculé, après dilution dans un milieu lacté, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et la motilité après congélation /décongélation et incubation à 37 °C sont plus élevés pour le sperme épидидymaire que pour le sperme éjaculé (Chemineau 1978).

Le plasma séminal produit en dehors de la saison sexuelle est plus défavorable au taux de survie et à la motilité des spermatozoïdes épидидymaires dilués dans un milieu à base de lait écrémé que le plasma séminal produit au cours de la saison sexuelle.

Cela suggère que l'effet négatif des sécrétions des glandes bulbo-urétrales est partiellement inhibé par les sécrétions des glandes vésiculaires seulement durant la saison sexuelle (Nunes 1982).

### **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  $400 \times 10^6$  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.

### **B Les 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 (Hammerstedt et al., 1990; Bailey et al., 2000).

#### **1 La dilution de la semence :**

Elle permet de réaliser, à partir d'un seul éjaculat, l'insémination d'un nombre important de femelles 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).

Depuis les 50 dernières années, les dilueurs à base de jaune d'œuf et de lait de vache sont les plus répandus pour la conservation des semences d'animaux d'élevage en frais ou en congeler (Iritani & Nishikawa, 1961; O'Shea & Wales, 1966). Cependant, le mécanisme par lequel le jaune d'œuf et le lait protègent les spermatozoïdes pendant la conservation en frais ou contre le cryodommage reste très peu connu.

##### **i L'effet bénéfique du jaune d'œuf**

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

Le jaune d'œuf est généralement très concentré dans le dilueur (20% v/v) ce qui a poussé plusieurs études à identifier son composant le plus actif qui serait responsable de l'effet protecteur (Foulkes, 1977; Watson, 1981). Il en est ressortit que la lipoprotéine de basse densité (*low-density lipoprotein* « LDL ») était le composant du jaune d'œuf montrant le meilleur effet protecteur de semence (Pace & Graham, 1974; Watson, 1981).

De plus, certaines études ont également montré que le LDL seul était largement responsable de la résistance des spermatozoïdes bovins au choc du froid ainsi que, l'amélioration de la motilité spermatique post dégel (Moussa et al., 2002; Amirat et al., 2004).

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 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).

### **iiL'effet bénéfique du lait :**

Le lait entier ou le lait écrémé sont couramment utilisés comme base de dilueur pour la conservation de semence à 4°C ou pour la congélation de semence lorsqu'ils sont supplémentés en glycérol (Kakar & Ganguli, 1978).

Le lait entier est constitué d'eau (87,5 %), de protéines (3.2 %), de sucres (4,6 %), de lipides (3,7 %) et de minéraux (0.8 %). Le lait écrémé à la même composition à la différence qu'il n'a que < 0.1 % de lipides (Lusignan et al., 2011).

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 caséines extraites du lait permettent de conserver à 4°C la semence d'étalon (Batellier et al., 1997), de bouc (Leboeuf et al., 2003), de bélier (O'Shea & Wales, 1966) ainsi que la semence de taureau en frais (O'Shea & Wales, 1966) et en congelée en présence de glycérol (Choong & Wales, 1963)

## **2 Conditionnement de la semence :**

## Collecte et contrôle de la semence

Le sperme est, généralement, stocké en paillettes de chlorure de polyvinyl, de 0,5 ou 0,25ml. L'une des extrémités des paillettes est obstruée par deux bouchons, entre lesquels s'interpose de la poudre d'alcool polyvinylique

Après homogénéisation de la semence diluée, il est possible de remplir les paillettes soit par utilisation d'une machine (**figure 19**), 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 (**figure20**). Après quoi, en utilisant une seringue ou avec un bref mouvement de poignet, il est nécessaire de laisser 1 cm d'air à l'autre extrémité de la paillette afin de pouvoir obturer celle-ci avec de la poudre polyvinylique de couleur. Les paillettes, soigneusement séchées avec du papier, peuvent alors être employées (Marquis, 1990).



Figure 19 : conditionnement de la semence

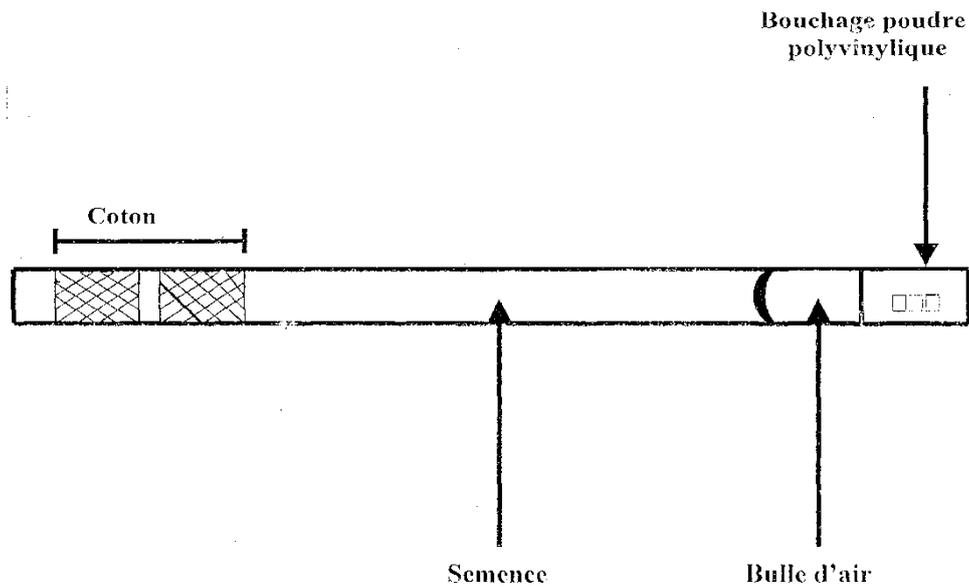


Figure20: Schéma d'une paillette d'insémination artificielle (Derivaux et Ectors, 1986).

### 3 La conservation a l'état liquide

le sperme du bouc peut être conservé à des températures allant de 2 à 15°C, le plus souvent à 4°C. Actuellement, pour la préservation de la semence à l'état liquide à 4°C, les milieux à base de lait écrémé sont les plus utilisées (Leboeuf et al, 2003).

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; Leboeuf et al., 1998; Verberckmoes et al., 2005; O'Hara et al., 2010).

Cette descente en température a pour but de réduire les dépenses métaboliques et de prolonger la durée de 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 & Maxwell, 2000). Plus récemment, les dilueurs de conservation de semence en frais sont à base de Tris : Tris-glucose-jaune d'œuf et le Tris-citrate-fructose-jaune d'œuf (Salamon & 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 & Shannon, 2000; O'Hara et al., 2010). En revanche, le lait doit être préalablement chauffé afin d'éliminer la lacténine, une protéine du lait capable de diminuer la qualité spermatique (Vishwanath & Shannon, 2000).

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

### 4 La cryoconservation de la semence

#### a 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 leurs fonctions (Mazur, 1984). Cette dernière partie de la définition est la plus difficile à maîtriser puisque les cellules et tissus ne sont pas naturellement programmés pour résister à la congélation et la majorité des cellules non protégées subissent d'importants dommages à basse température. De plus, les cellules spermatiques ne possédant aucun système de réparation subissent des dommages irréversibles rendant la semence non fonctionnelle.

Il devient, donc, indispensable de maîtriser les modifications biologiques, physiologiques et physiques s'exerçant sur les cellules et leur environnement au moment de la cryoconservation afin d'apporter aux spermatozoïdes des composants pouvant leur permettre de résister à ces modifications délétères.

la congélation peut se faire à l'aide d'une machine dans laquelle la température est programmée ou en manipulant les paillettes de la manière suivante (**figure 21**) :

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).

**Remarque :** un maintien de la semence à plus 5°C, en présence de glycérol, est nécessaire avant d'amorcer la descente vers les températures de congélation (Adamou-N'daye et al, 2003).



Figure 21 : Congélation et stockage des paillettes (CIA AWE Ciney Belgique)

L'eau est non seulement indispensable à la vie de toute cellule mais elle est également le principal agent responsable des cryodommages au moment de la congélation. Pendant sa 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).

Les agents cryoprotecteurs augmentent la concentration de tous les solutés du système permettant la réduction des cristaux de glace. Pour être biologiquement acceptable par les cellules, les agents cryoprotecteurs doivent avoir un faible taux de toxicité, qu'il soit pénétrant ou non (Fahy et al., 1984).

Selon plusieurs études, les techniques de congélation de semence induisent des dommages aux spermatozoïdes affectant l'intégrité des membranes et des fonctions spermatiques (Mazur, 1968; Critser et al., 1987; Hammerstedt et al., 1990; Bailey et al., 2000; Bailey et al., 2003).

Quel que soit le type de dilueur ou la technique de congélation, une grande majorité des spermatozoïdes présente une baisse de motilité et d'intégrité membranaire réduisant leurs chances de fécondation (Salamon & Maxwell, 1995; Gillan et al., 2004; Menchaca & Rubianes, 2004; Barbas & Mascarenhas, 2009).

### **b Les agents cryoprotecteurs**

En 1949, il a été démontré pour la première fois que l'ajout de glycérol à de la semence de coq permettait d'augmenter le taux de survie des spermatozoïdes après décongélation (Polge et al., 1949). 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 cryodommages 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 cryoprotecteur 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 cryoprotecteur le plus couramment utilisé pour la congélation de semences de mammifères (Di Santo et al., 2012). Toutefois, il a été démontré chez l'humain que l'utilisation de glycérol pour la congélation de semence induit des ondulations de la

membrane plasmique, une altération de la membrane acrosomale interne ainsi qu'une désorganisation des crêtes mitochondriales (Sherman, 1990).

De ces observations, plusieurs autres agents cryoprotecteurs ont été proposés pour la congélation de semences, comme le méthanol chez le poisson (Lahnsteiner et al., 2000; Yang et al., 2010), du diméthylacétamide chez le coq (Blanco et al., 2010; Wishart, 2007) et du DMSO chez l'amphibien (Mansour et al., 2010).

En 1963, Peter Mazur démontrait que le changement de température contrôle le transport d'eau à travers la membrane cellulaire (Mazur, 1963). 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 cryoprotecteurs 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).

## I L'INSEMINATION ARTIFICIELLE

### A Introduction générale

#### 1 Définition et historique de l'insémination artificielle (IA)

L'insémination artificielle consiste à déposer le sperme au moyen d'un instrument, 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.

Déjà utilisée par les arabes au XIV<sup>ème</sup> siècle, l'insémination ne fut réellement appliquée qu'en 1779 par le physiologiste italien Lauro Spallanzani qui injecta du sperme dans le vagin d'une chienne en chaleur. L'animal accoucha 62 jours plus tard de 3 chiots. La méthode fut ensuite reproduite un siècle plus tard par Albrecht, Millais et en France par Repiquet. C'est cependant au début du 20<sup>ème</sup> siècle qu'Ivanov et ses collaborateurs développent la méthode en mettant au point le vagin artificiel. Les USA lancèrent l'insémination artificielle en 1938 soit quelques années après les danois. C'est cependant avec la mise au point par Poldge et Rowson en 1952 de la congélation du sperme que l'insémination artificielle prit réellement son essor. Elle s'est à l'heure actuelle généralisée et concerne non seulement l'espèce bovine mais les espèces équine, ovine, caprine, porcine, les volailles et les abeilles (Henzen, 2016).

### B Les avantages de l'insémination artificielle

#### 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.

#### 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, chlamyphilose, 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).

### **3 Avantage économique**

Le progrès génétique dans un troupeau améliore les résultats technico-économiques d'un élevage. Plus le pourcentage de femelles inséminées est élevé, plus le gain économique est important. En effet, les chèvres ont un meilleur rendement laitier ; le taux protéique est amélioré, les réformes pour mauvaise production et mauvaise conformation de la mamelle diminuent progressivement et le nombre de boucs reproducteurs nécessaires est diminué (Gahery, 2012).

L'insémination associée à une méthode de contrôle de la reproduction vous permet de produire du lait sur les périodes où les reproducteurs nés d'insémination se vendent plus facilement et plus chers que les animaux nés de monte naturelle. Le marché est plus favorable c'est-à-dire au moment où le lait et les fromages bénéficient de prix de vente plus élevé (Unceia et capri-ia, 2004).

### **4 Avantages techniques**

L'insémination permet une gestion plus rigoureuse des lots d'animaux ce qui 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 l'insémination 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.

### **C 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.

## **D Sélection des chèvres pour l'insémination artificielle**

Les meilleures candidates doivent être sélectionnées et les protocoles respectés scrupuleusement afin d'inséminer au bon moment. Le choix et la préparation des femelles destinées à l'IA ont une grande influence sur les résultats de fertilité après insémination (Leboeuf et *al.*, 1998). Les femelles destinées à l'IA sont d'abord choisies sur des critères physiologiques avant de sélectionner sur des critères génétiques. En effet, parmi les facteurs d'échecs à l'IA identifiés, beaucoup d'entre eux sont liées aux caractéristiques physiologiques et pathologiques de la chèvre. Les recommandations suivantes permettent d'écartier les femelles à risque.

### **1 Ecartier les chèvres présentant une pseudogestation**

L'état de pseudogestation, nommée aussi hydromètre est une cause importante d'infertilité chez la chèvre laitière. Plusieurs raisons justifient la réforme des chèvres pseudogestantes. D'une part, toute IA serait un échec et d'autre part, les femelles atteintes ne répondent pas à l'effet mâle. En pratique, le diagnostic peut être établi par un examen échographique. Dans le planning de reproduction, le chantier de détection est prévu le jour de la pose des éponges vaginales de FGA ou au maximum dans les 10 jours précédant le début du traitement. (Gahery, 2012)

### **2 Les traitements hormonaux répétés et anticorps anti-eCG**

Il est déconseillé d'inséminer des chèvres ayant reçu plus de 3 traitements hormonaux avec de l'eCG dans sa carrière. Un seul traitement par an doit être accordé pour une chèvre. En présence d'anticorps anti-eCG, les œstrus et les ovulations sont retardés. Sur les œstrus tardifs, la fertilité à l'IA est diminuée pour une insémination 48 heures après le retrait de l'éponge (Roy et *al.*, 1995). Sur des œstrus apparaissant plus de 30 heures après le retrait de l'éponge de FGA, la fertilité est réduite à 33 % versus 65 % avec des chaleurs avant 30 heures (Baril, Leboeuf, et *al.*, 1993).

### **3 Ecartier les chèvres avec des antécédents d'infertilité**

Les femelles n'ayant pas eu un passé d'échec de fécondation ont de meilleurs résultats de reproduction après IA. Cette observation a été faite sur des chèvres de 3 ans, mises à la reproduction entre le 1<sup>er</sup> mars et le 15 juin (De Crémoux et *al.*, 2008).

### **4 Ecartier les chèvres ayant moins de 170 jours de lactation**

Le taux de conception après IA varie selon l'intervalle mise-bas-IA. Ainsi, pour une lactation inférieure à 135 jours, le taux de mise-bas est de 41,4 %, puis augmente à 63,1% pour un intervalle de mise-bas-IA compris entre 210 et 240 jours (Leboeuf et *al.*, 1998).

### **5 Ecartier les chèvres fortes productrices laitières**

Les chèvres avec une production journalière supérieure à 45 kg au moment de l'IA, ont un taux de fertilité moyen diminué de 10 %. Une forte productivité laitière influence l'expression et la venue des chaleurs (Leboeuf et *al.*, 1998).

### **6 Ne pas intégrer les chevrettes, ni les chèvres de plus de 5 ans**

Seulement des chevrettes ayant atteint un développement corporel suffisant sont choisies pour l'IA. L'insémination animale réalisée après un traitement hormonal de synchronisation donne de mauvais résultats sur les chevrettes qui ne sont pas encore cyclées. La fertilité est généralement inférieure à 50 % (Leboeuf et *al.*, 1998 ; Bocquier et *al.*, 2000 ; Gateff et *al.*, 2003). Plusieurs facteurs participent à ces mauvais résultats sur le terrain. Le tractus génital n'est pas complètement développé et il est donc trop étroit pour réaliser une insémination dans les meilleures conditions. La durée du geste d'insémination est alors allongé, ceci diminue les chances de fécondation (Houdeau et *al.*, 2008). De plus, en dehors de la saison, la plupart des chevrettes mises à la reproduction (âge compris entre 6 et 8 mois) n'ont pas atteint la puberté (Gateff et *al.*, 2003).

### **E Préparation alimentaire des chèvres avant insémination**

La panse (ou rumen) abrite des microorganismes. A chaque régime alimentaire correspond un équilibre de la flore du rumen. Tout changement va modifier ces équilibres plus ou moins brutalement. Les mauvaises transitions alimentaires (changement brutal de fourrage ou augmentation rapide de la quantité de concentré) sont à l'origine de troubles métaboliques tels que l'acidose. Cela entraîne des modifications hormonales néfastes à la reproduction. Un changement de régime alimentaire ne doit donc jamais être brutal, mais s'effectuer au moins sur 15 jours. Il n'existe pas de conduite alimentaire optimale pour un lot de chèvres. Les besoins des animaux dépendent de leur âge, de leur poids, de leur production laitière... L'énergie est le facteur dominant en terme de gestion des apports alimentaires pour préparer la reproduction. Concernant les apports azotés, il est important de respecter un bon équilibre entre énergie et azote. Un excès d'azote n'est pas nuisible en tant que tel mais il peut le devenir lorsqu'il pénalise l'apport énergétique. Il est important d'éviter tout déficit énergétique au moment de l'insémination. Mais il faut également éviter les excès d'énergie qui peuvent provoquer une mortalité embryonnaire précoce. Avant la reproduction, les femelles sont en phase de reconstitution des réserves. La ration doit couvrir sans excès la totalité des besoins énergétiques et protéiques. Une étude, réalisée sur 262 troupeaux utilisant l'insémination (M.C. Leclerc, Institut de l'Élevage, 2001), a montré que les meilleurs résultats de fertilité sont liés à une ration moyenne annuelle plus fibreuse, qui se caractérise par un apport plus important de Matière Sèche (MS) fourrage que vient compléter une distribution plus limitée de concentrés. Il est donc préconisé, pour une production laitière annuelle de 800 kg, un apport énergétique total de l'ordre de 800-850 UFL/an/chèvre dont au moins 55 % apportés sous forme de fourrages de bonne qualité et ingestibles. Il semble qu'un apport trop important d'énergie, notamment sous forme de concentrés et qu'une distribution trop faible de fourrages, soient pénalisant pour la fertilité. (Unceia et capri-ia 2004)

## F insémination artificielle

L'insémination demande essentiellement de la rigueur. Le temps à consacrer à l'ensemble du chantier d'insémination peut être limité et optimisé si les différentes étapes sont bien planifiées. L'organisation du chantier doit répondre à 2 objectifs afin de permettre une insémination dans les meilleures conditions et optimiser la fertilité :

- ◆ Travailler dans un endroit calme et familier pour les femelles.
- ◆ Procurer un confort de travail suffisant pour l'inséminateur et les éleveurs.
- ◆ Repérer correctement les chèvres à inséminer avec un crayon marqueur par exemple, les regrouper et les bloquer au cornadis quand c'est possible.
- ◆ Inséminer les chèvres en respectant au mieux l'ordre pris en compte pour le retrait des éponges.
- ◆ Limiter le stress avant, pendant et après l'insémination.

### a la contention

L'animal doit être maintenu la tête en bas et la voie génitale en haut pour permettre une meilleure visualisation du col de l'utérus et un dépôt de la semence dans les meilleures conditions. (figure 22)



***La meilleure contention est celle qui permet  
une bonne stabilité de la chèvre  
et limite le stress***

Figure 22 : les différents modes de contention de la femelle en vue d'insémination artificielle

### i Au cornadis

# Insémination artificielle

Prévoir 2 personnes qui se placeront de chaque côté de la femelle pour la soulever. Cela rend le travail moins pénible et évite que la femelle ne soit inclinée d'un côté ou de l'autre lors de l'insémination.

## ii La chaise de contention

Ce matériel permet une position confortable pour l'inséminateur et la chèvre. Pour éviter de perdre du temps, prévoir deux personnes : la première repère la chèvre pour inséminer dans le lot et l'amène vers la chaise, la deuxième soulève la chèvre après l'avoir bloquée sur la chaise.

## b Technique d'insémination artificielle exocervicale

### i Préparation du matériel

L'équipement nécessaire se constitue d'un pistolet d'insémination, d'une gaine sanitaire, d'une paire de ciseaux, d'un spéculum, d'une pince hémostatique pour la manipulation des paillettes, d'un thermos pour la décongélation des paillettes et de la cuve d'azote liquide contenant les paillettes congelées (**figure 23**)

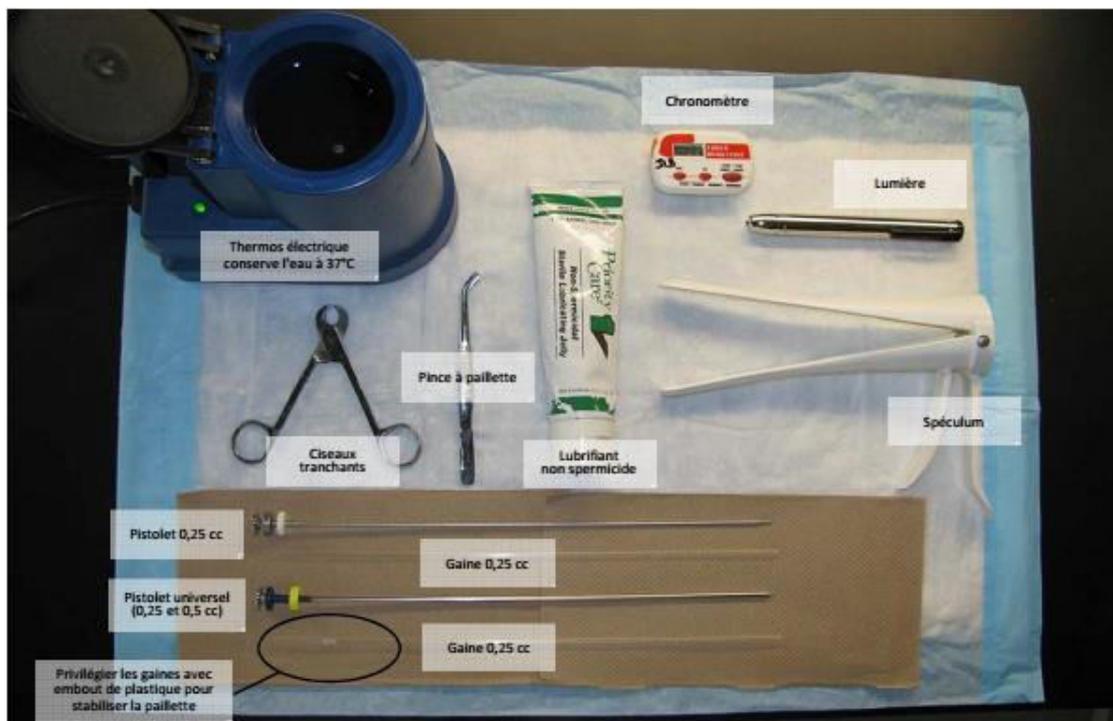


Figure 23 : le matériel d'insémination

### ii La décongélation

Classiquement, la paillette sera tout d'abord secouée pour en faire tomber le reste d'azote liquide puis plongée et agitée dans de l'eau à 37°C. La décongélation s'observe au bout d'une trentaine de secondes. Pendant ce temps, il est conseillé de frotter le pistolet d'insémination pour le *réchauffer*. Cependant, si la température ambiante est inférieure à 20°C, il est préférable de maintenir la paillette dans l'eau de réchauffement jusqu'à son utilisation pour éviter tout choc thermique au sperme. Certains auteurs ont préconisé la décongélation dite *in vivo* c'est à dire dans le col utérin lors de l'insémination. Il semble bien en fait qu'en raison des 60 secondes en moyenne qui s'écoulent entre la charge de la paillette et l'insémination proprement dite, la décongélation s'opère en fait à la température du pistolet. En l'absence d'eau tiède, on peut également décongeler la paillette à la bouche.

Une fois décongelée secouée et essuyée, la paillette est introduite dans le pistolet d'insémination par son extrémité comportant le double bouchon. L'autre extrémité sera coupée perpendiculairement pour assurer un maximum d'*étanchéité* avec le bouchon de la gaine d'insémination. Idéalement pour l'insémination de l'animal avec une semence congelé doit être réalisée dans les 15 minutes suivant la sortie de la paillette de l'azote liquide. Le pistolet et la gaine d'insémination seront éventuellement recouverts d'une gaine protectrice en plastique qui sera perforée lors de l'introduction du pistolet dans le col utérin (Hanzen, 2016).

**Etat liquide :** Effectuer les mêmes opérations, mais cette fois la paillette est sortie du thermos pour être placée directement dans le pistolet.

### iii Mise en place de la semence

L'arrière train de la chèvre est surélevé. Le speculum, désinfecté entre chaque femelle et muni d'une lumière, est introduit dans le vagin. Le pistolet est guidé vers l'entrée du col de l'utérus. Il est introduit le plus loin possible par des mouvements de rotation. Le sperme est expulsé et le pistolet retiré (Baril et *al.* 1993).

### iv Le moment de l'IA et le nombre d'interventions

L'objectif est de réaliser une seule insémination sur un lot de chèvres, tout en ayant un taux de conception satisfaisant. La détermination du moment de l'IA est très importante. D'une part, il faut prendre en compte le trajet des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles et la durée de la fécondance après le traitement de cryoconservation. D'autre part Concernant la femelle, il faut connaître le moment de l'ovulation après un traitement de synchronisation ou après la manifestation de l'œstrus, puis la durée de vie d'un ovocyte (**figure 24**) Le nombre d'inséminations nécessaires par animal dépend de la répartition des ovulations sur le troupeau. Avec le protocole de synchronisation classique, les ovulations sont réparties sur une période de 24 heures : une seule insémination au moment approprié est satisfaisante (Pellicer-Rubio et *al.*, 2008).

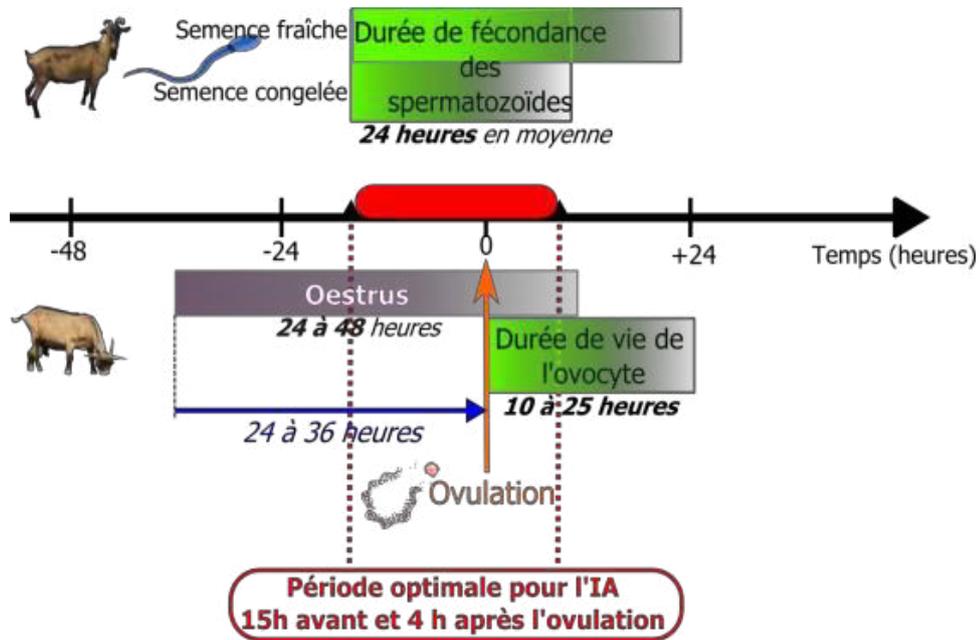


Figure 24 : Détermination du moment optimal pour inséminer une chèvre (d'après Hafez, 1993 ; Drion et *al.*, 2001).

### c INSÉMINATION ARTIFICIELLE INTRA-UTÉRINE PAR VOIE LAPAROSCOPIQUE

Cette méthode nécessite l'utilisation d'un endoscope pour faciliter le dépôt de la semence, fraîche ou congelée, directement dans les cornes utérines (Amoah et Gelaye, 1997). Cette technique n'exige, en dépit de la complexité du matériel et de la spécialisation des opérateurs, que l'utilisation d'un dixième du nombre des spermatozoïdes de l'éjaculat (Holtz, 2005).

- Le matériel utilisé pour l'IA par laparoscopie est constitué de :

Un endoscope rigide de 41cm de long et 6,5mm de diamètre qu'on place dans l'abdomen à l'aide d'un trocart de 15cm de long et 7mm de diamètre.

Un transcap, lui-même constitué de trois parties.

L'aspic présente à son extrémité distale une très fine aiguille de 5mm de long. Il est destiné à recevoir une paillette de 0,25ml par son extrémité proximale.

Un trocart de 5mm de diamètre pour le transcap (Marquis, 1990).

L'animal est posé sur une table en décubitus dorsal et incliné crânialement selon un angle de 45°. L'abdomen est insufflé avec de l'air ou d'un gaz inerte. Deux ouvertures sont pratiquées dans la paroi abdominale au moyen du trocart, permettant le passage de l'endoscope et du transcap. La semence est ainsi déposée dans la lumière utérine en perforant la paroi des

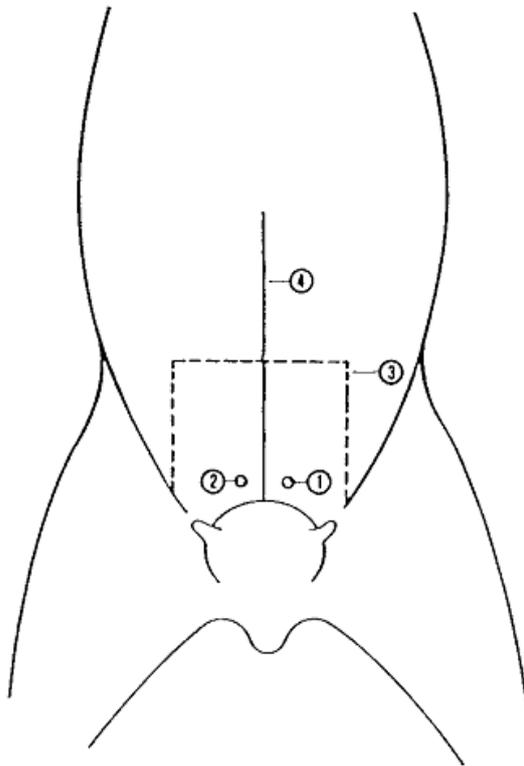
## Insémination artificielle

cornes utérines, avec l'aspic, à 5cm de la bifurcation (Ritar et Ball, 1991 ; Jackson, 1993 ; Holtz, 2005) ou dans chacune des cornes uterines. Les trocards sont ensuite retirés, un antibiotique est appliqué sur chaque point de ponction. **(figure 25, 26).**

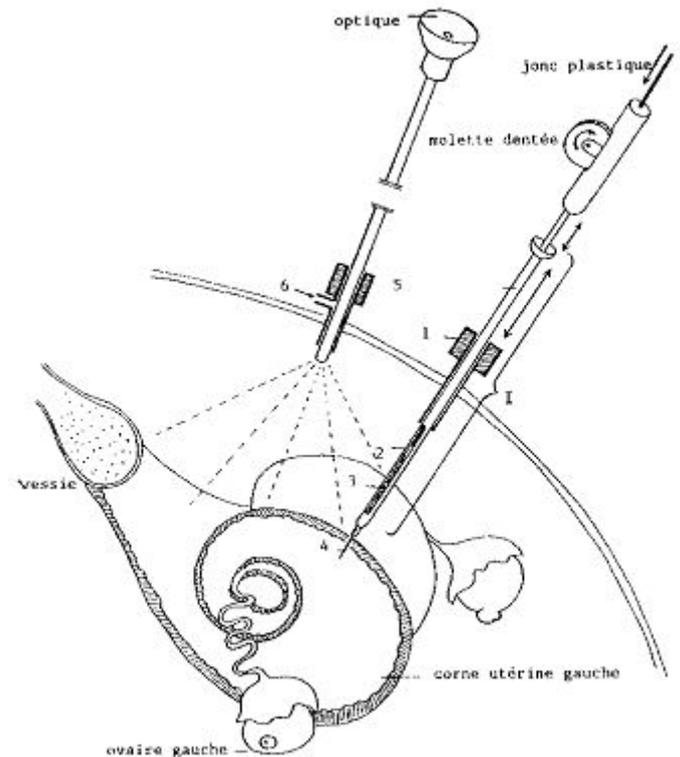
En général, avec l'insémination artificielle par laparoscopie, des taux de conception encourageants ont été enregistrés, un taux supérieur à 80% a été réalisé (Amoah et Gelaye, 1990 ; Ritar et al, 1990, Vallet et al, 1992).

Cette technique, même si elle donne effectivement de meilleurs résultats, est difficile à appliquer, ce qui en réduit les possibilités d'utilisation à grande échelle (Gabina, 1990).

Sohnery et Holtz, (2005), ont récemment décrit une autre méthode d'insémination exclusivement utilisée pour leurs troupeaux. Elle consiste à déposer la semence profondément dans les cornes utérines à travers le cervix.



**figure 25** :site d'insertion du trocards de 7 mm (1) et de 5mm(2),par rapport au champ operatoire (3) et a la ligne blanche (4)



**figure 26** : descriptif de la technique sous contrôle laparsopique(I=papateur 1=canule de diam 5mm ;2=lumiere du papateur ;3=paillette fine 4=aiguille;5 =canule de diam 7mm ;6=gaz

## **G PARAMÈTRES SUSCEPTIBLES DE MODIFIER LES RÉSULTATS D'IA**

Il existe Beaucoup de facteurs qui sont susceptibles de modifier le résultat de l'insémination artificielle

### **1 Le moment d'insémination**

La fertilité des chèvres, inséminées à différents moments du début de l'oestrus, indique que l'insémination doit être faite au début des chaleurs en accord avec le moment d'ovulation, la durée de transport et de survie des spermatozoïdes et des ovules dans les voies génitales femelles (Corteel, 1981). La fertilité des chèvres est élevée lorsqu'elles sont inséminées avant qu'après l'ovulation (Ritar et al, 1990). Généralement, les caprins ovulent quelques heures après la fin des chaleurs (Goel et Agrawal, 2003).

### **2 L'utilisation répétée du traitement hormonal**

La plupart des œstrus tardifs (plus de 30h après le retrait de l'éponge) sont due à l'action d'anticorps anti-PMSG, apparus après l'administration répétée du traitement au cours de la vie de la chèvre. La fertilité après IA est alors faible (Leboeuf et al, 1998). De plus, suite à l'IA réalisée à un temps précis après l'arrêt du traitement hormonal, le taux de mise bas des femelles, venues en œstrus plus de 30h après la fin du traitement (33% ; n=108), est inférieur ( $P < 0,01$ ) à celui observé chez les chèvres venues en œstrus avant 30h (65% ; n=520) (Maurel et al, 1992)

### **3 Nombre de spermatozoïdes inséminés**

Le nombre total de spermatozoïdes inséminés par femelle est un des principaux facteurs capables de diminuer la fertilité. Il est nécessaire de connaître, dans une race donnée, pour des femelles synchronisées dans des conditions données et avec des conditions précises de stockage, le seuil à franchir pour obtenir une fertilité correcte. Chez la chèvre, où la semence congelée est utilisable avec succès, le nombre total de spermatozoïdes à inséminer après synchronisation hormonale de l'œstrus varie actuellement de 100 à  $200 \times 10^6$  (Corteel et Leboeuf, 1990).

### **4 Qualité des spermatozoïdes inséminés**

Dans l'espèce caprine, la motilité individuelle des spermatozoïdes conservés à l'état liquide, apparaît liée à la fertilité. Si les femelles sont inséminées avec de la semence de faible motilité (inférieure à 3,5 sur 5), la fertilité peut descendre jusqu'à 20% (Baril et al, 1993).

## **5 Mâle utilisé pour l'IA**

Même avec des conditions fixes de collecte et de conservation, il subsiste une variabilité importante de la fertilité individuelle des mâles. La fertilité individuelle de boucs adultes, sélectionnés durant leur jeune âge en fonction de leur aptitude à produire de la semence utilisable pour l'IA, varie de 45 à 68%(Baril et al, 1993).

## **6 Œstrus naturel ou synchronisé**

Il est, en général, plus facile d'atteindre une fertilité élevée en inséminant des femelles en œstrus naturel qu'en inséminant des femelles en œstrus synchronisé par voie hormonale. Cela peut être dû à l'effet dépressif des hormones sur la survie des spermatozoïdes dans le tractus génital femelle et/ou à la qualité de l'œuf et du corps jaune qui peuvent être plus faibles après œstrus synchronisé.

## **7 Lieu de dépôt de la semence**

Il apparaît maintenant clairement que le lieu de dépôt de la semence est l'un des facteurs les plus importants susceptibles de modifier profondément le taux de fertilité (Ritar et al, 1990). Dans l'espèce caprine, l'IA intra-utérine exocervicale, permet d'augmenter la fertilité de 10% par rapport à l'IA cervicale (Baril et al, 1993). La fertilité dépend, alors, moins de la motilité individuelle des spermatozoïdes. L'IA par endoscopie permet, comme chez la brebis, de faire tomber le nombre de spermatozoïdes à  $20 \times 10^6$  spermatozoïdes, en augmentant de 10% environ la fertilité par rapport à l'IA exocervicale.

## **8 Age des femelles inséminées**

La fertilité maximale des femelles est située entre 1,5 et 3 ans d'âge. Elle diminue progressivement après cinq ans d'âge. Les femelles très jeunes peuvent être moins fertiles que les adultes, mais les mêmes taux de fertilité peuvent être atteints si elles sont inséminées au bon moment après le retrait de l'éponge avec le nombre correct de spermatozoïdes. Avec de telles adaptations, il est possible d'atteindre la même fertilité que chez les brebis et les chèvres adultes.

## **9 Saison d'IA**

Chez les races saisonnées, la saison d'IA est l'une des principales sources de variation de la fertilité. Dans ces races, la fertilité est généralement plus faible pendant la saison d'anœstrus (même si les femelles sont synchronisées par voie hormonale), que si elles sont traitées et inséminées pendant la saison sexuelle.

### **10 Niveau d'alimentation, température, stress**

Le niveau d'alimentation est capable de modifier la fertilité de l'IA. Dans des troupeaux où l'alimentation est de niveau insuffisant ou peu appropriée, les résultats sont, en général, mauvais. Plusieurs cas de diminution importante de la fertilité à cause de composés œstrogéniques ont été décrits. Un niveau d'alimentation trop élevé peut également être néfaste à la fertilité. La température et le stress peuvent aussi provoquer une réduction de la fertilité des femelles inséminées

### **11 Inséminateur**

La fertilité après IA varie, également, selon l'inséminateur, sans que l'on puisse clairement identifier les raisons des différences entre techniciens. Cet effet est également souvent confondu avec un effet élevage, puisque ce sont souvent les mêmes inséminateurs qui interviennent dans les mêmes troupeaux d'une année sur l'autre.



# **PARTIE EXPERIMENTALE**

### Matériel et méthode

#### I La synchronisation des chaleurs

##### 1 Milieu et animaux

Un lot de 10 chèvres de race Arbia a subi un traitement de synchronisation des chaleurs. A leur introduction dans le bâtiment d'élevage, les chèvres ont subi, systématiquement, un diagnostic de gestation à l'aide d'un échographe (ISCAN, DRAMENSKI) afin de s'assurer qu'elles ne soient ni gestante ni en pseudo-gestation. Par la suite, ces chèvres sont identifiées par des boucles d'oreilles, vaccinées contre l'entérototoxicité et traitées contre un éventuel parasitisme. Pendant toute la période d'expérimentation, l'alimentation des chèvres était à base d'orge à raison de 500g/animal/jour, l'eau et la paille étaient distribuées à volonté.

##### 2 Technique :

Les chèvres ont été soumises à un traitement progestatif d'induction et de synchronisation des chaleurs. Après désinfection de la région périnéale, les éponges vaginales imprégnées d'un progestagène (FGA) à la dose de 45mg étaient introduites dans le vagin de chacune des chèvres à l'aide de leur applicateur. 48 heures avant le retrait des éponges, les chèvres ont reçu deux injections intramusculaires à base de prostaglandine (cloprosténol : analogue de la  $PGF_2\alpha$ ) et de 400UI d'ECG, afin de provoquer, respectivement, une lutéolyse d'éventuel corps jaunes, et de stimuler la croissance d'une vague folliculaire. Les éponges ont été retirées du vagin des chèvres 11jours après leur introduction. (Tableau IV)

**Tableau IV : Protocole de la synchronisation des chaleurs** (Groupe de reproduction caprine)

Jour	J0	J9	J11	J12
Traitement	Pose	ECG+PGF2a	Retrait	Début de détection

#### II La récolte de la semence du bouc et son examen

##### 1 Milieu et animaux :

Pour la récolte du sperme, trois boucs de race Arbia, âgés de 5ans, ont été utilisés. Ces derniers étaient maintenus dans des box individuels et recevant une alimentation à base d'orge à 600g/animal/jour. L'eau et la paille sont distribuées à volonté. Des pierres à lécher sont mises à la disposition des boucs afin de leur assurer une complémentation minéralo-vitaminique.

### 2 Technique :

#### a) La récolte de la semence :

La récolte du sperme est faite à l'aide d'un vagin artificiel conçu pour les petits ruminants. Une femelle boute-en-train (figure 27) maintenue en œstrus, indépendante de celles du lot de synchronisation des chaleurs, était utilisée pour la stimulation des boucs.



**Figure 27 : chèvre utilisée en boute-en-train**

Après attache de la femelle boute-en-train, l'opérateur chargé de la récolte prépare le vagin artificiel. Celui-ci est rempli d'eau chaude de manière à avoir une température et une pression favorables à l'éjaculation. L'extrémité servant à l'introduction du pénis est enduite d'un lubrifiant, tandis que sur l'autre, un tube de récolte est ajusté sur le cône du vagin artificiel. Celui-là est protégé, par la suite, par un capuchon afin d'éviter le refroidissement de l'éjaculat et son exposition à la lumière.

A ce moment, un coopérateur lâche le bouc de son box. L'opérateur chargé de la récolte du sperme s'agenouille à côté de la chèvre. A chaque fois où le bouc chevauche la femelle, à l'aide d'une main, l'opérateur lance le vagin artificiel en direction du fourreau. Afin de faciliter son intromission, il dévie, avec la deuxième main, le pénis vers l'ouverture du vagin artificiel en le manipulant par le fourreau.

Une fois le bouc éjacule, le vagin artificiel est mis en position verticale et secoué pour essayer de récupérer la totalité de l'éjaculat. Le tube de récolte sera, par la suite, mis dans un bain marie et transporté au laboratoire.

### **b) L'examen de la semence :**

Une fois au laboratoire, l'échantillon spermatique est mis dans une étuve à 37°C et subit les tests suivant :

**Le volume :** le volume en ml a été évalué par lecture directe sur les graduations du tube de collecte.

**Le pH :** une goutte de sperme pure est déposée sur un papier pH mètre, sa valeur est déterminée en comparant le virage de la couleur du papier avec une grille de valeur donnée par le fabricant.

**La motilité individuelle :** une goutte de sperme diluée dans du sérum physiologiques à 37°C est placée entre lame et lamelle maintenues à 37°C à l'aide d'une plaque chauffante. Le taux des spermatozoïdes mobiles est calculé en examinant 100spz dans quatre champs microscopiques différents sous un grossissement  $\times(40)$ .

**La concentration :** elle est déterminée en utilisant un hématimètre de type Malassez. 10 $\mu$ l de sperme pure est diluée dans un volume bien déterminé d'une solution susceptible de tuer et de disperser les spermatozoïdes. Dans notre étude, nous avons utilisé une solution de sérum physiologique formolé à 1%. Le comptage cellulaire se fait au microscope optique à un grossissement  $\times 40$ .

### **III La dilution de la semence et sa mise en place :**

Après que la semence du bouc soit examinée, la prochaine étape sera sa dilution, son conditionnement et sa mise en place dans le vagin des chèvres au moment de l'insémination.

#### **1 La dilution de la semence :**

Pour assurer l'insémination artificielle d'un nombre élevé de chèvres à partir d'un éjaculat, nous avons choisi la semence qui présente les meilleurs qualités puis, on la diluée dans un milieu à base de Tris-fructose-acide citrique additionné de jaune d'œuf préparé selon (Rafiqul et al. 2006). Ce milieu de dilution est, toujours, préparé le matin avant la récolte de la semence et conservé dans une étuve à une température d'environ 28°C (Nutti, 2002). En fonction de la concentration de l'éjaculat, un volume de dilueur est ajouté à celui-là pour avoir une concentration finale de  $1,6 \times 10^9$  spz/ml. Le tube contenant la semence diluée est mis dans un bécher contenant environ 200ml d'eau à une température ambiante et placé au réfrigérateur.

### 2 Le conditionnement de la semence :

La semence diluée est conditionnée dans des mini-paillettes d'insémination artificielle contenant un volume de 0,25ml. Après le refroidissement de la semence diluée pendant deux heures, celles-là sont remplies par aspiration buccale à travers l'extrémité bouchonnée de la paillette. A l'aide d'une seringue, un petit volume de la semence est retiré de la paillette de manière à laisser un vide d'environ 1cm. Les paillettes sont obstruées par la poudre d'alcool polyvinyle. Ainsi, les paillettes sont gardés dans le réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

### 3 La mise en place de la semence :

La détection de l'œstrus a débuté environ 12 h après le retrait des éponges vaginales. Deux mâles entier en pleine santé et sexuellement actif ont été équipés chacun d'un tablier et introduits parmi les chèvres afin de détecter celles en œstrus (**figure 28**). Seule la chèvre qui accepte le chevauchement en s'immobilisant était considérée en œstrus et retirée du lot afin de permettre aux mâles de s'intéresser au reste des femelles.



**Figure 28 : bouc entier muni d'un tablier utilisé pour la détection**

L'insémination artificielle des chèvres par la voie exo-cervicale a eu lieu environ 36heures après le retrait des éponges vaginales (14h après le début des chaleurs) de la façon suivante : Un co-opérateur soulève la femelle de ses membres postérieurs. Le col bien visible en ce moment, est visualisé à l'aide d'un spéculum lubrifié et introduit dans le vagin

## Partie expérimentale

---

La paillette de semence est réchauffée dans de l'eau tiède à 37°C pendant environ 30 secondes puis placée dans le pistolet d'insémination artificielle.

Le pistolet est, alors, positionné à l'entrée du col et, en poussant lentement le piston, la semence est, ainsi, déposée. (figure 29,30).



Figure 29 : contention de la chèvre au cours d'insémination

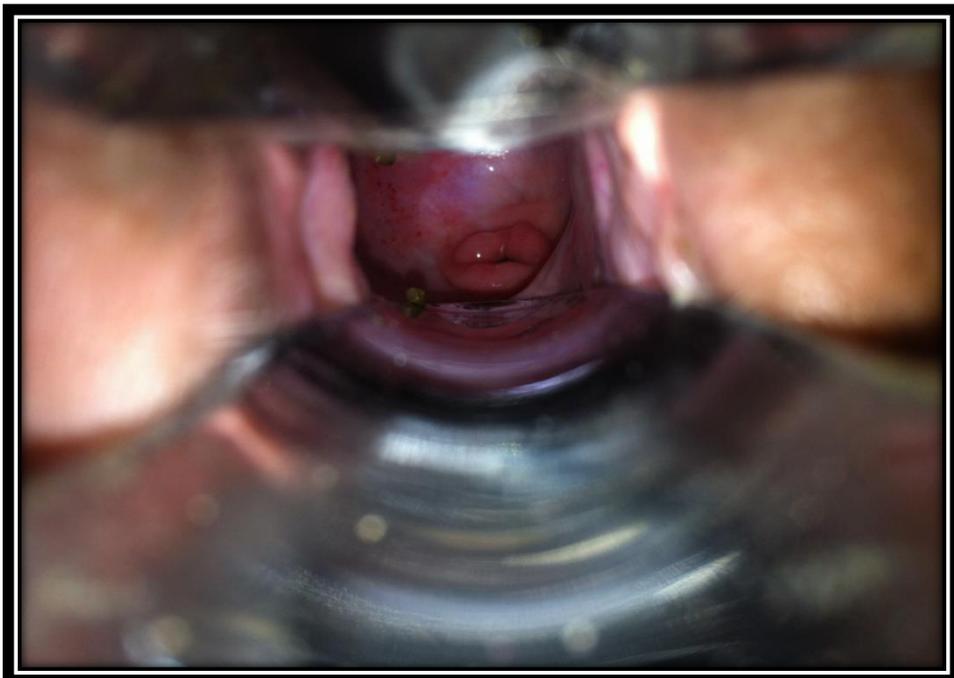


Figure 30 : mise en place du speculum et mise en vue du col de l'utérus

## Partie expérimentale

A la suite de l'insémination artificielle, une nouvelle évaluation de la semence a été réalisée au niveau du laboratoire.

### RESULTATS

#### I Réponse des chèvres au protocole de synchronisation des chaleurs

Sur les 10 chèvres soumises au traitement d'induction et de synchronisation des chaleurs, sept d'entre eux ont répondu favorablement à ce dernier en extériorisant des signes de chaleurs à savoir, la présence de la glaire cervicale, le frétillement de la queue, les mictions et, essentiellement, l'acceptation du chevauchement. Les trois chèvres restantes n'ont montré qu'une congestion du col avec la présence du mucus à son niveau, mais elles n'étaient pas immobiles aux chevauchements.

Il importe de signaler que le début de l'apparition des chaleurs s'est étalé sur une période d'environ 20heures car, la première chèvre a été immobile lors du chevauchement du mâle à partir de 15heures après le retrait des éponges vaginales tandis que les dernières ne le sont qu'environ 35heures (**Tableau V**).

**Tableau V** : résume la réponse des chèvres au protocole ainsi que le moment de leurs l'insémination

N° de chèvre	Apparition des chaleurs	Moment d'IA (// début de chaleur)	N° du bouc	Détection des retours
1	15h 49'	15h 30'	B 3	
2	Vaginoscopie + Immobilisation -		B 2	
3	16h 35'	16h	B 2	
4	16h 44'	16h	B3	
5	Vaginoscopie + Immobilisation -		B 2	
6	Vaginoscopie + Immobilisation +		B 3	
7	Vaginoscopie + Immobilisation +		B 3	08 – 01 – 2017
8	12h 00'	20h 30'	B 2	
9	Vaginoscopie + Immobilisation -		B 2	
10	13h 50'	18h 10'	B 3	

#### II L'examen de la semence :

L'éjaculat obtenu pour être utiliser dans l'insémination artificielle des chèvres a montré les caractéristiques suivant :

## Partie expérimentale

---

**Tableau VI** : principales caractéristiques de la semence collectée à partir des boucs

Paramètres	Bouc 2	Bouc 3
Volume (ml)	1	0,9
Ph	7	6,8
Consistance et aspect	Crémeux jaunâtre	Crémeux jaunâtre
Le taux des spermatozoïdes mobiles	74 %	75 %
Concentration	$5,75 \cdot 10^9$	$14,5 \cdot 10^9$
Volume de dilution (ml)	2,59	7.25
Nombre de paillettes choisies pour l'insémination	5	5

En fonction de la concentration et du volume de l'éjaculat nous avons obtenu un volume de 3.5 ml pour le bouc 2 et 8,15 ml pour le bouc 3 de semence diluée qui permet d'inséminer 14 et 32 chèvres respectivement pour le bouc 2 et 3

### III L'insémination artificielle :

L'évaluation de la semence après l'insémination artificielle nous a permis de constater que les spermatozoïdes sont encore mobiles, avec un taux de mobilité d'environ 45%. La détermination du taux de fertilité après la première insémination artificielle a été réalisée en diagnostiquant un éventuel retour en chaleurs des chèvres inséminées, entre le 18<sup>ème</sup> et le 24<sup>ème</sup> jour post-insémination. Ceci nous a permis de détecter seulement une chèvre revenant en chaleur à 21j post-insémination. Par crainte de chaleur silencieuse, les autres chèvres ont subi, ce jour même, un examen vaginal en vue de rechercher une éventuelle ouverture du col ou une sécrétion de la glaire cervicale mais aucun de ces signes n'a été observé.

De ce fait, les chèvres ont subi un diagnostic échographique de gestation à 34j post-insémination. Ce dernier nous a permis de diagnostiquer seulement deux chèvres gestantes ce qui correspond à un taux de fertilité de 22,22%.

### DISCUSSION

Dans notre étude, l'insémination artificielle des chèvres de race Arbia dans la région de Tiaret, nous a permis d'obtenir un taux de fertilité faible 22,22%, mais encourageant.

La réussite de l'IA est un facteur clé pour la maîtrise de la reproduction et la mise en œuvre des schémas de sélection (Arranz *et al.*, 2008) et qui peut inciter le développement de cette biotechnologie. Elle est un caractère dépendant de plusieurs facteurs tel que des facteurs liée à la femelle et au mâle, ainsi, qu'aux conditions d'élevage.

Le succès de l'IA n'est possible que si le mâle produit et éjacule un sperme fécondant et si la femelle ovule au bon moment un ovocyte viable et possède un tractus génital compatible avec la survie des spermatozoïdes permettant la fécondation de l'ovocyte et le développement du fœtus. On peut donc considérer que la réussite de l'IA est sous la dépendance de deux caractères distincts: la fécondance du mâle d'une part et la fertilité de la femelle d'autre part.

La fertilité des chèvres, inséminées à différents moments du début de l'oestrus, indique que l'insémination doit être faite au début des chaleurs, en accord avec le moment d'ovulation, la durée de transport et de survie des spermatozoïdes et des ovules dans les voies génitales femelles (Corteel, 1981). La fertilité des chèvres est élevée lorsqu'elles sont inséminées avant qu'après l'ovulation (Ritar *et al.*, 1990). Généralement, les caprins ovulent quelques heures après la fin des chaleurs (Goel *et Agrawal*, 2003).

Après un traitement d'induction et/ou de synchronisation des chaleurs, le meilleur moment pour une seule insémination est  $45 \pm 1$  h de la fin du traitement. Toutefois, cet horaire n'est valable qu'aux races pour lesquelles il a été testé, sinon, il sera recommandé de tester différents horaires d'insémination, ou bien, préciser le moment de la décharge ovulante. Les chèvres qui ne viennent en chaleurs qu'au delà de 30 h après le retrait de l'éponge ont une fertilité beaucoup plus faible à l'IA en moyenne 33 % (Baril *et al.*, 1993).

Hanzen (2016) rapporte que pour les deux races Alpines et Saanen, une seule insémination artificielle est réalisé à 43h et 45h, respectivement, après le retrait des éponges, dans un intervalle compris entre 12 a 24 h après le début des chaleurs.

Par manque d'informations concernant la physiologie de la reproduction chez la race Arbia par conséquence le timing de l'insémination artificielle peut être responsable en grande partie d'un faible taux de fertilité obtenu dans notre étude.

Les travaux de Zair *et al.* 2010, démontrent que le nombre des chèvres de race locale mettant bas est maximale les mois de décembre et de février et faible le reste de l'année. Ceci peut expliquer que le taux de fertilité des chèvres de race locale est maximal durant les mois d'août et d'octobre et faible durant les autres mois de l'année.

Lebœuf *et al.* 1998 ; Volland *et al.*, 2003 préconise d'utiliser, chez la chèvre, des éponges vaginales de 45 mg d'acétate de fluorogestone. Dans notre étude, nous avons utilisé des éponges vaginales à 40mg d'acétate de fluorogestone, conçus pour les brebis. Ceci peut

expliquer la mauvaise synchronisation des chaleurs des chèvres après le retrait des éponges. Le pourcentage des chèvres n'ovulant pas après un traitement hormonal peut atteindre, dans certains cas, 20 à 30%, ce qui constitue alors une cause de faible fertilité pour l'élevage considéré (Groupe Reproduction Caprine, 1995).

La faible fertilité des chèvres, dans notre étude, semble n'avoir aucune relation avec les anticorps anti-PMSG, car les chèvres utilisées ne recevaient auparavant aucun traitement de synchronisation des chaleurs. Baril et al. (1992) recommandent de choisir pour l'insémination, des animaux qui, précédemment, ont reçu moins de 3 traitements de synchronisation de l'œstrus.

La préparation alimentaire des chèvres avant l'insémination artificielle est primordiale, malgré qu'il n'existe pas une conduite alimentaire optimale car, les besoins dépendent de leur âge, poids et la production laitière. L'énergie est le facteur dominant en terme de gestion des apports alimentaires pour préparer la reproduction en préservant un rapport équilibré entre énergie et azote ; une glycémie (g/l) > 0,55 apporte une fertilité de 70 % après un traitement de synchronisation et d'insémination et que les meilleurs résultats de fertilité sont liés à une ration plus fibreuse, qui se caractérise par un apport plus important de matière sèche, fourrage que vient compléter une distribution plus limitée de concentrés (Institut de l'élevage, 1999 et 2001). LOISEL et al, 1982 cités par BOULEMKAHEL, 1990 rapportent, qu'un déficit énergétique durant 15 jours avant et après l'insémination peut entraîner une chute de 20 à 40% du taux de réussite, ainsi qu'un déficit avant et après la mise bas provoquerait un retard de l'apparition des premières chaleurs post-partum qui est lié à des ovulations plus tardive, conséquent d'un ralentissement de la croissance folliculaire.

L'état corporel des femelles est un facteur déterminant dans l'obtention de bonnes performances. Selon Hervieu et al. (1989), la fertilité et la prolificité diminuent lorsque la note d'état corporel d'une chèvre est inférieure à 2,5 au moment de la saillie, le NEC doit varier entre 2 et 4, les chèvres ne doivent pas être ni maigres ni grasses tout en évitant les chèvres trop grasses car elles possèdent des fertilités plus faibles par action défavorable de l'insuline sur la croissance folliculaire.

Le stress provoque une diminution de la fertilité, ainsi, durant le mois qui précède et qui suit l'insémination artificielle. Dans notre étude, bien qu'on ait essayé de limiter les sources de stress, il importe à signaler qu'à cette période d'étude, la température ambiante était trop basse variant entre 2 et 4°C. La reproduction dans les exploitations agricoles est fortement affectée par les facteurs environnementaux. Des conditions inadéquates peuvent

entraîner une diminution de la capacité de la reproduction, allant de la subfertilité à la stérilité. Bien que les chèvres soient résistantes aux contraintes thermique dans une plus grande mesure mais elle souffre de chaleur et de stress au froid au delà de leurs zones de confort de la température ambiante qui est de 13-27°C pour la chèvre indienne (Binod kumar et al 2015)

Dans notre étude, nous avons inséminé des chèvres pubères d'âge différent. La fertilité des chèvres plus de 5 ans diminue progressivement ; le taux d'ovulation et de fertilisation des ovules diminue légèrement chez la chèvre âgée, alors que la mortalité embryonnaire augmente provoquant une baisse de la prolificité vers l'âge de 5 à 6 ans. Ces observations varient évidemment en fonction des races et des conditions d'élevage (Brice et al. 1997).

La fertilité de la chèvre varie, également, en fonction de son stade physiologique. Ainsi, dans les deux premiers mois suivant le chevretage, la fertilité est faible et elle s'accroît au fur à mesure que l'on s'éloigne du chevretage (Bodin et al. 1999).

Les données collectées par Humblot, et al. (1995) montrent que la mortalité embryonnaire, manifestation physiologique "normale" pour les femelles à ovulations multiples, peut atteindre parfois des proportions importantes. Elle permet d'expliquer, en partie, certains mauvais résultats de fertilité constatés après synchronisation des chaleurs et insémination artificielle, beaucoup plus que la pseudo-gestation.

Dans l'espèce caprine, la motilité individuelle des spermatozoïdes conservés à l'état liquide apparaît liée à la fertilité ; l'insémination des femelles avec de la semence de faible motilité (inférieure à 3,5) peut induire une diminution de la fertilité de 20% (Baril et al, 1993). Dans notre étude, il se peut que ce paramètre n'exerce pas une grande influence sur le taux de fertilité obtenu car, le contrôle de la semence après insémination artificielle des chèvres montre que les spermatozoïdes sont, encore, mobiles.

Lorsque la semence du bouc doit être déposée au niveau du cervix, la fertilité est plus faible d'environ 10% au niveau du vagin (Baril et al. 1993). Le dépôt de la semence dans l'utérus ou les cornes conduit à un niveau de fertilité plus élevé (Volland et al. 2003). Ceci influence le taux de conception obtenu entre une insémination transvaginale et intra-utérine ou le résultat est bien meilleur. Corteel et al. (1988) signalent qu'avec la technique classique d'insémination artificielle exo cervicale des chèvres après traitement hormonal, avec des spermatozoïdes conservés congelés, on observe un effet significatif du lieu de dépôt de la semence sur le taux de fertilité, en faveur du dépôt de celle-ci dans l'utérus (62,6 vs 51,7%, respectivement).

Pour toutes les espèces domestiques où l'insémination artificielle est pratiquée, il existe des différences significatives de fertilité entre inséminateurs (Lebœuf et al. 1998). L'expérience de l'insémineur 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'insémineur 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.

### **CONCLUSION**

En Algérie, l'IA caprine est encore peu pratiquée que dans le reste du monde. Le faible taux de fertilité obtenu est considéré comme une première étape pour la développée. C'est ainsi que les performances de reproduction chez la chèvre peuvent être améliorées et ce, grâce aux traitements de synchronisation des chaleurs et à l'insémination artificielle.

Développer l'insémination artificielle s'avère une nécessité de première intention car, cette biotechnologie de la reproduction offre des avantages sanitaires, génétiques et, surtout, économiques pour les élevages caprins spécialisés en production de lait, de viande ou de poils.

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

L'efficacité des techniques de conservation de la semence à court ou long terme est un élément prépondérant pour que l'IA puisse répondre à la diversité des situations rencontrées dans les élevages caprins.

Un travail raisonné en matière d'amélioration génétique et de sélection peut toucher les populations caprines locales de l'Algérie, telles que l'Arbia eu égard ses spécificités en matière de rusticité et de prolificité. On pourra, certainement, atteindre des résultats encourageants.

## Références bibliographiques

---

- Albert et Jean., 2001.** «Biologie du développement» .5<sup>ème</sup> édition de l'abrégé
- Altman P.L, et coll, 1962.** « Growth » Biol. Handbooks, 1 vol, Fed. Am. Soc. Exp. Biol. Washington, 608p.
- Amirat, L, Tainturier, D, Jeanneau, L, Thorin, C, Gerard, O, Courtens, J L & Anton, M** 2004 Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with Optidyl, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology* 61 895-907.
- 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.
- Akusu M.O, Agiang E.A, Egbunike G.N, 1984.** «Ejaculate and plasma characteristics of west African Dwarf (WAD) buck». 10<sup>th</sup> Intl Congr. Anim. Reprod. A.I. June 10-14- Illinois, vol. 2, Abstract n° 50.
- Amoah E.A, Gelaye S, 1997.** « Biotechnological advances in goat reproduction » J. Anim. Sci., 75, 578-585.
- Amoah, E.A., Gelaye, S., Guthrie, P., Rexroad, C.E., 1996.** Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *Journal of Animal Science* 74, 723–728.
- Andersson L., Carrière F., Lowe M.E., Nilsson A., Verger R., 1996.** Pancreatic lipase-related protein 2 but not classical pancreatic lipase hydrolyses galactolipids. *Biochim. Biophys. Acta*, 1302, 236-240.
- Arranz J.M., Freert S., Fidelle F., Fatet A., Druart X., Beckers J. F. Sulon J., Sousa N.M., Bodin L., David I., Lagriffoul G. Beltran DE Heredia I., Sasieta L., Arrese F., MaeztuSardina F., Lanasto M.P. et Lasarte M. (2008).** Réussite à l'insémination en élevages ovins laitiers pyrénéens: facteurs de variation liés aux conduites de troupeau. *Rencontres Recherches Ruminants*, **15**, 359-362.
- Bailey, J L, Bilodeau, J F & Cormier, N** 2000 Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *J Androl* 21 1 -7.
- Bailey, J L, Morrier, A & Cormier, N** 2003 Semen cryopreservation: Successes and persistent problems in farm species. *Can J Anim Sci* 83 393-401.
- Barbas, J P & Mascarenhas, R D** 2009 Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell Tissue Bank* 10 49-62
- Baril G, Chemineau P, Cognié Y, 1993.** « Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins ».
- Baril G. ; Bernel A. S. D.; Berson Y. ; Boune J. I.; Leboeuf B. ; Marcheteau J. ; Lefebvre A. ; Beckers J. F. et Remy B., 1992** Traitement éponge/PMSG répété: une étude dans 19 élevages. *La chèvre*, (189) :19-21.
- Barone R., 1978.** « Anatomie comparée des mammifères domestiques ».Tome 3, splanchnologie, Fascicule 2, appareil urogénital, 951p.p89-447.
- Batellier, F, Magistrini, M, Fauquant, J & Palmer, E** 1997 Effect of milk fractions on survival of equine spermatozoa. *Theriogenology* 48 391 -410.
- Belhamiti T, 2006** these magister VARIATIONS DE LA PRODUCTION SPERMATIQUE, INSEMINATION ARTIFICIELLE ET DIAGNOSTIC DE LA GESTATION PAR ECHOGRAPHIE CHEZ LES CAPRINS DE LA RACE LOCALE DANS LA REGION DE TIARET.
- BELHAMITI.T.B.,Zair.M** .mise des caprins, 2010
- Binod kumar et al 2015** Effet de la variation de température sur la concentration hormonale a divers stades de gestation dans la chèvre noire de Bengale
- Blanco, J M, Long, J A, Gee, G, Wildt, D E & Donoghue, A M** 2010 Comparative cryopreservation of avian spermatozoa: benefits of non-permeating osmoprotectants and ATP on turkey and crane sperm cryosurvival. *Anim Reprod Sci* 123 242-8
- Bocquier, F., Leboeuf, B., Rouel, J., Chilliard, Y., 2000.** Effet du niveau alimentaire et du protocole d'insémination sur les performances de reproduction de chevrettes Alpines. *Renc. Rech. Ruminants* 7, 221–223.
- 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
- Bonne et al., 1988.** “Reproduction des mammifères d'élevages”; collection inrap. édition foucher, 239p, p43-52.
- Branca A, Cappai P, 1989.** « Osservazioni sul controllo della riproduzione nelle specie caprina: esperience effettuate in Sardegna ». *Symp. Intl. La riproduzione nei piccolo ruminante: basi fisiologiche e aspetti applicative*, Varese, 115-129.
- Brice G. ; Leboeuf B. et Boue P., 1997** L'insémination artificielle chez les petits ruminants. *Point vét.*, **23** (185) : 43-49
- Brice, G., 2003. Le désaisonnement lumineux en production caprine. 40p
- Cameron C.D., 1977.** The Effect Method of Stimulation on Response to electro-ejaculation. *Aust. Vet. J.*, 58: 380-383.

## Références bibliographiques

---

- Chavette P, 1992.** « Examen de la fonction génitale de l'étalon » *Rec. Med. Vét.*, 168 (6/7), 395-410
- Chemineau P, Delgadillo J.A, 1994.** « Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins » INRA. *Prod. Anim.* 7 (5), 315-326.
- Chemineau P., 1978.** Recherche de l'origine de l'effet dépressif du plasma séminal sur l'aptitude des spermatozoïdes de bouc à supporter la congélation. Université P. et M. Curie, Paris, 20 p
- Chemineau P., 1983.** Effect on oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fert.*, 67, 65-7
- Choong, C H & Wales, R G 1963** The use of various diluents for deep-freezing bull spermatozoa. *Aust J Biol Sci* 16 896-904.
- Corteel J. M., 1977.** «Production, storage and artificial insemination of goat semen». In: Management of reproduction in sheep and goats Symposium, 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, 1976a.** *Ann. Zootech.* 25, 567-571.
- Corteel J.M, 1981.** « Collection, processing and artificial insemination of goat semen » dans « Goat production » de Gall C., Academic press.
- Corteel J.M, 1988.** «Collection processing and artificial insemination of goat semen». Extrait de Goat production, Gall C., 223-241.
- CORTEEL, J.M.; LEBOEUF, B.; ET BARIL, G.; 1988.** Artificial breeding of adult goat and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Ruminant Research*, 1: 19-35.
- Courtens J.L., Nunes J., Corteel J.M., 1984.** Induction of the acrosome reaction in the spermatozoa of the goat by secretions of the male accessory glands and milk. *Gamete Res.*, 9, 287-302.
- 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.
- Critser, J K, Huse-Benda, A R, Aaker, D V, Arneson, B W & Ball, G D 1987** Cryopreservation of human spermatozoa. I. Effects of holding procedure and seeding on motility, fertilizability, and acrosome reaction. *Fertil Steril* 47 656-63.
- Cseh, S, Faigl, V & Amiridis, G S 2012** Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Anim Reprod Sci* 130 187-92.
- Cuq P, 1973.** *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 26, 21a-48a
- 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., 1998.** «Histology». Médecine-Science. Flammarion. P462.
- Dadoune J-P., Demoulin A., 2001.** «Structure et fonction du testicule» dans “La reproduction chez mammifères et l'homme” de C. THIBAULT, Levasseur édition marketing, p 256 à 288.
- DE cremoux et al ,2005 Évaluation de l'incidence de la période de canicule de 2003 sur la reproduction chez la chèvre
- De Crémoux, R., Ribaud, D., Piacère, A., 2008.** Facteurs de variations de la fertilité à l'insémination artificielle chez la chèvre : valorisation de la base de données nationale entre 2001 et 2005. *Renc. Rech. Ruminants* 370-371.
- de Montigny G, 1987.** «Insémination artificielle. De réel progrès ». la chèvre, SPEOC (éd), 159 : 16-18.
- DE REVIERS M.M., RAVAUULT J.P., TILLET Y., PELLETIER J., 1989. Melatonin binding sites in the sheep pars tuberalis. *Neuroscience Letter*, 100, 89-93.
- Delgadillo J.A., 1990. Abolition des variations saisonnières de l'activité sexuelle chez le bouc par des traitements photopériodiques. Thèse, Montpellier, France, 119 p
- 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 F, Ectors J, 1986.** « Reproduction chez les animaux domestiques ». 3<sup>ème</sup> édition cabay louvain-la-neuve, Belgique.
- 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.
- DERQUAOUI L., EL KHALEDI O., 1994. Evaluation de l'activité sexuelle pendant la saison de baisse de fertilité chez la chèvre de race D'Man. In : 2 e conférence African Small Ruminant Research Network, Arusha, Tanzania, 7-11 déc. 1992. Addis-Abeba, Ethiopie, Cipea, p. 49-51.
- Di Santo, M, Tarozzi, N, Nadalini, M & Borini, A 2012** Human Sperm Cryopreservation: Update on Techniques, Effect on DNA Integrity, and Implications for ART. *Adv Urol* 2012 854837.

- Drion P-V, Beckers J.F, Ectors F, 1993.** «Physiologie de la reproduction». Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire **Dumont P., 1997.** «Point Vétérinaire». Vol 28.n°185, Août –Septembre.
- Dupoy J-P., 1993.** « Hormones et grandes fonctions », tome2, pages512, p419-445, ed marketing.
- Ezekwe A, 1988a.** « Ejaculate characteristic of two breeds of tropical bulls N'dama and Muturu » Joint seminar on animal of African countries, Addis-Ababa
- Fabrice ,benoit ,guillaume rigal 2008** COMPARAISON DE LA QUALITE DE LA SEMENCE DE TAUREAUX COLLECTES A L'ELECTRO-EJACULATEUR OU AU VAGIN ARTIFICIEL
- Fahy, G M, MacFarlane, D R, Angell, C A & Meryman, H T 1984** Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 21 407-26
- Fatet et al,2014**Insémination chez la chevrette avec de la semence réfrigérée vs congelée**
- 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.
- Foulkes, J A, Sweasey, D & Goodey, R G 1980** Fertility of bull spermatozoa in egg-yolk diluents of varied lipid fatty acid composition. *J Reprod Fertil* 60 165-9.
- Gabina D, 1990.** « Les nouvelles techniques de reproduction et les programmes de sélection chez les ovins laitiers » Option Méditerranéenne, sér. A/n°12, les petits ruminants et leur production laitière dans la région méditerranéenne.
- Gadea, J 2003** Semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Span J Agric Res* 1 17- 27.
- GAHERY C., 2012.** La reproduction des caprins : maîtrise et mise en œuvre 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.
- Gateff, S., Leboeuf, B., De Semery, C., Fouilland, C., Freleteau, M., Guillon, M.P., Jacquemet, C., Jenot, F., Raynaud, C., 2003.** Maîtriser la reproduction des chevrettes à contre- saison, quels résultats avec le traitement lumineux et l'effet bouc ? Renc. Rech. Ruminants 10, 123–126.
- George G., 1996.** «Cours d'histologie». Cours du PCEM.
- Gillan, L, Maxwell, W M & Evans, G 2004** Preservation and evaluation of semen for artificial insemination. *Reprod Fertil Dev* 16 447-54.
- Girod C, Czyba J-C 1977.** «Biologie de la reproduction». Simep édition, 356p, p11-120.
- Goel A.K, Agawal K.P, 2003.** « Ovulation in Jakhrana goat native to tropical climates » Small ruminant research, volume 50, Issue 1-2, page 209-212.
- Goel A.K, Agawal K.P, 2003.** « Ovulation in Jakhrana goat native to tropical climates » Small ruminant research, volume 50, Issue 1-2, page 209-212.
- Gomes W.R, 1977.** «Artificial insemination». Extrait de Cole H.H. «Reproduction in domestic animals». 3<sup>ème</sup> édition, 257-261.
- Graham, J K & Foote, R H 1987** Effect of several lipids, fatty acyl chain length, and degree of unsaturation on the motility of bull spermatozoa after cold shock and freezing. *Cryobiology*
- 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, 1968.** «Reproduction in farm animals». 1 vol, Lea-Febiger, Philadelphia, 2<sup>e</sup> édit, 440p.
- Hafez E.S.E, 1974.** « Reproduction in farm animals ». 1vol., Lea-Febiger, 3<sup>e</sup> édition., 480p.
- Hafez E.S.E, 1987.** « Reproduction in farm animals » 1vol. Leo-Febiger, 5<sup>ème</sup> éd., 633p.
- Hammerstedt, R H, Graham, J K & Nolan, J P 1990** Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *J Androl* 11 73-88.
- Hammoudi, S. M.\*, Yahia, A., Aït-Amrane, A., Bourabah , A., Belhamiti, T. B. Khiati, B., Lafri, A. 2005** Etude du cycle oestral et saisonnalité de la reproduction des chèvres locales dans la région de la Kabylie
- 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 Ch., 2005.** Cours doctorat, chapitre 12. «L'anoestrus saisonnier des petits ruminants».
- Hanzen** L'insémination artificielle chez les ruminants 2016 Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogenologie des animaux de production
- Hervieu J. ; Colomer R. P. ; Branca A. ; Delfa R. et Morand F. P., 1989** Définition des notes d'état corporel des caprins. Réseaux Agrimed et FAO de recherches coopératives sur les productions ovines et caprines, 5p.
- Holt, W V 2000a** Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim Reprod Sci* 62 3-22.
- Holtz W, 2005.** « Recent development in assisted reproduction in goat» Small ruminant research, volume 60, issue 1-2, pages 95-110.

## Références bibliographiques

---

- Houdeau, E., Furstoss, V., Forgerit, Y., Bonné, J.L., Leboeuf, B., 2008.** Short-duration insemination with frozen semen increases fertility rate in nulliparous dairy goats. *Animal* 2, 1496–1500. individuelle : un projet collectif » 1<sup>er</sup> colloque sur la chèvre. Hôtel universel Best Western.
- Hublot et al, 1995 Mortalité embryonnaire chez la chèvre laitière après synchronisation
- 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. Silver Jubilee Lab. Anim. Husbandry, Kyoto University*, 97-104.
- Iritani A., Nishikawa Y., 1963.** Studies on the egg-coagulating enzyme in goat semen. IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme. *Jap. J. Anim. Reprod.* 8, 113-117
- Jackson P, 1993.** « Laparoscopic procedures » In: Jackson P (Ed.) *Embryotransfer in sheep and goat*. Pp126. University of Sydney, N.S.W, Australia.
- Jeulin C, Lewin L.M, 1996.** « Role of free carnitine and acetyl-L-carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatozoa ». *Hum, Reprod, Update*, 2, 87-102.
- Kakar, S S & Ganguli, N C 1978** Milk as an extender for semen: a review. *Indian J Anim Sci* 48 777-90.
- Katila, T 1997** Procedures for handling fresh stallion semen. *Theriogenology* 48 1217-27.
- Katz, L.S., McDonald, T.J., 1992. Sexual behavior of farm animals. *Theriogenology* 38, 239–253.
- Lahnsteiner, F, Berger, B, Horvath, A, Urbanyi, B & Weismann, T 2000** Cryopreservation of spermatozoa in cyprinid fishes. *Theriogenology* 54 1477-98.
- Laubser P.P, Van Niekerk C.H, Botha L.J.J, 1982.** « Seasonal changes in sexual activity and sperm quality in the Angora ram. 1. Libido and male hormone concentration ». *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 13, 131-133.
- 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.
- Leboeuf B. ; Manfredi E. ; Boue P. ; Plagère A. ; Brice G. ; Baril G. ; Broqua C. ; Humblot P. et Terqui M., 1998** L'insémination artificielle et l'amélioration génétique chez la chèvre laitière en France. *INRA. Prod. Anim.*, 11 (3) : 171-181
- Leboeuf B. ; Manfredi E. ; Boue P. ; Plagère A. ; Brice G. ; Baril G. ; Broqua C. ; Humblot P. et Terqui M., 1998** L'insémination artificielle et l'amélioration génétique chez la chèvre laitière en France. *INRA. Prod. Anim.*, 11 (3) : 171-181
- Leboeuf, B., Brice, G., Baril, G., Boué, P., Broqua, C., Bonné, J.L., Humblot, P., Terqui, M., 1998.** Importance du choix des femelles pour optimiser la fertilité après IA chez la chèvre. *Renc. Rech. Ruminants* 5, 71–74.
- Leboeuf, et al. 2003.** *INRA Productions Animales*, 16(2), 91-99.
- 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.
- Lusignan, M F, Bergeron, A, Lafleur, M & Manjunath, P 2011** The major proteins of bovine seminal plasma interact with caseins and whey proteins of milk extender. *Biol Reprod* 85 457-64.
- Manfredi, E., Leboeuf, B., Bodin, L., Boué, P., Humblot, P., 1998.** Sources de variation génétiques et non génétiques des caractéristiques de production de semence chez le bouc. *Rencontres Recherches Ruminants* 37–39.
- Mansour, N, Lahnsteiner, F & Patzner, R A 2010** Motility and cryopreservation of spermatozoa of European common frog, *Rana temporaria*. *Theriogenology* 74 724-32.
- Marquis P-H, 1990.** « 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 W.M.C, Evans G, 1987.** « Salamon's artificial insemination of sheep and goats ». Butterworths, Sydney, Australia, 102p.
- Maxwell, M C & Watson, P F 1996** Recent progress in the preservation of ram semen. *Anim Reprod Sci* 42 55-65.
- 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 1968** Physical and chemical changes during freezing and thawing of cells, with special reference to blood cells. *Bibl Haematol* 29 764-77.
- Mazur, P 1984** Freezing of living cells: mechanisms and implications. *Am J Physiol* 247 C125-42.
- Mc. Donald Me, 1980.** « Veterinary endocrinology and reproduction ». Lea et Febiger edition 3<sup>rd</sup> 560 p
- Menchaca, A & Rubianes, E 2004** New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fertil Dev* 16 403-13

## Références bibliographiques

---

- Milovanov V. 1986.** « Techniques de récolte du sperme » dans « la reproduction chez les animaux domestiques » de Derivaux J, Ectors F. vol2. Academia ed. p565-614.
- Montane L., Bourdelle E., 1978.** «Anatomie régionale des animaux domestiques II». Les ruminants, 2<sup>ème</sup> ed, 1vol, 473p, JB BAILLÈRE éd paris.
- Moussa, M, Marinnet, V, Trimeche, A, Tainturier, D & Anton, M 2002** Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57 1695-706.
- Nickel R et coll., 1973.** « The viscera of the domestic mammals » 1vol. Verlagpaul parey, 401p.
- Nunes J, 1982.** «Etude des effets du plasma séminal sur la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc ». Thèse doctorat, université Pierre et Marie Curie, Paris, 33p.
- O'Hara, L, Hanrahan, J P, Richardson, L, Donovan, A, Fair, S, Evans, A C & Lonergan, P 2010** Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Theriogenology* 73 541 -9.
- Ortavant R., 1977.** «Photoperiodic regulation of reproduction in the sheep». In: Management of reproduction in sheep and goats symposium». Madison, 25-25, July, 58-71
- O'Shea, T & Wales, R G 1966** Effect of casein, lecithin, glycerol, and storage at 5 degrees C on diluted ram and bull semen. *Aust J Biol Sci* 19 871 -82.
- Ould Saïdi A., 1991.** «Etude de l'influence de quelques dilueurs sur les paramètres de la semence du bélier conservée à +4°C». (Thèse d'ing- USTB- BLIDA).
- Pace, M M & Graham, E F 1974** Components in egg yolk which protect bovine spermatozoa during freezing. *J Anim Sci* 39 1144-9.
- Pellicer M.T., 1995.** Purificación y caracterización del componente de la secreción bulbouretral de macho cabrío implicado en el deterioro de la calidad de los espermatozoides diluidos en leche. Tesina de Licenciatura, Universidad de Murcia, 200 p..
- Pellicer M.T., Combarrous Y., 1998.** Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60. *J. Reprod. Fertil.*, 112, 95-105
- Pellicer-Rubio, M.-T., Leboeuf, B., Bernelas, D., Forgerit, Y., Pougard, J.L., Bonné, J.L., Senty, E., Breton, S., Brun, F., Chemineau, P., 2008.** High fertility using artificial insemination during deep anoestrus after induction and synchronisation of ovulatory activity by the "male effect" in lactating goats subjected to treatment with artificial long days and progestagens. *Anim. Reprod. Sci* 109,172-188.
- Poirier J, Chevreau J, 1970.** «Feuillets d'histologie humaine». Fasc. 5. Maloine, Paris, 97p.
- Polge, C, Smith, A U & Parkes, A S 1949** Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164 666.
- Quinn, P J, Chow, P Y & White, I G 1980** Evidence that phospholipid protects ram spermatozoa from cold shock at a plasma membrane site. *J Reprod Fertil* 60 403-7.
- Rafiqul Islam \*, K. Ahmed, B.C. Deka 2006** Effect of holding and washing on the quality of goat semen
- Ritar A, Ball A, 1991.** « Fertility of young cashmere goat after laparoscopic insemination » *J. Agric. Sci.*, 117:271.
- Ritar A.J, Ball P.D, O'May P.J, 1990.** « Artificial insemination of cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination , semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females » *Reprod. Fertil. Dev.*, 2pp, 377-384.
- Ritar A.J, Ball P.D, O'May P.J, 1990.** « Artificial insemination of cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination , semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females » *Reprod. Fertil. Dev.*, 2pp, 377-384.
- Ritar A.J., Salamon S., 1982.** Effects of seminal plasma and its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.*, 35, 305-312
- Ritar, A.J., Mendoza, G., Salamon, S., White, I.G., 1992.** Frequent Semen Collection and Sperm Reserves of the Male Angora Goat (*Capra Hircus*). *J Reprod Fertil* 95, 97- 102.
- Ritar, A.J., Mendoza, G., Salamon, S., White, I.G., 1992. Frequent Semen Collection and Sperm Reserves of the Male Angora Goat (*Capra Hircus*). *J Reprod Fertil* 95, 97- 102.
- Roy A., 1957.** Egg-yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature*, 179, 318.
- Roy F., Maurel M.C., Combarrous Y., Briois J.P., Pobel T., Deletang F., 1995.** Etude de la réponse immunitaire observée chez les ovins et les caprins traités avec PMSG dans le cadre de l'insemination artificielle. *Rencontres Rech. Rum.*, 2, 395-398
- Salamon S, 1976.** « Artificial insemination in sheep » *Animal husbandary department university of Sydney*, 139p.
- Salamon, S & Maxwell, M C 1995** Frozen storage of ram semen. II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Anim Reprod Sci* 38 1 -36.
- Salamon, S & Maxwell, M C 2000** Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci* 62 77-111.
- Senoussi.A 2004** , L'INSEMINATION ARTIFICIELLE: OUTIL D'AMELIORATION DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION CHEZ LES CAPRINS EN ALGERIE.

## Références bibliographiques

---

- 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.
- Shank C.C, 1972.** Z. Tierpsychol. 30, 488-528
- sherman, J** 1990 Cryopreservation of human semen. *Hand-book of the Laboratory Diagonosis and Treatment of Infertility* B. Keel and B. W. Webster, Eds., CRS Press, Boca Raton, Fla, USA.
- Shoenian S, 2005.** «Reproduction in the ram». Prolongation de coopérative 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.
- Sohnery B, Holtz W, 2005.** « Transcervical deep cornual insemination of goats » J. Anim. Sci., 83, pp. 1543-1548.
- 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
- Taure O, 1988.** « Insémination: Capri I.A, récolte et sème ». La chèvre, 167, 36-39.
- Thibault C, 1975.** «La fécondation». 1 vol. Masson (1995). 20.
- Thibault C., 1993.** «La reproduction des vertébrés».
- 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.
- Thirstrup K, Verger R., Carriere F., 1994.** Evidence for pancreatic lipase subfamily with new kinetic properties. *Biochemistry*, 33, 2748-2756.
- Tuli R.K., Holtz W., 1992. The effect of season on seminal characters in Boer goat bucks in the Northern temperate zone. In : Recent Advances in Goat Productions. Proc. 5th Intl Conf. on Goats, New-Delhi, March 2-8, Abstract n° 1195.
- UNCEIA, Capri-IA, 2004.** Guide des bonnes pratiques de l'insémination caprine. Disponible sur Internet URL : <http://www.capgenes.com/IMG/pdf/guide-bonne-pratique-ia-fr.pdf>
- Vaissaire J-P., 1977.** "Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoires". MALOINE S.A. ÉDITEUR. 457p.p81-155
- Verberckmoes, S, Van Soom, A, Dewulf, J & de Kruif, A** 2005 Comparison of three diluents for the storage of fresh bovine semen. *Theriogenology* 63 912-22. *Veterinary Quarterly* 16, 41-45.
- 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
- Volland P., Nail., 2003** Rappel des caractéristiques du traitement d'induction et de synchronisation de l'oestrus. Rev. INRA. Prod. Anim
- Walkden-Brown S. W., Restall B. J., Taylor W A., 1994b.** «Testicular and epididymal sperm content in grazing cashemer bucks: seasonal variations and prediction from measurements in vivo». *Reprod. Fertile. Dev.*, 6. 727-736.
- Watson, P F** 1981 The roles of lipid and protein in the protection of ram spermatozoa at 5 degrees C by egg-yolk lipoprotein. *J Reprod Fertil* 62 483-92.
- yang, H, Norris, M, Winn, R & Tiersch, T R** 2010 Evaluation of cryoprotectant and cooling rate for sperm cryopreservation in the euryhaline fish medaka *Oryzias latipes*. *Cryobiology* 61 211 -9.