



Université Djillali Liabès de Sidi Bel-Abbés  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie

# Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

## Doctorat en sciences

Spécialité : Biologie

Option : Biologie de la Reproduction et du Développement

Présenté par : LITIM Miloud

### THÈME

Effet d'une supplémentation alimentaire sur la qualité et/ou  
la quantité spermatiques des béliers de race Ouled Djellal et  
son impact sur la fertilité des brebis en insémination  
artificielle

Soutenu le : 29/06/2015

Devant le jury composé de :

**Président** : BENALI Mohammed

Professeur, UDL de Sidi Bel Abbés

**Directrice de thèse** : BEREKSI REGUIG Karima

MCA, UDL de Sidi Bel Abbés

**Examineur** : AICHOUNI Ahmed

MCA, UHB de Chlef

**Examineur**: CHEKROUN Abdellah

Professeur, Université d'Oran Es-Senia

Année universitaire : 2014-2015

---

*A mes parents qui ne m'ont jamais épargné le moindre effort...*

*A mes frères et sœurs qui croient toujours en moi...*

*A mes amis...*

*Sincères reconnaissances*

*Miloud*

## Table des matières

Table des matières .....	III
Remerciements .....	VIII
Liste des tableaux .....	X
Liste des figures .....	XII
Liste des abréviations .....	XIV
Résumé .....	XVI
Abstract .....	XVII
.....	XVIII
AVANT-PROPOS .....	XIX
INTRODUCTION.....	1
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	3
<b>Chapitre I : Introduction à l'insémination artificielle</b> .....	4
<b>I.1. Généralité sur l'insémination artificielle</b> .....	5
<b>I.2. Inséminations ovines</b> .....	6
<b>I.3. Déroulement de l'insémination artificielle</b> .....	7
<b>I.3.1. Récolte du sperme</b> .....	7
<b>I.3.2. Préparation et conservation de la semence</b> .....	8
<b>I.3.3. Préparation de la femelle</b> .....	10
<b>I.3.4. Insémination au sens stricte</b> .....	11
<b>I.3.5. Fécondation et gestation</b> .....	12
<b>Chapitre II : Facteurs de réussite de l'insémination artificielle</b> .....	15
<b>II.1. Facteurs de la réussite de l'insémination liés au bélier</b> .....	16
<b>II.2. Facteurs de la réussite de l'insémination liés à la brebis</b> .....	17
<b>II.3. Facteurs de la réussite de l'insémination non spécifiques du sexe</b> .....	17
<b>II.3.1. Facteurs liés à l'insémination</b> .....	17
<b>II.3. 2. Le moment de l'IA</b> .....	17

<b>II.3. 3.</b> Le système d'élevage .....	17
<b>Chapitre III :</b> Suppléments alimentaires.....	19
<b>III.1.</b> Généralités sur les suppléments alimentaires .....	20
<b>III.2.</b> Les vitamines .....	21
<b>III.2.1.</b> Suppléments de vitamines liposolubles .....	21
<b>III.2.1. 1.</b> La vitamine A.....	22
<b>III.2.1.2.</b> Les vitamines du groupe B.....	23
<b>III.2.1.3.</b> La vitamine E .....	24
<b>III.2.2.</b> Suppléments de vitamines hydrosolubles .....	25
<b>III.2.2.1.</b> La vitamine C.....	25
<b>III.2.2.2.</b> La vitamine D.....	27
<b>III.3.</b> Suppléments avec des CMV (compliment minéral et vitaminé).....	28
<b>III.3.1.</b> Le zinc.....	29
<b>III.3.2.</b> Le magnésium.....	30
<b>III.3.3.</b> Le calcium.....	30
<b>Chapitre IV :</b> Caractéristiques spermatiques du bélier .....	31
<b>IV.1.</b> Le sperme.....	32
<b>IV.2.</b> L'aspect et la composition du sperme.....	33
<b>IV.3.</b> Les caractéristiques quantitatives .....	34
<b>IV.3. 1.</b> Volume de l'éjaculat.....	34
<b>IV.3. 2.</b> Concentration de l'éjaculat .....	34
<b>IV.4.</b> Les caractéristiques qualitatives .....	35
<b>IV.4. 1.</b> Motilité massale .....	35
<b>IV.4. 2.</b> Pourcentage de spermatozoïdes mobiles.....	37
<b>IV.4. 3.</b> Mesure du pourcentage des spermatozoïdes vivants et des anomalies spermatiques .....	37
<b>Chapitre V :</b> Facteurs de variations et mode de fabrication des doses .....	39
<b>V.1.</b> Modification du mode de fabrication des doses d'IA .....	40
<b>V.2.</b> Augmentation de la quantité de semence utilisable .....	40
<b>V.3.</b> La quantité de semence utilisable.....	42
<b>V.3. 1.</b> La libido.....	42
<b>V.3. 2.</b> Le nombre de spermatozoïdes .....	42
<b>V.3. 3.</b> La motilité.....	43
<b>Chapitre VI :</b> Etude de la production de semence .....	45

<b>VI.1.</b> De l'âge.....	46
<b>VI.2.</b> Circonférence scrotale .....	46
<b>VI.3.</b> De la saison.....	47
<b>VI.4.</b> De l'état de santé.....	49
<b>VI.5.</b> De la fréquence des recueils .....	50
<b>Chapitre VII :</b> Etude de la réussite de l'insémination artificielle.....	54
<b>VII.1.</b> Facteurs de variation environnementaux de la réussite de l'insémination liées au mâle .....	55
<b>VII.1. 1.</b> La qualité de la semence.....	56
<b>VII.1. 2.</b> Les caractéristiques du mâle.....	56
<b>VII.2.</b> Facteurs de variation environnementaux de la réussite de l'insémination liées à la femelle.....	57
<b>VII.2. 1.</b> La carrière de la femelle .....	57
<b>VII.2. 2.</b> La production laitière.....	58
<b>VII.2. 3.</b> Le poids, l'indice de condition corporelle.....	58
<b>VII.3.</b> Facteurs de variation environnementaux de la réussite de l'insémination non spécifiques du sexe.....	59
<b>VII.3. 1.</b> Facteurs liés à l'IA .....	59
<b>VII.3. 2.</b> La préparation des paillettes chez les ovins.....	59
<b>VII.3. 3.</b> Le déroulement de l'insémination.....	60
<b>VII.3. 4.</b> L'année et la saison .....	61
<b>VII.3. 5.</b> L'effet de l'élevage .....	62
<b>VII.4.</b> Conservation et survie prolongée des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles .....	62
<b>ETUDE EXPERIMENTALE</b> .....	64
<b>Chapitre I :</b> Problématique et données.....	65
<b>I.1.</b> Hypothèse .....	66
<b>I.2.</b> Protocole d'étude .....	66
<b>I.3.</b> Echantillonnages.....	67
<b>I.3.1.</b> Pour l'étude de la production de semence .....	67
<b>I.3.2.</b> Pour l'étude de la réussite de l'insémination .....	68
<b>I.3.3.</b> Données.....	68
<b>I.3.4.</b> Analyses .....	68
<b>I.4.</b> Matériels et méthodes de l'étude .....	69

<b>I.4.1.</b> Présentation du centre .....	69
<b>I.4.2.</b> Animaux.....	71
I.4.2. 1. Entraînement des mâles .....	72
I.4.2.2. Collecte de semence sur des mâles entraînés .....	73
I.4.2.3. Contrôle de la quantité et de la qualité de la semence .....	76
e. Dilution.....	78
I.4.2.4. Conservation des spermatozoïdes et mise en paillettes .....	79
I.4.2.5. Insémination des brebis : IA classique (exocervicale) .....	80
<b>I.4.3.</b> Traitements.....	82
<b>I.4.4.</b> Récoltes et analyses au laboratoire .....	82
<b>I.5.</b> Résultats et discussion .....	85
<b>Chapitre II</b> : Etude qualitative et quantitative .....	86
<b>II.1.</b> Effet quantitatif des suppléments alimentaires .....	87
<b>II.1. 1.</b> Variations journalières des caractéristiques spermatiques quantitatives.....	87
<b>II.1. 2.</b> Effet d'un important supplément alimentaire sur le rendement séminal.....	89
<b>II.1. 3.</b> Evolution temporelle des caractéristiques spermatiques .....	90
II.1. 3. 1. Evolution mensuelle du volume des éjaculats.....	90
II.1. 3. 2. Evolution mensuelle des doses produites.....	91
<b>II.1. 4.</b> Effet de la fréquence de récolte sur le rendement séminal.....	93
<b>II.1. 4.</b> Impact du recueil intensif sur la quantité de la semence .....	95
<b>II.2.</b> Effet qualitatif des suppléments alimentaires .....	96
<b>II.3.</b> Taux de réussite des brebis inséminées par la semence issue de béliers supplémentés...	97
<b>Chapitre III</b> : Etude de la production de doses de semence .....	100
<b>III.1.</b> Dépendance des doses produites et du volume du recueil.....	101
<b>III.2.</b> Dépendances des doses produites et de la concentration des recueils.....	103
<b>III.3.</b> Production de 100 doses de semence .....	105
<b>III.4.</b> Rendement de la production de doses .....	105
<b>Chapitre IV</b> : Données sur les races principales .....	107
<b>IV.1.</b> Variation des caractéristiques spermatiques des géniteurs des trois races principales.	108
<b>IV.1. 1.</b> Chez la race <i>Ouled Djellal</i> .....	108
<b>IV.1.2.</b> Chez la race <i>Hamra</i> .....	109
<b>IV.1.3.</b> Chez la race <i>Rumbi</i> .....	109
<b>IV.2.</b> Corrélations entres caractéristiques spermatiques quantitatives.....	111

---

CONCLUSION .....	114
ANNEXES .....	119
Publications et communications scientifiques.....	143
Glossaire.....	144

## Remerciements

### **A Monsieur le Professeur BENALI Mohammed**

Du département de biologie, Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbès,  
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,  
Hommages respectueux.

### **A Ma Directrice de thèse Me, BEREKSI R. Karima**

Du département de biologie, Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbès,  
Qui a accepté de m'encadrer et de me soutenir durant mes recherches doctorales  
Qui fut présente à tout moment, pour sa disponibilité et son aide précieuse,  
Sincère reconnaissance.

### **A Monsieur le Dr AICHOUNI Ahmed,**

De la Faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques, Université Hassiba  
Benbouali de Chlef,  
Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury, de juger ce travail de thèse de doctorat, et  
fait profiter de son expérience et ses connaissances scientifiques,  
Sincères remerciements.



**A Monsieur le Professeur CHEKROUN Abdellah,**

De l'Université d'Oran Es-Senia,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

**A Monsieur le Dr Hassani Mohammed,**

Du **CNIAAG** Belhandjir, directeur et inséminateur du centre,

Qui a accepté de m'accueillir au sein du centre d'insémination ovine de *Belhandjir* et de s'investir pleinement afin de mener ce travail à terme. Votre centre nous a toujours été ouvert avec une bonne collaboration scientifique.

Veillez trouver ici le témoignage d'une sympathie profonde et de toutes ma gratitude.

Enfin, je souhaiterais également exprimer mes remerciements les plus sincères à:

Tous mes remerciements à **mes parents, mes sœurs, mes frères** et **mes amis** qui m'ont soutenu pendant cette période et qui m'ont permis d'arriver à ces résultats.

Mes collègues du travail, du Centre **National de Développement des Ressources Biologiques**, avant et actuellement, de **l'école préparatoire en sciences de la nature et de la vie de Mostaganem**, pour l'appui et le soutien pendant mes recherches.

Trouvez ici la gratitude de vos sacrifices, vos encouragements et de vos tendresses.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> Rythme de collecte des mâles dans les différentes espèces (Reproduction des animaux d'élevage). .....	8
<b>Tableau 2</b> Caractéristiques de la production de semence dans les différentes espèces (Reproduction des animaux d'élevage. p95) .....	9
<b>Tableau 3</b> Organisation des IA par espèces (Ingrid David, 2007) .....	12
<b>Tableau 4</b> Volume et concentration en spermatozoïdes du sperme de différentes espèces ....	35
<b>Tableau 5</b> Détermination de la note de motilité massale de la semence (Smyth et Gordon 1967).....	36
<b>Tableau 6</b> Effet d'une diminution de 25% du nombre de spermatozoïdes inséminés sur la fertilité des brebis (nombre d'IA).....	41
<b>Tableau 7</b> Fertilité des brebis en fonction de la dose de semence utilisée (nb IA) .....	41
<b>Tableau 8</b> Production de semence dans les jours du solstice et de l'équinoxe de la 3 <sup>ème</sup> année d'âge et effet de la fréquence des recueils sur la motilité et la production des spermatozoïdes sur les trois races, Texel (Tx), Sulffok (S) et Ile-De-France (IDF).....	51
<b>Tableau 9</b> Données sur les doses produites .....	89
<b>Tableau 10</b> Moyennes bimensuelles du volume des éjaculats des béliers supplémentés BS et témoins BT .....	91
<b>Tableau 11</b> Moyennes bimensuelles des doses produites des béliers supplémentés BS et témoins BT .....	92
<b>Tableau 12</b> Effet de la fréquence de récolte sur le rendement séminal des béliers témoins ...	94
<b>Tableau 13</b> Effet de la fréquence de récolte sur le rendement séminal des béliers recevant des suppléments alimentaires .....	94
<b>Tableau 14</b> Caractéristiques qualitatives de la semence de la cohorte d'étude (moyenne $\pm$ écart-type).....	97
<b>Tableau 15</b> Taux de réussite des IA chez les trois lots de brebis.....	98
<b>Tableau 16</b> Variations moyennes des caractéristiques spermatiques individuelles des béliers supplémentés de la race <i>Ouled Djellal</i> .....	108

---

<b>Tableau 17</b> Variations moyennes des caractéristiques spermatiques individuelles des béliers supplémentés de la race <i>Hamra</i> .....	109
<b>Tableau 18</b> Variations moyennes des caractéristiques spermatiques individuelles des béliers supplémentés de la race <i>Rumbi</i> .....	109

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> Principe d'action de l'éponge vaginale .....	11
<b>Figure 2</b> Migration de l'ovule et du jeune embryon de l'oviducte vers l'utérus au début de la gestation (Brice et al., 1995) .....	13
<b>Figure 3</b> Niveaux du taux de 25-OH D <sub>2+3</sub> et la motilité des spermatozoïdes chez les humains. ....	28
<b>Figure 4</b> Régulation hormonale de la production des spermatozoïdes ( <i>Brice et al.</i> 1995). ....	33
<b>Figure 5</b> Spermatozoïde de bélier (les spermatozoïdes vivants ne sont pas colorés alors que les spermatozoïdes morts le sont). (Cliché CNRZ, <i>Le mouton</i> , 1976).....	38
<b>Figure 6</b> Variation saisonnière du poids de testicule de bélier adulte Ile de France (Pelletier 1971 cité par Christian Dudouet en 2003). ....	48
<b>Figure 7</b> Variations de la motilité après la première éjaculation chez les trois races (Texel, Suffolk et Ile-De-France) .....	52
<b>Figure 8</b> Variations de la production spermatique chez les Trois races choisies, chaque point représente la moyenne de trois valeurs prises au hasard. ....	53
<b>Figure 9</b> Localisation du centre d'IA <i>Belhandjir</i> sur la carte de « Google Earth, 2014 ».....	70
<b>Figure 10</b> Le centre d'insémination artificielle et de l'amélioration génétique, <i>Belhandjir</i> ...	71
<b>Figure 11</b> Photos du vagin artificiel pour les ovins utilisé dans le centre d'IA à <i>Belhandjir</i> . A gauche : tube de recueil, cône et le vagin artificiel (en allant de gauche à droite). A droite : vagin artificiel dans un manchon protecteur en cuir. ....	73
<b>Figure 12</b> Femelle boute-en-train. Photo prise dans le centre d'IA à <i>Belhandjir</i> .....	75
<b>Figure 13</b> Recueil de la semence du bélier à l'aide du vagin artificiel (celui qui collecte est en position accroupie). Photo prise au centre d'IA de <i>Belhandjir</i> . ....	76
<b>Figure 14</b> Spectrophotomètre adapté au calcul de la concentration de la semence des ovins et des caprins. Photo prise au centre d'IA de <i>Belhandjir</i> . ....	77
<b>Figure 15</b> MRS ou machine de remplissage et de soudure. ....	80
<b>Figure 16</b> Insémination d'une brebis par l'inséminateur du centre d'IA de <i>Belhandjir</i> .....	81
<b>Figure 17</b> Protocole d'IA utilisé dans le centre d'IA <i>Belhandjir</i> .....	82
<b>Figure 18</b> Observation au microscope des spermatozoïdes (G x400) colorés à l'éosine chez un bélier témoin.....	84

---

**Figure 19** Observation au microscope des spermatozoïdes (G x400) colorés à l'éosine chez un bélier supplémenté..... 84

**Figure 20** Graphes représentant l'effet de la supplémentation sur, les doses de semence produites (*a, b et c*), et la moyenne des volumes de recueil (*d*) ..... 87

**Figure 21** Volume des collectes journalières des béliers témoins et supplémentés ..... 88

**Figure 22** Volume du dilueur des collectes journalières des béliers témoins et supplémentés.....88

**Figure 23** Doses produites journalières chez les béliers témoins et supplémentés ..... 88

**Figure 24** Evolution temporelle du volume des éjaculats des béliers des lots BT et BS. .... 90

**Figure 25** Evolution temporelle des doses produites des béliers des lots BT et BS..... 92

**Figure 26** Taux de réussite des IA observées chez les brebis inséminées par de la semence issue du lot de béliers BT ou BS. .... 99

**Figure 27** Corrélation entre les doses produites et le volume du recueil chez le lot BT. .... 102

**Figure 28** Corrélation entre les doses produites et le volume du recueil chez le lot BS. .... 102

**Figure 29** Corrélation entre la concentration de la semence et le nombre de doses produites chez les béliers témoins. .... 104

**Figure 30** Corrélation entre la concentration de la semence et le nombre de doses produites chez les béliers supplémentés..... 104

**Figure 31** Corrélations entre volumes et doses produites chez les deux races *Hamra* et *Rumbi* ..... 111

**Figure 32** Corrélations entres la concentration et les doses produites chez la race *Hamra* et *Rumbi* ..... 112

**Figure 33** Tableau pour calcul du volume du dilueur à ajouter à la semence. .... 126

---

## Liste des abréviations

<b>AGPI</b>	: Acides gras polyinsaturés
<b>ANC</b>	: Apports nutritionnels conseillés
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>BCS</b>	: body condition score (voir <b>EC</b> )
<b>BS</b>	: Béliers supplémentés
<b>BT</b>	: Béliers témoins
<b>CMV</b>	: Complément minéral et vitaminé
<b>C.N.R.Z</b>	: Centre National de Recherches Zootechniques.
<b>CIAO</b>	: Centre d'Insémination Artificielle Ovine
<b>CNIAAG</b>	: Centre National de l'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique
<b>DSA</b>	: Direction des Services Agricoles
<b>EC</b>	: Etat corporel
<b>ERO</b>	: Espèces réactives dérivées de l'oxygène.
<b>FAO</b>	: Food and Agriculture Organization (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).
<b>FSH</b>	: Follicule stimulating hormone
<b>g</b>	: gramme
<b>GnRH</b>	: Gonadotrophin Releasing Hormone
<b>IA</b>	: Insémination artificielle
<b>h</b>	: heure

---

<b>j</b>	: jour
<b>kg</b>	: kilogramme
<b>LH</b>	: Luteinizing hormone
<b>mL</b>	: millilitre
<b>r</b>	: corrélation
<b>P</b>	: seuil de significativité
<b>PMSG</b>	: Pregnant Mare Serum Gonadotrophin
<b>spz</b>	: Spermatozoïde
°	: degré
‘	: seconde

## Résumé

La présente étude a pour but d'évaluer l'effet d'un important supplément alimentaire sur la quantité et la qualité spermatiques des béliers géniteurs du centre d'insémination artificielle *Belhandjir* de la wilaya de Naâma en Algérie. Des béliers géniteurs de la race blanche arabe, dite *Ouled Djellal*, sont divisés en deux lots BT et BS, et soumis à deux régimes alimentaires différents, le premier lot BT a suivi un régime R à base d'orge et de fourrage et le deuxième lot BS a suivi un régime R + un complément alimentaire vitaminé et minéral, durant une période de 15 semaines de recueils réguliers suivie de 12 semaines de recueils intensifs. Des mesures de quantités et de qualités spermatiques ont été réalisées pour des récoltes normales et intensives. L'effet quantitatif est plus significatif chez les béliers supplémentés BS, le volume et la concentration ont été plus élevés chez les béliers BS (+40% du volume), par conséquent, les doses produites sont différentes significativement par rapport au lot de béliers témoins BT (+70%). Les résultats de paramètres qualitatifs choisis ont été plus mitigés, la motilité présente une différence significative chez les béliers supplémentés par contre le taux des spermatozoïdes morts ainsi que le taux des anomalies n'ont pas présentés de différences significatives. La supplémentation semble être très utile lorsque les béliers sont soumis à des fréquences de collectes intensives, une production spermatique optimale a été conservée même à une fréquence de récolte de 4 fois par semaine.

La supplémentation a eu le même impact chez les autres races testées à savoir la race *Hamra* et *Rumbi*, les caractéristiques spermatiques quantitatives ont été différentes significativement, sauf pour la concentration chez la race *Rumbi* où la différence n'a pas été significative par contre la motilité, seul paramètre qualitatif étudié, n'a pas été amélioré significativement.

**Mots clés :** insémination, béliers, supplémentation, récolte, doses.



## Abstract

This study aims to evaluate the effect of an important dietary supplement on sperm quantity and quality breeding rams of artificial insemination center *Belhandjir* in region of Naama in Algeria. Rams of the white arab breed, called *Ouled Djellal* are divided into two groups CR and SR, and subjected to two different diets, the first group CR followed a regime R based of barley and fodder and the second SR group to follow a regime R + a vitamin and mineral dietary supplement for a 15 weeks of regular collections followed by 12 weeks of intensive collections. Analysis of sperm quality and quantity were performed to normal and intensive collection. The quantitative effect is more significant in rams supplemented SR, volume and concentration were higher in rams SR (+40% of volume), therefore the doses produced differ significantly compared to the group of control rams CR (+70%). Results of Qualitative parameters were more mixed, motility showed a significant difference in rams supplemented with against the rate of dead semen and the rate of anomalies did not show significant differences in sperm supplementation could significantly improve the quantitative semen characteristics in rams breeding *Ouled Djellal*. Collections of semen on the rams may be daily without sperm quantity is affected.

Supplementation had the same impact in other breeds tested namely Hamra and Rumbi breed, quantitative sperm characteristics were significantly different, except for the concentration in the Rumbi breed where the difference was not significant by against motility only qualitative parameter studied was not improved significantly.

**Keywords:** Insemination, rams, supplementation, semen, dose.

أنجزت الدراسة الآتية لهدف أساسي هو تقييم وتوضيح أثر مكمل غذائي هام على نوعية وكمية السائل المنوي للخراف المنحدرة من مركز التلقيح الاصطناعي « نجير » تواجد بولاية النعامة بالجزائر. البيضاء العربية المعروفة بأولاد جلال فُسِّمَت إلى فرقتين أ و ب وتم إخضاعها لنظامين غذائيين مختلفين , مكوّن أساساً من الشعير والعلف بينما اتبعت الفرقة الأخرى نفس النظام مُضاف إليه مكمل غذائي فيتاميني

. أجريت قياسات كمية ونوعية على عينات عادية ومُكثفة أثبتت القياسات أن الأثر الكمي جد بارز عند الفرقة الثانية التي اتبعت النظام المرفق بالمكمل، زيادة هامة في الحجم والتركيز بنسبة تفوق أربعين في المائة 40 % ذلك اختلاف بارز في الجرعات المُنتجة بالمقارنة مع الفرقة الأولى بنسبة تفوق سبعين بالمائة 70 %.

نتائج المؤشرات الكمية المعتمد عليها كانت أكثر تبايناً , كان التأثير بارز في حركية الحيوانات المنوية بينما لم يكن هناك ثير بارز فيما يخص نسبة الحيوانات المنوية الميتة و المصابة بتشوهات. يظهر بوضوح أنّ للتكميل الغذائي إثر بارز حين يتم إخضاع الخراف لجمع يومي مكثف لقد تم رصد كميات مُتلى حتى مع السائل المنوية

د السلالات الاخرى من بينها السلسلة الحمرا و الرامبي. بحيث كان الاختلاف بين الخصائص المنوية الكمية بارزا ما عدا تركيز الحيوانات المنوية عند سلالة الرامبي لم يكن بارزا. على العكس منها فان حركية الحيوانات المنوية و التي تعتبر القياس الوحيد الكمي المدروس عند سلالة الحمرا و الرامبي لم يكن الاختلاف فيها . و في الاخير نسبة نجاح التلقيح الاصطناعي الناتج عن السد الغذائي كان احسن منه بالنسبة للخراف الشاهدة لكن الاختلاف لم يكن بارزا.

الكلمات المفتاحية : تلقيح، ذ ، تكميل غذائي، .

## AVANT-PROPOS

Chaque espèce de mammifère est composée d'individus mâles et d'individus femelles en quantités équivalentes. Dans les conditions naturelles, la reproduction nécessite d'abord l'accouplement, avec constitution d'une paire hétérosexuelle et introduction de spermatozoïdes par le mâle dans les voies génitales femelles, dans la période où la femelle elle-même émet un ou plusieurs ovules. Les choses paraissent simples, mais elles nécessitent pourtant, pour être efficaces, des dispositifs variables selon les espèces. Il y a bien longtemps qu'on a observé une relation de cause à effet entre rapport sexuel et engendrement, et utilisé ce phénomène aussi bien dans l'élevage des animaux domestique que dans le recours des eunuques pour garder les harems. Mais ce qui se passait à l'intérieur des corps, et singulièrement dans le corps de la femelle, restait bien mystérieux. Jusqu'au XIX<sup>e</sup> siècle, on pensait que l'ovulation accompagnait le rapport sexuel (ce qui est vrai chez certains mammifères) et c'est seulement depuis un siècle que les deux phénomènes sont reconnus comme indépendants l'un de l'autre. C'est ainsi qu'on pouvait avoir recours à des techniques telles que l'insémination artificielle pour engendrer de nouveaux descendants sans passer par l'accouplement.

La relation entre les caractéristiques du sperme et la fertilité est d'une importance fondamentale pour la biologie de la reproduction en générale ; elle présente un intérêt économique direct dans la pratique de l'insémination artificielle, car une appréciation aussi correcte que possible de la fécondance du sperme à utiliser est en partie décisive pour la rentabilité (C. Van DUIJN, 1965).

---

*« Mais quels sont les facteurs permettant d'améliorer en quantité ou en qualité ce produit des béliers reproducteurs à savoir la semence ? »*

*« Une supplémentation alimentaire est-elle efficace pour avoir une meilleure production spermatique ? »*

L'étude suivante nous permet d'analyser l'effet d'une supplémentation alimentaire sur la semence produite des béliers du centre d'IA de *Belhandjir* de la wilaya de Naâma.

## INTRODUCTION

**B**ien que les mêmes techniques de préparation de la semence, de synchronisation des chaleurs et d'insémination soient utilisées pour les différentes races ovines, les probabilités de réussite de l'insémination y sont très variables (Gabina, 1990).

Les mauvais résultats observés dans certaines races ovines entraînent un désintérêt des éleveurs pour cette technique et met en difficulté l'organisation des schémas de sélection. Ceci peut conduire, à plus ou moins long terme, à la fermeture de certains centres d'insémination

Le projet a pour buts de fournir des éléments permettant une augmentation de la production quotidienne en doses d'insémination par bélier d'une part et une amélioration de la réussite de l'insémination artificielle d'autre part.

Les objectifs du projet de cette thèse sont donc d'identifier les effets de variation de la réussite de l'insémination et de la production de doses de semence dont les béliers reproducteurs seront soumis à un régime alimentaire supplémenté en vitamines et minéraux, en étudiant la qualité et la quantité des caractéristiques spermatiques correspondants, tout en utilisant les méthodologies les mieux adaptées aux variables étudiées. Pour répondre à ces objectifs, nous avons mobilisé les données collectées en routine par les IA et le contrôle de performance. Les données du centre d'IA du CNIAAG<sup>1</sup> *Belhandjir* ont servi aux analyses.

---

<sup>1</sup> Centre National de l'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique

Les caractéristiques spermatiques ainsi que le mode et le protocole de fabrication des doses de semence dans les centres d'insémination artificielle ovine (CIAO) sont toujours sujet à des études et des expériences afin d'avoir des doses avec des coûts réduits, et un pouvoir fécondant optimal. C'est ainsi que la concentration des doses de semence sont passées de 400 millions à 350 et ceci sans que le taux de réussite de l'insémination artificielle soit diminué significativement (Briois M. et Guerin Y., 1995).

Augmenter le nombre de doses d'insémination qu'un bélier peut produire quotidiennement sans nuire à son pouvoir fécondant peut être réalisé en modifiant les méthodes de fabrication des doses (augmentation de la dilution du sperme, diminution du volume des doses. . .) et/ou en augmentant la quantité de semence utilisable produite par bélier (production de semence : volume, concentration, nombre de spermatozoïdes, motilité massale).

L'analyse de données a posteriori n'apporte pas d'informations sur la première méthode qui relève de la technologie de la semence et sort du contexte de cette thèse à savoir l'effet des suppléments alimentaires sur la semence produite. Nous nous sommes donc uniquement intéressés à la seconde.

Les études de la production de semence des béliers et de la réussite de l'insémination ne sont pas indépendantes puisque la production de semence est potentiellement un facteur de variation de la réussite de l'insémination. Cette production est de ce fait un facteur de variation et un facteur d'intérêt dans notre étude.

**ETUDE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre I : Introduction à l'insémination artificielle**



## I.1. Généralité sur l'insémination artificielle

La reproduction correspond à l'ensemble des processus permettant d'assurer la pérennité de l'espèce. Chez les vertèbres supérieures, elle est de type sexuée et assurée par la fécondation qui permet à deux individus de sexe différents (un mâle et une femelle) d'engendrer ensemble des descendants et qui correspond physiologiquement à la fusion des gamètes mâle et femelle associant leurs matériels chromosomiques.

Ceci permet la transmission et le brassage génétique en milieu naturel. Dans le cadre de populations soumises à la sélection, la reproduction est la clef de voûte de la création et de la diffusion du progrès génétique et l'IA en est la technique de choix.

La première référence de l'utilisation de l'IA est réputée d'être dans des textes arabes datant de 1322. L'histoire raconte qu'un des deux cheikhs a volé le sperme de l'étalon de son ennemi pour l'utilisation sur une de ses juments, on donne aucun détail sur les méthodes utilisées mais on annonce que l'opération a été réussie (Perry, 1968). En 1677, *Anton van Leeuwenhoek* et *Johan Hamm* ont d'abord identifié des spermatozoïdes en utilisant un microscope. Ils ont par la suite été décrits comme *animalcula* c.à.d. des corps infimes innombrables avec le pouvoir de mouvement actif en avant (Perry 1968). Cependant, on a mis 100 ans avant que l'insémination artificielle n'ait été documentée pour la première fois. Ce rapport était fait en 1780 par le physiologiste italien *Spallanzani* qui, après quelques succès encourageants avec des amphibiens, a essayé l'insémination d'une chienne avec la semence fraîchement recueillie, gardé à température ambiante avant l'insémination immédiate directement dans l'utérus. Cette procédure était réussie et a abouti à la naissance de trois chiots.

Mais jusqu'au XIXe siècle, des théories ancienne, comme celle de la génération spontanée, empêchaient de reconnaître le processus de fécondation. C'est seulement en 1875 qu'Oscar Hertwing observa au microscope la rencontre des gamètes chez l'oursin. Il constata que l'énorme différence de taille entre ovule et spermatozoïdes n'empêchait pas la fusion de leurs noyaux pour former l'embryon, et aussi que c'est un seul spermatozoïde qui féconde, des notions jusque-là peu vraisemblables. Dix ans plus tard, Van Beneden découvrira à la fois la

division des cellules du corps (mitose) et celle des cellules sexuelles (méiose) et montrera que chaque gamète apporte autant de chromosome dans l'œuf fécondé.

Cette reproduction assistée est très largement répandue. Néanmoins, pour des raisons techniques et économiques, son développement chez les petits ruminants est beaucoup plus limité.

## **I.2. Inséminations ovines**

En France l'activité d'insémination ovine s'est développée de façon importante entre 1971 et 1991. Depuis, la progression a été moins rapide. Un premier décrochement a d'ailleurs été observé en 1992–1993, suivi d'un second en 1999, liés aux crises des maladies à prions, qui ont entraîné une crise de la viande ovine (Teyssset, G., 2002). Malgré cela, l'activité a continué à progresser ces dernières années, probablement en raison du dynamisme de la production laitière et des schémas de sélection, qui face à des situations défavorables comme celle de la tremblante ont su mettre en place un programme de diffusion de béliers génétiquement résistants. En Algérie, il a fallu attendre le 5 janvier 1988, date de création du CNIAAG par décret présidentiel. Son siège se trouve à Baba Ali (wilaya de Blida). L'insémination artificielle a, sans nul doute, de grands avantages et très peu d'inconvénients.

L'insémination ovine est pratiquée en quasi totalité en semence fraîche, avec une insémination intra-cervicale et permet d'obtenir une fertilité de 55 à 75 % (Chemineau P et al, 1991, Decuadro-Hansen G, 2003). La limite de cette technique est la nécessité de mettre en place un grand nombre de spermatozoïdes à l'entrée du col de l'utérus (paillette contenant 350–400 millions de spermatozoïdes). Bien que les mêmes techniques de préparation de la semence, de synchronisation des chaleurs et d'insémination soient utilisées pour les différentes races ovines, les probabilités de réussite de l'insémination y sont très variables (Gabina, 1990). Pour exemple, le taux de réussite de l'IA dans la région de Naâma était de 50% en campagne 2007, de 60% pour la campagne 2008, et 40% seulement en 2009 (LITIM M., et BEREKSI R. K).

En effet, chez la brebis, l'anatomie du col de l'utérus rend presque impossible une insémination post-cervicale (Chemineau P., et al., 1991) Par conséquent, la seule technique d'insémination applicable à l'utilisation de la semence congelée est la laparoscopie, qui reste

cependant marginale et utilisée de façon variable d'une année sur l'autre (environ 1 % des inséminations).

### **I.3. Déroulement de l'insémination artificielle**

Quatre grandes étapes sont nécessaires à la réalisation de l'IA : la récolte du sperme, la préparation et la conservation de la semence, la préparation de la femelle et l'insémination au sens stricte.

#### **I.3.1. Récolte du sperme**

La récolte du sperme consiste à récupérer, au centre d'IA, la semence de l'animal dans un tube de collecte via un vagin artificiel (chez les ovins, la collecte des béliers peut se faire par le biais de l'électro-éjaculation). L'érection et l'éjaculation, phénomènes réflexes, sont généralement stimulées par la présence d'un boute-en-train (une brebis). Le rythme de collecte des mâles est variable en fonction des espèces (Tableau 1). La plupart des CIAO français collectent les béliers tous les uns ou deux jours et l'animal réalise le plus souvent deux éjaculations à quelques minutes d'intervalle à chaque collecte. Néanmoins, ce rythme de collecte n'est pas constant sur toute l'année du fait du caractère saisonnier de la reproduction dans cette espèce. En effet, la saison où l'activité sexuelle ovine est maximale est la période des jours décroissants. Le reste de l'année, l'activité sexuelle est faible ou nulle avec une certaine variabilité en fonction des races (Langford et al., 1989). La mélatonine est l'hormone contrôlant cette saisonnalité. Elle est sécrétée par la glande pinéale durant la nuit et agit sur l'axe hypothalamo-pituitaire (axe de contrôle des sécrétions de GnRH/LH), ce qui induit une augmentation de la pulsativité de LH (Misztal et al., 2002). La LH stimule la production d'androgène par les cellules de Leydig favorisant le développement des caractères sexuels, l'anabolisme protéique et la spermatogenèse (somme des transformations qui aboutissent à la formation des spermatozoïdes à partir des spermatogonies ; d'une durée de 49 jours chez le bélier). Du fait de certaines contraintes économiques (chute du prix et de la demande en viande d'agneau après Aid El Kebir par exemple), la plus grande partie des inséminations ovines françaises est réalisée pendant une assez courte période de l'année et à contre saison (période de jours croissants).

La fonction sexuelle des béliers du CIAO est stimulée durant cette période en mimant des jours décroissants. Deux méthodes sont principalement employées : la pause d'implant de mélatonine ou le traitement photopériodique (contrôle de la durée d'éclairement par lumière artificielle), la diminution la longueur du jour avec des implants de mélatonine a permis une augmentation transitoire du volume des testicules. Ainsi, le contrôle total de la reproduction chez les ovins et les caprins, par la manipulation de la photopériode dans des hangars ouverts et les traitements de la mélatonine semble possible dans les deux sexes. (Chemineau et al., 1988 ; Chemineau et al., 1996 ; Colas et al., 1985 ; Colas et al., 1988).

Après la collecte, la semence est rapidement contrôlée (mesure de la motilité massale, du volume et de la concentration) afin d'éliminer les éjaculats de qualité (fécondance) jugée insuffisante et de déterminer le taux de dilution du sperme en vue de la préparation des paillettes.

**Tableau 1** Rythme de collecte des mâles dans les différentes espèces (Reproduction des animaux d'élevage).

	bovins	caprins	ovins	équins
	2 à 3	2 à 4		
<b>Fréquence des collectes</b>	fois/semaine	fois/semaine	quotidienne	2 - 3 jours

### I.3.2. Préparation et conservation de la semence

Après la collecte, la semence est diluée afin de multiplier le pouvoir de reproduction des mâles et d'allonger la durée de vie des spermatozoïdes. Le taux de dilution est variable en fonction des espèces et de la température de conservation de la semence (fraîche, réfrigérée, ou congelée) (Tableau 2).

L'insémination ovine est préférentiellement réalisée en semence fraîche. Dans cette espèce, les deux principaux dilueurs de semence fraîche sont le dilueur lacté composé d'eau, de poudre de lait et d'antibiotiques et le dilueur à base de lactose et de jaune d'œuf (Baril et al., 1993). Les CIAO français utilisent principalement le dilueur lacté (ça était le cas aussi des CIAO

algériens avant d'avoir recours, dans ces derniers temps, aux dilueurs à base de végétaux). Une fois diluée, la semence est refroidie à 15C° puis conditionnée en paillettes de 0.25mL (1.2 à 1.6 milliards de spermatozoïdes par mL). La durée de vie des spermatozoïdes étant courte, il est recommandé d'effectuer l'insémination dans les 8 heures suivant la collecte (en insémination naturelle leur durée de fertilité est estimée à 30 – 48 H).

**Tableau 2** Caractéristiques de la production de semence dans les différentes espèces  
(Reproduction des animaux d'élevage. p95)

Caractéristiques	Bovins	Caprins	Ovins	Equins
Volume moyen d'un éjaculat (mL)	5(de 1 à 12)	1,5	<b>1(0,5 à 1,5)</b>	100
Nombre de spermatozoïdes en milliards par cm <sup>3</sup>	1,2 (de 0,5 à 2,5)	3	<b>3.5 à 4</b>	0.15
Volume d'une dose d'insémination (mL)	0.25	0.25	<b>0.25</b>	Variables selon technique
Nombre de spermatozoïdes par dose (en millions)	15 – 20	200	<b>300 – 400</b>	400
Nombre moyen de doses par éjaculat	200 – 400	40	<b>8 à 12</b>	12 à 25
Température de conservation de la semence fraîche	+4°C	+5°C	<b>+15°C</b>	+4°C
Durée de conservation de la semence fraîche	2 – 3 jours	15 heures	<b>10 heures</b>	12 à 24 heures
Possibilité de congélation	+++	++	-	+

L'utilisation de la semence congelée chez les ovins est rare en France (pratiquement inexistante en Algérie, un essai est en phase d'expérimentation au niveau du centre d'IA *Belhandjir* de la wilaya de Naâma actuellement); elle est néanmoins développée en Espagne sur la race Churra. Le dilueur utilisé pour ce type de conservation contient toujours du glycérol qui intervient au moment de la congélation en favorisant la formation à l'intérieur des

spermatozoïdes de cristaux de petite taille ce qui évite l'éclatement et la destruction des cellules (ce qu'on appelle aussi le cryoconservateur).

### **I.3.3. Préparation de la femelle**

L'insémination artificielle peut se faire préférentiellement sur chaleur naturelle (bovin lait, équin) ou induite (bovin viande, ovin, caprin). Dans ce dernier cas, en plus des mesures courantes de préparation de la femelle (flushing alimentaire...), celle-ci reçoit un traitement hormonal de synchronisation afin que l'ovulation soit concomitante de l'insémination. Cette synchronisation est particulièrement intéressante pour les espèces sur lesquelles la détection des chaleurs est difficile, lorsque les accouplements se font au lot et/ou lorsque la reproduction est réalisée à contre-saison. Le principe de la synchronisation consiste à mimer les mécanismes endocriniens qui contrôlent le cycle sexuel. Le cycle ovarien dure 17 jours en moyenne chez la brebis (il peut varier de 14 à 21 jours).

La synchronisation des brebis, en Algérie, consiste à la pose durant 14 jours d'une éponge vaginale imprégnée d'un progestagène de synthèse (l'acétate de fluorogestone) et à l'injection d'hormone choriogonadotropineéquine (eCG, ou qu'on appelle aussi la PMSG) au retrait de l'éponge. Le progestagène a pour but de bloquer la décharge de LH (déclencheur de l'ovulation), la PMSG provoque un pic d'œstradiol qui déclenche le pic pré-ovulatoire de LH et l'ovulation dans les deux jours. La durée de fertilité de l'ovule de la brebis est estimée à 15-24H. L'insémination est réalisée 52 à 55 H après le retrait de l'éponge. Chez les races saisonnées le protocole est souvent divisé en deux, un protocole en saison sexuelle et un autre en contre-saison, en Algérie ce genre de problème n'est pas posé, un seul protocole est utilisé en générale vu la saisonnalité des brebis des différentes races algériennes ovines.

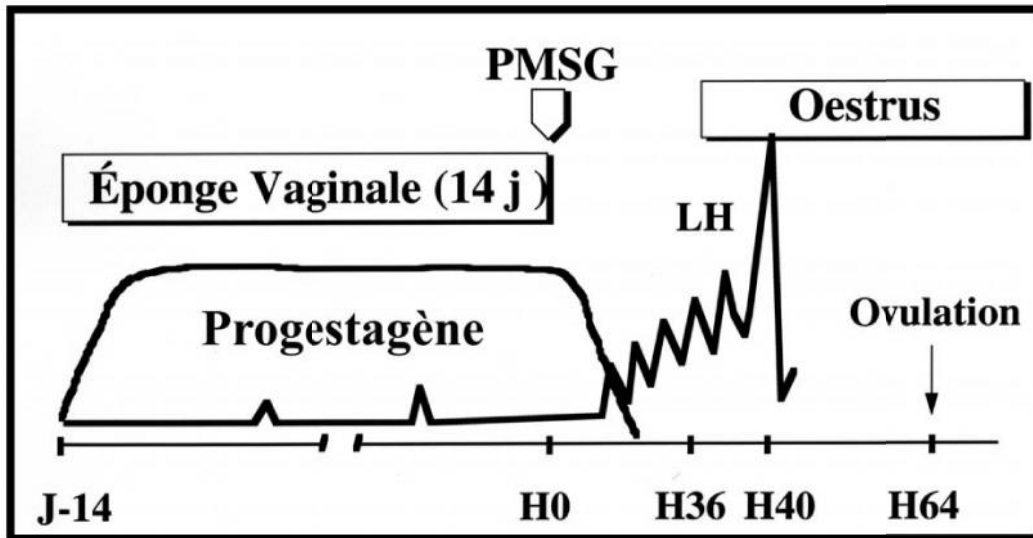


Figure 1 Principe d'action de l'éponge vaginale

### I.3.4. Insémination au sens stricte

L'insémination consiste à la dépose de la semence le plus en avant possible dans les voies génitales femelles. L'optimum est un dépôt en avant du col de l'utérus mais les particularités anatomiques de cet organe le rendent plus ou moins franchissable en fonction des espèces. Le passage du col est aisé en bovin et équin ; mais ce dernier est pratiquement infranchissable chez les ovins et les caprins. Une dépose intra-utérine est possible pour ces espèces par cœlioscopie (Evans et Maxwell, 1987). Cette méthode est utilisée en ovin pour la semence congelée.

L'organisation de l'insémination varie selon les espèces. Il peut y avoir une ou plusieurs inséminations à chaque cycle et renouvellement ou non de l'IA sur les cycles suivants en fonction du résultat de la fécondation sur le cycle précédent (Tableau 3). En ovin, une seule insémination artificielle est réalisée par cycle et les fécondations sur retour en chaleur sont assurées par de la monte naturelle.

**Tableau 3** Organisation des IA par espèces (Ingrid David, 2007)

	<b>Bovins</b>	<b>Porcins</b>	<b>Caprins</b>	<b>Ovins</b>	<b>Equins</b>
<b>Nombre d'IA par cycle</b>	1	2 ou 3	1 ou 2	1	1 à 4
<b>IA sur les cycles suivants</b>	Oui	Oui	Non	Non	Oui

### I.3.5. Fécondation et gestation

Elle se déroule en trois étapes :

- ✓ La remontée des spermatozoïdes à travers l'appareil génital de la brebis,
- ✓ La pénétration de ceux-ci dans l'ovocyte II,
- ✓ La fusion du gamète mâle (spermatozoïde) avec le gamète femelle (ovocyte II) pour donner naissance à un œuf.

La mise en place de la « semence » peut se faire par :

- ✓ l'accouplement (la lutte).
- ✓ l'insémination artificielle.

Depuis le lieu de leur dépose, les spermatozoïdes gagnent l'oviducte en partie par leurs propres moyens, en partie avec l'aide des voies génitales femelles. La réalisation de cette étape nécessite obligatoirement la motricité active des spermatozoïdes. L'ovocyte libéré à la surface de l'ovaire rejoint l'ampoule de l'oviducte où a lieu la rencontre des gamètes.

Le spermatozoïde, ayant acquis son pouvoir fécondant après avoir subi le processus de capacitation, doit généralement franchir trois membranes pour pénétrer dans l'ovocyte : la corona-radiata (absente chez la brebis), la membrane pellucide et la membrane plasmique.

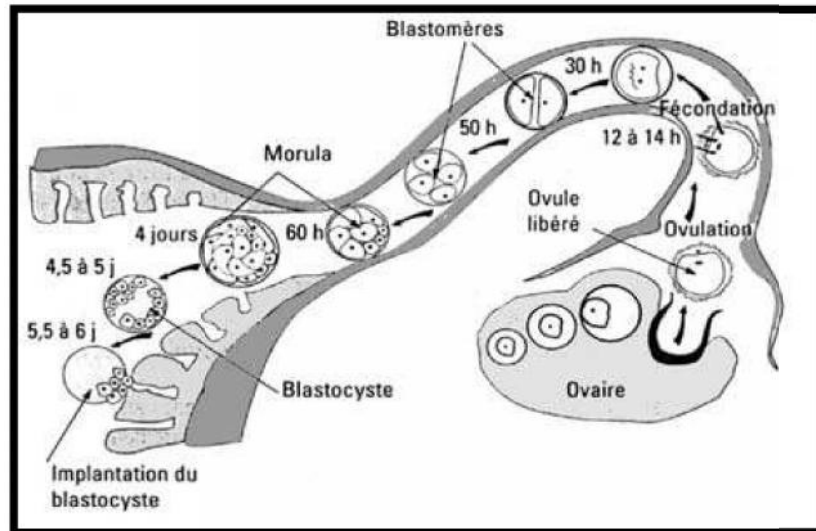
La fusion des gamètes conduit à la reconstitution du stock de  $2n$  chromosomes et constitue un "œuf".

L'œuf ainsi formé transite dans l'oviducte sous l'action d'une diminution des œstrogènes permettant une diminution de l'activité contractile des fibres musculaires lisses de l'oviducte.

Il pénètre dans l'utérus où il va s'implanter et continuer son développement jusqu'à la mise bas. Le placenta, zone de contact entre les tissus maternels et fœtaux, assure la nutrition, la



respiration et l'épuration du fœtus. Il est également responsable de sécrétions endocrines qui participent à la croissance du fœtus et au maintien de la gestation. La durée de gestation moyenne de la brebis est de 145 à 146 jours avec des différences inter et intra-race.



**Figure 2** Migration de l'ovule et du jeune embryon de l'oviducte vers l'utérus au début de la gestation  
(Brice et al., 1995)

Cette gestation déroule en deux étapes:

**La progestation** : qui dure environ 20 jours. Pendant cette étape l'œuf mène une vie libre. Pour éviter toute mortalité embryonnaire, il est vivement conseillé de renoncer à toute intervention ou manipulation pendant cette période et à tout changement brusque dans la conduite (alimentation en particulier).

A partir du 17<sup>e</sup> jour, l'œuf commence à se fixer, c'est la deuxième étape.

**La gestation proprement dite.** Elle commence à la fin de la nidation. Pendant cette gestation, les enveloppes fœtales se mettent en place. Parmi ces enveloppes on trouve l'amnios qui contient un liquide nourricier. L'allantoïde (encore appelée 1<sup>ère</sup> poche des eaux) dans laquelle s'accumulent les déchets, et le Chorion qui Enveloppe le tout. Sa membrane externe porte des villosités appelées cotylédons d'où l'appellation placentations cotylédonaire.

Le placenta (ensemble des tissus maternels et fœtaux) assure la fixation du fœtus et le passage des éléments nutritifs. Il a d'autre part un rôle protecteur et hormonal.

Il ne laisse pas passer les anticorps fabriqués par la mère, d'où la nécessité absolue de faire boire le colostrum au jeune le plus rapidement possible après la naissance (Christian Dudouet, 2003).

---

## **Chapitre II : Facteurs de réussite de l'insémination artificielle**

En insémination artificielle les deux individus du couple, mâle et femelle, interviennent dans les différentes étapes de la reproduction; par conséquent la réussite de l'insémination va dépendre de deux caractères distincts :

- ✓ La fertilité de la femelle et,
- ✓ La fécondance du mâle.

Les facteurs de variation de la réussite de l'insémination peuvent être spécifiques du male (âge, qualité de la semence...), de la femelle (âge, carrière...) ou communs aux deux sexes (année, saison). De plus, si on a recours à l'insémination artificielle, il s'ajoute les facteurs liés à ce type d'insémination (inséminateur, mode fabrication des paillettes...).

Nous allons décrire ces différents facteurs en s'attachant tout d'abord à ceux relatifs au bélier puis à la brebis et enfin ceux qui ne sont spécifiques à aucun des deux sexes.

## **II.1. Facteurs de la réussite de l'insémination liés au bélier**

Dans les différents centres d'insémination artificielle ovine, un bélier insémine plusieurs brebis. La fécondance des béliers constitue alors un point critique dans la réussite d'un schéma de sélection (Colenbrander et al., 2003). On peut rechercher une évaluation de la fécondance des béliers au niveau de la semence.

De nombreuses études ont recherché les caractéristiques du sperme qui pouvaient être liées à son pouvoir fécondant (qualité ou quantité de la semence par exemple). Trouver ces critères de qualité, et/ou quantité, permettrait de prédire a priori le pouvoir fécondant d'un bélier et de le sélectionner pour fabriquer les doses de semence. Connaître les caractéristiques de l'individu affectant la fécondance du sperme, fournirait des informations pour gérer les différents reproducteurs d'un centre d'IA.

## **II.2. Facteurs de la réussite de l'insémination liés à la brebis**

La majeure partie des études de la réussite de l'IA porte uniquement sur l'étude de la fertilité des femelles vraisemblablement parce que les événements reproducteurs de la femelle influence plus la réussite de l'insémination que ceux du mâle (Foote, 2003).

## **II.3. Facteurs de la réussite de l'insémination non spécifiques du sexe**

### **II.3.1. Facteurs liés à l'insémination**

Certains facteurs liés à l'insémination peuvent influencer son taux de réussite, entres autres, la préparation et le déroulement de l'insémination sont des points critiques de la réussite de l'IA. Les spermatozoïdes vigoureux doivent être correctement inséminés au moment propice. Il est possible de distinguer deux types de facteurs de variation : le mode de préparation des doses de semence (dilueur, taux de dilution) et le déroulement de l'insémination en tant que tel (inséminateur, lieu de dépose de la semence...).

### **II.3. 2. Le moment de l'IA**

Chez les ovins, l'année et la saison sont des facteurs de variation de la fertilité des brebis et de la fécondance des béliers (d'autant plus chez les races saisonnées). Lorsque l'insémination se déroule en semence fraîche, l'année et la saison sont systématiquement identiques pour le mâle et la femelle d'un couple.

Le moment de l'IA proprement dit doit être fixé après une détection précise de l'apparition des chaleurs.

### **II.3. 3. Le système d'élevage**

L'effet élevage constitue l'un des facteurs de variation importants de la réussite de l'IA pour différentes espèces. Ce facteur traduit les différences de conduite d'élevage qui existent entre troupeaux.

Cette hypothèse va dans le sens des résultats de Garcia-Isperto (2007) pour lequel l'effet élevage n'était pas significatif dans une étude où tous les élevages étaient homogènes du point de vue de la gestion et la conduite de leurs animaux.

### **Chapitre III : Suppléments alimentaires**

### III.1. Généralités sur les suppléments alimentaires

De nombreux nutriments (vitamines, minéraux, métaux et AGPI) sont donc impliqués dans la fonction de reproduction masculine. Ces nutriments agissent seuls, mais le plus souvent de manière synergique. De nombreux essais d'intervention de type supplémentation, avec une ou plusieurs substances associées, ont été effectués, chez l'animal mais également chez l'homme, souvent de manière empirique, avec des cibles variées. Un effet positif sur la qualité du sperme a pu être observé dans certains cas.

Ainsi, l'association « folates et zinc » (5 mg d'acide folique et 66 mg de zinc par jour durant 26 semaines) augmente de façon significative la concentration en spermatozoïdes, mais uniquement chez les sujets subfertiles, suggérant un rôle synergique du zinc et de l'acide folique dans la spermatogenèse (Ebish IM et al., 2006). Par ailleurs, chez l'espèce humaine, les hommes dont l'alimentation contient une grande quantité d'antioxydants (en particulier vitamines **C**, **E** et sélénium) ont une meilleure qualité de sperme (en termes de concentration et mobilité des spermatozoïdes) (Silver EW et al., 2005). Chez l'homme infertile, en cas d'oligospermie, la supplémentation en antioxydants induit une augmentation du nombre total de spermatozoïdes et du nombre de spermatozoïdes normaux après embolisation d'une varicocèle (Paradiso Galatioto G., et al., 2008). La supplémentation en antioxydants et minéraux chez des hommes infertiles durant 3 mois permet une amélioration de l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes et une diminution de la quantité d'ERO dans le plasma séminal.

Enfin, quand l'OAT s'associe à une leucocytose, une supplémentation en  $\beta$ -glucan, papaye, lactoferrine, vitamines **C** et **E** améliore la qualité du sperme et diminue le nombre de leucocytes en traitant l'inflammation par une action synergique de modulateurs d'immunité et d'antioxydants (Piomboni P, et al., 2008).

L'association AGPI et antioxydants n'a été évaluée que chez l'animal. Par exemple, chez le verrot, une supplémentation pendant 24 semaines associant AGPI (dans le but d'améliorer l'apport en  $\Omega_3$ ) et antioxydants (vitamines **E**, **C** et sélénium afin de limiter la peroxydation lipidique) améliore la qualité du sperme : augmentation du nombre de spermatozoïdes,



meilleure résistance de la membrane des spermatozoïdes aux chocs osmotiques, diminution de la peroxydation des lipides par augmentation de l'activité SOD et augmentation de la concentration séminale en antioxydants.

## III.2. Les vitamines

Les vitamines sont des nutriments organiques nécessaires, en quantité minimes, au maintien de la croissance et du métabolisme normal. Contrairement aux glucides, aux graisses ou aux protéines, les vitamines ne fournissent pas d'énergie et ne constituent pas des éléments structuraux. Le rôle essentiel des vitamines est la régulation des processus physiologiques. La plupart des vitamines dont les fonctions sont connues jouent le rôle de coenzyme.

La plupart des vitamines ne peuvent pas être synthétisées par l'organisme. Elles sont ingérées avec les aliments ou en compléments alimentaires. D'autres comme la vitamine **K**, sont produites par des bactéries présentes dans le tube digestif.

En présence d'une matière première, « *les provitamines* », l'organisme peut rassembler certaines vitamines. La vitamine **A** est produite par l'organisme à partir d'une provitamine, le carotène, une substance chimique présente dans l'alimentation. Aucun aliment ne contient toutes les vitamines dont l'organisme a besoin ; c'est pourquoi il est important d'avoir un régime alimentaire équilibré.

L'**avitaminose** est une carence en vitamines dans le régime alimentaire. L'**hypervitaminose** est un surplus d'une ou de plusieurs vitamines.

Sur le plan de la solubilité, les vitamines sont divisées en deux groupes principaux :

- les vitamines liposolubles et ;
- les vitamines hydrosolubles.

### III.2.1. Suppléments de vitamines liposolubles

Les vitamines liposolubles (**A**, **D**, **E**, et **K**) ont, en revanche, des modes d'action très diversifiés. Pour chacune, il existe de nombreux composés de différentes structures biologiquement actives, les formes naturelles étant, cependant, les plus actives.

Les vitamines liposolubles sont absorbées par l'intestin grêle, sous forme de micelles, avec des graisses contenues dans le régime alimentaire. En fait, elles ne peuvent pas être absorbées si elles ne sont pas ingérées avec une certaine quantité de matières grasses. Les vitamines liposolubles sont généralement entreposées dans les cellules, notamment les cellules du foie, et constituent des réserves.

A l'échelle de l'organisme, les vitamines **D** et **E** sont stockées dans le tissu adipeux et la vitamine **A** dans le foie en quantité relativement importante. En raison de cette capacité d'accumulation, les vitamines liposolubles présentent une toxicité potentielle préjudiciable à la santé de l'animal et de l'homme si elles sont administrées à des doses très élevées.

### III.2.1. 1. La vitamine A

Il existe une forte implication de la vitamine **A** (rétinol) et de son principal dérivé biologiquement actif l'acide rétinoïque dans la régulation de la fonction testiculaire chez le rongeur et dans la fertilité masculine. Plusieurs études ont ainsi noté une concentration plus faible en vitamine **A** dans le plasma séminal d'hommes infertiles avec oligozoospermie sévère. La vitamine **A** intervient dans la différenciation du tractus génital mâle, de la prostate et des vésicules séminales. Elle induit la production de testostérone, joue un rôle indispensable dans le maintien des jonctions serrées dans les cellules de Sertoli et régule les principales étapes de la spermatogenèse (Ghyselinck NB, et al., 2006). D'autre part, une carence en vitamine **A** entraîne une diminution de l'activité des activateurs de l'acrosine et du plasminogène, enzymes protéolytiques essentielles à l'induction de la réaction acrosomique. Cette diminution est réversible après supplémentation en vitamine **A**. Dans un modèle souris *knock-out*, une carence en vitamine **A** induite se manifeste par un tableau progressif de blocage de la spermatogenèse avec arrêt de la différenciation des spermatogonies. Ces effets sont réversibles puisqu'une administration systémique d'acide rétinoïque peut restaurer la spermatogenèse. À l'inverse, un excès de vitamine **A** induit des atteintes testiculaires et

perturbe la spermatogenèse. À très fortes doses, on observe un arrêt complet de la spermatogenèse.

### III.2.1.2. Les vitamines du groupe B

#### *a. Vitamine B9*

Une carence en l'une des vitamines du groupe **B** conduit à une hyperhomocystéinémie, aboutissant à de sévères dysfonctions cellulaires touchant l'expression des gènes, les fonctions protidiques et lipidiques, la croissance cellulaire et la fragmentation de l'ADN, menant à l'apoptose (Tamura T, et Picciano MF, 2006). Il existe une corrélation entre la concentration séminale en folates, la concentration sanguine et la numération des spermatozoïdes. Un apport en folates a un rôle essentiel dans la spermatogenèse. Une faible concentration séminale en folates est ainsi associée à des altérations de l'ADN des spermatozoïdes chez des hommes infertiles (Boxmeer JC, et al., 2008). De même, une relation inverse entre l'apport alimentaire en folates et aneuploïdie spermatique a récemment été mise en évidence (Yong SS, et al., 2008). Des études de supplémentation montrent un effet bénéfique de l'acide folique sur la qualité du sperme chez l'espèce humaine (hommes infertiles) Ebish IM et al., 2006.

#### *b. Vitamine B12*

La vitamine **B12** intervient dans la reméthylation folate-dépendante de l'homocystéine en tant que cofacteur de la méthionine synthase, mais elle influence également la maturation des spermatozoïdes. La carence en vitamine **B12** provoque une hyperhomocystéinémie altérant la fonction de reproduction. La concentration séminale en cobalamine est directement corrélée à sa concentration sérique. Chez l'animal, la carence en vitamine **B12** *in utero* est associée à une diminution du nombre de spermatogonies (Watanabe T, et al., 2007). Plus d'un tiers des hommes de couples infertiles présentent une carence en cobalamine (Pront R, et al., 2009) et plusieurs études retrouvent une corrélation positive entre le taux de cobalamine dans le

plasma séminal et la concentration en spermatozoïdes (Boxmeer JC, et al., 2008). Il semble exister un effet positif d'une supplémentation en cobalamine chez des hommes subfertiles.

### *c. La vitamine B6*

La pyridoxine passe difficilement la barrière hémato-testiculaire ou est rapidement dégradée dans le plasma séminal. Peu d'études ont analysé le rôle de la vitamine **B6**, en particulier sa carence, sur la fertilité. Il semble exister un effet négatif d'un excès de pyridoxine sur la fertilité masculine. En effet, chez l'animal, de fortes doses de pyridoxine altèrent la mobilité et la vélocité des spermatozoïdes, diminuent leur nombre, entraînent une réduction du poids des testicules et de l'épididyme, ainsi qu'une dégénérescence de l'épithélium germinal.

#### **III.2.1.3. La vitamine E**

Un antioxydant majeur, elle inactive les ERO, mais interagit aussi directement avec les composants des membranes. Elle est traditionnellement appelée vitamine « anti-stérilité » chez l'espèce humaine. Une faible concentration en vitamine **E** dans le sperme se traduit par l'altération de l'ADN des spermatozoïdes. Chez l'animal, la carence en vitamine **E** entraîne une dégénérescence testiculaire avec déplétion en cellules germinales. À l'inverse, l'excès de vitamine **E** dans l'alimentation conduit à l'augmentation de la concentration d' -tocophérol dans le sperme qui, à son tour, a une influence négative sur les paramètres spermatiques : diminution du nombre total de spermatozoïdes et augmentation du nombre de spermatozoïdes atypiques. L'injection sous-cutanée de fortes doses de vitamine **E** induit une diminution du poids des testicules et perturbe la spermatogenèse chez le rongeur. De nombreuses études chez l'animal et chez l'homme infertile rapportent un effet bénéfique de la supplémentation en vitamine **E** sur la qualité du sperme : diminution des marqueurs de la peroxydation des lipides et amélioration de tous les paramètres spermatiques.

La vitamine **E** dans le régime alimentaire peut améliorer la densité des cellules de la spermatogenèse, cellules de Sertoli, diamètre de tube et l'épaisseur de l'épithélium germinal séminifère (surtout à 200 UI). Hailing Luo, et al., (2011).

La viabilité et la motilité des spermatozoïdes varient en fonction de l'individu et du milieu de congélation utilisé. Les antioxydants jouent un rôle très important dans la protection de la structure et la fonction de la membrane plasmique. Les meilleurs effets en ce qui concerne la viabilité, de la motilité et de l'ultrastructure membranaire ont été donnés par l'utilisation de la vitamine **E** en concentration de 1,0 mM. Des recherches futures vont tenter de tester in vivo le sperme de mâles congelé dans différents milieux avec différents ajouts d'antioxydants utilisés pour augmenter sa fécondité (Stela Zamfirescu, Andreea Anghel, 2013).

### III.2.2. Suppléments de vitamines hydrosolubles

Les vitamines hydrosolubles possèdent des fonctions biochimiques voisines et interviennent toutes, sans exception, dans le métabolisme cellulaire en représentant les groupes prosthétiques de coenzymes.

Leur action dépend étroitement de leur structure; la moindre modification pouvant conduire à une totale inactivation. De par leur hydrosolubilité, elles ne peuvent s'accumuler dans l'organisme et il convient d'assurer un apport quotidien convenable.

Les vitamines hydrosolubles sont absorbées avec l'eau dans le tube digestif et se dissolvent dans les liquides corporels. Le surplus est excrété dans l'urine. L'organisme n'entrepose donc pas facilement les vitamines hydrosolubles. Les vitamines du groupe **B** et la vitamine **C** constituent des exemples de vitamines hydrosolubles.

#### III.2.2.1. La vitamine C

L'acide ascorbique (vitamine **C**) est présent à une concentration élevée dans le plasma séminal fluide et l'épididyme par rapport au plasma sanguin (DAWSON E.B. et al., 1987). Il existe une relation entre la concentration d'acide ascorbique et de l'intégrité génétique des cellules de sperme. L'acide ascorbique joue un rôle important dans la protection de l'ADN de sperme de l'endommagement oxydatif induit par les DRO (SONG G.J. et al., 2006).

En revanche, les testicules et le plasma séminal sont extrêmement sensibles à une diminution des niveaux de plasma sanguin d'acide ascorbique (CHINOY N. J. et al., 1986). De même, certaines études antérieures ont montré que la déficience en acide ascorbique a provoqué la dégénérescence de l'épithélium germinatif testiculaire (GOMES S. et al., 1977), la

concentration du sperme et la motilité sont réduites (CIERESZKO A. et al., 1995). En outre, la fertilité masculine serait améliorée par une prise d'acide ascorbique alimentaire accru (DAWSON E.B. et al., 1987). Il est rapporté que la supplémentation en acide ascorbique peut améliorer la numération des spermatozoïdes et motilité (AKMAL M. et al., 2006).

D'après l'étude SONMEZ M. et al., (2005), la supplémentation en acide ascorbique a mené à des niveaux d'acide ascorbique augmentés dans le tissu des testicules et il a provoqué une amélioration de la capacité de reproduction des rats mâles. De même, YOUSEF et al., (2003) ont rapporté que la supplémentation en acide ascorbique à l'eau potable pendant 12 semaines augmentation de la concentration de spermatozoïdes de lapins mâles. Au contraire, notre étude précédente (SONMEZ M. et al., 2005) a indiqué que bien que l'administration à court terme de l'acide ascorbique a augmenté le niveau d'acide ascorbique de sperme dans les 24 heures après le traitement, il n'affecte pas les caractéristiques du sperme. Cependant, l'administration d'acide ascorbique le long de 30 jours a provoqué une amélioration de la qualité du sperme de béliers.

Chez l'espèce humaine les ANC sont de 80 mg par jour. La vitamine C, facilement oxydable, est un antioxydant majeur pour les spermatozoïdes. Elle est retrouvée à un niveau élevé dans le fluide épидидymaire et le plasma séminal, en concentration 8 à 10 fois plus élevée que dans le plasma sanguin. Cette concentration séminale élevée protège les spermatozoïdes des ERO en évitant les lésions de leur ADN. La vitamine C a été largement utilisée afin d'optimiser la fertilité des animaux d'élevage. Chez l'animal, de faibles niveaux d'acide ascorbique sont associés à des performances reproductives réduites et à une dégénérescence de l'épithélium testiculaire germinal. A l'inverse, une supplémentation en vitamine C a un effet positif sur la croissance des gonades et la fonction des spermatozoïdes. Un faible niveau de vitamine C séminal est associé à une diminution de son action antioxydante augmentant la peroxydation lipidique dans les spermatozoïdes. De nombreuses études de supplémentation montrent un effet positif de l'acide ascorbique sur la qualité du sperme : augmentation du nombre de spermatozoïdes, amélioration de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes (Christophe Poncelet, Christophe SIFER, 2011).

L'injection de VitC40 (40 mg de vitamine C/Kg) pendant 90 jours a augmenté la motilité des spermatozoïdes et l'effet était encore évident jusqu'à 30 jours après l'arrêt des injections. Le pourcentage de spermatozoïdes vivants et la motilité de masse a montré des tendances similaires. Les deux doses étaient également efficaces dans la réduction du pourcentage de

spermatozoïdes anormaux. Le nombre total de spermatozoïdes vivants et normals dans l'éjaculat augmenté par des injections de vitamines **C** et l'effet était encore évident après que les injections avaient été abandonnées (Fazeli, P et al., 2010).

Les données actuelles indiquent l'importance de la vitamine **C** dans la reproduction des boucs, comme également représenté pour plusieurs espèces de mammifères. Ils montrent en outre que dans certaines conditions, la synthèse *in vivo* de cette vitamine dans les ruminants peut ne pas être suffisante pour une reproduction optimale (Fazeli, P et al., 2010).

### III.2.2.2. La vitamine **D**

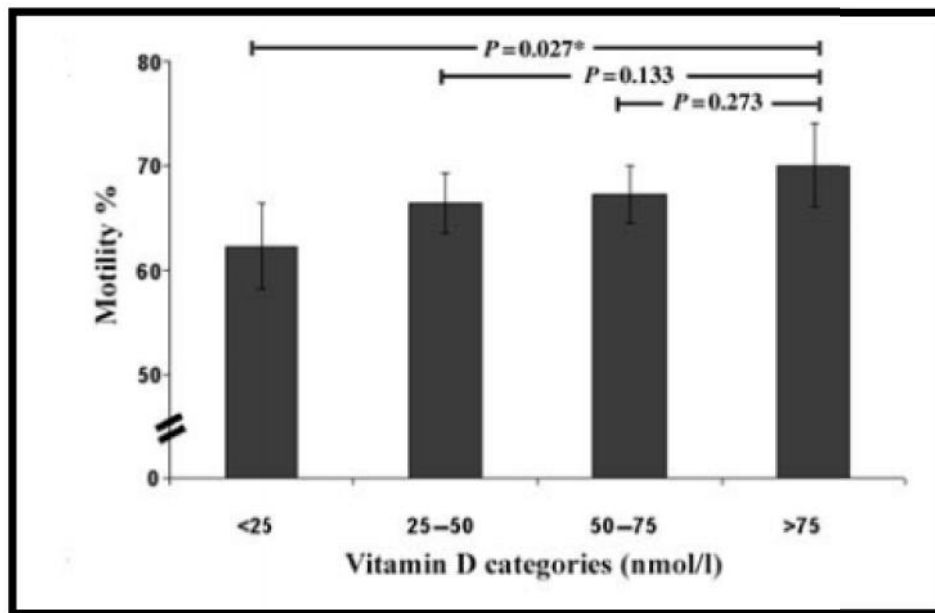
Les variations du statut en vitamine **D** sont associées aux variations saisonnières (luminosité) qui ont un impact reconnu sur la reproduction dans différentes espèces. Plusieurs études ont montré le rôle de la vitamine **D** dans la fertilité chez l'homme et chez l'animal. Chez le rat, la carence expérimentale en vitamine **D** est associée à une diminution massive de la fertilité avec une spermatogenèse incomplète et des anomalies du développement. Chez la souris, la mutation du récepteur de la vitamine **D** entraîne une insuffisance gonadique et une diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes. La vitamine **D** a un rôle indirect sur la fertilité masculine, en régulant le taux de calcium dans les tissus reproducteurs, en particulier le testicule.

Des récepteurs à la vitamine **D** ont été identifiés sur les cellules de Sertoli (contrôle de l'homéostasie du cholestérol cellulaire) et sur les spermatozoïdes, principalement au niveau de la pièce intermédiaire (contrôle des mouvements de calcium). La vitamine **D** et ses récepteurs semblent jouer un rôle important dans la survie du spermatozoïde et l'acquisition de son pouvoir fécondant (Aquila S et al., 2008).

D'après MARTIN B. J. et al., (2011), la vitamine **D** peut avoir un rôle dans la fonction du sperme humain. Les associations à la motilité des spermatozoïdes étaient modestes, mais significatif (Fig. 3) et ont été mieux décrites en utilisant un terme au carré, ce qui indique que l'effet potentiel de la vitamine **D** est probablement plus prononcé chez les hommes avec vitamine **D** d'efficacité comme suggéré dans les modèles animaux (Kwiecinski et al, 1989).

La vitamine **D** a augmenté la concentration de calcium intracellulaire, la motilité des spermatozoïdes et induit la réaction acrosomique des spermatozoïdes matures, et les niveaux de sérum en vitamine **D** ont été positivement associée à la motilité des spermatozoïdes, ce qui

suggère un rôle pour la vitamine **D** dans les fonctions du sperme chez les humains (MARTIN B. J. et al., 2011).



**Figure 3** Niveaux du taux de 25-OH D<sub>2+3</sub> et la motilité des spermatozoïdes chez les humains.

A cause de leurs propriétés antioxydantes reconnues, certaines vitamines comme la vitamine **C** et la vitamine **E** pourraient protéger les spermatozoïdes à l'état frais. On peut donc croire qu'elles puissent modifier le temps de conservation du sperme ou encore sa résistance à la congélation-décongélation, des aspects très importants pour l'insémination ovine. Encore faut-il que ces vitamines passent dans la semence pour exercer une action de conservation.

### III.3. Suppléments avec des CMV (compliment minéral et vitaminé)

L'aliment minéral contenu dans les CMV (CMV pour Complément Minéral Vitaminé) est destiné à compléter les rations, pour satisfaire les besoins en micronutriment et vitamines. Les minéraux sont des substances inorganiques, ils peuvent se présenter en combinaison les uns avec les autres, ou avec des composés organiques. Les minéraux constituent environ 4% de la masse corporelle totale de l'être vivant. Ils sont particulièrement concentrés dans le squelette. Parmi les minéraux qui jouent un rôle essentiel à la vie et la reproduction, on trouve



le calcium, le phosphore, le sodium, le manganèse, le cobalt, le cuivre, le zinc, le sélénium et le chrome. D'autres minéraux, l'aluminium, le silicium, l'arsenic, et le nickel, sont présents dans l'organisme, mais on ne connaît pas encore leurs fonctions.

On peut citer les exemples de minéraux les mieux connus :

### III.3.1. Le zinc

Il est généralement admis que le zinc est un oligo-élément essentiel à la reproduction des animaux et de nombreuses études ont été réalisées pour analyser les conséquences d'un déficit en zinc sur la reproduction (Martin et White, 1993).

Chez le bélier, le taux de zinc dans le sperme se situe autour de  $7,8 \mu\text{g} / \text{mL}$ , soit environ 7 fois les concentrations plasmatiques (Hambidge, 1986).

Martin et White (1993) ont étudié les conséquences d'un déficit en zinc chez des béliers et ont constaté :

- ✓ Une diminution du poids des testicules qui pourrait être associé directement au déficit en zinc et à une inhibition de la synthèse de gonadotrophines.
- ✓ Une diminution de la concentration en zinc dans le testicule.
- ✓ Une diminution de la concentration en testostérone dans le testicule qui serait associée à un dysfonctionnement des cellules de Leydig au niveau histologique : des anomalies de développement des tubes séminifères avec une diminution de leur nombre, une lumière plus petite et un plus grand développement du tissu interstitiel. Ces anomalies pourraient être expliqués par une diminution de la concentration plasmatique en FSH (Martin et White, 1993) et de la concentration testiculaire de testostérone.

Ces modifications physiopathologiques entraînent une diminution de la motilité des spermatozoïdes et une augmentation du nombre d'anomalies spermatiques. En effet, la tête des spermatozoïdes contient une forte teneur de zinc qui participe au maintien de l'intégrité de l'ADN du noyau et prévient la dégradation de cet ADN par des enzymes présentes dans le spermatozoïde. Une teneur insuffisante de zinc dans le noyau pourrait déstabiliser la structure quaternaire de la chromatine, réduire la quantité d'ADN du spermatozoïde et ainsi réduire son pouvoir fécondant.

C'est ainsi qu'une diminution de la fertilité a été observée chez les béliers nourris avec une ration carencée en zinc (Martin et White, 1993).

### **III.3.2. Le magnésium**

Les principales sources de magnésium sont l'eau, les céréales, la farine et les coquillages. Bien que le magnésium soit impliqué dans un grand nombre d'activités enzymatiques essentielles, son rôle dans la spermatogenèse n'est pas encore totalement élucidé. Le magnésium est présent à une concentration élevée dans la prostate et sa concentration séminale est 4 à 5 fois plus élevée que dans le sang. L'impact de la concentration séminale en magnésium sur la fertilité masculine demeure controversé. Chez le rat, une carence en magnésium conduit à des altérations morphologiques des spermatides ainsi qu'à une augmentation de la peroxydation des lipides membranaires.

Enfin, il existerait une relation significative entre une faible concentration en magnésium dans le plasma séminal et une éjaculation précoce chez les humains (Christophe Poncelet, Christophe SIFER, 2011).

### **III.3.3. Le calcium**

La concentration en calcium est plus élevée dans le plasma séminal que dans le sang. Afin de réguler le calcium intracellulaire, la membrane plasmique des spermatozoïdes contient de nombreux canaux calciques membranaires ainsi que des pompes antiport  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ . Le calcium et les ions  $\text{Ca}^{2+}$  ont un rôle majeur dans la reproduction : ils conditionnent la mobilité des spermatozoïdes, interviennent dans la capacitation et la réaction acrosomique. La littérature fait état d'une association entre une faible concentration de calcium (et plus précisément ions  $\text{Ca}^{2+}$ ) et l'infertilité.

Par ailleurs, l'exposition in vitro du sperme à de faibles concentrations en calcium augmente sa capacité fécondante. Enfin, le calcium protège contre les effets néfastes du cadmium (Christophe Poncelet, Christophe SIFER, 2012).

---

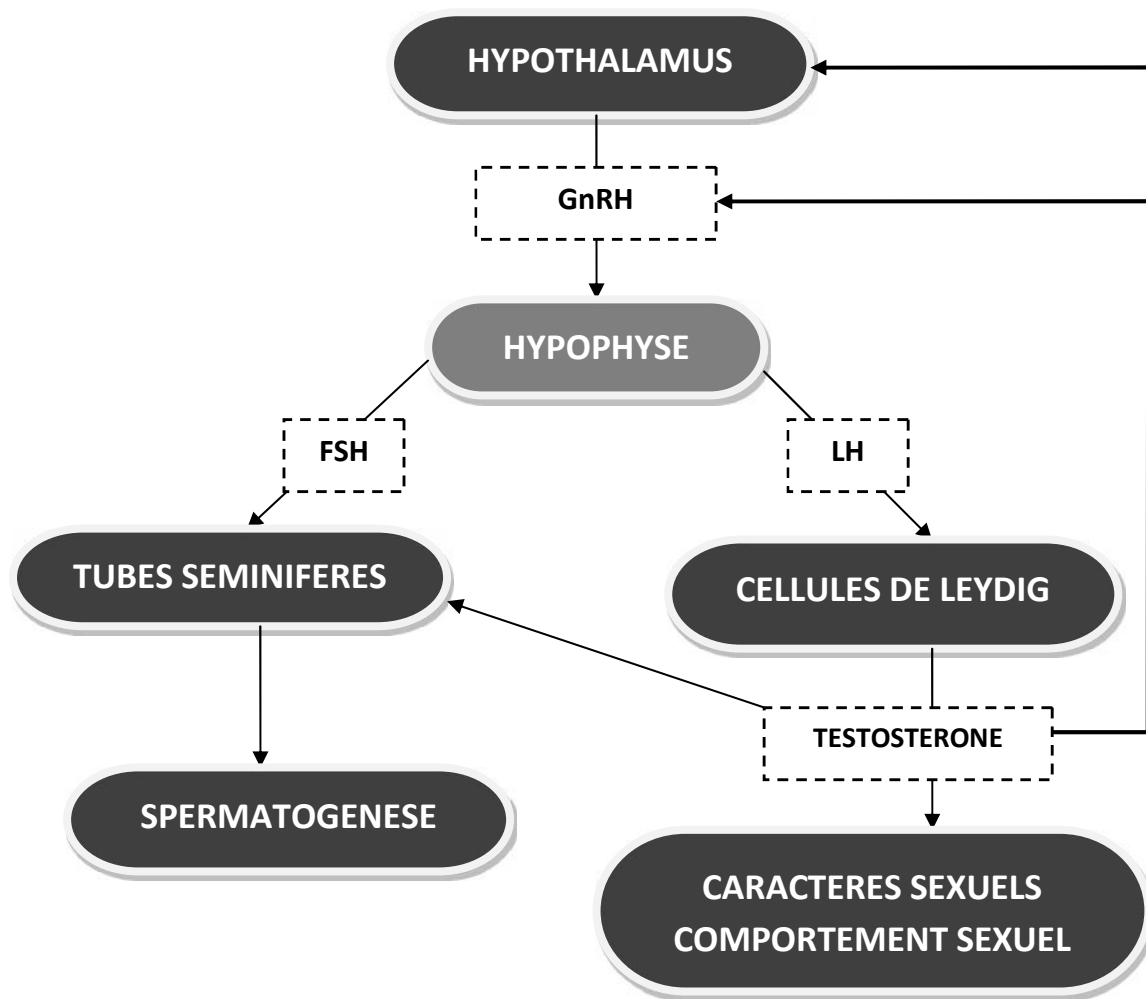
## **Chapitre IV : Caractéristiques spermatiques du bélier**

L'impact de la nutrition sur la reproduction est reconnu depuis très longtemps. On rapporte que les sociétés anciennes étaient très au courant des effets de la nutrition et de la lactation sur la reproduction.

### **IV.1. Le sperme**

Le sperme est le liquide émis par le mâle lors de l'éjaculation. Il est constitué de spermatozoïdes en suspension dans un liquide, le plasma séminal. A la sortie du testicule, les spermatozoïdes cheminent dans l'épididyme pendant 9 à 10 jours. Les spermatozoïdes non éjaculés sont résorbés. Le plasma séminal est essentiellement un mélange des sécrétions des glandes annexes provenant des glandes séminales, de la prostate et des glandes de Cowper.

Le contrôle de la production de spermatozoïdes est assuré par plusieurs hormones qui interagissent entre elles (Fig. 4). Les cellules de Leydig des testicules produisent la testostérone qui stimule la production de spermatozoïdes par les tubules séminifères. La production de testostérone est contrôlée par la FSH et la LH sécrétées par l'hypophyse qui sont elles-mêmes contrôlées par la GnRH de l'hypothalamus.



**Figure 4** Régulation hormonale de la production des spermatozoïdes (Brice *et al.* 1995).

## IV.2. L'aspect et la composition du sperme

Le sperme est un liquide clair, plus au moins visqueux, de couleur blanchâtre ou jaunâtre. Sa composition chimique est variable selon les espèces. Il contient, en plus des sécrétions des glandes annexes de nombreux éléments minéraux ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,...), et de l'acide lactique, produit de métabolisme des spermatozoïdes.

Le pH du sperme est proche de la neutralité. (Reproduction des animaux d'élevage, édition 2013)

### **IV.3. Les caractéristiques quantitatives**

#### **IV.3. 1. Volume de l'éjaculat**

La mesure du volume de l'éjaculat s'effectue par lecture directe à l'aide des graduations du tube de collecte. La lecture se fait sans tenir compte de la partie mousseuse de l'éjaculat. Le volume moyen de l'éjaculat est d'environ 1 à 1,5 mL dans l'espèce ovine (Tableau 4) mais varie d'un éjaculat à l'autre, et d'une saison à l'autre (Boucif et al., 2007). Le tube de collecte est alors transmis au laboratoire via un vasistas afin de maintenir des conditions sanitaires strictes.

#### **IV.3. 2. Concentration de l'éjaculat**

La concentration spermatique varie généralement de 2 à  $10 \times 10^9$  spermatozoïdes par millilitre de semence éjaculée. Plusieurs possibilités existent pour mesurer cette concentration:

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

Bien que l'appréciation visuelle directe soit utilisée par la plupart des centres d'IA, elle n'est pas toutefois recommandée en raison de sa grande imprécision due à l'appréciation subjective du praticien.

Le comptage exact du nombre de spermatozoïdes dans un hématimètre est la technique la plus recommandée. Le principe est simple : compter le nombre exact de spermatozoïdes présents dans un volume déterminé d'une solution de dilution connue.

Les dernières technologies utilisées dans le monde consiste en une mesure de la densité optique dans un spectrophotomètre (spécialement conçu pour déterminer la concentration de la semence des ovins et caprins) est effectuée à une précision qu'on peut vérifier facilement après des mesures sur hématimètres. Cette technique est la plus précise pour la détermination de la concentration spermatique. Le principe repose sur la mesure d'absorbance (ou densité optique) du sperme.

Il est également possible de mesurer la concentration du sperme par néphélométrie (Colas et al., 1985). Le principe repose sur la mesure photométrique de la concentration de protéines sériques par immunoprécipitation.

La concentration peut être aussi obtenue par hémocytométrie (Gundogan et Demirci, 2003 ; Salhab et al., 2003). Cette méthode est un comptage des spermatozoïdes d'une solution diluée et colorée de sperme. Enfin, la concentration en spermatozoïdes peut être évaluée à l'aide d'un spermiodensitomètre (Salhab et al., 2003) qui correspond à une mesure visuelle de l'opacité du sperme.

**Tableau 4** Volume et concentration en spermatozoïdes du sperme de différentes espèces

	Taureau	Bélier	Bouc	Verrat	Etalon
<b>Volume de l'éjaculat (mL)</b>	5 (1 – 12)	<b>0,9</b> <b>(0,1 – 1,5)</b>	1,2 (0,5 – 2,5)	300 (150 – 700)	100 (20 – 300)
<b>Concentration par éjaculat (<math>10^9/cm^3</math>)</b>	1,2 (0,5 – 2,5)	<b>4</b> <b>(1,5 – 6)</b>	3 (1 – 5)	0,3	0,15 (0,03 – 0,8)
<b>Nombre de spermatozoïdes par éjaculat (<math>10^9</math>)</b>	6	<b>3,6</b>	3,6	90	15

## IV.4. Les caractéristiques qualitatives

### IV.4. 1. Motilité massale

La motilité est une évaluation des mouvements des spermatozoïdes. Pour certains auteurs (Gadea, 2005), ces mouvements traduisent le fait que la membrane des spermatozoïdes est intacte et fonctionnelle ; ce qui sous entend que le sperme est fécondant. C'est pourquoi ce critère est utilisé pour la sélection de la semence avant la préparation des paillettes.

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 brièvement car la motilité massale du sperme pur, à cette température, diminue rapidement au bout de 15 à 20 secondes seulement.

La mesure est faite en utilisant une échelle qui va de 0 (aucun mouvement) à 5 (mouvements forts), ainsi que cela est défini au Tableau 5. Cette technique est suffisamment efficace pour déterminer d'une manière générale la note de la motilité massale; elle est toutefois trop imprécise pour différencier les éjaculats avec différents pourcentages de spermatozoïdes mobiles ou différentes motilités individuelles.

**Tableau 5** Détermination de la note de motilité massale de la semence (Smyth et Gordon 1967).

Note	Aspects du mouvement
0	Immobilité totale
1	Mouvements individualisés
2	Mouvements très lents
3	Motilité massale générale de faible amplitude
4	Motilité massale rapide, sans tourbillons rapides (avec tourbillons lents)
5	Motilité massale rapide avec tourbillons rapides



En dessous de la note 4, l'échantillon de sperme est jugé de qualité insuffisante et n'est pas conservé pour l'IA. La motilité est directement liée au pourcentage de spermatozoïdes vivants : des notes de 4 et 5 en garantissent une proportion très importante.

#### **IV.4. 2. Pourcentage de spermatozoïdes mobiles**

Cette mesure est réalisée en déposant une goutte de semence diluée entre la lame et la lamelle et en l'examinant au microscope. Le grossissement est d'environ 200 et la platine chauffante est à 37-38°C. L'observateur décide, après l'examen successif de cinq champs d'une même préparation, d'une estimation visuelle du pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Pour un observateur entraîné, la mesure est assez anodine. Pour l'apprentissage et l'entraînement régulier, il est nécessaire de comparer cette estimation visuelle du pourcentage de spermatozoïdes mobiles avec le pourcentage exact de spermatozoïdes vivants donné par le test de coloration différentielle éosine/nigrosine (ou l'éosine seul). Pour un opérateur entraîné, la corrélation entre ces deux déterminations est généralement élevée (>0,90).

#### **IV.4. 3. Mesure du pourcentage des spermatozoïdes vivants et des anomalies spermatiques**

On utilise dans ce test un colorant Eosine/Nigrosine, qui est efficace pour déterminer le pourcentage exact de spermatozoïdes morts et celui de spermatozoïdes anormaux. Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux peut changer avec la saison ou la photopériode chez le bélier, et avec la température ambiante élevée.

Chez le bélier, la fréquence maximale d'anomalies spermatiques peut coïncider avec le printemps pour les races saisonnées. Pour une bonne connaissance de la qualité de la semence, il est utile de déterminer le pourcentage de spermatozoïdes anormaux dans des échantillons de semence à deux semaines d'intervalle. La semence des géniteurs potentiels ne doit pas contenir plus de 20 à 30% de spermatozoïdes morts (Fig. 5) et pas plus de 15 à 20% de spermatozoïdes anormaux, dans une première récolte d'une série. Ces valeurs diminuent généralement avec le nombre de collectes.



**Figure 5** Spermatozoïde de bélier (les spermatozoïdes vivants ne sont pas colorés alors que les spermatozoïdes morts le sont). (Cliché CNRZ, *Le mouton*, 1976).

Il est nécessaire de distinguer:

Les spermatozoïdes colorés: tout spermatozoïde coloré, totalement ou partiellement, en rose ou en rouge, est considéré comme mort au moment de la coloration. Ce nombre sera utilisé pour le calcul du pourcentage de spermatozoïdes morts/vivants.

Les spermatozoïdes anormaux peuvent être répartis en différentes classes :

- ✓ spermatozoïdes sans queue
- ✓ spermatozoïdes avec une anomalie au niveau de la tête (acrosome anormal, tête petite ou étroite, tête élargie en forme de poire, etc.)
- ✓ spermatozoïdes avec une anomalie au niveau du flagelle (la queue)
- ✓ spermatozoïdes avec une gouttelette cytoplasmique proximale
- ✓ spermatozoïdes avec une gouttelette cytoplasmique distale.

---

## **Chapitre V : Facteurs de variations et mode de fabrication des doses**

---

Pour rester compétitifs et avoir des taux de réussite de l'IA satisfaisants, les professionnels sont toujours intéressés par une augmentation du nombre de doses qu'un bélier peut produire quotidiennement sans pour autant augmenter les coûts de leur fabrication. Cette augmentation peut être obtenue en modifiant les méthodes de fabrication des paillettes (diminution du nombre de spermatozoïdes par paillette) et/ou en augmentant la quantité de semence utilisable que produit un bélier quotidiennement.

### V.1. Modification du mode de fabrication des doses d'IA

Si on voudrait augmenter le nombre de doses produites à partir d'un éjaculat de volume et concentration fixes, il est nécessaire de diminuer le nombre de spermatozoïdes par dose (diminution du volume ou de la concentration de la paillette). Théoriquement, une diminution de ce nombre est toujours possible, mais cela ne doit pas s'accompagner d'une modification du pouvoir fécondant de ces doses de semence produites. Des expériences ont été réalisées en France sur la race Lacaune montraient qu'il n'était pas possible de descendre à moins de 280 millions de spermatozoïdes par dose (Tableau 6) sans affecter la fécondance du sperme dans cet état de conservation de la semence (Briois et Guerin, 1995). Néanmoins, des résultats plus récents montrent que des IA à 250 millions de spermatozoïdes par dose donnent des résultats satisfaisants de réussite de l'IA (Briois, 2005 communication personnelle).

### V.2. Augmentation de la quantité de semence utilisable

Trois critères conditionnent la quantité de semence utilisable. Le premier est la libido du mâle. Le second est le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, étroitement lié au volume et à la concentration de l'éjaculat. Le troisième est la motilité du sperme, puisqu'en dessous d'un certain seuil de motilité massale, la semence n'est pas utilisée pour la fabrication de doses d'insémination.

**Tableau 6** Effet d'une diminution de 25% du nombre de spermatozoïdes inséminés sur la fertilité des brebis (nombre d'IA)

Année	280 x 10 <sup>6</sup> spz/dose	380 x 10 <sup>6</sup> spz/dose
1987	65,1 (459)	68,3 (414)
1988	68,4 (38)	75,0 (40)
1989	66,2 (139)	66,0 (159)
1991	64,7 (363)	65,4 (405)
<b>Total</b>	65,26 (999)	67,09 (1018)

En 1994, des femelles sont inséminées dans 28 troupeaux avec des doses de 190 x 10<sup>6</sup> spz, en comparaison avec 380 x 10<sup>6</sup> spz/dose. Le taux de dilution est de 1,6 x 10<sup>9</sup> mais les paillettes ne sont remplies qu'à la moitié. La fertilité des brebis inséminées avec 190 x 10<sup>6</sup> spz/dose est très significativement inférieure à celle des brebis inséminées avec 380 x 10<sup>6</sup> spz/dose (59,7 vs 69,1%, respectivement, Tableau 7). De même, si l'on tient compte de l'âge des brebis, les taux de fertilité sont inférieurs de 8 à 12%. Il semble donc, qu'en deçà d'un seuil de 280 à 300 10<sup>6</sup> spz/dose, les résultats de fertilité sont en nette diminution.

**Tableau 7** Fertilité des brebis en fonction de la dose de semence utilisée (nb IA)

	190 x 10 <sup>6</sup> /mL	380 x 10 <sup>6</sup> /mL
Fertilité	59,7 (625)	69,1 (641)

### V.3. La quantité de semence utilisable

Comme cela était cité auparavant, trois critères conditionnent la quantité de semence utilisable :

- ✓ La libido du bélier.
- ✓ Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat, étroitement liée au volume et à la concentration de l'éjaculat.
- ✓ La motilité du sperme.

#### V.3. 1. La libido

Pour l'organisation du chantier de prélèvement des mâles, les CIAO sont intéressés par des béliers susceptibles de produire de la semence le plus rapidement possible au moment de la collecte (temps de réaction court), c'est-à-dire ayant une forte libido.

Différentes mesures de ce caractère ont été utilisées chez les petits ruminants. Des mesures directes : observation du comportement sexuel global de l'animal (reniement de la femelle, approche latérale, monte, accouplement) (Price et al., 1992 ; Rosa et al., 2000), nombre de sauts avant éjaculation et temps de réaction (Prado et al., 2002 ; Snowden et al., 2002 ; Stellug et Berardinelli, 2002) et des mesures indirectes : concentration plasmatique en testostérone (Rosa et al., 2000).

#### V.3. 2. Le nombre de spermatozoïdes

Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat correspond au produit du volume par la concentration de l'éjaculat. Le volume peut être mesuré visuellement à l'aide d'un tube gradué avec une précision de 0.1 à 0.05 mL (Mathevon et al., 1998 ; Ollero et al., 1996) ou calculé à partir du poids de la semence ( $\text{Volume} = \text{Poids} \times 1.05$ ) (Brito et al., 2002 ; Fuerst-Waltl et al., 2006). La concentration peut être mesurée par différentes méthodes. La plus fréquente est une

mesure par spectrophotométrie (Brito et al., 2002 ; Mathevon et al., 1998 ; Ollero et al., 1996). Il s'agit de la méthode utilisée à l'heure actuelle par la majorité des CIA ovins français. Le principe repose sur la mesure d'absorbance (ou densité optique) du sperme. Il est également possible de mesurer la concentration du sperme par néphélométrie (Colas et al., 1985). Le principe repose sur la mesure photométrique de la concentration de protéines stériques par immuno-précipitation.

La concentration peut être aussi obtenue par hœmocytométrie (Gundogan et Demirci, 2003 ; Salhab et al., 2003). Cette méthode est un comptage des spermatozoïdes d'une solution diluée et colorée de sperme. Enfin, la concentration en spermatozoïdes peut être évaluée à l'aide d'un spermiodensitomètre (Salhab et al., 2003) qui correspond à une mesure visuelle de l'opacité du sperme.

### V.3. 3. La motilité

La motilité est une évaluation des mouvements des spermatozoïdes. Pour certains auteurs (Gadea, 2005), ces mouvements traduisent le fait que la membrane des spermatozoïdes est intacte et fonctionnelle ; ce qui sous entend que le sperme est fécondant. En dessous d'un certain seuil de motilité massale (3.5 ou 4 selon les CIAO) la semence n'est pas utilisée pour la fabrication de doses d'insémination.

C'est pourquoi ce critère est utilisé pour la sélection de la semence qui servira à la fabrication de paillettes. La mesure de motilité la plus largement utilisée en routine, car rapide et peu onéreuse, est l'évaluation de la motilité massale. Elle peut être réalisée par observation d'une goutte diluée ou non de sperme au microscope (grossissement x80, x100).

Le mouvement d'ensemble des spermatozoïdes est alors le plus souvent quantifié sur une échelle de 0 (immobilité totale) à 5 (courant vif avec remous). Ce critère de jugement est subjectif et peu répétable (Zhang et al., 1999), ce qui rend son étude difficile. Il est possible de réaliser une estimation objective de la motilité par ordinateur (C.A.S.A. : Computer Aided Sperm Analysis) (Davis et Katzd, 1989 ; Foote, 2003 ; Sweeney et al., 2007).

Cette analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes permet une mesure plus fine des mouvements puisqu'il est possible, avec cette méthode, d'identifier chaque spermatozoïde

---

et de suivre son déplacement. Le chemin parcouru est alors représenté sur un écran par un trait dont la couleur dépend de la vitesse. Plusieurs paramètres de cinétique des spermatozoïdes peuvent alors être calculés : la vitesse curvilinéaire, linéaire, l'amplitude latérale de déplacement de la tête du spermatozoïde, la rectitude du mouvement... (Vulcano et al., 1998). Cet appareil n'est pas utilisé en routine par les CIAO algériens.



---

**Chapitre VI : Etude de la production de semence**

La production spermatique est continue et proportionnelle au poids des testicules. Les variations de taille et de fonctions des testicules sont fonction :

### VI.1. De l'âge

Un jeune produit moins qu'un adulte. En ce qui concerne l'évaluation de la première éjaculation, les volumes et les concentrations de spermatozoïdes ne diffèrent pas entre les 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> années de l'âge des béliers. Mais, le test d'épuisement a révélé que la production de spermatozoïdes est plus élevée au cours de la 3<sup>ème</sup> année de l'âge que lors de la 2<sup>ème</sup> année, juste après la mise en place de la puberté. D'autre part, la qualité du sperme évalué à partir des pourcentages de spermatozoïdes morts et anormal est mieux au cours de la 3<sup>ème</sup> année de l'âge que juste après la puberté. Pris ensemble, les résultats liés à la production de spermatozoïdes et de la qualité du sperme indiquent que l'efficacité de la spermatogenèse était mieux au cours de la 3<sup>ème</sup> que lors de la 2<sup>ème</sup> année de l'âge, par rapport à une augmentation à la fois de la masse testiculaire et au service de la capacité. Ceci est en accord avec des études antérieures qui ont conclu que l'efficacité de la spermatogenèse est plus élevée chez les adultes que chez les béliers pubertés (Dawe et al., 1974; Toe et al., 1994).

### VI.2. Circonférence scrotale

Peu de recherches ont été menées sur des béliers pour évaluer la production de sperme produite. Chez les caprins l'évaluation quotidienne (ou Daily sperme production : DSP) de la production de spermatozoïdes par les testicules, varie de 2,76 à 7,23 x 10<sup>9</sup> spermatozoïdes par les testicules, avec une légère différence saisonnière et variations liées au mode d'élevage (Derashri et al., 1992; Walkden-Brown et al., 1994). Chez des mâles matures australiens du cachemire (destinés à la production du cachemire) le poids des testicules et le sperme total des testicules ont été étroitement associés à la circonférence scrotale ( $r = 0,88$  de  $r = 0,72$  respectivement). La circonférence du scrotum a fourni l'estimation indirecte simple et la plus précise de la taille des testicules et le contenu de spermatozoïdes testiculaires. Chez les ovins,

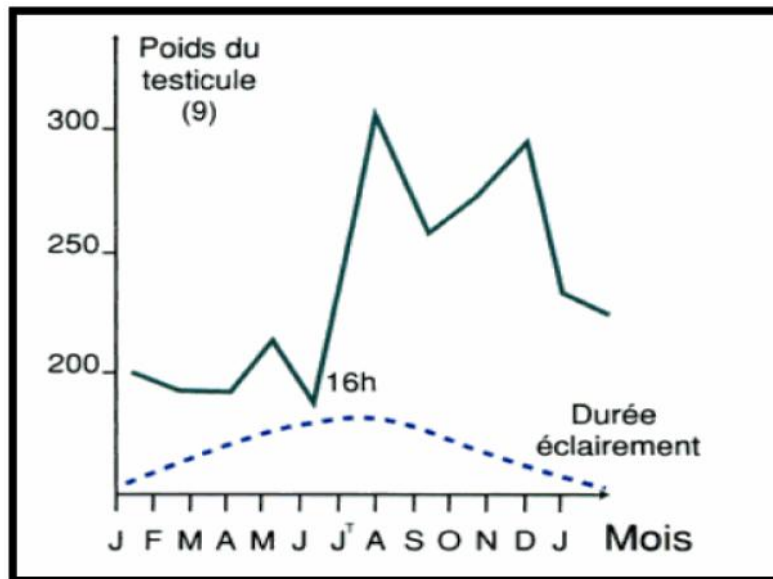
les mâles des deux races étudiées par Boucif et al., en 2007, quel que soit l'âge, la circonférence scrotale et le volume spermatique sont fortement corrélés au poids corporel ( $r = 0,89$ ,  $r = 0,73$ ) et ( $r = 0,95$ ,  $r = 0,84$ ) respectivement pour la race *Ouled Djellal* et *Hamra*. Une corrélation élevée entre la circonférence scrotale et le volume éjaculé a été observée également chez les deux races (*Ouled Djellal* :  $r = 0,93$ , *Hamra* :  $r = 0,90$ ).

### VI.3. De la saison

Le poids des testicules est maximum en automne. Au printemps, plus de la moitié des spermatozoïdes dégénèrent (Fig. 6) ; de plus, la chaleur inhibe la spermatogenèse. Dans une étude, réalisée sur trois races ovines le diamètre du scrotum a augmenté rapidement depuis le début de l'expérience jusqu'à 17 à 19 mois ( $P < 0,05$ ) avec une variation saisonnière. Les diamètres maximaux ont été atteints au cours de la saison de reproduction, Septembre pour la race Texel, Ile-de-France, et Octobre pour la race Suffolk. Dans les trois races, les diamètres les plus faibles ont été observés à la fin de l'hiver et au printemps, en particulier entre Février et Avril. Contrairement au poids total, une diminution significative a été observée  $P < 0,05$  dans les trois races au printemps lors de la 3<sup>ème</sup> année de l'âge, par rapport à l'automne de la 2<sup>ème</sup> année (Mandiki S.N.M. et al., 1998).

Il a été rapporté que l'ampleur des variations saisonnières sur les spermatozoïdes morphologiquement anormaux est sous le contrôle génétique, mais avec moins d'intensité que dans le cas de la croissance testiculaire (Colas et al., 1990). En plus de cela, il a été démontré que chez les races fortement saisonnières, des béliers produisent une semence avec un pourcentage élevé de spermatozoïdes anormaux au cours du printemps et d'automne par rapport à d'autres races (Baril et al., 1993). Colas et al., 1986 ont signalé que les spermatozoïdes présentant des anomalies de la tête apparaissent dans de faibles proportions dans le sperme de béliers de race Vendean que pendant le printemps, à la différence de béliers de race Texel, où la fréquence est plus élevée au printemps et parfois à l'automne. Une perturbation dans la maturation épидидymaire pourrait être à l'origine de ce problème (Fournier-Delpech et Thibault, 1991; Chevrier et Dacheux, 1988), l'attention devrait être accordée à ce lors de la sélection des béliers de races Texel.

La raison de variations saisonnières de la taille et les fonctions des testicules n'a pas été clairement définie. Des données récentes suggèrent que l'activité testiculaire faible enregistrée en hiver est probablement le résultat d'une synergie entre la photopériode, le climat et les contraintes nutritionnelles (Gastel et al., 1995).



**Figure 6** Variation saisonnière du poids de testicule de bélier adulte Ile de France (Pelletier 1971 cité par Christian Dudouet en 2003).

Chez les races algériennes, malgré l'existence de variations saisonnières de la production spermatique, il est possible de produire de la semence durant toute l'année chez la race *Ouled Djallal* ainsi que la race *Hamra* (Boucif A et al., 2007). Plusieurs auteurs ont déjà rapporté l'effet d'une sous alimentation sur les performances de reproduction chez le bélier (Martin et Walkden-Brown, 1995, Thwaites, 1995).

Les signaux nutritionnels exercent de puissants effets sur le système reproducteur des ruminants mâles adultes, et les réponses sont en partie indépendantes de tout changement dans la sécrétion des gonadotrophines. Dans les gonades, le tissu gamétogénétique répond rapidement aux changements de la nutrition, mais les compartiments du système endocrinien sont moins touchés. Les variations dans l'expression des réponses nutritionnelles entre les

sexes, les races et les espèces reflètent probablement des variations dans le rôle de ce facteur environnemental comme un modulateur de la fonction reproductrice (Martin et Walkden-Brown, 1995). Les résultats de Thwaites (1995), démontrent que la sous-alimentation modérée et sévère conduit à une perte progressive à la fois le volume des testicules et leur tonus chez les béliers et confirment que le volume du testicule est proportionnellement plus sensible à la dénutrition. Pour éviter d'éventuelles réductions de la fécondité, la sous-alimentation devrait, si possible, être évitée avant et pendant la reproduction.

D'après Boucif A. et al., (2007), les disponibilités alimentaires étant insuffisantes durant l'hiver, cette situation peut expliquer la diminution de la production spermatique observée à cette période.

#### **VI.4. De l'état de santé**

Selon la FAO (FAO, 1977), les béliers des centres d'insémination artificielles doivent être exempts des organismes pathogènes spécifiques responsables des maladies suivantes :

- ✓ Infection à *Brucella ovis*
- ✓ Infection à *Brucella melitensis*
- ✓ Infection à *Brucella abortus*
- ✓ Infection à *Actino bacillus seminis*
- ✓ Infection à *Salmonella abortus ovis*
- ✓ Balanoposthite, vulvite et chlamydiose

Des examens de laboratoire devraient être effectués périodiquement afin de dépister les maladies suivantes :

- ✓ Leptospirose
- ✓ Tuberculose
- ✓ Paratuberculose
- ✓ Campylabactériose
- ✓ Mycoplasmosse génitale et toxoplasmose

Les spermatozoïdes s'accumulent dans la queue de l'épididyme, il est possible d'apprécier leur volume par palpation.

Lors de l'acquisition d'un nouveau géniteur, il faut s'assurer qu'il a bien deux testicules et qu'il ne présente pas d'infections génitales. Le comportement sexuel du mâle est plus facilement observable tout au long de l'année que celui des femelles.

### **VI.5. De la fréquence des recueils**

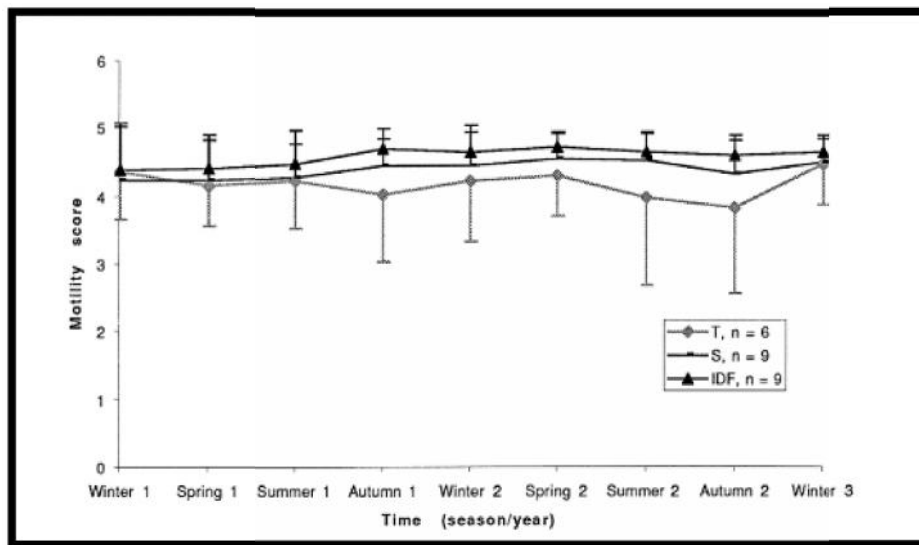
Des études antérieures ont signalé que des éjaculations successives ont ralenti la qualité et la quantité spermatique (Tomkins et Bryant, 1976), plus particulièrement l'efficacité quantitative de la spermatogénèse (Colas, 1980; Amir et al., 1986).

Dans la présente étude, selon Mandiki S.N.M. et al., (1998), il y avait une réduction générale de la quantité de sperme de la 1<sup>ère</sup> à la 4<sup>ème</sup> éjaculation mais la motilité du sperme ne semble pas être affectée (Tableau 8). En automne, la diminution de la production de spermatozoïdes était plus importante dans Suffolk et Ile-de-France que dans béliers Texel, et a aussi contribué à la plus grande capacité de béliers Texel dans la production de sperme comme précédemment indiqué.

**Tableau 8** Production de semence dans les jours du solstice et de l'équinoxe de la 3<sup>ème</sup> année d'âge et effet de la fréquence des recueils sur la motilité et la production des spermatozoïdes sur les trois races, Texel (Tx), Sulffok (S) et Ile-De-France (IDF).

	Fréquence	Mars			Juin			Septembre			Décembre		
		Tx	S	IDF	Tx	S	IDF	Tx	S	IDF	Tx	S	IDF
<b>Volume total (mL)</b>		2.5±1,7 (5)	1.7±0.8 (9)	1.9±0.6 (9)	2.4±0.9 (6)	1.6±0.6 (8)	2.4±1.3 (9)	6.7±3.2 <sup>a</sup> (6)	3.3±1.2 <sup>c</sup> (8)	3.0±1.7 <sup>c</sup> (9)	5.4±2.6 <sup>a</sup> (6)	4.4±2.0 <sup>b</sup> (9)	3.8±1.7 <sup>b</sup> (8)
<b>Nombre total de spzs (x10<sup>9</sup>)</b>		5.2±6.0 <sup>b</sup> (5)	4.8±2.6 <sup>b</sup> (9)	6.8±2.2 <sup>a</sup> (9)	4.0±3.6 <sup>b</sup> (6)	4.0±1.9 <sup>b</sup> (8)	5.7±4.1 <sup>a</sup> (9)	18.4±16.2 <sup>a</sup> (6)	9.0±5.8 <sup>c</sup> (8)	10.1±5.4 <sup>c</sup> (9)	12.9±9.9 (6)	10.8±4.2 (9)	10.3±6.6 (8)
<b>Motilité massale</b>	1	4.7±0.2 <sup>b</sup> (5)	4.7±0.3 (9)	4.9±0.1 (9)	3.4±1.0 <sup>a</sup> (6)	4.4±0.5 <sup>c</sup> (8)	4.7±0.2 <sup>c</sup> (9)	4.1±0.8 <sup>a</sup> (6)	4.6±0.4 <sup>b</sup> (8)	4.7±0.1 <sup>b</sup> (9)	3.8±1.0 <sup>a</sup> (6)	4.5±0.4 <sup>b</sup> (9)	4.7±0.4 <sup>b</sup> (8)
	4	4.8±0.1 (2)	5.0 (1)	(0)	4.2±0.8 (3)	4.7±0.0 (2)	4.8 (1)	4.3±0.7 (5)	4.7±0.1 (5)	4.9±0.1 (2)	3.7±1.2 (5)	4.6±0.2 (5)	4.8±0.2 (4)
<b>Nombre de spzs (x10<sup>9</sup>)</b>	1	3.1±1.9	2.5±1.3	5.0±2.0	1.2±0.9	2.7±1.2	4.3±2.4	4.1±1.6	4.2±2.1	5.3±2.6	3.4±1.2	4.3±1.7	4.2±1.5
	4	1.8±1.3	0.6	-	0.7±0.3	0.4±0.2	2.6	3.3±2.4	2.0±0.7	2.2±0.8	3.1±1.7	1.7±0.3	2.9±2.1

Les moyennes avec différentes lettres sur la même ligne sont différentes significativement entre elles.  $P < 0,05$ .

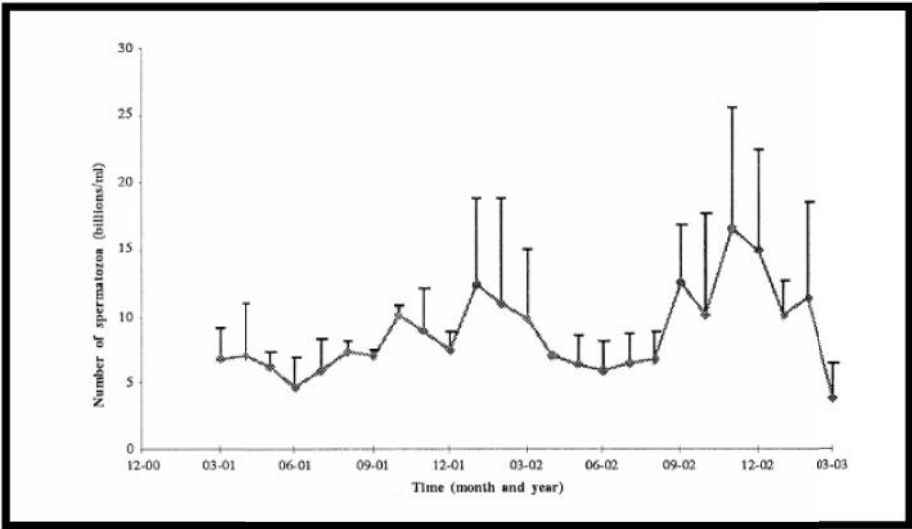


**Figure 7** Variations de la motilité après la première éjaculation chez les trois races (Texel, Suffolk et Ile-De-France)

D'après Mandiki S.N.M. et al., (1998), la motilité est similaire entre la 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> année d'âge (Fig.7). Au printemps et en été, au cours de la 2<sup>ème</sup> année d'âge, de grandes et irrégulières fluctuations ont été observées pour les trois races (Texel, Suffolk et Ile-de-France). Ensuite, les valeurs sont assez similaires et de petits changements saisonniers réguliers ont été observés dans les béliers de race Texel et Suffolk, contrairement aux béliers Texel dans lequel sporadiquement des changements ont été observés jusqu'à la fin de l'expérience.

La production totale de spermatozoïdes (Fig. 8) était supérieur à l'automne de la 3<sup>ème</sup> année que dans la même saison de la 2<sup>ème</sup> année de l'âge ( $P < 0,05$ ). Le rendement moyen du sperme varie considérablement ( $P < 0,05$ ) avec les saisons et la libido. Les valeurs ont commencé à augmenter en Août et sont à leur plus haut à l'automne. En hiver, ils ont diminué progressivement et étaient à leur plus bas au printemps et en été, en particulier entre Mars et Juin (Mandiki S.N.M. et al., 1998).





**Figure 8** Variations de la production spermatique chez les Trois races choisies, chaque point représente la moyenne de trois valeurs prises au hasard.

---

## **Chapitre VII : Etude de la réussite de l'insémination artificielle**

---

Puisque les deux individus du couple interviennent dans les différentes étapes de la reproduction ; la réussite de l'insémination est dépendante de deux caractères distincts : la fertilité de la brebis d'une part et la fécondance du bélier d'autre part.

Les facteurs de variation de la réussite de l'insémination peuvent être spécifiques du bélier (âge, qualité de la semence...), de la brebis (âge, carrière...) ou communs aux deux sexes (année, saison). De plus, si l'insémination est artificielle, il s'ajoute les facteurs liées à ce type d'insémination (inséminateur, mode fabrication des paillettes...).

Nous allons décrire ces différents facteurs en s'attachant tout d'abord à ceux relatifs au mâle puis à la femelle et enfin ceux qui ne sont spécifiques à aucun des deux sexes.

## **VII.1. Facteurs de variation environnementaux de la réussite de l'insémination liées au mâle**

En insémination artificielle, un mâle insémine de nombreuses femelles. La fécondance des mâles constitue donc un point critique dans la réussite d'un schéma de sélection (Colenbrander et al., 2003). Il est dans notre pouvoir de rechercher une évaluation de la fécondance des mâles au niveau de des éjaculats. Au niveau de l'éjaculat, de nombreuses études ont recherché les caractéristiques du sperme qui pourraient être liées à son pouvoir fécondant (qualités de la semence), il a été démontré que les différents tests de fonction de sperme peuvent être corrélés assez bien avec la fécondité. Trouver ces critères de qualité nous permettrait de prédire a priori le pouvoir fécondant d'un éjaculat et de sélectionner par la suite les meilleurs géniteurs pour fabriquer des doses d'insémination. A l'inverse, connaître les caractéristiques de l'individu affectant la fécondance du sperme, fournirait des informations pour gérer les reproducteurs. A cet égard, la cytométrie en flux s'est avéré être un outil idéal car il permet à l'objectif, une analyse rapide et simultanée d'un certain nombre de propriétés dans un grand nombre de spermatozoïdes (Colenbrander et al., 2003).

### VII.1. 1. La qualité de la semence

Le processus de reproduction étant complexe, l'évaluation de la fécondance du sperme n'est pas aisée. Un bon éjaculat correspond à beaucoup de spermatozoïdes aptes à effectuer la fécondation, ce qui implique qu'ils sont aptes à rejoindre rapidement le lieu de rencontre des gamètes, qu'ils ont une membrane cytoplasmique et un acrosome intact pour la reconnaissance et la pénétration de l'ovocyte et enfin qu'ils possèdent un matériel nucléaire intact pour la création de l'embryon. Il existe une multitude de tests de laboratoire cherchant à évaluer la capacité des spermatozoïdes à effectuer ces différentes étapes.

On peut les classer en deux catégories : les tests fonctionnels et non fonctionnels.

Les tests non fonctionnels :

- ✓ Tests du déplacement des spermatozoïdes
- ✓ Les caractéristiques de la membrane plasmique et de l'acrosome
- ✓ L'intégrité de la chromatine
- ✓ La mesure des protéines séminales

Les tests fonctionnels

- ✓ Test de pénétration du mucus cervical
- ✓ Test de pénétration de la zone pellucide
- ✓ Test de fécondation in vitro

### VII.1. 2. Les caractéristiques du mâle

Peu d'études ont analysé la liaison entre les caractéristiques du mâle et sa fécondance du fait de la faible part de variabilité de la réussite de l'insémination attribué au mâle (Boichard et Manfredi, 1994) et par le manque de retour d'informations relatives à celui-ci en routine.

Des chercheurs ont mis en évidence une influence positive significative de l'âge des taureaux sur la réussite de l'IA (Averill et al., 2004). Néanmoins, il est possible que dans leur étude les

jeunes taureaux aient été accouplés avec les femelles les moins fertiles. Bunge et al., (1990) notent que, sur des jeunes béliers entre 5 et 7 mois, la probabilité de réussite de l'insémination est plus faible chez des mâles issus de portée de jumeaux que chez des mâles issus de simple portée. D'après Bunge et al., ce phénomène est la conséquence d'un poids plus élevé des béliers issus de simple portée et par conséquent l'âge de la puberté peut être plus précoce chez ces derniers.

## **VII.2. Facteurs de variation environnementaux de la réussite de l'insémination liées à la femelle**

La majeure partie des études de la réussite de l'IA porte uniquement sur l'étude de la fertilité des femelles vraisemblablement parce que les événements reproducteurs de la femelle influence plus la réussite de l'insémination que ceux du mâle (Foote, 2003).

### **VII.2. 1. La carrière de la femelle**

Dans différentes espèces, il a été montré que la probabilité de réussite de l'insémination diminue avec la parité et/ou l'âge de la femelle (Anel et al., 2006 ; Grimard et al., 2006 ; Nadarajah et al., 1988 ; Stalhammar et al., 1994). Plusieurs explications de ce résultat ont été avancées dans la littérature. Cette tendance peut être liée à une diminution de la réponse des brebis à la synchronisation par production d'anticorps anti-PMSG résultante des synchronisations précédentes (Bodin et al., 1997), par la diminution de la qualité des gamètes femelles ou par un dérèglement de la phase lutéale en bovin (Garcia-Ispierto, 2007).

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

## VII.2. 2. La production laitière

De nombreux auteurs ont mis en évidence, principalement en bovin, une relation phénotypique négative entre la production laitière et la réussite de l'insémination, Melendez et Pinedo ont conclu que le vêlage et intervalle de conception (ICC : calving to conception interval) a augmenté au fil du temps et est négativement liée à l'augmentation de la production laitière vécue par les bovins Holstein chiliens Centre-Sud au cours des dernières 15 années de l'étude (Melendez et Pinedo, 2007). Cette corrélation peut être la combinaison entre la liaison génétique négative qui existe entre ces deux caractères (Andersen-Ranberg et al., 2005b ; Dematawewa et Berger, 1998 ; Gonzalez-Recio et Alenda, 2005 ; Kadarmideen et al., 2000) et un effet de balance énergétique moins bonne au moment de l'insémination pour les fortes productrices de lait (Grimard et al., 2006).

## VII.2. 3. Le poids, l'indice de condition corporelle

La relation entre la condition corporelle de la femelle et sa fertilité a été principalement étudiée chez les bovins. Les résultats concernant la relation entre l'indice de condition corporelle au moment de l'IA et la réussite de cette dernière sont variables en fonction des études.

Pour Grimard et al. (2006), il n'existe pas de relation significative entre ces variables, et pour Roche (2007), la relation est positive. Cette relation peut être en partie expliquée par les corrélations génétiques positives existant entre l'indice de condition corporelle et la réussite de l'IA (Pryce et Harris, 2006).

En revanche, il existe un consensus sur la relation entre les variations de condition corporelle et la réussite de l'insémination. Les résultats mettent en évidence le rôle important de la note l'état corporel (BCS : body condition score) et perte de poids vif sur les performances de reproduction chez la vache (Roche, 2007). Il existe une relation négative significative entre la perte de poids depuis la mise bas précédente et la réussite de l'IA (Butler, 1998 ; Roche, 2007). La production de lait et l'ingestion de matière sèche des vaches laitières sont stimulées

---

en réponse à une consommation accrue de protéines alimentaires, mais, malheureusement, une diminution de la fertilité est souvent associée à cette stratégie nutritionnelle (Butler, 1998).

### **VII.3. Facteurs de variation environnementaux de la réussite de l'insémination non spécifiques du sexe**

#### **VII.3. 1. Facteurs liés à l'IA**

Une bonne préparation du déroulement de l'insémination est un point très important de la réussite de l'IA. Les spermatozoïdes vigoureux doivent être correctement inséminés au moment propice. Il est possible de distinguer deux types de facteurs de variation : le mode de préparation des paillettes (composition du dilueur, taux de la dilution) et le déroulement de l'insémination en tant que tel (l'inséminateur, le lieu de dépose de la semence...).

#### **VII.3. 2. La préparation des paillettes chez les ovins**

La semence peut être conservée sous trois formes :

- ✓ Congelée (-196 C°),
- ✓ Réfrigérée (5 C°) ou,
- ✓ Fraîche (15C°).

La semence congelée se conserve longtemps, ce qui constitue un avantage, contrairement à la semence fraîche qui doit être rapidement utilisée (quelques heures). Néanmoins, le pouvoir fécondant du sperme s'en trouve affecté (Donovan et al., 2004 ; Fernandez-Abella et al., 2003 ; Findlater et al., 1991) et le taux de réussite de l'IA intra-vaginale en semence congelée n'est pas satisfaisant (Salamon et Maxwell, 2000). Ceci est lié à une diminution de la survie des

spermatozoïdes dans l'utérus ou à une augmentation de la mortalité embryonnaire précoce (Salamon et Maxwell, 1995).

Plusieurs types de dilueurs peuvent être utilisés pour la conservation des spermatozoïdes, le choix du dilueur est en fonction de la température de conservation de la semence. Régulièrement de nouveaux essais de diluants et de mode de préparation de la semence sont effectués dans le but d'augmenter le temps de survie des spermatozoïdes ou leur pouvoir fécondant (Cheng et al., 2004 ; D'Alessandro et al., 2001 ; Gil et al., 2003a ; Gil et al., 2003b ; Gil et al., 2000).

Plus que le taux de dilution de la semence, le nombre de spermatozoïdes mis en place est un facteur de variation de la réussite de l'insémination. Fernandez-Abella et al., (2003) montrent qu'à nombre de spermatozoïdes inséminés constant, il n'y a pas d'effet de la concentration et du volume de semence inséminée sur la probabilité de réussite de l'IA.

Enfin, le type de semence utilisée peut jouer un rôle sur sa conservation. L'utilisation du sperme épидидymaire est une nouvelle technique utilisable dans le cadre de l'insémination artificielle ou de la fécondation in vitro chez les ovins. Guérin et al., (2003) ont montré la possibilité d'utiliser du sperme épидидymaire, avec une longue durée de conservation à 4 C°. La fertilité du sperme épидидymaire d'ovins diminue en fonction du temps mais est encore utilisable après 72 heures de conservation (Guérin et al., 2003)

### **VII.3. 3. Le déroulement de l'insémination**

En semence fraîche, la durée de conservation du sperme étant courte, l'intervalle de temps entre la collecte et l'IA est un facteur de variation de la réussite de l'insémination.

Idéalement, la dépose de la semence doit être réalisée intra-utérine. La cathétérisation du col est aisée en bovin mais quasiment impossible chez les ovins, du fait de la conformation particulière du col de la brebis (Kaabi et al., 2006). L'insémination intra-utérine en ovin nécessite donc un abord chirurgical par cœlioscopie. Cette méthode suppose un personnel qualité, un matériel adéquat et augmente fortement le coût de l'insémination. C'est pourquoi, en ovin, les inséminations se réalisent presque exclusivement en semence fraîche avec une



dépose par voie vaginale. Plus la dépose de la semence est profonde par cette voie, plus la probabilité de réussite de l'insémination augmente (Salvador, 2005). La technicité de l'inséminateur semble intervenir sur le lieu de dépose, puisque l'effet inséminateur est significatif dans de nombreuses études (Anel et al., 2005 ; Donovan et al., 2004 ; Garcia-Ispuerto, 2007) exceptée celle de Salvador et al., (2005) qui étudie l'effet inséminateur ajuste sur le lieu de dépose de la semence. Outre la technicité de l'inséminateur, le matériel utilisé peut intervenir sur le lieu de dépose, ainsi Kaabi et al., (2006) montrent que chez les ovins, un cathéter courbe pénètre plus loin dans le col qu'un cathéter droit.

#### VII.3. 4. L'année et la saison

L'année et la saison sont des facteurs de variation de la fertilité des femelles et de la fécondance des mâles. Lorsque l'insémination se déroule en semence fraîche, l'année et la saison sont systématiquement identiques pour le mâle et la femelle d'un couple. Dans ce cas, il est difficile d'identifier lequel des deux caractères est influencé par ces facteurs ; excepté dans le cadre de dispositif expérimental contrôlant l'effet de la saison sur l'un ou l'autre sexe (en mimant le photopériodisme par exemple).

L'année est souvent l'un des facteurs de variation majeur de la réussite de l'insémination. En bovin laitier, on note une tendance à la diminution de la réussite de l'IA avec les années. Ceci est vraisemblablement lié à la corrélation génétique négative entre fertilité des femelles et production laitière (Gonzalez-Recio et al., 2006 ; Mackey et al., 2007).

Il a été mis en évidence une saisonnalité de la réussite de l'insémination dans de nombreuses espèces. En bovin, la probabilité de réussite de l'IA est plus élevée en été (jours longs) (Andersen-Ranberg et al., 2005a ; Stalhammar et al., 1994) dans les pays nord européen (Suède, Norvège) alors que celle-ci est plus faible en période chaude au sud de l'Europe (Espagne) (Garcia-Ispuerto, 2007). La saisonnalité de la reproduction de certains petits ruminants est bien connue et il est possible de simuler les jours courts chez les femelles par pose d'un implant de mélatonine, ce qui augmente le taux de réussite de l'insémination en ovin et caprin (Abecia et al., 2007 ; Chemineau et al., 1996). Colas et al., (1985), dans une étude sur la relation entre photopériodisme et fécondance du sperme, mettent en évidence une

---

amélioration de la fécondance des béliers en lumière décroissante par rapport à des béliers en lumière croissante.

### VII.3. 5. L'effet de l'élevage

L'effet élevage est l'un des facteurs de variation importants de la réussite de l'IA pour différentes espèces. Plus que les différences de localisation géographique entre élevages, ce facteur traduit les différences de conduite d'élevage qui existent entre troupeaux. Cette hypothèse va dans le sens des résultats de Garcia-Ispierto (2007) pour lequel l'effet élevage n'était pas significatif dans une étude où tous les élevages étaient homogènes du point de vue de la gestion de leurs animaux.

### VII.4. Conservation et survie prolongée des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles

La physiologie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles comporte deux aspects importants : d'une part la durée du transport et la régulation du nombre de spermatozoïdes qui atteignent le lieu de la fécondation, et d'autre part la survie des spermatozoïdes et la différenciation de structures ou d'organes spécialisés pour les survies de longue durée.

La durée du transport des spermatozoïdes depuis le vagin jusqu'à la partie supérieure de l'oviducte des mammifères a fait l'objet de très nombreux travaux aux conclusions contradictoires.

Seule l'étude histologique du tractus génital fixé in toto immédiatement après l'abattage, à des temps croissants après l'éjaculation, permet d'aboutir à des conclusions cohérentes (C. THIBAUT, et Marie Claire LEVASSEUR, 1973). Chez la Vache, la Brebis et le Macaque femelle on a ainsi montré que :

- ✓ Aucun spermatozoïde n'atteint la partie moyenne de l'oviducte avant 2 heures;

- ✓ les spermatozoïdes se retrouvent surtout dans le cervix, les glandes utérines et à la jonction utéro-tubaire ;
- ✓ le bas de l'isthme agit comme un régulateur du nombre de spermatozoïdes qui atteignent l'ampoule.

La durée de survie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles est très variable parmi les Vertébrés. Une survie prolongée apparaît comme un mécanisme physiologique de sauvegarde pour assurer la reproduction, par exemple :

- ✓ quand les conditions écologiques rendent l'accouplement préovulatoire impossible (Chiroptères, Reptiles, Amphibiens) ;
- ✓ quand l'accouplement n'est pas lié à l'ovulation (Oiseaux) ;
- ✓ quand l'ovulation se produit avant la parturition (Hase).

Quelle qu'en soit la durée, la survie des spermatozoïdes a lieu le plus généralement dans des

Replis des glandes ou des réceptacles séminaux qui peuvent être localisés à n'importe quel niveau des voies génitales.

Seuls les spermatozoïdes mobiles sont capables de pénétrer dans ces structures spécialisées.

Les contacts entre les têtes spermatiques et l'épithélium des sites de conservation sont de trois types : les spermatozoïdes peuvent demeurer pêle-mêle dans la lumière, s'orienter vers cellules bordantes dont les microvillosités enserrant plus ou moins la tête spermatique, ou pénétrer profondément dans les cellules épithéliales en poussant devant eux la membrane cellulaire. Mais il ne semble pas exister de relation entre le type de contact et la durée de conservation.

Les problèmes pourtant très importants de la répression ou de la dépression de la motilité des spermatozoïdes ainsi conservés et des apports métaboliques qui assurent leur survie, n'ont été que très peu étudiés et aucune hypothèse ne peut actuellement être formulée (C. THIBAUT, et Marie Claire LEVASSEUR, 1973).

---

# ETUDE EXPERIMENTALE

---

## **Chapitre I : Problématique et données**

## I.1. Hypothèse

Différentes causes pourraient être à l'origine d'une altération de la qualité de la semence chez les ovins, alimentation, xénobiotiques, rythme de collecte, stress, photopériode, pathologie... (Picard H., et al, 2002). Depuis des décennies des études sont portées sur l'effet d'un apport en aliment quelconque sur les performances reproductives des animaux d'élevage. Il est possible que l'apport en certains nutriments mineurs comme les vitamines et les minéraux ne soit pas adéquat pour assurer des performances de reproduction optimales. En effet, en centre d'insémination, outre la libido et la qualité des membres, la quantité ainsi que la qualité spermatique deviennent primordiales, non seulement pour la dissémination à plus grande échelle du potentiel génétique supérieur de ces animaux sélectionnés, mais également pour réduire les coûts de production des doses de semence. Il semble qu'une supplémentation alimentaire pourrait avoir un effet bénéfique sur la qualité et/ou la quantité spermatique des béliers géniteurs utilisés en insémination artificielle.

L'objectif de cette étude exploratoire est donc de déterminer les effets de suppléments alimentaires importants de vitamines (liposolubles, hydrosolubles) et de minéraux, sur les caractéristiques de la semence (qualitatives et quantitatives), et leur impact sur la réussite de l'IA, chez des béliers du centre d'insémination de *Belhandjir* de la wilaya de Naâma soumis à une récolte régulière et/ou intensive.

## I.2. Protocole d'étude

L'étude que nous avons réalisée avait pour objectif d'analyser les facteurs de variation alimentaire ayant une influence sur la production de semence des béliers et sur la probabilité de réussite de l'insémination artificielle d'une part, d'autre part sur la qualité et/ou la quantité de semence produite par les géniteurs utilisés au niveau du centre.

Les résultats que nous avons obtenus, leurs interprétations, leurs extrapolations sont conditionnées par la qualité des informations que nous avons utilisées pour les analyses.

Dans ce chapitre nous décrivons comment ont été sélectionnées, validées et analysées les données de l'étude. Les analyses ont porté sur les données d'éjaculats de béliers reproducteurs du centre d'IA du CNIAAG *Belhandjir* de la wilaya de Naâma.

Nous avons dans un premier temps défini les échantillons d'analyse. Les lots de béliers étudiés (témoins et supplémentés). Dans un deuxième temps, nous avons associé à chaque élément (éjaculat, insémination) de l'échantillon les informations nécessaires aux analyses. C'est à dire associer à chaque éjaculat les mesures quantitatives (volume, concentration, doses) et qualitatives (motilité, le taux de spermatozoïdes anormaux et le taux des morts), correspondantes et à chaque insémination son résultat. Cette étape est décrite dans la partie "données" de ce chapitre. Elle s'accompagne de la validation des informations et donc de l'exclusion des données non conformes pouvant biaiser nos résultats dans les analyses.

Après on passe en revue les différentes analyses réalisées, permettant de répondre à la problématique de l'étude fixée au départ de notre travail.

Enfin, la dernière partie de ce chapitre nous permet de présenter et discuter les différents résultats obtenus par le biais de cette étude.

### **I.3. Echantillonnages**

#### **I.3.1. Pour l'étude de la production de semence**

L'échantillon d'analyse est constitué de l'ensemble des collectes individuelles des béliers de la cohorte d'étude (c'est-à-dire les collectes au cours desquelles on ne mélange pas, avant les différentes analyses, dans un même tube les éjaculats de plusieurs béliers). Chaque collecte de semence subira les mêmes analyses et de la même manière et avec les mêmes techniques afin d'avoir des interprétations homogènes et représentatives de toute la cohorte d'étude.

### I.3.2. Pour l'étude de la réussite de l'insémination

L'échantillon d'analyse correspond aux inséminations artificielles réalisées en 2012 par les béliers du centre d'IA de *Belhandjir* de la wilaya de Naâma.

### I.3.3. Données

#### Les fichiers d'enregistrements de collecte

Il s'agit des enregistrements effectués en routine par les techniciens des CIAO au cours de la collecte des béliers (voir annexe 1).

Pour un bélier donné, le fichier contient :

- ✓ Le volume, qui est directement lu sur un tube gradué,
- ✓ La concentration est mesurée par spectrophotomètre,
- ✓ La motilité est évaluée à l'aide d'un microscope sur une échelle continue de 0 à 5 à partir d'une goutte non diluée ni colorée de sperme.

#### Les fichiers de bulletins d'insémination

Ils contiennent les informations relatives à la synchronisation des femelles et à la réalisation de l'IA par lot d'insémination (dose de PMSG, opérateur de pose et retrait éponge, inséminateur..., voir annexe 2).

### I.3.4. Analyses

L'analyse statistique a été faite en utilisant les deux logiciels Excel et Statistica. Le test de différence significative minimale (z-test), test de comparaison entre deux moyennes observées, le test de Student et le test d'homogénéité ont été utilisés.



Le niveau de signification a été choisi en fonction des analyses, variant entre significative,  $P < 0,05$  à très significative,  $P < 0,01$ . Voir annexe 3.

## I.4. Matériels et méthodes de l'étude

### I.4.1. Présentation du centre

Le centre d'insémination artificielle et d'amélioration des espèces génétiques animalières du village de *Belhandjir* (Fig. 10), 11 km à l'ouest d'Aïn Sefra wilaya de Naâma (latitude :  $32^{\circ} 42' 16$  N, longitude :  $0^{\circ} 42' 07$  O, Fig. 9) récemment équipé, est le premier du genre au niveau de cette région (dernièrement un autre centre similaire a été créé au niveau de la wilaya de Saida). Visant la revalorisation de plus de 1 000 000 têtes du cheptel que compte la wilaya (source, DSA 2014), ce centre représente un groupe vétérinaire doté d'équipements et de techniques modernes nécessaires à la préservation des ressources animales menacées de disparition, à l'instar de l'espèce ovine "*Doghma* ou *El Hamra*", et l'amélioration génétiques de l'ensemble des races locales, en appliquant un programme de vulgarisation de la semence, de la race blanche arabe "*Ouled Djellal*" compte tenu de ses caractères génétiques très performants, et sa prolificité très élevée.

S'étendant sur une superficie de 8 ha, ce centre compte un seul vétérinaire spécialisé dans l'insémination (inséminateur), un zootechnicien, 3 techniciens, et 18 agents polyvalents (les vétérinaires conventionnés avec le CNIAAG s'occupent seulement de la synchronisation des chaleurs). Il existe aussi une convention complémentaire de formation et de développement d'expériences pour les stagiaires des filières d'élevage et de santé animale.

Les vétérinaires qui y opèrent suggèrent plus d'efforts en équipements dans les domaines de la recherche scientifique, des séances de formation d'exploitation des ressources génétiques, outre le lancement d'études approfondies et d'élaboration de plans visant l'accroissement des capacités de production animalière. Ces démarches contribueront à l'amélioration des revenus des éleveurs et développeront le secteur agroalimentaire et touristique de la région. Ils ont également mis l'accent sur la nécessité de créer une banque de données des différentes espèces locales, se référant au rapport de l'organisation mondiale pour l'alimentation et

l'agriculture (FAO) qui indique que 30 % des espèces sont menacées dans les pays en voie de développement.



Figure 9 Localisation du centre d'IA Belhandjir sur la carte de « Google Earth, 2014 »





**Figure 10** Le centre d'insémination artificielle et de l'amélioration génétique, *Belhandjir*

#### I.4.2. Animaux

Durant l'année 2012, dix béliers géniteurs saints ne présentant aucunes lésions de l'appareil génital, de race *Ouled Djellal* préalablement entraînés à la récolte de sperme et régulièrement collectés au centre d'insémination artificielle, ont été choisis pour l'expérimentation.

Les béliers ont été suivis au niveau du CNI.A.A.G *Belhandjir* de la wilaya de Naâma (Fig. 10). Les béliers sont âgés de 24 à 40 mois, ils sont de poids moyen (EC entre 2 et 3). Les géniteurs sont divisés en deux lots, un lot BT ou béliers témoins ( $n = 5$ ), et un lot BS ou béliers supplémentés ( $n = 5$ ). Vu la forte corrélation positive existante entre la circonférence scrotale et la production spermatique (Boucif A. et al., 2007), les deux lots BT et BS de la race *Ouled Djellal* ont été choisis de telle sorte que les moyennes du périmètre scrotal seront très proches, qui sont respectivement  $36,24 \pm 1,36$  et  $35,76 \pm 0,85$ , et ceci afin d'éviter de biaiser l'analyse de nos résultats quantitatives.

D'autres lots de béliers ont été suivis dans le même but de savoir l'effet des suppléments alimentaires sur leurs caractéristiques spermatiques quantitatives et qualitatives.

- ✓ Un deuxième groupe de race *Hamra* divisé en deux lots, un lot des témoins ou Hr BT ( $n = 4$ ) et un lot des supplémentés ou Hr BS ( $n = 4$ ).

- ✓ Un troisième groupe de race *Rumbi* divisé lui aussi en deux lots, un lot des témoins ou Ru BT ( $n = 3$ ) et un lot des supplémentés ou Ru BS ( $n = 3$ ).

A l'inverse du groupe de la race *Ouled Djellal* ces deux derniers groupes n'étaient pas choisis de manière objective, mais juste suivis en répondant à la demande des agriculteurs, c'est pour cette raison que les collectes ne sont pas homogènes (Tableaux 18 et 19).

En parallèle, trois lots de brebis plus au moins homogènes composés chacun de deux groupes d'effectifs égaux (90 brebis en tout, âgées entre 18 et 36 mois) ont été utilisés pour insémination artificielle.

Le diagnostic de gestation pour calcul du taux de la fertilité est réalisé par palpation transrectale ou abdominale. Avec l'observation de la réapparition des chaleurs aussi.

#### **I.4.2. 1. Entraînement des mâles**

C'est l'étape la plus importante, qui nécessite un certain nombre d'heures de travail et beaucoup de patience, il est préférable de la commencer dans la saison où l'activité sexuelle est en son maximum (fin d'été et début de l'automne chez les races saisonnées) ou dès la puberté des béliers. L'effet de la saison est moins marqué chez nos races algériennes.

Il est très important que ce soit la personne chargée des futures collectes qui fasse la récolte. L'entraînement pour la collecte au vagin artificiel doit également être réalisé au même endroit où les béliers feront de nouvelles collectes ultérieurement. 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 bonne position pour l'accouplement. Deux situations peuvent alors survenir :

- Le mâle éjacule immédiatement dans le vagin artificiel et il acceptera de le refaire à chaque sollicitation.
- Le mâle, même s'il monte la femelle, redescend dès que la main de l'opérateur touche le prépuce pour faire rentrer le pénis dans le vagin artificiel.

Il est très important que l'opérateur ne change pas sa position accroupie afin que le bélier ne puisse pas associer les deux événements. Le bélier revient généralement de lui-même pour tenter à nouveau de monter la femelle. Durant ce second essai, il est possible que le bélier serve le vagin artificiel. S'il ne le fait pas, c'est que la peur de l'homme devient plus forte que la motivation sexuelle et la collecte de semence ne sera pas possible. Dans ce cas, il peut être utile que l'opérateur laisse le bélier effectuer la saillie de la brebis sans tentative de collecte et qu'en même temps, il le stimule de sa voix (en disant par exemple « monte » et le répéter à chaque opération). Cette attitude risque toutefois d'inciter le bélier à renouveler ce type de comportement.



**Figure 11** Photos du vagin artificiel pour les ovins utilisé dans le centre d'IA à Belhandjir. A gauche : tube de recueil, cône et le vagin artificiel (en allant de gauche à droite). A droite : vagin artificiel dans un manchon protecteur en cuir.

#### **I.4.2.2. Collecte de semence sur des mâles entraînés**

##### *a. Organisation de la salle de collecte*

Les béliers sont conduits à la salle de collecte et attachés au mur à l'aide d'une chaîne et d'un collier. Une brebis boute-en-train est alors immobilisée dans l'appareil de contention (Fig. 12)

et une autre brebis est gardée à proximité dans le cas où une nouvelle opération serait nécessaire pour une seconde collecte.

Une fois attachés, il est nécessaire de nettoyer soigneusement la partie abdominale des béliers. Le lavage s'effectue avec une solution saline (0,9 % de NaCl), pour éliminer le maximum de fragments et d'impuretés qui ont pu s'y accumuler. Ce lavage est recommandé.

Chaque mâle est détaché et laissé en contact avec la brebis boute-en-train. Un temps d'attente de 5 à 6 minutes avant l'éjaculation accroît à la fois la quantité et la qualité de semence mais, en pratique, elle est difficile à mettre en œuvre. Il peut être préférable de forcer le bélier à effectuer des fausses montes en lui permettant de monter sur la brebis et puis en le forçant à descendre avant l'éjaculation.

#### *b. Collecte de la semence*

L'opérateur, un genou à terre à côté du bélier, dévie légèrement avec la main le pénis du bélier (Fig. 13). Simultanément, avec l'autre main, il avance le vagin artificiel (température 42 - 45°C) afin d'y faire entrer le pénis. L'éjaculation se produit alors immédiatement. Il est nécessaire de prendre garde à bien placer le vagin artificiel (Fig. 11) dans le prolongement du pénis afin que celui-ci pénètre entièrement dans le vagin artificiel. Immédiatement après l'éjaculation, le bélier redescend et l'opérateur donne 2 ou 3 mouvements énergiques au vagin artificiel afin de faire descendre l'éjaculat à l'extrémité du tube de collecte gradué. Il est particulièrement important que la semence reste le moins longtemps possible en contact avec le caoutchouc du cône.

Afin de collecter immédiatement un deuxième éjaculat du même bélier dans le même tube de collecte, il est nécessaire de susciter un réflexe conditionné. Avec des mâles entraînés, pendant la saison sexuelle, deux éjaculats successifs peuvent être obtenus à un intervalle de une à deux minutes. Ce délai peut s'accroître chez des mâles non entraînés, en contre-saison sexuelle. Si le second éjaculat n'est pas obtenu au bout de 2 à 3 minutes, il est préférable de traiter le premier éjaculat. Le bélier sera alors rattaché et un deuxième éjaculat pourra être collecté plus tard dans un autre vagin artificiel.

Lors des premiers essais, la brebis boute-en-train est toujours en chaleur, mais par la suite les récoltes peuvent être effectuées aussi facilement à l'aide d'une brebis non en rut. Le vagin

artificiel était aseptisé avec de l'alcool, et l'éjaculat recueilli dans un tube stérile gradué au 1/10 de ml.



**Figure 12** Femelle boute-en-train. Photo prise dans le centre d'IA à Belhandjir.



---

**Figure 13** Recueil de la semence du bélier à l'aide du vagin artificiel (celui qui collecte est en position accroupie). Photo prise au centre d'IA de Belhandjir.

#### **I.4.2.3. Contrôle de la quantité et de la qualité de la semence**

Après la collecte, la semence est rapidement contrôlée (mesure de la motilité massale, du volume et de la concentration) afin d'éliminer les éjaculats de qualité (fécondance) jugée insuffisante et de déterminer le taux de dilution du sperme en vue de la préparation des paillettes.

##### **a. Volume de l'éjaculat**

La mesure du volume de l'éjaculat s'effectue par lecture directe à l'aide des graduations du tube de collecte. La lecture se fait sans tenir compte de la partie mousseuse de l'éjaculat. Le volume moyen de l'éjaculat est d'environ 1 à 1,5 ml dans l'espèce ovine mais varie d'un éjaculat à l'autre, et d'une saison à l'autre (Boucif et *al.*, 2007). Le tube de collecte est alors transmis au laboratoire via un vasistas afin de maintenir des conditions sanitaires strictes.

##### **b. Concentration de l'éjaculat**

La concentration spermatique varie généralement de 2 à  $10 \times 10^9$  spermatozoïdes par millilitre de semence éjaculée. Plusieurs possibilités existent pour mesurer cette concentration:

- Appréciation visuelle directe de la consistance de l'éjaculat ;
- Comptage exact avec un hématimètre ;
- Mesure de la densité optique dans un spectrophotomètre (Fig. 14).

Bien que l'appréciation visuelle directe soit utilisée par la plupart des centres d'IA, elle n'est pas toutefois recommandée en raison de sa grande imprécision due à l'appréciation subjective du praticien.



Le comptage exact du nombre de spermatozoïdes dans un hématimètre est la technique la plus recommandée. Le principe est simple : compter le nombre exact de spermatozoïdes présents dans un volume déterminé d'une solution de dilution connue.

Au niveau du CNIAAG *Belhandjir*, on utilise une mesure de la densité optique dans un spectrophotomètre (spécialement conçu pour déterminer la concentration de la semence des ovins et caprins) et est effectuée à une précision qu'on peut vérifier facilement après des mesures sur hématimètres. Cette technique est la plus précise pour la détermination de la concentration spermatique. Le principe repose sur la mesure d'absorbance (ou densité optique) du sperme.



**Figure 14** Spectrophotomètre adapté au calcul de la concentration de la semence des ovins et des caprins. Photo prise au centre d'IA de Belhandjir.

### c. Le nombre de spermatozoïdes

Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat correspond au produit du volume par la concentration de l'éjaculat ( $\text{Nombre} = \text{Volume} \times \text{Concentration}$ ). Le volume peut être mesuré visuellement à l'aide d'un tube gradué avec une précision de 0.1 à 0.05 ml (*Mathevon et al.*, 1998) ou peut être calculé à partir du poids de la semence ( $\text{Volume} = \text{Poids} \times 1.05$ ) (*Brito et al.*, 2002). La mesure de concentration la plus fréquente est faite par spectrophotométrie

(Brito et al., 2002 ; Mathevon et al., 1998 ; Ollero et al., 1996). Il s'agit de la méthode utilisée à l'heure actuelle par la majorité des centres d'IA ovins ainsi que le centre d'IA de *Belhandjir*.

#### d. Motilité massale

Il s'agit d'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). L'observation doit être faite brièvement car la motilité massale du sperme pur, à cette température, diminue rapidement au bout de 15 à 20 secondes seulement.

La mesure est faite en utilisant une échelle qui va de 0 (aucun mouvement) à 5 (mouvements forts), ainsi que cela est défini au Tableau 5. Cette technique est suffisamment efficace pour déterminer d'une manière générale la note de la motilité massale; elle est toutefois trop imprécise pour différencier les éjaculats avec différents pourcentages de spermatozoïdes mobiles ou différentes motilités individuelles.

#### e. Dilution

Avant leurs mises en paillettes la semence récoltée est diluée dans un dilueur particulier déjà préparé la veille au laboratoire « le lait de vache écrémé ». Le lait est un milieu biologique de composition complexe composé de protéines, sels, glucides, lipides, vitamines, etc. Le pH d'environ 7,0 et la pression osmotique autour de 300 milimoles sont proches de ceux de la semence.

L'efficacité du lait en tant que milieu de dilution et de conservation de la semence est due à son rôle de tampon, son action protectrice contre le choc thermique et son action antioxydante contre quelques métaux lourds (Jones, 1973). En plus, le lait apporte le lactose comme substrat énergétique aux spermatozoïdes. L'effet protecteur du lait est attribué à la caséine (fraction protéique).

Lors de sa préparation, le lait reconstitué est composé de 10 g de poudre, 90 ml d'eau distillée, 300 mg de sulfamides, et est maintenu pendant 10 minutes à une température de 95°C environ afin d'inactiver la lacténine présente dans la fraction protéique car cette dernière

possède des radicaux libres qui ont un effet toxique sur les spermatozoïdes (Flipse et al. 1954), puis refroidi ( 25 - 30°C ) et additionné d'antibiotiques ( 10<sup>5</sup> UI pénicilline et 100 mg streptomycine pour la quantité préparée).

Le volume total du dilueur est déterminé en fonction du volume de l'éjaculat, de sa concentration en spermatozoïdes et du nombre de spermatozoïdes fixés par dose. (Le calcul peut se faire selon *Chemineau et al.* 1991 : voir annexe 4).

#### **I.4.2.4. Conservation des spermatozoïdes et mise en paillettes**

Lorsque la température de la semence diluée est abaissée jusqu'à 15°C, elle est placée dans une MRS (machine de remplissage et de soudure, Fig. 15) qui se trouve dans une chambre froide maintenue elle aussi à 15°C pour la mise en paillettes.

Les paillettes sont placées sur un chariot dans la machine MRS contenant la semence diluée. Le remplissage s'effectue par un mouvement de rapprochement des buses de remplissage et d'aspiration en direction des paillettes.

La machine commence alors à remplir les paillettes, en même temps à faire les soudures pour les boucher automatiquement des deux extrémités (la machine les sertit d'un côté par un bouchon, de l'autre par soudure à froid par ultrasons) afin de prévenir une perte quelconque durant le transport. Chaque paillette contient 350 à 400 millions de spermatozoïdes (ça dépend de la dilution) dans un volume de 0.25 ml.

Les paillettes sont alors prêtes pour l'insémination des brebis. Le temps maximal de conservation de la semence fraîche ne doit pas dépasser les 10 heures à l'abri de la lumière. Elles sont mises par la suite dans un thermos bien fermé pour le transport.

Le thermos contient une mousse imbibée d'eau à 15 °C avec, en son centre, un flacon d'acide acétique pour maintenir la température. Un thermomètre est ajouté afin que l'inséminateur puisse contrôler la température à tout moment.



**Figure 15** MRS ou machine de remplissage et de soudure.

#### **I.4.2.5. Insémination des brebis : IA classique (exocervicale)**

La réalisation de l'IA (insémination proprement dite) est l'étape finale d'une chaîne de procédures qui requiert une attention constante à tous les stades :

A l'inverse de l'IA intra-utérine où les spermatozoïdes issus de la semence congelée sont directement déposés dans les cornes utérines, afin de raccourcir leur chemin jusqu'au site de fécondation, l'IA classique dite exocervicale est pratiquée en utilisant de la semence fraîche (Fig. 16), déposée à l'extérieur du col de l'utérus à l'aide d'un spéculum et un pistolet dans lequel on peut placer une paillette contenant une dose de semence. Les différentes caractéristiques spermatisques joueront un rôle crucial dans la réussite de ce type d'IA.

##### **a. Nombre de spermatozoïdes**

*Semence fraîche*: une seule IA avec  $400 \times 10^6$  spermatozoïdes contenus dans une minipaillette de 0,25 ml.

*Semence congelée*: deux IA, chacune avec un total de  $450 \times 10^6$  spermatozoïdes contenus dans une paillette moyenne de 0,50 ml (total par œstrus =  $900 \times 10^6$  spermatozoïdes). Ces

deux paillettes peuvent être déposées en une seule fois (55 heures après retrait de l'éponge) ou en deux fois (50 et 60 heures après retrait).

Il faut noter que l'utilisation de la semence congelée nous fait perdre un pourcentage important du pouvoir fécondant des spermatozoïdes, et on essaie de le compenser en augmentant le nombre de spermatozoïdes par IA.



**Figure 16** Insémination d'une brebis par l'inséminateur du centre d'IA de *Belhandjir*

#### b. Qualité de la semence

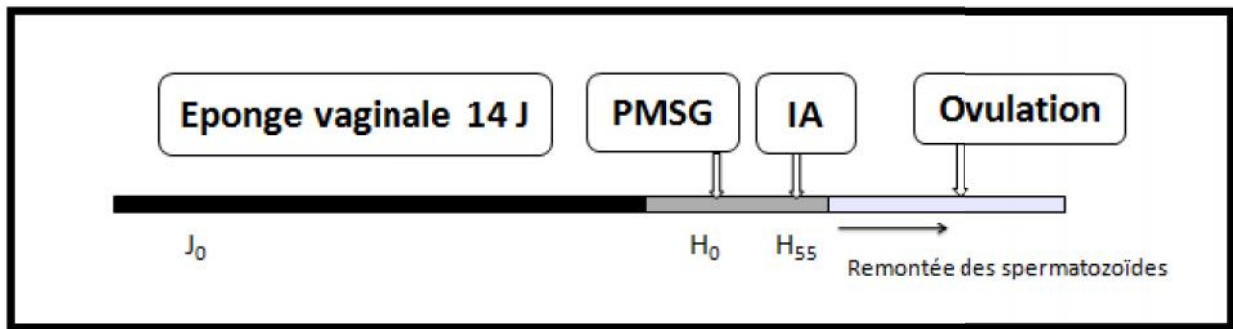
Comme mentionné plus haut, il est recommandé d'inséminer avec de la semence fraîche qui a une motilité massale de 4,0 sur 5,0 et un pourcentage de spermatozoïdes anormaux inférieur à 15 %; en semence congelée les mêmes caractéristiques sont applicables, avec en plus 15 % de cellules vivantes d'une motilité de 2 à 5, 180 minutes après dégel.

#### c. Moment de l'IA

Pour maximiser la fertilité, l'insémination doit se faire en fonction de l'heure moyenne d'ovulation des brebis synchronisées qui elle, dépend de la décharge ovulante de l'hormone LH. Chez la brebis, l'ovulation se fait en moyenne 22 h après le pic de LH. Les recherches démontrent également que l'insémination doit avoir lieu environ 6 h avant l'ovulation pour maximiser la fertilité. Avec la méthode des éponges vaginales, le pic moyen de LH survient

normalement vers 40 h (entre 36 et 48) après la fin du traitement progestatif (retrait de l'éponge) ; l'insémination se pratique donc vers  $55 \pm 2$  h après le retrait de l'éponge (40 h « pic de LH » + 22 h « ovulation » - 6 h « moment idéal pour l'insémination »).

Le protocole d'IA au niveau du centre *Belhandjir* se fait selon le schéma suivant :



**Figure 17** Protocole d'IA utilisé dans le centre d'IA *Belhandjir*

### I.4.3. Traitements

Durant toute l'expérience, le lot des béliers témoins BT a suivi un régime **R** à base d'orge et de fourrage et le deuxième lot BS a suivi un régime **R** + vitamines et minéraux (Un complément minéral et vitaminé ou CMV, issu de l'industrie). Ce complément alimentaire est composé de vitamines hydrosolubles (vitamines du complexe **B** et vitamine **C**), des vitamines liposolubles (A, D, E et K) et des minéraux tels que fer, cuivre, zinc, manganèse, phosphore et calcium, il contient aussi des bêtaïnes, et la méthionine. Pour plus d'information sur la composition, voir annexe 5.

Le supplément alimentaire est utilisé à raison de 15 jours sur 30 et à un dosage de 1,5% du régime **R** (orge + fourrage).

### I.4.4. Récoltes et analyses au laboratoire

Les béliers sont stimulés par la présence d'une brebis « bout en train » et les collectes sont faites à l'aide d'un vagin artificiel.

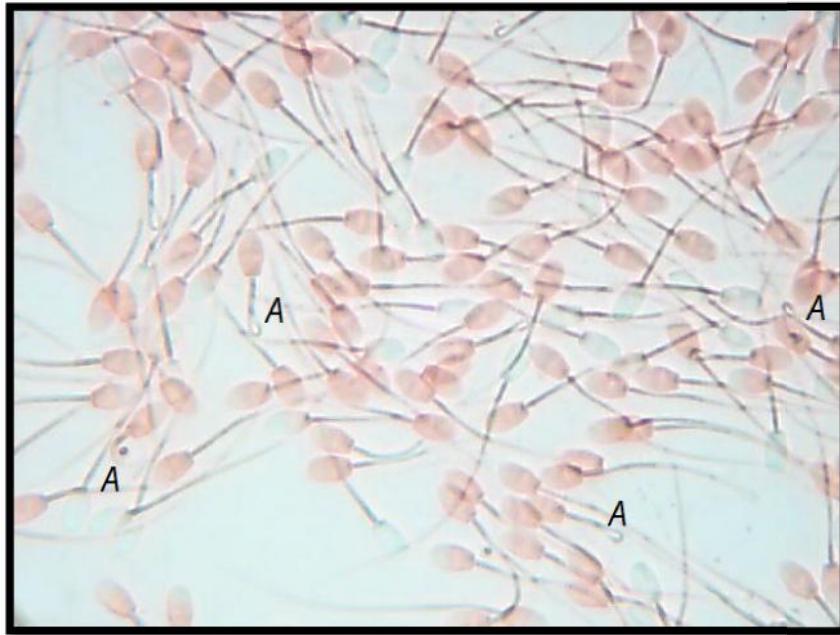
---

Trois mesures quantitatives sont déduites sur l'ensemble des collectes pour chaque lot de béliers : le volume est lu à l'aide d'un tube gradué, la concentration est déterminée par spectrophotométrie et le nombre de doses produites comptés à la fin des collectes.

Trois valeurs qualitatives sont déterminées pour l'ensemble des collectes pour chaque lot de béliers : le pourcentage des spermatozoïdes morts, le pourcentage des spermatozoïdes anormaux (le taux de spermatozoïdes morts et anormaux sont déterminés après une coloration à l'Eosine en prenant en compte 200 cellules par éjaculat (Fig. 18 et 19), et la motilité massale, qui est évaluée au microscope à partir d'une goutte non diluée ni colorée de sperme, elle est notée sur une échelle continue de 0 (immobilité totale) à 5 (courant vif avec remous). La semence est ensuite diluée et conditionnée dans des paillettes contenant 350 millions de spermatozoïdes chacune.

Les cellules colorées en rose représentent des spermatozoïdes morts, les cellules non colorées sont vivantes à cause du phénomène de l'exclusion qui permet à la cellule vivante de pomper continuellement le colorant à savoir l'éosine en dehors de la cellule.

Les cellules représentées par la lettre « A » sont celles présentant des anomalies, qui sont comptées dans notre cas avec les cellules mortes afin de déduire leurs pourcentages en prenant en compte 200 cellules par chaque comptage.



**Figure 18** Observation au microscope des spermatozoïdes (G x400) colorés à l'éosine chez un bélier témoin.



**Figure 19** Observation au microscope des spermatozoïdes (G x400) colorés à l'éosine chez un bélier supplémenté.



---

## I.5. Résultats et discussion

Nous avons divisé nos différents résultats en effet quantitatif et effet qualitatif des suppléments alimentaires sur les différentes caractéristiques spermatiques. Nous nous sommes aussi basés sur l'effet des suppléments sur le nombre de doses produites, qu'il s'agit du nombre total cumulé ou la moyenne des doses produites.

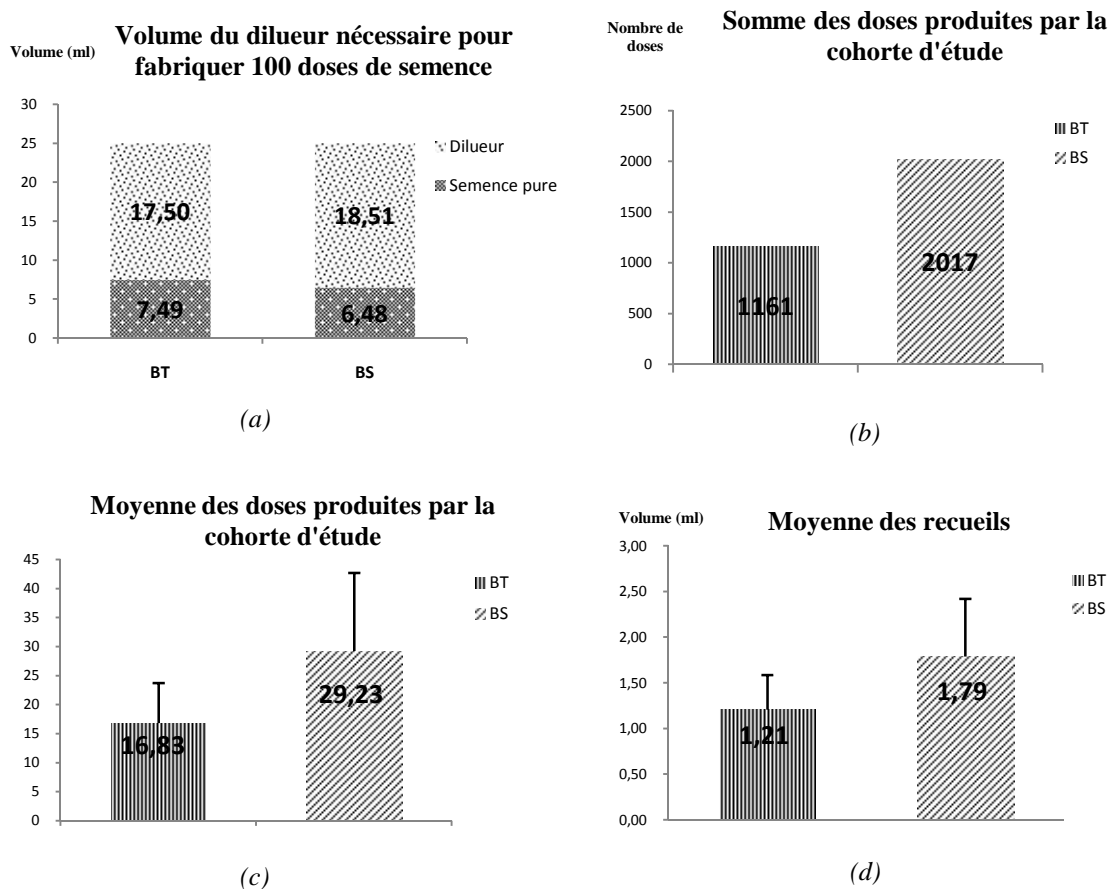
Seuls les taux de spermatozoïdes morts et le taux ceux présentant des anomalies n'ont pas été étudiés chez les deux races *Hamra* et *Rumbi* (nos échantillons n'étaient pas assez représentatifs quant à ces deux paramètres). Il n'y avait pas de recueils intensifs quant à ces deux races.

Nos résultats de la race *Ouled Djellal* sont ceux qui sont les plus représentatifs.

---

## **Chapitre II : Etude qualitative et quantitative**

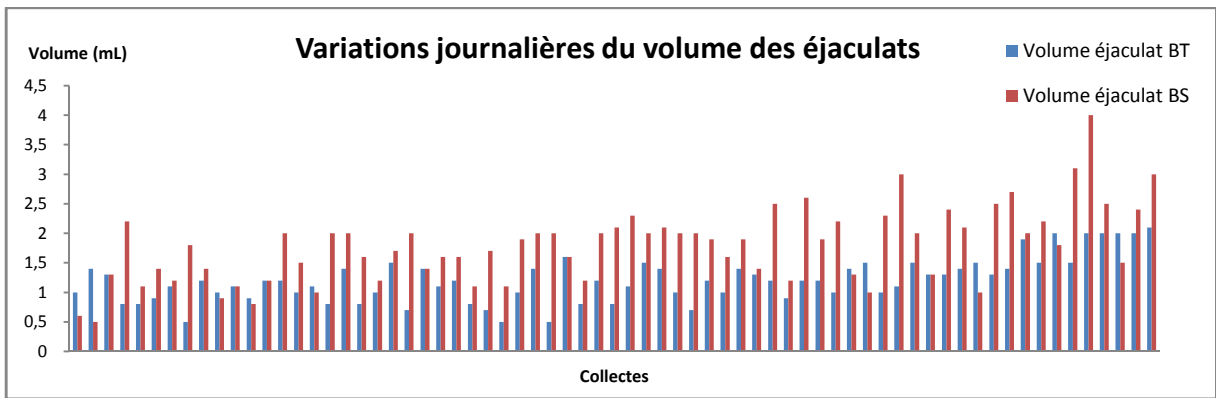
## II.1. Effet quantitatif des suppléments alimentaires



**Figure 20** Graphes représentant l'effet de la supplémentation sur, les doses de semence produites (*a*, *b* et *c*), et la moyenne des volumes de recueil (*d*)

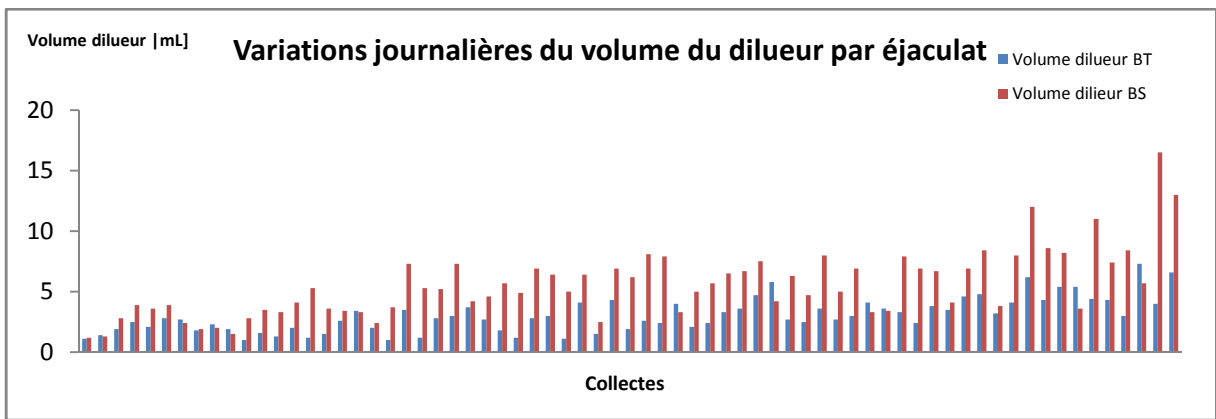
### II.1. 1. Variations journalières des caractéristiques spermatiques quantitatives

Les variations quantitatives journalières enregistrées chez les deux lots de la cohorte d'études à savoir les béliers témoins BT et supplémentés BS présentaient des variabilités distinctives et apparentes (Fig. 21, 22 et 23).



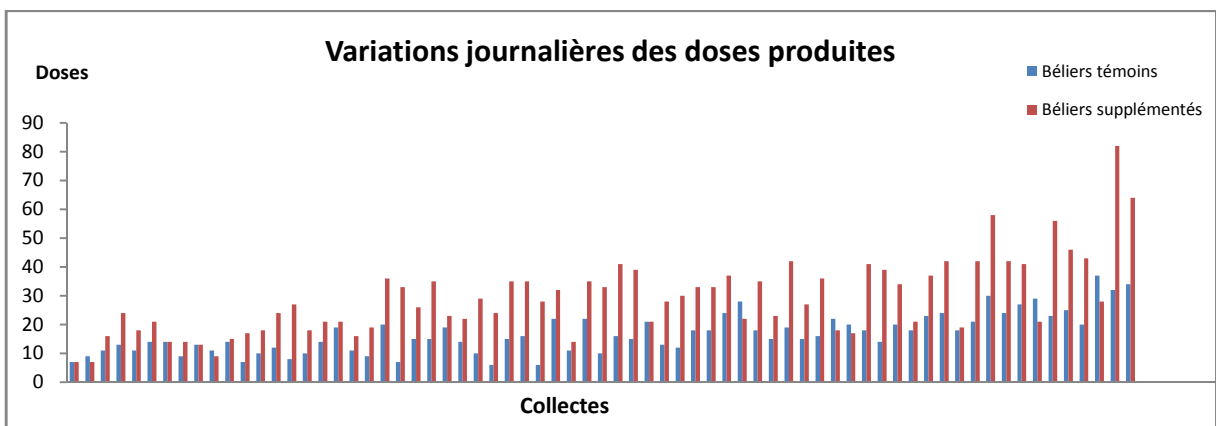
*Semaines -6 = Début de la supplémentation ; Semaines 0 = Début des collectes ; 15 = fin de la récolte régulière.*

**Figure 21** Volume des collectes journalières des béliers témoins et supplémentés



*Semaines -6 = Début de la supplémentation ; Semaines 0 = Début des collectes ; 15 = fin de la récolte régulière.*

**Figure 22** Volume du dilueur des collectes journalières des béliers témoins et supplémentés



*Semaines -6 = Début de la supplémentation ; Semaines 0 = Début des collectes ; 15 = fin de la récolte régulière.*

**Figure 23** Doses produites journalières chez les béliers témoins et supplémentés

## II.1. 2. Effet d'un important supplément alimentaire sur le rendement séminal

Le Tableau 9 présente respectivement, la somme cumulée des doses produites, la moyenne du volume des éjaculats, ainsi que les volumes de la semence et le dilueur contenus dans 100 doses de semence (moyenne  $\pm$  écart-type) des béliers témoins, et supplémentés pour la durée de l'expérimentation (2012).

**Tableau 9** Données sur les doses produites

	BT (n=69)	BS (n=69)
<b>Somme des doses</b>	1161	2017
<b>Moyenne du volume des éjaculats (mL)</b>	1,21 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	1,79 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>
<b>Concentration (10<sup>9</sup> /mL)</b>	4,96 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>	5,64 $\pm$ 1,23 <sup>b</sup>
<b>Moyennes des doses</b>	16,83 $\pm$ 6,92 <sup>a</sup>	29,23 $\pm$ 13,47 <sup>b</sup>
<b>Volume du dilueur (mL)/100 doses</b>	17,50 $\pm$ 1,39 <sup>a</sup>	18,51 $\pm$ 2,78 <sup>b</sup>
<b>Volume de la semence (mL)/100 doses</b>	7,49 $\pm$ 1,39 <sup>a</sup>	6,48 $\pm$ 2,78 <sup>b</sup>

*Les valeurs avec lettres différentes dans la même ligne, sont significativement différentes au seuil  $P < 0,01$ .*

Le volume chez le lot BS est différent significativement par rapport à celui observé chez le lot BT, une augmentation d'environ 47%, 1,79 $\pm$ 0,63 mL vs 1,21 $\pm$ 0,37 mL,  $P < 0,01$ , (Tableau 9), ce qui a augmenté systématiquement le nombre de doses produites vu la corrélation qui existe entre les deux paramètres (Fig. 26, 27).

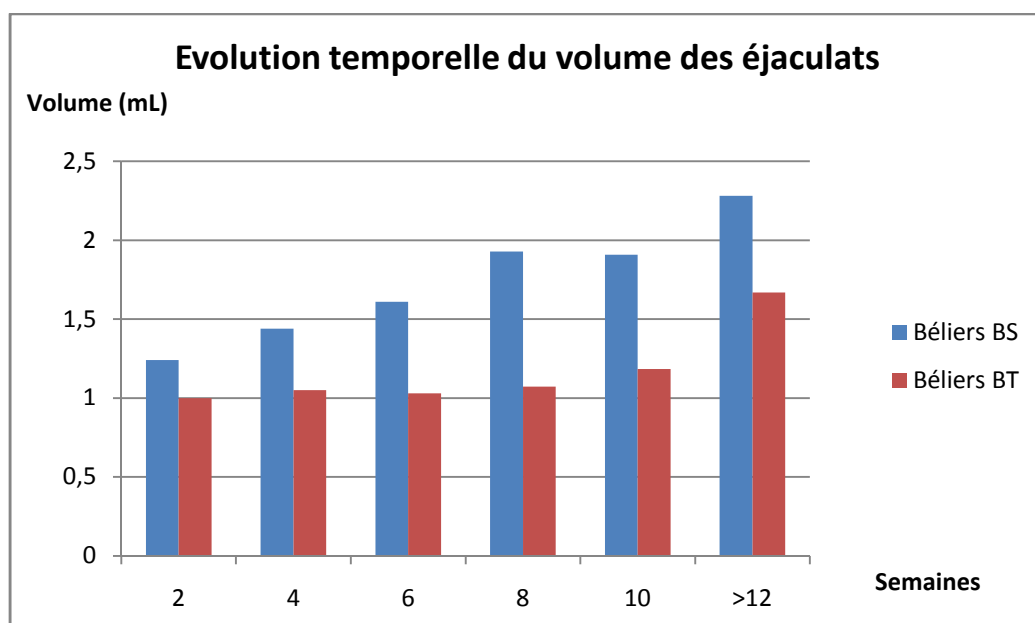
L'augmentation chez les des deux lots, du volume des recueils, est censée augmenter le nombre des doses produites. Une différence hautement significative est constatée dans le calcul de la moyenne des doses produites par le lot des béliers BS comparé aux béliers du

lot BT ( $P < 0,01$ ), les moyennes sont respectivement  $29,23 \pm 13,47$  et  $16,83 \pm 6,92$  (Tableau 10).

### II.1. 3. Evolution temporelle des caractéristiques spermatiques

#### II.1. 3. 1. Evolution temporelle du volume des éjaculats

La Fig. 24 présente l'évolution temporelle de la moyenne du volume des éjaculats observés chez les animaux traités et témoins entre Février et juin 2012.



**Figure 24** Evolution temporelle du volume des éjaculats des béliers des lots BT et BS.

Le Tableau 10 présente les valeurs de volume des éjaculats (moyenne  $\pm$  écart-type) des 5 béliers traités et des 5 béliers témoins de race *Ouled Djellal* pour la période de collecte régulier (>12 semaines).

**Tableau 10** Moyennes bimensuelles du volume des éjaculats des béliers supplémentés BS et témoins BT

Semaines	2	4	6	8	10	>12
Recueils	10	10	10	11	12	16
Volume BS (mL)	1,24±0,5 <sup>a</sup>	1,44± 0,44 <sup>a</sup>	1,61±0,32 <sup>a</sup>	1,92±0,29 <sup>a</sup>	1,90± 0,62 <sup>a</sup>	2,28± 0,73 <sup>a</sup>
Volume BT (mL)	1,00± 0,26 <sup>a</sup>	1,05± 0,19 <sup>b</sup>	1,03±0,34 <sup>b</sup>	1,07±0,35 <sup>b</sup>	1,18± 0,18 <sup>b</sup>	1,66± 0,41 <sup>b</sup>

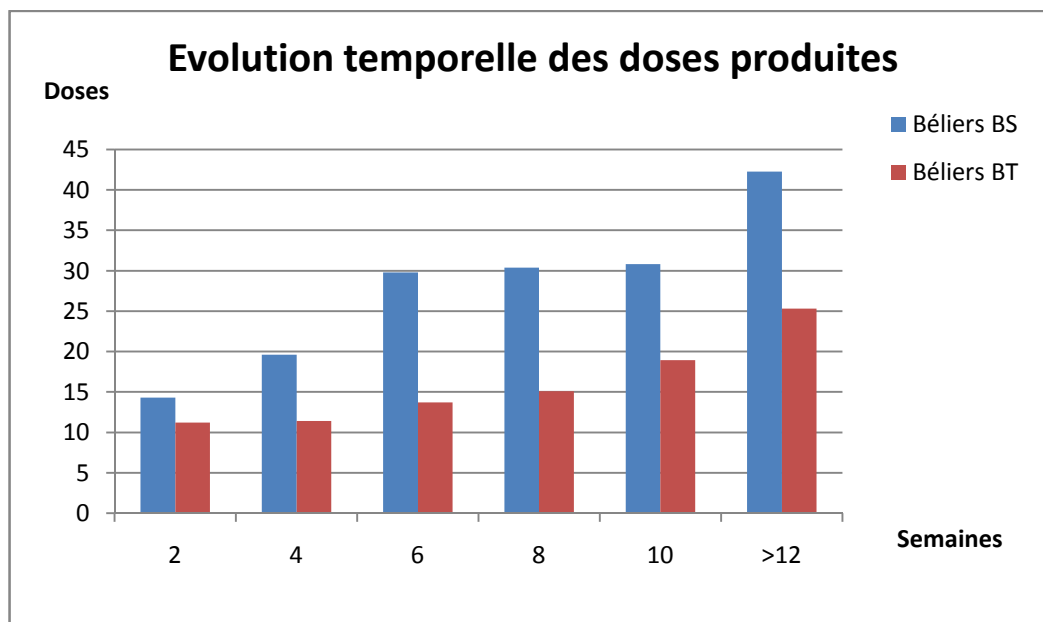
*Les valeurs avec lettres différentes dans la même colonne, sont significativement différentes au seuil  $P < 0,05$ .*

En suivant l'évolution des moyennes du volume, chez le lot BS, on constate avec le temps une évolution positive.

L'évolution des moyennes du volume chez le lot des béliers BT est positive aussi. La même chose a été observée dans l'évolution journalière du volume des éjaculats pour les deux lots de béliers témoins (BT) et supplémentés (BS). Voir Fig. 21.

### II.1. 3. 2. Evolution temporelle des doses produites

La Fig. 25 présente l'évolution temporelle de la moyenne des doses de semence produites observées chez les animaux traités et témoins entre Février et juin 2012.



**Figure 25** Evolution temporelle des doses produites des béliers des lots BT et BS.

Une évolution positive des doses a été observée chez les deux lots de béliers, qu'ils soient supplémentés ou non (Fig. 25). La même chose a été observée dans l'évolution journalière des doses pour les deux lots de béliers témoins (BT) et supplémentés (BS). Voir Fig. 23.

**Tableau 11** Moyennes bimensuelles des doses produites des béliers supplémentés BS et témoins BT

Semaines	2	4	6	8	10	>12
Recueils	10	10	10	11	12	16
Doses BS	14,3±5,69 <sup>a</sup>	19,6±3,71 <sup>a</sup>	29,8±5,63 <sup>a</sup>	30,36±7,69 <sup>a</sup>	30,83±9,00 <sup>a</sup>	42,25±16,83 <sup>a</sup>
Doses BT	11,2±2,34 <sup>a</sup>	11,4±3,53 <sup>b</sup>	13,7±4,66 <sup>b</sup>	15,09±5,28 <sup>b</sup>	18,91±4,10 <sup>b</sup>	25,31±5,72 <sup>b</sup>

*Les valeurs avec lettres différentes dans la même colonne, sont significativement différentes au seuil  $P < 0,05$ .*

L'évolution positive du volume et du nombre de doses produites est indépendante à la supplémentation, elle est observée aussi chez les béliers témoins (Tableau 10 et 11).



Les plus grandes valeurs ont été observées en fin d'expérimentation (les dernières semaines, en mois de mai et début juin), mais cette observation a été coïncidée aussi chez les béliers non supplémentés. Il paraît que cette augmentation est en relation directe avec la saison, vu que les dernières semaines coïncident avec les mois de mai et juin dans notre étude. Boucif et al., (2007) ont expliqué ces variations, mais ils l'ont relié à la disponibilité ou non de l'alimentation. Plusieurs auteurs ont déjà rapporté l'effet d'une sous alimentation sur les performances de reproduction chez le bélier (Thwaites, 1995). Dans nos conditions d'élevage, les disponibilités alimentaires étant suffisantes durant toute l'expérience, la seule différence est que le groupe des béliers BS soient supplémentés par un complément alimentaire, cette évolution positive des paramètres quantitatifs étudiés pour les deux groupes de béliers, supplémentés et témoins, nous fait penser à l'effet de la saison (effet de la photopériode), plusieurs auteurs ont étudié l'influence de la durée d'éclairage, ou photopériodisme, sur la production et la fécondance des spermatozoïdes chez le bélier adulte (Colas, G. et al., 1985 et 1986, Mandiki S.N.M. et al., 1998), d'après Colas et al., le photopériodisme a un effet important sur la production de sperme éjaculé et de la fertilité chez les béliers.

#### **II.1. 4. Effet de la fréquence de récolte sur le rendement séminal**

Malgré cette absence d'effet des suppléments vitaminiques chez les béliers témoins, l'augmentation de fréquence de récolte de 2 à 3 et 4 fois par semaine ne diminue pas, significativement, la production spermatique par éjaculat mais augmente de 21 % la production de doses cumulative après 3 fois/semaine et 61% à 4 fois/semaine. Et ce, sans que la qualité spermatique ne soit altérée (Tableau 12).

**Tableau 12** Effet de la fréquence de récolte sur le rendement séminal des béliers témoins

Fréquence de récolte	Doses /Ejaculat	Doses produites	Volume / Ejaculat (mL)	Production / Ejaculat (10 <sup>9</sup> spzs)	Motilité
2 fois/semaine	16,62±5,52 <sup>a</sup>	665	1,21±0,32 <sup>a</sup>	6,24±1,79 <sup>a</sup>	4,29±0,29 <sup>a</sup>
3 fois/semaine	16,79±5,35 <sup>a</sup>	806	1,20±0,30 <sup>a</sup>	5,89±1,56 <sup>a</sup>	4,29±0,27 <sup>a</sup>
4 fois/semaine	16,75±5,32 <sup>a</sup>	1072	1,19±0,30 <sup>a</sup>	5,85±1,81 <sup>a</sup>	4,27±0,23 <sup>a</sup>

*Semaines -6 = Début de la supplémentation ; Semaines 0 = Début des collectes ; 15 = fin de la récolte régulière ; 28 = fin de la récolte intensive. Valeurs avec les même lettres sur la même colonne, ne sont pas différentes significativement entre elles, p<0,05.*

Chez les béliers supplémentés, l'augmentation de fréquence de récolte de 2 à 3, et 4 fois par semaine ne diminue non plus la production spermatique par éjaculat mais augmente aussi de 21 % la production de doses cumulative après 3 fois/semaine et 67% à 4 fois/semaine. Et ce, sans que la qualité spermatique ne soit aussi altérée (Tableau 13).

**Tableau 13** Effet de la fréquence de récolte sur le rendement séminal des béliers recevant des suppléments alimentaires

Fréquence de récolte	Doses/ Ejaculat	Doses produites	Volume/ Ejaculat (mL)	Production/ Ejaculat (10 <sup>9</sup> spzs)	Motilité
2 fois/semaine	27,25±6,57 <sup>a</sup>	1090	1,71±0,32 <sup>a</sup>	9,49±2,42 <sup>a</sup>	4,49±0,06 <sup>a</sup>
3 fois/semaine	27,56±7,49 <sup>a</sup>	1323	1,74±0,30 <sup>a</sup>	9,83±2,83 <sup>a</sup>	4,48±0,05 <sup>a</sup>
4 fois/semaine	28,59±8,48 <sup>a</sup>	1830	1,83±0,39 <sup>a</sup>	10,30±3,10 <sup>a</sup>	4,48±0,04 <sup>a</sup>

*Semaines -6 = Début de la supplémentation ; Semaines 0 = Début des collectes ; 15 = fin de la récolte régulière ; 28 = fin de la récolte intensive. Valeurs avec les même lettres sur la même colonne, ne sont pas différentes significativement entre elles, p<0,05.*

Des études similaires ont montré que des suppléments massifs de vitamines liposolubles (A, D, E et K) et hydrosolubles (vitamines du complexe B), qui ont été administrés à de jeunes verrats, peuvent augmenter la quantité totale de spermatozoïdes produits et ce, particulièrement après des récoltes intensives quotidiennes sur des périodes dites de stress (Isabelle Audet, et al., 2002). D'après certaines études la vitamine E dans le régime alimentaire peut améliorer la densité des cellules de la spermatogenèse, cellules de Sertoli, diamètre du tube et l'épaisseur de l'épithélium germinifère surtout à un taux de 200UI (Hailing L., et al., 2011).

La production spermatique totale chez le lot BS récoltés 4 fois par semaine est de 1830 doses, soit en moyenne une production de  $28,59 \pm 8,48$  doses par béliers comparativement à 1072 doses chez ceux du lot BT récoltés de la même fréquence, soit en moyenne une production de  $16,75 \pm 5,32$  doses par béliers (Tableaux 12 et 13). Cela représente donc une production de 758 doses supplémentaires par le lot BS, soit une augmentation de 12 doses par bélier, sur des récoltes faites en après 12 semaines de récoltes intensives, et 15 semaines de récoltes régulières.

La fréquence des recueils n'a pas eu d'effets significatifs après 2, 3 ou 4 collectes par semaine. L'effet des suppléments alimentaires paraît plus utile pour les collectes supérieures à la normal, une légère amélioration de la quantité spermatique a été observée mais il n'y a pas eu de différences significatives notables dans le volume, le nombre des doses produites ou la production spermatiques (Tableau 13).

#### **II.1. 4. Impact du recueil intensif sur la quantité de la semence**

Dans les Tableaux 12 et 13 y il n'y a pas de différences significatives entre les moyennes des différents paramètres étudiés (paramètres quantitatifs).

L'utilisation des suppléments alimentaires n'a pas d'effet avantageux sur le recueil intensif, il semble que l'absence des suppléments chez les béliers témoins n'a pas eu d'impact quant à la fréquence des recueils, qu'elle soit deux, trois ou quatre fois par semaine, le nombre de doses, le volume ainsi que la concentration avaient des moyennes très proches (les différences ne sont pas significatives).

L'effet d'un recueil intensif sur la quantité de la semence est totalement inexistant. Les recueils de semence sur les béliers peuvent être quotidiens sans que la quantité spermatique soit touchée.

## II.2. Effet qualitatif des suppléments alimentaires

La motilité observée chez les deux lots de béliers BT et BS a changé significativement après suppléments alimentaires des béliers de la cohorte d'étude ( $4,28 \pm 0,37$  chez le lot BT, et  $4,35 \pm 0,23$  chez le lot BS avant la supplémentation, contre  $4,49 \pm 0,08$  chez le lot BS après supplémentation, ( $P < 0,0001$ ).

Le taux des spermatozoïdes morts ainsi que le taux des anomalies comptés chez les deux lots BT et BS, avant et après supplémentation, n'ont pas présenté de changements significatifs après analyse statistiques (Tableau 14).

Les valeurs sont respectivement :  $35,14 \pm 9,01$  vs  $35,56 \pm 7,89$ ,  $P > 0,6$  pour le taux de spermatozoïdes morts, et  $4,68 \pm 1,81$  vs  $4,85 \pm 0,84$ ,  $P > 0,4$  pour le taux des spermatozoïdes présentant des anomalies. Les résultats sont mitigés quant à l'effet qualitatif des suppléments alimentaires sur la semence produite chez les béliers, le pourcentage des spermatozoïdes morts et anormaux n'ont pas présenté de différences significatives alors que la motilité avait changé significativement et comparativement chez les deux lots de la cohorte d'étude. Les valeurs pour la motilité sont respectivement pour les lots de béliers BT et BS:  $4,28 \pm 0,37$  vs  $4,35 \pm 0,23$  avant et  $4,49 \pm 0,08$  après,  $P < 0,0001$ .

Une diminution anormale notamment en zinc entraîne une diminution de la motilité de spermatozoïdes (Martin G. B. et White, C. L., 1992), la présence du zinc ajouté par le biais du complément minérale et vitaminé pourrait avoir un effet direct sur ces résultats observés.

La vitamine C pourrait aussi avoir un effet sur la motilité des spermatozoïdes. Des injections de la vitamine C pendant 90 jours ont augmenté la motilité des spermatozoïdes et l'effet était encore évident jusqu'à 30 jours après l'arrêt des injections chez le bouc (Fazeli P. et al., 2010). Le pourcentage de spermatozoïdes vivants a montré des tendances similaires, les doses étaient

également efficaces dans la réduction du pourcentage de spermatozoïdes anormaux d'après cette même étude. Chose qui n'a pas été confirmée par le biais de notre étude.

Ces données actuelles indiquent l'importance de la vitamine C dans la reproduction des boucs, comme également représenté pour plusieurs espèces de mammifères.

**Tableau 14** Caractéristiques qualitatives de la semence de la cohorte d'étude (moyenne  $\pm$  écart-type).

Lots de béliers	Motilité	Spermatozoïdes morts (%)	Spermatozoïdes anormaux (%)
Lot BT (n=69)	4,28 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	35,14 $\pm$ 9,01 <sup>a</sup>	4,68 $\pm$ 1,81 <sup>a</sup>
Lot BS avant (n=25)	4,35 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	35,08 $\pm$ 6,24 <sup>a</sup>	4,59 $\pm$ 1,65 <sup>a</sup>
Lot BS après (n=69)	4,49 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	35,56 $\pm$ 7,89 <sup>a</sup>	4,85 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>

*Valeurs avec lettres différentes sur la même colonne, sont différentes significativement entre elles, P<0,05.*

Les taux des spermatozoïdes morts comptés chez les deux lots BT et BS (avec des collectes prises avant et après supplémentation) n'ont pas présenté de différences significatives après analyse statistiques, P>0,6. Les pourcentages de spermatozoïdes morts n'ont pas présenté aussi de différences significatives, P>0,4, alors que la motilité est différente significativement et comparativement chez les deux lots de la cohorte d'étude, P<0,0001 (Tableau 14).

### II.3. Taux de réussite des brebis inséminées par la semence issue de béliers supplémentés

Une autre expérience était réalisée en parallèle et qui consiste en de différentes IA pratiquées sur des brebis choisies dans le centre afin de chercher à savoir quel sera le taux de réussite de la semence issue des deux lots de béliers BT et BS. Trois IA ont été réalisées, en début, au milieu, et à la fin de l'expérience sur trois lots de brebis homogènes composés chacun de deux groupes d'effectifs égaux, le premier sera inséminé par de la semence produite par le lot de

bélier BT, et le deuxième par la semence issue du lot de béliers BS (Le groupe *a* est inséminé par la semence issue des béliers BT, et le groupe *b* par de la semence issue du lot BS).

La semence a été utilisée fraîche et conservée dans le lait de vache écrémé.

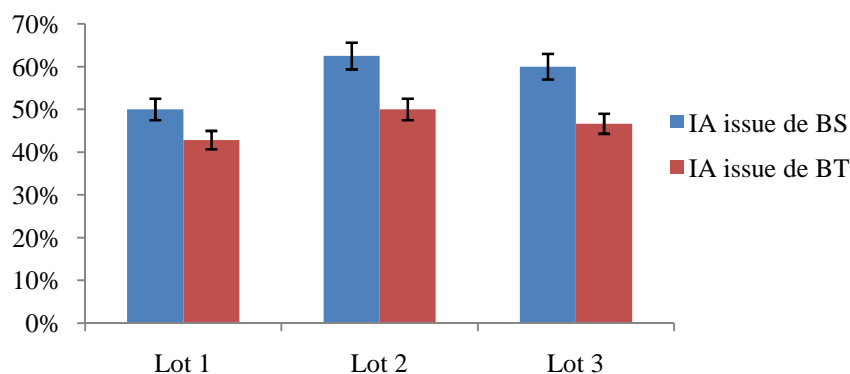
**Tableau 15** Taux de réussite des IA chez les trois lots de brebis.

	Lot de brebis 1		Lot de brebis 2		Lot de brebis 3	
	(n=28)		(n=32)		(n=30)	
	Groupe <i>a</i>	Groupe <i>b</i>	Groupe <i>a</i>	Groupe <i>b</i>	Groupe <i>a</i>	Groupe <i>b</i>
<b>IA</b>	42,85%	50,00%	50,00%	62,50%	46,66%	60,00%

*Semaines -6 = début de la supplémentation ; Semaines 0 = début des collectes ; Semaines 2 = début de l'insémination. Valeurs avec lettres différentes sur la même ligne et dans la même colonne, sont différentes significativement entre elles,  $P < 0,05$ .*

Le groupe *a* dans chaque lot de brebis est inséminé par la semence issue du lot de béliers BT, alors que le groupe *b* est inséminé par de la semence issue du lot BS.

**Taux de réussite des IA issue des béliers BT ou BS**



---

**Figure 26** Taux de réussite des IA observées chez les brebis inséminées par de la semence issue du lot de béliers BT ou BS.

Les taux de réussite des différentes IA réalisées par la semence des béliers du lot BS étaient meilleurs que ceux pratiquées par la semence des béliers du lot BT (Fig. 26), les différences ne sont néanmoins pas significatives,  $P > 0,4$  (Tableau 15).

Les suppléments alimentaires nous ont permis d'avoir une semence plus concentrée, ce qui est à l'origine de l'augmentation du volume du dilueur ajouté. Une semence contenant plus de conservateur (le lait de vache écrémé est le dilueur utilisé lors de la fabrication des paillettes) pourrait être à l'origine des taux de réussite satisfaisants des IA observées ou peut être cette amélioration des taux de réussite, quoique non significative, pourrait être en relation avec la différence entre la motilité des spermatozoïdes des deux lots BS et BT, qui quant à elle, a été jugée significative (Tableau 14).

Les résultats des taux de réussites étaient à l'inverse de ce qu'on a stipulé dans l'hypothèse. On pensait qu'une semence moins concentré requiert moins de dilueur et contiendrait plus de plasma séminal qui pourrait être à l'origine de taux de réussite satisfaisant.

A l'inverse de notre hypothèse une semence plus concentrée avec plus de dilueur ajouté est à l'origine des résultats supérieurs observés (les différences ne sont pas significatives,  $P > 0,4$ ).

---

### **Chapitre III : Etude de la production de doses de semence**



### III.1. Dépendance des doses produites et du volume du recueil

Les processus de la corrélation varient entre 0,80 chez les géniteurs témoins et 0,84 chez les géniteurs supplémentés, une corrélation positive et moyennement forte a été observée entre le volume des recueils et les doses de semence produites (Fig. 27 et 28), les corrélations sont très proches chez les deux lots de béliers (la différence n'est pas significative,  $P > 0,05$ ,  $P = 0,45$ , après transformation de Fisher ou test d'homogénéité sur Statistica,  $z = 0,77$  et  $z$  testé égale à 1,96 après utilisation de l'annexe 3).

L'augmentation, chez les des deux lots, du volume des recueils, est censée augmenter le nombre des doses produites. Le volume chez le lot BS est différent significativement par rapport à celui observé chez le lot BT, une différence d'environ 47%,  $1,79 \pm 0,63$  mL vs  $1,21 \pm 0,37$  mL,  $P < 0,0001$ , (Fig. 22), ce qui a augmenté systématiquement le nombre de doses produites vu la corrélation qui existe entre les deux paramètres (Fig. 27, 28).

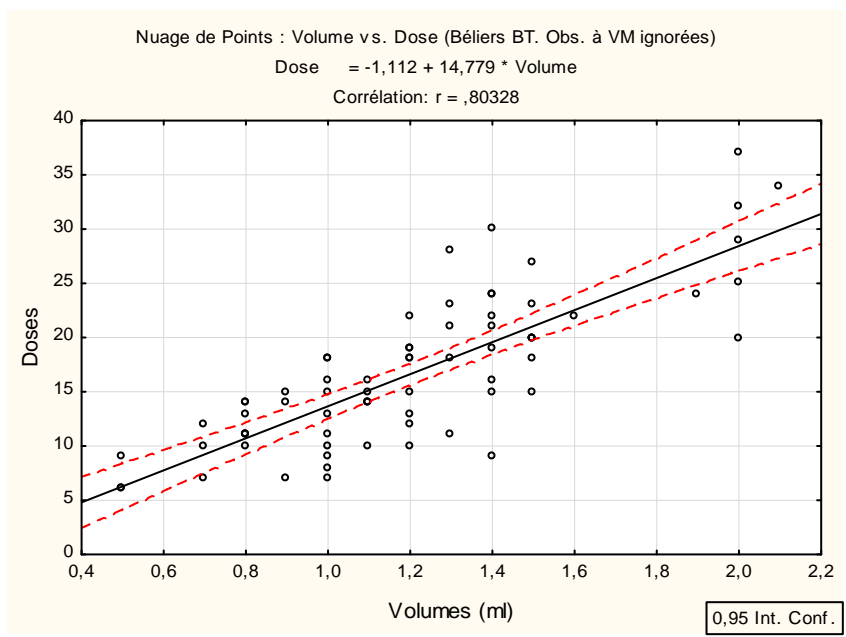


Figure 27 Corrélation entre les doses produites et le volume du recueil chez le lot BT.

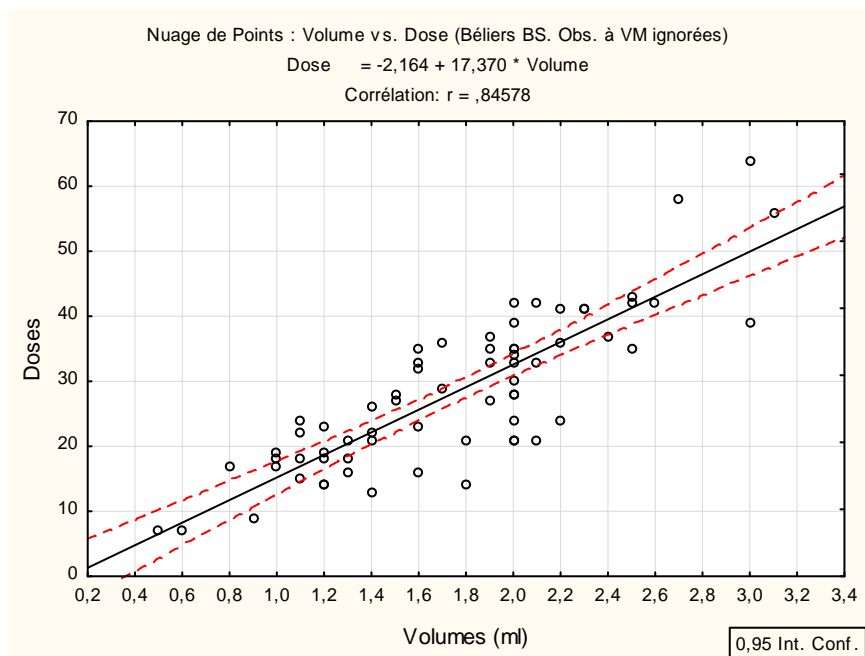


Figure 28 Corrélation entre les doses produites et le volume du recueil chez le lot BS.

---

## III.2. Dépendances des doses produites et de la concentration des recueils

Une corrélation positive moyenne a été observée entre les doses produites et la concentration de la semence des géniteurs, (Fig. 29 et 30):

- Corrélation moyennement positive des géniteurs témoins ( $r = 0,56$ ).
- Corrélation moyennement positive des géniteurs supplémentés ( $r = 0,58$ )

A la différence du volume de sperme, la concentration en spermatozoïdes des éjaculats est moyennement liée à la production de doses de semence.

La différence est non significative, après transformation de Fisher ( $P > 0,05$ ,  $P = 1,13$ ,  $z = 0,17$  et  $z' = 1,96$  en utilisant le calcul de l'annexe 3).

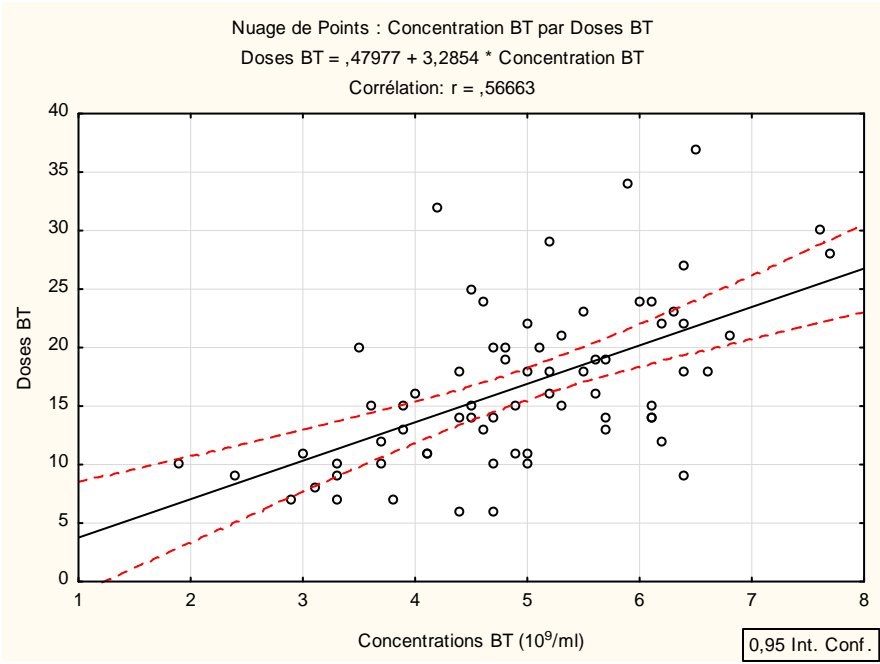


Figure 29 Corrélation entre la concentration de la semence et le nombre de doses produites chez les béliers témoins.

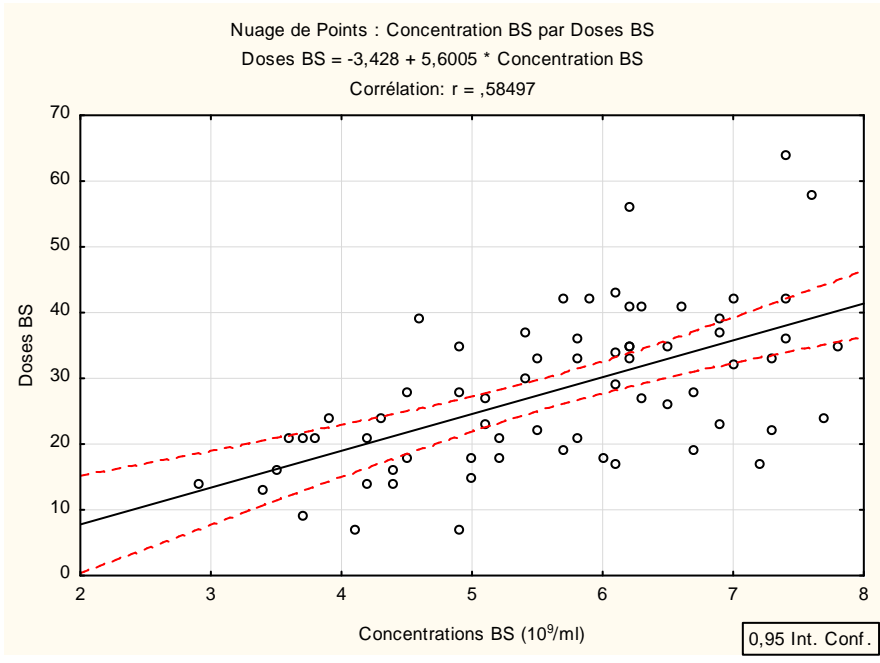


Figure 30 Corrélation entre la concentration de la semence et le nombre de doses produites chez les béliers supplémentés.

### III.3. Production de 100 doses de semence

Une dose est composée d'environ 70 % de dilueur (ou conservateur) d'après le graphe de la Fig. 20, *a* et le Tableau 9 (70 % chez les témoins et 74,04 chez les béliers supplémentés). La quantité du dilueur utilisé est différente après supplémentation alimentaire chez les géniteurs de la cohorte d'étude.

Le volume du dilueur nécessaire à la fabrication de 100 doses, soit un volume de 25 mL, est différent significativement entre les deux lots de béliers BT et BS ( $P=0,007$ ). Le volume du dilueur consommé est de  $17,50 \pm 1,39$  pour 25 mL chez les témoins contre  $18,52 \pm 2,78$  sur 25 mL chez les béliers reproducteurs supplémentés (Fig. 20, *a* et Tableau 9), ce qui nous revient à une consommation de 8,73 mL de dilueur en plus chez les béliers du lot BS par rapport au lot BT (2017 doses produites contre 1161), soit une différence entre les deux lots du volume du dilueur de 1% (observé dans 100 doses).

L'utilisation des suppléments alimentaires (composés de vitamines et de minéraux) ne nous permet pas de réduire le volume du dilueur nécessaire à la fabrication des doses de semence, une augmentation du volume du dilueur de 1% a été observée après 15 semaines de collectes régulières, par conséquent, la supplémentation nous permet peut-être une dissémination à plus grande échelle du potentiel génétique supérieur des béliers reproducteurs sélectionnés, mais elle ne nous a pas permis à réduire les coûts de la production des doses de semence. Par contre la réduction des coûts de production de semence peut être envisagé d'une autre manière, en augmentant le nombre de doses par géniteurs pourrait nous faire penser à réduire le nombre de béliers utilisés, et par conséquent de diminuer leurs frais d'alimentation aussi.

### III.4. Rendement de la production de doses

Les doses produites présentent des différences très significatives dans la cohorte d'étude après 69 collectes.

---

L'effet de supplémentation est très marqué chez les béliers issus du lot BS après recueil normal, une différence hautement significative est constatée dans le calcul de la moyenne des doses produites par le lot des béliers BS comparé aux béliers du lot BT ( $P < 0,0001$ , Fig. 20, *c*). L'utilisation des suppléments alimentaires nous a permis d'avoir un nombre cumulé de doses plus important (2017 contre 1161 doses,  $n=69$ ), soit une différence d'environ 73% des doses produites du lot BS par rapport au lot BT (Fig. 20, *b*).

## **Chapitre IV : Données sur les races principales**

Les caractéristiques spermatiques étudiées pour les trois races principales à savoir la race *Ouled Djellal*, la race *Hamra* et la race *Rumbi* sont le volume, la concentration, et la motilité en plus de ces paramètres nous avons calculé le nombre de doses produites par chaque bélier utilisé.

Seule la motilité est considérée comme caractéristique qualitative, le taux des spermatozoïdes morts ainsi que le taux des anomalies des spermatozoïdes n'ont pas été étudiés par manque d'échantillons représentatifs.

## IV.1. Variation des caractéristiques spermatiques des géniteurs des trois races principales

### IV.1. 1. Chez la race *Ouled Djellal*

**Tableau 16** Variations moyennes des caractéristiques spermatiques individuelles et données sur des béliers supplémentés de la race *Ouled Djellal*.

Béliers	Recueils	Volume semence	Volume dilueur	Doses	Concentration	Motilité
<b>OD BS</b>	69	1,79±0,63 <sup>a</sup>	5,57±2,77 <sup>a</sup>	29,23±3,47 <sup>a</sup>	5,64±1,23 <sup>a</sup>	4,49±0,08 <sup>a</sup>
<b>OD BT</b>	69	1,21±0,37 <sup>b</sup>	3,04±1,39 <sup>b</sup>	16,83±6,92 <sup>b</sup>	4,94±1,19 <sup>b</sup>	4,28±0,37 <sup>b</sup>

Valeurs avec lettres différentes sur la même colonne, sont différentes significativement entre elles,  $p < 0,05$ .

OD : *Ouled Djellal*.

Les différences entre les différents paramètres qualitatifs ont été significatives.

La différence entre les valeurs de la motilité (caractéristique qualitative) était significative.



### IV.1.2. Chez la race *Hamra*

**Tableau 17** Variations moyennes des caractéristiques spermatiques individuelles et données des béliers supplémentés de la race *Hamra*.

Béliers	Recueils	Volume semence	Volume dilueur	Doses	Concentration	Motilité
<b>Hr BS</b>	15	1,16± 0,29 <sup>a</sup>	4,95± 1,83 <sup>a</sup>	23,73± 9,55 <sup>a</sup>	7,09± 1,32 <sup>a</sup>	4,43± 0,17 <sup>a</sup>
<b>Hr BT</b>	19	0,93± 0,18 <sup>b</sup>	3,17± 1,13 <sup>b</sup>	16,10± 4,93 <sup>b</sup>	6,09± 1,16 <sup>b</sup>	4,36± 0,36 <sup>a</sup>

Valeurs avec lettres différentes sur la même colonne, sont différentes significativement entre elles,  $p < 0,05$ . Hr : *Hamra*

Le test de Student est utilisé pour comparer les moyennes dans ce tableau. ( $n_1$  et  $n_2 < 30$ ).

Les différences entre les différents paramètres qualitatifs ont été significatives.

La différence entre les valeurs de la motilité (caractéristique qualitative) était non significative.

### IV.1.3. Chez la race *Rumbi*

**Tableau 18** Variations moyennes des caractéristiques spermatiques individuelles et données sur des béliers supplémentés de la race *Rumbi*.

Béliers	Recueils	Volume semence	Volume dilueur	Doses	Concentration	Motilité
<b>Ru BS</b>	22	1,84±0,79 <sup>a</sup>	5,38± 2,46 <sup>a</sup>	28,31±12,17 <sup>a</sup>	5,68± 1,31 <sup>a</sup>	4,27± 0,55 <sup>a</sup>
<b>Ru BT</b>	40	1,22±0,46 <sup>b</sup>	3,30± 1,93 <sup>b</sup>	18,22± 09,28 <sup>b</sup>	5,06± 1,18 <sup>a</sup>	4,41± 0,19 <sup>a</sup>

Valeurs avec lettres différentes sur la même colonne, sont différentes significativement entre elles,  $p < 0,05$ . Ru : *Rumbi*

Le test de Student est utilisé pour comparer les moyennes dans ce tableau. ( $n_1$  et/ou  $n_2 < 30$ ).

Les différences entre les différents paramètres qualitatifs ont été significatives.

La différence entre la motilité (caractéristique qualitative) des deux lots était non significative.

L'effet de la supplémentation sur la race *Hamra* et *Rumbi* était similaire à celui observé chez la race *Ouled Djellal*.

Les valeurs enregistrées après traitement statistiques chez les béliers des autres races principales à savoir la race *Hamra* et *Rumbi* ont été similaires à la race *Ouled Djellal*.

Le nombre de recueils effectué dans chacune des races était très variable. 136 recueils (45 recueils chez la race *Hamra*, et 66 recueils chez la race *Rumbi*) dans la race *Ouled Djellal* le nombre était peut être plus représentatif par rapport aux valeurs étudiées chez les deux autres races.

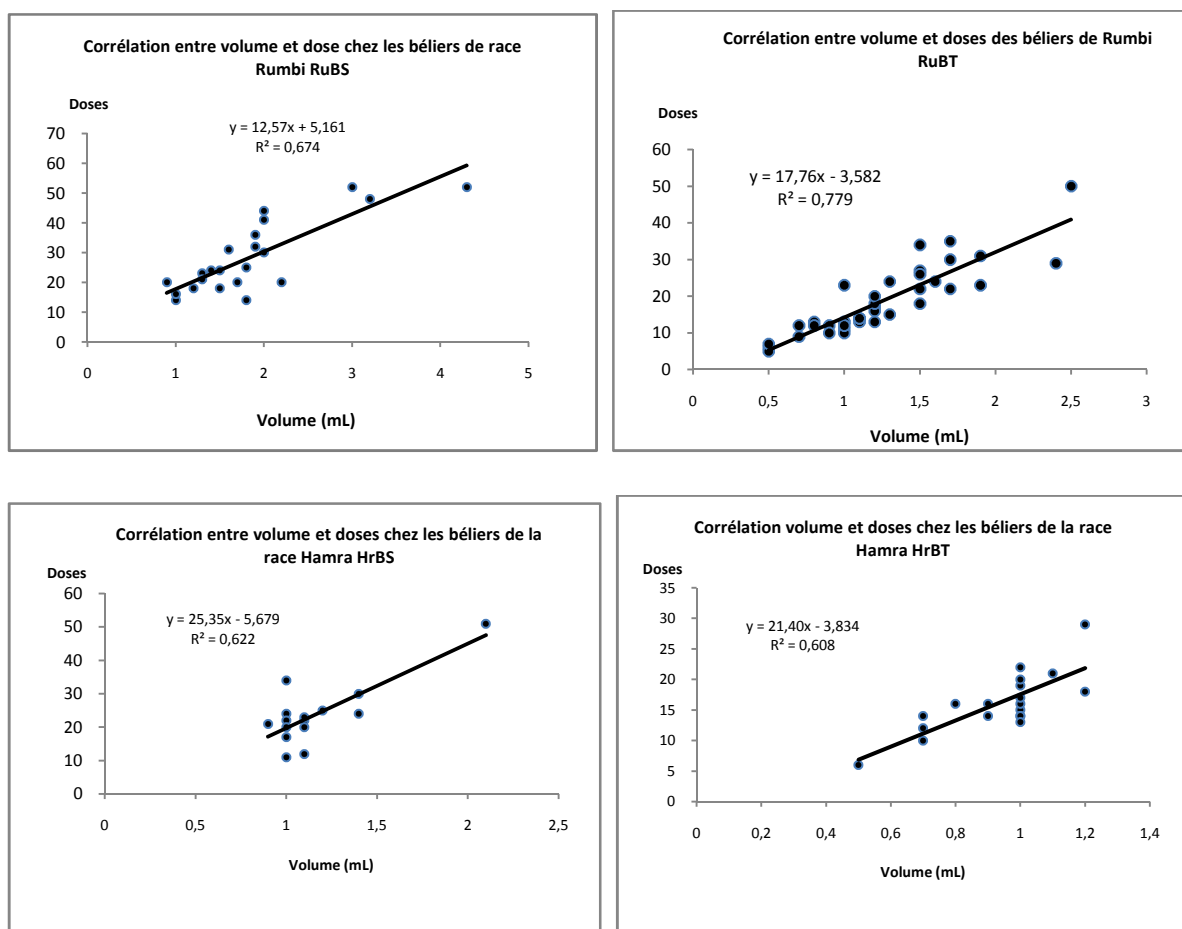
Même avec ces valeurs variables, des nombres d'effectifs inférieurs à 30, chez les races *Hamra* et *Rumbi* (ce qui nous a obligé de réajuster le test statistique pour opter pour un *test de Student* pour la race *Hamra* et *Rumbi*,  $n_1$  et/ou  $n_2 < 30$ ), les résultats sont conformes à ceux observés chez la race *Ouled Djellal*, les valeurs de caractéristiques quantitatives étaient toujours significativement différentes, seule la différence de la concentration chez la race *Rumbi* n'a pas été significative, quoique la moyenne de la concentration chez les béliers supplémentés est supérieure aux béliers témoins ( $5,68 \pm 1,31$  vs  $5,06 \pm 1,18$ ,  $P=0,07$ ).

Une seule valeur qualitative à été étudiée pour les deux races à savoir *Hamra* et *Rumbi*, cette valeur à été jugée non significative pour les deux races.

Toutes les valeurs enregistrées du dilueur chez les trois races étudiées après supplémentation ont été jugées significatives par rapport aux valeurs enregistrées chez les béliers témoins. Les valeurs du dilueur sont significativement supérieures chez les béliers supplémentés ce qui ne permet pas de réduire les coûts des doses produites comme cela été déduit dans le chapitre précédent (chapitre III).

## IV.2. Corrélations entre caractéristiques spermatiques quantitatives

Afin de comparer les corrélations ainsi représentés dans les graphes ci-dessous, nous avons utilisé les transformations de Fisher représentés dans l'annexe 3.



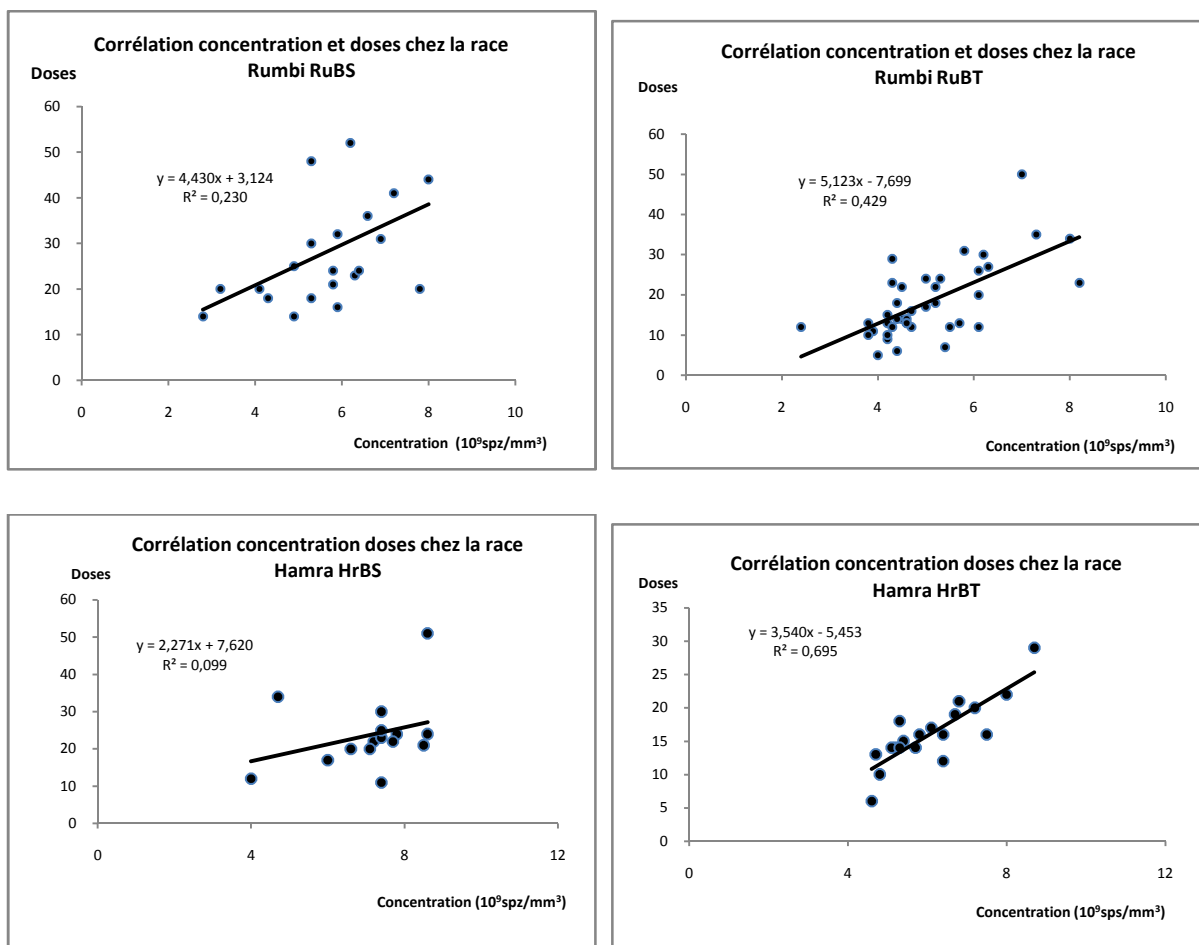
**Figure 31** Corrélations entre volumes et doses produites chez les deux races *Hamra* et *Rumbi*

Une corrélation positive a été observée entre les doses produites et le volume de la semence des géniteurs de races *Hamra* et *Rumbi* (Fig. 31):

- Corrélation positive des géniteurs témoins Ru BT ( $r = 0,88$ ).
- Corrélation positive des géniteurs supplémentés Ru BS ( $r = 0,82$ )
- Corrélation positive des géniteurs témoins Hr BT ( $r = 0,78$ ).

- Corrélation positive des géniteurs supplémentés Hr BS ( $r = 0,78$ )

Les différences sont non significatives pour les deux races *Rumbi* et *Hamra* après transformation de Fisher ( $P > 0,05$ , les niveaux de significances de  $P$  sont respectivement  $P = 0,43$ ,  $P = 0,95$  et  $z = 0,77$  et  $z = 0,06$  comparés à  $z = 1,96$ , en utilisant l'annexe 3).



**Figure 32** Corrélations entre la concentration et les doses produites chez la race *Hamra* et *Rumbi*

A la différence du volume de sperme, la concentration en spermatozoïdes des éjaculats est moyennement liée à la production de doses de semence, les corrélations sont mitigées chez la race *Hamra* (Fig. 32) :

- 
- Corrélation moyennement positive des géniteurs témoins Ru BT ( $r = 0,65$ ).
  - Corrélation moyennement positive des géniteurs supplémentés Ru BS ( $r = 0,48$ )
  - Corrélation positive des géniteurs témoins Hr BT ( $r = 0,83$ ).
  - Corrélation moyennement positive des géniteurs supplémentés Hr BS ( $r = 0,31$ )

Les différences sont :

Non significatives chez la race *Rumbi*, après transformation de Fisher ( $P > 0,05$ , niveau de signification  $P = 0,37$  et  $z = 0,89$  comparé à  $z' = 1,96$ ).

Significatives chez la race *Hamra*, après transformation de Fisher ( $P < 0,05$ , le niveau de signification  $P = 0,02$  et  $z = 2,27$  comparé à  $z' = 1,96$ ).

CONCLUSION

En suivant les principaux objectifs de ce travail de recherche, les nombreuses problématiques que nous avons relevées au début nous ont permis d'arriver aux résultats suivants :

L'utilisation de suppléments alimentaire nous permet d'avoir une dissémination à plus grande échelle du potentiel génétique supérieur des animaux sélectionnés, mais également, pour éventuellement arriver à réduire les coûts de production des doses de semence (d'une manière globale sans tenir compte du volume du dilueur consommé, qui quant à lui seul, il augmente les coûts de production).

Une légère augmentation du taux de réussite ou le taux de fertilité chez les brebis inséminées par la semence des deux lots de béliers BT et BS, la différence est non significative). Cette différence qui peut être due à la présence de vitamines et des oligo-éléments dans la semence conservée, ces vitamines notamment la vitamine C et E et le Zinc jouent un rôle important dans la protection des spermatozoïdes contre les radicaux libres vu leurs actions antioxydantes. A cause de leurs propriétés antioxydantes reconnues, ces vitamines et oligo-éléments pourraient protéger les spermatozoïdes à l'état frais. On peut donc croire qu'elles puissent modifier le temps de conservation du sperme ou encore sa résistance à la congélation-décongélation (en cas d'utilisation de semence congelé), des aspects très importants pour l'insémination ovine.

En dehors des résultats de la motilité trouvés chez la race *Ouled Djellal*, La supplémentation ne permet pas d'améliorer la qualité de la semence produite (la motilité avait une différence significative observée seulement chez la race *Ouled Djellal*, elle est notée non significative chez les deux autres races, *Hamra* et *Rumbi*).

L'utilisation des suppléments alimentaires (composés de vitamines et de minéraux) ne nous permet pas de réduire le volume du dilueur nécessaire à la fabrication des doses de semence. Les valeurs du dilueur sont significativement supérieures chez les béliers supplémentés des différentes races étudiées ce qui ne permet pas de réduire les coûts des doses produites.

Une corrélation positive a été observée entre les doses produites et le volume de la semence des géniteurs des trois races étudiées (*Ouled Djellal*, *Hamra* et *Rumbi*).

L'étude des caractéristiques spermatiques des béliers de race *Ouled Djellal* nous a montré que :

- ✓ L'effet quantitatif est plus significatif chez les béliers supplémentés, le volume et la concentration ont été plus élevés chez les béliers BS (+40% du volume).
- ✓ La supplémentation nous a permis d'avoir un rendement séminal plus important, une différence supérieure à 70 % des doses produites à été observé chez les béliers supplémentés comparés aux béliers témoins.
- ✓ Les IA issues de la semence des béliers supplémentés sont meilleures que celles issues des béliers non supplémentés (différences non significatives).
- ✓ La supplémentation est très utile lorsque les béliers sont soumis à des fréquences de collectes intensives.
- ✓ Hormis la motilité (chez la race *Ouled Djellal*), la supplémentation ne nous a pas permis d'améliorer la qualité de la semence produite, à savoir le taux des spermatozoïdes vivants et le taux des anormaux qui n'ont pas présenté de différences significatives.
- ✓ L'utilisation des suppléments alimentaires (composés de vitamines et de minéraux) ne nous a pas permis de réduire le volume du dilueur nécessaire à la fabrication des doses de semence, une augmentation du volume du dilueur de 1% a été observée après 15 semaines de collectes régulières, par conséquent, la supplémentation nous permet une dissémination à plus grande échelle du potentiel génétique supérieur des béliers reproducteurs sélectionnés, mais elle ne nous a pas permis pour éventuellement réduire les coûts de la production des doses de semence (en tenant compte seulement du volume du dilueur étudié).
- ✓ Une évolution temporelle positive, du volume des éjaculats et des doses de semence, a été observée chez les deux lots des béliers BS et BT chez la race *Ouled Djellal*.



---

La supplémentation a eu le même impact chez les autres races testées à savoir la race *Hamra* et *Rumbi*, les caractéristiques spermatiques quantitatives ont été différentes significativement, par contre la motilité, seul paramètre qualitatif étudié, n'a pas été amélioré significativement.

Les fluctuations des caractéristiques spermatiques surtout quantitatives que qualitatives (concentration en spermatozoïdes, volume des éjaculats, doses produites...) constituent un problème plurifactoriel qui atteint de nombreux centres d'insémination. Toutefois, il convient de contrôler autant que possible les facteurs « maîtrisables » comme les conditions de vie des animaux, le rythme de collecte, le stress et surtout une alimentation bien adaptée.

Bien que beaucoup de travail reste à réaliser sur le sujet, ces résultats pourront servir de références aux différentes études ayant pour objectif d'étudier l'impact des suppléments alimentaires sur la reproduction des ovins.



---

## ANNEXES





## Annexe 3

**Comparaison de deux moyennes observés  $X_1$  et  $X_2$** 

Pour comparer deux moyennes observées, les étapes sont les suivantes :

1. Détermination du risque .
2. Construction des hypothèses :  $H_0$  et  $H_1$
3. Vérification des conditions :  $n_1 \geq 30$  et  $n_2 \geq 30$  ;

$$t = \frac{|X_1 - X_2|}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1 - 1} + \frac{S_2^2}{n_2 - 1}}}$$

$t$  : la variable testée

$S$  : Ecart type

**4. Conclusion**

Si  $t > t_{\alpha}$  : La différence est significative au risque  $\alpha$ ,  $H_0$  est rejetée.

Si  $t < -t_{\alpha}$  : La différence est significative au risque  $\alpha$ ,  $H_0$  est rejetée.

## Test de *student*

Pour comparer deux moyennes observées, les étapes du test de student sont les suivantes :

1. Déterminer le risque
2. Condition  $n_1 < 30$  et/ou  $n_2 < 30$
3. Hypothèse  $H_0$
4. Calcul de la variance commune

$$S_C^2 = \frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

5. d.d.l =  $\nu = n_1 + n_2 - 2$
6. Détermination de  $t_{+\nu}$  dans la table de Fisher
7. Variable de Student :  $t$

$t$

$$t = \frac{|X_1 - X_2|}{\sqrt{\frac{S_C^2}{n_1} + \frac{S_C^2}{n_2}}}$$

### 8. Conclusion

Si  $t > t_{+\nu}$  : La différence est significative au risque  $\alpha$ ,  $H_0$  est rejetée.

Si  $t < t_{+\nu}$  : La différence est significative au risque  $\alpha$ ,  $H_0$  est retenue.

## Comparaison de deux corrélations

Pour tester l'hypothèse d'aucune différence entre  $p_1$  et  $p_2$  (échantillons indépendants):

Données :

Coefficients de corrélation  $r_1, r_2$ .

Nombres des échantillons  $n_1$  et  $n_2$

$$Fisher'z'_1 = \frac{\ln(1 + r_1) - \ln(1 - r_1)}{2}$$

$$Fisher'z'_2 = \frac{\ln(1 + r_2) - \ln(1 - r_2)}{2}$$

$$A = \sqrt{\frac{1}{n_1 - 3} + \frac{1}{n_2 - 3}}$$

$$Z = \frac{|z'_1 - z'_2|}{A}$$

### Conclusion

Pour interpréter l'information: le score  $z$  doit être interprété de façon standard.

Par exemple, pour un alpha de 0,05,  $H_0$  est rejeté lorsque  $z > 1,96$



## Comparaison de deux pourcentages observés $p_1$ et $p_2$

1. Détermination du risque .
2. Construction des hypothèses :  $H_0$  et  $H_1$
3. Vérification des conditions :  $n_1 \geq 30$  ;  $n_2 \geq 30$  ;  $n_1 \cdot p_1 \geq 5$  et  $n_1 \cdot q_1 \geq 5$

Avec  $n = n_1 + n_2$  et

$$P = \frac{n_1 \cdot p_1 + n_2 \cdot p_2}{n_1 + n_2}$$

4. Calcul de la variable testée :

$$t = \frac{|p_1 - p_2|}{\sqrt{\frac{pq}{n_1} + \frac{pq}{n_2}}}$$

5. Conclusion et prise de décision :

Si  $t \geq t_{\alpha}$  La décision est significative au risque  $\alpha$ ,  $H_0$  est rejetée.

Si  $t < t_{\alpha}$  La décision n'est pas significative au risque  $\alpha$ ,  $H_0$  est retenue.

## Annexe 4

### FORMULE POUR LE CALCUL DE LA CONCENTRATION DU SPERME (Chemineau et al. 1991)

Soit :

$V_0$  = Volume d'un éjaculat

$C_0$  = Concentration spermatique initiale

$$N_0 = V_0 \times C_0$$

$N_0$  = Nombre de spermatozoïdes collectés

CF = Concentration finale souhaitée

$$VF = N_0 / CF$$

VF = Volume finale totale à la concentration souhaitée

Par exemple, avec un nombre total de 400 millions de spermatozoïdes contenus dans une paillette de 0,25 ml, la concentration finale est de  $1,6 \times 10^9$  spermatozoïdes par millilitre de semence diluée.

Soit :

Pour faciliter la tâche on peut utiliser directement le tableau suivant (Fig. 33) comme on le fait au centre d'IA de *Belhandjir*, la case d'intersection entre la concentration (lue sur le spectrophotomètre) en haut et le volume de la semence lu sur le tube gradué correspond au volume du dilueur à ajouter.

	CONCENTRATION																			
	2,8	2,9	3	3,1	3,2	3,3	3,4	3,5	3,6	3,7	3,8	3,9	4	4,1	4,2	4,3	4,4	4,5	4	
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	1	1	1,1	1,1	1,2	1,2	
0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9	1	1	1,1	1,1	1,2	1,2	1,3	1,3	1,4	1,4	1,5	1,5	1,6	
0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	1	1	1,1	1,1	1,2	1,3	1,3	1,4	1,4	1,5	1,5	1,6	1,7	1,7	1,8	
0,9	0,9	0,9	1	1	1,1	1,2	1,2	1,3	1,4	1,4	1,5	1,5	1,6	1,7	1,7	1,8	1,9	1,9	2	
1	1	1	1,1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,4	1,5	1,6	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,1	2,1	2,2	2,3	
1,1	1,1	1,1	1,2	1,3	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,7	1,8	1,9	2	2	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	
1,2	1,2	1,2	1,3	1,4	1,5	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,1	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	
1,3	1,3	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9	
1,4	1,4	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9	3	3,1	
1,5	1,5	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9	3	3,1	3,2	
1,6	1,6	1,6	1,7	1,8	1,9	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,9	3	3,1	3,2	3,3	3,4	3,5	
1,7	1,7	1,7	1,8	1,9	2,1	2,2	2,3	2,4	2,6	2,7	2,8	2,9	3	3,2	3,3	3,4	3,5	3,6	3,7	
1,8	1,8	1,8	1,9	2,1	2,2	2,3	2,4	2,6	2,7	2,8	3	3,1	3,2	3,3	3,5	3,6	3,7	3,9	4	
1,9	1,9	1,9	2	2,2	2,3	2,4	2,6	2,7	2,8	3	3,1	3,3	3,4	3,6	3,7	3,9	4,1	4,2	4,3	
2	2	2	2,1	2,3	2,4	2,6	2,7	2,9	3	3,1	3,3	3,4	3,6	3,7	3,9	4	4,1	4,3	4,4	
2,1	2,1	2,1	2,3	2,4	2,6	2,7	2,9	3	3,2	3,3	3,5	3,6	3,8	3,9	4,1	4,3	4,4	4,6	4,7	

**Figure 33** Tableau pour calcul du volume du dilueur à ajouter à la semence.

Par exemple, pour un volume de 0,5 ml ayant une concentration de 2,8. Le volume du dilueur correspondant est de 0,5 ml.

## Annexe 5

Pour plus d'information sur le produit utilisé en supplémentation :

## Composition par Kg :

Vitamina	4.000.000 U.I
Vitamin D3	1.200.000 U.I
Vitamin E	160 mg
Vitamin C	250 mg
Vitamin PP	250 mg
Vitamin B1	180 mg
Vitamin B2	300 mg
Vitamin B6	130 mg
Vitamin K3	130 mg
Fer	5.000 mg
Zinc	5.000 mg
Cuivre	1.000 mg
Manganèse	5.000 mg
Betaine	2.500 mg
DI-Methionine	24.000 mg
Choline	30.000 mg
Phosphore	120.000 mg
Calcium	190.000 mg

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**ABECIA, J. A., J. A. VALARESA, F. FORCADA, I. PALACIN AND S. MARTIN** (2007). "The effect of melatonin on the reproductive performance of three sheep breeds in Spain." Small Rumin Res **69**: 10-16.

**AKMAL, M., J. Q. QADRI, N. S. AL-WAILI, S. THANGAL, A. HAQ AND K. Y. SALOOM** (2006). "Improvement in human semen quality after oral supplementation of vitamin C." J Med Food **9**(3): 440-442.

**AMIR, D., H. GACITUA, H. RON AND A. R. LEHRER** (1986). "Seasonal variation in semen characteristics and the fertility of Fin cross rams subjected to frequent ejaculation." Anim Reprod Sci **10**: 75-84.

**ANDERSEN-RANBERG, I. M., B. HERINGSTAD, D. GIANOLA, Y. M. CHANG AND G. KLEMETSDAL** (2005). "Comparison between bivariate models for 56-day nonreturn and interval from calving to first insemination in Norwegian red." J Dairy Sci **88**: 2190-2198.

**ANDERSEN-RANBERG, I. M., G. KLEMETSDAL, B. HERINGSTAD AND T. STEINE** (2005). "Heritabilities, genetic correlations, and genetic change for female fertility and protein yield in Norwegian Dairy Cattle." J Dairy Sci **88**(1): 348-355.

**ANEL, L., M. ALVAREZ, F. MARTINEZ-PASTOR, V. GARCIA-MACIAS, E. ANEL AND P. DE PAZ** (2006). "Improvement strategies in ovine artificial insemination." Reprod Domest Anim **41 Suppl 2**: 30-42.

**AQUILA, S., C. GUIDO, I. PETROTTA et al.** (2008). "Human sperm anatomy: ultrastructural localization of 1 $\alpha$ , 25-di-hydroxyvitamin D receptor and its possible role in the human male gamete." J Anat **64**: 213-555.

**AVERILL, T. A., R. REKAYA AND K. WEIGEL** (2004). "Genetic analysis of male and female fertility using longitudinal binary data." J Dairy Sci **87**: 3947-3952.

**BARIL, G., P. CHEMINEAU, Y. COGNIE, Y. GUERIN, B. LEBOEUF, P. ORGEUR AND J. C. VALLET** (1993). Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Rome, Food and Agriculture Organization.

**BODIN, L., P. V. DRION, B. REMY, G. BRICE, Y. COGNIÉ et al.** (1997). "Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronization." Reprod Nutr Dev **37**: 351-360.

**BOICHARD, D. AND E. MANFREDI** (1994). "Genetic analysis of conception rate in French Holstein cattle." Animal Science **44**: 138-145.

**BOUCIF, A., N. AZZI, D. TAINTURIER AND A. NIAR** (2007). Variations saisonnières des paramètres reproductifs chez les béliers de deux races locales algériennes. Renc Rech Ruminants, Paris, Institut d'élevage de Paris.

**BOXMEER, J. C., M. SMIT, E. UTOMO, J. C. ROMIJN, M. J. EIJKEMANS, J. LINDEMANS, J. S. LAVEN, N. S. MACKLON, E. A. STEEGERS AND R. P. STEEGERS-THEUNISSEN** (2009). "Low folate in seminal plasma is associated with increased sperm DNA damage." Fertil Steril **92**(2): 548-556.

**BRICE, G., C. JARDON AND A. VALLET** (1995). Le point sur la conduite de la reproduction chez les ovins. Paris, France, Institut de l'élevage.

**BRIOIS, M. AND Y. GUERIN** (1995). Essais de diminution du nombre de spermatozoïdes par dose conduits au centre d'insémination artificielle ovine de la confédération de Roquefort. Renc Rech Ruminants, Paris. France, Institut d'élevage de Paris.

**BRITO, L. F., A. E. SILVA, L. H. RODRIGUES, F. V. VIEIRA, L. A. DERAGON AND J. P. KASTELIC** (2002). "Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* AI bulls in Brazil." Anim Reprod Sci **70**(3-4): 181-190.

**BUNGE, R., D. L. THOMAS AND J. M. STOOKEY** (1990). "Factors affecting productivity of ram bouillet ewes mated to ram lambs." J Anim Sci **68**: 2253-2262.

**BUTLER, W. R.** (1998). "Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle." J Dairy Sci **81**(9): 2533-2539.

**CHEMINEAU, P., Y. COGNIÉ, Y. GUÉRIN, P. ORGEUR AND J. C. VALLET** (1991). Training manual on artificial insemination in sheep and goats. Rome, Food and Agriculture Organization

**CHEMINEAU, P., B. MALPAUX, J. PELLETIET, B. LEOEUF, J. A. DELGADILLO ET AL.** (1996). "Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins." INRA prod. anim. **9**: 45-60.

**CHEMINEAU, P., J. PELLETIER, Y. GUERIN, G. COLAS, J. P. RAVAUULT, G. TOURE, G. ALMEIDA, J. THIMONIER AND R. ORTAVANT** (1988). "Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats." Reprod Nutr Dev **28**(2B): 409-422.

**CHENG, F. P., J. T. WU, J. P. CHAN, J. S. WANG, H. P. FUNG, B. COLENBRANDER AND K. C. TUNG** (2004). "The effect of different extenders on post-thaw sperm survival, acrosomal integrity and longevity in cryopreserved semen of Formosan Sika deer and Formosan Sambar deer." Theriogenology **61**(9): 1605-1616.

**CHEVRIER, C. AND J. L. DACHEUX** (1988). "Maturation of ram spermatozoa. Preliminary study of the flagellar movement characteristic of the transitory forms of the epididymal corpus." Reprod Nutr Dev **28**: 1301-1305.

**CHINOY, N. J., R. R. MEHTA, L. SEETHALAKSHMI, J. D. SHARMA AND M. R. CHINOY** (1986). "Effects of vitamin C deficiency on physiology of male reproductive organs of guinea pigs." Int J Fertil **31**(3): 232-239.

**CHRISTOPHE, P. et S. CHRISTOPHE.** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Springer Editions, France. 2012

**CIERESZKO, A. AND K. DABROWSKI** (1995). "Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: an across-season study." Biol Reprod **52**(5): 982-988.

**COLAS, G.** (1980). "Variations saisonnières de la qualité du sperme chez le bélier Ile-de-France: I. Etude de la morphologie cellulaire et de la motilité massale." Reprod Nutr Dev **28**: 1789-1799.

**COLAS, G., Y. GUERIN, V. CLANET AND A. SOLARI** (1985). "Influence of the photoperiod on the production and fecundity of spermatozoa in the adult Ile-de-France ram." Reprod Nutr Dev **25**(1A): 101-111.

**COLAS, G., Y. GUERIN, Y. LEMAIRE, Y. MONTASSIER AND J. DESPIERRES** (1986). "Seasonal variations in the testicular diameter and sperm morphology of Vendean and Texel rams." Reprod Nutr Dev **26**: 863-875.

**COLAS, G., J. LEFEBVRE AND Y. GUERIN** (1988 ). "recherche d'une prévision précoce de l'amplitude des variations saisonnières du diamètre testiculaire et du pourcentage de spermatozoïdes anormaux chez le bélier Ile-de-france. 1. animaux nés en février." Reprod Nutr Dev **28**: 589-601

**COLAS, G., LEFEBVRE, J., GUERIN, J.** (1990). "Etude de la transmission père-fils des variations saisonnières du diamètre testiculaire et du pourcentage de spermatozoïdes anormaux chez le bélier Ile-de-France: Fils nés en février." Reprod. Nutr. Dev. **30**: 589-603.

**COLENBRANDER, B., B. M. GADELLA AND T. A. STOUT** (2003). "The predictive value of semen analysis in the evaluation of stallion fertility." Reprod Domest Anim **38**(4): 305-311.

**D'ALESSANDRO, A. G., A. G. MARTEMUCCI, M. A. COLONNA AND A. BELLITTI** (2001). "Post-thaw survival of ram spermatozoa and fertility after insemination as affected by prefreezing sperm concentration and extender composition." Theriogenology **55**: 1159-1170.



**DAVIS, R. O. AND D. F. KATZ** (1989). "Computer-aided sperm analysis (CASA): image digitization and processing." Biomater Artif Cells Artif Organs **17**(1): 93-116.

**DAWE, S. T., ARCHER, W.R., BENNETT, N.W., BRUNSKILL, A., CAHILL, J.R., DONELLY, F.B., ROBERTS, B.C., TRIMMER, B.I.** (1974). "The effect of ram percentage on the fertility of maiden ewes." Proc Aust Soc Anim Prod **10**: 274–278.

**DAWSON, E. B., W. A. HARRIS, W. E. RANKIN, L. A. CHARPENTIER AND W. J. MCGANITY** (1987). "Effect of ascorbic acid on male fertility." Ann N Y Acad Sci **498**: 312-323.

**DECUADRO-HANSEN, G.** (2003). Insémination intra-utérine profonde chez les porcins, équins et ovins. . Spain: 37–46.

**DEMATAWEWA, C. M. E. B. P. J.** (1998). "Genetic and phenotypic parameters for 305-day yield, fertility, and survival in Holsteins." J. Dairy Sci. **81**(10): 2700-2709.

**DERASHRI, H. J., PATHAK, A.K., BANSAL, K.K., SHARMA, A.K., VERMA, S.K.** (1992). Reproduction in buck: Daily sperm output, extra-gonadal sperm reserve, daily sperm production rate and seminiferous tubule length, New Delhi

**DONOVAN, A., J. P. HANRAHAN, E. KUMMEN, P. DUFFY AND M. P. BOLAND** (2004). "Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus." Anim Rep Sci **84**: 359-368.

**DUDOUE, C.** (2003). La production du mouton. France Agricole Editions. 287 pages.

**EBISCH, I. M., F. H. PIERIK, F. H. DE JONG ET AL.** (2006). "Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men ? ." Int J Androl **29**: 339-345.

**EDUCAGRI** (2014). Reproduction des animaux d'élevage. Educagri Editions. 466 pages

**EVANS, G. AND W. M. C. MAXWELL** (1987 ). Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Londres.

**FAO** (1977). Lutte Contre Les Maladies Dans Le Sperme Et Les Embryons.

**FAZELI, P., M. J. ZAMIRI, A. FARSHAD AND B. KHALILI** (2010). "Effects of vitamin C on testicular and seminal characteristics of Markhoz goats." Iranian Journal of Veterinary Research **11**(3): 267-272.

**FERNANDEZ-ABELLA, D., M. O. PREVE AND N. VILLEGAS** (2003). "Insemination time and dilution rate of cooled and chilled ram semen affects fertility." Theriogenology **60**(1): 21-26.

**FINDLATER, R. C., W. HARESIGN, R. M. CURNOCK AND N. F. G. BECK** (1991). "Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates." Anim Prod **53**: 89-96.

**FLIPSE, R. J., S. PATTON AND J. O. ALQUIMINT** (1954). "Diluents for bovine semen. III Effect of lactenin and of lactoperoxidase upon spermatozoa viability." J Dairy Sci **41**(1205-11).

**FOOTE, R. H.** (2003). "Fertility estimation: a review of past experience and future prospects." Anim Reprod Sci **75**(1-2): 119-139.

**FOURNIER-DELPECH, S. AND C. THIBAUT** (1991). Acquisition de la fécondance du spermatozoïde: maturation épидидymite, glandes annexes et capacitation. La Reproduction chez les Mammifères et l'homme, INRA/Ellipses: 251–271.

**FUERST-WALTL, B., H. SCHWARZENBACHER, C. PERNER AND J. SOLKNER** (2006). "Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls." Anim Reprod Sci **95**(1-2): 27-37.

**GABINA, D.** (1990). Les nouvelles techniques de reproduction et les programmes de sélection chez les ovins laitiers. Options méditerranéennes, CIHEAM. **A 12**.

**GADEA, J.** (2005). "Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility." Theriogenology **63**(2): 431-444.

**GARCIA-ISPIERTO, I., F. LOPEZ-GATIUS, P. SANTOLARIA, J. L. YANIZ, C. NOGAREDA AND M. LOPEZ-BEJAR** (2007). "Factors affecting the fertility of high producing dairy herds in northeastern Spain." Theriogenology **67**(3): 632-638.

**GASTEL, T., BIELLI, A., PEREZ, R., LOPEZ, A., CASTRIELLEJO, A., TAGLE, R., FRANCO, J., LABORDE, D., FORSBERG, M., RODRIGUEZ-MARTIEZ, H.** (1995). "Seasonal variations in testicular morphology in Uruguayan Corriedale rams." Anim. Reprod. Sci. **40**: 59–75.

**GHYSELINCK, N. B., N. VERNET, C. DENNEFELD, N. GIESE, H. NAU, P. CHAMBON, S. VIVILLE AND M. MARK** (2006). "Retinoids and spermatogenesis: lessons from mutant mice lacking the plasma retinol binding protein." Dev Dyn **235**(6): 1608-1622.

**GIL, J., N. LUNDEHEIM, L. SODERQUIST AND H. RODRIUEZ-MARTINEZ** (2003). "Influence of extender, temperature, and addition of glycerol on post-thaw sperm parameters in ram semen." Theriogenology **59**(5-6): 1241-1255.

**GIL, J., R.-I. M., N. LUNDEHEIM, L. SODERQUIST AND H. RODRIGUEZ-MARTINEZ** (2003). "Fertility of ram semen frozen in Bioexcell and used for cervical artificial insemination." Theriogenology **59**(5-6): 1157-1170.

**GIL, J., L. SODERQUIST AND H. RODRIGUEZ-MARTINEZ** (2000). "Influence of centrifugation and different extenders on post-thaw sperm quality of ram semen." Theriogenology **54**(1): 93-108.

**GOMES, S., O. D. ODOUR, B. BHARAJ AND Z. H. VERJEE** (1977). "Gonadal and plasma testosterone and cholesterol in scorbutic guinea pigs." Intern Vit Nutr Res **47**: 75–80.

**GONZALEZ-RECIO, O., Y. M. CHANG, D. GIANOLA AND K. A. WEIGEL** (2005). "Number of inseminations to conception in Holstein cows using censored records and time dependent covariates." J Dairy Sci **88**: 3662-3665.

**GRIMARD, B., S. FRERET, A. CHEVALLIER, A. PINTO, C. PONSART AND P. HUMBLLOT** (2006). "Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds." Anim Reprod Sci **91**(1-2): 31-44.

**GUERIN, Y., Y. LOCATELLI, P. COMIZOLLI, R. MAUGET, P. MERMILLOD et al.** (2003). "Conservation et utilisation du sperme epididymaire d'ovins et de cervidés en insémination artificielle et fécondation in vitro." **4**: 173-183.

**GUNDOGAN, M. AND E. DEMIRCI** (2003). "Monthly changes in some reproductive parameters and in testosterone and thyroxine values of rams throughout one year under continental climate conditions." Dtsch Tierarztl Wochenschr **110**: 450-453.

**HAILING, L., G. SUYUN, Y. DUBING, Y. LEYAN, K. L. XU XU AND Y. FEI** (2011). Effect of Vitamin E on the Development of Testis in Sheep. Artificial Insemination in Farm Animals, InTech.

**HAMBIDGE, K. M., C. E. CASEY AND N. F. KREBS** (1986). Zinc in : Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press Orlando. **2**: 1-137.

**INGRID, D.** (2008). Analyse génétique et modélisation de la production de semence et de la réussite de l'insémination artificielle en ovin Doctorat Doctorat, Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement

**ISABELLE AUDET, J.-P. L., GUY-PIERRE MARTINEAU ET JEAN-JACQUES MATTE.** (2002). Suppléments vitaminiques et performances de reproduction chez le verret. Journées de la Recherche Porcine.

**JONES, R. C. AND I. MARTIN** (1973). "The effects of dilution egg yolk and cooling to 5°C on the ultrastructure of ram spermatozoa." J Reprod Fertil **35**: 311-320.

**KAABI, M., M. ALVAREZ, E. ANEL, C. A. CHAMORRO, B. J. C. and al.** (2006). "Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: a post mortem study." Theriogenology **66**: 1876-1883.

**KADARMIDEEN, H. N., R. THOMPSON and S. G.** (2000). "Linear and threshold model genetic parameters for disease, fertility and milk production in dairy cattle." Anim Sci **71**: 411-419.

**KWIECINSKI, G., G. PETRIE AND H. F. DELUCA** (1989). "Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat." J Nutr **119**: 741–744.

**LANGFORD, G. A., J. N. B. SHRESTHA and G. J. MARCUS** (1989). "Repeatability of scrotal size and semen quality measurements in rams in a short-day light regime." Anim Reprod Sci **19**: 19-27.

**LITIM, M. and R. K. BEREKSI** (2010). Impact de la biotechnologie sur la maîtrise de la reproduction ovine : Cas de l'insémination artificielle chez la race Ouled Djellal de la région de Naâma. Magister Mémoire de Magister, Sidi Bel Abbés.

**MACKEY, D. R., A. W. GORDON, M. A. MCCOY, M. VERNER AND C. S. MAYNE** (2007). "Associations between genetic merit for milk production and animal parameters and the fertility performance of dairy cows." Animal **1**: 29.

**MANDIKI, S. N. M., G. DERYCKE, J. L. BISTER AND R. PAQUAY** (1998). "Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams. Testicular size, semen quality and reproductive capacity." Small Ruminant Research **28**(1): 67–79.

**MARTIN, B. J., J. B. POUL, E. J. TORBEN, E. N. JOHN, N. J. ULLA, A. O. INGE, H. P. JØRGEN, J. NIELS, J. ANDERS, D. STEEN and J. NIELS** (2011). Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. Human Reproduction. **26**: 1307–1317.

**MARTIN, G. B. and S. W. WALKDEN-BROWN** (1995). "Nutritional influences on reproduction in mature male sheep and goats." J Reprod Fertil Suppl **49**: 437-449.

**MARTIN, G. B. and C. L. WHITE** (1992). "Effects of dietary zinc deficiency on gonadotrophin secretion and testicular growth in young male sheep." J Reprod Fertil **96**(2): 497-507.

**MATHEVON, M., M. M. BUHR and J. C. DEKKERS** (1998). "Environmental, management, and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls." J Dairy Sci **81**(12): 3321-3330.

**MELLENDEZ, P. and P. PINEDO** (2007). "The association between reproductive performance and milk yield in Chilean holstein cattle." J Dairy Sci **90**: 184-192.

**MISZTAL, I., D. GIANOLA and J. L. FOULLEY** (1989). "Computing aspects of a nonlinear method of sire evaluation for categorical data." J Dairy Sci **72** 1557-1568.

**NADARAJAH, K., E. B. BURNSIDE and L. R. SCHAEFFER** (1988). "Genetic parameters for fertility of dairy bulls." J Dairy Sci **71**(10): 2730-2734.

**OLLERO, M., T. MUINO-BLANCO, M. J. LOPEZ-PEREZ and J. A. CEBRIAN-PEREZ** (1996). "Viability of ram spermatozoa in relation to the abstinence period and successive ejaculations." Int J Androl **19**(5): 287-292.

**PARADISO, G. G., G. GRAVINA, G. ANGELOZZI and al.** (2008). "May antioxidant therapy improve sperm parameters of men with persistent oligospermia after retrograde embolization for varicocele ?" Word J urol **26**: 97-102.

**PERRY, E. J.** (1968). The Artificial Insemination of Farm Animals. Rutgers University Press, New Brunswick.

**PICARD, H., O. SOURBE, F. LYAZRHI, H. COUPET, M. HENNEQUIN, H. JACOB and X. BERTHELOT** (2002). "Effect of precocious collection on semen output and quality in young Holstein bulls." Theriogenology **57**: 1511-1522.

**PIOMBONI, P., L. GAMBERA, F. SERAFINI, G. CAMPANELLA, G. MORGANTE and V. DE LEO** (2008). "Sperm quality improvement after natural anti-oxidant treatment of asthenoteratospermic men with leukocytospermia." Asian J Androl **10**(2): 201-206.

**PRADO, V., A. ORIHUELA, S. LOZANO and I. PEREZ-LEON** (2002). "Management of the female stimulus during semen collection and its association with libido re-establishment and semen characteristics of goats." J Anim Sci **80**(6): 1520-1523.

**PRICE, E. O., H. ERHARD, R. BORGWARDT and M. R. DALLY** (1992). "Measures of libido and their relation to serving capacity in the ram." J Anim Sci **70**: 3376-3380.

**PRONT, R., MARGALIOTH EJ. and GREEN R.** (2009). "Prevalence of low serum cobalamin in infertile couples." Andrologia **41**: 46-50.

**ROCHE, J. R.** (2007). "Associations among body condition score, body weight, and reproductive performance in seasonal-calving dairy cattle." J Dairy Sci **90**: 376-391.

**ROSA, H. J., D. T. JUNIPER and M. J. BRYANT** (2000). "Effects of recent sexual experience and melatonin treatment of rams on plasma testosterone concentration, sexual behavior and ability to induce ovulation in seasonally anoestrous ewes." J Reprod Fertil Suppl **120**: 169-176.

**SALAMON, S. and W. M. C. MAXWELL** (1995). "Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination." Anim Reprod Sci **37**: 185-249.

**SALAMON, S. AND W. M. C. MAXWELL** (2000). "Storage of ram semen." Anim Reprod Sci **62**: 77-111.

**SALHAB, S. A., M. ZARKAWI, M. F. WARDEH, M. R. AL-MASRI and R. KASSEM** (2003). "Characterization and evaluation of semen in growing Awassi ram lambs." Trop Anim Health Prod **35**(5): 455-463.

**SALVADOR, I., M. P. VIUDES-DE-CASTRO, J. BERNACER, E. A. GOMEZ and M. A. SILVESTRE** (2005). "Factors affecting pregnancy rate in artificial insemination with frozen semen during non-breeding season in Murciano-Granadina goats: a field assay." Reprod Domest Anim **40**(6): 526-529.

**SILVER, E. W., B. ESKENAZI, D. P. EVENSON, G. BLOCK, S. YOUNG and A. J. WYROBEK** (2005). "Effect of antioxidant intake on sperm chromatin stability in healthy nonsmoking men." J Androl **26**(4): 550-556.

**SNOWDER, G. D., J. N. STELLFLUG and L. D. VAN VLECK** (2002). "Heritability and repeatability of sexual performance scores of rams." J Anim Sci **80**(6): 1508-1511.

**SONG, G. J., E. P. NORKUS and V. LEWIS** (2006). "Relationship between seminal ascorbic acid and sperm DNA integrity in infertile men." Int J Androl **29**: 569-575.

**SONMEZ, M., G. TURK and A. YUCE** (2005). "The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats." Theriogenology **63**(7): 2063-2072.

**SMYTH, P. and I. GORDON** (1967). "Seasonal and breed variations in the semen characteristics of rams in Ireland." Irish Vet J **21**: 222-233.

**STALHAMMAR, E. M., L. JANSON and J. PHILIPSSON** (1994). "Genetic studies on fertility in AI bulls. II. environmental and genetic effects on non-return rates of young bulls." Anim Reprod Sci **34**: 193-207.

**STELA, Z. and A. ANDREEA** (2013). "Researches regarding the ultrastructural modifications of sperms cells before and after freezing in different media." Lucrari Stiintifice **53**: 67-74.



**STELLFLUG, J. N. and J. G. BERARDINELLI** (2002). "Ram mating behavior after long-term selection for reproductive rate in Rambouillet ewes." J Anim Sci **80**(10): 2588-93.

**SWEENEY, T., J. FOX, L. ROBERTSON, G. KELLY, P. DUFFY, P. LONERGAN, J. O'DOHERTY, J. F. ROCHE and N. P. EVANS** (2007). "Postnatal exposure to octylphenol decreases semen quality in the adult ram." Theriogenology **67**(5): 1068-75.

**TAMURA, T. and M. F. PICCIANO** (2006). "Folate and human reproduction." Am J Clin Nutr **83**(5): 993-1016.

**TEYSSET, G.** (2002). Bovine viral disease (BVD) UNCEIA. Paris, SODIPA **105**: 33.

**THIBAUT, C. and M. C. LEVASSEUR** (1973). "Conservation et survie prolongée des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles des vertébrés." Ann Biol Ann Bioch Biophys **13**(2): 267-284.

**THWAITES, C. J.** (1995). "Effect of undernutrition on the size and tone of the ram's testes." Small Ruminant Research **16**(3): 283-286.

**TOE, F., A. LAHLOU-KASSI and E. MUKASA-MUGERWA** (1994). "Semen characteristics of Ile-de-France rams of different age and physical condition." Theriogenology **42**(2): 321-326.

**TOMKINS, T. and M. J. BRYANT** (1976). "Influence of mating pressure and season on the semen characteristics of rams." Anim Prod **22**: 371-378.

**VAN, J. C.** (1965). "Relations entre les caractéristiques du sperme et la fertilité." Ann Biol Ann Bioch Biophys **5**(4): 419- 443

**VULCANO, G. J., D. F. MOSES, A. VALCARCEL AND M. A. DE LAS HERAS** (1998). "A lineal equation for the classification of progressive and hyperactive spermatozoa." Math Biosci **149**(1): 77-93.

**WALKDEN-BROWN, S. W., B. J. RESTALL AND W. A. TAYLOR** (1994). "Testicular and epididymal sperm content in grazing Cashmere bucks: seasonal variation and prediction from measurements in vivo." Reprod Fertil Dev **6**(6): 727-736.

**WATANABE, T., S. EBARA, S. KIMURA and al.** (2007). "Maternal vitamin B12 deficiency affects spermatogenesis at the embryonic and immature stages in rats." Congenit Anom **47**: 9 -15.

**YOUNG, S. S., B. ESKENAZI, F. M. MARCHETTI, G. BLOCK AND A. J. WYROBEK** (2008). "The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy non-smoking men." Hum Reprod **23**(5): 1014-1022.

**YOUSEF, M. I., G. A. ABDALLAH and K. I. KAMEL** (2003). "Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits." Anim Reprod Sci **76**(1-2): 99-111.

**ZHANG, S. C., H. Y. WANG and J. D. WANG** (1999). "Analysis of change in sperm quality of Chinese fertile men during 1981-1996." Reprod Contracept **10**(1): 33-39.

---

## Publications et communications scientifiques

### Publications

**LITIM MILOUD, BEREKSI REGUIG KARIMA.** Variations in semen characteristics rams of *Ouled Djellal* breed have received an important dietary supplement after regular and intensive collection. *Asian Journal of reproduction* 2015 ; 4(1).

### Communications et/ou proceedings

**LITIM MILOUD, BEREKSI REGUIG KARIMA.** Effet des suppléments alimentaires sur les doses de semence produites chez les béliers de race *Ouled Djellal* et leur impact sur la fertilité des brebis. *Rencontres Recherches Ruminants*. 21, 4 – 5 Décembre 2014, Paris.

**LITIM MILOUD, BEREKSI REGUIG KARIMA.** Effet de la supplémentation sur la qualité et/ou la quantité spermatique chez les béliers de race *Ouled Djellal*. *Rencontres Recherches Ruminants*. 21, 4 – 5 Décembre 2014, Paris.

## Glossaire

**Balanoposthite:** Infection simultanée du gland et du prépuce.

**Brucellose :** La brucellose ovine ou caprine est une maladie infectieuse, très contagieuse, due à des bactéries du genre *Brucella*. La brucellose se traduit essentiellement par des avortements en série (jusqu'à 90 % du troupeau atteint) au 4ème ou 5ème mois de gestation, mais parfois aussi en début de gestation.

**Campylobactériose :** Infection du placenta de brebis et du fœtus par *Campylobacter fetus fetus* (*Vibrio fetus intestinalis* anc.). Il y a de nombreux avortements dans un troupeau la première année. L'immunité est forte.

**Capacitation :** Variante : maturation des spermatozoïdes. Modification affectant la membrane plasmique du spermatozoïde le rendant apte à se fixer sur la zone pellucide de l'ovocyte et à subir la réaction acrosomique.

**Cervix :** structure physique séparant l'utérus du vagin. Il est constitué de replis fibreux, les anneaux cervicaux, qui obstruent le passage.

**Chaleur :** période du cycle sexuel pendant laquelle la brebis accepte le chevauchement du bélier et donc l'accouplement. Elle dure entre 24 et 60 heures.

**Chlamydie :** On désigne habituellement sous le terme de chlamydie les infections en rapport avec l'agent infectieux du genre *Chlamydia*.

**Chromosome :** Un chromosome est un élément microscopique constitué de molécules d'ADN, de protéines histones et non-histones. Il porte les gènes, supports de l'information génétique, transmis des cellules mères aux cellules filles lors des divisions cellulaires.

**Complément alimentaire :** Un complément alimentaire est une denrée alimentaire dont le but est de fournir un complément de nutriments ou de substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique (vitamines, minéraux, acides gras ou acides aminés) manquants ou en quantité insuffisante dans le régime alimentaire normal d'un individu. À la différence des

additifs alimentaires, qui sont mélangés à certains aliments, le complément est une source concentrée qui est vendue de façon isolée.

**Concentration spermatique** : le taux de spermatozoïdes par millilitre d'éjaculat.

**Corona-radiata** : La corona radiata est l'ensemble des cellules folliculaires issues de la granulosa et qui entourent l'ovocyte I et II.

**Corps jaune** : après l'expulsion de l'ovule du follicule au moment de l'ovulation, le follicule se transforme en une structure appelée « corps jaune » qui produit la progestérone, laquelle est une hormone clé dans la régulation du cycle sexuel.

**Corrélation** : mesure de la variation de deux caractères l'un par rapport à l'autre. La corrélation s'exprime par un coefficient situé entre  $-1,00$  et  $+1,00$ . Les caractères qui sont négativement corrélés ont un comportement opposé l'un par rapport à l'autre : l'évolution favorable de l'un s'accompagne d'une évolution défavorable de l'autre. Des caractères positivement corrélés évoluent simultanément dans le même sens. La corrélation est de 0 lorsque le changement d'un caractère n'est pas associé à un changement constant de l'autre caractère.

**Cycle sexuel** : période entre deux chaleurs consécutives. La durée moyenne du cycle est de 17 jours chez la brebis.

**Cytométrie en flux** : La CMF est définie comme l'étude précise de cellules isolées entraînées par un flux liquide. C'est une technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative de particules en suspension dans un liquide.

**DRO** : (appelé aussi ERO) Dérivé réactif de l'oxygène, (DRO, en anglais *reactive oxygen species*, ROS) sont des espèces chimiques oxygénées telles que des radicaux libres, des ions oxygénés et des peroxydes, rendus chimiquement très réactifs par la présence d'électrons de valence non appariés.

**Fécondation** : union du gamète mâle et du gamète femelle pour donner un œuf (zygote).

**Fécondance** : Pour la reproduction des espèces, la nature a donné aux femelles la fécondité, aux mâles la fécondance.

**Fertilité** : exprime la capacité d'un individu à produire une progéniture (taux de fertilité).

**Flushing** : période du cycle de production où l'alimentation des brebis est supplémentée en énergie et protéines dans le but d'augmenter la fertilité et la prolificité.

**Géniteur** : animal qui engendre un descendant. Un bélier géniteur par exemple.

**Gonadotrophines** : nom général pour nommer les hormones FSH et LH.

**Hormone** : substance chimique qui a une action spécifique sur un tissu spécifique.

**Infection à *Brucella ovis*** : Brucellose due à des bactéries *Brucella ovis* qui se traduit par une épидидymite contagieuse. C'est une maladie sexuellement transmissible de béliers qui provoque l'infection et la distorsion du testicule et l'épididyme. *Brucella ovis* réduit la fertilité d'un bélier.

**Infection à *Brucella melitensis*** : Une brucellose ovine ou caprine, c'est une maladie infectieuse, très contagieuse, due à des bactéries du genre *Brucella melitensis* très résistantes dans le milieu extérieur.

**Infection à *Brucella abortus*** : Une brucellose ovine ou caprine, c'est une maladie infectieuse, très contagieuse, due à des bactéries du genre *Brucella abortus* très résistantes dans le milieu extérieur.

**Infection à *Actino bacillus seminis*** : *Actinobacillus seminis* est une bactérie. Elle est associée à une épидидymite du bélier.

**Infection à *Salmonella abortus ovis*** : La salmonellose ovine est une maladie principalement occasionnée par *Salmonella abortus ovis*, bactérie spécifique de l'espèce ovine bien que pouvant exceptionnellement atteindre les caprins.

**Leptospirose** : Les leptospiroses parfois appelées « maladie du rat » sont des maladies infectieuses d'origine bactérienne, dues à des leptospires.

**Leptospire** : Les leptospire sont un groupe de bactéries souvent regroupées dans l'espèce *Leptospira interrogans*.

**Libido** : capacité du bélier à démontrer un comportement sexuel.

**Lutte** : période d'accouplement chez les ovins.

**Mélatonine** : hormone synthétisée et sécrétée par la glande pinéale et qui transmet les informations photopériodiques. Comme cette hormone est sécrétée exclusivement la nuit, l'animal peut évaluer la durée de la photopériode par la durée de la sécrétion de mélatonine.

**Membrane pellucide** : ou zone pellucide est une membrane transparente, striée, entourant l'ovule et contenant le cytoplasme, qui constitue l'essentiel du corps cellulaire. La zone pellucide contient de nombreux pores qui permettent aux nutriments de passer dans la cellule. Une fois que la zone pellucide a été franchie par le spermatozoïde, l'ovule devient impénétrable pour tous les autres spermatozoïdes.

**Motilité** : mobilité ou déplacement des spermatozoïdes.

**Mycoplasmosse génitale** : mycoplasmoses se traduisent par des symptômes variés, diversement associés entre eux. Ils peuvent être notamment pulmonaires, articulaires (arthrites en particulier chez les jeunes), oculaires (kératoconjunctivites) et mammaires.... Les atteintes mammaires peuvent se traduire par une diminution de la production laitière voire le tarissement des demi-mamelles infectées.

**Œstradiol** : hormone sécrétée par les follicules des ovaires qui entraîne l'apparition du comportement œstral (chaleurs ou œstrus). Elle agit au niveau du cerveau, via la circulation sanguine, pour principalement déclencher la venue en chaleur des brebis et provoquer le pic de LH qui induit l'ovulation des follicules matures.

**Œstrogènes** : Les œstrogènes sont des hormones naturelles, sécrétées par l'ovaire, assurant la formation, le maintien et le fonctionnement des organes génitaux et des glandes mammaires chez la femelle. L'œstradiol est la principale hormone œstrogénique.

**Ovaire** : petit organe situé dans la cavité abdominale qui contient des milliers de follicules contenant les ovules qui sont libérés dans l'oviducte lors de l'ovulation. Chaque femelle possède deux ovaires qui ont pour fonctions de produire non seulement les gamètes femelles (ovules), mais également certaines hormones sexuelles femelles, principalement la progestérone (corps jaune) et l'œstradiol (follicules), qui maintiennent les caractéristiques sexuelles et contrôlent partiellement la fonction de reproduction.

**Oviducte** : petits tubes en paire par lesquels l'ovule et les embryons sont transportés vers les cornes utérines. C'est dans l'oviducte que la fécondation se produit.

**Ovocyte** : L'ovocyte est la cellule sexuelle femelle des métazoaires. Seuls quelques-uns évolueront en ovules après maturation.

**Ovocyte II** : À partir de la puberté et jusqu'à la ménopause, au cours du cycle menstruel féminin, un ovocyte I par cycle pourra terminer sa première division de méiose pour aboutir à un Ovocyte II.

**Ovulation** : correspond à la période du cycle où les ovules sont expulsés des follicules. On utilise également le terme pour désigner l'action qui correspond à l'expulsion d'un ovule. On parle alors du nombre d'ovulations.

**Ovule** : cellule reproductrice femelle contenue dans un follicule et qui est expulsée au moment de l'ovulation. Les ovules se dirigent ensuite par les oviductes vers le site de fécondation.

**Paratuberculose** : La paratuberculose est une entérite touchant les ruminants et notamment les bovins et dont l'agent pathogène est une mycobactérie.

**Phase lutéale** : phase du cycle sexuel qui suit l'ovulation et qui correspond à la période de temps où les corps jaunes sont actifs et sécrètent de la progestérone. Elle dure 12 à 14 jours.

**Photopériode** : durée du jour, longueur relative des périodes de lumière et d'obscurité qui affecte la croissance, la maturité et la reproduction des animaux.

**Placenta** : ensemble des membranes reliant l'embryon à l'utérus maternel pendant la gestation et qui assure la nutrition et la protection de l'embryon.

**PMSG** : (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) ou gonadotrophine sérique de juments gestantes). Cette hormone est produite par le placenta chez la jument. Cette hormone possède une activité FSH et LH lorsqu'injectée à des brebis. Comme c'est une hormone naturelle, sa composition (rapport FSH/LH) et ses effets peuvent varier.

**Pouvoir fécondant** : la faculté des spermatozoïdes d'être fécondant ou aptes à féconder, c'est dans l'épididyme que les spermatozoïdes acquièrent leur pouvoir fécondant.

**Progestagène** : hormone analogue à la progestérone naturelle, mais fabriquée de façon synthétique (FGA, MAP).

**Prolificité** : nombre d'agneaux nés par brebis agnelée (voir taux de prolificité).



**Puberté** : période où les jeunes femelles et mâles deviennent capables de se reproduire.

Reconditionnement : voir « flushing ».

**Reproducteur** : Voir géniteur.

**Saison sexuelle** : période de l'année où l'activité sexuelle est maximale et où la cyclicité des brebis est régulière (une chaleur tous les 14 à 18 jours). Elle correspond à l'automne et à l'hiver.

**Spermatogenèse** : processus de formation des cellules reproductrices mâles.

**Spermatozoïde** : cellule reproductrice mâle.

**Steaming** : complémentation en fin de gestation.

**Taux de fécondité** : se calcule comme le nombre d'agneaux nés (vivants, morts, avortons)/nombre de femelles mises à la reproduction.

**Taux de fertilité** : se calcule comme le nombre de femelles agnelées (avortées incluses)/nombre de femelles mises à la reproduction.

**Taux de prolificité** : se calcule comme le nombre d'agneaux nés (vivants, morts, avortons)/nombre de femelles agnelées (avortées incluses).

**Testicule** : organe dont le rôle principal est de produire les spermatozoïdes. Les testicules sécrètent également une hormone appelée testostérone.

**Testostérone** : hormone mâle produite par les testicules qui joue un rôle important dans la manifestation des caractéristiques sexuelles secondaires du mâle et de son comportement sexuel.

**Toxoplasmose** : La toxoplasmose est une maladie d'origine parasitaire affectant les petits ruminants et pouvant occasionner des avortements.

**Tuberculose** : La tuberculose est une maladie infectieuse contagieuse et non immunisante, avec des signes cliniques variables. Elle est provoquée par une mycobactérie du complexe *tuberculosis* correspondant à différents germes et principalement à *Mycobacterium tuberculosis*

---

**Utérus :** L'utérus constitue l'organe de la gestation et son rôle est d'assurer le développement du fœtus par ses fonctions nutritionnelles et protectrices.

**Vulvite :** Inflammation de la vulve.