

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences biologiques de l'environnement
Spécialité Biologie Animale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

**Conservation du sperme du lapin à
température ambiante**

Présenté par :
BENCHAOUCH Yasmine & FEDJA Sara
Soutenu le : 26 juin 2024

Devant le jury composé de :

M. IGUER-OUADA Mokrane	Professeur	Président
Mme. AMOUKRANE-TALBI Asma	MAA	Encadreur
M.KHELLOUF Allaeddine	MCB	Examineur

Année universitaire : 2023 / 2024

REMERCIEMENT

A l'issue de cette fin d'étude, nous adressons nos remerciements à dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience afin de réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre honorable promotrice **Mme AMOUKRANE/ TALBI Asma** pour son précieux encadrement, son aide, sa disponibilité, tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi aux membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail.

M. IGUER-OUADA Mokrane, de nous avoir donné accès à son laboratoire de recherche, ainsi que son matériels.

M.KHELLOUF Allaeddine, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, on souhaite exprimer notre reconnaissance envers toutes les personnes qui ont cru en nous, nous ont soutenu.

Nous tenons aussi à remercier tous ce qui ont participé à l'élaboration de ce travail de loin ou de près.

DÉDICACE

Ce projet d'étude est dédié à :

Ma très **chère mère** à mon paradis, à la source de ma joie et mon bonheur, ma moitié qui a toujours été une source d'encouragement et de motivation pour moi, sans son amour constant et ses conseils précieux, je n'aurais pas pu atteindre cet objectif.

A **mon père** ma force de vie, à mon support qui était toujours à mes coté pour me soutenir et m'encourager.

À mon frère **Rayane** et ma sœur **Sarah**, votre amour et soutien ont toujours été ma source de force et d'inspiration, merci d'avoir été à mes cotés.

A ma précieuse binôme **Sara**, pour ton soutien, patience, et compréhension tout au long de ce travail. Ce mémoire est le fruit de notre travail commun et de notre complicité.

À ma directrice de recherche **Mme Talbi**, pour votre soutien, encouragement constant et précieux conseils, merci pour tout.

A mes chères copines **Cylia, Sarah, Samra, Kenza, Kahina, Narimene, roamissa** et **Amina**, nous avons partagé monuments inoubliables, votre amitié a été un pilier essentiel durant cette période d'étude.

Yasmine.

DÉDICACE

Je dédie ce mémoire à **mes chers parents**, mes héros qui ont toujours cru en moi et m'ont soutenu toute au long de mon parcours, Ce mémoire est le fruit de votre amour inconditionnel, de votre soutien votre sacrifice pour moi. Vos valeurs, votre sagesse et votre amour ont été ma boussole tout au long de ce parcours académique.

À ma chère **grand-mère**, C'est avec une immense gratitude et un profond respect que je vous dédie ce mémoire. Vous avez été une source inépuisable de sagesse, de soutien et d'amour tout au long de ma vie. Votre force et votre persévérance m'ont toujours inspiré à donner le meilleur de moi-même.

À mes frères « **Amine, walid** » et mon préféré « **Anis** », Ce travail est le reflet de notre solidarité fraternelle et de l'amour qui nous unit. Puisse-t-il être à la hauteur de vos attentes et de la confiance que vous avez toujours eue en moi.

À ma très chère binôme et sœur « **Yasmine** », de notre complicité, et notre solidarité ont enrichi notre démarche Ta créativité, ta rigueur et ton soutien ont été des piliers essentiels dans la réalisation de ce travail académique.

A ma meilleur amie et sœur « **Romaïssa** » et mes copines « **kenza, Ferial, Amina, Kenza, kahina, Sarah, Samra, Amina, Narimen et Romaïssa** », votre amitié sincère et vos encouragements constants ont été essentiels tout au long de ce parcours. Merci pour les moments de joie partagés, les rires et les défis relevés ensemble.

À mon encadrante « **Mme Talbi** ».Merci pour votre patience, votre disponibilité et votre capacité à m'inspirer et me motiver à chaque étape.

À Ma famille « **mes tantes, mon oncle, mes cousins et mes cousines** ». Merci pour votre présence à chaque étape.

Sara.

Liste des abréviations

C : Celsius.

Casa : Computer assisted semen analyser),

Chl : cholestérol.

Peg : polyéthylène glycool.

FSH : follicle stimulating hormone.

mg : milligramme.

g : gramme.

Kg : kilogramme.

GnRH :Gonadotropin-Releaising Hormone.

IA : Insémination artificielle.

LH : Luteinizing hormone.

ml : millilitre.

Spz : spermatozoïdes.

V/V : Volume/ Volume.

VA : Vagin artificiel.

VCL : Curvilinear velocity.

VSL : Straight Line Velocity.

VAP : Vilocity Average pathxay.

VitC : Vitamine C.

VitE : Vitamine E.

min : Minute.

sec : seconde.

h : heure.

Ist : in-situ.

rv : rota-vapeur.

jrs : jours.

Liste des figures :

N° de la figure	Titre de la figure	Page
Figure 1	Anatomie de l'appareil reproducteur du lapin mâle	4
Figure 2	Différentes étapes de la spermatogenèse	5
Figure 3	Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle	6
Figure 4	Schéma de spermatozoïde de mammifère	7
Figure 5	Les principales anomalies morphologiques des spermatozoïdes	13
Figure 6	Graphe représente la motilité de spermatozoïde	14
Figure 7	Matériels techniques	20
Figure 8	Produits chimiques	20
Figure 9	produits composants la solution du tris	21
Figure 10	Agitation de la solution du tris	21
Figure 11	Agitation de la solution du Peg	21
Figure 12	Agitation de la solution du Chl	22
Figure 13	Broyage du Peg et Chl	22
Figure 14	Agitation de la solution Peg/Chl	22
Figure 15	Agitation du complexe Chl/Peg (routa- vapeur)	23
Figure 16	Les milieux de conservation	23
Figure 17	Le poids des lapins	24
Figure 18	Le matériel nécessaire pour la préparation du vagin artificiel	24
Figure 19	Les étapes de la préparation du vagin artificiel	25
Figure 20	Méthode de la récolte du sperme	25
Figure 21	Le sperme récolté	26
Figure 22	Tube de collecte retiré du vagin artificiel	26
Figure 23	Le système CASA (Computer assisted semen analyser),	27
Figure 24	Histogramme en bâtons représentant la VSL $\mu\text{m}/\text{sec}$ des spz conservés à T° ambiante analysés à différents temps dans les différents traitements	31
Figure 25	Histogramme en bâtons représentant le % des spz mobiles conservés à T° ambiante analysés à différents temps dans les différents traitements	32
Figure 26	Histogramme en bâtons représentant le % des spz progressif conservés à T° ambiante analysés à différents temps dans les différents traitements	35

Liste des tableaux :

N° de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau I	Notation de la mobilité massale du sperme d'après Petitjean(1965)	11
Tableau II	Notation de la mobilité massale du sperme d'après Roca et al. (2000)	11
Tableau III	Notation de la mobilité individuelle des spermatozoïdes d'après Andrieu (1974)	12
Tableau IV	caractéristiques macroscopiques des spermés analysés	28
Tableau V	Résultats de concentration et mobilité massale des spermés utilisés	29

Liste des abréviations.....1

Liste des figures1

Liste des tableaux1

Sommaire

Introduction :.....1

Partie bibliographique

Chapitre I: La reproduction chez le lapin

I Anatomie de l'appareil reproducteur mâle chez le lapin :3

I.1 Glandes génitales :..... 3

I.2 Les voies spermatiques :..... 3

I.3 Les glandes annexes : 3

II Le développement des gonades et la puberté :4

II.1 La puberté :..... 4

II.2 La spermatogenèse : 4

III Le control hormonal de la reproduction :5

IV Caractéristique générales de la semence du lapin :6

IV.1 La composition de la semence du lapin :..... 6

IV.1.1 Spermatozoïde :..... 6

IV.1.2 Plasma séminal :..... 7

IV.1.3 Granules séminales :..... 7

V Les facteurs influençant la production et la qualité du sperme :7

V.1 L'âge :..... 7

V.2 Santé : 8

V.3 L'environnement : 8

V.4 L'alimentation : 8

Chapitre II: Récolte et analyse du sperme chez lapin

I Technique de la récolte du sperme :9

I.1 Vagin artificiel :..... 9

I.2 Prélèvement épидéymaire : 9

II Analyse du sperme :	9
II.1 Examen macroscopique :	10
II.1.1 La couleur et l'odeur :	10
II.1.2 B- Le volume :	10
II.1.3 Ph :	10
II.2 Examen microscopique :	10
II.2.1 Motilité massale :	10
II.2.2 Motilité individuelle :	11
II.2.3 La concentration :	12
II.2.4 La viabilité :	12
II.2.5 La morphologie :	13
III Evaluation avec le CASA :	14

Chapitre III : La conservation du sperme du lapin

I Type de conservation du sperme :	15
I.1 La réfrigération :	15
I.1.1 Avantages et inconvénients :	15
I.2 La congélation :	15
I.2.1 Les dommages causés par la congélation et la décongélation :	16
I.3 Température ambiante :	16
II La dilution du sperme :	16
II.1 Les milieux de conservation de la semence :	16
II.1.1 Le jaune d'œuf :	17
II.1.2 Le lait :	17
II.1.3 Les vitamines :	17
II.1.4 Polyéthylène glycol (Peg) :	17
II.1.5 cholestérol (Chl) :	18

Partie pratique

Matériels et méthodes

I Préparation des milieux de conservation :	19
I.1 Matériels utilisés :	19

I.1.1	Matériel technique :	19
I.1.2	Produits :	20
I.2	Préparation des milieux :	21
I.2.1	Préparation du contrôle tris :	21
I.2.2	Préparation du milieu Peg (Peg+ tris) :	21
I.2.3	Préparation du milieu Chl (Chl + Tris) :	22
I.2.4	Préparation du complexe Peg/Chl in-situ:	22
I.2.5	Préparation du complexe Peg/Chl rota-vapeur :	22
II	Collecte du sperme :	23
II.1	Matériel de collecte :	23
II.1.1	Matériel biologique :	23
II.1.2	Matériel technique :	24
II.2	Préparation du vagin artificiel	24
II.2.1	Méthodes de collecte du sperme par VA :	25
III	Analyse du sperme récolté :	26
III.1	Examen macroscopique :	26
III.2	Examen microscopique :	26
IV	Préparation et analyse des traitements (Milieu + Sperme) :	27
IV.1	Dilution :	27
IV.2	Préparation des traitements (Milieu + Sperme) :	27

Résultats et discussions

I	Interprétation des résultats :	28
I.1	Rythme de collecte :	28
I.2	Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des spermatozoïdes analysés :	28
I.2.1	Caractéristiques macroscopiques :	28
I.2.2	Caractéristiques microscopiques :	29
I.3	Résultats de la VSL dans les différents traitements utilisés :	29
I.4	Résultats de la mobilité des spermatozoïdes dans les différents traitements utilisés :	31
I.5	Résultats de la mobilité progressive dans les différents traitements utilisés :	32
	Conclusion et perspectives.....	34
	Références bibliographiques	
	Résumé	

Introduction

Introduction

Introduction :

Parmi les espèces domestiques, le lapin est élevé de plus en plus dans le monde ainsi qu'en Algérie pour divers motifs, surtout nutritionnel. En effet, le lapin est une source importante de protéines qui pourrait régler le problème de l'insuffisance et de la cherté des autres viandes (**Thierry, 2015**).

La conservation du sperme du lapin est un élément clé des pratiques de reproduction en élevage de lapin, elle présente plusieurs intérêts économiques et sociaux importants notamment la production de la viande pour la consommation, ainsi que d'autres intérêts comme le transport et les échanges nationaux et internationaux de la semence conservée ,pour éviter le déplacement des animaux et les dépenses de leur entretien , ou même stocker les spermatozoïdes des mâles sélectionnés pour les utiliser même après leur mort. La conservation du sperme permet d'optimiser la reproduction des mâles en préservant leur fertilité et en incluant des techniques de biotechnologie de la reproduction tel que l'insémination artificielle (IA) (**Thierry, 2015**).

Plusieurs études sont réalisées pour développer les méthodes de conservation du sperme, et différents milieux de conservation sont utilisés, additionnés de diverses molécules comme les huiles essentielles (**Troisio et al., 2024**), les vitamines (E, C...) (**Azawi et al., 2013**), ainsi que le cholestérol (**Mocé et al., 2010**). Ce dernier est utilisé pour son pouvoir de maintenir la stabilité et l'intégrité des membranes cellulaires des spermatozoïdes.

Le cholestérol est une molécule hydrophobe, non soluble dans l'eau, ce qui entrave l'expression optimale de son effet. les chercheurs l'ont solubilisé avec succès, avec des cyclodextrine (CCD) (**MOCE et al., 2010**), en ce qui nous concerne, nous voulons le solubiliser avec du Polyéthylène glycol (Peg) (**Yang et al., 2008**). Les cyclodextrines, ont montré leur efficacité dans l'augmentation de la solubilité du cholestérol avec un effet positif sur la mobilité spermatique (**BELALA et al., 2016**). Le Peg est un agent de solubilisation utilisé dans divers application (la médecine, l'industrie). Ce dernier a bien solubilisé le cholestérol (**Yang et al., 2008**),, mais à notre connaissance aucune étude n'a montré l'effet de son association au cholestérol sur le sperme du lapin à T° ambiante.

L'objectif de notre étude est de tester l'effet du polyéthylène glycol (PEG) sur la solubilisation du cholestérol et sur la conservation du sperme du lapin à température ambiante, pour répondre à la question suivante : Quelle est l'avantage et l'efficacité de

Introduction

l'utilisation du cholestérol seul ou solubilisé à l'aide du Peg comme agent de conservation du sperme du lapin récolté et conservé à température ambiante?

Chapitre I

I Anatomie de l'appareil reproducteur mâle chez le lapin :

Chez le lapin l'appareil génital mâle est similaire à celui des autres rongeurs. Il comporte trois grandes portions: la portion glandulaire constituée par les testicules, la portion tubulaire constituée par l'épididyme, le canal déférent et l'urètre, la portion copulatrice par le pénis (**Barron, 2001**) (**figure 1**).

I.1 Glandes génitales :**Les testicules :**

Organes paire de forme ovoïde de 3 à 3,5 cm de long, logés dans des sacs scrotaux qui communiquent avec la cavité abdominale (**figure 1**), à la naissance ils se différencient à l'arrière des reins, ils descendent vers l'âge de 2mois (**Barome, 1984 ; Thierry, 2015**).

Les testicules sont des organes qui assurent une double fonction endocrine et exocrine :

La fonction exocrine est la gamétogenèse, qui est l'élaboration des gamètes mâles ou spermatozoïdes.

La seconde fonction, est la sécrétion des hormones sexuelles, qui déterminent les caractères sexuels primaires et secondaires (instinct a la saillie et la conformation physique) (**Gianinetti, 1984**).

I.2 Les voies spermatiques :

Sont représentées par l'épididyme, le canal déférent, l'urètre et le pénis (**figure 1**). Elles assurent la maturation des spermatozoïdes et leurs acheminements vers les voies génitales femelles (**Thierry, 2015; HiREcHE**)

I.3 Les glandes annexes :

Elles sont constituées de la prostate, les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales (**figure 1**). Elles participent à la formation du plasma séminal au moment de l'éjaculation qui dilue les spermatozoïdes pour faciliter leur survie et leurs évacuations complètes dans les voies génitales femelles (**Thierry, 2015**).

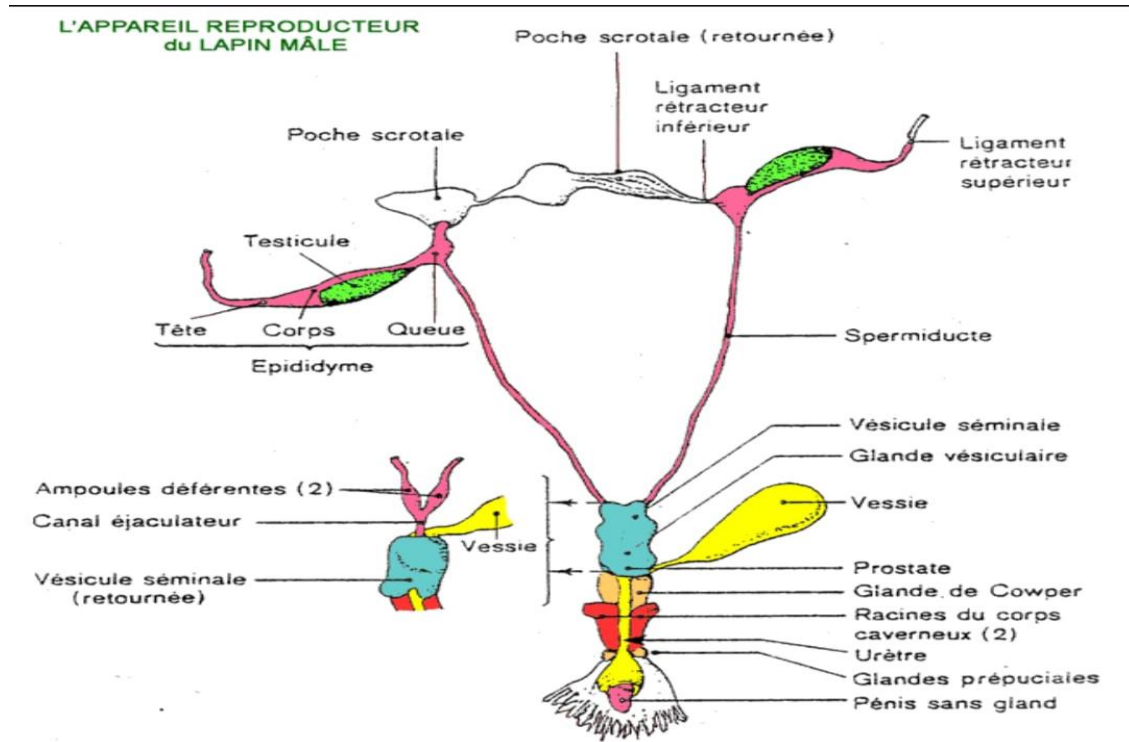


Figure 1 : Anatomie de l'appareil reproducteur du lapin mâle (lebas, 2000).

II Le développement des gonades et la puberté :

A partir de la puberté la mise à la reproduction est possible pour les lapins (Caoll, 2024). Les premières manifestations du comportement sexuel peuvent apparaître vers l'âge de 60 à 70 jours (Thierry, 2015).

II.1 La puberté :

La puberté est la capacité des organes reproducteurs de produire de façon constante des spermatozoïdes féconds. Elle varie de 3.5 à 10 mois, selon plusieurs facteurs dont la race, les conditions d'élevage, l'alimentation, et le gabarit (plus le lapin est grand format, plus l'apparition de la puberté est tardive) (André, 2021).

II.2 La spermatogenèse :

La spermatogenèse chez le lapin mâle est un processus complexe, désigne l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires, qui aboutissent à la production des gamètes male matures haploïdes (n) (les spermatozoïdes), à partir des cellules souches diploïdes (2n).

La spermatogenèse se déroule dans les testicules, elle passe par deux (2) étapes (figure2) : La phase d'élaboration(ou cycle spermatogénétique) dans les tubes séminifères, et

la phase de maturation au niveau de l'épididyme. Ce processus dure de 42 à 48 jrs et est continue à partir de la puberté (Amann, 1993 ; Thierry, 2015).

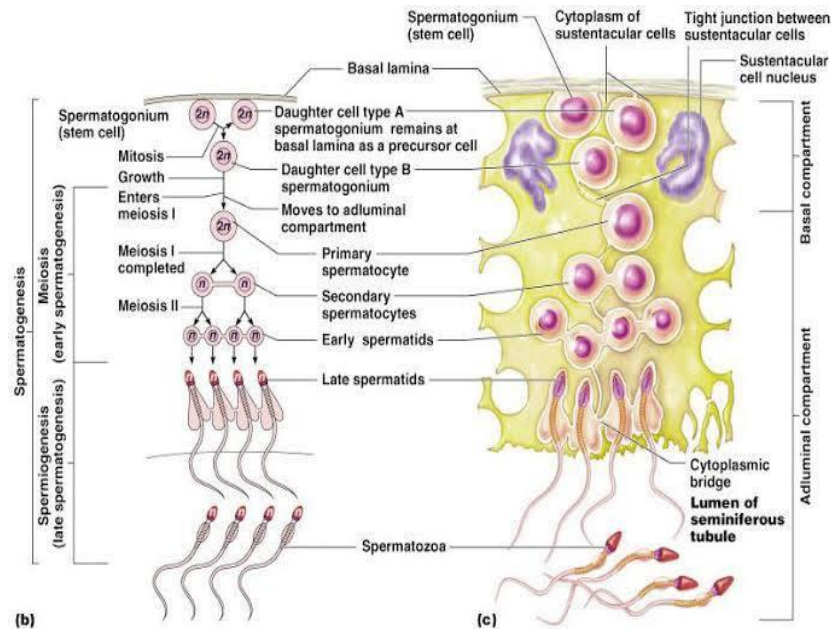


Figure 2 : Différentes étapes de la spermatogenèse (Marie b, 2006).

III Le control hormonal de la reproduction :

La reproduction est étroitement associée à la régulation hormonale. Les hormones jouent un rôle crucial dans la croissance et la maturation des spermatozoïdes sous la surveillance des hormones gonadotropes et androgène, dans lequel l'hypothalamus agit comme un chef d'orchestre, indiquant à l'hypophyse quelles hormones produire et à quelle quantité. L'hypophyse agit ensuite comme messenger, envoyant ces hormones chimiques (FSH, LH) vers leurs cibles pour réguler divers processus corporels (figure 3) (Thierry, 2015)

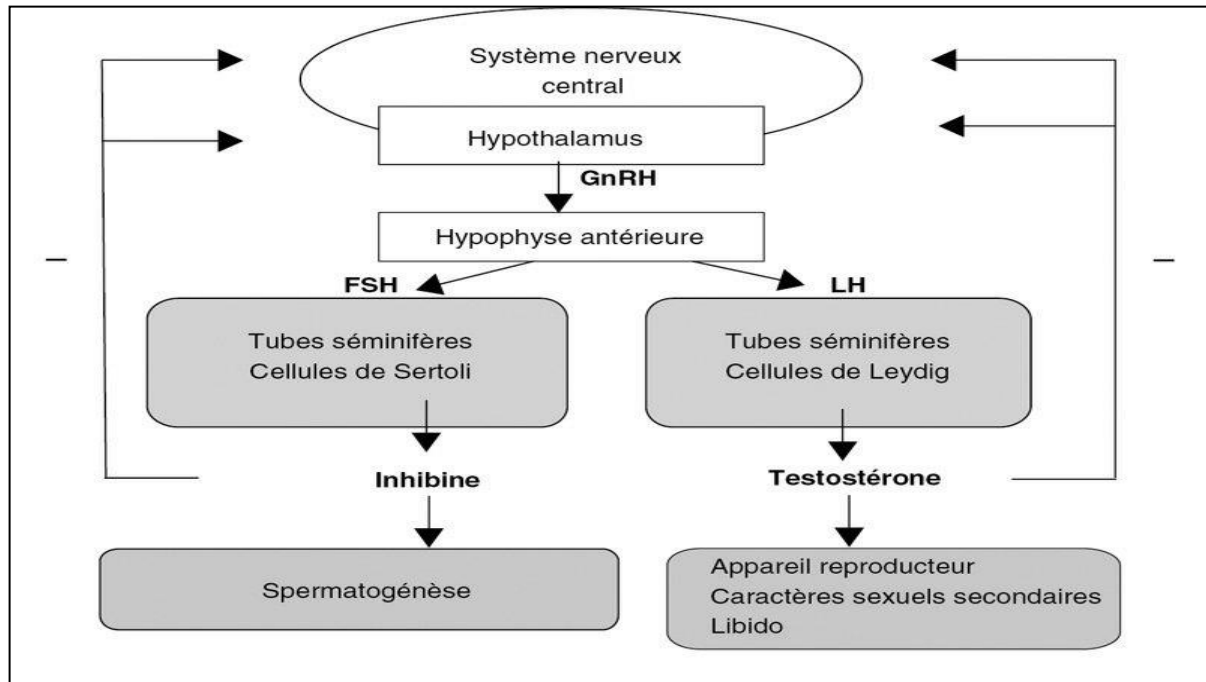


Figure 3 : Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Thierry, 2015).

IV Caractéristiques générales de la semence du lapin :

Le sperme du lapin présente deux parties essentielles, une partie gélatineuse également appelée gel séminal, et une partie liquide composée des spermatozoïdes et du plasma séminal (Boussit, 1989 ; Vaissaire, 1995 ; Thierry, 2015).

IV.1 La composition de la semence du lapin :

IV.1.1 Spermatozoïde :

C'est une cellule de 55 à 57 μm de diamètre, sa structure morphologique ressemble à celle des autres mammifères (figure 4), il se compose essentiellement de :

- La tête : De forme ovoïde (7x4x05 μm), qui porte le message génétique.
- La pièce intermédiaire : Est la source énergétique nécessaire au mouvement (présence des mitochondries).
- Le flagelle : Mesure de 45 à 55 μm , permet le déplacement des spermatozoïdes (la mobilité) (Baronne, 2001 ; Boiti, 2005 ; Thierry, 2015).

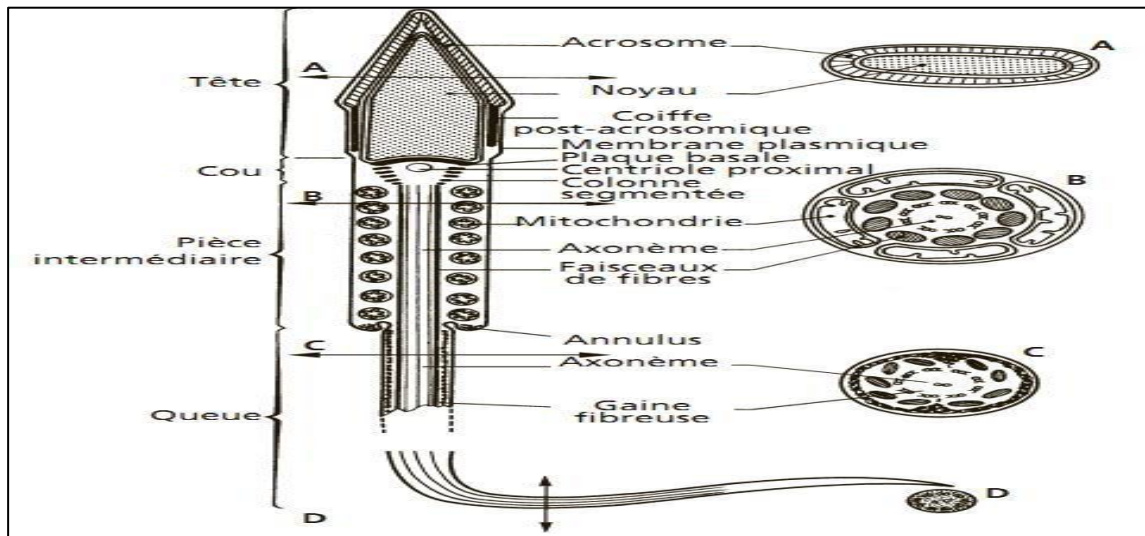


Figure 4 : schéma de de spermatozoïdes mammifère (**Le Moigne et Foucrier, 2009**)

IV.1.2 Plasma séminal :

Le plasma séminal est un fluide sécrété par les glandes annexes et l'épididyme, il est considéré comme un diluant naturel des spermatozoïdes, joue un rôle crucial dans la conservation de la motilité (fournit des substances énergétiques protectrices et modulatrices aux spermatozoïdes) (**Thierry, 2015 ; Boussit, 1989**).

IV.1.3 Granules séminales :

Parmi les substances modulatrices de la mobilité, elles sont très abondantes dans le sperme, de taille variable (0.5 à 6 μ m) non homogènes. Elles modulent le processus de capacitation et la réaction acrosomique des spermatozoïdes, leur cinétique, la réponse immunitaire de l'appareil génital femelle, ainsi que le transit des spermatozoïdes dans le tractus génital de la femelle (**Castellini, 2008**).

V Les facteurs influençant la production et la qualité du sperme :

La qualité et la production du sperme peuvent être influencées par divers facteurs liés à l'animal ou à l'environnement, comme :

V.1 L'âge :

L'âge peut agir négativement sur la production et la qualité du sperme. Selon **Villagran et al (2003)**, les lapins jeunes et adultes ont un acte sexuel différent ; par ailleurs, les plus âgés peuvent présenter un changement de motilité et de morphologie des

spermatozoïdes, ainsi qu'une concentration et un volume faibles. Dans l'ensemble la fertilité diminue avec l'âge (**Theau-Clément et al., 2009**).

V.2 Santé :

Divers problèmes de santé peuvent affecter négativement la production et la qualité de sperme du lapin tel que, les infections du système reproducteur, qui affectent les fonctions testiculaires, la production séminale. D'autre part, le stress peut perturber la production hormonale chez le mâle par l'augmentations de la production du cortisol (**O'Bryan et al., 2000**).

V.3 L'environnement :

Le lapin est sensible face à tout ce qui l'entoure. En effet, le changement des températures perturbe l'activité sexuelle et la spermatogenèse (**Boussit, 1989 ; Kasa et Thwaites, 1992**). D'autre part il est important de fournir aux lapins un cycle lumière-obscurité adéquat pour optimiser leurs capacités de reproduction ; et des conditions d'hygiène contrôlées pour éviter la prolifération des bactéries et d'autres agents pathogènes, qui peuvent influencer négativement sur la fertilité.

V.4 L'alimentation :

L'alimentation est un facteur important à maîtriser pour soutenir la production des spermatozoïdes sains et vigoureux par une alimentation équilibrée et riche en nutriments essentiels (**Joly et Theau-Clément, 2000**)

Chapitre II

I Technique de la récolte du sperme :

La collecte du sperme est la 1^{ère} étape des techniques de biotechnologie de la reproduction telle que (IA).

I.1 Vagin artificiel :

La récolte du sperme à l'aide du vagin artificiel est la méthode la plus courante et la plus utilisée. Le vagin artificiel est un simple appareil composé d'une partie externe en caoutchouc dur ou en plastique, sous forme d'un cylindre à deux extrémités, avec une partie souples introduite dans ce cylindre, chauffée en utilisant de l'eau à la température comprise entre 40 et 45°C, de manière à être à 39 °C au moment de la récolte pour être proche de la température corporelle du lapin (**lebas et al., 1996**). Un tube en verre ou en plastique est placé au niveau de la petite extrémité pour la récupération de la semence (**Bredderman et al., 1994**).

Afin de récolter le sperme, la lapine est introduite dans la cage du mâle, le vagin artificiel placé sous son ventre entre ses membres postérieurs, d'une façon à présenter la grande extrémité vers le pénis (**Hansen, 2011-2012**).

I.2 Collecte épидидymiaire :

Le nombre de spermatozoïdes fertiles dans l'épididyme est 5 à 15 fois plus élevé que celui de l'éjaculat (**Johnes, 1998**).

Le sperme épидидymiaire est récupéré après incision transversale de la queue épидидymiaire. Cette technique offre la possibilité de recueillir du sperme chez les espèces animales dans lesquels l'éjaculation est difficile ou impossible (non collectables) (**Thamayo-Canulet al., 2011b**).

Pour garantir l'absence de contamination sanguine et obtenir un nombre maximum des spermatozoïdes épидидymiaires, la lumière du conduit déférent est d'abord rétro rincée avec de l'air (**Kikuchi et al., 1998**) ou d'eau physiologique (**Dacheux, 1980**).

II Analyse du sperme :

C'est un examen réalisé après la récolte du sperme, pour le contrôler et le sélectionner.

II.1 Examen macroscopique :

II.1.1 La couleur et l'odeur :

Un sperme normal a un aspect blanc nacré, la présence de différents éléments étrangers modifie sa couleur :

- Présence de sang frais : couleur rougeâtre.
- Présence des composantes sanguines dégradée ou matières fécales : couleur marron.
- Présence d'urine ou de pus : couleur jaune.
- La couleur blanchâtre ou transparente : montre une faible concentration en spermatozoïdes (**Boiti et al., 2005 ; Alvarince, 1993**).

De façon générale, le sperme est inodore, sauf en cas de contamination par les urines ou le pus (**Fontbonne, 1995**).

II.1.2 Le volume :

Le volume de l'éjaculat est mesuré après élimination du gel, par une lecture directe sur le tube gradué (**Bencheikh, 1995**). Il varie selon plusieurs facteurs, chez le lapin il est entre 0,25 et 1 ml avec une moyenne de 0,6ml par éjaculat (**Francisco et Luis, 2003**).

II.1.3 Ph :

Le Ph du sperme du lapin varie entre 6 et 7,3, il représente l'activité chimique des ions H⁺ et considéré comme un bon indicateur de l'activité des spermatozoïdes. Il peut être mesuré à l'aide d'un papier Ph ou Ph mètre. Tout changement du Ph diminue la qualité du sperme (**Boussit, 1989**).

II.2 Examen microscopique :

II.2.1 Motilité massale :

L'analyse de la mobilité massale est une étape importante pour l'évaluation de la fertilité du mâle, elle doit se faire le plus vite possible après la récolte, à une température proche de la température corporelle, sous microscope. Elle est représentée par un mouvement de vagues à différents degrés, noté suivant une échelle de 0 à 5 (**Roca et al., 2000**), de 1 à 5 (**Garcia-Tomas et al., 2006**) ou de 0 à 9 (**Petitjean, 1965**).

Tableau I : Notation de la mobilité massale du sperme d'après **Petitjean(1965)**

Note	Aspects du mouvement
0	Le sperme ne présente aucun spermatozoïde
1	Les spermatozoïdes sont immobiles
2	Un petit nombre de spermatozoïdes oscillent à leur place, ils sont agités
3	Un grand nombre de spermatozoïdes agités mais ne se déplacent pas
4	Présence de spermatozoïdes mobiles, ceux qui sont immobiles, et d'autres qui bougent sur place,
5	Ressemble à (4) avec dominance des spermatozoïdes à mobiles, une mobilité moyenne et non homogène
6	La majorité des spermatozoïdes sont mobiles, une bonne motilité homogène
7	Ressemble à (6) avec début d'un mouvement de vagues
8	Ressemble à (7) avec un lent mouvement de vagues
9	mobilité excellente en vagues énergiques à aspect de tourbillons,

Tableau II : Notation de la mobilité massale du sperme d'après **Roca et al. (2000)**

Note	Aspects du mouvement
0	Tous les spermatozoïdes sont immobilisés
1	présence de mouvements individualisés
2	Les spermatozoïdes présentent un mouvement très lent
3	Mobilité massale de faible amplitude
4	Mobilité massale rapide, avec absence de l'aspect de tourbillon
5	Mobilité massale rapide, avec présence de l'aspect de tourbillon

II.2.2 Motilité individuelle :

C'est un examen réalisé après une dilution du sperme à raison de 10 à 40 fois, dans le sérum physiologique ou dans un diluant. Il se fait en plaçant une goutte de sperme dilué entre lame et lamelle et en l'observant à l'aide d'un microscope optique au grossissement x40 ou du système CASA. Il sert à mesurer le pourcentage des spermatozoïdes mobiles (**Hansen, 2011-2012**), noté en se basant sur une échelle de 0 à 4 données par **Andrieu (1974)**.

On considère que la motilité des spermatozoïdes est bonne, quand ils se déplacent rapidement avec des mouvements de rotation de leurs têtes (spermatozoïdes traceurs ou fléchant) (**Andrieu, 1974**).

Tableau III : Notation de la mobilité individuelle des spermatozoïdes d'après **Andrieu (1974)**

Note	Aspects du mouvement
0	Absence de mobilité
1	Les spermatozoïdes ne se déplacent pas mais présentent un mouvement du flagelle
2	Les spermatozoïdes présentent un lent déplacement avec dominance du mouvement circulaire
3	Le mouvement des spermatozoïdes est heurté, ils se déplacent suivant une hélice de diamètre égale à leur longueur
4	Les spermatozoïdes se déplacent rapidement le suivant une hélice d'un diamètre faible

II.2.3 La concentration :

Elle représente le nombre des spermatozoïdes présents dans un volume de sperme. Le comptage se fait à l'aide d'une lame spécialisée (hématimètre) sur un sperme dilué au 100^{ème} dans un sérum physiologique formolé à 2%, pour fixer les spermatozoïdes et faciliter donc, le comptage au microscope optique (**Johnston et al., 2001 ; Bizimungu, 1991**).

II.2.4 La viabilité :

Ce test permet de faire la différence entre les cellules vivantes et mortes. Il se fait sur un frotti réalisé après coloration à l'éosine-nigrosine, en mélangeant une goutte du colorant avec une goutte du sperme préalablement dilué et fixé. Ce mélange est étalé doucement sur toute la lame et la laissé sécher un instant pour l'observer, par la suite, sous microscope optique au grossissement x40. Les spermatozoïdes permettant au colorant d'entrée à travers leurs membranes lésées, sont des cellules mortes, par contre les spermatozoïdes vivants sont incolores, car leurs membranes sont fonctionnelles empêche, donc, la pénétration du colorant. (**Zambelli et Cuto, 2006 ; Zambelli et al., 2008**).

150 spermatozoïdes sont comptés au hasard sur tout le frotti pour séparer les spermatozoïdes vivant des morts (**Boussit, 1989**).

II.2.5 La morphologie :

L'analyse de la morphologie des spermatozoïdes sert à déterminer la qualité de la semence. une observation sous microscope optique au grossissement x100 d'un frotti de sperme dilué, fixé et coloré à la nigrosine/éosine permet de détecter les différentes anomalies qui touchent les différentes parties des spermatozoïdes (la tête, la pièce intermédiaire et le flagelle) (**figure 5**), et déterminer le pourcentage des spermatozoïdes normaux et anormaux (**Cabannes, 2008 ; Feldman et Nelson, 1987 ; Johnston et al., 2001**).

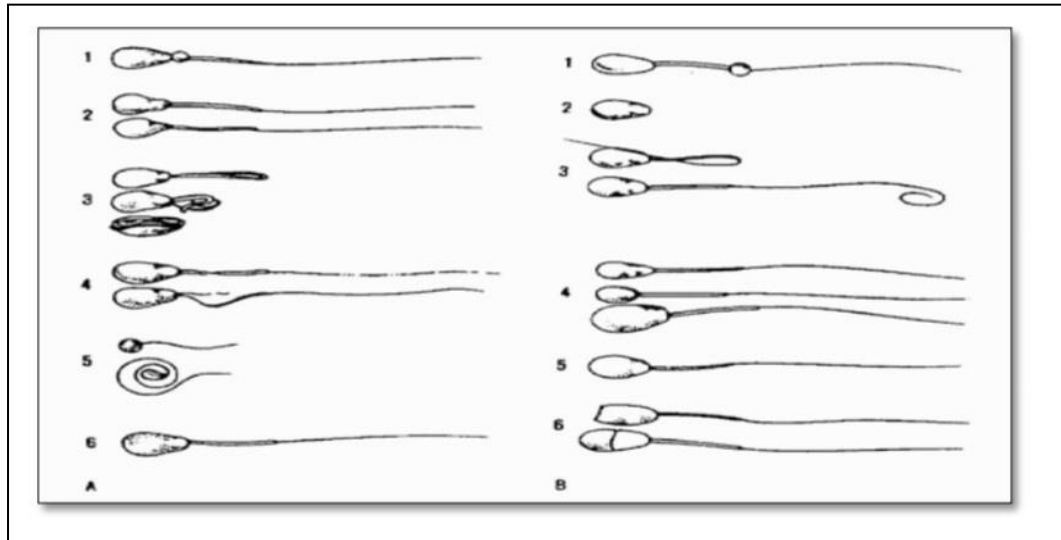


Figure 5 : les principales anomalies morphologiques des spermatozoïdes d'après (**Ott et al., 1987**).

III Evaluation avec le CASA :

Juste après la collecte, la motilité des spermatozoïdes peut être analysée par le système CASA (**Computer Assisted Sperm Anzlysis**), qui a été développé pour une évaluation objective de mobilité. Ce système est composé d'un microscope de contraste de phase, relié à une caméra vidéo et à un ordinateur (**Boiti et al., 2005**). Il permet d'évaluer divers paramètres spermatiques (**figure 6**) (**De Castro, Vicente et al., 1999**), tels que.

VSL (Straight Line Velocity) : c'est la distance entre le point de départ et celui d'arrivé du spermatozoïde indépendamment de son trajet, en ligne droite ($\mu\text{m/s}$).

VCL (Curvilinear velocity) : c'est la distance totale parcourue par le spermatozoïde par un temps donné ($\mu\text{m/s}$).

VAP (Vilocity Average pathway) : C'est l'équivalent de la VCL après lissage de son trajet ($\mu\text{m/s}$).

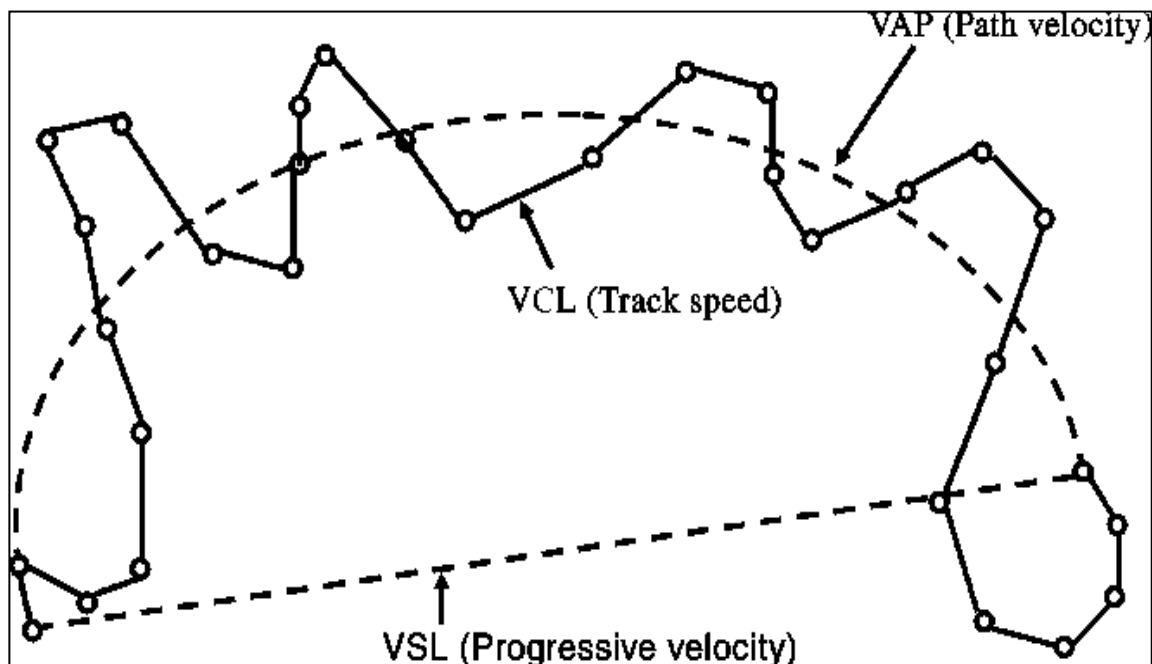


Figure 6: Graphe représente la motilité de spermatozoïde (**Kathiravan et al., 2011**).

Chapitre III

I Type de conservation du sperme :

La conservation et le stockage des spermatozoïdes à longue ou à courte durée est une méthode couramment utilisée pour divers espèces y compris les lapins, afin de préserver leur potentiel reproducteur (conserver les paramètres spermatiques en impliquant plusieurs méthodes).

I.1 La réfrigération :

La conservation par réfrigération vise à garder les spermatozoïdes à des basses températures 4°C sans atteindre le seuil de température négatif pour préserver leurs capacités de fécondation. Cette technique permet de prolonger la durée de conservation des spermatozoïdes et leurs mobilités par la réduction de leurs métabolismes qui économise leurs réserves énergétiques. Le métabolisme sera, par la suite, réactivé après réchauffement (**De castro, vicente et al., 1999**).

I.1.1 Avantages et inconvénients :

La réfrigération est un processus plus simple et moins coûteux que la congélation, il permet le transport du sperme pour diverses utilisations tels que l'insémination artificielle (IA) (**Pinto al., 1999**). **Axnér et al. (2004)** ont montré que la réfrigération présente moins de dommages pour les spermatozoïdes par rapport à la congélation.

D'autre part, cette technique permet une conservation à court terme (quelques jours seulement), par rapport à la congélation qui favorise la conservation pendant une période beaucoup plus longue (plusieurs années) (**Englend et Ponzio, 1996**).

I.2 La congélation :

La congélation du sperme ou la cryoconservation a apporté des nouvelles connaissances grâce à la découverte des cryoprotecteurs CPA, qui permet le stockage des spermatozoïdes à une très basse température (< -150°C) pour une durée indéfinie. Cette technique permet la suspension des activités biologiques, ainsi le blocage de la plupart des processus métaboliques, qui peuvent être rétablis après réchauffement à la température corporelle (**Benson et al., 2012 ; Elliot et al., 2017**).

La congélation est réalisée soit, en utilisant des appareils spécialisés qui baissent la température automatiquement, ou en mettant les paillettes à la vapeur d'azote liquide pendant une dizaine de minutes, ensuite les plongeant dans l'azote liquide à -196°C (**Chen, Foot al., 1993 ; Ahmed et Foote, 1985**).

Le sperme doit être décongelé avant son utilisation, en plaçant les paillettes dans un bain marie à 35°C pendant 30s pour atteindre la température corporelle 37°C (**Ahmed et Foot, 1985**).

I.2.1 Les dommages causés par la congélation et la décongélation :

La cryoconservation du sperme offre plusieurs avantages, mais elle peut aussi avoir des effets néfastes sur la qualité des spermatozoïdes :

Les spermatozoïdes sont exposés à des lésions membranaires irréversibles à des températures très basses, appelé choc thermique (**Drobnis, crowe et al., 1993**). Le refroidissement rapide du sperme provoque une diminution du pourcentage des spermatozoïdes mobiles et des acrosomes sains (**Fiser et Fairfull, 1986**), d'autre part, **Rota et al., (2005)** ont noté que la congélation lente des spermatozoïdes améliore la conservation et des meilleurs résultats de motilité sont obtenus.

I.3 Température ambiante :

La conservation du sperme à température ambiante est une simple technique qui ne nécessite pas plusieurs procédures (congélation, décongélation, réfrigération). Selon **Sato et Ishikawa (2004)**, il est possible de stocker les spermatozoïdes à température ambiante sans affecter leur pouvoir fécondant, mais en maintenant le pH du milieu neutre, puisque ce dernier peut prolonger la survie in vitro des spermatozoïdes. La conservation à la température comprise entre 15 et 19°C permet de bons résultats de fertilité (**De castro et al., 1999**). Mais malgré le développement de nombreux diluants la durée de vie fertile des spermatozoïdes à température ambiante reste limitée de 3 à 5 jours (**De pauw et al., 2003**).

II La dilution du sperme :

La dilution du sperme est un processus essentiel pour la conservation chez divers espèces, afin d'obtenir plusieurs doses fécondantes d'un éjaculat. Elle permet d'évaluer la qualité du sperme et d'améliorer sa longévité. Le taux de dilution influence sur la survie des spermatozoïdes (**Hayden et al., 2015 ; Boiti et al., 2005**).

II.1 milieux de conservation de la semence :

Pour améliorer la conservation du sperme, plusieurs composants peuvent être ajoutés au milieu de dilution, tels que :

II.1.1 Le jaune d'œuf :

Actuellement le jaune d'œuf est considéré parmi les composants cryoprotecteurs les plus courants, qui présentent un effet bénéfique sur la conservation du sperme. Son ajout améliore la motilité des spermatozoïdes et protège la membrane plasmique ainsi que l'acrosome contre le choc thermique (Terada et al., 2004 ; Kulaksiz et al., 2010).

II.1.2 Le lait :

L'ajout du lait au diluant apporte des substances énergétiques pour les spermatozoïdes et minimise les dommages de la congélation et la décongélation. Il protège la membrane plasmique du stress osmotique et des altérations de la perméabilité membranaire (Layek et al., 2016).

II.1.3 Les vitamines :

La vitamine E et C sont des antioxydants non enzymatiques qui permettent une protection contre le stress oxydatif. Ils améliorent la longévité et la qualité du sperme lors de sa conservation (Azawi et al., 2013).

II.1.4 Polyéthylène glycol (Peg) :

Le Peg est un polymère hydrophyl qui présente une solubilité importante dans les solvants avec un faible poids moléculaire (Kadajj et Betager, 2022). Il est efficace pour l'augmentation de la solubilité et la biodisponibilité de différentes molécules actives tel que la vitamine E (Amokrane et al., 2020) et utilisé dans plusieurs applications :

Domaine médical :

Le Peg est appelé aussi macrogol dans le domaine médical (Tani et Charoznpenich, 2007), il est utilisé comme un laxatif osmotique pour traiter la constipation (Dupont et al., 2006).

Domaine biologique :

Le Peg est utilisé dans les processus biotechnologiques, il permet une forte solubilité des sels (Lancera et al., 2002), une évolution de la résistance mécanique, ainsi qu'une forte perméabilité des membranes (Feng et al., 2017). Il protège aussi les spermatozoïdes pendant leur réfrigération lorsqu'il est associé à la vitamine E (Amokrane et al., 2020).

Domaine industriel :

Le Peg est utilisé dans divers industries, grâce à sa sécurité stable et ses propriétés physicochimiques universelles. C'est un agent additif dans les produits pharmaceutiques et alimentaires. Et utilisé comme humectant, émulsifiant, et lubrifiant dans les produits cosmétiques, tels que : les déodorants, rouges à lèvres, dentifrices, produits de soins pour cheveux (**Ibrahim et al., 2022**).

II.1.5 Le cholestérol (Chl) :

C'est une molécule hydrophobe, non soluble présente dans la membrane plasmique du sperme de diverses espèces, le taux élevé de cette substance permet une forte résistance au choc thermique tel que chez le lapin.

L'ajout du cholestérol pendant la conservation du sperme a plusieurs effets sur la stabilité et la perméabilité membranaire ; il maintient l'arrangement des phospholipides à basses températures, ce qui réduit les fuites membranaires et la séparation des phases et elle permet les échanges entre les cellules. Il augmente le pourcentage des spermatozoïdes avec une membrane plasmique intacte, et améliore leur qualité après décongélation (**Mocé et al., 2010 ; Oliveira, et al., 2010**).

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Objectif du travail :

Notre travail à pour but d'optimiser la conservation du sperme du lapin à température ambiante, en développant de nouveaux milieux de conservation dans le but de protéger la membrane plasmique des spermatozoïdes au cours de cette conservation.

I Préparation des milieux de conservation :

Avant de passer à la conservation du sperme, il faut d'abord préparer les milieux de conservation.

I.1 Matériels utilisés :

Le matériel technique que nous avons utilisé dans notre étude est présenté dans la **figure 7**, et les produits chimiques dans la **figure 8**.

I.1.1 Matériel technique :

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1. Balance. | 8. Mortier. |
| 2. Cuillère à mesure. | 9. Marqueur. |
| 3. Papier aluminium. | 10. Agitateur. |
| 4. Tubes eppendorfs. | 11. Portoir |
| 5. Micropipettes. | 12. Papier absorbant. |
| 6. Embouts. | |
| 7. Etiquettes. | |

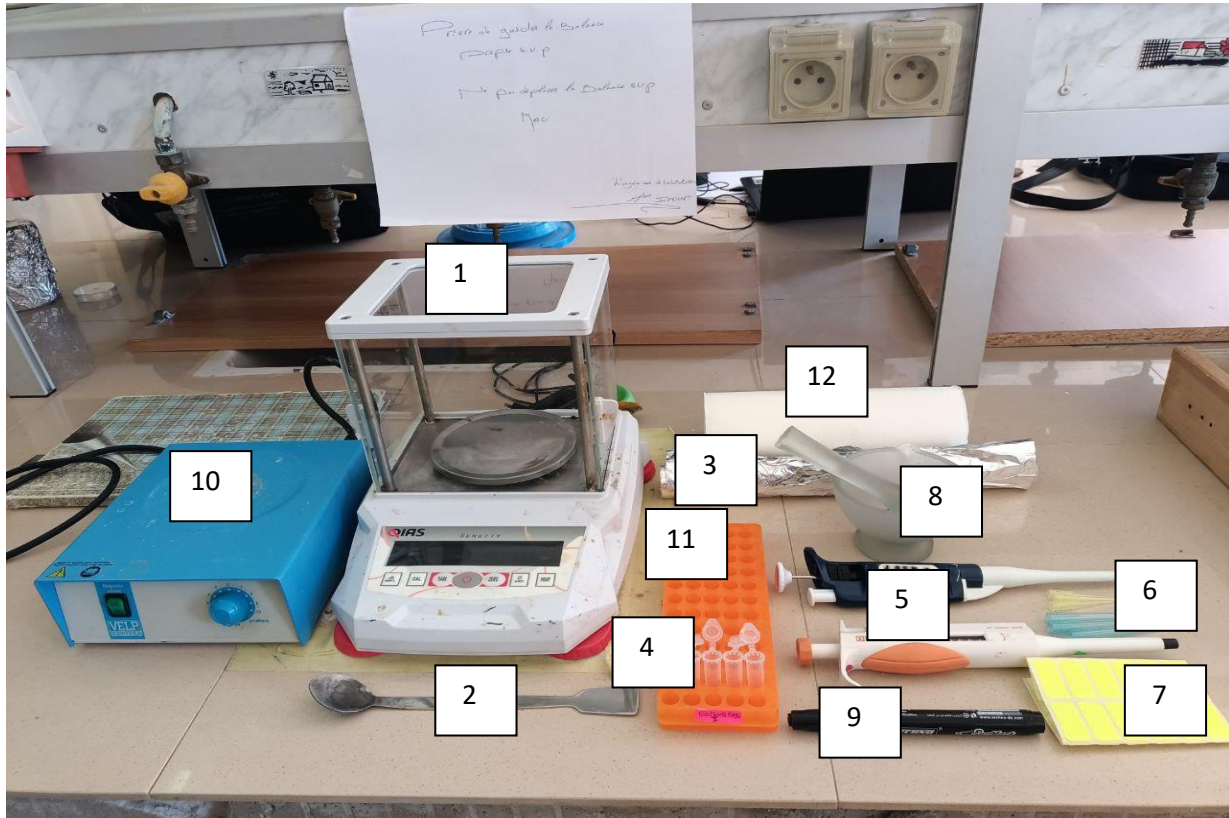


Figure 7 : Matériels techniques

I.1.2 Produits :

- | | |
|-------------------------|-----------------------|
| 1. Tris. | 5. Complexe Peg/ Chl. |
| 2. Polyéthylène glycol. | 6. Pénicilline. |
| 3. Cholestérol. | 7. D-glucose. |
| 4. Acide citrique. | 8. L'eau distillée. |



Figure 8 : Produits chimiques

I.2 Préparation des milieux :

I.2.1 Préparation du contrôle tris :

Nous avons utilisé les produits ci-dessous pour préparer une solution du tris dans 50 ml d'eau distillée :

- Tris : 1,513g.
 - Acide citrique : 0,85g.
 - D-glucose : 0,625g.
 - Pénicilline : 0,05g.
- } Avec agitation pendant 30 minutes.



Figure 9 : produits composants la solution du tris



Figure 10 : Agitation de la solution du tris

I.2.2 Préparation du milieu Peg (Peg+ tris) :

Pour 5 ml du tris, nous avons pesé 180mg du Peg, et nous avons laissé le mélange agiter pendant deux (2) heures (**Figure 11**).



Figure 11 : Agitation de la solution du Peg

I.2.3 Préparation du milieu Chl (Chl + Tris) :

Pour préparer ce milieu, nous avons utilisé 20mg du Cholestérol dans 5ml du tris avec deux heures (2) d'agitation (**figure 12**).



Figure 12 : Agitation de la solution du Chl

I.2.4 Préparation du complexe Peg/Chl in-situ:

Nous avons broyé 20 mg de Chl et 180 mg de Peg et ajouter petit à petit dans 5ml du tris (**figure 13**), puis agité pendant deux (2) heures (**figure 14**).



Figure 13 : Broyage du Peg et Chl



Figure 14 : Agitation de la solution Peg/Chl

I.2.5 Préparation du complexe Peg/Chl rota-vapeur :

Pour 5ml du tris, nous avons pesé 200mg du complexe (Peg/ Chl) déjà préparé par la méthode de Co-évaporation à raison de 10% de Chl et 90% de Peg. Le mélange est agité pendant deux (2) heures (**figure 15**).



Figure 15 : Agitation du complexe Chl/Peg rv



Figure 16 : Les milieux de conservation

II Collecte du sperme :

Nous avons utilisé dans notre étude 3 lapins de différentes races, logés au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaia (**figure 17**).

II.1 Matériel de collecte :

II.1.1 Matériel biologique :

Les lapins sont placés dans des cages individuelles, avec des bonnes conditions d'hygiène et un poids de 3kg..



Figure 17: Le poids des lapins

II.1.2 Matériel technique :

Avant la collecte du sperme, nous avons d'abord pesé les mâles à l'aide d'une balance (**Figure17**). Puis récolté le sperme en utilisant le matériel présenté dans la figure 18.



Figure 18 : Le matériel nécessaire pour la préparation du vagin artificiel

II.2 Préparation du vagin artificiel

Pour préparer le vagin artificiel, nous avons coupé un gant au niveau des doigts (1),(2). Puis nous l'avons retourné sur sa face interne (3), et induit dans le cylindre du vagin artificiel (4) et l'attacher aux deux extrémités à l'aide des élastiques (5), après avoir réalisé $\frac{1}{4}$ de tour du gant afin de mimer les replis du vagin (6). Ces replis empêchent aussi le passage du

gel au moment de la récolte. Un tube de collecte est enfin placé dans la petite extrémité du cylindre.

Pour chauffer le vagin artificiel, nous avons inséré dans l'espace créé entre le cylindre et le gant, de l'eau chaude à l'aide d'une seringue, à travers le bouchon (7), (8).

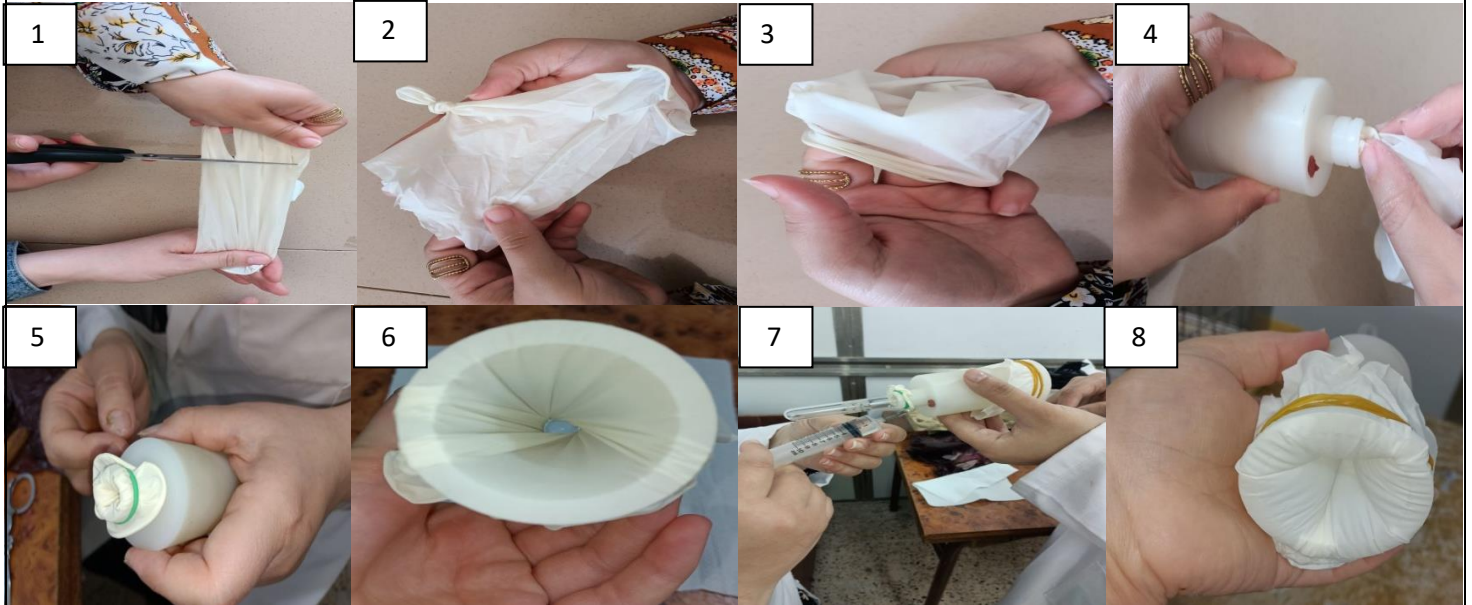


Figure 19 : Les étapes de la préparation du vagin artificiel

II.2.1 Méthodes de collecte du sperme par VA :

Pour récolter le sperme, nous avons introduit la lapine dans la cage du mâle afin d'augmenter sa libido (A) (**Figure 20**). Nous avons placé le vagin artificiel entre les membres postérieurs de la lapine d'une façon à présenter la grande extrémité vers le pénis (B) (**Figure 20**), et collecter ensuite le sperme après éjaculation (**figure 21**).



Figure 20 : Méthode de la récolte du sperme



Figure 21: Le sperme récolté

III Analyse du sperme récolté :

Après la collecte, le tube est retiré du vagin artificiel pour examiner le sperme récolté (**figure 22**) macroscopiquement et microscopiquement.



Figure 22 : Tube de collecte retiré du vagin artificiel

III.1 Examen macroscopique :

Les résultats d'analyse macroscopique indiquent que, le sperme récolté des 3 lapins à une température comprise entre 15 et 22 °C est de couleur blanc nacré avec un volume qui varie entre 0,1 ml et 0,375 ml mesuré à l'aide d'un tube eppendorf gradué.

III.2 Examen microscopique :

Dans cette étude nous avons utilisé le système CASA pour analyser les paramètres de mobilité des spermatozoïdes (**figure 23**).



Figure 23 : Le système CASA (Computer assisted semen analyser)

Nous avons analysé la motilité massale des spermatozoïdes des 3 lapins sur une échelle (**Roca et al.2000**), de 0 à 5, et on a obtenue à l'aide du microscope optique au grossissement x10 des notes qui varient entre 3 et 4,5 avec une concentration entre $376,5 \times 10^6$ spz/ml et $474,3 \times 10^6$ spz/ml.

IV Préparation et analyse des traitements (Milieu + Sperme) :

IV.1 Dilution :

Après la récolte nous avons obtenu le volume du sperme à l'aide d'un tube gradué. Nous avons par la suite dilué le sperme à $1/5^{\text{ème}}$ avec le tris buffer.

IV.2 Préparation des traitements (Milieu + Sperme) :

Nous avons divisé le volume du sperme dilué sur cinq (5) tubes correspondants aux quatre (4) traitements (Clh, Peg, Chl/Peg in-situ, Chl/Peg rota-vapeur), et un tube de contrôle (Tris).

Nous avons ajouté dans chaque tube un même volume de milieu et du sperme, à raison d'une proportion de V/V.

Nous avons analysé les paramètres de la mobilité des spermatozoïdes avec le système CASA (**Computer assisted semen analyser**), d'abord à T0 juste après la préparation des différents traitements, puis chaque une heure (1), pendant leur conservation à température ambiante du laboratoire (15° à 22°C) pour cinq (5) temps (T1, T2, T3, T4, T5) (**figure 24**).



Résultats et discussions

I Interprétation des résultats :

I.1 Rythme de collecte :

Dans notre travail nous avons collecté le sperme du lapin à l'aide d'un vagin artificiel (VA) suivant un rythme de collecte d'un jour /2 (3 fois par semaine), ce rythme a prouvé son efficacité puisque la qualité des éjaculats est bonne (**Mocé et al.,2000**).

D'autres chercheurs ont opté pour d'autres rythmes de récolte.(**Nizza et al., 2003**), ont montrés que la collecte du sperme au rythme d'une fois / semaine, est favorable pour l'obtention d'une bonne qualité du sperme et même pour la réussite de l'insémination artificielle (IA).

I.2 Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des spermatozoïdes analysés :

Nous avons d'abord analysé les caractéristiques macroscopiques et microscopiques du sperme récolté, ensuite préparé et conservé les traitements à T° ambiante et analysé au système CASA les paramètres de la mobilité des spermatozoïdes à différents temps. Nous avons finalement discuté les résultats obtenus, traités par le logiciel de traitements des données « stat-view 5.0. Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA, USA ».

I.2.1 Caractéristiques macroscopiques :

Tableau VI : caractéristiques macroscopiques des spermatozoïdes analysés

Numéro de récolte	Les mâles	Le volume	La couleur
1	Mâle 1	0,3 ml	Blanc nacré
2	Mâle 1	0,15 ml	Blanc nacré
3	Mâle 1	0,1 ml	Blanc nacré
4	Mâle 2	0,375 ml	Blanc nacré
5	Mâle 3	0,3 ml	Blanc nacré
6	Mâle 1	0,12 ml	Blanc nacré
7	Mâle 1	0,3 ml	Blanc nacré

Le tableau VI représente les volumes des spermatozoïdes récoltés des différents mâles utilisés dans notre étude. Le volume des spermatozoïdes des trois (3) lapins varie entre 0,1 et 0,375 ml. Ce volume est faible puisque dans la littérature, les chercheurs ont obtenu un volume compris entre 0.25 et 1 ml (**Francisco et Luis, 2003**). Ou entre 0,3 et 0,9 ml (**Boiti, 2005**).

Dans notre travail, c'est le mâle numéro 2 qui a donné le meilleur volume (0,375 ml).

I.2.2 Caractéristiques microscopiques :

Tableau V : Résultats de concentration et mobilité massale des spermés utilisés

Nombre de récolte	Le mâle	La motilité massale	La concentration des spermatozoïdes
1	Mâle 1	4	403,6x10 ⁶ spz/ml
2	Mâle 1	3,5	425,1x10 ⁶ spz/ml
3	Mâle 1	3	446,1x10 ⁶ spz/ml
4	Mâle 2	4	474,3x10 ⁶ spz/ml
5	Mâle 3	4,5	388,8x10 ⁶ spz/ml
6	Mâle 1	4,5	376,5x10 ⁶ spz/ml
7	Mâle 1	4,5	418,7x10 ⁶ spz/ml

Le tableau V représente les notes des mobilités et les concentrations des spermatozoïdes, nous avons noté une mobilité massale qui varie entre 3 et 4,5. La meilleure note est celle du sperme du mâle 1 et 3 (4,5 : Mobilité massale rapide, avec absence de l'aspect de tourbillon).

La meilleure concentration est celle du sperme du mâle 2 (474,3x10⁶ spz /ml) suivie de celle du mâle 1 (446,1x10⁶ spz/ml), ces concentrations restent dans l'intervalle donné par (Joly et al., 2000) entre 150 et 500x10⁶ spz/ml mais restent inférieures à celle trouvée par (Boulbina et Baziz, 2011) qui est de 734,9x10⁶ spz/ml.

I.3 Résultats de la VSL dans les différents traitements utilisés :

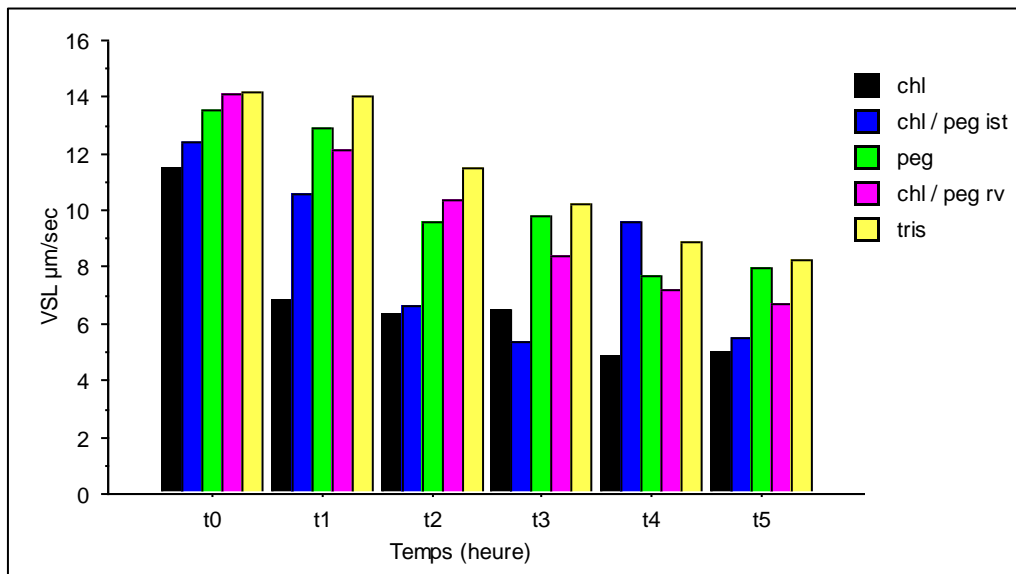


Figure 24 : Histogramme en bâtons représentant la VSL $\mu\text{m}/\text{sec}$ des spz conservés à T° ambiante analysés à différents temps dans des différents traitements.

Nous avons remarqué qu'à t0 les spermatozoïdes mis dans le contrôle (tris) et dans le complexe chl/peg rv présentent approximativement la même et la meilleure VSL au début de leurs conservation à T° ambiante (**figure 25**) ($14\mu\text{m}/\text{sec}$). A ce moment le peg a probablement exercé son effet de solubilisation sur le chl ainsi que sur les antioxydants du sperme tel que la vitamine E (**Amokrane et al., 2020**), ce qui a permis au chl de bien exercer son rôle de stabilisateur et inhibiteur de la perméabilité membranaire (**Mocé, et al., 2010**), par contre la VSL du reste des traitements est inférieure à celle du contrôle (tris), chl : $11,5 \mu\text{m}/\text{sec}$, chl/peg ist : $12,5 \mu\text{m}/\text{sec}$, peg : $13,5\mu\text{m}/\text{sec}$.

Après 1h de conservation à T° ambiante, nous avons remarqué que les spermatozoïdes conservés dans le contrôle (tris) présentent toujours la meilleure VSL ($14\mu\text{m}/\text{sec}$), suivi de ceux mis dans le traitement peg ($13 \mu\text{m}/\text{sec}$). Ce résultat peut être expliqué par l'effet du peg sur la résistance et la perméabilité membranaire des spermatozoïdes (**Feng et al., 2017**). Par ailleurs, le Chl a montré des effets supérieurs à T0 comparativement à d'autres temps.

Après quatre (4) heures de conservation à T° ambiante, nous avons remarqué que la meilleure VSL est celle du complexe chl/peg ist. Ce traitement est le seul qui a montré à ce temps une VSL ($9,8 \mu\text{m}/\text{sec}$) supérieure à celle du contrôle tris ($9 \mu\text{m}/\text{sec}$), et une

amélioration par rapport à t2 et t3. Nous supposant que dans ce traitement, le chl et le peg ont exercé, tardivement, leurs effets bénéfiques sur les spermatozoïdes.

Après cinq (5) heures à T° ambiante nous avons remarqué que la VSL dans tous les traitements a diminué mais toujours avec une dominance dans le contrôle (8µm/sec) et dans le traitement peg (7,5µm/sec).

I.3 Résultats de la mobilité des spermatozoïdes dans les différents traitements utilisés :

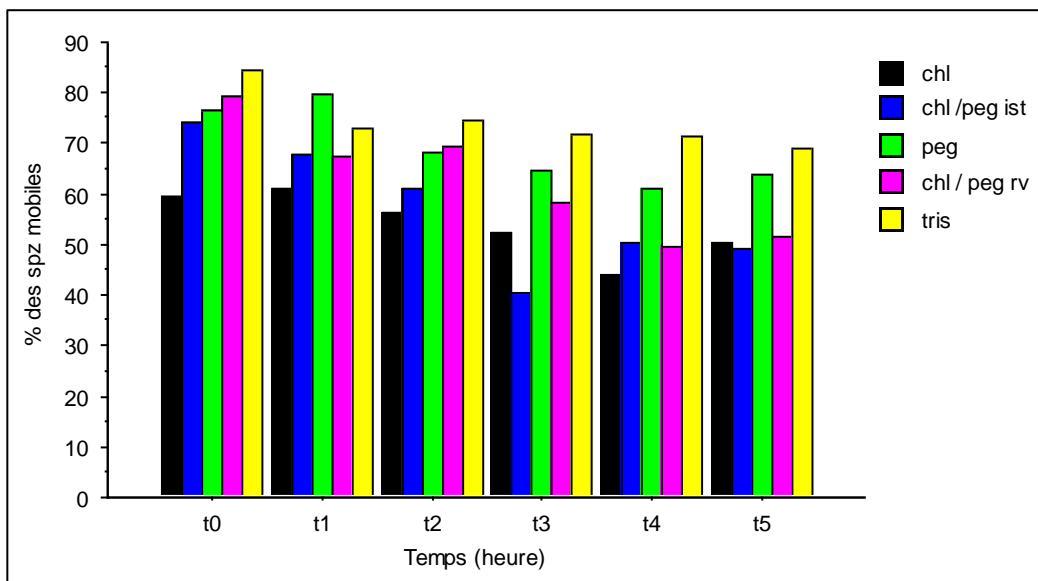


Figure 25 : Histogramme en bâtons représentant le % des spz mobiles conservés à T° ambiante analysés à différents temps dans des différents traitements.

Nous avons remarqué sur la **figure 26**, qu'à t0 la meilleure mobilité et celle des spermatozoïdes mis dans le contrôle (tris), avec un pourcentage de 85%, suivi de celle de l'association chl/peg rv (80%), peg (77%), chl/peg ist (74%).

A t1 nous avons remarqué que la mobilité des spermatozoïdes conservés à T° ambiante s'est améliorée et elle atteint le pourcentage de 81% dans le traitement peg, et 59% dans le chl par rapport à t0, et que les deux (2) complexes chl/peg rv ; chl/peg ist présentent le même pourcentage de mobilité (68%). Une amélioration de mobilité des spermatozoïdes est remarquable à t2 dans le complexe chl/peg rv (70%).

A t3, t4, t5 nous avons remarqué que la meilleure mobilité est celle des spermatozoïdes conservés dans le contrôle (tris) et elle atteint presque le même pourcentage (72%), suivi par celle du peg qui est plus ou moins égale à 65%.

A t4, t5 nous avons remarqué que la mobilité des spermatozoïdes conservés à T° ambiante dans les deux (2) complexes chl/peg rv ; chl/peg ist présentent presque le même pourcentage (54%). Une amélioration de mobilité des spermatozoïdes est remarquée dans le traitement chl à t5 par rapport à t4.

En effet, le tris est un milieu nutritif qui conserve les SPZ en vie, en répondant à certains de leurs besoins (Cucho Dolmos et al., 2015). Le cholestérol, quant à lui, est un important composant de la membrane plasmique. Il est naturellement responsable de son renforcement (Mocé et al., 2010).

La dominance du pourcentage des spermatozoïdes mobiles dans l'association chl/peg par rapport au chl seul est probablement due à la solubilisation du chl par le peg (Amokrane et al, 2020), ce qui l'a rendu disponible et capable de protéger la membrane plasmique en la renforçant (Mocé et al., 2010).

I.5 Résultats de la mobilité progressive dans les différents traitements utilisés :

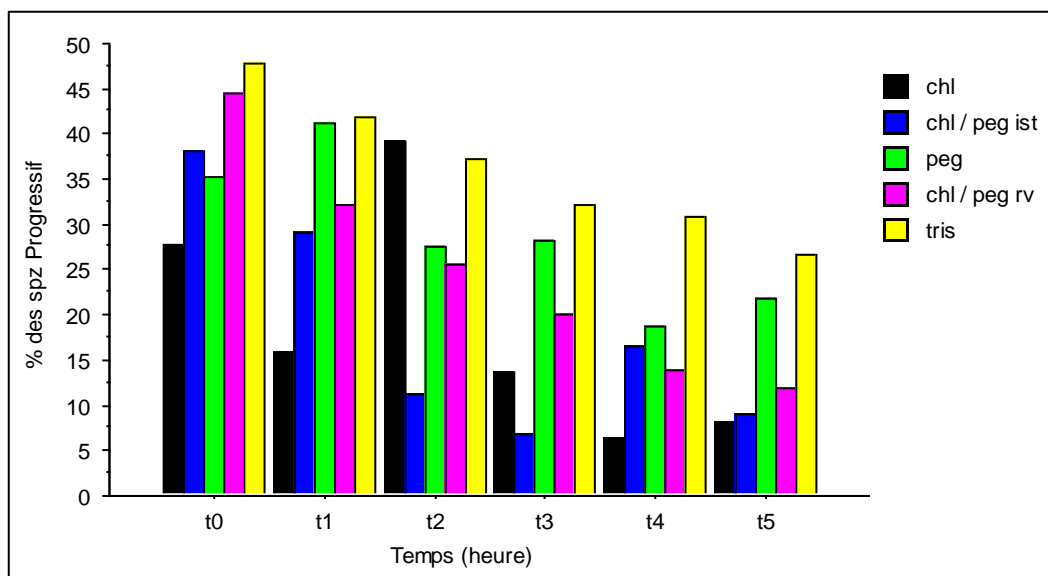


Figure 26 : Histogramme en bâtons représentant le % des spz progressifs conservés à T° ambiante analysés à différents temps dans des différents traitements.

La figure 27 montre les différents pourcentages des spermatozoïdes progressifs dans les différents milieux, aux différents temps et à T° ambiante.

A t0 la mobilité progressive est meilleure dans le contrôle (tris) (48%), puis dans l'association chl/peg rv (45%), et chl/peg ist (38%). Le peg qui est un solubilisant (Amokrane et al. 2020) a montré son effet sur le chl, ce qui lui permet d'exercer son rôle de la stabilité et de diminution de la perméabilité membranaire (**Mocé, et al., 2010**).

Après une heure (1h) de conservation à T° ambiante nous avons remarqué, une amélioration de la mobilité progressive dans le traitement peg (41%), qui est proche de celle du tris (42%). Cela est probablement dû à l'action directe du peg qui joue un rôle important dans la protection des membranes cellulaires contre les agressions physiques et chimiques (**Togo et al., 1999**), associée à celle des antioxydants solubilisés par le peg tel que la vitamine E.

A t2 la mobilité progressive des spermatozoïdes est remarquablement améliorée dans le traitement chl par rapport à d'autre temps (40%), elle a montrée une mobilité progressive supérieure à celle du contrôle (tris) et celle des autres traitements. Selon **Oliveira, Vasconcelos et al. (2010)** le chl améliore la qualité des spermatozoïdes avec un pourcentage élevé de membranes plasmiques intactes.

A t5, les traitements qui ont conservé au mieux la mobilité progressive des spermatozoïdes sont le contrôle (tris) (28%), et le traitement peg (23%) par rapport aux autres traitements chl/peg rv (13%); chl/peg ist (10%); chl (9%).

Conclusion et perspectives

En conclusion, notre étude a montré que les différents traitements et leurs associations ont des effets variables et que les résultats de VSL, de mobilité totale et de mobilité progressive des spermatozoïdes conservés à T° ambiante presque toujours inférieures à ceux du contrôle (Tris).

Nous avons remarqué que le contrôle (tris) est le meilleur jusqu'à 5h de conservation à T° ambiante, suivi de Peg seul qui a conservé la mobilité des spermatozoïdes jusqu'à 5h mieux que les autres traitements Chl, Chl/Peg rv, Chl/Peg ist. L'ajout du Peg au Chl quelque soit la méthode de leur association (Chl/Peg rv, ; Chl/Peg ist) permet une meilleure conservation du sperme que celle du Chl seul, mais reste toujours inférieure à celle du contrôle (tris) et Peg seul.

En se basant sur ces résultats, il est recommandé de tester d'autres associations moléculaires en ajoutant des antioxydants qui permettront une meilleure conservation durant une période prolongée.

Des essais in vivo d'insémination artificielle seront nécessaires pour confirmer, si les spermatozoïdes conservés dans les milieux contrôle (tris), Peg seul et Chl/Peg donnent une bonne productivité.

Références bibliographiques

A

Aboagla, E. M.-E. et T. Terada (2004). "Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa." *Theriogenology* 62(6): 1160-1172.

Ahmad, K. et R. Foote (1985). "Motility and fertility of frozen bull spermatozoa in tris-yolk and milk extenders containing amikacin sulfate." *Journal of Dairy Science* 68(8): 2083-2086.

Alvariño, R. M. (1993). "Control de la reproducción en el conejo." 1^{ere} éd., IRYDA, Mundi-Prensa, 137p.

Amann R.P. (1993). *Physiology and Endocrinology.* In : MC KINNON AO, Yoss JL (eds), *Equine Reproduction*, 1^{ed.}, Lea et Febigereds, Philadelphia : 1137-11545.

Amokrane, A., Kaidi, R., et Iguer-Ouada, M. (2020). The effect of vitamin E and poly ethylene glycol (PEG) association on chilled rabbit sperm: Impact on sperm motility and oxidative stress status. *CryoLetters*, 41(1), 19-25.

Andrieu, R. (1974). "Conservation du sperme de lapin sous forme liquid." ENSA, Montpellier: 10.

André.S. (2021). Article web : la reproduction du lapin, comment ça marche.

Axnér, E., Hermansson, U., et Linde-Forsberg, C. (2004). The effect of Equex STM paste and sperm morphology on post-thaw survival of cat epididymal spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 84(1-2), 179-191.

Azawi, O. I. et E. K. Hussein (2013). Effect of vitamins C or E supplementation to Tris diluent on the semen quality of Awassi rams preserved at 5 C. Veterinary Research Forum, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

B

Barone, R. (1984). "Anatomie comparee des mammiferes domestiques. Tome 3: Splanchnologie 1. Edi. Vigot. Paris: 896p.

Barone, R. (2001). "Anatomie comparee des mammiferes domestiques.Tome 4 : Splanchnologie II, Edi. Vigot. Paris : 241-516.

Belala, R., Fatmi, S., Kaidi, R., et Iguer-Ouada, M. (2016). Benefits of cholesterol and α -tocopherol loaded cyclodextrins in dog semen cryopreservation. *Revue Méd Vét*, 167, 22-27.

Bencheikh, N. (1995). Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. *Annales de zootechnie*, 44, 263-279. .

Benson, J. D., Woods, E. J., Walters, E. M., et Critser, J. K. (2012). The cryobiology of spermatozoa. *Theriogenology*, 78(8), 1682-1699.

Bizimungu, J. (1991). "Insémination artificielle bovine au Ruanda: Bilan et Perspectives." Th.: Méd. Vét.: Dakar 15.

Boiti, C., Castellini, C., Besenfelder, U., Theau-Clément, M., Liguori, L., Renieri, T., et Pizzi, F. (2005). Guidelines for handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Science*, 13(2), 71-91.

Boulbina, I. et A. Baziz (2011). Caractérisation de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*), École Nationale Supérieure Vétérinaire.

Boussit, D. (1989). "Reproduction et insemination artificielle en cuniculture." Assoc. Fr. cuniculture, Lempdes france, 234p.

Bredderman, P. J., Foote, R. H., et Yassen, A. M. (1964). An improved artificial vagina for collecting rabbit semen. *Reproduction*, 7(3), 401-403.

C

Cabannes, C. (2008). Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine.

Castellini, C. (2008). "Semen production and management of rabbit bucks." Dept. of Applied Biology, University of Perugia, Italy, 9thWorld Rabbit Congress-June 10-13.

Chen, Y., Foote, R. H., Tobback, C., Zhang, L., et Hough, S. (1993). Survival of bull spermatozoa seeded and frozen at different rates in egg yolk-tris and whole milk extenders. *Journal of dairy science*, 76(4), 1028-1034.

Cucho Dolmos,H ,Hanzen, C, H., Ampuero Casquino, E., Ordonnez Rodriguez, C., et Sumar Kalinowski, J. (2015). Prélèvement, analyse et conservation du sperme du mâle des petits camélidés sud-américains.

D

Dacheux, J. (1980). "An in vitro perfusion technique to study epididymal secretion." *IRCS Med Sci* 8(137): 312-321.

De Castro, M. P. V., Vicente, J. S., et Lavara, R. (1999). Effet du nombre de spermatozoïdes sur la fertilité de la semence conservée 24 heures chez le lapin. In *Annales de zootechnie* (Vol. 48, No. 5, pp. 407-412).

De Pauw, I. M. C., Van Soom, A., Mintiens, K., Verberckmoes, S., et de Kruif, A. (2003). In vitro survival of bovine spermatozoa stored at room temperature under epididymal conditions. *Theriogenology*, 59(5-6), 1093-1107. In vitro survival of bovine spermatozoa stored at room temperature under epididymal conditions. *Theriogenology*, 59(5-6), 1093-1107.

Di Iorio, M. (2015). "Cryopreservation of rabbit semen: effectiveness of different permeable and non-permeable cryoprotectants on post-thaw sperm quality and reproductive performances."

Drobnis, E. Z., Crowe, L. M., Berger, T., Anchordoguy, T. J., Overstreet, J. W., et Crowe, J. H. (1993). Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. *Journal of Experimental Zoology*, 265(4), 432-437.

Dupont, C., Leluyer, B., Amar, F., Kalach, N., Benhamou, P. H., Mouterde, O., et Vannerom, P. Y. (2006). A dose determination study of polyethylene glycol 4000 in constipated children: factors influencing the maintenance dose. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 42(2), 178-185.

E

Elliott, G. D., Wang, S., et Fuller, B. J. (2017). Cryoprotectants: A review of the actions and applications of cryoprotective solutes that modulate cell recovery from ultra-low temperatures. *Cryobiology*, 76, 74-91.

England, G. et P. Ponzio (1996). "Comparison of the quality of frozen-thawed and cooled-rewarmed dog semen." *Theriogenology* 46(1): 165-171.

F

Feldman, E. et R. Nelson (1987). "Disorders of the canine male reproductive tract." *Canine and feline endocrinology and reproduction*: 481-523.

Feng, Y., Han, G., Chung, T. S., Weber, M., Widjojo, N., et Maletzko, C. (2017). Effects of polyethylene glycol on membrane formation and properties of hydrophilic sulfonated polyphenylenesulfone (sPPSU) membranes. *Journal of Membrane Science*, 531, 27-35.

Fiser, P. et R. Fairfull (1986). "The effects of rapid cooling (cold shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing." *Cryobiology* 23(6): 518-524.

Francisco D.A.A. et Luis A. R.F. (2003). Analysis of seminal quality, a tool in fertility experimental toxicology study. p44-46.

G

García-Tomás, M., Sanchez, J., Rafel, O., Ramon, J., et Piles, M. (2006). Variability, repeatability and phenotypic relationships of several characteristics of production and semen quality in rabbit. *Animal reproduction science*, 93(1-2), 88-100.

Gianinetti R. (1984). L'élevage rentable des lapins : Anatomie, physiologie, milieu. Paris ed. Vecchi. S. A, 191p.

Goll.A. (2024). Article web : Tout savoir sur la reproduction et la gestion du lapin.

H

Hansen C., (2011-2012), La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants. Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire service de Thériogénologie des animaux de production. p12-25.

Hayden, S. S., Blanchard, T. L., Brinsko, S. P., Varner, D. D., Hinrichs, K., et Love, C. C. (2015). The "dilution effect" in stallion sperm. *Theriogenology*, 83(4), 772-777.

HIRECHE, S. "Chapitre II: Anatomie et fonctions de l'appareil génital mâle."

I

Ibrahim, M., Ramadan, E., Elsadek, N. E., Emam, S. E., Shimizu, T., Ando, H., et Ishida, T. (2022). Polyethylene glycol (PEG): The nature, immunogenicity, and role in the hypersensitivity of PEGylated products. *Journal of Controlled Release*, 351, 215-230.

J

Johnston S.D., Root Kustritz M.V., Olson P.N.S. (2001) Semen Collection, Evaluation, and preservation. In: Johnston S.D. (eds.). Canine and feline theriogenology. W.B. Saunders compagny, Philadelphia, 287- 306.

Johnston, S. D., Kustritz, M. V., et Olson, P. S. (2001). Canine and feline theriogenology.

Joly, T. et M. Theau-Clément (2000). "Reproduction et physiologie de la reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture." ASFC Journée du 5: 19-24.

Jones, R. (2002). "Evolution of the vertebrate epididymis." The epididymis: From molecules to clinical practice: A comprehensive survey of the efferent ducts, the epididymis and the vas deferens: 11-33.

K

Kadajji, V. G. et G. V. Betageri (2011). "Water soluble polymers for pharmaceutical applications." Polymers 3(4): 1972-2009.

Kasa, I. et C. Thwaites (1992). "Semen quality in bucks exposed to 34° C for 8 h on either 1 or 5 days."

Kathiravan, J. Kalatharan, G. Karthikeya, K. Rengarajan, G. Kadirvel, (2011). Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system-a review, biology, medicine. Reproduction in domestic animals.

Kikuchi, K., Nagai, T., Kashiwazaki, N., Ikeda, H., Noguchi, J., Shimada, A., et Kaneko, H. (1998). Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4 C. Theriogenology, 50(4), 615-623.

Kulaksız, R., Çebi, Ç., Akçay, E., et Daşkın, A. (2010). The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen. *Small ruminant research*, 88(1), 12-15.

L

Layek, S. S., Mohanty, T. K., Kumaresan, A., et Parks, J. E. (2016). Cryopreservation of bull semen: Evolution from egg yolk based to soybean based extenders. *Animal reproduction science*, 172, 1-9.

Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996). Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.

Lebas F. (2000). Cuniculture : Biologie du lapin. Chapitre 7. INRA, 2000.

Le Moigne A. et Foucrier J. (2009). Biologie du développement. 7ème Edition. DUNOD Inc.: 416p.

M

Marie b N.E. (2006). Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd, Renouveau pédagogique, France : 1096.

Mocé, E., Blanch, E., Tomás, C., et Graham, J. K. (2010). Use of cholesterol in sperm cryopreservation: present moment and perspectives to future. *Reproduction in Domestic Animals*, 45, 57-66.

Mocé, E., Lavara, R., Lavara, F., et Vicente, J. S. (2000, July). Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. In Proc: Proceedings of the 7th World Rabbit Congress, vol. A. Valencia, Spain, 197 (Vol. 201).

Mocé, E., Purdy, P. H., et Graham, J. K. (2010). Treating ram sperm with cholesterol-loaded cyclodextrins improves cryosurvival. *Animal reproduction science*, 118(2-4), 236-247.

N

Nizza, A., Di Meo, C., et Taranto, S. (2003). Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. *Reproduction in Domestic Animals*, 38(6), 436-439.

O

O'Bryan, M. K., Schlatt, S., Phillips, D. J., de Kretser, D. M., et Hedger, M. P. (2000). Bacterial lipopolysaccharide-induced inflammation compromises testicular function at multiple levels in vivo. *Endocrinology*, 141(1), 238-246.

Oliveira, C. H. D., Vasconcelos, A. B. D., Souza, F. A., Martins-Filho, O. A., Silva, M. X., Varago, F. C., et Lagares, M. D. A. (2010). Cholesterol addition protects membrane intactness during cryopreservation of stallion sperm. *Animal reproduction science*, 118(2-4), 194-200.

Ott R.S., Goffaux M. et Thibier M., (1987), Examen morphologique des spermatozoïdes. *El. et Ins.*, 221, p 15 20.

P

Pancera, S. M., da Silva, L. H., Loh, W., Itri, R., Pessoa Jr, A., et Petri, D. F. (2002). The effect of poly (ethylene glycol) on the activity and structure of glucose-6-phosphate dehydrogenase in solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 26(4), 291-300.

Petitjean M., (1965), Recherches sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. Mémoire Ingénieur DPE, CNAM, Paris).

Pinto, C. R. F., Paccamonti, D. L., et Eilts, B. E. (1999). Fertility in bitches artificially inseminated with extended, chilled semen. *Theriogenology*, 52(4), 609-616.

R

Roca, J., Martinez, S., Vázquez, J. M., Lucas, X., Parrilla, I., et Martinez, E. A. (2000). Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15 C. *Animal Reproduction Science*, 64(1-2), 103-112.

Rota, A., Rota, A., Martini, M., Milani, C., et Romagnoli, S. (2005). Evaluation of dog semen quality after slow (biological freezer) or rapid (nitrogen vapours) freezing. *Reproduction Nutrition Development*, 45(1), 29-37.

S

Sato, M. et A. Ishikawa (2004). "Room temperature storage of mouse epididymal spermatozoa: exploration of factors affecting sperm survival." *Theriogenology* 61(7-8): 1455-1469.

T

Tamayo-Canul, J., Alvarez, M., López-Urueña, E., Nicolas, M., Martínez-Pastor, F., Anel, E., ... et De Paz, P. (2011). Undiluted or extended storage of ram epididymal spermatozoa as alternatives to refrigerating the whole epididymes. *Animal reproduction science*, 126(1-2), 76-82.

Tani, A., Charoenpanich, J., Mori, T., Takeichi, M., Kimbara, K., et Kawai, F. (2007). Structure and conservation of a polyethylene glycol-degradative operon in sphingomonads. *Microbiology*, 153(2), 338-346.

Theau Clément, M., Sanchez, A., Duzert, R., Saleil, G., et Brun, J. M. (2009). Etude de facteurs de variation de la production spermatique chez le lapin. 13^{ème} journée de la recherche cunicule ,17-18, le Mans, France.

Thierry, G. (2015). Le lapin, de la biologie à l'élevage. Ed Quæ France. ISSN : 1952-1251, 270pp.

Togo T., Alderton J.M., Bi G.Q et Steinhardt R.A. (1999). The mechanism of facilitated cell membrane resealing. *J. Cell Sci.*, 112, p 719-731.

Troisio, I., Bertocchi, M., Ventrella, D., Scozzoli, M., Di Vito, M., Truzzi, E., ... et Elmi, A. (2024). Short-and long-term effects of essential oils on swine spermatozoa during liquid phase refrigeration. *Scientific Reports*, 14(1), 285.

V

VAISSAIRE, J. (1995). "Lapins et rongeurs, normes physiologiques, hématologiques et biochimiques. Alimentation." *Pathologie du Lapin et des Rongeurs Domestiques*. 2^{ème} édition. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, Ecole Nationale Vétérinaire, Maisons-Alfort: 21-36.

Villagran, C., Navarro, J., et Fuentes, V. O. (2003). Sexual exhaustion in White New Zealand male rabbits of different ages. *Animal reproduction science*, 76(3-4), 251-255.

Y

Yang, D. B., Zhu, J. B., Huang, Z. J., Ren, H. X., et Zheng, Z. J. (2008). Synthesis and application of poly (ethylene glycol)-cholesterol (Chol-PEGm) conjugates in physicochemical characterization of nonionic surfactant vesicles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 63(2), 192-199.

Z

Zambelli, D. et M. Cunto (2006). "Semen collection in cats: techniques and analysis." *Theriogenology* 66(2): 159-165.

Zambelli, D., Prati, F., Cunto, M., Iacono, E., et Merlo, B. (2008). Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. *Theriogenology*, 69(4), 485-490.

Résumé :

L'objectif de notre étude est de tester l'efficacité de l'utilisation du cholestérol (chl) seul ou solubilisé à l'aide du polyéthylène glycol (Peg) comme agent de conservation du sperme du lapin récolté et conservé à température ambiante pendant 5 heures.

Pour cette raison, nous avons récolté le sperme de trois (3) lapins à l'aide d'un vagin artificiel, selon le rythme de collecte d'un jour/2. Nous avons par la suite conservé le sperme récolté 5h à T° ambiante dans des traitements contenant du Chl, Peg, Chl/Peg rv, Chl/Peg ist et dans le contrôle (tris), puis analysé au système CASA (Computer Assisted Sperm Anzlysis).

Les résultats ont montré que les différents traitements et leurs associations ont des effets variables et des résultats par fois supérieurs et par fois inférieurs à celle du contrôle (tris). Le tris présente toujours les meilleures paramètres de mobilité pendant 5h de conservation à T° ambiante, suivi du Peg seul qui a montré son effet positif sur la mobilité des spermatozoïdes, mieux que les complexes (Chl/Peg rv , Chl/Peg ist).

Nous concluons que parmi les traitements utilisés le Peg seul permet une bonne conservation des spermatozoïdes à T° ambiante après le contrôle (tris).

Mots clés : température ambiante, sperme du lapin, conservation, Peg, Chl.

Abstract :

The objective of our study is to test the effectiveness of using cholesterol (Chl) alone, solubilized with polyethylene glycol (PEG) as a conservation agent for rabbit sperm collected and stored at ambient temperature for 5 hours.

For this reason, we collected sperm from three (3) rabbits using an artificial vagina, following the collection rhythm of one ejaculation one day/2. Subsequently, we conserved the sperm at ambient temperature for 5hours in treatments containing Chl, PEG, Chl/PEG ist Chl/PEG rv, and the control (Tris), then analyzed it using the Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) system.

The results show that the different treatments and their combinations have varying effects, sometimes superior and sometimes inferior to the control (Tris). Tris consistently presents the best motility parameters during conservation for 5 hours in ambient temperature, followed by PEG alone, which has a positive effect on sperm motility better than the complexes (Chl/PEG ist, Chl/PEG rv).

We conclude that among the treatments used, PEG alone allows good sperm conservation at ambient temperature after the control (Tris).

Key words : Ambient temperature, Rabbit sperm, Preservation, peg, Chl.

ملخص:

هدف دراستنا هو اختبار فعالية استخدام الكوليسترول (Chl) بمفرده أو مذاب بمساعدة البولي إيثيلين جلايكول (Peg) كعامل لحفظ السائل المنوي للأرانب الذي يتم جمعه وحفظه في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 ساعات.

لهذا السبب، جمعنا السائل المنوي لثلاثة (3) أرانب باستخدام مهبل اصطناعي، وفقاً لوتيرة جمع كل يومين. بعد ذلك، قمنا بحفظ السائل المنوي الذي تم جمعه لمدة 5 ساعات في درجة حرارة الغرفة في علاجات تحتوي على Chl، Peg، Chl/Peg rv، Chl/Peg ist وفي العينة الضابطة (tris)، ثم قمنا بتحليلها بنظام CASA (تحليل السائل المنوي بمساعدة الكمبيوتر).

أظهرت النتائج أن العلاجات المختلفة وتركيباتها لها تأثيرات متباينة ونتائج في بعض الأحيان أفضل وفي بعض الأحيان أسوأ من العينة الضابطة (tris). يعرض tris دائماً أفضل معايير الحركة خلال 5 ساعات من الحفظ في درجة حرارة الغرفة، يليه Peg بمفرده الذي أظهر تأثيره الإيجابي على حركة الحيوانات المنوية، بشكل أفضل من المركبات Chl/Peg ist، Chl/Peg rv

نستنتج أن من بين العلاجات المستخدمة، Peg بمفرده يتيح حفظاً جيداً للحيوانات المنوية في درجة حرارة الغرفة بعد العينة الضابطة (tris).

الكلمات المفتاحية: درجة حرارة الغرفة، السائل المنوي للأرانب، الحفظ، Peg، Chl.